**利用动物研究评价用于器官保存的医疗器械**

**行业和美国食品药品监督管理局工作人员指南**

**本文件发布日期：2019年5月8日**

**本文件草案发布日期：2017年9月15日**

如对本文件有任何问题，请致电301-796-7030，联系DHT3A：肾脏、胃肠道、肥胖和移植器械分部。

|  |  |
| --- | --- |
| FDA Center for Devices and Radiological Health logo | **美国卫生与公共服务部****美国食品药品监督管理局****医疗器械和辐射健康中心** |

**前言**

**公众意见**

电子版意见和建议可随时提交至http://www.regulations.gov，供FDA审议。可将书面意见提交至：美国食品药品监督管理局备案文件管理部，地址为5630 Fishers Lane, Room 1061, (HFA-305), Rockville, MD 20852。所有意见或建议均应注明备案文件编号FDA-2018-D-2310。下次修订或更新本文件时，FDA将考虑实施该意见。

**更多副本**

更多副本可通过互联网获得。您也可以通过电子邮件发送请求至CDRH-Guidance@fda.hhs.gov获取本指南的副本。请使用文件编号1500083，以便明确您需要的指南。

**目录**

[I. 引言 1](#_Toc90389373)

[II. 范围 2](#_Toc90389374)

[III. 定义 3](#_Toc90389375)

[IV. 概述和一般研究设计注意事项 3](#_Toc90389376)

[A. 手术持续时间 5](#_Toc90389377)

[B. 污染 5](#_Toc90389378)

[C. 可运输性 5](#_Toc90389379)

[V. 再灌注模型 5](#_Toc90389380)

[A. 体外模型 5](#_Toc90389381)

[B. 体内模型 7](#_Toc90389382)

[C. 结论 8](#_Toc90389383)

**利用动物研究评价用于器官保存的医疗器械**

**行业和美国食品药品监督管理局工作人员指南**

|  |
| --- |
| ***本指南代表食品药品监督管理局（FDA或本机构）目前关于该主题的思考。其不会为任何人创造或赋予任何权利，也不会对FDA或公众产生约束。如果替代方法满足适用的法律法规的要求，则可以使用该方法。如需讨论替代方法，请联系标题页负责实施本指南文件的FDA工作人员或办公室。*** |

1. **引言**

在全国范围内，等待接受移植的患者名单虽然继续增长，但捐赠和移植率却停滞不前。可供移植的器官短缺，推动了器官保存技术的新一轮创新。在动物模型中对这些技术进行评价，以证明它们适用于临床实践。

本指南旨在利用动物研究评价用于器官保存的医疗器械的最佳规范提供建议。 有关可能适用于此类研究的药物非临床研究质量管理规范（GLP）要求的信息，您应参考21 CFR第58部分《非临床研究质量管理规范》。FDA建议平衡“3R”（替换、减少和完善）[1](#_bookmark1)伦理原则以及监管最小负担原则，目的是使用最小数量的动物产生数据，以证明器械的安全性。您应考虑制定、开展和展示这些动物研究的最佳规范，同时纳入现代动物保护和使用策略。

FDA意识到，随着此类技术的快速发展，利用动物研究来评价用于器官保存的医疗器械的最佳规范也在不断发展。本指南无意于成为全面或规定性指南。相反，本指南旨在突显FDA对如何利用动物移植模型评价器官保存技术的初步想法，并仔细考虑监管最小负担原则。虽然FDA预计，目前这些动物研究最初将提交支持试验用器械豁免（IDE）申请，也可能用于支持上市前审批申请（PMA）、上市前通知（510(k)）、人道主义器械豁免（HDE）申请或创新产品分类和注册请求。

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

1 Russell WMS, Burch, RL. The Principles of Humane Experimental Technique. London: Methuen & Co.; 1959. Special edition published by Universities Federation for Animal Welfare, 1992.可在网上查询：<http://altweb.jhsph.edu/pubs/books/humane_exp/het-toc.>

FDA鼓励行业成员提交受理前咨询申请，以获得评价用于器官保存的医疗器械的特定动物研究方案反馈。受理前咨询的程序信息详见[医疗器械申请的反馈请求：预申请项目和与美国食品药品监督管理局工作人员的会议。](https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/requests-feedback-and-meetings-medical-device-submissions-q-submission-program)[2](#_bookmark3)

FDA指导性文件，包括本指南在内，不具有法律强制责任。相反，指南表明了该机构目前关于该主题的思考，除非引用具体的法规或法律要求，否则只应视为建议。在本机构指南中使用词语“应”是指建议或推荐进行某一事项，并非强制要求。在本文件中，术语“您”和“您的”均指行业成员，也被称为“申请人”或“提交者”。术语“我们”和“我们的”均指FDA。

1. **范围**

本指南文件中的建议适用于从器官获取到移植这一期间通过机器灌注（低温或常温）保存人体血管化了的器官的器械。由卫生资源和服务管理局（HRSA）负责监督人体器官的捐赠和移植，而不是FDA。

本指南适用的许多器械目前正在进行产品开发且尚未分类。本指南文件也适用于但不限于受以下法规监管的器械：

* + 产品代码QBA（用于在移植前保存标准供体肺的常温机器灌注系统）；
	+ 产品代码PHO（用于移植最初不可接受的供体肺的常温保存系统）；以及
	+ 21 CFR 876.5880及产品代码KDN（系统、灌注、肾脏）。

本指南文件中的建议不适用于旨在通过冷静态储存保存器官的器械，包括与产品代码KDK、PIN、KDL和MSB相关的器械，这些器械根据21 CFR 876.5880（隔离肾脏灌注和运输系统及附件）作为II类器械接受监管。此外，受21 CFR 1271.3（d）（1）和《公共健康服务法案》第351和361节监管的人类细胞、组织或基于细胞或组织的产品（HCT/P）以及用于保存和运输这些产品的器械也不在本指南文件的范围内。

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

2 [https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/requests-feedback-and-meetings-](https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/requests-feedback-and-meetings-medical-device-submissions-q-submission-program) [medical-device-submissions-q-submission-program](https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/requests-feedback-and-meetings-medical-device-submissions-q-submission-program)

1. **定义**

根据本文件，应使用下述定义：

**冷缺血时间**：器官处于低温（≈ 4°C）且未获得足够血液供应的时间。

**冷静态储存**：目前保存大多数器官的标准方法。将器官浸泡在封闭容器中的保存液中，使其温度保持在≈ 4°C。

**标准扩展了的器官**：未达最佳移植标准的供体器官（例如，心脏死亡后捐赠（DCD）的供体器官）。标准可能因器官类型不同而不同。

**缺血再灌注损伤**：缺血一段时间后恢复血液供应而引起的组织炎症和氧化损伤。

**机器灌注**：一种利用带泵器械驱动灌注液的运动以保存器官的动态方法。对器官进行机器灌注的器械还可能包含氧合器、热交换器、传感器、一次性电路以及用于处理和显示血液动力学和代谢数据的计算机单元。可以在不同温度下进行机器灌注，例如，≈ 4℃（低温），≈ 37℃（常温）。

**灌注液**：通过供体器官泵送的溶液。

**再灌注**：恢复器官的血液供应。

**热缺血时间**：器官在体温或室温下未获得足够血液供应的时间。

1. **概述和一般研究设计注意事项**

FDA建议采用基于风险的方法制定评价用于器官保存的医疗器械的动物研究方案。为了确定在动物研究中待评价的具体风险，您应考虑拟定适用范围所固有的风险，以及通过文献审查、实验室测试、探索性动物研究和酌情使用同意捐赠者的人体器官进行研究的灌注研究以确定的您的器械的其他已知风险。例如，与冷静态储存相比，机器灌注可能使器官面临因器官操作和灌注回路污染而造成的其他风险。另一个示例是，用于保存标准扩展了的器官的器械也可能使器官面临与用于保存标准器官不同的风险。

在确定具体风险及其相应失效模式后，您应制定具有重点目标和先验验收标准的方案。FDA建议酌情包括所选验收标准的科学依据。此外，FDA建议您提供选择特定动物模型进行研究的理由，并仔细考虑动物模型与人体在解剖学、生理学和免疫学方面的相似性和差异。

此类动物研究的典型实验设置将包括三个阶段：器官获取、器官保存和器官再灌注（参见下文[图1](#_bookmark6)）。

器官获取

获取

实验组（如，机器灌注）

对照组

（如，冷静态储存）

隔离器官

灌注

保护

再灌注

（体外或体内）

体内移植

或

隔离器官

灌注

或

体内移植

**图1.评价用于器官保存的医疗器械的典型动物研究的三个阶段**

从适当动物模型供体处获得所选器官，以开始对器官保存器械进行安全性评价。然后，使用实验方法（如机器灌注）或对照方法（如冷静态储存）保存这些器官。在体内或体外模型中对两组器官进行再灌注，以评价再灌注损伤。因其复杂性，将在第[V](#_bookmark10)节详细讨论再灌注阶段。在以下章节中，我们的建议侧重于一般研究设计注意事项上。

1. **手术持续时间**

手术持续时间对移植研究的结果有显著影响。您应仔细考虑以下关于实验手术持续时间的建议：

* + **获取阶段**：FDA建议规定热缺血时间和冷缺血时间，作为动物器官获取方案的组成部分。缺血时间应反映使用器械的适用范围。例如，在评价用于保存心脏停搏供体所供器官的器械时，应在诱导动物心脏骤停后将器官留在原位，从而延长热缺血时间。
	+ **保存阶段**：在开始保存之前，应根据*先验*验收标准，评价成功插管并将器官连接至器械上的时间。总保存时间应考虑到与器械使用适用范围相一致的预期最大运输时间。保存时间可能因器官类型而异。
	+ **再灌注阶段**：在保存阶段结束时，应按照标准方案对器官进行冷冲洗，并在开始体外再灌注或体内移植之前将其暴露于实际制备期。将在第[V](#_bookmark10)节详细讨论再灌注持续时间。
1. **污染**

与冷静态储存相比，机器灌注因灌注电路和器官操作的复杂性增加而具有更高污染风险。因此，FDA建议在灌注过程结束时对灌注液样本进行细菌培养。

1. **可运输性**

如果您的器官保存器械是可运输器械，您的动物研究方案应评价该器械和器官是否能承受运输过程中的湍流（例如在救护车上行驶）。运输过程中的正常操作（如倾斜器械）可能会危及器官支持系统或导致灌注参数的瞬时变化。FDA建议制定和评价策略，以减轻机械创伤造成器官损伤的风险。例如，如果您计划使用血管扩张剂调节运输过程中血流动力学参数（如血管压力）中的峰值，您应评价所用血管扩张剂的数量是否达到预期效果。

1. **再灌注模型**

对器官进行保存后，临床关注集中于再灌注损伤的严重程度。通常有两种评价再灌注损伤的模型：体内模型，即器官移植到受体动物体内；体外模型，即在隔离情况下进行器官再灌注。为了建立更有针对性的动物研究方案，在近期器官保存技术进展的背景下讨论各模型的优点和局限性至关重要。

1. **体外模型**

新型器官保存技术（如常温机器灌注）的发展开启了在移植前对器官进行体外监测和评价的潜力。与更传统的体外模型（如Langendorff心脏模型）相比，利用这些新技术的体外模型能够在更相关的生理条件下持续收集更详细的血液动力学、代谢和功能数据。此外，与体内模型相比，这些体外模型通常提供更可控的研究环境和较少的潜在混杂因素（即可能影响研究结果解释的非器械相关因素）。然而，体外模型有两个重要局限性：

* + 凝血和炎症级联之间相互作用导致的缺血再灌注损伤评价受到以下因素的阻碍：1）在基于血液的灌注液中使用抗凝剂（如肝素）；2）缺乏全身免疫应答。
	+ 器官存活率与体外模型中收集的血液动力学、代谢和功能数据之间的联系尚未得到明确证实。虽然在体外再灌注过程中可以对灌注液进行采样，以测量器官损伤和功能的生物标志物水平，但其中一些生物标志物视为探索性标志物，作为移植后器官存活率的替代项并未获广泛接受。

虽然其中一些局限性是体外模型所固有的，但其他局限性可通过改进研究设计来缓解。FDA对体外模型的研究设计提供以下建议：

* + **对照组**：由于上述局限性，体外模型不能确定缺血再灌注损伤的绝对程度。因此，我们建议在研究中纳入一个对照组（如冷静态储存），以便评价损伤的相对影响。
	+ **近似生理条件**：为了模拟体内条件，体外再灌注应在近似生理条件（如温度、压力、流量、氧合）下进行。应使用探索性动物研究或使用不适合移植的人体器官的研究确认关键器械组件（如泵、传感器、氧合器）的性能。
	+ **灌注液及其添加剂**：如果您的器械使用基于血液的灌注液，FDA建议使用全血。如果您计划通过推注或连续输注的方式使用添加剂（如碳酸氢钠、血管扩张剂）补充您的灌注液，FDA建议建立预定条件管理这些添加剂，以减少偏差。
	+ **再灌注持续时间**：您应规定体外再灌注的持续时间，以便对器官功能和存活率进行充分评价。例如，如果您计划评价肝脏在保存后合成凝血因子的能力，您在指定再灌注持续时间时应考虑凝血因子的半衰期。
	+ **生物标志物**：缺血再灌注损伤可能会影响单个器官的几种不同结构和功能；因此，FDA建议评价一组生物标志物（如分子、功能、成像），以评价器官损伤和器官功能。由于上述体外模型的局限性，应特别考虑对内皮细胞损伤和炎症级联激活的生物标志物进行评价。
	+ **水肿**：FDA建议在再灌注前后对器官进行称重，以评价机器灌注相关水肿的风险。机器灌注参数（如保存时间、灌注液成分、温度、压力和流量）会导致水肿，转而对器官功能产生不利影响。例如，已知长时间的机器低温灌注心脏会诱发心肌水肿，[3](#_bookmark13),[4](#_bookmark14)这与心室僵硬度和舒张功能障碍加剧直接相关。
	+ **组织病理学**：您应在再灌注前后从器官的多个代表性区域收集组织活检。FDA建议由合格独立病理学家对组织病理学进行评价，侧重于使用适当染色剂对内皮细胞的完整性进行评价（如CD31免疫组化染色剂用于评价肝脏窦状内皮细胞的完整性）。
1. **体内模型**

保存器官后，在存活模型中移植器官是评价保存技术的最直接方法。与体外模型相比，体内模型依靠与临床最相关的终点——移植物存活率，而不是器官损伤和功能的生物标志物。此外，体内模型允许全身免疫应答以及凝血和炎症级联之间的复杂相互作用，因此可以评价缺血再灌注损伤的总体程度。尽管有这些优势，体内模型引入了许多与器械无关的变量，可能影响移植结果并阻碍对数据进行有意义的解释。为了应对这些挑战，FDA建议您仔细考虑以下几点：

* + **器官受体中的混杂因素**：FDA建议您收集器官受体中的基线血流动力学资料，并提供免疫抑制剂，以分别限制血流动力学不稳定和免疫异质性对移植结果的影响。

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

3 Van Caenegem O., et al., “Hypothermic continuous machine perfusion improves metabolic preservation and functional recovery in heart grafts.”*Transpl Int* (2015) 28(2):224-231.

4 Collins MJ, et al., “Preserving and evaluating hearts with ex vivo machine perfusion: an avenue to improve early graft performance and expand the donor pool.”*Eur J Cardiothorac Surg* (2008) 34(2):318-325.

* + **移植手术中的混杂因素**：动物研究应由在外科移植和术后护理方面具有丰富经验的合格人员在高度控制的设施中进行。包括抗生素和免疫抑制剂方案以及术后监测和护理在内的标准程序均应适用于实验组和对照组。为了减少混杂因素（如排斥）的风险，FDA建议随访期不超过移植后一周，终点为评价早期损伤模式。
1. **结论**

在器官保存领域，体外和体内模型的前景和效用将随着技术的不断创新和我们对基础科学认识的提高而不断发展。一方面，随着机器灌注更紧密地模拟生理条件，更多生物标志物获接受作为器官损伤和功能的替代项，在体外模型中收集的数据有望越来越多地预测移植结果，随后减少研究中使用的动物数量。另一方面，体内模型可能利用具有特定免疫缺陷或缺血耐受性的基因工程动物，以模拟临床情况。

虽然FDA理解模型的选择可能受到许多因素（包括利用动物和其他可用资源）的限制，但您的研究应主要基于研究目标和器械的风险。例如，体外模型可能足以支持之前已获批IDE申请的器械修改或方案修改。体内模型可能是必要的，以支持首个器械或具有多个新组件的灌注解决方案的IDE申请。最后，这两种模型不应视为相互排斥；体内模型可用于验证体外模型所获发现。FDA意识到每一种情况均与众不同，并且我们对这些器械的理解还在不断发展，因此建议申请方提交受理前咨询申请，以获得对拟定动物研究的反馈。

