



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1477.6—2020

接触性创面敷料性能评价用标准试验模型 第 6 部分：评价促创面愈合性能的 动物 2 型糖尿病难愈创面模型

Standard test models for primary wound dressing performance evaluation—
Part 6: Animal diabetes type 2 refractory wound surface model for
wound healing evaluation

2020-09-27 发布

2021-09-01 实施

国家药品监督管理局 发布

前 言

YY/T 1477《接触性创面敷料性能评价用标准试验模型》，包括以下部分：

- 第1部分：评价抗菌活性的体外创面模型；
- 第2部分：评价促创面愈合性能的动物烫伤模型；
- 第3部分：评价液体控制性能的体外创面模型；
- 第4部分：评价创面敷料潜在粘连性的体外模型；
- 第5部分：评价止血性能的体外模型；
- 第6部分：评价促创面愈合性能的动物2型糖尿病难愈创面模型。

本部分是YY/T 1477的第6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。

本部分由山东省医疗器械产品质量检验中心归口。

本部分起草单位：山东省医疗器械产品质量检验中心、中国食品药品检定研究院、江阴贝瑞森生化技术有限公司。

本部分主要起草人：孙立魁、汤京龙、顾铭、车国喜、康瑞娟、王硕、展荣凯。

引 言

动物 2 型糖尿病模型是评价接触性创面敷料促进难愈创面愈合的性能较为理想的动物模型。获得 2 型糖尿病动物通常有两种方法,一种方法是用化学药物(如四氧嘧啶等)破坏正常动物胰腺 B 细胞来获取,如诱发性糖尿病大鼠等。另一种方法是选用基因突变型的遗传性糖尿病动物,常用的为 db/db 小鼠,其 Leptin 受体点突变导致信号通路障碍,具有肥胖、高血糖、伤口愈合不良、代谢障碍等典型的 2 型糖尿病的症状。

动物的创面愈合与人类不同,大多以收缩为主,而人类的伤口是以表皮细胞的爬行覆盖为主。本部分给出的自发性 2 型糖尿病(db/db)小鼠模型,其皮肤内的肌纤维母细胞表达量减少,创面愈合以表皮细胞爬行覆盖为主,是较为理想的评价接触性创面敷料促进难愈创面愈合的动物试验模型。

接触性创面敷料性能评价用标准试验模型

第6部分：评价促创面愈合性能的动物2型糖尿病难愈创面模型

1 范围

YY/T 1477 的本部分规定了动物2型糖尿病难愈创面模型。
本部分适用于难愈性创面敷料促创面愈合性能的评价。

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 主要设备

小动物呼吸麻醉机(可选)、皮肤环钻 16 mm~20 mm、无菌手术器械、干热灭菌器、病理检查设备。

4 实验动物

4.1 总则

所有的动物试验宜在经国家认可机构批准并符合实验动物福利全部适用法规的实验室内进行,并且还宜符合 GB/T 16886.2 的要求。

4.2 动物的种属和要求

常用的实验动物为6周~8周 db/db 小鼠(C57BLKS/J),雌雄各半,每组6只~8只。如选用其他品系动物,宜对其适宜性进行说明。试验前将动物适应性饲养5 d~10 d。适应性饲养3 d时需进行小鼠体重及血糖测定,血糖值 ≥ 18 mmol/L方可作为实验用小鼠;若血糖水平不达标,则需禁食不禁水饲养8 h后再一次测量血糖值,此时血糖值 ≥ 16 mmol/L方可作为实验用小鼠。

5 试验程序

5.1 难愈性创面模型建立

5.1.1 手术器械及皮肤环钻灭菌

医用手术剪、医用弯镊、显微剪、皮肤环钻用自来水清洗后用蒸馏水浸泡冲洗干净锡箔纸包裹后放入清洁的器械盒中,干热方式灭菌,160℃维持2 h或180℃维持30 min。

5.1.2 2 型糖尿病难愈创面模型制备步骤

5.1.2.1 脱毛

将小鼠用小动物呼吸麻醉机或适宜的方法进行麻醉,待动物完全麻醉后以趴伏状四肢固定于鼠板上。动物背部用脱毛膏脱毛,将小鼠进行保温恢复。脱毛宜在创面制造前 1 d~3 d 进行。

5.1.2.2 创面制造

将小鼠用小动物呼吸麻醉机或适宜的方法进行麻醉后,放置于操作台面实验垫单上,呈趴伏状,尽量保证动物背部皮肤平展,用 75%消毒酒精棉片或 0.5%碘伏,以切口中心部位由内向外缓慢旋转,擦拭小鼠背部皮肤 3 次,用皮肤环钻平缓用力在小鼠背部后 1/2 区域进行全皮切除,形成单个创面。

5.2 敷料接触

根据创面敷料临床使用及换药等情况进行敷料接触。

- a) 模型对照组:制造创面后,使用创面敷贴(仅用于对创面进行保护),以尽量减弱外在因素影响;
- b) 创面敷料试验组:制造创面后,使用创面敷料对创面进行覆盖,并使用创面敷贴对创面进行保护,以尽量减弱外在因素影响。

5.3 模型评价

5.3.1 观察

换药时小鼠状态、创面出血情况、渗出量、创面感染情况、创面愈合情况、敷贴周围皮肤损害情况等观察记录。

5.3.2 创面愈合率

拍摄创面照片用来统计愈合率。形成创面后第一天后开始拍照,以后每次换药时小鼠创面进行拍摄记录,采用相同高度、角度拍照,强制闪光以减轻色差,拍照时在伤口边缘放置伤口尺来反映伤口尺寸。形成创面后至少观察至 14 d,必要时可以延长至 21 d,采用面积计算软件进行创面面积计算,创面边缘表皮爬行前沿之间的面积定义为未愈合区。创面愈合率的计算,表示为:

$$R = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100\%$$

式中:

R ——创面愈合率;

A_0 ——创面初始面积;

A_t ——创面在时间 t 时的面积。

5.3.3 组织病理学检查

试验结束后,用制造创面所用皮肤环钻割取创面部位全层皮肤,剪取创面中间部位 3 mm~5 mm 宽度创面组织,苏木-伊红(HE)染色后进行组织病理学观察,对创面愈合过程中新生皮肤占创面面积比例、胶原纤维增殖程度、炎细胞浸润轻重等情况进行评估。创面愈合结果评价见表 1。

表 1 创面愈合结果评价

记分	评价类型		
	新生皮肤占创面面积比例	炎细胞浸润情况	胶原纤维增殖情况
1	$\leq 1/3$	1 phf~5 phf	成纤维细胞增殖
2	$> 1/3 \sim < 2/3$	5 phf~10 phf	纤维组织增生
3	$\geq 2/3$	重度浸润	纤维组织之间出现胶原蛋白
注：phf——每高倍(400 倍)视野。			

5.4 结果评估

采用创面愈合率评价创面愈合速度,组织病理学评分评价创面愈合质量,采用适宜的统计学方法,比较创面敷料试验组和模型对照组的结果,对各组结果进行综合分析评估。

6 试验报告

报告宜至少包括以下信息:

- a) 实验动物:品系、来源、性别、体重、周龄、血糖水平和饲养条件;
- b) 试验样品;
- c) 试验日期;
- d) 试验方法;
- e) 试验结果;
- f) 结果评价及分析。