

中华人民共和国医药行业标准

YY/T1651.2—XXXX

医疗器械溶血试验
第2部分：机械力介导的溶血试验

Test for hemolysis of medical devices—Part 2: Mechanically induced hemolysis
assay

征求意见稿

2025.06

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

YY/T 1651《医疗器械溶血试验》分为以下部分：

- 第1部分：材料介导的溶血试验；
- 第2部分：机械力介导的溶血试验。

本文件是YY/T 1651的第2部分。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件由全国医疗器械生物学评价标准化技术委员会（SAC/TC248）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

征求意见稿

引 言

GB/T 16886.4中指出溶血与血液-材料接触的时间和材料性质如表面能、表面形态和表面化学有关，同时与局部机械力和生物化学因素有关。流体动力学因素如血流速度，湍流和非生理剪切力能使红细胞膜变形，并导致膜破裂，发生溶血。而具有机械操作和/或复杂流动路径的器械可能加剧红细胞的损伤。因此推荐以上器械在进行溶血评价时，需考虑机械力介导的溶血性能评价。GB/T 16886.4中并未规定具体的试验方法和结果评价标准，给企业、检测机构和监管机构等的应用带来一定的困难，本文件的目的是建立医疗器械机械力介导的溶血的具体方法，作为GB/T 16886.4的补充。如果产品标准中已经建立了机械力介导的溶血性能评价相关的方法和接受准则，优先参考产品标准。

YY/T 1651旨在建立医疗器械溶血试验的具体试验方法，拟由2个部分构成。

——第1部分：材料介导的溶血试验。目的在于给出与血液接触的医疗器械材料介导的溶血试验方法。

——第2部分：机械力介导的溶血试验。目的在于给出与血液接触的医疗器械机械力介导的溶血试验方法。

医疗器械溶血试验 第2部分：机械力介导的溶血试验

1 范围

本文件规定了与血液接触的医疗器械机械力介导的溶血试验方法。

本文件适用于医疗器械机械力介导的溶血性能的评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 16886.4 医疗器械生物学评价 第4部分：与血液相互作用试验选择

YY/T 1620—2018 心肺转流系统 连续流血泵红细胞损伤评价方法

3 术语和定义

GB/T 16886.4和YY/T 1620—2018界定的术语和定义适用于本文件。

4 概述

在对血液-材料/器械相互作用的评价中，对溶血的评价包括材料介导的溶血和机械力介导的溶血。材料介导的溶血通过材料/器械表面直接接触血液的测试方法，或其可浸提物间接接触血液的测试方法进行评价。因为器械操作产生的湍流和升高的剪切应力（非生理性的）而引起的流体动力学和与表面的动态相互作用导致的溶血（机械力介导的溶血）可能超过了由材料的化学作用引起的溶血。评价机械力介导的溶血时可采用体外、半体内和体内试验。半体内试验和体内试验都需要使用动物，因此统称为动物试验。在评价机械力介导的溶血时，可采用体外试验或动物试验。必要时，可在体外试验之后对某些医疗器械进行动物试验。

可能引起机械力溶血的医疗器械根据动力源的不同分为三种类型：第一种器械在使用过程中提供动力源，其机械力损伤主要来源于器械本身的组件，如心肺转流系统、心室辅助器械、主动脉内球囊泵、人工心脏等使用的血泵等；第二种器械在使用过程中与血液直接接触，同时需要驱动器提供动力源辅助完成机械运动，如体外膜式氧合器、血液透析系统、血液特异性物质吸附器械、献血和机采治疗器械以及细胞分离系统、动脉血液过滤器、心脏切开术/静脉贮血器系统等，其中体外膜式氧合器的运行还需要气体的参与；第三种器械在使用过程中不需要辅助的动力源，依靠血液的流体力学完成机械运动，如瓣膜成形环和心脏瓣膜等。

5 试验对照（可选择）

空白对照组：与试验样品使用相同的方式搭建的测试系统（包括动物试验），不包含试验样品。

对样品组：设计、材料和临床使用都与试验样品相类似，且已被批准的或经长期确认的、安全性已被认可的医疗器械。

6 试验样本量

为了得到可靠的结果，建议至少取3套试验样品进行试验。如设置对照组，对照组应使用与试验样品同一血源。

7 主要仪器和试验器具

离心机、血液分析仪、分光光度计或酶标仪、水浴摇床、离心管、移液器等。

8 体外试验

8.1 概述

体外试验是在体外建立测试系统，对循环之后的血液进行红细胞损伤（溶血）的测定。测定过程中考虑在临床使用条件下的医疗器械的动力学以评价器械的结构作用、血液与材料的机械-物理相互作用、临床相关使用条件范围（如血流速率、旋转速度、压力、接触时间、血细胞比容）等。

评价医疗器械引起机械力介导的溶血的介质是血液，血液来源不同时，由创伤所引起的溶血水平也有所不同，因此血源质量在很大程度上会影响评价结果。影响血液质量的因素可能来源于供血者、采集者和试验者，如供血者的物种和年龄、血液的生化状态、血红蛋白及血细胞比容、采集血液所用的方法、运输和存储方式和时间等。

8.2 试验用血液

推荐采用人血（一般由志愿者提供）、牛血或猪血作为主要的试验用血液来源。从健康牛身上采集几个单位的血液不会影响其健康，因此牛血被建议用于红细胞损伤的评价的首选血源。在试验中不推荐使用两个供血者的混合血，防止因为混合血液导致的溶血增加或红细胞的抗破坏能力的改变。如试验因为血液量的原因需要使用不同供血者的混合血，经验证后可用于试验。

供血人或动物的体温宜正常，无明显的疾病特征，如腹泻、流鼻涕等，并且血液学指标在正常范围。如从屠宰场获得血液宜通过可控的静脉穿刺获得，保证血液不被其他液体污染。

8.3 血液的采集和准备

通过血管穿刺采集血液至血袋中，使用枸橼酸盐-磷酸盐-葡萄糖腺嘌呤（CPDA-1）、硫酸肝素或其他适用的抗凝剂（450 mL 血液添加 63 mL 的 CPDA-1 溶液，或 500 mL 血液中含有 2000 单位~3000 单位肝素）。在采血过程中负压不宜超过 100 mmHg。

举例：每 63 mL 的 CPDA-1 中含有 2000 mg 葡萄糖、1660 mg 枸橼酸钠、188mg 枸橼酸、140 mg 磷酸二氢钠，及 17.3 mg 的腺嘌呤，用氢氧化钠调节溶液的 pH 值（维持在 6.8~7.0）。

新鲜的牛血或猪血通常在 48 h 内使用（包括运输时间）；人源供血宜在采集后 24 h 内使用。采集的血液建议在 2°C~8°C 冷藏保存和运输。血液在使用时宜在(37±1)°C 水浴下加温至生理温度。在温浴过程中要特别避免小气泡的产生，这些小气泡宜在进行体外试验前通过取样口进行消除。

对用于试验的血液在使用前应进行质量控制，如用 80 μm 或更小的滤器过滤去除血液中的微粒、微血栓和聚集的血小板，测定血液的总血红蛋白、血浆游离血红蛋白（PFH）和血细胞比容（Hct），PFH 应小于 1 mg/mL，Hct 应在 (35±2)% 范围内。必要时，监测血液的生理参数如 pH 值和葡萄糖浓

度等。

8.4 测试系统搭建

根据产品的预期临床使用，搭建所需的测试系统。按照第4章中提及的器械分类，测试系统的搭建可能有差别。

第一种器械中血泵可按照 YY/T 1620—2018 的图 1 搭建，测试系统一般由管路、血袋、循环泵、水浴装置以及待测样品组成。系统中带有温度监测，压力监测和血液流速监测设备。

注：测试系统的管路和血袋是经过溶血试验证明合格的产品。

第二种器械可按照 YY/T 1620—2018 的图 1 搭建。体外膜式氧合器需要使用气体，因此系统中应增加气体流速控制设备。其中循环泵、水浴装置、温度监测，压力监测和血液流速监测可使用临床配套设备。

第三种器械依靠血液的流体力学完成机械运动，因此应搭建血流体外模拟装置，包括压力监测、脉动泵、流量监测、模拟腔室等组成部件。受试器械应安装在模拟腔室内，通过调节脉动泵形成与体内相近压力、流速的循环流动溶液以完成器械的机械运动。

8.5 测试系统参数调节

根据产品预期应用的临床实际情况，为了确定可能出现的最坏情况的溶血，通常选择在模拟临床最相关和预期的最坏临床使用条件（如最高血液流速和合适的压力）下进行。循环血液温度一般选择 $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ，如有需要，也可选择 0°C ~ 42°C 范围内的其他温度。

8.6 测试系统冲洗

测试系统中充满 0.9%氯化钠注射液，循环大约 10 min~20 min，以清洗并湿润所有与血液接触的表面。在加血液之前，彻底排空系统中的 0.9%氯化钠注射液。清洗后，将新鲜血液打入血袋中。注意要去除血袋中聚集的空气，使没有空气界面留在血袋里。也可根据产品特点采用其他经验证的预处理方式。

8.7 循环与采样

在循环前从血袋中采集 1 mL~2 mL 血样，用于测量总血红蛋白浓度、PFH 和 Hct。在循环开始后，每小时从采样口采集 1 mL 的血样用于检测。采集血样之前，应将滞留在采样口的血液丢弃。

循环前应彻底排净 0.9%氯化钠注射液，否则为了保证结果的准确性，时间点为 0 的测量值应在回路中循环了 5 min 的血液中测得。

8.8 试验步骤

8.8.1 连接好测试系统，开启装置，将其调整到待测试的试验条件，用 0.9%氯化钠注射液冲洗测试系统。

8.8.2 冲洗结束后，将被加热到预期温度的血液通过重力作用或者其他适宜方式灌输到测试系统中，并排除系统中的 0.9%氯化钠注射液。

8.8.3 在测试系统运行大约 5 min，并且系统中的气泡已排出之后，通过采样口采集第一个血样，作为 0 时间点的血样。

8.8.4 根据产品的使用周期确定测试周期，采样间隔时间根据测试周期确定。如短期使用的血泵和膜式氧合器建议测试周期为 6 h，循环 5 min 后采集第一个血样，之后 6 个血样每隔一小时采集一次。短于 6 h 测试周期的间隔采样时间建议每小时一次。测试周期长于 6 h 的测试周期的间隔采样时间可适当延长。

8.8.5 测定 PFH 和 Hct。PFH 可采用已认可的测定方法进行测定,如 YY/T 1620—2018 中附录 B、YY 0329—2024 中 6.4.2 游离血红蛋白的测定方法。市售的已注册上市的试剂盒,经验证后也可使用。

8.9 结果计算

8.9.1 PFH

计算每组 PFH 的平均值和标准差。通常情况下 PFH 随时间呈线性变化,回归系数应大于 0.95。将每个试验样品或对照的 PFH 值进行线性回归分析。

8.9.2 溶血指数

若 PFH 值线性回归分析呈线性,则按照公式(1)、公式(2)、公式(3)计算每个试验样品或对照在总的时间间隔内的标准溶血指数(N.I.H.)、标准毫克溶血指数(mg.N.I.H.)和修正溶血指数(M.I.H.)。若数据不呈线性,则根据相邻时间点的 PFH 值分段计算各个时间点的溶血指数,计算平均值作为个体的溶血指数。

$$N.I.H = \Delta PFH \times V \times \frac{100 - Hct}{100} \times \frac{100}{Q \times T} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

N.I.H.—标准溶血指数,单位为克每一百升(g/100L);

Δ PFH—在采样时间间隔内,PFH 浓度的增加量,单位为克每升(g/L);

V—回路容量,单位为升(L);

Hct—血细胞比容(%);

Q—流量,单位为升每分钟(L/min);

T—采样时间间隔,单位为分钟(min)。

$$mg.N.I.H. = N.I.H. \times 1000 \dots\dots\dots(2)$$

式中:

mg.N.I.H.—标准毫克溶血指数,单位为毫克每 100 升(mg/100L)

$$M.I.H = \Delta PFH \times V \times \frac{100 - Hct}{100} \times \frac{10^6}{Q \times T \times Hb} \dots\dots\dots(3)$$

式中:

M.I.H.—修正溶血指数;

Δ PFH—在采样时间间隔内 PFH-浓度的增加量,单位为克每升(g/L);

10^6 —修正常数因子,其目的是得到一个没有小数的数据;

Hb—在时间点 0 时总血红蛋白浓度,单位为克每升(g/L)。

8.10 接受准则

根据 PFH 测定值、N.I.H.、mg.N.I.H.和 M.I.H.进行结果判定。

第一种器械,每个试验样品的 N.I.H.均 $<0.1g/100L$ 时,表明试验样品在该试验条件和持续使用的时间内不会引起机械力介导的溶血。N.I.H. $>0.1g/100L$ 时,对照组的设置有助于对结果进行判定和解释,可采用配对 t 检验将各组的 PFH 值、N.I.H.、mg.N.I.H.和 M.I.H.进行统计学分析。若测试器械溶血性更小,N.I.H.可转换成 mg.N.I.H.进行表示,更为直观和方便。

第二种和第三种器械,为了排除辅助动力源的作用,可能需要设置空白对照组和/或对照样品组。可采用配对 t 检验来比较各组的 PFH 值、N.I.H.、mg.N.I.H.和 M.I.H.。

经验证后也可采用其他报告形式，根据产品的性质和临床预期用途确定可接受的准则，如 100mL 血液中，每小时 PFH 增量不超过的限值。

9 动物试验

9.1 试验用动物

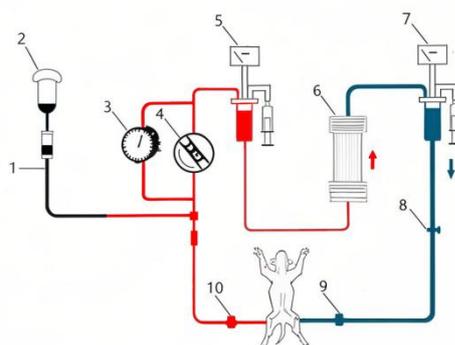
根据产品的设计、结构和预期临床用途，选择合适的动物模型，一般推荐健康的犬、羊和猪。

9.2 样品选择和试验用配套设备

根据所选择的动物模型，选择合适尺寸的产品、配套设备和配套耗材。

9.3 测试系统

9.3.1 半体内测试系统与体外试验测试回路相似，将血袋替换为动物，由动物提供血源。测试系统搭建是将试验样品连接相应管路，管路连接穿刺针，静脉端穿刺入静脉，动脉端穿刺入动脉而形成回路。配套的设备（如血泵或额外选择的驱动器）提供动力源使血液在测试系统中循环起来，在测试过程中根据需要可补充液体。见图 1。



标引序号说明：

- 1 ——液体；
- 2 ——输液器；
- 3 ——压力表；
- 4 ——血泵；
- 5 ——入口捕气器；
- 6 ——试验样品；
- 7 ——出口捕气器；
- 8 ——采样口；
- 9 ——静脉端；
- 10 ——动脉端。

图 1 半体内试验测试系统

9.3.2 体内试验不需要系统搭建，直接将试验样品植入体内，可考虑与临床前大动物研究合并试验。

9.4 试验过程

9.4.1 半体内试验

9.4.1.1 试验样品准备：将试验样品静脉端与动脉端分别接入穿刺针，与设备正确连接，调节流速，用含肝素钠的0.9%氯化钠注射液冲洗排空整个管路内的气泡，0.9%氯化钠注射液充满整个管路。

9.4.1.2 试验动物术前准备：动物术前24 h 禁饲不禁水。

9.4.1.3 动物麻醉：采用适宜的麻醉方式和麻醉品将动物诱导麻醉后，进行气管插管，连接呼吸麻醉机，使用异氟烷（或其他麻醉剂）进行气体维持麻醉。

9.4.1.4 备皮，暴露血管：动物仰卧位，腹股沟区域剃毛，清洁后用碘伏进行彻底消毒，铺上盖单等，暴露试验动物股动脉和对侧的股静脉。

9.4.1.5 建立循环通路：参考临床使用剂量，通过耳缘静脉注射肝素钠溶液，10 min 后将动脉端的穿刺针穿刺进入股动脉，静脉端的穿刺针穿刺进入股静脉，固定管路防止脱落，将尽可能多的管路置于恒温装置中。

9.4.1.6 根据产品预期应用的临床实际情况，调节测试系统的参数。为了确定可能出现的最坏情况的溶血，通常模拟临床最相关和预期的最坏临床使用条件（如最高血液流速）下进行。

9.4.1.7 取血：待管路中的血液完全循环后，从管路的取血口取血液2 mL 备测，开始计时。循环时间和取血时间间隔参考8.8.4。

9.4.1.8 动物监测：试验过程中监测动物状态及血液抗凝状态，选择合适的抗凝方式进行抗凝，防止血液在测试回路中发生凝血。

9.4.2 体内试验

9.4.2.1 试验动物术前准备和动物麻醉同9.4.1.2和9.4.1.3。

9.4.2.2 样品植入：根据产品预期应用的临床实际情况，将样品植入动物体内。

9.4.2.3 取血和动物监测同9.4.1.7和9.4.1.8。

9.5 测定 PFH

PFH 可采用已认可的测定方法进行测定，如YY/T 1620—2018中附录B、YY 0329—2024中6.4.2游离血红蛋白的测定方法。市售的已注册上市的试剂盒，经验证后也可使用。

9.6 评价指标

计算100 mL 血液中，每小时PFH的增量，对照组的设置有助于对结果进行判定和解释，可采用配对t检验将各组的PFH值或PFH增量进行统计学分析。

经验证后也可采用其他报告形式，可根据产品的性质和临床预期用途确定可接受的准则，如100mL 血液中，每小时PFH增量不超过的限值。

10 报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 试验样品信息；
- b) 测试系统信息；
- c) 游离血红蛋白测定方法；
- d) 接受准则；
- e) 试验结果；
- f) 试验结论。

参 考 文 献

- [1] YY 0329—2024 一次性使用去白细胞滤器
- [2] ASTM F183 — 2019 Standard practice for collection and preparation of blood for dynamic in vitro evaluation of hemolysis in blood Pumps
- [3] ASTM F1841—2019 Standard practice for assessment of hemolysis in continuous flow blood pumps

征求意见稿