

ISO 11135:2014

环氧乙烷灭菌确认



目录

1. 环氧乙烷性质、灭菌机理及灭菌特性
2. 相关标准
3. 影响环氧乙烷灭菌的因素
4. 灭菌确认：**DQ、IQ、OQ、PQ (MPQ、PPQ)**
5. 灭菌报告书的书写
6. 再确认
7. 产品导入与过程等效
8. 日常管理和控制
9. 传统产品放行与参数放行
10. 潜在失效模式与后果分析
11. 市场化灭菌的探讨与管理
12. 飞行检查中有关灭菌问题的案例分析

- 1、环氧乙烷气体性质**
- 2、环氧乙烷灭菌机理及特点**
- 3、影响环氧乙烷灭菌的主要因素**

1、环氧乙烷气体性质

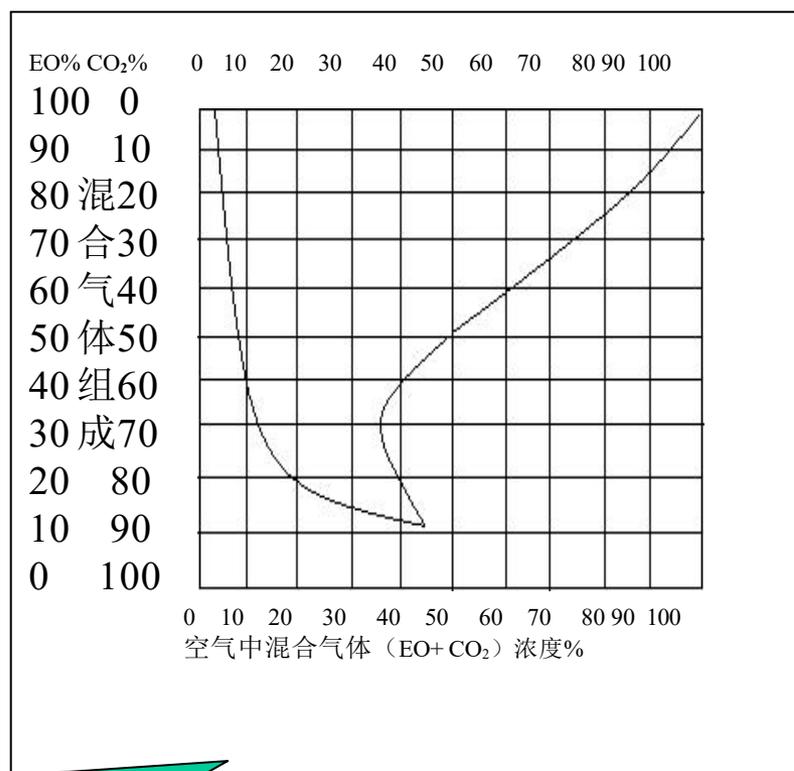
※ 环氧乙烷为易燃、易爆的有毒气体，常温、常压与空气形成的爆炸极限为2.6%~100%。温度高于40℃时环氧乙烷开始聚合，所以比较难保管。为提高安全性，通常用二氧化碳或其它惰性气体作为稀释剂保管使用。

项目	成分		
	环氧乙烷	二氧化碳	
分子式	C ₂ H ₄ O	CO ₂	
分子量	44	44	
外观	无色	无色	
气味	有特征的乙醚臭 ^(※ 1)	无臭	
比重 (空气=1 30℃)	1.52	1.52	
液体密度 (20℃) g/ml	0.8711	0.771	
沸点 (℃)	10.73	-56.6	
引火点 (℃)	-18 以下	—	
燃烧范围 (%)	2.6~100	—	
允许浓度 (ppm) ^(※ 2)	1	5, 000	
蒸汽压 绝对压力 (kgf/cm ²)	0℃	0.67	35.5
	10℃	1.01	45.9
	20℃	1.49	58.4
	30℃	2.12	73.4

(EO+CO₂)混合气体的爆炸范围

从右边的曲线可以看出：

EO与CO₂混合气体中，随着CO₂的百分比浓度不断提高，混合气体在空气中的燃烧范围不断缩小。若采用（EO20%+ CO₂ 80%）的混合气体时，其在空气中的燃烧范围约为20%~40%。



这也是很多企业采用混合气体的重要原因

(EO+N₂)混合气体的爆炸范围

从右边的曲线可以看出：

EO: N₂: 空气，在不同的比例下的爆炸极限，参考TIR15。

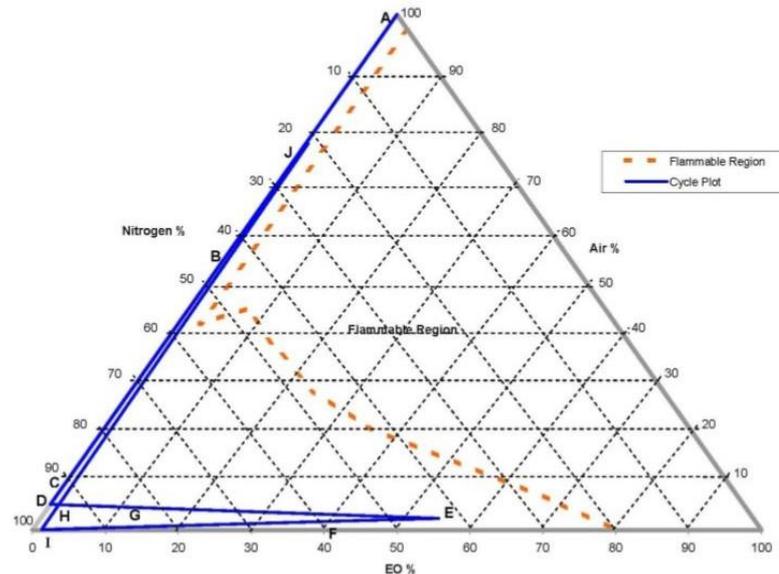


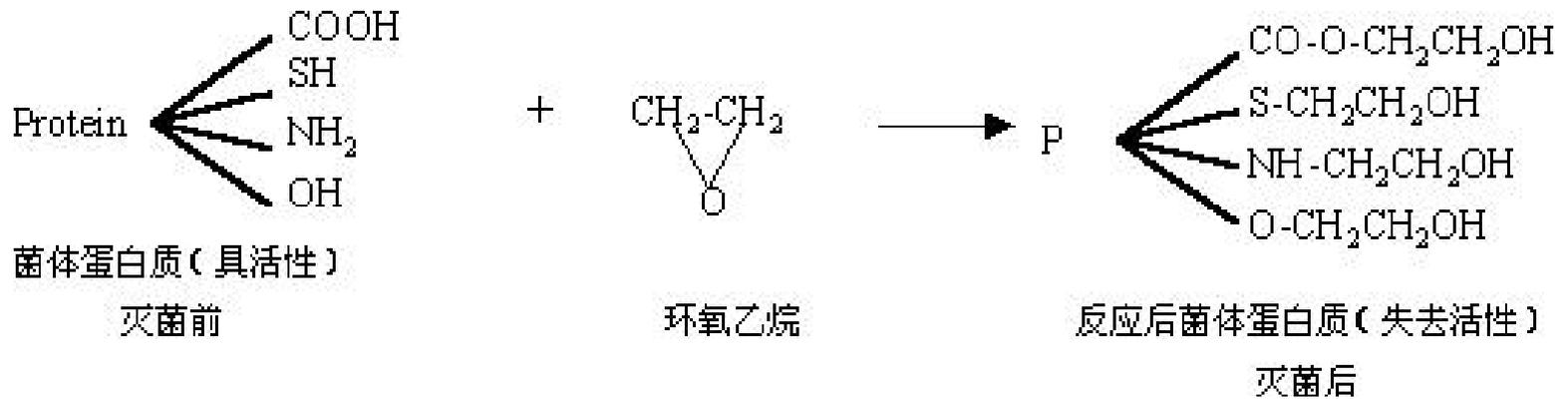
Figure 1 — EO Cycle Flammability Diagram

有源（电池）医疗器械
环氧灭菌使用最多

2、环氧乙烷灭菌机理及特点

※灭菌机理：

环氧乙烷在作用时，其环状结构断裂，经羟化（-CH₂-CH₂-OH），与菌体内蛋白质上的氨基-NH₂，羧基-COOH，羟基-OH等活性基团烷基化作用，使酶代谢过程发生障碍，从而破坏菌体的新陈代谢，造成微生物的死亡。从而达到杀灭微生物的目的。



让我们一起复习一下微生物的基础知识

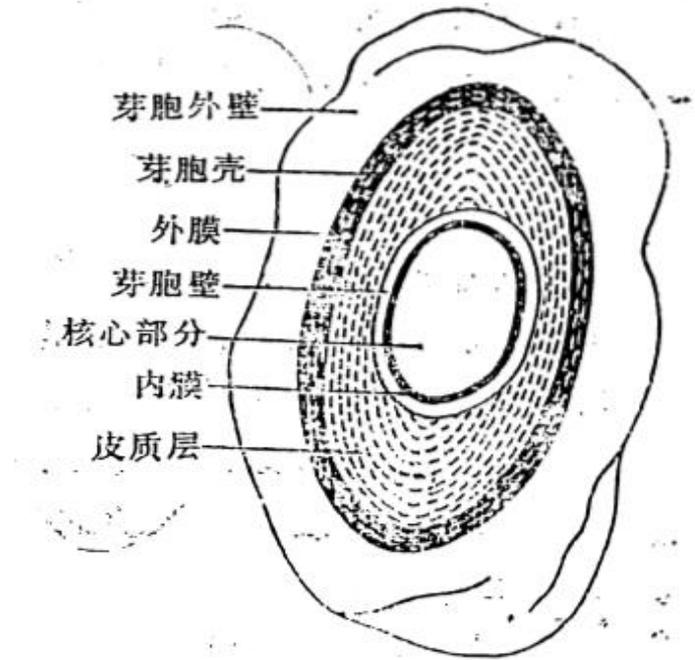
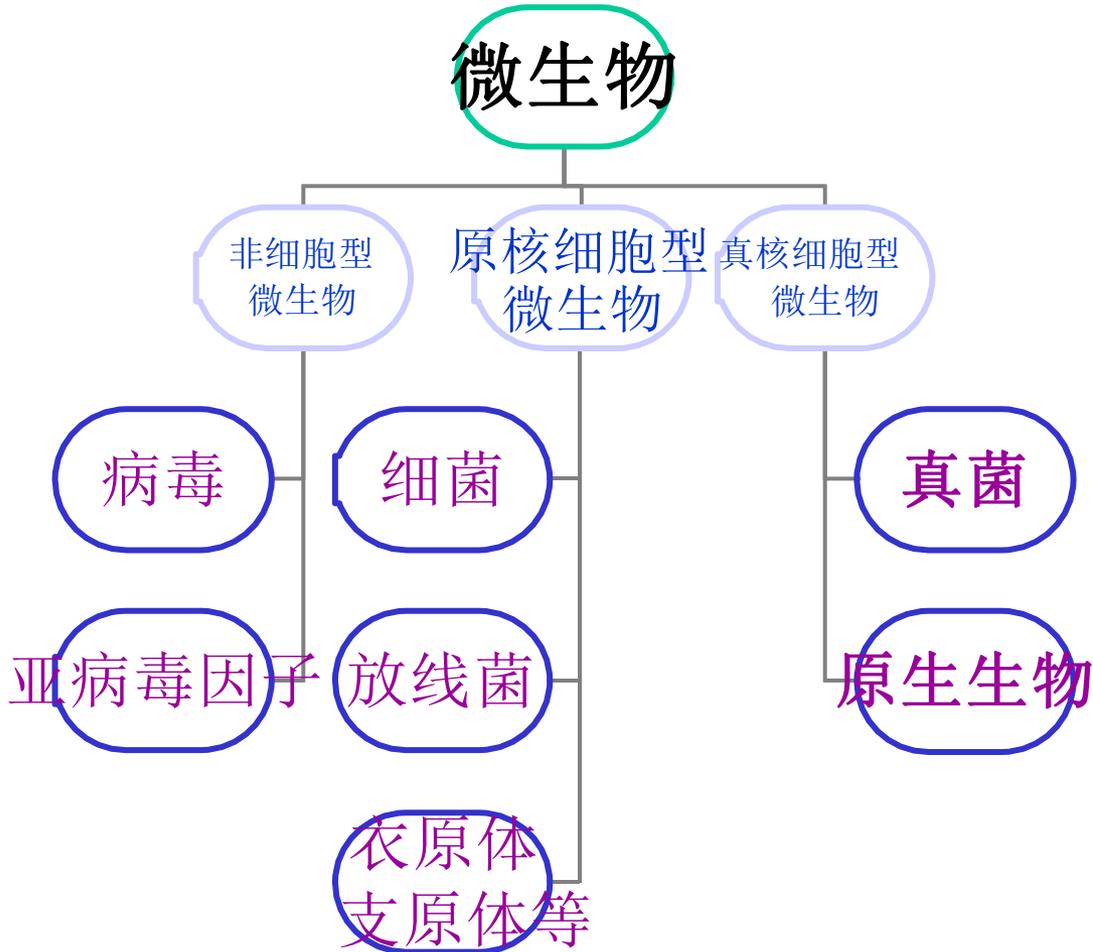


图 1-20 细菌芽胞的结构

环氧乙烷气体灭菌特点

环氧乙烷气体灭菌的优点：

- a) 在低温下可进行灭菌，可对温度、湿度较敏感的物品进行灭菌处理

环氧乙烷气体灭菌通常在 50~60 温度下可进行灭菌，所以可用于不耐高温处理的物品进行灭菌。可减少因加热引起对物品的损耗。

- b) 对所有的微生物都有效，包括细菌芽孢在内的所有微生物都可进行有效杀灭

- c) 环氧乙烷穿透力较强，能穿透各种纺织品、纸、薄的塑料制品、皮包制品，所以在包装状态下可进行灭菌。

- d) 对金属无腐蚀作用

以金属为主，对其它物质也没有腐蚀性，所以适用于大多数物品的灭菌。

环氧乙烷气体灭菌特点

环氧乙烷气体灭菌的缺点:

a) 灭菌所需时间长

与蒸汽灭菌法比较所需灭菌时间长，从数小时到数十小时不等。

b) 具可燃性、毒性

不同的混合灭菌气体有不同的燃烧范围，因此应注意避免火源。另外，为了去除灭菌后的残留环氧乙烷气体，需进行充分的通风处理。

c) 可发生化学反应生成化合物

在一定条件下，环氧乙烷与有机物反应，生成二次化合物。

d) 所需成本较高

与蒸汽灭菌法比较，环氧乙烷灭菌所需成本较高

常用标准

环氧乙烷相关标准

ISO 11135-2014

GB18279.1(2)-2015(idt)

AMMI TIR 14、TIR15、TIR16、TIR17、TIR20、TIR28、TIR74

YY/T1403、YY/T1267、YY/T1268、YY/T1302.1、YY/T1302.2、TT/T1463

生物指示物标准BI

ISO 11138.1(2)-2017

GB18281.1(2)-2015

ISO11138.7-2021

GB19972

ISO11138-8-2021

EO 残留标准

ISO 10993-7:2018

GBT16886.7

包装标准

ISO 11607-2019

GB/T19633-1-2

通用灭菌标准

ISO 14937-2009

GB/T 19974-2018

常用标准

灭菌动力学

ISO 14161-2009

GB/T 19972-2018

重复灭菌

ISO 17664-2017

微生物标准

ISO 11737-1-2 2018

GB19973-1-2

AMMI/ST 72

YY/T0618

设备标准

EN 1422:2014

YY0503-2015

环氧乙烷气体标准

GB/T13098

YY/T0822

化学指示剂+

ISO11140-1-2014

GB 18282.1-2015

ISO 11135:2014扫描

标准扫描

- 1.范围
- 2.参考标准
- 3.定义与术语
- 4.质量管理体系
- 5.通则
- 6.过程和设备特性
- 7.产品定义
- 8.过程定义
- 9.确认
- 10.日常监视和控制
- 11.产品灭菌放行
- 12.保证过程有效性、 、 、 、 、 附录 **ABCDE**

3、影响环氧乙烷灭菌的主要因素

与其它任何一种灭菌法比较，环氧乙烷灭菌法是目前最复杂、最难控制的灭菌方法，这不仅仅是环氧乙烷气体的特殊性质，更因为是有众多的因素参与影响环氧乙烷的灭菌效果。

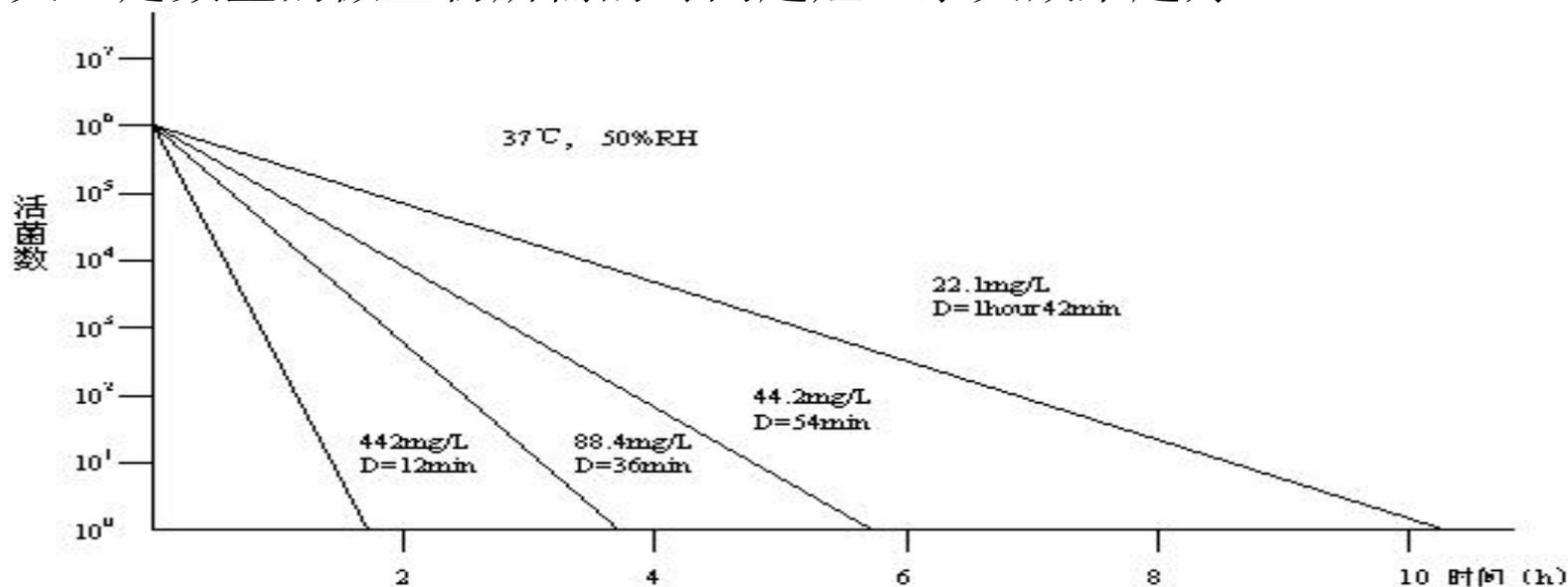
包括产品包装形式、产品结构、微生物数量种类、真空度、EO浓度、温度、湿度、时间等。

其中，浓度，温度，湿度，时间是直接影响环氧乙烷灭菌效果的最重要的四要素，我们将其称为环氧乙烷灭菌四要素。



环氧乙烷浓度---从时间与空间去把握

作为影响环氧乙烷灭菌效果的重要因素，可通过提高其浓度来增强灭菌效果。通常的灭菌操作中以450~800mg/L的浓度使用较多，最高浓度为1500mg/L，超过1500 mg/L，灭菌效果并不增加。在一定浓度范围内，温度、湿度等其它条件相同时，随着浓度的增加，杀灭一定数量的微生物所需的时间越短，杀灭效果越好。



温度---只有最低点的温度是最有意义的

温度对环氧乙烷的灭菌效果有显著的影响，这是因为温度可促进化学反应的进行，及提高环氧乙烷的浸透效果。相同条件下，温度越高，D值越小，所需灭菌时间越短。温度每升高10℃，D值至少减小1/2，灭菌时间缩短一半。下图为相同条件下D值随温度的变化图：

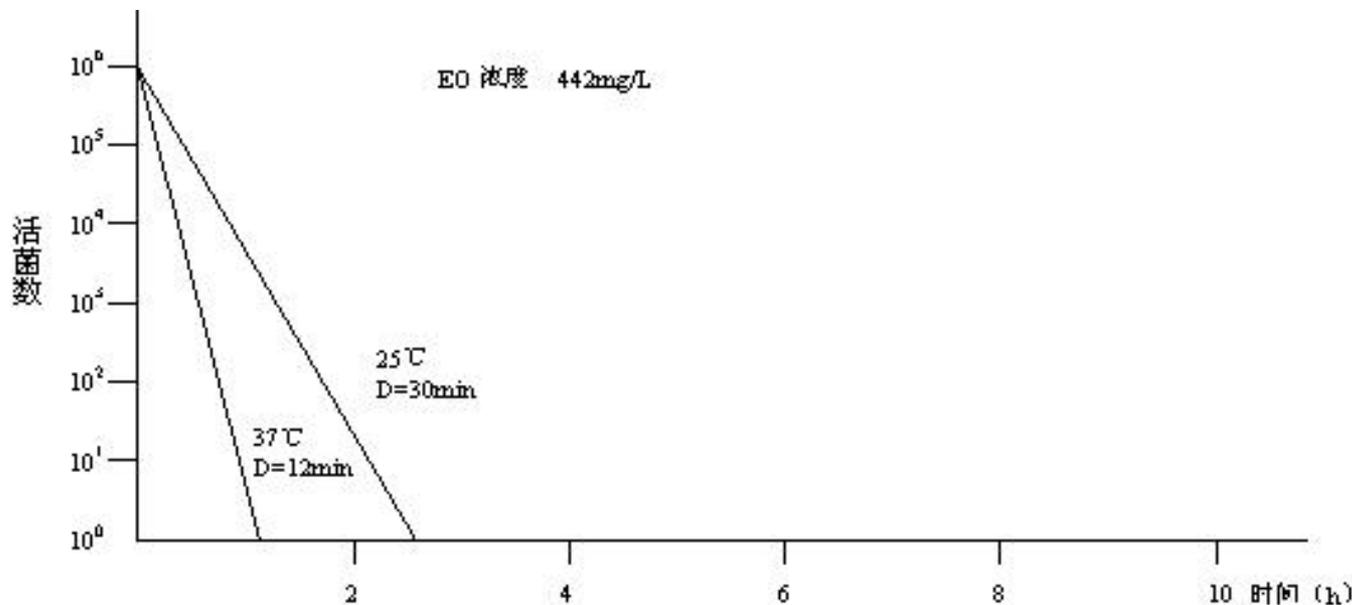


表1 环氧乙烷气体浓度与温度关系图

EO 浓度 \ 温度	22.1mg/L	44.2mg/L	88.4mg/L	442mg/L
25°C	7hours 12min	3hours 18min	1hour 36min	30min
37°C	1hour 42min	54min	36min	12min

湿度

湿度对环氧乙烷灭菌效果的影响并不明确。有一点可以确定，当相对湿度低于30%RH时，明显影响环氧乙烷的灭菌效果，微生物比较难杀灭。因此，与干燥微生物相比较，湿的微生物更容易被杀灭。当相对湿度超过30%RH时，环氧乙烷对微生物的杀灭并不随相对湿度的升高而变的更容易杀灭，杀灭效果与湿度不成线性关系。下表是环氧乙烷气体浓度与相对湿度对D值的影响（温度54.4℃）。

湿度 (RH) \ EOG 浓度	15%		30%		50%		60%		90%	
	NHS	HS								
200mg/L	5.75	6.75	7.50	7.50	6.25	5.00	7.00	7.50	7.25	5.50
400	4.00	3.50	3.75	3.75	3.75	3.50	3.00	3.75	4.75	4.50
600	4.25	2.75	3.75	3.25	3.75	2.75	3.50	3.00	3.75	3.00
800	2.75	2.50	3.25	2.25	3.25	3.50	4.00	2.25	2.50	2.25
1000	2.50	1.75	2.25	2.00	2.00	2.50	1.50	1.50	2.25	1.50
1200	1.25	1.75	1.50	1.75	1.25	1.50	1.50	1.75	1.75	1.50

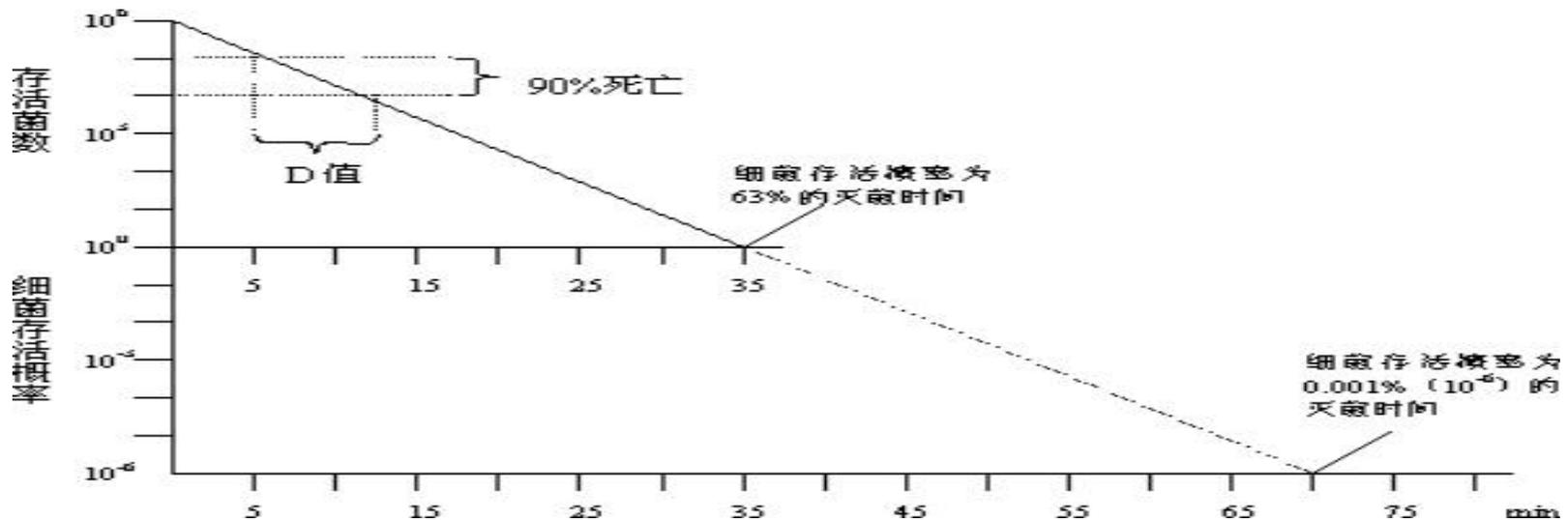
注：NHS=非吸湿性表面

HS=吸湿性表面

从上表可以看出，对湿度与 D 值之间做出明确的结论是非常困难的；而在任何湿度条件下环氧乙烷气体浓度的增加 D 值都受到明显的影响。

时间

灭菌效果的评判，以灭菌后产品中微生物的存活概率来评价。同样条件下，灭菌时间越长，产品中微生物存活的概率越小，灭菌效果就越好。下图是在一定条件下灭菌的枯草芽孢杆菌存活概率与灭菌时间的关系（气体浓度 700mg/L, 温度 50℃, 湿度 50%RH）。



其他影响灭菌的因素—真空

真空/压力/真空速度:

1. 对**D**值没有直接影响
2. 但对**EO**气体的扩散/渗透起非常关键的作用
3. 对灭菌的安全性有重要影响
4. 对产品与包装的安全也非常关键

其他影响灭菌的因素—产品包

包装的透气性：

1. 影响对空气的去除、EO与湿气的进入
2. 影响了真实的灭菌时间
3. 对灭菌过程的安全性有影响
4. 对工艺设计有影响
5. 容易有假真空现象

其他影响灭菌的因素—装

1. 对热穿透影响巨大
2. 应考虑空气的排除，EO与湿气的进入

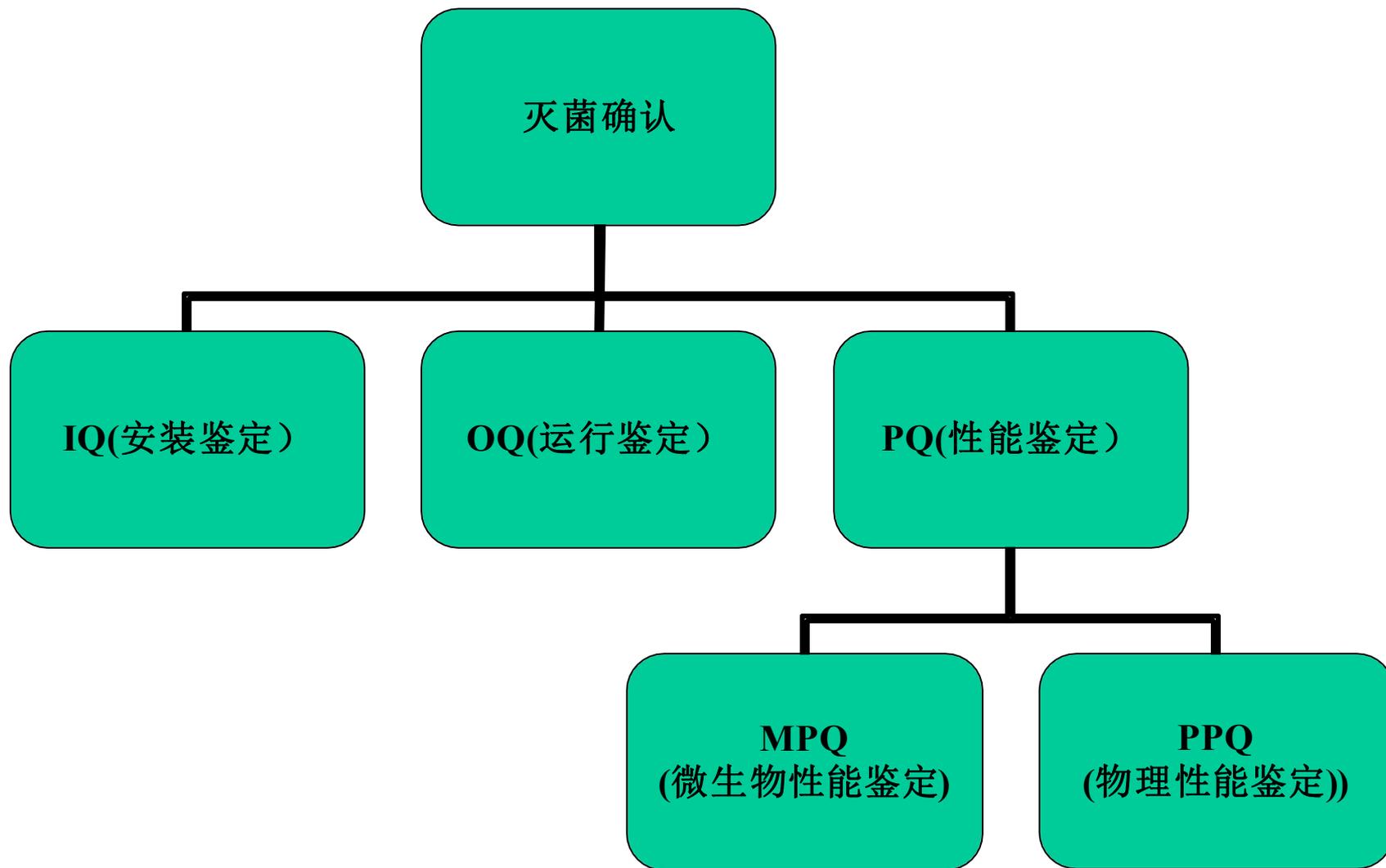
其他影响灭菌的因素—产品材料与结

1. 有些材料不适合**EO**灭菌，见**TIR 17**
(**YY/T1267-2015**)
2. 有一些材料解析很困难
3. 产品的结构应考虑空气的排除，**EO**
与湿气的进入

其他影响灭菌的因素—初始污染

1. 少数细菌对EO有特殊的抗性
2. 初始污染菌的数量/抗性对灭菌验证的方法的选择有影响
3. 产生细菌内毒素

灭菌确认



DQ(设计确认)的一般要求

- 设计输入：
 - 产品要求
 - 产量的评估
 - 工艺
 - 物流的要求
 - 设备设施
 - 法规的要求
- 设计输出：
 - 设备要求
 - 基础设施的要求
 - 平面图纸
 - 施工要求
 - 合格评估标准

DQ(设计确认)

※产品的要求

核实产品对于灭菌的需求。

※方法

如同类产品已经使用环氧乙烷灭菌。
自行验证或寻求专业公司技术支持。

※产量的评估

未来预期单日灭菌量。

※方法

根据未来预期生产需求评估采购的设备体积、一般情况装载率小于**75%**。

※工艺

预热、灭菌、解析。

※方法

根据产品材料、结构、包装、成本等因素建立预期灭菌工艺。
包括：真空能力、泄露率、温度极限、加湿能力、加EO能力、灭菌流程、扰动系统（预热、灭菌、解析）、监控系统、均匀性。

DQ(设计确认)

※ 物流要求/安装位置图

灭菌生产车间生产流向应当不产生交叉。

※ 方法

设计生产流程应当符合此要求，物流合理。

※ 设备设施

设备运行需求、设备要求（预热、灭菌、解析）。

※ 方法

设备运行需要的水、电、气、通风、报警、尾气处理装置等 设备要求：钢板、水套、法兰、门封条、管路、真空泵、循环泵、风机、安装状态、防爆等。
考虑选用市场认可度较高配件（第三方配件）。

DQ(设计确认)

※法规要求

确认生产所需法规。

※方法

收集所有相关现行法规进行研读，寻找专业机构培训。

※URS用户需求说明

建立需求和接受标准。



环氧乙烷灭菌柜是
二类有源医疗器械

IQ(安装确认) 通常项目说

- 文件确认
- 安全确认
- 管道及仪表流程图和布局图的检查
- 设备检查
- 仪表清单和仪表校准的核实
- 材料和物体表面的检查
- 公用设施的确认
- 腔体和管道的泄露检查
- 控制系统、电气柜和接线图等的检查
- 安全和健康相关说明
- 软件验证

IQ(安装确认)

※文件确认目的

核实用于设备安装、运行、维修所需的参考文件是可用的。

※方法

核实在报告中所列的文件是可用的，并记录标题、发布日期、版本号。确认参考文件已经被批准。

※安全确认目的

确认设备按照安全要求制造,并配备了安全所必需的设备（例如：安全阀、紧停按钮）。

※方法

目检设备的组件和机器的控制面板等，确认有无对人员和操作安全的必要设备。

举例：所有运动的部件必须得到充分的保护、高温的设备必须有充分的隔热和标示、对危险的边缘和棱角必须有充分的保护、机器必须正确地固定在地面上、系统必须容易地进行操作、维护和清洁。

IQ(安装确认)

※ 管道及仪表流程图和布局图检查目的

核实管道及仪表流程图/布局图与实际是否一致，并记录设备的竣工状态。

※ 方法

将图纸（管道及仪表流程图/布局图）和系统进行比较，是否一致。

※ 设备检查目的

核实设备清单与已安装的系统相一致，并是竣工状态。

※ 方法

将设备清单中的设备与已安装的设备进行逐个对比，是否一致。

IQ(安装确认)

※ 仪表清单和仪表校准的核实目的

确认仪表清单与已安装的仪表相一致，且仪表已被校准。

※ 方法

将仪表清单和已安装的仪表进行对比，并记录校准期限等信息。

※ 材料和物体表面的检查目的

材料和合同中要求的相一致，表面（罐体内表面是重点）应光洁。

※ 方法

核对设备制造商的材料供货单，目视和触摸检查表面。

IQ(安装确认)

※ 管路泄露检查目的

确认系统中的气体、液体管路是否存在泄露的可能。

※ 方法

管路中通气体或液体，采用保压的方式进行测试。

压力通常为正常工作压力的**1.5**倍。检查的核心是管路的焊接点或连接点。

※ 罐体泄露检查目的

确保罐体是否存在泄露的可能。

※ 方法

罐体注入空气保持正压一短时间，罐体抽真空保持负压一段时间，计算压力变化率，如**0.1kPa/min**。

IQ(安装确认)

※公用设施的确认目的

所有的公用设施符合合同要求，并与设备有效连接。

※方法

确认与系统有关所有的公用设施（水、电、气等）已经连接并清楚的标识，并且满足要求。

※控制系统、电气柜和接线图的检查目的

确认系统符合设计要求，确认控制/电气柜的布局，控制/电气设备和接线图与已经安装的设备相一致的，并是竣工状态。

※方法

将控制/电气柜的布局、控制/电气设备和接线图与已经安装的设备进行比较。通常由电气工程师协助完成。

IQ(安装确认)

※ 安全和健康相关说明

- 人员安装操作培训记录。
- 设备操作人员定期体检计划。

※ 其他的检查项目

- 应根据产品的说明书或设备合同的要求，进行确认。
- 加热、加湿、加药管路是否保温处理。
- 保温材料的要求，通常要求阻燃型。
- 灭菌机腔体尺寸是否与合同相一致等等。
- 软件验证报告。
- 维护与技术支持联系方式。
- **UPS**供电断电。

OO (运行确认) 的通常项目说

仪器仪表校准状态确

认 通电和断电确认

紧急开关确认(如有)

口令确认(密码和权限)

PLC数字和模拟输入/输出确认

报警和联锁确认

计算机控制系统操作界面的确

认 打印功能确认

设备能力确认(门开关\真空能力\ 汽化器能力\罐内
温度分布等)

灭菌工艺能力确认

QQ (运行确认)

※ 仪器仪表校准状态确认

※ 方法

负责人、送检记录、下次送检日期。

※ 通电和断电测试的目的

保证系统的各个部件通电和断电。

※ 方法

按要求打开或关闭电源开关。

※ 紧急开关确认（如有）目的

紧急状态下，使系统停止。

※ 方法

在正常操作中，按急停按钮。

QQ (运行确认)

※ 口令的测试目的

确认只有预先授权的进入口令可以进入操作系统，或控制系统进行参数。

修改（可采用多级口令，实现不同权限）。

※ 方法

对每一个进入控制系统的人机界面，输入相应的口令并确认允许进入控制系统的功能，使用相同步骤输入错误的口令，确认拒绝进入。

※ 数字/模拟 输入&输出的测试目的

确认控制系统能正确地得到或产生数字/模拟的输入输出，并和设计参数相一致。

※ 方法

控制系统能正确地得到或产生数字量输入输出，控制系统能正确地得到或产生模拟量输入输出。

QQ (运行确认)

※ 报警和联锁检查目的

确认当报警和联锁条件发生时， 控制系统确认、通信和反应的能力。

※ 方法

确认安装的报警和联锁功能完全按照工程文件。确认操作界面、报警灯、蜂鸣器等得到正确的激活，系统输出和预想的结果如设计的一样。

※ 计算机操作界面确认目的

实现预期功能：显示或控制系统的状态。

※ 方法

对计算机操作界面的每个功能进行逐个操作。

QQ (运行确认)

※ 打印功能确认目的

确认随机打印机功能是否具备。

※ 方法

开启打印机电源，确认是否按要求打印数值或图像打印。

※ 罐体泄压确认

灭菌罐体内的压力超过一定值后，压力通过泄压阀门释放，保证罐体安全。

※ 方法

罐体通空气超过安全压力，确认泄压阀门是否正常开启。
国产灭菌罐不属于压力容器。

※ 设备能力确认(门开关\真空能力\汽化器能力\罐内温度分布等)

这是QQ中最重要的部分，必须逐项确认，是否与合同或标准相一致。

- 空压机确认：压缩空气制备能力。
- 门开启确认：压缩空气压力正常，门正常开启；压力低下，门不能开启。
- 真空能力确认：真空深度、真空速率。
- 汽化器确认：有效保证EO的汽化。往往部分设备因为结构的问题，导致汽化能力有限。

QQ (运行确认)

- 罐体（预处理室，解析室）升温确认：国内机器通常采用水箱中水加热后罐体夹层循环的方式进行。升温的时间确认。
- 罐体（预处理室，解析室）温度分布确认：温度分布越好，灭菌时产品温度分布也比较好，气体暴露阶段 $\pm 3^{\circ}\text{C}$ 。
- 整机空载运行确认（灭菌工艺能力）。
- 其它项目：加热水箱的加热能力、自动补水能力、溢水能力（如有），预处理室、灭菌柜（风机）、解析室烟雾试验。
- 设备上具有的能力应在QQ阶段有效确认。

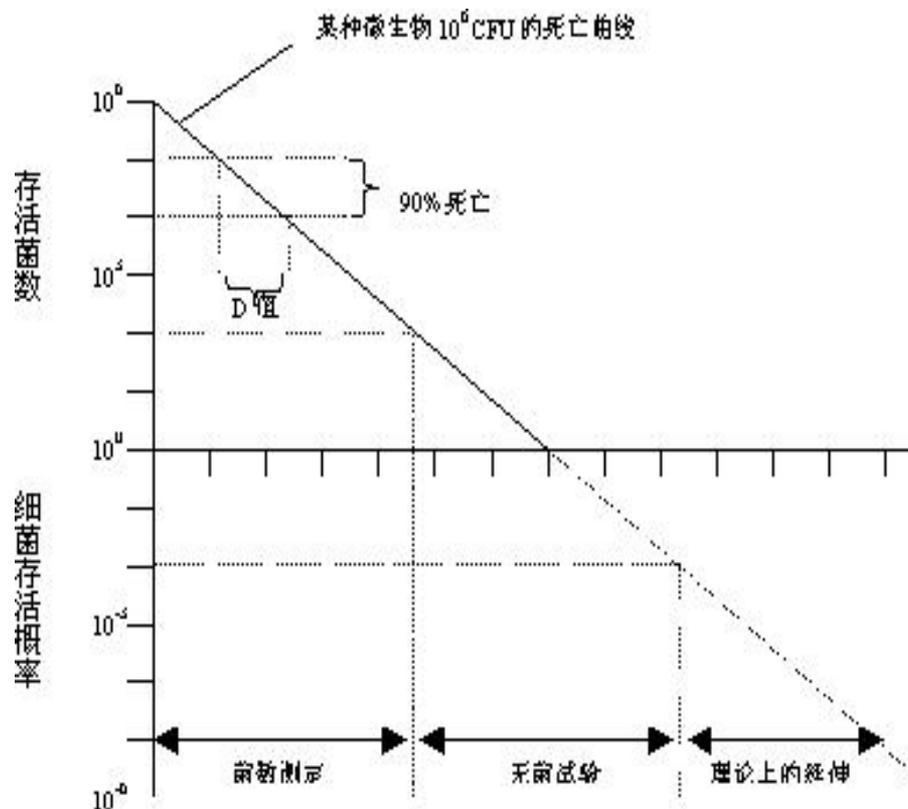
特别说明：IQ和QQ中出现的与预期不符合的偏差，则应纠正并形成偏差报告和纠偏报告。

- 特殊生产过程

不能由随后的产品检验和试验来充分证实其结果的生产过程。

- 对数死亡规律

灭菌时间 t ，与存活微生物数量的对数值($\lg N$)呈线性关系(理论上)。这是灭菌最重要的理论支持。



PQ (性能确认) MPQ

- ISO11135:2014的定义

※ 无菌sterile:无存活微生物。

※ 无菌状态sterility定义:无存活微生物的状态。

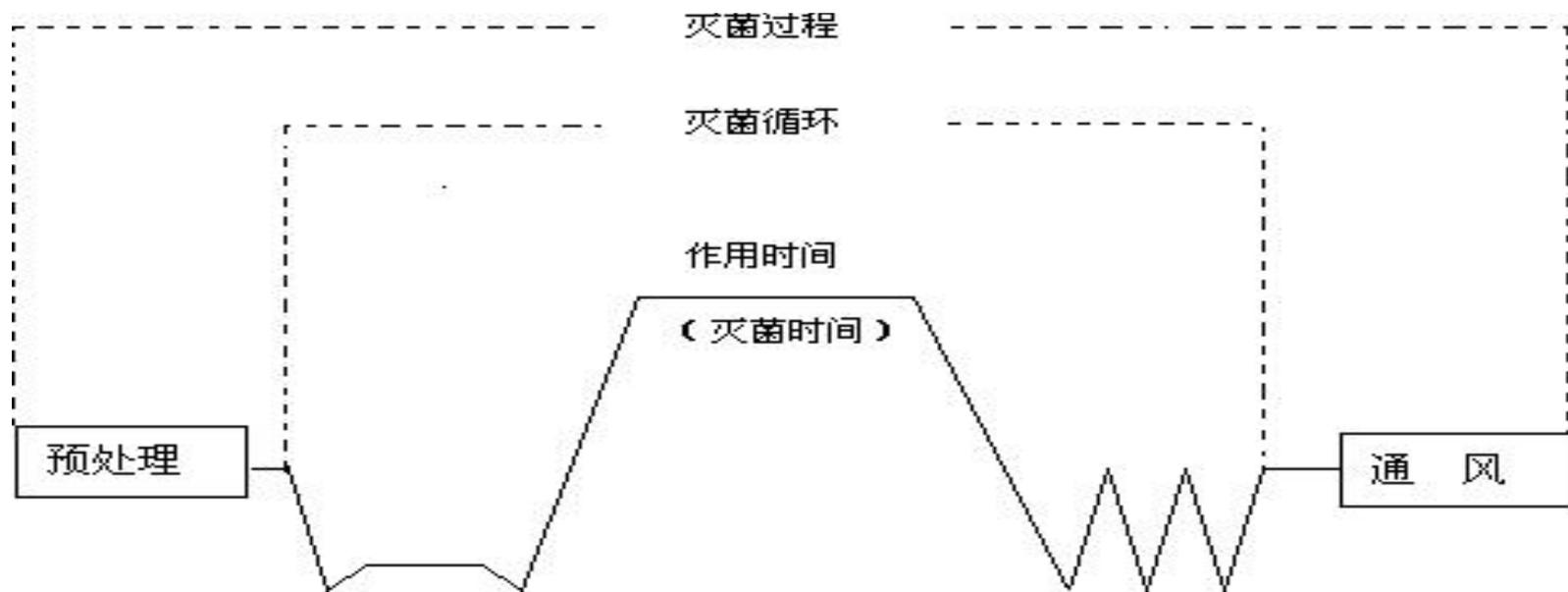
注:实际上,不存在此类绝对的声明,证明微生物存在与否。

※ 无菌保证水平sterility assurance level (SAL):灭菌后,在单位产品上检出存活微生物的概率。

注:SAL为定量值,通常为 10^{-6} 或 10^{-3} 。将此定量值用于无菌保证时, 10^{-6} SAL数值比 10^{-3} SAL小,但大于 10^{-3} SAL的无菌保证。

※ 灭菌sterilization:已确认的使产品无存活微生物的过程。注:灭菌过程中,微生物的死亡规律用指数函数表示,因此,任何单件产品上微生物的存在可用概率表示。概率可减少到最低,但不可能到零。

灭菌过程



预处理

在灭菌循环开始前，在一房间或柜室内先对产品进行处理，以达到预定温度和湿度。

灭菌循环

在一密闭的柜室内，包括进行去除空气、处理（若采用）、加入灭菌剂、EO作用、去除EO和换气。

通风

将EO和（或）其它反应物从医疗器械解吸附至预定水平的过程。

确认前期准备工作（1）

- 产品族 与 E0处理组

基于产品的结构、材料、密度、包装或灭菌难度的相似性,将产品分组至产品族。

- E0处理组内的每一产品族应使用同一灭菌过程鉴定.

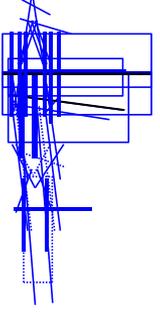
- 产品族设定中的注意事项

通常不将灭菌时间过长或过短的产品放在同一个产品族内;或者产品直接包装（小包装或单包装）式样不同的产品放在同一个产品族。

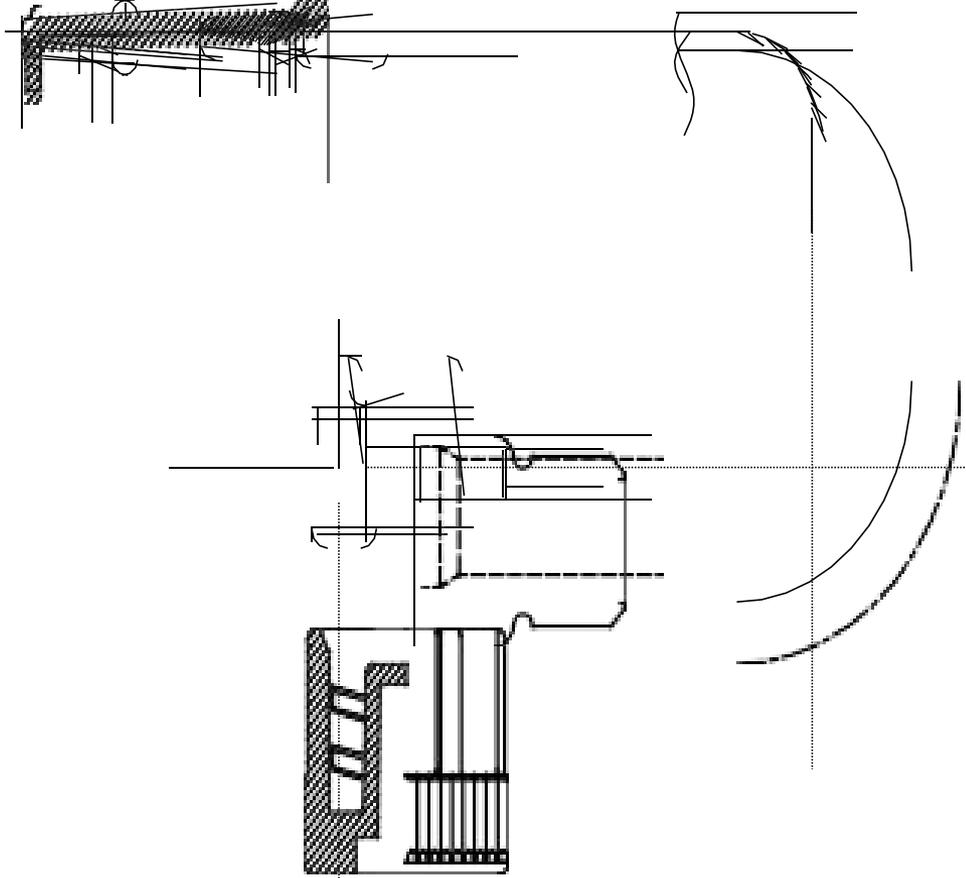
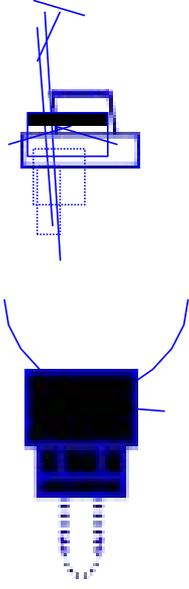
原因：增加灭菌参数设计的复杂性，损失灭菌条件的经济性。

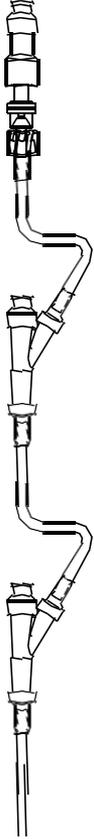
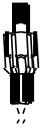
确认前期准备工作（2）

- **PCD (IPCD)** 的选择:
- 从产品族中选择相对最难灭菌的产品（气路长，管径小，产品内进气复杂的产品，如包装不同，还应考虑包装的影响。并同时确定最难灭菌部位。或者选择另外一种产品，但需要证实其适合性。
- 重要性：**IPCD**选择是决定灭菌确认成败的先决因素，如果选择不当，则不能证明整个产品族在已定灭菌参数下灭菌后的 **SAL**。
- 确定方法：结构分析法，或者是采用一个弱化的灭菌条件，确认产品内**BI**的芽孢存活数量来确认。



0





如果是初次验证, 产品族也比较复杂, 应考虑:

1. 几组实验同时做. 节约时间。
2. 设计多种**PCD**, 同时做进去。
3. 可以考虑, 改造产品, 或设计一款抗性较强的模拟产品作为**PCD**。

定义：对灭菌过程具有确定的抗力，设置于产品及包装的外部，并用于评估过程性能的器材。

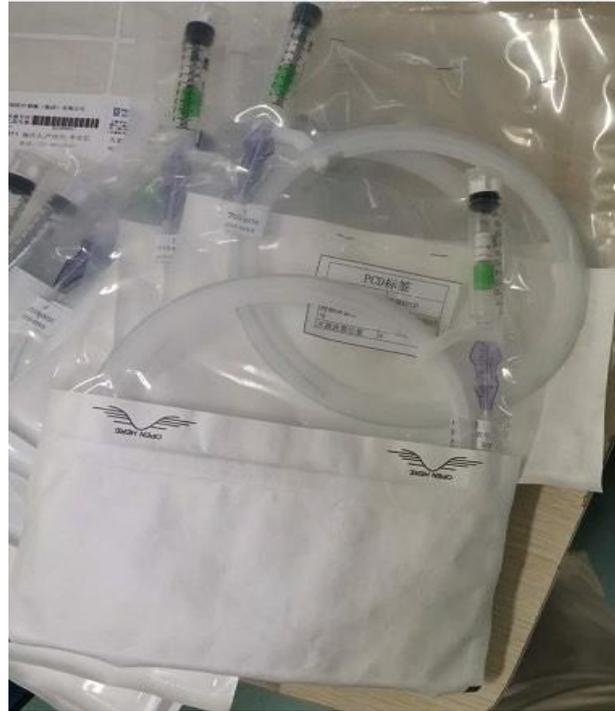
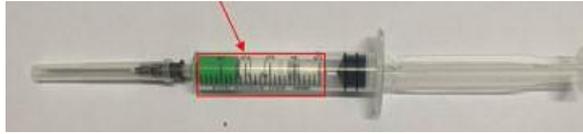
通常在灭菌过程中设置的位置为：纸箱或壳体内，在被灭菌物品外表面上的纸箱或壳体之间的、或在外包装表面的、或在支撑被灭菌物品框架上。

外部监测器材通常用在常规生产灭菌中容易进入和移出的场合下。

注意： EPCD材料在验证与日产控制中应保持一致

EPD载具: 为增强生物指示物对特定灭菌过程的抗力, 而设计在生物指示物外的用于阻碍灭菌因子穿透的屏障系统, 如薄膜、透析纸等组成包装, 管体等。

灭菌确认时通常采用**IPD**的形式, 并将其设置于包括**PD**的产品装载内部的位置, 但在常规灭菌中, 采用**IPD**的这种做法相当麻烦, 因此, 采用**EPD**的形式, 并将其设置于产品装载的外部, 便于日常操作。





短周期:

产品, **IPCD**, **EPCD**的抗性应在短周期中比较

IPCD的抗性应大于产品

EPCD一般抗性应在**IPCD**的一到两倍之间

(**ISO 11135: >80% IPCD**) 。

注意: 所用培养基的灵敏度应已经确认。

EPCD 有什么缺点? ? ? ? ? ?

PCD的放置

PCD应当平均分布在被灭菌物品中，但分布位置应当包括最难达到灭菌条件的位置。

位置应当包括温度监控位置。

可在各温度监视点附近放置两个生物指示物进行过程功效的进一步研究。

PCD最低使用数量

Product load volume m ³	MPQ	Routine control (if used)
≤ 1	5	3
10	30	15
15	35	18
20	40	20
25	45	23
30	50	25
35	55	28
40	60	30
50	70	30
100	120	30

BI选用

- 定义

对特定的灭菌过程有确定的抗力，装在内层包装中可供使用的染菌载体。

- 生物指示剂种类（按使用特性分）：条状（片状）生物指示剂，自含式生物指示剂

- 生物指示剂性能

- 菌种：枯草芽孢杆菌黑色变种 **ATCC9372**

- 芽孢数量：在标称量的 **-50%** 和 **+300%** 之间，日常监测用的芽孢数量必须大于 **1.0×10^6** 。

- 抗力：以下条件处理，**D**值大于 **2.0**（纯EO），**D**值大于 **2.5**（EO混合气体）

D值应在供货商标称 **20%** 内。

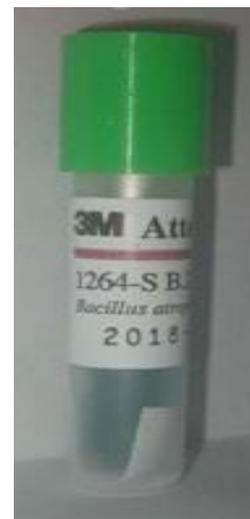
EO%:600±30mg/L, RH%:60 ±10%, t:54 ±1°C。

- 生物指示剂的培养

培养基：胰蛋白胨大豆肉汤（TSB）

培养条件：**30~35°C**，有氧培养 **168H /3M 37度 48H**

BI的适合性评价：短时间运行后，**BI**无菌试验的阳性率应高于产品无菌试验的阳性率。

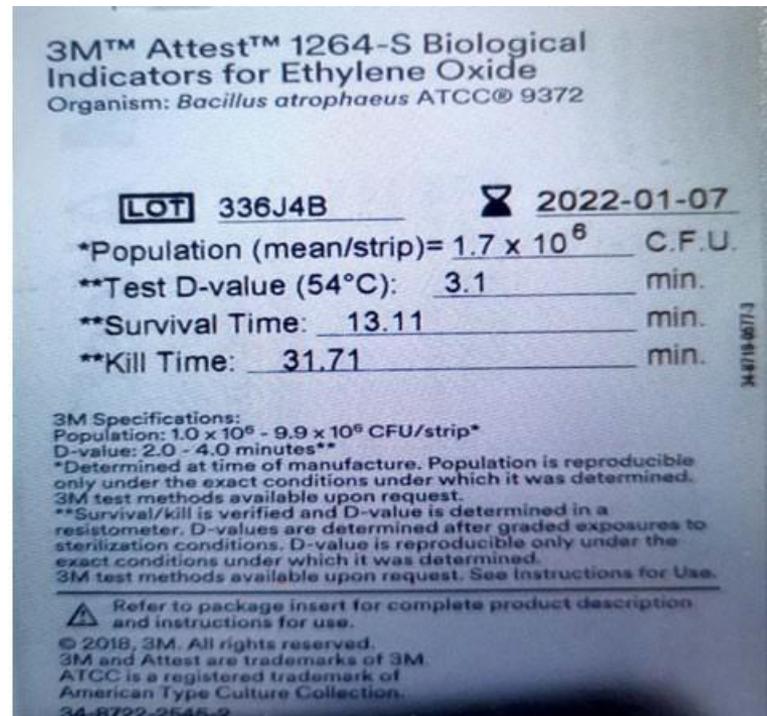


BI采购来源和要求

符合相关标准： ISO 11138(2017) GB18281.1(2)-2015

制造商负责确定生物指示剂的最初性能指标（COA）

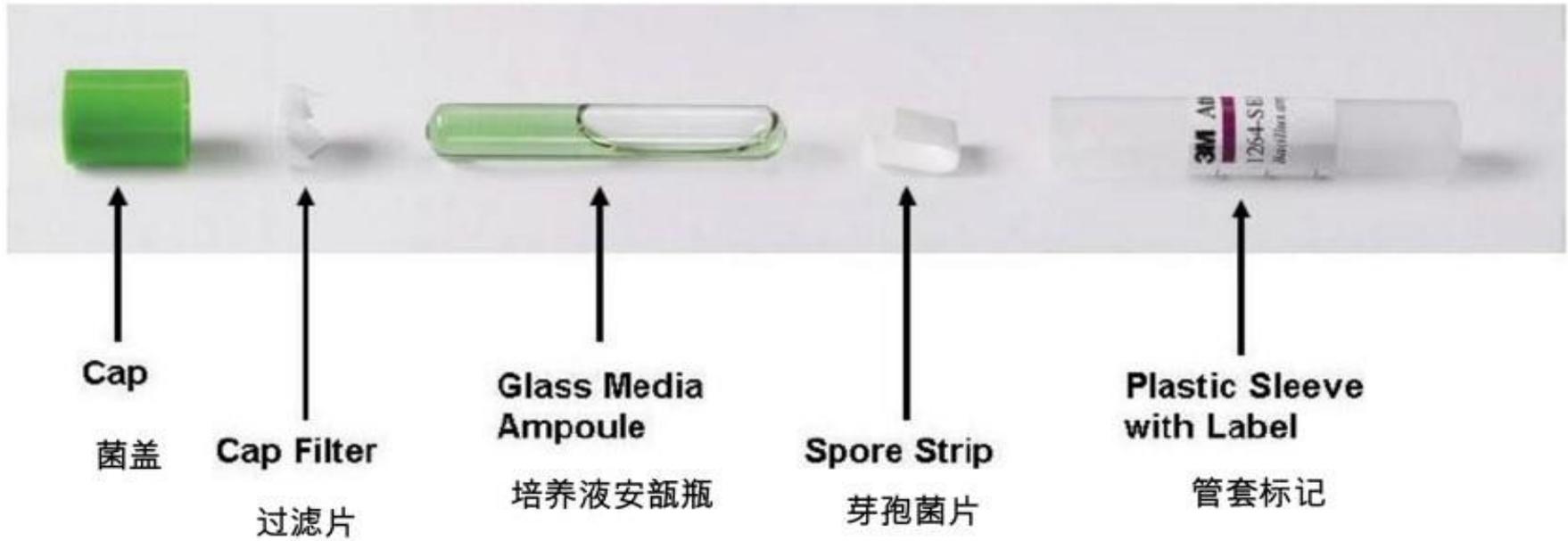
- 1、菌种编号
- 2、 D值
- 3、存储条件
- 4、处置方法
- 5、使用指南
- 6、微生物数量
- 7、次级包装中数量
- 8、生产批号
- 9、失效日期
- 10、生产商信息



自含式指示物

ATCC9372 枯草芽孢杆菌黑色变种 萎缩芽孢杆菌

有机构评估全球几家最好的生物实验室无菌培训过程的无菌假阳性概率为：1%-1‰。



生物指示物培养

规定温度和时间（通常是7天）

采用大豆酪蛋白琼脂培养基（TSB）培养

制备过程要做阳性对照

培养过程注意无菌保证

人员经培训合格和专业的能力

低无菌保证级别做高无菌保证级别证明

自含式无需培训，操作简单

结果判断：7天或48小时 不变色、不变浑浊即可判断无生长

如何丢弃：阳性的指示剂，须灭菌后丢弃

生物指示物培养-RIT

ISO11138-8-2021

识别一个30-95%阳性率的周期

三组不同批号的PCD，每个批号最少100个 三个批号的PCD分别暴漏在三次部分循环中。

$$N_x / N_y \times 100 \geq 97 \% \quad (2)$$

where

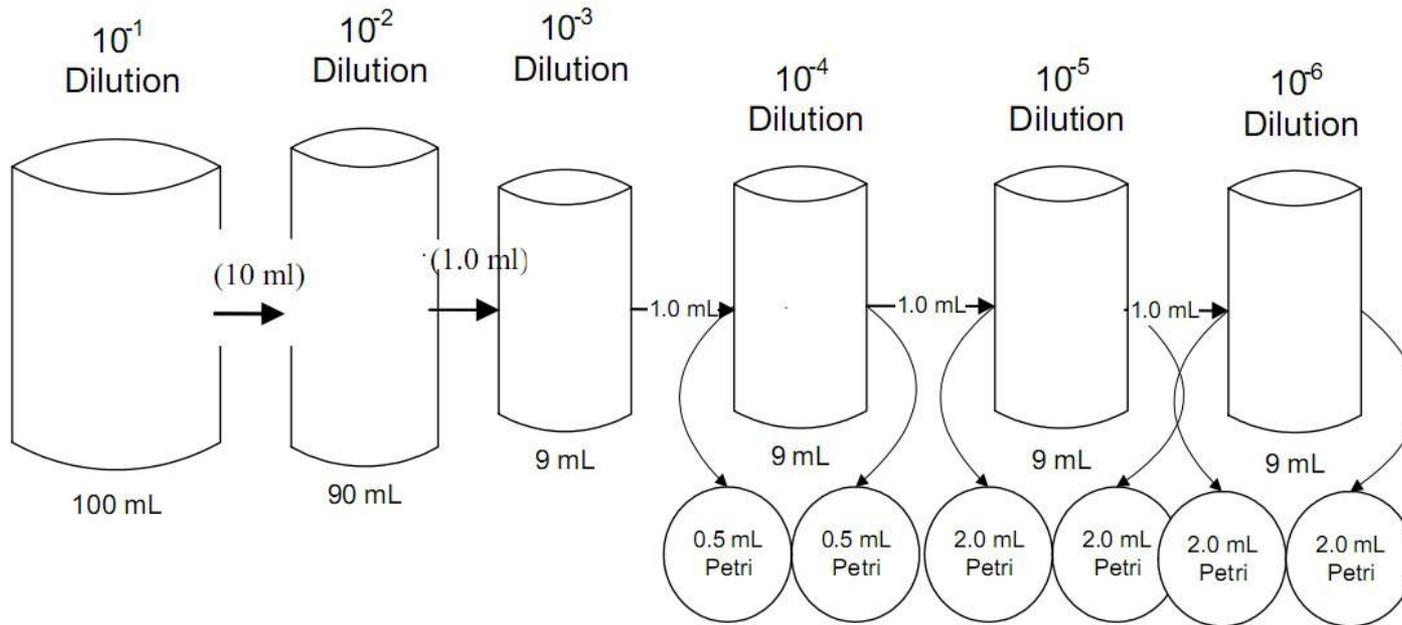
x is the RIT time interval selected;

N_x is the number of positive BIs at the time interval x for the individual fractional cycle for each lot;

N_y is the number positive BIs positive at 7-day incubation for the individual fraction cycle for each lot.

BI采购来源和要求

菌落计数



BI采购来源和要求

常见品牌：

国外：3M、mesa、crosstex

国内：富捷

形态：自含式的，非自含式（条状、线状、圆片）

化学指示片：CI

标准： GB18282.1-2015

GB18282.2-2015

确认前期准备工作（3）

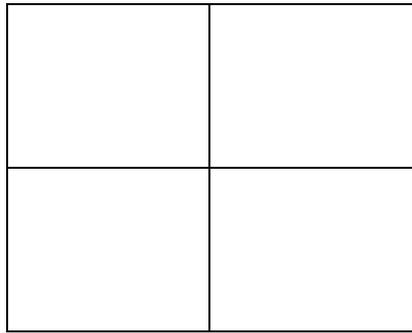
- 灭菌产品的装载模式

考虑产品装载的稳定性、大包装箱间的空隙、托板面积的有效利用、装载的体积等过个因素。

产品族中的每个产品均需制定产品装载模式，日常灭菌严格按照此模式。

根据产品族的产品灭菌装载模式，确定模拟产品的装载模式（产品密度、产品装载体积、装载中大包装箱的空隙）等。模拟产品应能证实比产品族中的产品装载更不利于灭菌或相当。

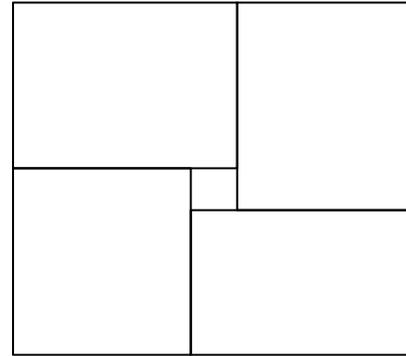
装载模式说明



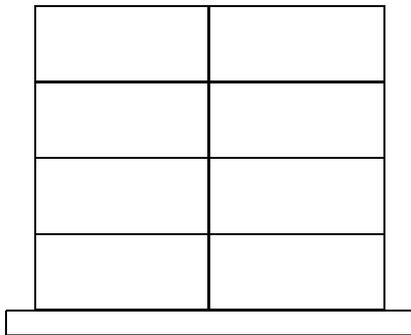
俯视图



大箱间有空隙



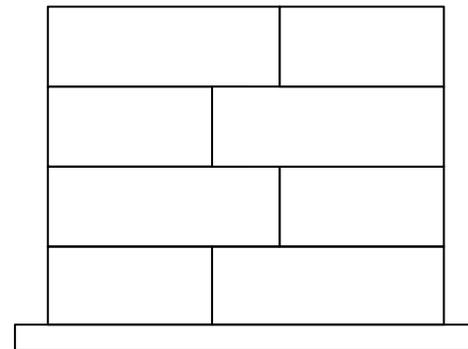
俯视图



正视图



装载更稳定



正视图

• 确认前期准备工作（4）



很重要

- 产品的最大耐受温度
- 产品族中的最不耐受温度的产品所对应的最高温度应高于 灭菌确认时的最大温度。
- 产品的最大耐受压力（与压力变化速度）
- 产品族中的最不耐受压力的产品所对应的极限范围应大于 灭菌确认时的压力范围。
- 产品的最大耐受湿度
- 产品族中的最不耐受湿度的产品所对应的最高湿度应高于 灭菌确认时的湿度。

确认前期准备工作（5）

温度探头，湿度探头的布置：

温湿度探头应放置在产品内部或包装内部

分布应先考虑OQ或其他测试中的冷点，热点位置

湿度探头推荐最小数量举

Volume m ³	Number for OQ (usable chamber/room volume)			Number for PQ (product load volume)		
	Preconditioning	Conditioning/ sterilization	Aeration	Preconditioning	Conditioning/ sterilization	Aeration
≤ 1	2		N/A	2		N/A
10	4			4		
15	6			6		
20	8			8		
25	10			10		
30	12			12		
35	14			14		
40	16			16		
50	20			20		
100	40			40		

温度探头推荐最小数量举

Volume m ³	Number for OQ (usable chamber/room volume)			Number for PQ (product load volume)		
	Preconditioning	Conditioning/ sterilization	Aeration	Preconditioning	Conditioning/ sterilization	Aeration
≤ 1	3			3		
10	4			10		
15	6			15		
20	8			20		
25	10			25		
30	12			30		
35	14			35		
40	16			40		
50	20			50		
100	40			100		

• 预处理（若使用）确认

- 预处理产品装载最好和灭菌装载一致，确认预处理的时间，以及结束后的产品内温度, 湿度分布，通常温差 $\pm 5^{\circ}\text{C}$ 之内，湿度 $\pm 15\%$ 之内比较合理。（94版的要求）
2014的要求是自己建立合理的上下限
- 仪器：温度传感器和湿度传感器
- 基本方法：温湿度传感器合理布置在装载中，较长时间运行后，通过分析传感器的温湿度数据，确定合理的预处理时间。
- **特别注意：**不同季节的产品温度有所不同，对预处理前的产品温度的规定很关键。如适当的冷处理，或洁净车间直接进入预处理室。

验证时如何获得挑战性的初始温度

1. 产品预冻
2. 低温季节+推算

北方冬季使用暖气使装载获得较高的初始温度

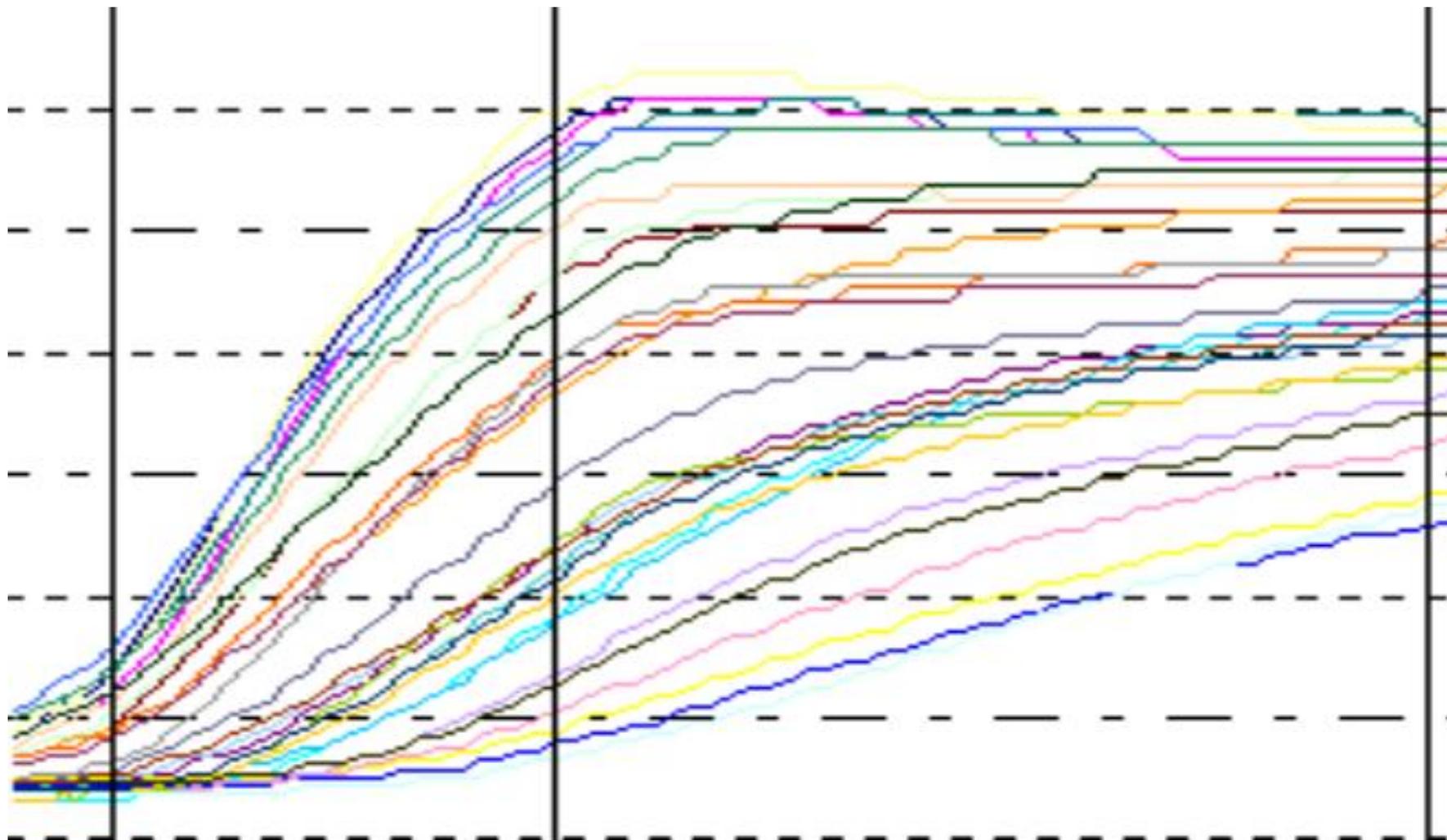
1. 放假

2. 产品运输

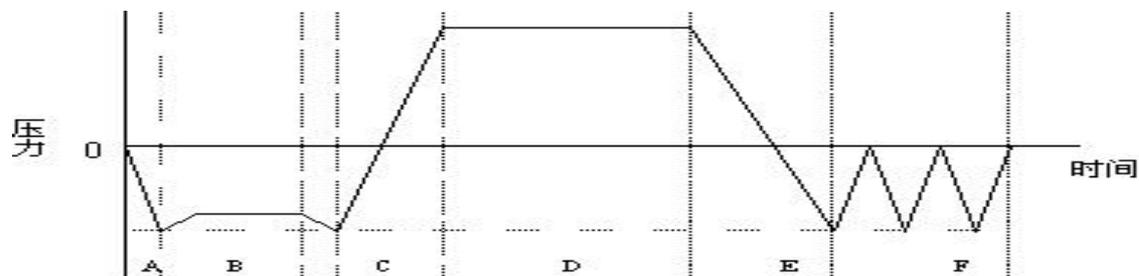
3. 空间EO残留

从预处理到灭菌室的运输时间必须挑战！

热力动力学

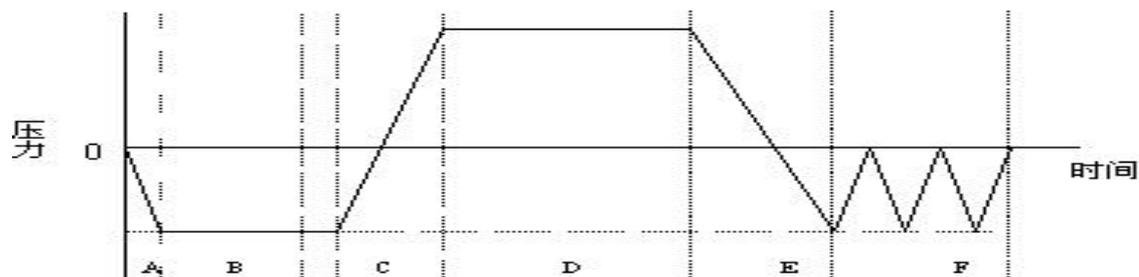


灭菌周期常见的式



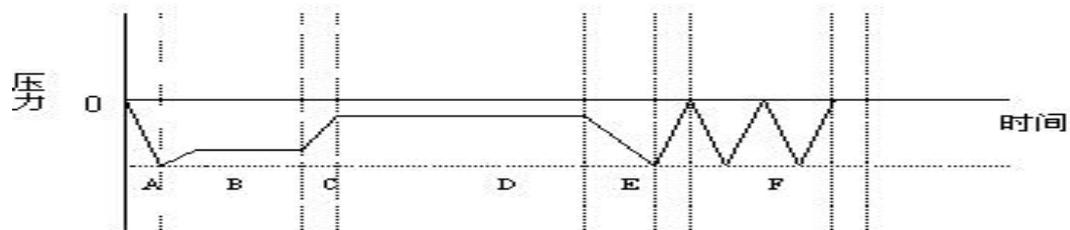
正压灭菌循环（静态处理 1 次）

A: 去除空气
B: 处理
C: 加入灭菌剂
D: EO 作用
E: 去除 EO
F: 换气



正压灭菌循环（动态处理）

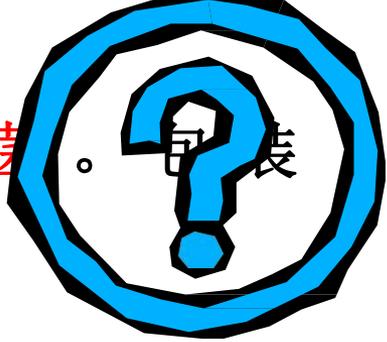
A: 去除空气
B: 处理
C: 加入灭菌剂
D: EO 作用
E: 去除 EO
F: 换气



负压灭菌循环（静态处理 1 次）

A: 去除空气
B: 处理
C: 加入灭菌剂
D: EO 作用
E: 去除 EO
F: 换气

灭菌周期内真空度要

- 根据产品的包装耐受压力的基本情况决定灭菌用气体种类。如一个包装透气很差的产品，**则不能采用低EO比例的混合气体灭菌。** 透气良好的产品则适合用任何比例的EO气体。
- 条件允许的情况，真空深度大，更安全, 效果也较好。
但要结合真空泵本身的能力, 灭菌罐体的强度以及产品单包装的耐受低压的能力。

灭菌周期中的温度

- 考虑产品的耐受温度、灭菌机的能力，选定一个上限温度。
- **MPQ**（微生物性能确认）时罐内温度应低于下限温度，**PPQ**（物理性能确认）时温度则可以为上限温度，日常灭菌时罐体温度则在两者之间。
- 举例：上限罐体温度**60°C**，**MPQ**罐体温度**54°C**，**PPQ**罐体温度**60°C**，日常灭菌罐体温度**57°C**（公差±3 °C）。
- 优点：能实现一个比较大的温度公差范围，有利于日常灭菌的参数管理。

预处理（若使用）

- 基本方法： 通过房间或灭菌柜对产品进行温度和湿度调理，期待处理结束后温差在规定范围之内。（**10°C**是老版 标准的要求）。
- 另外，为保证足够的湿度，通常在处理过程中加入适当的 蒸汽，调节产品的湿度，更有利于灭菌。常见的方式为动 态加蒸汽的方式：根据湿度反馈值进行控制，同时应考虑 露点。

-

处理

- 处理（在灭菌柜内）
- 基本方法：灭菌周期内罐内温度确定后（MPQ的温度），则可以进行处理时间的确定，方式同预处理，主要测定产品内部的温度和湿度分布，期待处理结束后温差在规定范围之内。（10°C是老版标准的要求）
- 另外，为保证足够的湿度，通常在处理过程中加入适当的蒸汽，调节产品的湿度，更有利于灭菌。常见的方式为静态加蒸汽的方式：蒸汽一次性注入。

处理

- **处理目的（冷点、热点）**

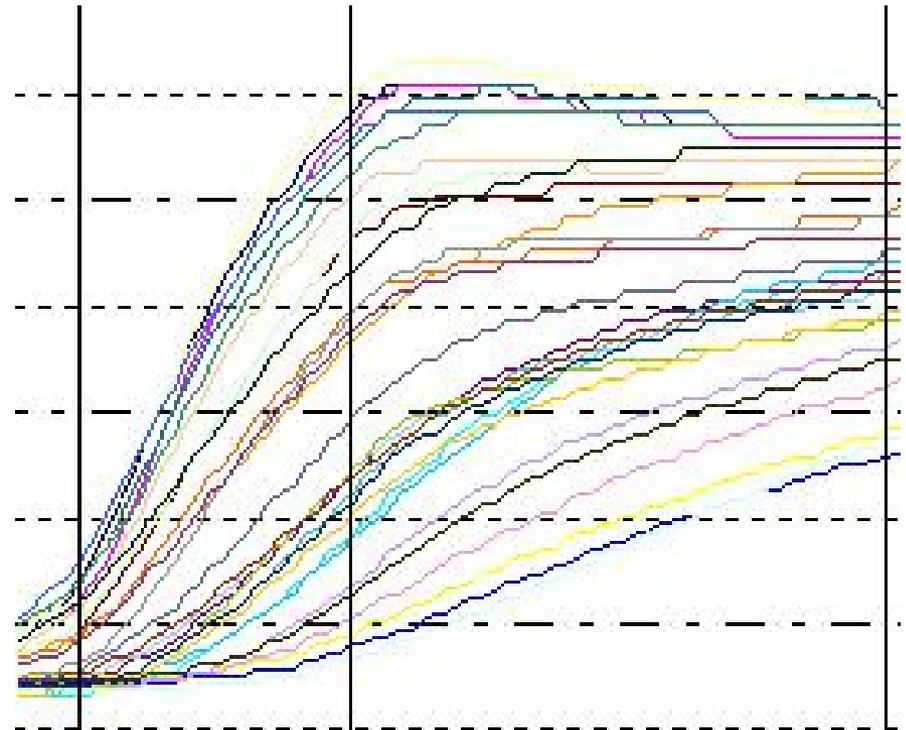
通过导入蒸气，给产品加温使被灭菌的产品内温度达到预定的温度和相对湿度，并且品内温湿度尽可能均一。

- **处理方式**

- 静态处理：先给蒸汽，再抽真空。
- 动态处理：边给蒸汽边抽真空。

- **影响处理效果的因素**

- 真空度：真空度越高，蒸气分压越大，温湿度越易到达产品内。
- 处理的方式：动态处理方式效果较好。
 - 产品包装、结构、密度
 - 装载方式



灭菌周期中EO浓度的要

- 通常灭菌EO浓度450~800mg/L比较常见，考虑到成本，采用550mg/L为日常灭菌浓度比较适宜。
- 举例：考虑一个比较适合浓度公差范围，因此MPQ时候采用500 mg/L，PPQ时600mg/L，日常550mg/L（公差范围±50mg/L）。
- 浓度精确控制的实现
- 重量法：粗略计算罐内浓度，不能修正罐体的真实体积，以及部分吸附等问题。
- 压力法：基本与真实浓度一致。通过KP/RT可以有效实现浓度的控制。
- 直接法：直接测试EO浓度。

灭菌周期清洗的要

- 气体暴露时间的要求
- 可以采用部分阴性法、存活曲线法和半周期法来确定气体保持时间，通常采用半周期法来计算气体暴露时间。
- 气体暴露后抽真空次数的要求
- 气体暴露结束后，通过抽真空使罐内的和吸附在产品上的 **EO**大部分被去除。通常累计真空**300Kpa**以上，去除产品上的部分残留**EO**和罐内的大部分**EO**，保证人员操作的安全，减少后续的解析室解析压力。
- 开门时计算柜内**EO**与空气体积比小于**2.6%**.如何计算？

微生物性能确认

目的：根据灭菌处理后**BI**无菌试验结果设定评价灭菌时间（气体暴露时间）

方法：半时循环法（最常用的方法，操作最简便）

- 实施步骤

- 1、替代品的准备

- 2、确认用仪器仪表的校正

- 3、PCDs的准备

- 4、PCDs、温湿度传感器在替代品中的设置

- 半时循环运行：温度、湿度、浓度、时间（整周一半）下限**3**次，

2小时内将PCDs取出，进行**BI**的无菌试验和温湿度传感器数据处理。根据**BI**无菌试验结果评价半时循环的时间（要求**BI**无菌试验呈阴性）；确定半时循环时间后，用比半时循环短的时间运行，确认**BI**无菌试验结果呈阳性。

还应当评估的参数：转移时间、加药时间

微生物性能确认

- 微生物性能确认中的注意事项
- 如何快速地确认气体暴露时间

压力、温度、浓度等基本参数已确定的基础上，根据以往的经验，运行一次短周期，根据BI的阳性率来大概的估算 D值，将8D的时间作为半周期的时间。

D值计算方法：ISO11138.1-2017 D3.3.2.4

- 特别注意：

运行结果：BI无菌试验结果必须是部分存活，如果全部呈阴性或全部呈阳性，则不能有效估算其D值了。

• 物理性能确认

- 目的：通过建立一套合适的灭菌参数来保证产品的性能。
- 方法：整周循环法
- 确认项目：灭菌参数确认（包括半时循环的参数）
- 实施步骤：替代品的准备、确认用仪器仪表的校正、温湿度传感器在替代品中的设置
- 实施整周循环
温度、湿度、浓度、时间上限**3**次
- 数据处理、分析

• 产品适合性确认

- 日常灭菌后，不但要保证产品的**SAL**，而且要保证产品的性能不受影响，或影响仍能被接受。
- 方法：物理性能确认的同时，在热点放置样品，结束后进行产品性能测试，并进行残留**EO**的检测。
- 特别注意；如果由于一些因素造成灭菌周期的中断或停止，如停电、机器故障等，但又不能简单地废弃产品（损失过大），则在产品性能确认时进行产品连续两次灭菌的确认。如果产品连续两次灭菌适合（上限条件），则日常灭菌**2**次可以接受，否则不能随意进行连续**2**次灭菌。
- AAMI TIR 17:2008

• 解析确认

根据与病人接触时间分类

- 短期接触

短期： < 2 4 小时

E O: 4mg/day

ECH : 9mg/day

- 长期接触

24<使用时间<30天

Allowable	EO	ECH
AVG Daily Dose	2mg	2mg
24 Hours	4mg	9mg
30 day	60mg	60mg

• 解析确认

根据与病人接触时间分类

- 持久接触

长期>**30**天

Allowable	EO	ECH
AVG	0.1mg/day	0.4mg/day
24 Hours	4mg	9mg
30 day	60mg	60mg
Lifetime	2.5g	10g

• 解析确认

可耐受接触限量

植入器械

充许限量 **EO:**

10 μ g/cm²

ECH:5mg/cm²

接触表面面积-客户提供

特殊情况

手术单-接触完好皮肤-仅**TCL**

眼内透镜: **EO**限量

Average:0.5 μ g/lens/day

Total:1.25 μ g/lens

心肺旁路过程

EO: 20mg/dev **ECH:9mg/dev**

• 解析确认

建议侵提条件

器械接触时间		
持久接触	长期接触	短期接触
极限浸提	模拟浸提	模拟浸提

ISO10993-7: 2008/Amd.1:2019新生儿与婴儿充许限值的适用性
强调体重低于**70**公斤人群（主要是婴儿）中限度使用。

• 解析确认

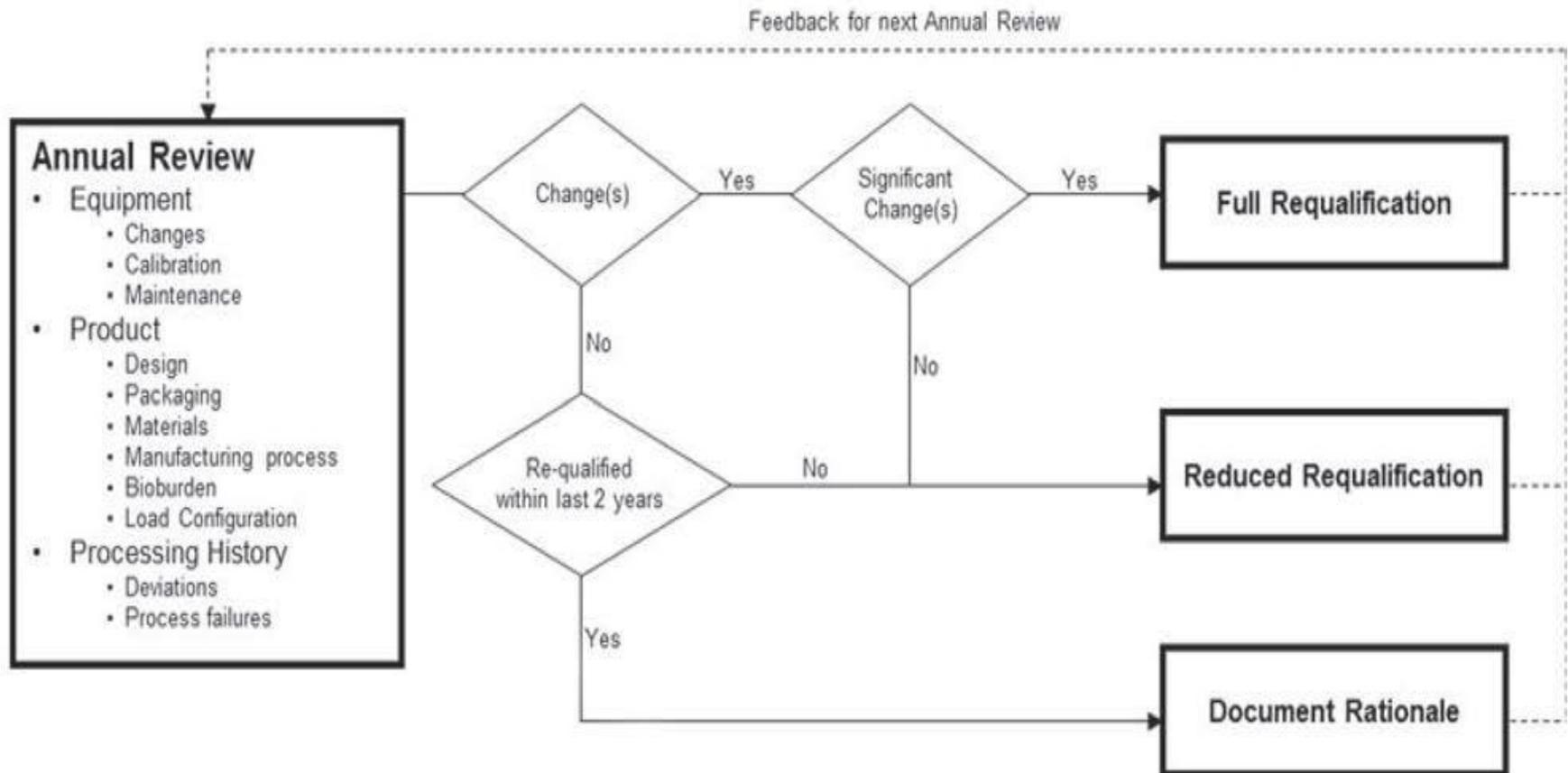
- **ISO10993-7 附录G和H**计算出来的短期接触医疗器械在各群体的接受限值（仅供参考）

	接受限量 (mg/day)			
	成人	儿童	新生儿	早产儿
体重	70	10	3.5	1
EO	4	0.6	0.21	0.06
ECH	9	0.13	0.448	0.128

• 灭菌报告书的书写

- 基本要求：条理清晰，内容含盖，可阅读性强。
- 应以文件形式出具确认报告，该报告应由负责编制、审核和批准人员签名确认。确认报告应该按要求进行保管。
- 确认报告应包括或参考具体确认过的产品和EO灭菌过程规范文件。确认报告应包括下列参数及其公差和负载方式在内的内容。
 - ◆ 校准记录
 - ◆ 全记录、计算方法、引用、外插法
 - ◆ 灭菌负载的详细情况
 - ◆ 灭菌参数及其公差

再确认



Note – Where more than one configuration is validated, this reflected in any requalification activity

再确认

产品评估:

产品材质、结构

产品内包装材料、结构
产品外包装材料、
结构 装载方式

原料供应商

生产工艺

生产环境

生产设备

生物负载(包括抗性评估)

PCD

再确认

设备评估:

设备的IQ, 评估大系统的设备辅助系统有无维修、维护、更换记录设备有无重新安装、改动等

日常灭菌记录的评估:利用统计技术对日常灭菌参数记录进行评估, 与确认的参数比较, 与日常灭菌参数稳定性评估。

再确认：

灭菌确认及再确认记录的评估：

实施OQ（与第一次相同，传感器校准后进行）
将每年的再确认数据与首次确认数据进行比较，
再确认数据之间的相互比较。

决定PQ如何落实!!!!

产品导入与过程等效验证：TIR 28--2009

TIR28适用的医疗器械环氧乙烷灭菌情况包括：

- a,** 在已经确认的环氧乙烷灭菌过程中增加新产品；
- b,** 评估已确认产品的变化；
- c,** 已确认的过程转移到不同的场地或设备；
- d,** 评估灭菌过程的等效性。

目的是减少**PQ**循环

产品导入--文件评估候选产品

确认包装是适宜环氧乙烷灭菌的

是否有灭菌限制因素需要注意（温度、湿度或压力 敏感材料）

识别一个合适的挑战装置/放置位

置 候选产品进行生物负载测试

确定候选产品的密度能够被已确认的装载结构覆盖

产品导入---候选产品的技术评审

候选产品在EO、热或湿气渗透方面相比过程挑战装置是否呈现更多屏障

影响产品生物负载的潜在因素：

生产、生产方法、场所、原材料。

装载结构和密度是灭菌过程中的关键因素：

审核候选产品对已确认的装载结构及密度的潜在影响。

如果装载结构改变或者候选产品密度大于已经确认的产品，那么主过程挑战装置重新确定后，过程需重新确认。

产品导入---候选产品的技术评审(续)

若技术评审显示评估的产品（候选产品与PCD比较）与之前已确认产品相似且所有不同点认为是可忽略的，那么可采用文件化的产品追加。

应记录文件化的产品追加的理由

AAMI TIR 28 附录A “产品追加至EO产品族或EO处理组的评估指南” 测量候选产品对主挑战装置和外部挑战装置的相对抗力

否则： 在生产柜或试验柜中运行短周期
包括候选产品、主灭菌挑战装置、外部挑战装置
短时气体驻留以获得生物指示剂的部分生长 进行产品
无菌测试（和抗细菌真菌测试）

产品导入--候选产品的技术评审(续)

温度和湿度分布研究:

若技术评审表明待选产品可能影响灭菌过程的装载热力学反应, 可进行温度和湿度分布的研究以评估待选产品。重复初始性能鉴定, 将温度和湿度传感器分布至整个灭菌装载中, 至少运行一个周期实施该研究。

残留研究:

若技术评审表明待选产品在去除杀菌剂残留方面表现出更大的挑战性, 可进行残留研究以评估待选产品: 通过使用完整的灭菌过程实施该研究, 若适用, 应确认多次灭菌对残留的影响。

产品导入---候选产品的技术评审 的接收标准

测量候选产品对主挑战装置和外部挑战装置的相对抗力，候选产品抗力必须小于等于主挑战装置 。

成功实施产品无菌测试（和抗细菌真菌测试）

选产品的温度和湿度反应与现有产品的温湿度反应是可 比较的或证明对现有的装载没有负面影响

客户须验证EO残留以确定已确认的解析时间是充分的

否则：应用候选产品替代原先的主产品 ， 重新验证。
或：建立新的灭菌工艺，并验证。

过程等效

过程等效是证明两台或多台设备传递已经确认的工艺的方法，并不要求设备本身完全相同。

目的是减少PQ循环。

通过过程数据分析并结合微生物学评估可以建立过程等效。

过程等效的要求

无论设备是否位于同一场所或不同场所, 都可以建立过程等效。在建立过程等效程序之前, 应满足:

- a) 根据**ISO 11135**的要求, 至少在一个现有的系统内实施了完整的灭菌过程确认;
- b) 证明并记录所有设备已根据工程说明书的要求安装并根据相应的要求运行的**IQ**和**OQ**性能研究;
- c) 包括允许的公差和过程各阶段文件的过程定义;
- d) 与待选设备和初始确认设备已确认的公差相关的过程数据分析

过程等效确定

等效评估包括：

1. 实施过程分析和评估
2. 微生物评估

过程等效确定--过程分析和评估

预处理或解析区域评估：

比较在每种环境下装载的温湿度分布。至少，应评估装载内温湿度的一致性以及这种一致性与相应的设定点和该区域记录的控制范围之间的关系。若该台设备使用不同的设定点或有不同的控制范围，可能无法说明是等效的。

灭菌柜室性能评估：（续）

装载参数：

产品温度整个周期过程获得的温度及其在装载内分布。
产品湿度处理结束时获得的湿度及其在装载内分布。

过程等效确定--过程分析和评估（续）

过程参数

- 1) 灭菌周期中选定时间点的柜内湿度(例如, 处理结束或气体驻留开始)。该参数可直接测量或可以依据因湿气注入引起的压力升高;
- 2) 灭菌周期中选定时间点的柜内温度(例如, 处理结束或气体驻留开始);
- 3) 灭菌周期过程中气体驻留阶段选定时间点的灭菌柜室内EO浓度(若测量), 或气体压力升高或气体重量。

过程等效确定--过程分析和评估（续）

其他可以考虑的参数包括：

- 1) 灭菌周期中选定时间内的抽真空深度和速率；
- 2) 注湿次数和湿气注入速率；
- 3) 气体注入温度和速率以及气体使用量(重量、浓度或压力)；
- 4) 空气或氮气注入速率。

过程数据分析是用来表明这些过程在其能力范围内是等效或不等效以满足现有的过程参数范围和任何额外的接收标准。应用一种格式分析和汇编产生的数据以便用于将来的过程等效性确定。

过程等效确定--微生物评估

在微生物学评价过程中运行一短周期或半周期以证明在所有已评估的设备内该灭菌过程有能力传递规定的最小无菌保证水平。

灭菌过程致死率的确

※ 基准微生物方法（过度杀灭法）



※ 生物指示物/生物负载方法



EO灭菌确认适合

※ 生物负载方法

ISO11135:
2007(2014)新增的
方法

ISO11135: 2014附录A和B分别对生物指示物/生物负载法和 过度杀灭法进行阐述，具体要求可参考ISO14161: 2009 和 ISO14937: 2009

基准微生物方法（过度杀灭法）

※ 理论：本过程定义方法的基础是基准微生物（**BI**）的灭活

※ 应用：**EO**、蒸汽灭菌确认

※ **BI** 适合性评价：部分周期运行，**BI** 阳性率 \geq 生物负载阳性率

※ 优点：商品化**BI**，操作简单，在**EO**灭菌确认中最常见

※ 缺点：采用该方法鉴定的灭菌过程通常具有保守性，所用的处理水平可能超过了达到无菌要求所需的处理水平

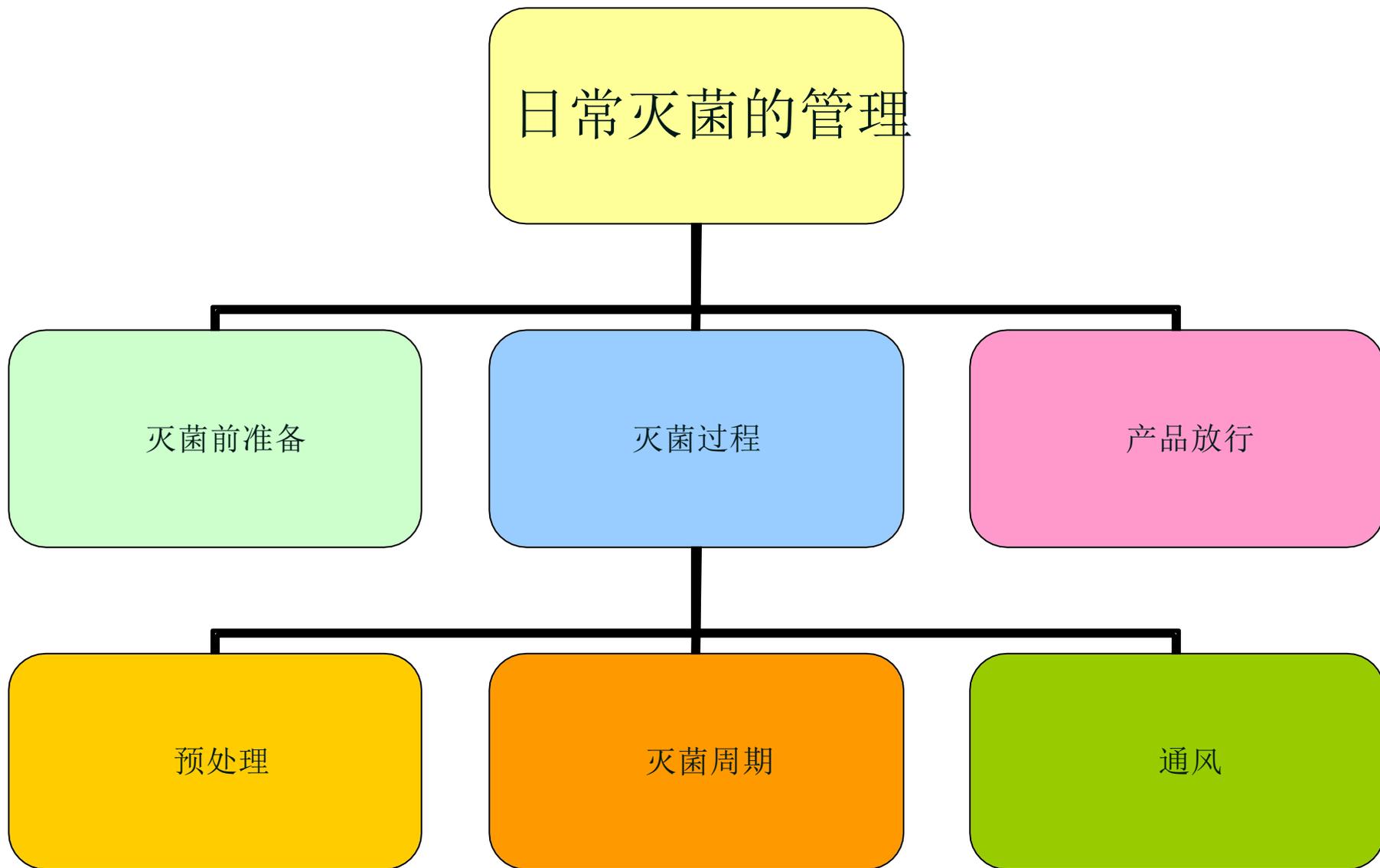
生物指示物/生物负载方

- ※ 理论：生物指示物的微生物数量和抗力与生物负载相关
- ※ 应用：**EO**、蒸汽灭菌确认
- ※ **BI**适合性评价：部分周期运行，**BI**阳性率 \geq 生物负载阳性率
- ※ 优点：缩短产品在灭菌因子中的暴露时间
- ※ 缺点：选择适宜的**BI**操作复杂，定期测定产品生物负载的数量和抗力，确认数量和抗力稳定

生物负载方法

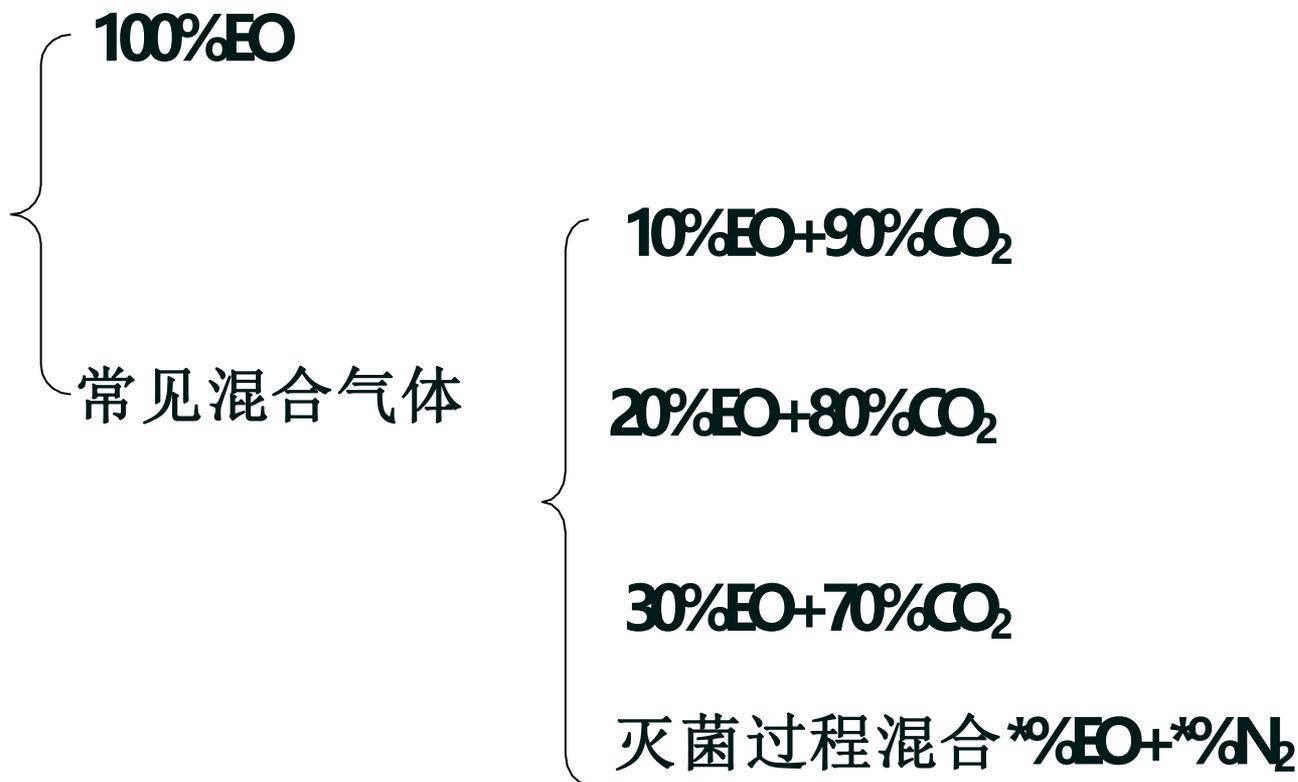
- ※ 理论：灭菌参数根据产品生物负载设定
 - ※ 应用：蒸汽、辐射灭菌确认（因自然中经常出现辐射抗性很大的细菌，因此国际上不建议采用生物指示剂设定灭菌剂量）
 - ※ 优点：较正确反应产品在灭菌因子中的暴露时间或剂量
 - ※ 缺点：操作复杂，需要定期评估生物负载的数量和抗性
- 存活曲线法（直接计数法）、部分阴性法

环氧乙烷灭菌 日常管理和控制



环氧乙烷灭菌常用气体种

✘ 气体种类



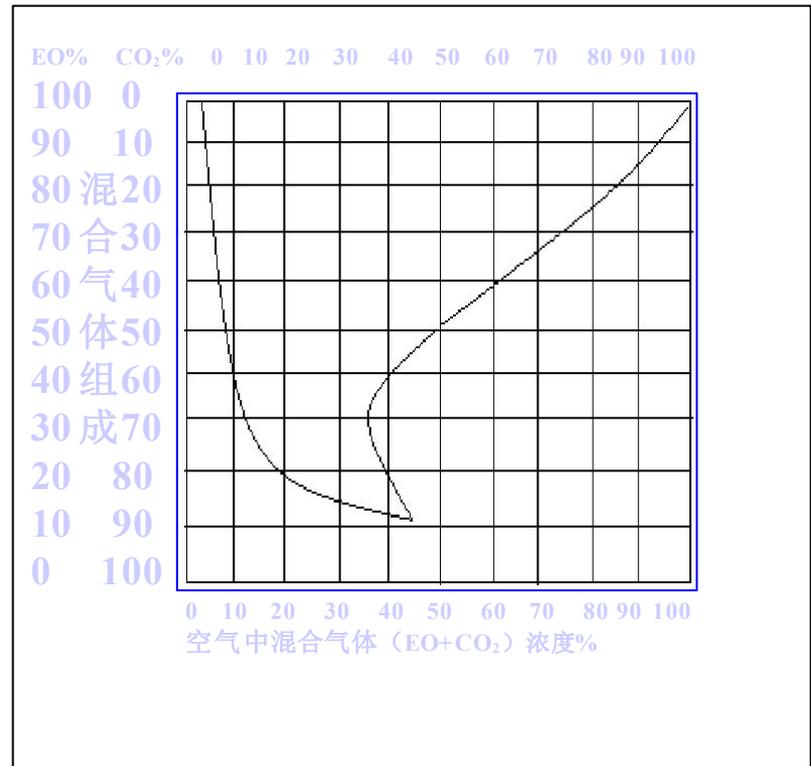
纯EO气体与混合气体区

- ※ 安全性的区别 : 混合气体相对安全
- ※ 灭菌工艺的区别 : 纯EO一般负压灭菌, 混合气体一般正压灭菌
- ※ 气体钢瓶结构的区别: 混合气体钢瓶结构复杂, 往往采用底部排液(气)的方式
- ※ 灭菌成本 : 混合气体费用相对高(制造成本, 以及部分混合气体气体不能全部被使用)

安全性举例说明



✘ EO爆炸极限



气体存放场所的管理(一)

※ 独立的存放场所



※ 良好的通风条件



气体存放场所的管理(二)

✘ 环境温度控制方式

温度传感器自动控制或人工控制

✘ 降温措施

喷水降温措施、通风、防爆空调

水柱

✘ 喷水降温实拍



灭菌过程

- ✘ 灭菌过程：完成灭菌所需的全部步骤, 包括预处理(若采用)、灭菌周期和通风
- ✘ 所需场所：预处理室（若采用预处理方式）、灭菌机、解析间、
- ✘ 完成意义：表明整个灭菌结束，特别是产品中的残留EO和其衍生物解吸附到规定点

预处理

※ 预处理的意义

产品在进入灭菌周期前, 达到合适的温度和湿度, 从而减少处理时间或缩短处理过程, 最终达到减少灭菌周期时间的效果, 提高灭菌机的灭菌能力。

※ 预处理室控制

温度（电加热、蒸汽、水盘管加热）和湿度（蒸汽不应成为新的污染源），以及良好的循环系统，实现室内良好的温湿度分布。

预处理方式和确认

※ 产品预处理的方式

灭菌装载的产品在预处理室内保持一定的时间，以使装载中产品内部的温度和湿度达到规定值。

※ 预处理效果的确认

预处理室温度、湿度设定，以及灭菌装载中产品内的温湿度分布和达到该效果所需时间应在灭菌确认时完成。

时间间隔

※ 确认用传感器

※ 时间间隔控制意义

预处理结束到灭菌周期开始的时间间隔越短越好，防止产品内温度下降。

※ 时间间隔确认

时间间隔可通过不同季节分别确认、分季节管理；或者直接采用冬季的时间间隔代替整年度的时间间隔。



温度传感器

温湿度传感器

灭菌周期

※ 灭菌周期

在一密闭的柜室内，包括进行去除空气、保压、氮气置换

（若采用）、处理（若采用）加入灭菌剂、EO作用、去除EO和换气。

※ 意义

整个灭菌过程中核心和关键，直接关系灭菌成败。

※ 灭菌周期记录纸

环氧乙烷灭菌批记录EO-Sterilization Record Per Load

Page 1/3

灭菌批号 Sterilization Lot No.	20200620	车间温度 WorkShop-temp	0	灭菌日期 Sterilization date	2020/06/20
执行工艺 Sterilization condition	烘箱	班次 Shift	20200620-01	灭菌室编号 Chamber No.	1-001
灭菌货物信息 Sterilization Goods information	产品名称 Product name	生产批号 Production Lot No.	规格/型号 Specification	数量 Quantity	备注 Remark

灭菌过程 Sterilization process	开始时间 Start Time	结束时间 End Time	可接受范围(min) Acceptable ranges(min)	实际时间(min) Actual time(min)	设定值 Setting value	判定 Conclusion
加热Heating	2020/06/20 16:48:04	2020/06/20 17:20:48	0 - 240	32.7	/	Pass
保压Temp Conditioning	2020/06/20 17:20:48	2020/06/20 19:20:49	60 - 241	120.0	120	Pass
预真空Pre-Vacuum	2020/06/20 19:20:49	2020/06/20 19:30:10	0 - 120	9.4	/	Pass
泄露测试Leak Test	2020/06/20 19:30:10	2020/06/20 19:35:10	4 - 6	5.0	5	Pass
加湿Steam Injection	2020/06/20 19:35:10	2020/06/20 19:35:25	0 - 60	0.3	/	Pass
保潮Humidify conditioning	2020/06/20 19:35:25	2020/06/20 19:35:31	0 - 6	0.1	5	Pass
加药EO Injection	2020/06/20 19:35:31	2020/06/20 20:04:12	20 - 120	28.7	/	Pass
灭菌Exposure	2020/06/20 20:04:15	2020/06/21 08:04:15	0 - 800	720.0	720	Pass
空气置换Air Flushing	2020/06/21 08:04:15	2020/06/21 09:04:27	0 - 120	60.2	/	Pass
通风解吸Aeration	2020/06/21 09:04:27	2020/06/21 09:34:27	20 - 121	30.0	30	Pass

空气去除方式和意

※ 空气去除的方式

直接深度真空； 氮气置换

※ 去除方式适应的灭菌工艺

直接深度真空：多用于混合气体灭菌，透析包装的产品
氮气置换：纯EO气体，有源产品

※ 空气去除的意义

安全；有利于蒸汽、EO的渗透；

空气去除注意事项

※空气去除过程中的注意事项
空气去除的速度是去除过程

中关键因素。过快的速度导致产品的个包装出现破裂。特别是全塑无透析包装的产品更应注意。

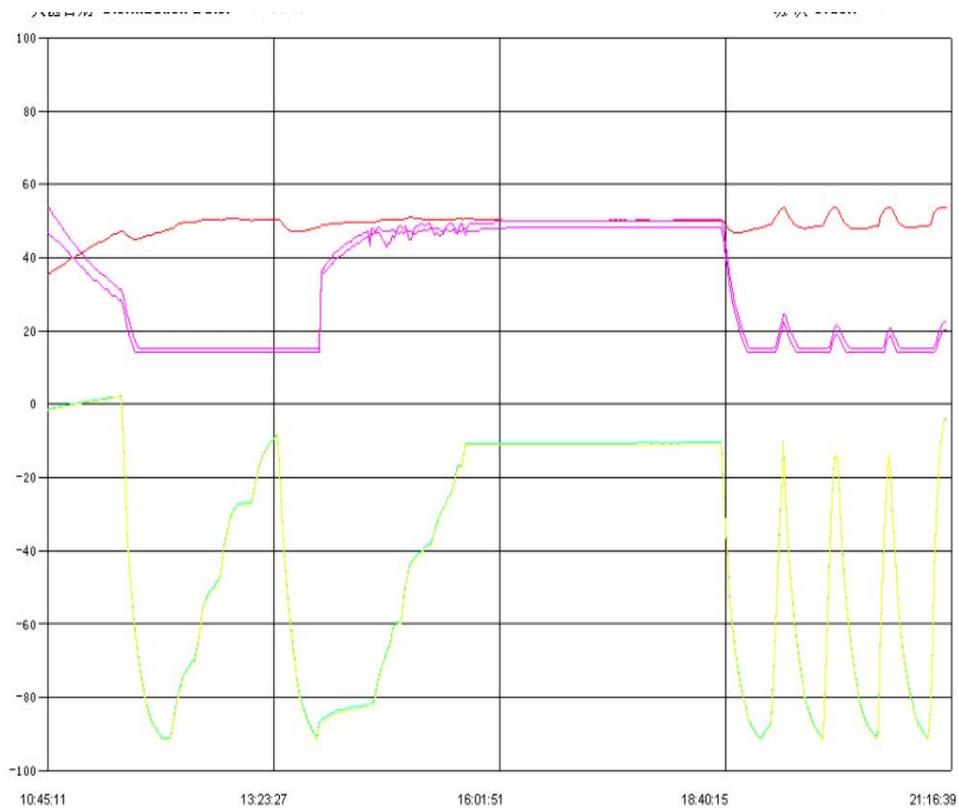
※空气去除的最短时间应在灭菌确认时确认。

※包装出现破裂示意

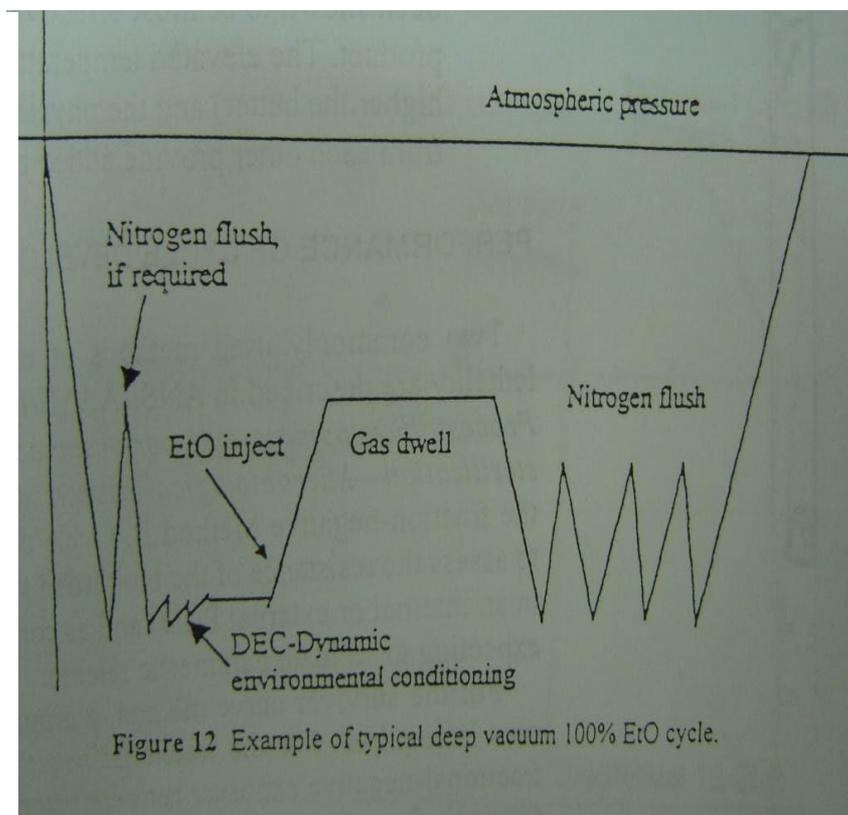


两种真空示意

※深度真空



※氮气置换



处理

※ 处理

在加入灭菌剂之前，对灭菌周期内的产品进行处理，以达到预定温度和湿度。

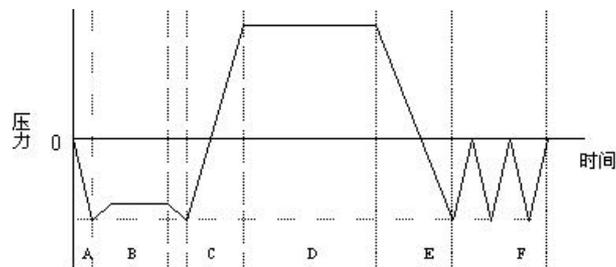
※ 静态大气循环（SAC）

循环开始前预真空，真空保持阶段蒸汽进入，给产品增加水分或进行湿润。特点：效率低，成本低

※ 动态环境调节（DEC）

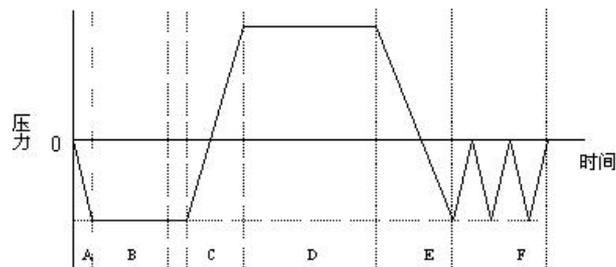
循环开始前预真空，蒸汽脉动方式进入，同时真空泵连续运转。特点：产品加热和产品湿润同时进行，效率高，成本高。

动静态给蒸示意



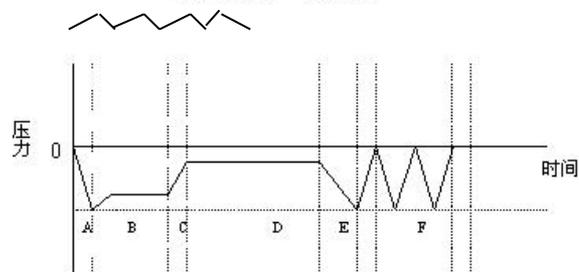
正压灭菌循环 (静态处理1次)

- A: 去除空气
- B: 处理
- C: 加入灭菌剂
- D: EO 作用
- E: 去除EO
- F: 换气



正压灭菌循环 (动态处理)

- A: 去除空气
- B: 处理
- C: 加入灭菌剂
- D: EO 作用
- E: 去除EO
- F: 换气



负压灭菌循环 (静态处理1次)

- A: 去除空气
- B: 处理
- C: 加入灭菌剂
- D: EO 作用
- E: 去除EO
- F: 换气

处理过程中蒸汽注入的注意事项

※ 蒸汽质量

蒸汽冷凝水应与待灭菌产品预期用途相一致(ISO11135:2014)。

※ 蒸汽量过少

微生物细胞表面的蛋白质没有充分成水合物质，未能充分膨胀、伸展，与EO进行烷基化反应的活性位置位不能充分暴露，阻碍EO的致死性。

※ 蒸汽量过多

- ① 影响产品包装材料的性能，出现出厂箱软化变形的异常。
另外灭菌后产品内部有过多的蒸汽冷凝水。
- ② 降低灭菌罐内的EO浓度。
- ③ EO注入前真空时间延长。

灭菌剂注入

※注入灭菌剂

灭菌周期内，经过去除空气和处理（若采用），在一定真空度下，注入灭菌剂，使灭菌罐内压力逐渐上升的一个过程。

※灭菌剂注入量的控制方式

灭菌剂的重量：注入前后的EO气体重量差

灭菌压力：到达设定灭菌压力，进气关

闭 浓度：根据柜内EO浓度进行控制

※方式比较

重量法：人工、防爆电子称、机械加反馈。

压力法：通过压力传感器实现自动控制，精度高。

浓度：需定期效准浓度传感器

灭菌剂类型与工艺关

※ 举例说明（温度 **60 °C**，**EO**浓度 **600mg/L**）

纯**EO**气体：气体注入前后的压差约需 **38KPa**

20%EO+80%CO₂气体：气体注入前后的压差约需 **190KPa**

30%EO+70%CO₂气体：气体注入前后的压差约需 **120KPa**

（均不考虑气体暴露中的待灭菌产品对**EO**的吸附）

※ 混合气体通常采用正压灭菌，纯**EO**气体通常采用负压灭菌

※ 原因：灭菌罐内绝对真空 **-101.3KPa**，上述混合气体为达到 **600mg/L**，则罐内压力必须 **≥89KPa**；

纯**EO**气体达到同样的浓度，如要负压灭菌，气体注入

前真空度 **-38KPa**以下就可以实现。

灭菌剂注入过程注意事项(1)



※ 灭菌剂注入速度过快，采用透析材料包装的产品个包装易出现真空包装。



※ 严重的时候导致产品变形，特别是易变形的部件。

解决方法

※注入时间管理

通过灭菌确认时制定的注入时间进行管理，严格遵守。

※产品设计

适当减小个包装的尺寸，与产品相匹配；增加个包装的内表面粗糙度。

※减小个包装示意



灭菌剂注入过程注意事项（2）

- ※ 灭菌剂注入速度缓慢，影响灭菌效率。
- ※ 有时候出现管路外表面结霜现象。
- ※ **EO**气体不宜直接喷射产品。

※ 管路外表面结霜示意



原因分析

- ※ 钢瓶阀门开度不够，致使少量的液态EO进入管路，在管路中汽化。
- ※ EO钢瓶到汽化器之间的管路管径过粗，汽化器到灭菌机之间的管路管径过细。

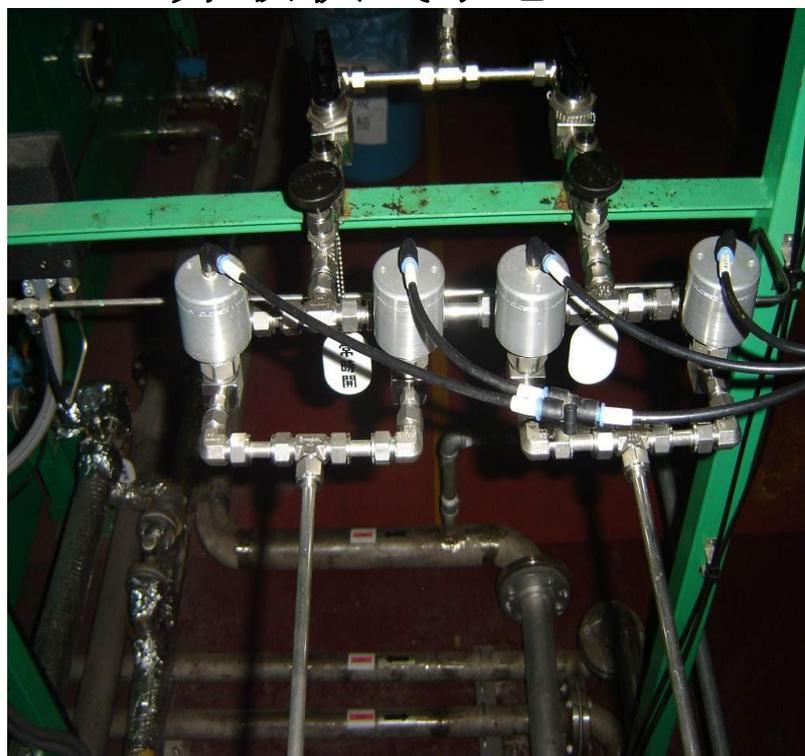
※ EO聚合物示意



解决方法

- ※ 定期清洗管路，特别是夏季高温天气时应加大清洗频率。
- ※ 采用多路并联供气方式，以便出现其中一路管路堵塞时，能及时切换到另一路，保证气体注入正常。
- ※ EO气体不宜直接喷射产品，可在喷口处加扩散板。

※ 并联供气示意



灭菌剂注入过程注意事项（3）

液态方式进入灭菌罐

- ※ 灭菌剂未能在汽化器内实现充分汽化，导致部分灭菌剂在灭菌罐内实现汽化过程。

造成的异常

- ※ 灭菌罐内听到气体摩擦声，罐内压力瞬间上升。
- ※ 出厂箱挤压变形，产品可能影响。

※ 出厂箱挤压变形示意



解决方法

灭菌剂汽化器的管

理 汽化器作用

※汽化器示意

- ※ 液态的灭菌剂在汽化器内实现充分汽化，然后以气态方式注入灭菌罐。

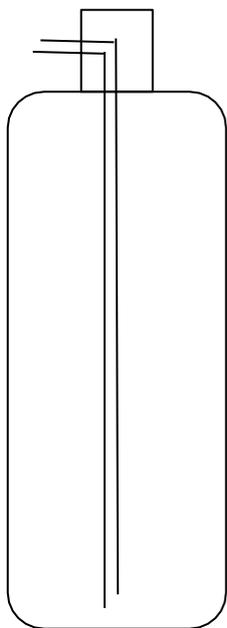
汽化器的管理

- ※ 汽化温度控制
- ※ 汽化器后EO温度的监测

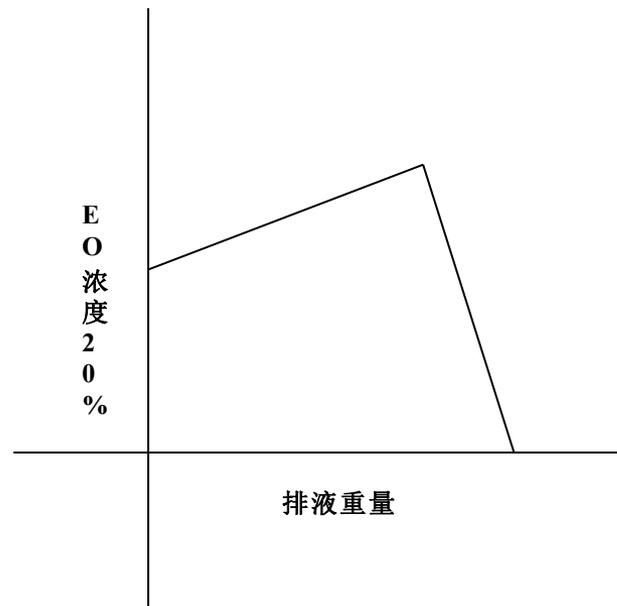


灭菌剂注入过程注意事项（4）

※ 20%EO+80%CO₂钢瓶结构



※ 排液与EO浓度关系



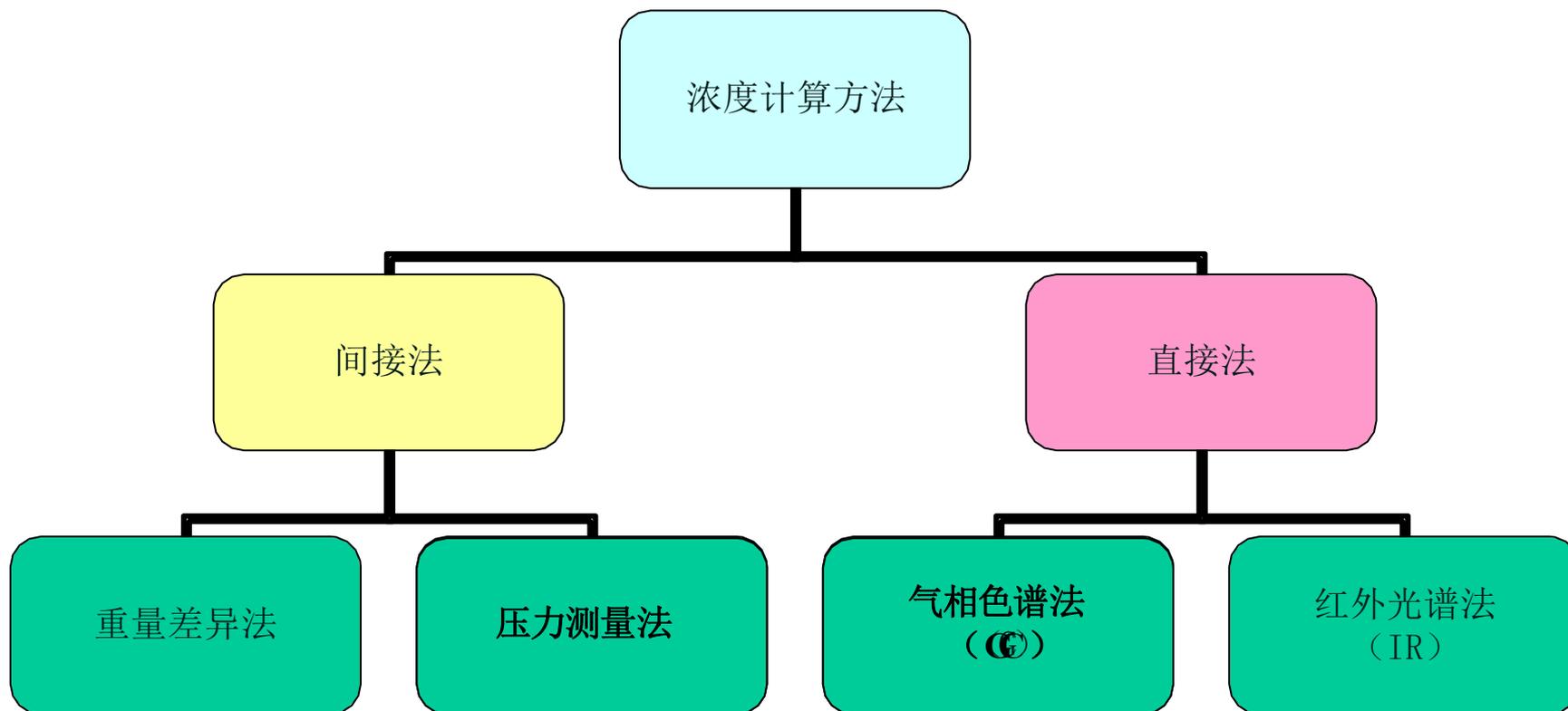
解决方法

- ※ 混合气体应在使用一定限量后及时关闭阀门。
- ※ 因混合气体工业化灭菌往往采用多瓶气体并联供气的方式。

- ※ 多瓶气体并联供气示意



EO浓度计算



重量差异法浓度计

※基本方法

计算气体注入前后钢瓶的重量，假设纯EO气体或混合（EO+稀释气体）均匀进入容器，得到一个计算的气体浓度。

※优缺点

优点：计算方便，仅需要一个称重装置即可实现。

缺点：罐体实际体积的不确定性，包装材料或产品吸收，使用混合气体时EO输出浓度可变性等原因，与真实值有一定差距。

重量差异法浓度计算实

※纯EO气体

罐体体积 **10m³**, EO气体注入前后钢瓶重量差是**6.2Kg**。则
气体灭菌时罐内最大浓度= 6.2×10^6 (10×10^3)
=620mg/L

※混合气体 (20%EO+80%CO₂)

罐体体积 **10m³**, EO气体注入前后钢瓶重量差是**30Kg**。则气
体灭菌时罐内最大浓度= $30 \times 20\% \times 10^6 / (10 \times 10^3)$
=620mg/L

压力测量法浓度计

※基本方法

计算气体注入前后灭菌罐体的压力差，假设EO、水蒸汽、空气、稀释气体（若使用）的混合气体等同理想气体，无选择性损失（吸附和吸收），混合气体（若使用）气体重量百分比进入灭菌罐时保持恒定。

※优缺点

优点：计算方便，仅需要较高精度的压力表。

缺点：使用混合气体时EO输出浓度可变性等原因，与真实值有较小差距。

压力测量法浓度计算公

※基本公式

$$\text{EO conc} = \frac{\mathbf{K \times p}}{\mathbf{R \times T}}$$

※环氧乙烷-稀释剂常数

环氧乙烷-稀释剂	K (mg/g-mol) a	K (lb/lb-mol) b
100%EO	4.4×10^4	4.4×10
10%EO+90%CO ₂	4.4×10^3	4.4
12%EO+88CCl ₂ F	1.2×10^4	1.2×10
20%EO+80%CO ₂	8.8×10^3	8.8

压力测量法浓度计算实

※纯EO气体

EO气体注入罐体压力上升**40KPa**，气体注入时温度**55 °C**。

$$p= 40\text{KPa}=0.39\text{atm} \quad T= 55 \text{ °C}=328\text{k} \quad R=0.08205$$

$$\begin{aligned} \text{灭菌时罐内最大浓度} &= K \times p / (R \times T) \\ &= 638\text{mg/L} \end{aligned}$$

※混合气体（20%EO+80%CO₂）

气体注入罐体压力上升**180KPa**，气体注入时温度**55°C**。

$$p= 180\text{KPa}=1.79\text{atm} \quad T=55 \text{ °C}=328\text{k} \quad R=0.08205$$

$$\begin{aligned} \text{灭菌时罐内最大浓度} &= K \times p / (R \times T) \\ &= 585\text{mg/L} \end{aligned}$$

GC法浓度计算

设备基本构成

※气体采样管路

不锈钢管路+保温装置

※采样装置

真空泵循环系统+控制系统

※分析装置 GC

(TCD检测器)

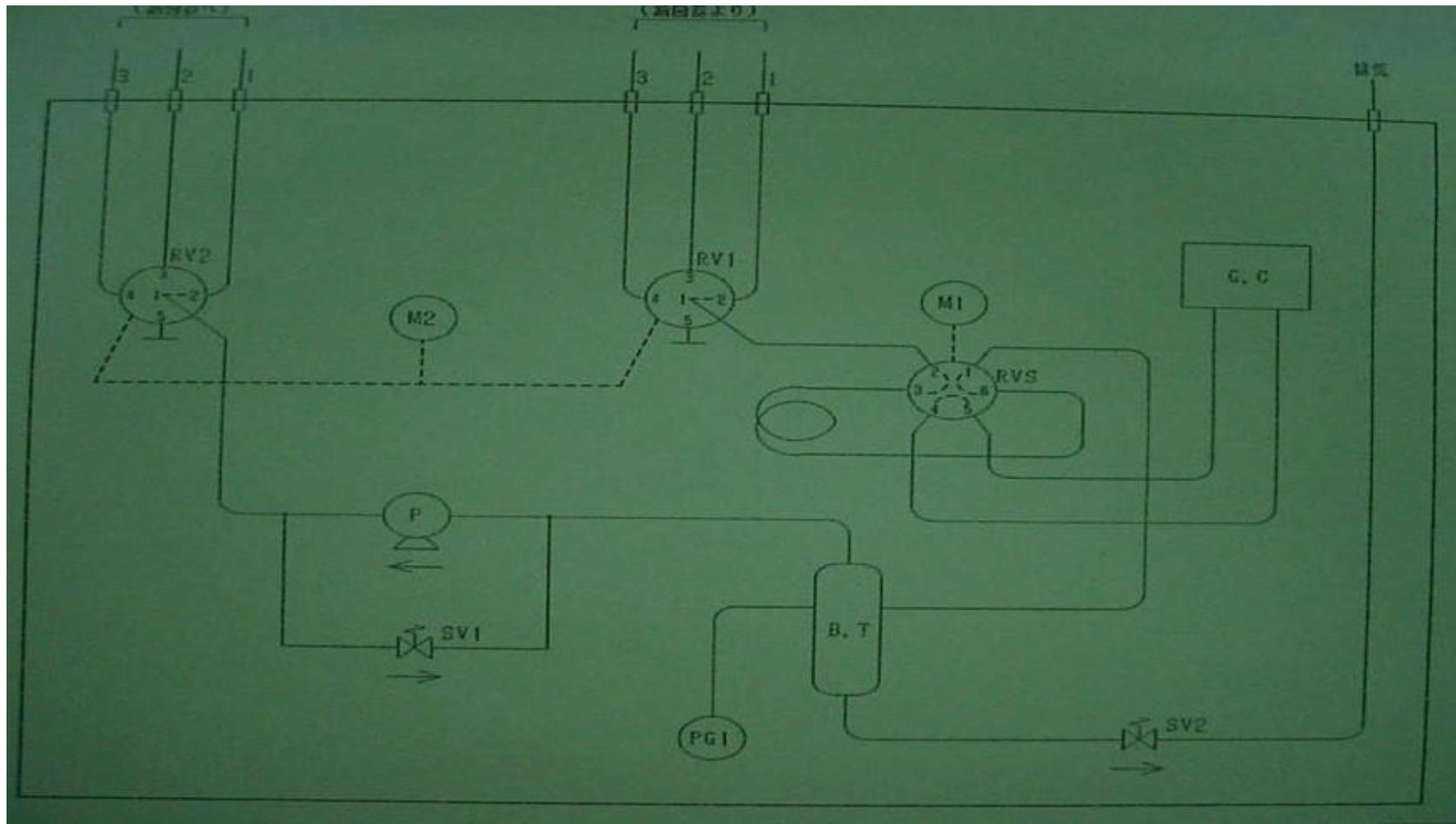
※数据处理机

数据处理和定量计算

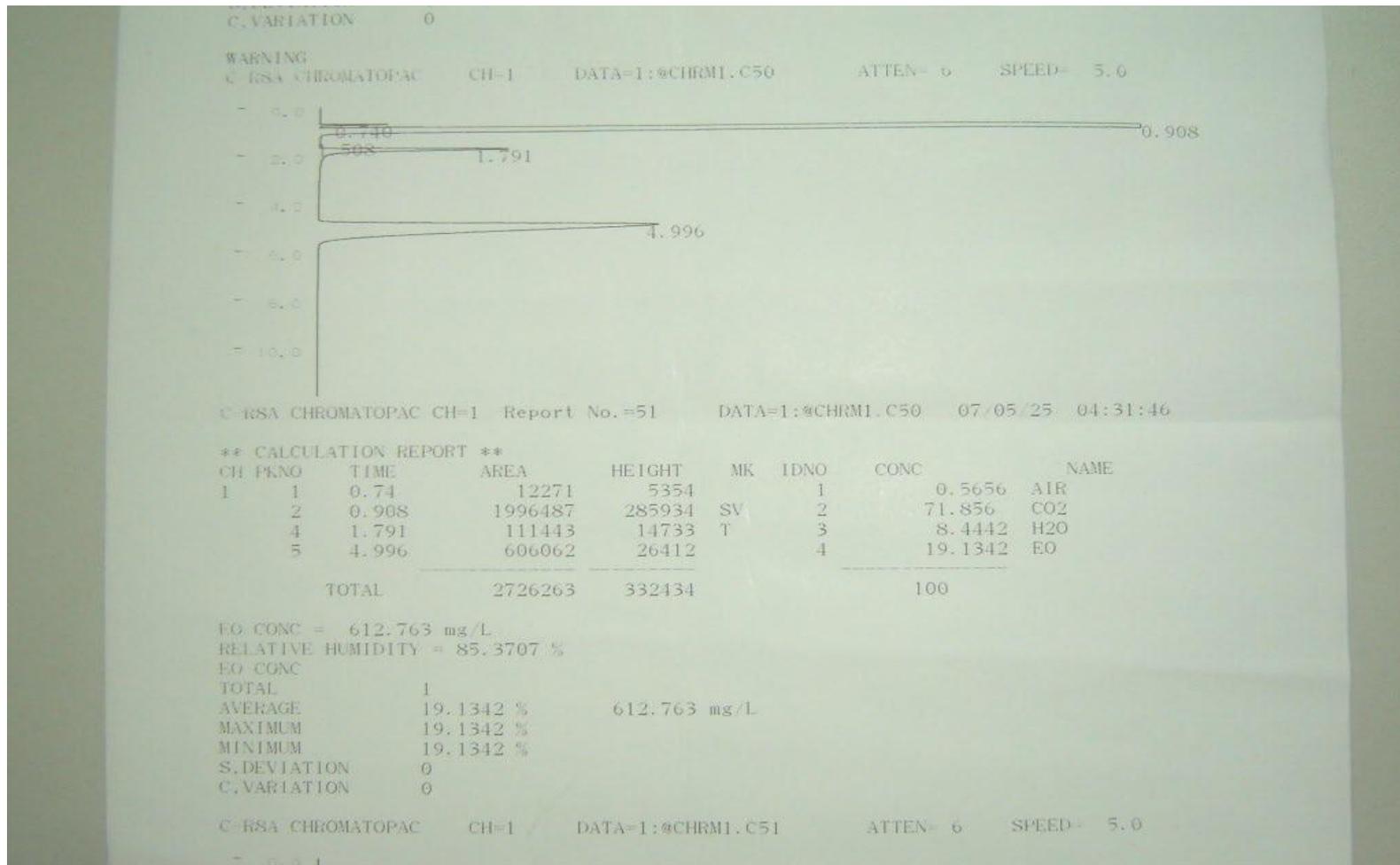
※分析装置示意



采样装置示意图



色谱图示意图



※优点

在线实时较精确分析。

※缺点

- ① 装置复杂，价格高；日常使用成本高。
- ② 采样管路需保温处理。
- ③ 仪器异常时的分析，定期维修和再确认技术相对复杂。

※管路保温处理



Bi阳性原因判断

1、工艺过程：

预热（温度、湿度、转移时间）

灭菌（温度、湿度、时间、浓度等）

装载（半载）

解析

2、验证过程未覆盖最难灭菌情况

温度(未来挑战最难温度)

湿度

3、其它：

EPCD

BI丢失

培养过程（操作、培养基、重复使用的注射器等）

尾气的处理

※焚烧法

利用燃气, 在焚烧炉内焚烧
EO气体, 生成 CO_2 和 H_2O 。



尾气的处理

※化学法

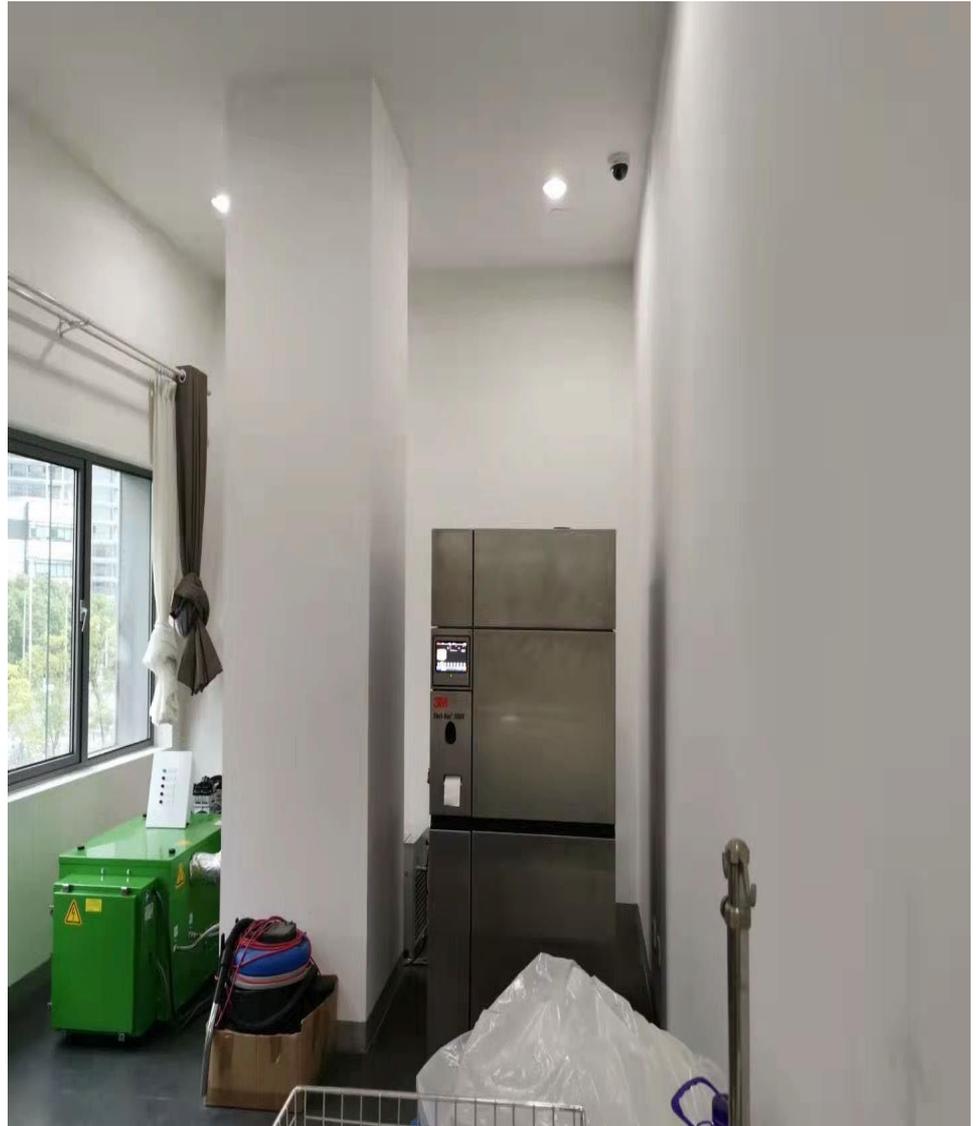
水体吸收后，在催化剂作用下，利用化学反应，使E0转变乙二醇。



尾气的处理

※化学法

在催化剂作用下，直接和氧气反应，生成二氧化碳和水。



尾气的处理

※多种方式集成

燃烧+催化

酸吸收+UV光解+活性炭

ISO11135: 2014要求评估灭菌过程对环境的潜在影响，并确定环境保护措施；
对于EO及其稀释物的排放和处理，EO使用者应符合适当的地区、国家和国际要求。

解析

※解析

解析是灭菌过程的一部分，残留的EO或其反应产物（ECH、EG）从产品中解析附到预定水平。

※解析场所

一般为专门解析室，也可在灭菌罐内实现（降低了灭菌机灭菌能力，应用较少）。

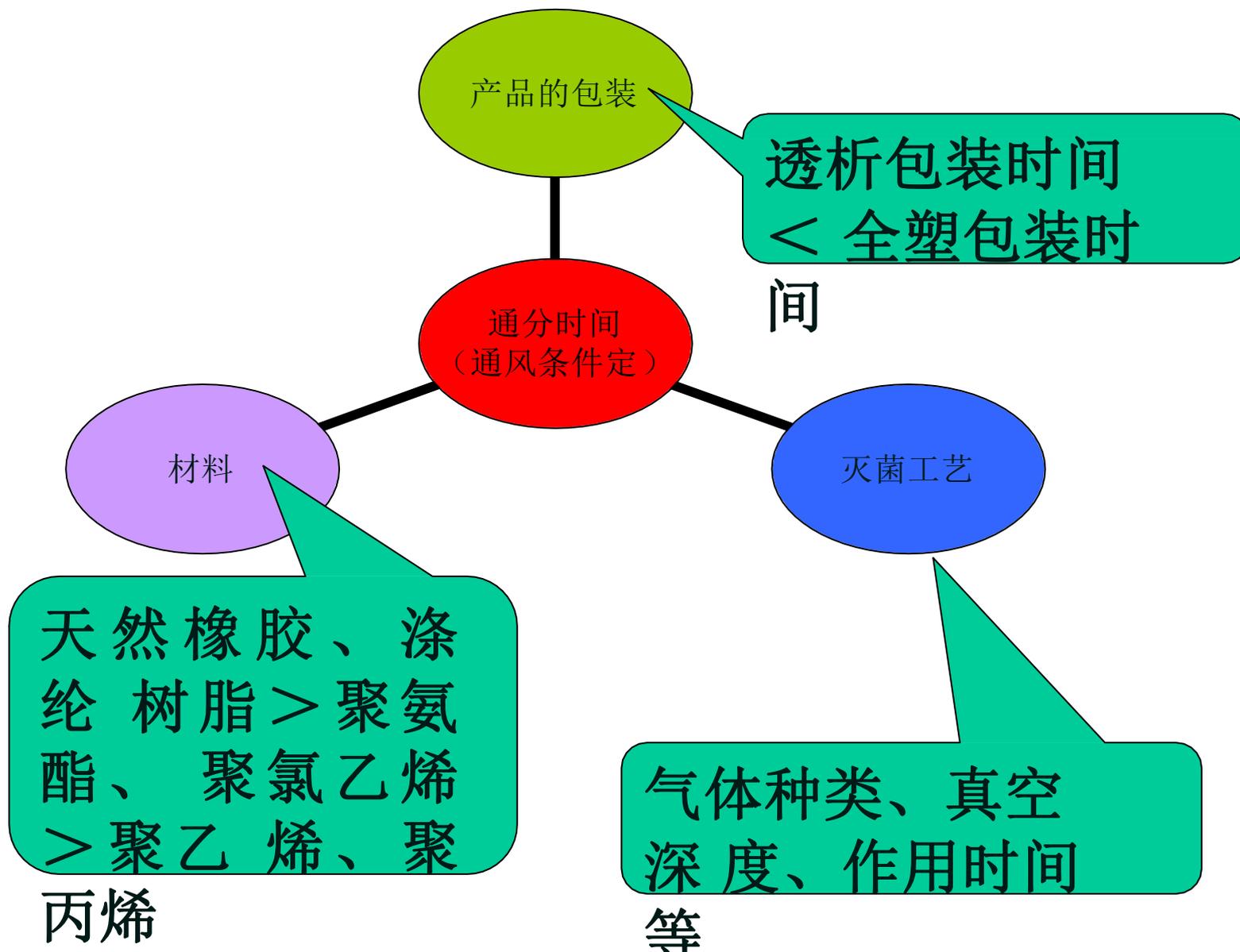
※控制参数

温度和换气次数。



注意气流组织

解析时间



仓库解吸附注意事项

※仓库解吸附原因

部分工厂无专门解吸附室，在灭菌罐内实现解吸附又不经济，比较现实的方式是在仓库环境下自然解吸附。

※仓库解吸附管理

- ①通常仓库无温控和换气装置，可采用季节性管理。
- ②同仓库解吸附到期产品和刚解吸附开始产品混放，应确认两者间相互干扰的可能性。
- ③如有可能，设置一定的抽气通风装置。

环境中EO浓度的检测：作业员工的健康

TRGS513的要求

- 在海关开集装箱时检测E0浓度，要求是 $0.2\text{mg}/\text{m}^3$

传统产品放行

- ※灭菌参数合格
- ※管理用生物指示物（**IPCD**、**EPCD**）无菌试验合格
- ※残留**EO**及其反应物解吸附到规定水平



要求:结构简单
尺寸适宜

传统产品放行注意事项（一）

※所有参数确认

参数应在灭菌确认时制定的管理规格内，特别是气体保持过程中罐内温度、湿度、EO浓度和作用时间必须得到保证。

※管理用生物指示剂（EPCD）

BI的抗力选择：管理用的**BI**（**EPCD**）的**D**值 \geq 灭菌确认时产品内部**BI**（**IPCD**）的**D**值，通常 ≤ 2 倍**IPCD**的**D**值。

初次确认时**BI**的选择很重要，**D**值相对大，有利于今后的再确认。

传统产品放行注意事项（二）

BI无菌试验（一）

※产品无菌试验的含义

无菌检查法系用于检查药典规定要求的药品、医疗器械、原料、敷料及其他品种是否无菌的一种方法。若供试品符合无菌检查法的规定，仅表明了供试品在该检验条件下未发现微生物污染。

※产品无菌试验的影响因素

产品染菌概率和抽样量

※产品无菌试验的无菌保证水平

SAL 10^{-2} ~SAL 10^{-3}

传统产品放行注意事项（三）

BI无菌试验（二）

※ BI无菌试验的意义（举例说明）

EPCD的D值=2倍**IPCD**的D值，如果**EPCD**无菌试验呈现阴性，**EPCD**的SAL $\leq 10^{-2}$ ，**EPCD**至少杀灭8个SLR，则**IPCD**至少杀灭16个SLR，产品的无菌保证水平达到 10^{-10} （SAL）。

※ BI无菌试验的假阴性

培养基的不适合

培养条件的不适合

BI中过量的残留EO

传统产品放行注意事项（四）

BI无菌试验（三）

※ BI无菌试验验证

- ① 培养基灵敏度试验：选择合适的培养基
- ② 培养条件试验：选择合适的培养条件
- ③ EO残留量对BI抑制试验：如存在抑制，可采用培养基稀释的方法去除抑制作用。

传统产品放行注意事项（五）

残留EO及其反应物解吸附

※无扩散曲线数据的放行

每灭菌批次的样品按**ISO10993-7**进行检测，符合要求。

※应用扩散曲线的放行

扩散曲线是用来估算产品达到规定残留量的解吸附时间。

※应用扩散曲线的缺陷

解吸附条件必须稳定，不适合采用自然解吸附的仓库条件。

参数放行

- ※ 灭菌参数在规定的管理规格内，根据物理参数的测量和评价 来确认灭菌适合。
 - ① **ISO11135: 1994**规定参数放行必须采用部分阴性法或存活曲线法进行微生物性能评价；
 - ② **ISO11135: 2007(2014)**规定参数放行必须采用在线分析EO浓度和直接测量柜内湿度。
- ※ 应用范围
- 因为设备的限制，国内真正采用参数放行的比较少。

FMEA

潜在失效模式与后果分析

FMEA

潜在失效模式与后果分析（**Potential Failure Mode And Effects Analysis**）

是一门**事前预防**的**定性**分析技术，自设计阶段开始，就通过分析、预测设计、过程中潜在的失效，研究失效的原因和后果，并采取必要的预防措施，以避免或减少这些潜在的失效，从而提高产品，过程的可靠性。

FMEA是一种使用十分普遍的思维方法

FMEA是一种使用十分普遍的思维方法
日常生活中几乎每人都在使用这种方法

日常生活中几乎每人都在使用这种方法

何时进行FMEA

1、设计DFMEA:

- 针对产品本身，产品设计、开发时期的分析技术。
- 主要是设计工程师和其小组应用。

2、过程PFMEA:

- 针对产品的实现过程，过程开发设计的技术分析。
- 主要是过程（工艺）工程师和其小组应用。

环氧乙烷灭菌中的FMEA

DQ IQ、OQ PQ: 生产过程中的FMEA

※准备:

产品、装载、EPCD布放

※预热:

温度、湿度、扰动、公差、转移

※灭菌:

加热、保温、预真空、保压、(氮气置换)、加湿、保湿、加药、暴露、清洗、转移

※解析:

温度、换气次数、速率、时间

环氧乙烷灭菌中的FMEA

A	B	C	D	E	F	G	H	J	L	N	O
风险编号	参考	流程步骤	潜在的错误	错误后果	错误原因	目前消除错误的措施	发生 (A) 严重性 (B)	发现(E)	RPZ A x B x E	控制风险的 措施	
4.6.1		气体进入	气体进入时间过短	物品 有菌/达不到无菌保证级别 过程不符合经过验证的参数	操作工人操作不规范	1、验证时对加药时间进行评估，建立较宽的接受范围 2、培训员工对工艺要求的识别和操作能力	3	5	1	15	
4.6.2			气体进入时间过长	残留超标				3	5	1	15
4.6.3							技术错误 (EO 汽化器故障)	1) 按照规定进行定期维修保养 2) 确认取决于以下文件里的灭菌变体:	3	5	1

在日常生产中有那些FMEA可以做！！！！

市场化灭菌的探讨与管

市场化灭菌的优势

※ 安全性考虑

EO灭菌存在一定的危险性，国内外都有灭菌机爆炸、人员伤亡的报道。

※ 经济性考虑

EO灭菌需要设备投资，如果灭菌量少，使用率低、存在设备闲置。

※ 技术性考虑

合格的**EO**灭菌确认及日常灭菌管理均需要专业技术人员。

企业的选择

※ 世界

西方国家，市场化灭菌（合同灭菌）非常普遍，涉及蒸汽、EO、辐照等多种方式。因灭菌工厂强大的灭菌技术支持，产品的无菌水平得到很好的保障。

※ 中国

灭菌现状：目前辐照灭菌采用合同灭菌非常普遍，另外的方式也有逐步增加的趋势。对中小医疗器械生产企业来说，生产由企业自身负责，灭菌交专业的灭菌公司负责，也是一个好的选择。

灭菌公司的选择：国内灭菌公司良莠不齐，选择拥有较高技术水平专业的灭菌公司对生产企业来说非常关键。



市场化灭菌的探讨与管

- ※ 寻找环氧乙烷外包灭菌
- ※ 评估灭菌外包商
- ※ 与灭菌外包商签定协议
- ※ 环氧乙烷外包管理

市场化灭菌的探讨与管

※ 寻找环氧乙烷外包灭菌

灭菌中心与企业的物理距离和最终用户的距离

灭菌中心的能力（预热、灭菌、解析、**CNAS**、**CMA** 处理能力-产能）

※ 评估灭菌外包商

灭菌成本（灭菌、存储和运输）

环评、安评、卫评（合法、合规、执行）

质量体系与执行

灭菌相关标准能力（**IQ**、**OQ** 软件确认、**PQ**）

形成报告

市场化灭菌的探讨与管

※ 与灭菌外包商签定协议（明确双方责任）

灭菌确认（初次确认：**BI**, **PCD**, 样品等、再确认）；

灭菌（工艺参数、栈板规格、对应灭菌装置、产品包装、装载）；

无菌检测（产品、**BI**及存储、放置、回收、处理、时间管理）；

产品解析；

EO残留量检测；

热原检测（如有）；

产品的交付与接收（灭菌数据、菌检数据、合格放行、规定放行程序、指定责任人, 联系人**1, 2, 3**、损坏、偏差）

应充许第**2、3**方现场审核和数据评审
其它商务信息

市场化灭菌的探讨与管

※ 环氧乙烷外包管理

定期执行评估

评审年度再鉴定

体系、校准、维护、**oQ** 再鉴定、偏差、协议

飞行检查中有关灭菌问题的案例分

※ 厂房与设施

存储区未见防火防爆等防护措施。

物流。

区域分配不合理。

未安装报警装置，通风装置，温湿度监测装置。

预热间不能满足预热条件要求，未配备温度调节，通风设备和监控设备。

灭菌柜不能满足工艺条件要求，未配备工艺执行和监控设备。

解析库不能满足解析条件要求，未配备温度调节，通风设备和监控设备。

飞行检查中有关灭菌问题的案例分

※ 设计开发

灭菌方式不适合

产品中有水。

产品中有不透气的部份。

包装不透气（**PGA**等产品灭菌后封口）。

有些材料**EO**灭菌后，要数个月的解析时间。

验证

验证主计划没有覆盖公司所有包装形式，灭菌工艺。

产品中有电池，选择**EO**灭菌并未有防爆处理。

OQ中温度分布测试中，未覆盖**EO**暴漏阶段。

BI没有放在产品中最难灭菌的地方，做好的**PCD**也没有放在装载中最难的地方。

替代品不能代表产品，不是最难灭菌的产品。

未考虑产品的起始温度，未即用无线温度传感器，未建立升温数据模型。

MPQ&PPQ未使用挑战条件。

无菌培养未按标准规定执行（温度、时间）。

半周期未热柜启动。

加**EO**时间未使用挑战条件。

包装、运输、老化、阻菌、跌落、、、

飞行检查中有关灭菌问题的案例分析

生产管理

日常生产

未按灭菌工艺参数执行：

产品温度低于验证规定最低温度。

预热（若采用） 温度、湿度、时间、扰动（风速）。转移

灭菌过程 预调理、初始真空度、真空时间、氮气加入压力、加湿压力、湿度（直接测定、参数放行）、加湿时间、EO加入压力、重量、时间、EO浓度（直接测定、参数放行）、暴漏时间、温度、压力、扰动（风速）、清洗（真空度、真空时间、氮气加入压力、氮气速率、次数。

解析通风（解析） 温度、时间、换气次数。

未放BI、未按规定放置BI、未按规定时间送检培养、丢失，未按规定培养、BI培养阳性。

操作人员未培训上岗。

维护保养

日常生产过程保养，参照制造商的建议和设备特性建立保养计划，并按保养计划对设备进行预防性维护保养，并形成记录。

配件损坏更换无记录。

飞行检查中有关灭菌问题的案例分

※ 生产管理

替代品的管理

日常灭菌过程中出现灭菌产品过少, 采用替代品填充的方式进行混合灭菌, 最大限度保证参数的可控性和重现性。

化学指示剂 (CI)

普通化学指示剂仅作为区分已灭菌和未灭菌的区分, 不能进行灭菌效果评价。

新产品

未按标准进行验证。

飞行检查中有关灭菌问题的案例分

※ 采购控制

进货要求、进货检验要

求 委外灭菌

委外灭菌质量协议未规定以下事项，如：

日常灭菌参数

日常灭菌装载和PCD放置

图 适用的产品和包装方式

灭菌记录批准和放行的要

求 变更批准的要求

再确认的要求



Q & A



感谢您的聆听！