

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

草案稿

2024.7

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/TC248）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

引 言

GB/T 16886.4中指出溶血与血液-材料接触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的评价。GB/T16886.4 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，为该类医疗器械的监管提供依据。

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 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，初步研究可以用体外法。体外研究之后，可对某些医疗器械进行动物模型的半体内或体内模拟研究。

可能引起机械力溶血的医疗器械根据临床使用特点分为三类：第一类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体外膜式氧合器、血泵等，其中体外膜式氧合器的运行还需要气体的参与；第二类器械在使用过程中需要驱动器提供动力源辅助完成机械运动，如血液透析系统、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；第三类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，如瓣膜成形环和机械心脏瓣膜等。

在进行机械力介导的溶血试验时，第三类器械因自身组件不能提供动力源，执行体外试验有一定的困难，因此可以进行体内试验。而第一类器械和第二类器械，均为体外循环使用的器械，可以选择进行体外试验或半体内试验。

5 试验对照

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

对照样品组（可选择）：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、安全使用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，且每套试验样品使用不同的血源，空白对照和对照样品（如选择）应使用与试验样品相同的血源。

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

体外试验需要在体外建立测试回路，对循环之后的血液进行红细胞损伤（溶血）的测定。在测定过程中要考虑进行临床使用条件下的整体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。

8.1 试验用血液

血液是评价器械引起机械力介导的溶血的介质，血源的好坏在很大程度上会影响溶血性能评价的结果。血液来源不同时，由创伤所引起的溶血水平也有所不同。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。

体外试验建议采用人血（志愿者）、牛血或猪血作为主要的试验用血液来源。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。

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。在试验中应避免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。

8.2 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）或硫酸肝素抗凝（450mL 血液需要添加 63mL 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。

注：每 63 mL 的 CPDA-1 中含有 2g 葡萄糖，1.66g 柠檬酸钠，188mg 柠檬酸，140mg 磷酸二氢钠，及 17.3mg 的腺嘌呤。溶液的 pH 值可用氢氧化钠滴定。

新鲜的牛血或猪血在 48h 内使用（包括运输时间）；人源供血宜在采集后 24h 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注意小气泡的产生，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要进行质量控制，如用 80μm 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和血细胞比容、pH 值、碱剩余和葡萄糖浓度等生理参数，血浆游离血红蛋白浓度应小于 1mg/mL 等。

8.3 测试回路搭建

根据产品的预期临床使用，搭建所需的测试回路。按照第 4 章中提到的器械分类，测试回路的搭建可能有差别。

第一类器械中血泵可以按照 YY/T1620 的图示搭建，体外模式氧合器需要使用气体，测试回路一般由管路、血袋、循环泵、水浴装置、气体控制装置以及待测样品组成。回路上带有温度监测，压力监测，血液流速监测和气体流速控制设备，见图 1。

注:测试回路的管路和血袋是经过溶血试验证明合格的产品。

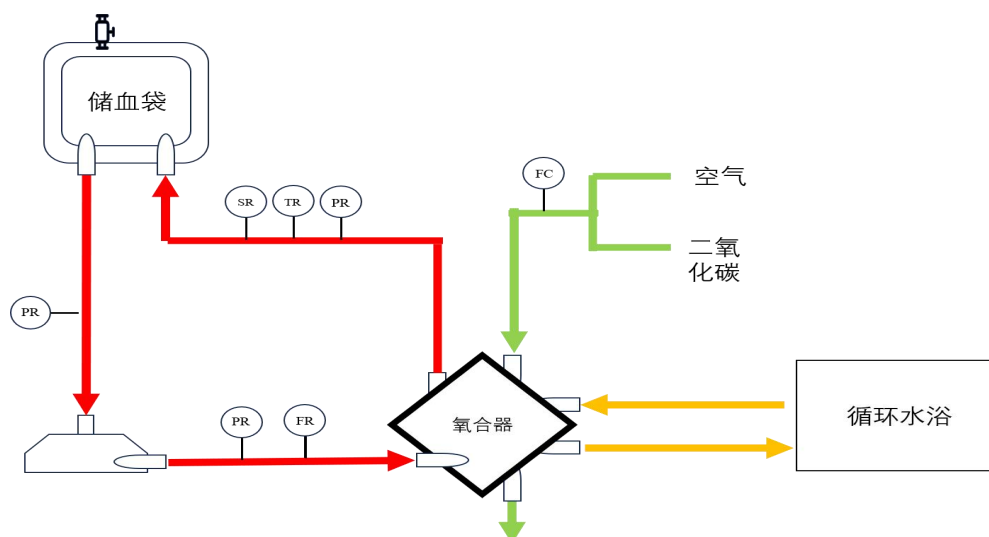
第二类器械按照图 1 搭建，但不需要使用气体，测试回路一般由管路、血袋、循环泵、水浴装置以及待测样品组成。回路上带有温度监测，压力监测和血液流速监测。其中循环泵、水浴装置、温度监测，压力监测和血液流速监测可以使用临床配套设备。

8.4 测试回路参数调节

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 $(37\pm1)^\circ\text{C}$ ，如有需要，也可选择 $0^\circ\text{C}\sim 42^\circ\text{C}$ 范围内的其温度。

8.5 测试

测试回路中充满氯化钠注射液，在回路中循环大约 10min~20min，以清洗并湿润所有与血液接触的表面。在加血液之前，彻底排空回路中的氯化钠注射液。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。



SR:样本取样点, TR:温度监测, PR:压力监测, FR:血液流速监测, FC:气体流速控制

图 1 膜式氧合器体外试验测试回路

8.6 循环与采样

在循环前从血袋中采集 1mL~2mL 血样，用于测量总血红蛋白浓度、血浆游离血红蛋白和血细胞比容。在循环开始后，每小时从采样口采集 1mL 的血样用于检测。采集血样之前，要将滞留在采样口的血液丢弃。

循环前的血样应确定是氯化钠注射液被彻底排净后, 否则为了保证结果的准确性, 时间点为 0 的测量值最好在回路中大约循环了 5 min 的血液中测得。

8.7 试验步骤

8.7.1 连接好测试回路, 开启装置, 将其调整到待测试的试验条件, 用氯化钠注射液冲洗测试管路。

8.7.2 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輸到测试回路中, 并排除回路中的氯化钠注射液。

8.7.3 在测试回路运行大约 5min, 并且回路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。

8.7.4 测试周期建议为 6h, 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。测定血浆游离血红蛋白和血细胞比容。

8.8 评价指标

通过计算修正溶血指数 (M.I.H.) 进行校正。血浆游离血红蛋白作为评价指标, 可采用临床认可的测定方法进行测定。推荐使用 YY/T1620 方法进行测定, 其他方法如 YY/T0329 附录中关于游离血红蛋白测定的方法, 或使用市售的已注册上市的试剂盒等方法, 经验证后也可使用。

修正溶血指数 (M.I.H.) 按下列过程进行计算。

8.8.1 标准溶血指数(N.I.H.)

$$N.I.H. = \Delta \text{ free Hb} \times V \times \frac{100}{Q \times T} \times \frac{100}{Q \times T} \quad (1)$$

式中:

N.I.H.-----标准溶血指数 (g/100L);

$\Delta \text{ free Hb}$ -----在采样时间间隔内, 血浆游离血红蛋白浓度的增加量 (g/L);

V-----回路容量 (L);

Q-----流量 (L/min);

Hct-----血细胞比容 (%);

T-----采样时间间隔, 单位为分(min)。

8.8.2 标准毫克溶血指数(mg.N.I.H.)

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

式中:

mg.N.I.H.-----标准毫克溶血指数 (mg/100L)。

8.8.3 修正溶血指数(M.I.H.)

$$M.I.H. = \Delta \text{ free Hb} \times V \times \frac{100 - Hct}{100} \times \frac{100}{Q \times T} \quad (3)$$

式中:

M.I.H.-----修正溶血指数;

Hb-----在时间点 0 时总血红蛋白浓度 (g/L);

106-----修正常数因子, 其目的是得到一个没有小数的数据;

$\Delta \text{ free H}$ -----在采样时间间隔内, 血浆游离血红蛋白浓度的增加量 (g/L)。

8.9 接受准则

报告推荐以溶血指数的形式给出，即：每循环 100L 血液所增加的血浆游离血红蛋白克数(N.I.H.) 与 M.I.H.值。试验样品的标准溶血指数 $>0.1\text{g}/100\text{L}$ 时，表明试验样品在该试验条件和持续使用的时间内会引起机械力介导的溶血。

其他报告形式，如 100mL 血液中，每小时游离血红蛋白的增量不超过的限值，经验证后也可采用。

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 测试回路

9.3.1 半体内测试回路与体外试验测试回路相似，只是将血袋替换为动物，由动物提供血源。测试回路搭建是将试验样品连接相应管路，管路连接穿刺针，静脉端穿刺如静脉，动脉端穿刺入动脉而形成回路。配套的设备（或额外选择的驱动器）提供动力源使血液在测试回路中循环起来，在测试过程中根据需要可补充液体。见图 2。

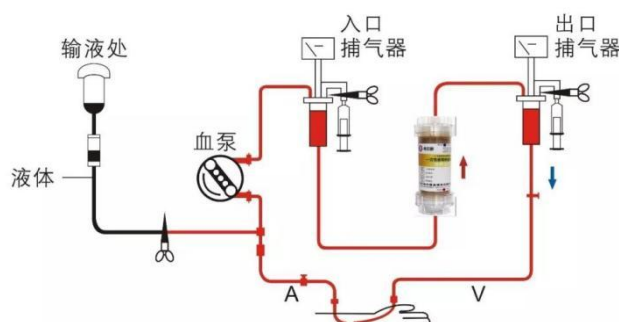


图 2 半体内试验测试

9.3.2 体内试验不需要回路搭建，直接将试验样品植入体内，一般考虑与临床前大动物试验合并试验。

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 24h 禁饲不禁水。

9.4.1.3 动物麻醉：按 $0.4\text{mL}/\text{kg}$ 的剂量，通过耳缘静脉一次性注射戊巴比妥钠溶液诱导麻醉。诱导麻醉后，进行气管插管，连接呼吸麻醉机，使用异氟烷进行气体维持麻醉。

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：通过耳缘静脉注射 5mL 肝素钠溶液，10 分钟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，调节测试回路的参数。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 2mL 备测。开始计时，每隔一个小时从管路的取血口取血液 2mL 备测。整个管路循环 6h。

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 测定血浆游离血红蛋白

血浆游离血红蛋白作为评价指标，可采用临床认可的测定方法进行测定。推荐使用 YY/T1620 方法进行测定，其他方法如 YY/T0329 附录中关于游离血红蛋白测定的方法，或使用市售的已注册上市的试剂盒等方法，经验证后也可使用。

9.6 评价指标

计算 100mL 血液中，每小时游离血红蛋白的增量，根据产品的性质和临床预期用途确定可接受标准。

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] GB/T 16886.4—2022 医疗器械生物学评价 第4部分：与血液相互作用试验选择
- [2] 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] ASTM F1830-2019 Standard Practice for Collection and Preparation of Blood for Dynamic in vitro Evaluation of Hemolysis in Blood Pumps
- [4] ASTM F1841-2019^{e1} Standard Practice for Assessment of Hemolysis in Continuous Flow Blood Pumps