

中华人民共和国医药行业标准

YY/T1754.6—XXXX

医疗器械临床前动物研究 第6部分：
超声刀急性和慢性试验动物模型

Preclinical animal study of medical devices—Part 6: Acute and chronic experimental
animal model of ultrasonic scalpel

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

(草案稿)

2024 年 8 月

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

国家药品监督管理局 发布

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。

本文件是YY/T 1754《医疗器械临床前动物研究》的第5部分。YY/T 1754已经发布了以下部分：

- 第1部分：通用要求；
- 第2部分：诱导糖尿病大鼠皮肤缺损模型；
- 第3部分：用于评价补片组织学反应与生物力学性能的动物腹壁切口疝模型；
- 第4部分：用于评价敷料促愈合的急性创伤模型；
- 第5部分：用于评价硬脑（脊）膜补片修复性能的兔硬脑膜缺损实验模型；
- 第6部分：超声刀急性和慢性试验动物模型。

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这些专利的责任。

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/TC 248）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

引 言

YY/T 1754旨在建立医疗器械临床前动物研究的具体试验方法，拟由6个部分构成。

- 第1部分：通用要求。目的在于给出医疗器械临床前动物研究的通用要求。
- 第2部分：诱导糖尿病大鼠皮肤缺损模型。目的在于给出诱导糖尿病大鼠皮肤缺损模型的构建方法。
- 第3部分：用于评价补片组织学反应与生物力学性能的动物腹壁切口疝模型。目的在于给出腹腔内置补片组织学反应与生物力学性能的测试与评价方法。
- 第4部分：用于评价敷料促愈合的急性创伤模型。目的在于给出评价创面敷料促愈合性能的急性创伤模型的测试与评价方法。
- 第5部分：用于评价硬脑（脊）膜补片修复性能的兔硬脑膜缺损实验模型。目的在于给出评价硬脑（脊）膜补片修复性能的兔硬脑膜缺损模型的测试与评价方法。
- 第6部分：超声刀急性和慢性试验动物模型。目的在于给出评价超声刀急性和慢性试验安全性及有效性动物模型的测试与评价方法。

医疗器械临床前动物研究 第6部分：超声刀急性和慢性试验动物模型

1 范围

本文件规定了实验用猪超声刀急性和慢性试验模型的制备方法。
本文件适用于软组织切割超声刀的安全性和有效性。

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 16886.2 医疗器械生物学评价 第2部分：动物福利要求

3 术语和定义

GB/T 16886.2界定的术语和定义适用于本文件。

4 动物的选择

猪被广泛使用在动物试验中相对于其他实验动物，猪的解剖和生理参数与人比较接近，可以提供足够的血管尺寸，这些血管与典型人体手术中切割的血管尺寸相近。

推荐选用健康未孕、成年实验用猪，推荐体重 45kg~60kg，雌雄不限。如选用其他种属动物，宜对其适宜性进行说明。宜使用质量合格的实验动物。动物数量的选择宜结合试验目的、产品类型、评价指标及评价方法的准确性等以及统计学因素来综合考虑确定。

5 主要仪器设备

常用手术器械、动物麻醉监护设备、秒表、游标卡尺、医用刻度尺、病理检查设备等。

6 手术过程

6.1 急性试验模型：

6.1.1 对照样品的选择

宜选择应选择已在中国获准上市、具有相同或更宽的适用范围、市场反应良好的作为对照样品。如无境内已上市产品，宜提供所选对照样品的合理理由和证据。

6.1.2. 术前准备

动物术前 12 h 禁食不禁水。测温，称重，常规方式全身麻醉，腹部手术部位剃毛备皮、消毒、铺巾。确认动物处于完全麻醉（肌肉松弛）。

6.1.3 试验步骤:

6.1.3.1 将完全麻醉的动物固定于手术床。

6.1.3.2 常规手术行开腹手术,依次寻找股、髂内、髂外、髂总、肾、肠系膜下等处的血管,游离血管后利用游标卡尺测量血管尺寸,选择适宜的挡位进行切割闭合试验。

6.1.3.3 切割闭合动脉时,从远心端、直径小的血管开始,向近心端移动至少 1cm 以上再进行下一刀切割。

6.1.3.4 切割闭合静脉时,从近心端开始,向远心端移动至少 1cm 以上再进行下一刀切割。

6.1.3.5 使用秒表记录切割效率,记录血管类型、血管直径、使用能量挡位、血管是否闭合成功、留取切割闭合处断端组织,制作切片进行病理学检查。

6.1.3.6 每次切割闭合时,确认血管处于正常的生理状态,试验过程中应保证动物存活。

6.1.3.7 对于“可闭合不超过 3mm 的血管”的超声刀,试验组和对照组应分别对直径不小于 3mm 的血管进行不少于 80 刀的切割闭合试验,试验组和对照组应各对至少 20 处闭合血管进行病理切片评价。

6.1.3.8 对于“可闭合不超过 5mm 的血管”的超声刀,试验组和对照组应分别对直径不小于 5mm 的血管进行不少于 80 刀的切割闭合试验,对直径 3-5mm 的血管进行不少于 40 刀的切割闭合试验。试验组和对照组应各对至少 20 处闭合血管进行病理切片评价,应包括动脉、静脉、直径 3-5mm 血管和直径 5-7mm 血管,直径 5-7mm 血管应超过半数。

6.1.3.9 试验中原则上不得使用试验器械之外的手术缝合操作或闭合夹、双极血管闭合器等器械对试验器械闭合的血管进行提前处理和/或加强闭合。

6.1.3.10 病理学检查:取血管,将切割下的新鲜血管立刻放入生理盐水中进行清洗,把血管内的血液清洗干净后,放置于 10 倍体积的 10%福尔马林固定液中进行固定,固定时间建议至少 48h。

将固定好的血管进行纵切后,常规制片,经过脱水、透明和浸蜡后,置于包埋盒内进行包埋,纵切面朝外。利用切片机进行切片,切片厚度为 3-5 μ m,在 40°C 展片机中展评后,用载玻片捞起,放于烘箱中烤片。将烤好的切片进行常规的 HE 染色,用中性树胶进行封片。用显微镜在低倍镜下检查制片质量,制片应为血管完整、染色清晰。观察项目:血管外膜、中膜及内膜灼伤变性坏死情况;血管内皮细胞的形态,判定细胞坏死位置;利用切片扫描仪对切片扫描后,测量距离切缘最远的组织变性点到切缘的距离,确定热损伤范围。

6.1.3.11 对照组同法进行试验。对照组和试验组切割的部位应尽可能相同。

6.2 慢性试验模型:

6.2.1 对照样品的选择

如采用对照试验:宜选择已在中国获准上市、具有相同或更宽的适用范围、市场反应良好的作为对照样品。如无境内已上市产品,宜提供所选对照样品的合理理由和证据。

6.2.2.1 术前准备

动物术前 12 h 禁食不禁水。测温,称重,常规方式全身麻醉,腹部手术部位备皮、消毒、铺巾。确认动物麻醉(肌肉松弛)。

手术全程使用监护仪监测生命体征。实时监测并记录心电图、心率、呼吸频率、体温和血氧饱和度等,手术中根据实时监测结果来判断麻醉深度并了解实验动物的生理状态。

6.2.2.2 单组试验

- a) 应选择至少 5 只动物,保证具有足够多的血管
- b) 建议选择的术式包括:脾切除、单侧肾切除、卵巢子宫切除等
- c) 采用腹腔镜手术,确认一侧肾脏或脾脏位置,实施左侧肾切除术或脾切除术
- d) 手术过程中,使用医用刻度尺测量血管直径,记录切割闭合的血管及血管束,包括血管部位、直

径、闭合是否成功、所用挡位。较大的血管应游离出单根血管，再进行切割闭合，包含小血管的组织或难以游离的血管束可以整体切割闭合

- e) 将切除的肾脏或脾脏标本取出，血管切割闭合处附近组织用一次性使用组织闭合夹进行标记
- f) 缝合伤口后放回笼具正常饲养，术后一周，每日给予抗生素、观察动物有无死亡及临床症状有无异常，饲养期间不限制活动。
- g) 饲养至少 21 天后，安乐处死动物，大体解剖观察是否有感染、出血、血肿等并发症，如有记录位置。发生感染、出血、血肿等并发症的动物数量占试验动物总数的比例。
- h) 对于“可闭合不超过 3mm 的血管”的超声刀，直径 3mm 以下和略大于 3mm 的血管应仅使用超声刀进行切割，不进行手术缝合操作或使用闭合夹、双极血管闭合器等进行独立闭合或加强闭合，若使用，应予以记录并给出原因，并分析对整体试验结果的影响。对至少 20 处仅使用试验器械处理的包含直径 3mm 以上血管的切割闭合处进行病理切片评价。
- i) 对于“可闭合不超过 5mm 的血管”的超声刀，直径 5mm 以下和略大于 5mm 的血管应仅使用试验超声刀进行切割，不进行手术缝合操作或使用闭合夹、双极血管闭合器等进行独立闭合或加强闭合，若使用，应予以记录并给出原因，并分析其对整体试验结果的影响。对至少 20 处仅使用试验器械处理的包含血管的切割闭合处进行病理切片评价，应包括动脉、静脉、直径 3-5mm 血管和直径 5-7mm 血管，直径 5-7mm 血管应超过半数。
- j) 解剖后取切割闭合血管及邻近组织进行病理分析：取闭合部位的血管周围组织，把血管内的血液清洗干净后，放置于 10 倍体积的 10%福尔马林固定液中进行固定，固定时间建议至少 48h。将固定好的血管及周围组织进行常规制片，经过脱水、透明和浸蜡后，置于包埋盒内进行包埋。利用切片机进行切片，切片厚度为 3-5 μm ，在 40℃展片机中展评后，用载玻片捞起，放于烘箱中烤片。将烤好的切片进行常规的 HE 染色，用中性树胶进行封片。用显微镜在低倍镜下检查制片质量，制片应为血管完整、染色清晰。观察项目包括：血管及周围组织灼伤变性坏死情况；血管及周围组织炎症反应炎性细胞种类及数量、纤维化程度、脂肪浸润等变化。

6.3 对照试验

- 6.3.1 试验组和对照组应在不同动物上进行试验，采用腹腔镜手术，探查腹腔，确认血管部位及尺寸。
- 6.3.2 每次切割的组织均应包含一根血管，动、静脉数量应相当，试验组和对照组切割的部位应尽可能相同，相同/相似部位切割血管尺寸、组织的量两组应相当。
- 6.3.3 血管切割闭合处附近组织用一次性使用组织闭合夹进行标记。
- 6.3.4 对于“可闭合不超过 3mm 的血管”的超声刀，试验组和对照组应分别对直径不小于 3mm 的血管进行不少于 20 刀的切割闭合。每个切割闭合处均应进行病理切片评价。
- 6.3.5 对于“可闭合不超过 5mm 的血管”的超声刀，试验组和对照组应分别对直径 3-5mm 的血管和不小于 5mm 的血管各进行不少于 20 刀的切割闭合。对至少 20 处仅使用试验器械处理的切割闭合处进行病理切片评价，应包括动脉、静脉、直径 3-5mm 血管和直径不小于 5mm 血管，直径不小于 5mm 的血管应超过半数。
- 6.3.6 试验中原则上不得使用试验器械之外的手术缝合操作或闭合夹、双极大血管闭合器械等对试验器械闭合的血管进行提前处理和/或加强闭合。若使用，应予以记录并给出原因，分析其对整体试验结果的影响。

7 结果观察与评价

7.1 急性试验模型：

7.1.1 主要评价指标

- 7.1.1.1 血管闭合成功率：切割闭合成功的血管数量，占总切割闭合次数的比例。观察血管闭合成功与

否：切割闭合后，断端立即渗血视为闭合失败，未见渗血视为闭合成功。

7.1.1.2 切割闭合效率（s）：使用秒表测量每一刀切割闭合所用的时间。

7.1.2 次要评价指标

热损伤范围：采用组织病理学评价方法对热损伤情况进行组织学评估，测量距离切缘最远的组织变性点到切缘的距离。将切割下的血管标本置于中性福尔马林中固定，用石蜡包埋后制作切片，HE 染色病理学分析。对病理切片评价者设盲。

7.2 慢性试验模型：

7.2.1 评价指标

7.2.1.1 生存率：饲养 21 天后最终存活的实验动物不少于 5 只，否则认为试验失败（单组试验）。存活动物数量占试验动物总数的比例。每日观察动物异常情况，项目见附表 1。

7.2.1.2 并发症发生率：大体解剖观察是否有感染、出血、血肿等并发症，如有记录位置。发生感染、出血、血肿等并发症的动物数量占试验动物总数的比例。

7.2.1.3 病理切片评价：组织病理学提供高质量的彩色图像，并应清楚标明损伤区域边缘及测量方法（如适用，慢性试验后损伤区域可能不可见），以及感染、出血、血肿的位置。评价内容包括但不限于炎症反应、纤维增生情况、新生血管形成、脂肪浸润等，见表 2、表 3；

8 结果评价

用平均值±标准差统计分析，组间比较采用独立样本 T 检验， $P < 0.05$ 有统计学意义。

8.1 急性试验模型：

以血管闭合成功率、切割闭合效率（秒：S）为主要评价指标，以热损伤范围为次要评价指标，将试验样品与已上市对照样品的进行统计学比较评价。

8.2 慢性试验模型：

8.2.1 单组试验：以生存率、并发症发生率、病理切片评价主要评价指标

8.2.2 对照试验：切割闭合处进行病理切片评价，将试验样品与已上市对照样品的进行统计学比较评价。

9 记录和报告

9.1 急性试验模型：

记录观察结果并形成一份最终报告并且将对最终研究报告的任何修改以报告修改单的形式形成文件。试验报告宜至少包括：

- a) 试验样品和对照样品信息；
- b) 实验动物信息；
- c) 试验过程情况；
- d) 工作模式和能量挡位的应用情况
- e) 切割的组织情况及数量，闭合的血管类型、血管尺寸、血管数量，设备编号，样本编号，各评价指标的试验结果及其分析等
- f) 组织病理学报告应提供高质量的彩色图像，并应清楚标明损伤区域边缘
- g) 试验结果及评价。

保存所有原始数据、文件、方案、最终报告和样本。原始记录包括手术过程照片和大体标本、病理标本、切片和拍照记录图片等。

9.2 慢性试验模型：

记录观察结果并形成一份最终报告并且将对最终研究报告的任何修改以报告修改单的形式形成文件。试验报告宜至少包括：

- a) 动物模型选择依据简介；
- b) 试验目的；
- c) 试验计划；
- d) 试验材料
- e) 试验机情况（主机、换能器、刀头型号）
- f) 试验用设备和仪器
- g) 药品情况（若涉及）
- h) 试验结果及评价。

应明确试验相关人员，如试验负责人、操作人员、评价人员、记录人员、监查人员

明确每只动物切割的部位和各部位切割的数量

应对手术过程进行详细描述，包括封闭前血管的描述及如何进行封闭，以及封闭后标记的方法。

组织病理学报告应提供高质量的彩色图像，并应清楚标明损伤区域边缘及测量方法（如适用，慢性试验后损伤区域可能不可见），以及感染、出血、血肿的位置。

保存所有原始数据、文件、方案、最终报告和样本。原始记录包括手术过程照片和大体标本、病理标本、切片和拍照记录图片等。

附表：

表 1 临床观察项目

临床观察	观察症状
呼吸	呼吸困难(腹式呼吸、气喘)、呼吸暂停、发绀、呼吸急促、鼻流液
肌肉运动	嗜睡减轻或加重、扶正缺失、感觉缺乏、全身僵硬、共济失调、异常运动、俯卧、震颤、肌束抽搐
痉挛	阵挛、强直、强直性阵挛、昏厥、角弓反张
反射	角膜、翻正、牵张、对光、惊跳反射
眼症状	流泪、瞳孔缩小/散大、眼球突出、上睑下垂、混浊、虹膜炎、结膜炎、血泪症、瞬膜松弛
心血管症状	心动过缓、心动过速、心律不齐、血管舒张、血管收缩
流涎	过多
立毛	被毛粗糙
痛觉丧失	反应降低
肌肉状态	张力减退、张力亢进
胃肠	软便、腹泻、呕吐、多尿、鼻液溢
皮肤	水肿、红斑

表 2 组织学评价（细胞类型/反应）

细胞类型/反应	记分				
	0	1	2	3	4
多形核白细胞	0	极少，1/phf-5/phf	6/phf-10/phf	重型浸润	满视野
淋巴细胞	0				
浆细胞	0				
巨噬细胞	0				
巨细胞	0	极少，1/phf-2/phf	3/phf-5/phf		成片分布
坏死	0	极少	轻微	中度	重度
备注：phf ——每高倍（400×）视野。					

表 3 组织反应评价

反应	记分				
	0	1	2	3	4
新血管形成	0	轻微毛细血管增生，局灶性，1个-3个芽	4组-7组毛细血管增生，辅以成纤维细胞结构	较大范围的毛细血管增生，辅以成纤维细胞结构	广泛毛细血管增生，辅以成纤维细胞结构
纤维化	0	局限性区域	中度厚区域	厚区域	广泛区域
脂肪浸润	0	极少量脂肪细胞伴纤维化	数层脂肪和纤维化	脂肪细胞聚集区域延睛敢辩扩大	周围完全被脂肪细胞包绕