

中华人民共和国医药行业标准

口腔材料生物试验方法 溶血试验

YY/T 0127.1—93

本标准参照采用国际标准化组织技术文件 ISO/TR 7405—1984《齿科材料生物性能评价》。

1 主题内容与适用范围

本标准规定了齿科材料溶血试验方法。

本标准适用于拟长期与骨和软组织接触的齿科材料(见附录 A)的体外急性溶血性能评价。

2 术语

- 2.1 溶血:红血球破裂或溶解,导致血红蛋白进入上清液中。
- 2.2 试样吸光度值:试样本身的溶血作用及试样颜色的共同作用所造成的吸光度值。
- 2.3 试样底色吸光度值:仅由试样颜色的影响所造成的吸光度值。
- 2.4 试样溶血吸光度值:试样本身的溶血作用造成的吸光度值。

3 原理及方法提要

材料和血液接触时,其溶血成分的存在可导致红细胞破坏,血红蛋白释放,从而使游离血浆血红蛋白增加,产生对机体的毒副作用。任何物质在光谱分析中均有其特定的吸收光谱,可用分光光度计进行检测,并可进行定性或定量分析。

溶血试验采用兔血。检测试验材料在生理盐水中孵育 90 min,在最后 60 min 有兔血存在时材料的溶血性能。溶血性能的检测即根据其血红蛋白的释放量,用分光光度计比色法检测。

通过材料与血液直接接触可检测材料的可溶性或释放性成分的溶血性能及材料表面的溶血性能。

4 试剂

整个分析过程中,使用分析纯试剂及蒸馏水。

- 4.1 生理盐水:0.9%(m/m)。
- 4.2 新鲜抗凝兔全血:每 20 mL 新鲜兔全血中加入 1 mL 2%(20 g/L)草酸钾生理盐水液。于使用前配制。贮存于 $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ 下。

5 仪器、设备

- 5.1 离心机:可于 750 g 下离心。
- 5.2 恒温水浴箱:保持水温在 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。
- 5.3 试管:与离心机相适合的试管。
- 5.4 分光光度计:可在 545 nm 处测量吸光度。
- 5.5 移液管: $1\pm 0.01\text{ mL}$; $10\pm 0.1\text{ mL}$ 。
- 5.6 分析天平:分度值为 0.000 1 g。

6 试验步骤

6.1 稀释抗凝兔血的制备:在 8 mL 的新鲜抗凝兔全血中加入约 10 mL 的生理盐水。调整生理盐水的用量,使稀释后的抗凝兔血 0.2 mL 在 10 mL 蒸馏水中于 545 nm 处的吸光度值为 0.8 ± 0.3 。将稀释抗凝兔血贮存于 $4 \pm 2^\circ\text{C}$ 中。

6.2 阴阳性对照试样制备:每个试管内放置 10 mL 生理盐水为阴性对照试样,每个试管内放置 10 mL 蒸馏水为阳性对照试样,各制备三个平行样。

6.3 材料试样制备

6.3.1 按制造厂说明书对材料试样进行消毒、清洗、干燥。未说明的产品,按临床应用常规处理。

6.3.2 在三个试管内分别放置 5 g 试样,试样应以临床应用状态为准。固体试样最大径不应超过 5 mm。

6.3.3 每个试管内加 10 mL 生理盐水,覆盖全部材料。

6.4 将上述试管置于温度为 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 的恒温水浴中保温 30 min,然后在每一试管内分别加入按照 6.1 条制备的稀释抗凝兔血 0.2 mL,轻轻混匀,继续于恒温水浴中保温 60 min。

6.5 在 750 g 下离心 5 min。

注:若在 750 g 下离心 5 min 后,上清液仍混浊,如肉眼观察透明度差,可见微细颗粒悬浮,或镜检见有未沉降的红细胞,而影响测试结果时,则应加大离心力或延长离心时间,直至上清液澄明为止。此时,阴阳性对照的离心条件也应做相应的调整。

6.6 吸取上清液,置分光光度计比色皿中,于 545 nm 处测量吸光度。三个平行样吸光度值的平均值为其吸光度值。若无试样颜色的影响,试样的吸光度值即为试样溶血吸光度值。阴性对照的吸光度值不应大于 0.03。阳性对照的吸光度值应为 0.8 ± 0.3 。

6.7 如果材料试样本身的颜色影响试验结果,试验时应同时设一试样底色组,即按照 6.3~6.6 条(在 6.4 条的操作中不加稀释抗凝兔血,只保温 90 min)的规定中的有关内容进行测试。试样溶血吸光度值为试样吸光度值减试样底色吸光度值。

7 结果计算

溶血率以百分比表示,按下式计算:

$$Z = \frac{D_t - D_{nc}}{D_{pc} - D_{nc}} \times 100\%$$

式中:Z——溶血率;

D_t ——试样的溶血吸光度值;

D_{nc} ——阴性对照吸光度值;

D_{pc} ——阳性对照吸光度值。

8 结果判断

8.1 若材料的溶血率小于 5%,则材料符合本标准要求。若溶血率大于 5%预示材料有溶血作用,不符合本标准要求。

8.2 若每组试验的三个试样之间的溶血率的偏差大于等于 20%,应重复试验。

附 录 A
长期与骨和软组织接触的材料
(补充件)

A1 矫形修复材料

- A1.1 贵金属及含少量贵金属合金。
- A1.2 贱金属合金。
- A1.3 焊料。
- A1.4 义齿基托材料。
- A1.5 人造牙(瓷牙和塑料牙)。
- A1.6 冠及桥贴面。
- A1.7 修补及重衬材料。

A2 齿科植入材料

- A2.1 金属及合金类。
- A2.2 陶瓷类。
- A2.3 树脂类。
- A2.4 热解碳类。

A3 根管充填材料

- A3.1 固体根充材料。
- A3.2 糊状根充材料。
- A3.3 根管封闭剂及水门汀。

A4 根管内用药物、冲洗剂及清洗剂

A5 牙髓失活剂

A6 牙周塞治剂及敷料

A7 其他长期与骨和软组织接触的材料

附加说明:

本标准由全国口腔材料和器械设备标准化技术委员会提出。

本标准由国家医药管理局北医医疗器械标准化技术分归口单位归口。

本标准由国家医药管理局口腔材料质量检测中心负责起草。

本标准主要起草人林红、刘文一、孙志辉。