

中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1754.3—XXXX

医疗器械临床前动物研究 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

Preclinical animal study of medical devices—Part 3: Animal ventral incisional hernia
model for evaluating the histologi reaction and biomechanical performance of the
hernia repair patch

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

征求意见稿

2022.7

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3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。

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3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。

医疗器械临床前动物研究 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

1 范围

本文件规定了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。
本文件适用于腹腔内置补片的临床前动物试验研究。

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界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

疝 hernia

体内某一脏器通过先天性或后天性形成的薄弱点、缺损或者孔隙进入另一部位。

3.2

切口疝 incisional hernia

手术切口部位的疝。

注：一般见于腹部手术后，深处的筋膜层裂开，或未愈合，导致内脏或组织在腹腔内压力的作用下突出到正常腹壁层平面以外。

4 动物的选择

宜使用质量合格的实验用动物。宜充分考虑动物与人体在腹壁解剖结构、新生腹膜化程度等方面的可比性。推荐选用健康未孕实验用猪，体重一般不低于40 kg，雌性。如选用其它种属动物，宜对其适宜性进行说明。

动物数量的选择宜结合试验目的、设计类型、评价指标及评价方法的准确性等因素以及统计学因素来综合考虑确定。推荐最终观察点完成有效试验的试验样品组及对照样品组的动物样本量均不少于10只。

5 主要仪器设备

常用手术器械、动物麻醉监护设备、腹腔镜（可选）、万能拉力机、病理检查设备等。

6 对照样品的选择

宜选择材质、结构设计方面最相似的境内已上市同类产品作为对照样品组。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。

7 手术过程

7.1 腹壁切口疝模型的制备

7.1.1 动物术前禁食12 h，禁水6 h。常规方式全身麻醉，腹部手术部位备皮、消毒、铺巾。于下腹部中线做切口，切开皮肤及皮下组织，完整切除长度约5 cm的腹白线至暴露腹膜外脂肪和双侧腹直肌（创面宽度一般为2 cm），切除后可形成直径约4 cm的腹壁腱膜缺损。彻底止血后，缝合皮肤及皮下组织。术中采用严格的外科无菌操作技术。

7.1.2 术后每日观察动物腹壁隆起情况。一般术后2周后手术部位会明显隆起，测定疝环大小、隆起高度，触诊能发现疝内容物，确定腹壁疝造模成功。必要时可通过腹壁超声检查或腹腔镜检查确认腹壁疝造模成功。

7.1.3 建议待术后3个月，腹壁缺损区组织水肿消除再开展疝修补术。修补前测量疝环直径并记录。

7.2 腹壁切口疝修补术

7.2.1 动物术前禁食12 h，禁水6 h。常规方式全身麻醉，腹部手术部位备皮、消毒、铺巾。

7.2.2 推荐采用腹腔镜——开放杂交术式进行疝补片修补。取动物上腹部远离原手术切口及预定置入补片部位，置入套管后，插入腹腔镜观察腹腔内黏连情况、疝环直径等。

7.2.3 另在腹部穿刺两个5 mm套管针，用剪刀、电钩或者超声刀分离黏连（如有），还纳疝内容物。

7.2.4 切开皮肤和疝囊，将补片置入腹腔内，根据疝环大小选择适宜大小的补片。用关腹缝线缝合关闭疝环（腹壁腱膜层缺损），将补片以疝环缺损为中心完全覆盖缺损，补片覆盖范围推荐超过缺损区边缘5 cm。在补片和疝环周围各钉合一圈螺旋钉固定补片，确保补片铺平。拔出套管针，缝合切口。

7.2.5 推荐参照《欧洲疝学会关腹指南》缝合修补。选用外科手术法常规缝合皮下筋膜和切口。

注：亦可使用完全开放术式或者完全腹腔镜下操作术式植入腹腔内置补片修补切口疝。

8 观察时间点的选择

对于产品腹腔侧为不可吸收材料的产品，观察时间点宜选择至少 28 d。

对于产品腹腔侧为可吸收材料的产品，宜根据产品预期降解过程选择多个观察时间点。

9 术后护理

术后待动物苏醒恢复后，常规饲养。

术后1周，每日肌肉注射或口服抗生素消炎。

术前、术后7 d每天测量并记录动物体温，确认有无异常。如有异常，应持续观察至体温恢复正常。

术后7 d每天观察术后切口愈合情况，按照切口清洁程度和愈合等级并记录，见表1。如有异常，应持续观察记录。

推荐术前、术后2周和术后1个月收集动物血样，测定血常规、血凝和血生化等指标。

表1 术后切口清洁程度和愈合等级示例

级别	清洁程度	愈合等级
一类	清洁，无菌切口	甲级愈合，切口拆线后一次性愈合，没有感染
二类	相对清洁，可能会污染的切口	乙级愈合，切口有感染，或拆线后切口裂开，经换药或清创缝合后愈合
三类	被污染或有感染的切口	丙级愈合，切口裂开或感染，没有愈合

10 结果评价

10.1 补片修复效果评价

10.1.1 按照设定的时间点观察补片修复区有无疝复发，疝复发确认标准至少符合下列一项：

- 以观察到明显疝环或腹部体表明显凸起，且凸起高度超过1 cm 确认发生疝复发；
- B 超、腹腔镜检查或手术探查提示腹壁腱膜层缺损。

若发现疝复发，应分析疝复发因素是否为手术因素，如发生感染导致不愈合或补片因素，如补片移位或脱落等，并测定并记录疝环大小。

10.1.2 观察并记录补片移位、固定脱落、折叠等情况。计算补片皱缩率。按照以下方式测量修复部位补片重塑组织面积和厚度：

在取下的组织修复区域内随机选择10个点测量补片重塑组织厚度，记录数值并计算平均值，并与对照样品组进行统计学分析。

10.2 组织学评价

10.2.1 黏连评价

10.2.1.1 通过开腹大体或腹腔镜法观察修复区腹腔内黏连情况。记录黏连位置，按下式计算黏连比例：

$$P = \frac{A_1}{A} \times 100\%。$$

式中：

P——黏连比例；

A_1 ——未被腹膜覆盖的补片面积（即黏连面积）；

A——补片与组织接触总面积。

10.2.1.2 从黏连强度和黏连面积两个方面分别评价补片与腹腔内组织器官的黏连情况，方法见表2。

表2 补片与腹腔内组织器官的黏连情况评价表

评分	黏连强度	黏连面积
0分	补片与组织接触位置无黏连发生	
1分	有1~2处轻微黏连，一拉即开	黏连比例25%以下
2分	2处以上黏连，尚能分离，分离后无痕迹	黏连比例25%~49%
3分	多处黏连，较难分离；或黏连不多但需要锐性器械或电热分离	黏连比例50%~74%
4分	黏连成团，需要锐性器械或电热分离	黏连比例75%以上

10.2.1.3 对黏连情况进行综合评价。黏连情况优良即为临床可接受的黏连情况，评分见表3：

表3 黏连情况综合评分表

	黏连面积评分				
黏连强度评分	0	1	2	3	4
0	优	NA	NA	NA	NA
1	NA	优	优	良	NA
2	NA	优	良	中	中
3	NA	中	中	差	差
4	NA	差	差	差	差
注：NA表示不适合。					

按照下式计算黏连情况优良率：

$$R=\frac{C_1}{C}\times 100\%$$

式中：
R——黏连情况优良率；
C₁——黏连情况复合评分为优或良的例数；
C——总例数。

10. 2. 2 组织病理学评价

10. 2. 2. 1 大体观察评价：局部炎症反应、新生血管化、组织长入情况、补片降解情况、补片周围组织的外观情况等。

10. 2. 2. 2 组织病理学观察评价：沿植入区周围5 mm完整取下修复组织，沿组织中线、动物身长方向切开将组织分为两部分，一部分用于生物力学性能评价，另一部分用于组织病理学评价。

用于病理学评价的组织一般不小于1 cm×1 cm，沿垂直于动物身长方向切开，用10 %中性甲醛固定、脱水、石蜡包埋后用苏木素和尹红染色，切片行病理组织学检查。推荐按表4和表5记录修复组织区炎症细胞类型/反应和组织反应。按表6和表7进行反应类型的半定量记分。建议在40×、100×、200×放大倍数下观察，在200×倍数下选取至少5个视野进行观察，然后取平均值。

表 4 修复组织区炎症细胞类型/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 ^a	6 phf~10 phf	重度浸润	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	重度浸润	成片分布
纤维化	0	局限性区域	中度厚区域	厚区域	广泛区域
坏死	0	极少	轻微	中度	重度
^a phf= 高倍（400×）视野。					

表 5 修复组织区组织反应

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, 1~3 个芽	4~7 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
脂肪浸润	0	极少量脂肪细胞,伴纤维化	数层脂肪细胞和纤维化	植入部位脂肪细胞聚集区域延伸扩大	植入物周围完全被脂肪细胞包绕
细胞浸润 ^a	0	细胞与支架外表接触,未浸入支架内部	细胞浸入支架,但未到中央区域	细胞浸入到支架中央区域	完全浸入
ECM 沉积 ^a	0	宿主 ECM 沉积在支架外表	宿主 ECM 沉积到支架内部,但未到中央区域	宿主 ECM 沉积到支架内部, 包括中央区域	完全沉积
补片支架降解 ^a	0	支架部分降解, 被细胞、血管、宿主组织等分层	支架大部分降解, 结构崩解	支架严重降解, 难以与宿主组织区分	支架完全降解
^a 针对可降解腹腔内置补片。					

表 6 组织学半定量评价系统

类型	组别	
	试验样品组	对照样品组
多形核白细胞		
淋巴细胞		
浆细胞		
巨噬细胞		
巨细胞		
纤维化		
坏死		
合计		
平均值		

分别计算试验样品组各项记分与对照样品组各项记分和,除以样本总量,得到记分平均值。试验样品组平均值减去对照样品组平均值(负值记录为零)。

试验样品判定标准为:

- 无刺激或极轻微刺激(0.0~2.9);
- 轻微刺激(3.0~8.9);
- 中度刺激(9.0~15.0);
- 重度刺激(≥15.1)。

表 7 组织重塑评价示例

类型	组别	
	试验样品组	对照样品组
细胞浸润		
组织长入		
脂肪浸润		

补片支架降解		
新血管形成		
ECM 沉积		
合计		
平均分		

分别计算试验样品组各项记分与对照样品组各项记分和，除以样本总量，得到记分平均值。以记分差值进行组织重塑效果非劣效比较。

10.3 生物力学性能评价

根据重塑修复组织的情况选择以下适宜的生物力学性能测试方法。

——拉伸强度：取出的组织试样离体后，保持组织湿润并立即检测。分别剪裁宽度不小于10 mm，长度不小于50 mm大小组织试样各3块（若不能满足上述尺寸，尽可能裁剪出规则形状的条状样品）。将试样两端固定于万能拉力试验机夹具，两夹具间距约20 mm，按照最小100 mm/min的速度稳定拉伸，直到组织试样断脱，记录单位宽度的最大拉伸力与位移，进行统计学分析。

——顶破强度：如适用或有特定要求时，尽可能大地取出样品。按制造商规定的方法测试样品的顶破强度，试验方法见GB/T 7742.1、GB/T 19976或YY/T 0500等。

注：考虑到补片植入后可能会与组织结合，难以取出厚薄均匀且尺寸足够大的检测样品，故顶破强度仅在取出的样品能满足夹持要求时，才能开展该项性能测试。

11 记录和报告

应形成一份最终报告，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。保存所有原始数据、文件、方案、最终报告和样本。

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) 试验过程及术后护理情况；
- d) 试验结果及评价；
- e) 相关记录附件：相关记录的原始记录，包括手术过程照片（包括但不限于修复区大体观、取材的标本大体观等）和大体标本、病理标本与切片等。

参 考 文 献

- [1] GB/T 7742.1 纺织品 织物胀破性能 第1部分：胀破强力和胀破扩张度的测定 液压法
 - [2] GB/T 19976 纺织品 顶破强力的测定 钢球法
 - [3] YY/T 0500 心血管植入物 人工血管
 - [4] F E Muysoms 1, S A Antoniou, K Bury, G Campanelli, et al. European Hernia Society guidelines on the closure of abdominal wall incisions. *Hernia*. 2015 Feb;19(1):1-24.
 - [5] 王平, 高国栋. 2014年《欧洲疝学会关腹指南》解读. *中华疝和腹壁外科杂志(电子版)*. 2016, 10(02).
 - [6] 腹腔内置疝修补补片动物实验技术审查指导原则（2019年第18号）。
-