

中华人民共和国医药行业标准

YY/TXXXX—XXXX

医疗器械凝血试验方法

The coagulation testing method of medical devices

(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

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。

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：

征求意见稿

引 言

GB/T 16886.4中给出了与血液接触的医疗器械/材料凝血性能指标及试验方法的选择原则，未给出详细的试验步骤及结果判定标准。本文件提供了与血液接触的医疗器械/材料的体外凝血性能的试验方法，可作为GB/T 16886.4中凝血试验方法的补充。

征求意见稿

医疗器械凝血试验方法

1 范围

本文件规定了与血液接触的医疗器械/材料的体外凝血性能指标和试验方法。
本文件适用于医疗器械/材料凝血性能的检测。

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

GB/T 16886.12 医疗器械生物学评价 第12部分：样品制备与参照材料

3 术语和定义

GB/T 16886.4和GB/T 16886.12界定的术语和定义适用于本文件。

4 概述

材料表面与血液接触可激活内源性凝血通路。PTT是测定内源性凝血通路激活常用的方法，通过凝血分析仪测定与医疗器械/材料接触后血浆的部分凝血活酶时间，与材料接触后血浆的PTT缩短表明内源性凝血通路的激活。

血液凝血通路被激活后，还可引起血浆中凝血酶相关的凝血酶—抗凝血酶 III 复合物（TAT）、从凝血酶原转化为凝血酶分裂出的非催化片段（F1.2）和纤维蛋白（FPA）水平的升高，通过测定这些指标，可以判断凝血通路被激活的程度，试验方法见附录 A。

5 试验对照

5.1 空白对照

不与任何材料接触的健康人血浆。

5.2 阳性对照

推荐使用玻璃珠。如选择其它阳性对照，宜对适宜性进行论证。

5.3 阴性对照

推荐使用高密度聚乙烯。如选择其它阴性对照，宜对适宜性进行论证。

5.4 已上市对照器械（可选择）

已经合法上市且被临床接受的，与被检测器械具有相似的血液接触性质的同类器械。

6 主要仪器和试验器具

水浴摇床、离心机、凝血分析仪、枸橼酸钠抗凝的血液采集管、带盖试管（聚乙烯或聚丙烯材质）等。

7 试验介质制备

7.1 总则

推荐使用人血浆作为试验介质。如使用动物血液，宜对其适宜性进行论证。

7.2 血浆制备

采集的新鲜抗凝全血（采集4 h内），通过3000 g离心10 min获得上层血浆，颠倒混匀后置于冰上保存备用。也可使用保存于-80℃的新鲜冷冻血浆。如果使用冷冻血浆，（37±2）℃快速解冻，立即置于冰上。

注：试验结束后对血液及血液接触后的物品按相关规定进行处理。

8 样品制备

按GB/T 16886.12原则制备样品。试验样品、空白对照、阳性对照、阴性对照、已上市对照器械（如选择），各平行3份。所有材料置于试管中，剪成小块保证最大程度地与试验介质接触。将各组试管置于（37±2）℃水浴中，60 rpm振荡孵育（1±0.1）h。孵育后，立即将试验介质转移至预先冰浴的新试管中。

注：材料与试验介质接触的比例推荐按照6 cm²/mL进行。较高的表面积理论上会增加凝血反应对试验材料的敏感性。可以考虑其他接触比例如6 cm²/mL的1.5倍和2.0倍。推荐使用3套单独的器械进行样品制备。

9 试验步骤

9.1 试验前准备

9.1.1 打开凝血分析仪预热至少10 min。

9.1.2 准备凝血分析仪的质控品、试剂和相关耗材。

9.1.3 兔脑磷脂制备：按照兔脑磷脂试剂生产商要求复融兔脑磷脂，在（37±2）℃水浴中，60 rpm振荡15 min，确保所有内容物溶解，涡旋15 s。

9.1.4 制备0.025 M氯化钙（CaCl₂，分析纯）溶液，或购买市售溶液。

9.2 PTT 测定

9.2.1 反应杯和CaCl₂溶液置于（37±2）℃预热。

9.2.2 检测前，涡旋每个样品15 s。

9.2.3 转移100 μL血浆至预热的反应管中，使血浆在（37±2）℃平衡60 s。注意不要有气泡。

9.2.4 在每个反应管中，加入 100 μL 预热的兔脑磷脂，开始 2 min 的活化步骤。兔脑磷脂使用前要混匀。

9.2.5 活化后，每个反应管中加入 100 μL 预热的 0.025 M CaCl_2 溶液。

9.2.6 凝血分析仪读取凝固时间（最长至 5 min）。

9.2.7 每管血浆测定 2 次。

注：对于全自动凝血分析仪，9.2.1、9.2.3-9.2.6 自动进行。

10 结果计算

10.1 计算并报告每管血浆 2 次重复测定的平均值。

10.2 计算每组 3 管[试验样品、空白对照、阳性对照、阴性对照、已上市对照器械（如选择）]测定结果的平均值和标准差。

10.3 按下式计算与空白对照的百分比：

$$C(\%) = \frac{A}{B} \times 100\%$$

式中：

A——试验样品、阳性对照、阴性对照或已上市对照器械（如选择）平均值；

B——空白对照平均值；

C——试验样品、阳性对照、阴性对照或已上市对照器械（如选择）平均值与空白对照平均值相比的百分比（%）。

11 试验结果有效性

11.1 每管血浆 2 次重复测定结果的变异系数应 \leq 15%，否则重新进行试验。

11.2 每组 3 管测定结果的每个值应在每组平均值 \pm 20%范围内，否则重新进行试验。

11.3 阳性对照与空白对照相比的百分比应 $<$ 50%。阴性对照与空白对照相比的百分比应 $>$ 80%。但是如果阴性对照和阳性对照之间的差异 $>$ 30%，则阳性对照结果在空白对照的 50%~60%之间也是可以接受的。如阳性对照的结果为 55%，则阴性对照的值应 $>$ 85%。如果试验不能满足此要求，则应重复试验直至对照满足这些要求。

12 结果判定

12.1 百分比

试验样品与空白对照相比的百分比应 \geq 80%，如不在此范围内，则与上市对照器械之间的比较有助于判定试验器械/材料是否可能被临床接受或不接受。

12.2 统计学分析

在用百分比进行结果判断的基础上，可同时考虑采用统计学分析进行评价。

试验样品与空白对照或阴性对照采用方差分析方法进行统计学分析，如果 p 值 $<$ 0.05 则认为差异具有统计学意义。

如果试验样品与空白对照或阴性对照之间无统计学差异，则认为试验样品通过测试。

如果试验样品的结果与空白对照或阴性对照相比降低，且具有统计学差异，则试验样品与上市对照器械之间的比较有助于判定试验器械/材料是否可能被临床接受或不接受。

13 试验报告

试验报告中应包含下列信息：

- 试验样品名称、规格型号和批号；
- 样品和试验对照制备方法；
- 试验条件和试验步骤；
- 试验结果；
- 结果评价；
- 结论。

征求意见稿

附录 A
(资料性)
TAT 试验方法

A.1 总则

TAT、F1.2 和 FPA 等指标的测定均可采用 ELISA 测定，本附录以 TAT 为例进行描述，F1.2 和 FPA 的测定可参照本附录。

A.2 试验对照

A.2.1 空白对照

不与任何材料接触的健康人全血。

A.2.2 阳性对照

推荐使用玻璃珠。如选择其它阳性对照，宜对适宜性进行论证。

A.2.3 阴性对照

推荐使用高密度聚乙烯。如选择其它阴性对照，宜对适宜性进行论证。

A.2.4 已上市对照器械（可选择）

已经合法上市且被临床接受的，与被检测器械具有相似的血液接触性质的同类器械。

A.3 主要仪器和试验器具

水浴摇床、离心机、酶标仪、枸橼酸钠抗凝的血液采集管、带盖试管（聚乙烯或聚丙烯材质）等。

A.4 试验介质制备

A.4.1 总则

推荐使用人全血作为试验介质。如使用动物血液，宜对其适宜性进行论证。

A.4.2 全血制备

混合后颠倒混匀，置于冰上保存备用。

注：试验结束后对血液及血液接触后的物品按相关规定进行处理。

A.5 样品制备

按GB/T 16886.12原则制备样品。试验样品、空白对照、阳性对照、阴性对照、已上市对照器械（如选择），各平行3份。所有材料置于试管中，剪成小块保证最大程度地与试验介质接触。将各组试管置于（37±2）℃水浴中，60 rpm振荡孵育（1±0.1）h。孵育后，立即将试验介质转移至预先冰浴的新试管中。

注：材料与试验介质接触的比例推荐按照 6 cm²/mL 进行。较高的表面积理论上会增加凝血反应对试验材料的敏感性。可以考虑其他接触比例如 6 cm²/mL 的 1.5 倍和 2.0 倍。推荐使用 3 套单独的器械进行样品制备。

A.6 试验步骤

A.6.1 试验前准备

取孵育后全血，通过 3000 g 离心 10 min 获得上层血浆，颠倒混匀后置于冰上保存备用。按要求准备 TAT 试剂盒。

A.6.2 检测 TAT

A.6.2.1 按试剂盒说明书进行血浆中 TAT 含量的检测。

注：根据实际情况，可能需要将检测样品进行适当稀释。

A.6.2.2 根据试剂盒要求绘制标准曲线，计算 r² 值和拟合曲线的方程式。结果应满足试剂盒的要求。

A.6.2.3 计算每孔 TAT 的含量。

A.7 结果计算

A.7.1 计算每组 3 管[试验样品、空白对照、阳性对照、阴性对照、已上市对照器械（如选择）]测定结果的平均值和标准差。

A.7.2 按下式计算与空白对照的百分比：

$$C(\%) = \frac{A}{B} \times 100\%$$

式中：

A——试验样品、阳性对照、阴性对照或已上市对照器械（如选择）平均值；

B——空白对照平均值；

C——试验样品、阳性对照、阴性对照或已上市对照器械（如选择）平均值与空白对照平均值相比的百分比（%）。

A.8 试验结果有效性

阳性对照的含量应高于空白对照，且差异具有统计学意义（p<0.05）。

阴性对照与空白对照相比的百分比应在 80%~120% 范围内。

A.9 结果判定

A.9.1 百分比

试验样品与阴性对照相比的百分比应在 80%~120% 范围内，如不在此范围内，则与上市对照器械之间的比较有助于判定试验器械/材料是否可能被临床接受或不接受。

A.9.2 统计学分析

在用百分比进行结果判断的基础上，可同时考虑采用统计学分析进行评价。

试验样品与空白对照或阴性对照采用方差分析方法进行统计学分析，如果 p 值 < 0.05 则认为差异具有统计学意义。

如果试验样品与空白对照或阴性对照之间无统计学差异，则认为试验样品通过测试。

如果试验样品的结果与空白对照或阴性对照相比升高，且具有统计学差异，则试验样品与上市对照器械之间的比较有助于判定试验器械/材料是否可能被临床接受或不接受。

A.10 试验报告

试验报告中应包含下列信息：

- 试验样品名称、规格型号和批号；
- 样品和试验对照制备方法；
- 试验条件和试验步骤；
- 试验结果；
- 结果评价；
- 结论。