ICS 11.100.20
C 30

YY

中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1754.2—2020

医疗器械临床前动物研究 第2部分：诱导糖尿病大鼠皮肤缺损模型

Preclinical animal study of medical devices—Part 2: Model of skin defect in induced diabetic rats

2020-09-27 发布　　2021-09-01 实施

国家药品监督管理局　发布

手机发送防伪码至13720082315
网站www.cnfw315.com
电话4006882315
刮涂层 查真伪

前　言

YY/T 1754《医疗器械临床前动物研究》包括以下两个部分：

——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。

本部分为YY/T 1754的第2部分。

本部分按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

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。

本部分由国家药品监督管理局提出。

本部分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。

本部分起草单位：中国食品药品检定研究院、山东省医疗器械产品质量检验中心、济南磐升生物技术有限公司。

本部分主要起草人：韩倩倩、张平、王鸾鸾、刘增祥、王春仁、邢志青、李文婷。

引　言

糖尿病是一种由于体内胰岛素不足而导致的以高糖为特征的内分泌代谢性疾病。糖尿病病人由于微血管和周围神经病变，导致皮肤营养障碍，易受损、易继发感染，且修复能力差，从而引发溃疡、坏疽和皮肤缺损。目前，各种皮肤创面修复材料及医疗器械产品已经在临床上广泛应用，部分产品在糖尿病患者皮肤修复方面也展现了一定的效果。

本部分旨在建立经济且有效的临床前动物模型，为预期用于糖尿病引起的皮肤损伤病人的皮肤创面修复材料及产品的临床前有效性评价提供参考。

本部分主要对诱导糖尿病大鼠皮肤缺损模型的构建方法进行了描述，并没有规定具体的评价方法。当采用本模型建立评价方法时，需依据产品特性及具体应用对方法进行确认，该部分也不宜作为评价某材料或器械是否有效的唯一依据。

医疗器械临床前动物研究
第2部分：诱导糖尿病大鼠皮肤缺损模型

1 范围

YY/T 1754的本部分规定了诱导糖尿病大鼠皮肤缺损模型的构建方法。

本部分适用于治疗糖尿病引起的皮肤溃疡及破损的医疗器械产品的临床前有效性评价。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 实验原理

通过注射链脲佐菌素(STZ)，诱导大鼠糖尿病，切除糖尿病大鼠背部皮肤构建糖尿病大鼠皮肤缺损模型。

4 仪器和试剂

4.1 主要仪器

4.1.1 电子体重秤。

4.1.2 照相机。

4.1.3 显微镜。

4.1.4 血糖仪。

4.2 试剂

4.2.1 链脲佐菌素(STZ)。

4.2.2 柠檬酸钠(分析纯)。

4.2.3 柠檬酸(分析纯)。

5 实验动物

5.1 总则

动物试验应在经国家认可机构批准并符合实验动物福利的实验室内进行，并且应符合GB/T 16886.2的要求。

5.2 动物的种属和要求

常用的实验动物为大鼠，SPF级，5～6周龄。动物体重差异应不超过平均值的±20%。选择敏感

和稳定的品系，推荐 SD 雄性大鼠，如选用其他品系大鼠需对其适宜性进行说明。

6 试验过程

6.1 试验程序

6.1.1 溶液配制

0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液配制：将 2.10 g 柠檬酸加入双蒸水 100 mL 配成柠檬酸母液（A 液）；将 2.94 g 柠檬酸三钠加入双蒸水 100 mL 配成柠檬酸母液（B 液）；将 A、B 液按 1∶1.32（体积比）混合，调定 pH=4.0，注意避光防潮。将 STZ 溶于 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液中，新鲜配制 10 mg/mL 浓度的 STZ 溶液，过滤除菌。避光保存，现配现用。

6.1.2 糖尿病模型制作

SD 雄性大鼠适应性饲养 7 d，饮食情况正常且体重无明显变化，采血测定血糖水平正常的大鼠用于建立糖尿病大鼠模型。动物禁食 12 h 以上，腹腔注射 STZ 60 mg/kg～80 mg/kg。注射 STZ 后每天密切观察所有试验大鼠的饮水和进食情况。7 d 后，用血糖仪测量血糖，空腹血糖大于或等于 11.1 mmol/L，或非空腹血糖值大于 16.7 mmol/L，说明大鼠诱导糖尿病成功。

6.1.3 制备皮肤缺损

糖尿病大鼠模型构建成功后 1 d，开始建立皮肤损伤模型。大鼠经麻醉后置于手术台上，背部朝上，剔除背毛，充分暴露背部皮肤，常规外科手术消毒后，在大鼠背部去除 2 cm×2 cm 全层皮肤（其他经验证的创面也可以）。

6.1.4 供试品给样

宜将试验大鼠随机分成空白对照组、供试品组和/或对照品组（如市售商品化产品），每组数量满足统计学分析要求。空白对照组仅用无菌纱布/敷贴覆盖大鼠背部的皮肤创口并固定，不做其他治疗；供试品组和/或对照组则用相关供试品和/或对照品覆盖大鼠背部的皮肤创口，并用无菌纱布/敷贴覆盖并固定。所有动物均单笼饲养，每天观察动物的活动情况及饮食状况，及时更换垫料。

6.2 试验结果及评价

6.2.1 总则

推荐观察期至少为 21 d，并根据产品特性选择合理的观察时间点。至少包含 6.2.2～6.2.4 的观察指标。

6.2.2 大体创面恢复情况

宜通过对大鼠创面渗出、粘连以及创口回缩等情况，大体判断创面的恢复情况。

6.2.3 创面愈合率

手术后宜观察时间点，对创面进行拍照，用图像处理软件或经验证的其他软件测算创面面积。创面愈合率为创面原始面积与创面未愈合面积的差值与创面原始面积的比率。创面愈合率的计算见式（1）：

$$R=\frac{A_0-A_t}{A_0}\times 100\% \qquad \cdots\cdots(1)$$

式中：

R ——创面愈合率；

A_0——创面原始面积，单位为平方厘米（mm^2）；

A_t——创面未愈合面积，单位为平方厘米（mm^2）。

6.2.4 组织病理学检查

观察期时间点，在创面上切取皮肤组织，宜包含供试品给样部位和周围正常皮肤组织，通过 HE 染色观察大鼠皮肤组织的修复情况、肉芽组织生长、炎症反应等情况。

注：可采用组织学半定量分析方法对组织病理学结果进行分析，参见附录 A。

6.2.5 结果评估

采用适宜的统计学方法评价试验结果，并对空白组、供试品组和/或对照品组各组结果进行综合分析评估。

7 试验报告

试验报告宜至少包含如下信息：

a） 供试品信息；

b） 试验动物信息；

c） 试验条件；

d） 试验程序；

e） 试验结果及评价。

附 录 A
（资料性附录）
诱导糖尿病大鼠皮肤缺损模型组织学半定量分析方法举例

A.1 取材

手术后各个取材时间点将包含皮肤创面的皮肤组织切除，展平后置于固定液中固定，作为病理标本。

A.2 切片制备

垂直于皮肤取材，常规 HE 制片步骤进行切片制备及 HE 染色，封片后镜检。

A.3 组织病理学半定量评价的方法

每张病理切片观察皮肤结构、上皮再生、肉芽组织等指标，并对以上指标进行创伤愈合主要指标评价（横向）与创伤愈合阶段评价（纵向）的分析。皮肤创伤愈合模型的组织病理学半定量标准化评价体系具体评分见表 A.1 和表 A.2。

表 A.1 创伤愈合主要指标半定量评价（横向）

评分	上皮再生	肉芽组织
0	创口边缘表皮增厚	无
1	上皮迁移（<1/3）	<1/4
2	上皮迁移（≥1/3，<2/3）	≥1/4，<2/4
3	上皮迁移（≥2/3，<3/3）	≥2/4，<3/4
4	上皮完全被覆创面	≥3/4，≤4/4
5	上皮完全被覆创面且角化	>4/4

表 A.2 创伤愈合的阶段评价（纵向）

评分	阶段	名称	评价标准
0	阶段 A （Phase A）	炎症期 （Inflammation）	炎症反应明显，肉芽组织内含多少不等的炎性细胞浸润、新生毛细血管及成纤维细胞
1	阶段 B （Phase B）	增生早期 （Proliferation-early）	镜下可见大量由内皮细胞增生形成的实性细胞索及扩张的毛细血管，向创面垂直生长，并以小动脉为轴心，在周围形成袢状弯曲的毛细血管网。在毛细血管周围有许多新生的成纤维细胞，此外常有大量渗出液及炎性细胞

表 A.2（续）

评分	阶段	名称	评价标准
2	阶段 C （Phase C）	增生中期 （Proliferation-middle）	较多量新生的毛细血管、纤维母细胞及多少不等的炎性细胞浸润于肉芽组织之中
3	阶段 D （Phase D）	增生晚期 （Proliferation-late）	皮肤已经基本愈合，水分逐渐吸收减少；炎性细胞减少并逐渐消失；毛细血管闭塞、数目减少，少数毛细血管改建为小动脉和小静脉；成纤维细胞产生的胶原纤维增多，并逐渐变为纤维细胞
4	阶段 E （Phase E）	重塑期 （Remodeling）	成纤维细胞产生的胶原纤维增多，并逐渐变为纤维细胞。胶原重排、肉芽组织成为成熟的结缔组织和/或瘢痕

A.4 结果记录

观察和记录不同组糖尿病大鼠创伤部位的愈合情况以及病理学上皮再生、肉芽组织、创伤愈合阶段评价等方面的按表 A.3 记录检查结果。

表 A.3 创伤愈合主要指标半定量评价记录表

组别	取材时间/d	主要指标			
		上皮再生	肉芽组织	愈合阶段	愈合评分

中华人民共和国医药
行业标准
医疗器械临床前动物研究
第2部分：诱导糖尿病大鼠皮肤缺损模型
YY/T 1754.2—2020
*
中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)
网址 www.spc.net.cn
总编室：(010)68533533　发行中心：(010)51780238
读者服务部：(010)68523946
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销
*
开本 880×1230　1/16　印张 0.75　字数 14 千字
2020年11月第一版　2020年11月第一次印刷
*
书号：155066·2-35235　定价　18.00 元

如有印装差错　由本社发行中心调换
版权专有　侵权必究
举报电话：(010)68510107

YY/T 1754.2-2020