

医疗器械的常用灭菌方法及验证

医疗器械产品灭菌的目的，是使产品无任何类型的存活微生物，在灭菌过程中，微生物的死亡规律是用指数函数表示的。因此任何单位产品上微生物的存在可用概率表示，概率可以减少到很低，但不可能为零。该概率可用无菌保障水平（SAL）表示，通常无菌概念是指无菌保障水平（SAL）达到 10^{-6} 。

医疗器械灭菌验证一般分为安装确认（IQ）、操作确认（OQ）和性能确认（PQ）。

安装确认是指：获得证据并用文件证明灭菌设备及其附属设施，已按照规定的要求被提供和安装。

操作确认是指：当设备按程序运行时，获得证据并用文件来证明已安装的设备，有能力在指定的允差范围内提供特定的过程。

性能确认是指：获得证据并用文件证明设备能够在预先设定的参数下持续运行，且这个过程加工后的产品是无菌的。性能确认一般包括物理性能确认和微生物性能确认，器械所使用的材料对灭菌方法的适用性，也是性能验证中的重点。

本文结合国际上最新的灭菌相关标准，介绍了无菌医疗器械生产的几种常用的灭菌方法及其验证要点，如环氧乙烷灭菌（EO 灭菌）、辐照灭菌、高压蒸汽灭菌和甲醛蒸汽灭菌等，以供医疗器械研究和生产单位参考。

1. 环氧乙烷灭菌

20 世纪 50 年代起环氧乙烷(ethylene oxide, EO)开始用于医院灭菌。经过众多科学家的研究证明，环氧乙烷被认为是一种灭菌效果较好的低温化学灭菌剂，在常温下即有良好的穿透作用，对物品无损害，而被广泛用于畏热、畏湿的医疗器械产品灭菌中。

1.1 灭菌原理

EO 是一种简单的环氧化合物，遇水可形成乙二醇，具有较大的蒸汽压，对物品的穿透性较强。据报道，EO5min 能穿透 0.1mm 厚的尼龙薄膜，26min 能穿透 0.3mm 的氯丁胶布，41min 能穿透 0.39mm 厚的丁基橡胶布。

如果要达到一定的灭菌效果，灭菌剂必须充分接触物品的各个表面，EO 的这种高穿透性大大提高了其灭菌效果。EO 对细菌、

芽孢、真菌、立克次体和病毒等各种微生物具有杀灭作用，属于光谱杀菌剂，其灭菌机理是与细菌蛋白质分子、酶、核酸中的氨基、羟基、羧基相结合，产生烷基化作用，对菌体细胞的代谢产生不可逆的破坏，从而达到灭菌作用。

1.2 灭菌验证

环氧乙烷灭菌的验证包括以下 3 个步骤：

安装确认：一要确认灭菌器随机文件和附件的完整性，如安装记录、图纸、计算机软件、计量装置的校准等，二要对灭菌器工作环境的符合性进行验证，如水质检测、安全要求等，三是要验证灭菌器安装是否符合设备安装要求，要确认灭菌剂的浓度及质量状况。

操作确认：验证灭菌设备有能力在指定的允差范围内提供特定的过程，如温度分布试验、湿度分布试验、泄漏试验、真空速率试验、空气循环试验（如果使用）等。

性能确认：包括物理性能确认和微生物性能确认。

物理性能确认，应书面证明过程的重现性，并且符合所有指定的可接受参数。这些过程包括预处理、处理、灭菌和通风阶段等，操作重现性确认一般至少需要 3 次连续运行，适当时进行微生

物挑战试验。环氧乙烷是致癌物，通风次数和解析放置的温度与时长对环氧乙烷的残留的影响，也需要作出相应的评价。

微生物学性能验证，目的是应书面证明在灭菌过程后，产品的无菌性能已经达到特定的要求（ $SAL=10^{-6}$ ）。

微生物性能验证的方法有：生物负载法和过度灭菌法。一般情况下，EO 灭菌微生物性能确认均采用生物指示剂（BI，枯草杆菌芽孢）。进行微生物学性能验证的产品，应采用与其常规灭菌相同的包装，生物指示物应放置在被灭菌物品中最难灭菌的部位，并在预处理前就放入选定部位，且在整个灭菌周期保持该位置。

生物指示物监测点的数量应能验证灭菌器内全部被灭菌物品的微生物灭活，通常灭菌室体积 $\leq 10m^3$ 时，验证时至少设置体积 $V \times 3$ 个检测点，但不少于 5 个，日常监测至少设置 $V \times 1.5$ 个检测点，但不少于 5 个。

灭菌室体积在 $>10m^3$ 时，验证时至少设置体积 $30 + (V-10) \times 3$ 个检测点，日常监测至少设置 $15 + (V-10) \times 1.5$ 个检测点。这里还涉及到温湿度探头的数量等要求，不同体积的灭菌器有不同的要求，可查阅 ISO 11135-1:2007 附录 C。

由于环氧乙烷灭菌不存在通用的经典灭菌参数，影响灭菌效果的因素多且相互关联，灭菌过程控制复杂，所以为了保证灭菌效果，对其灭菌过程进行严格的验证是必要的。此外，若灭菌设备、被灭菌物品和装载方式任何一个因素改变时，都需要重新进行验证。

1.3 产品放行

日常监测中，需要监测预处理时的温度和湿度、处理过程中灭菌柜内的湿度和时间、整个灭菌过程的温度和压力、环氧乙烷已注入的证据、灭菌时间、解析时的温度和压力变化。最终只有生物指示物（BI）培养全部显阴性且灭菌过程参数在性能验证的参数范围内，产品才可以放行。

1.4 应用

E0 可用于不耐高温、不耐湿物品的灭菌，被认为是一种灭菌效果最好的化学灭菌剂，可杀死所有微生物包括细菌以及芽孢。E0 具有极强的穿透性，可用以各种难通透部位的灭菌，如有些较细、较长的导管用其他低温灭菌方法很难达到灭菌效果，而只能选择 E0 或者辐照。

E0 灭菌对物品的损害也较小，灭菌是利用烷基化原理而非氧化过程，对不耐热的材料及设备有着非常广泛的应用前景。采用 E0 灭菌时，可以用各种包裹材料包裹，便于储存、运输，打开包装即可使用避免了交叉污染的危险，并且在灭菌过程中，

有标准的化学、生物监测手段，从而可以有效的控制灭菌质量。

E0 在临床上有着广泛的用途，采用 E0 灭菌的设备及产品包括：

硬式和软式内镜，如：关节镜、气管镜、膀胱镜、胃镜、肠镜、眼底镜、耳镜、尿道镜、胸腔镜等等；

医疗设备，如：麻醉设备、人工肾、透热设备、电线、表头、心肺机、血透等；

仪器：电钻、电烧器、牙钻、显微手术器、神经刺激器、压力计、外壳手术起、骨钻、针头、人工关节等；

橡胶制品：导管、扩张器、引流管、气管内插管、手套、起搏器、心瓣膜、喷雾器等等。

2. ^{60}Co - γ 辐照灭菌法

上世纪 50 年代末，各国纷纷建造大型的 ^{60}Co - γ 射线辐照源，用于商业化的辐照加工。从此 ^{60}Co - γ 射线灭菌技术的应用领域迅速扩展，从最初对一次性使用的医疗用品灭菌拓展到医疗器械材料灭菌、医疗药品灭菌、食品灭菌保鲜、一次性生活用品灭菌、环境微生物污染治理等多个方面。

^{60}Co - γ 射线灭菌有很多的优点，如不用做生物指示物(BI) 或产品的无菌实验、在灭菌过程中温度变化很小、射线可以到达器械管腔内部、灭菌后的产品不需要再处理，可以直接使用。但 ^{60}Co - γ 射线对高分子材料和包装材料破坏性有一定的破坏作用，灭菌站对人和环境也存在污染的风险，因此 ^{60}Co - γ 射线的应用也受到了很大的限制。

2.1 灭菌原理

辐照技术是 20 世纪发展起来的一种灭菌保鲜技术，是以辐射加工技术为基础，运用 X 射线、 γ 射线或高速电子束等电力辐射产生的高能射线，在能量的传递和转移过程中，产生强大的物理效应和生物效应，达到杀虫、杀菌、一直生理过程的目的。

其原理主要是破坏细菌细胞中的 DNA 和 RNA，受损的 DNA 和 RNA 分子发生降解，失去合成蛋白质和遗传功能，使细胞死亡。 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 频率高到 $3 \times 10^{18} \sim 3 \times 10^{21} \text{Hz}$ ，其能量大于分子键能，故可使分子电离和断键而杀菌。

其杀菌机理为 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线直接破坏微生物的 DNA、蛋白质和酶而致死，或者被微生物中的水吸收而激发或电离，产生激发的水分子、电子、水离子，或裂解为氢自由基、羟自由基，由此产生一系列的与 DNA、蛋白质、酶的氧化还原反应，致微生物死亡。

2.2 灭菌验证

辐照灭菌的验证包括以下内容：

安装确认：确认辐射源（源的活性或加速器的参数）、传送系统、附属设施（包括相关的软件）、计量装置的计量状态、工作环境的符合性进行验证，如安全要求等。

操作确认：针对每个传送系统，通过测量不同位置的吸收剂量验证不同的辐照容器的计量分布，不同辐照容器以及容器内的不同位置的吸收剂量都在规定的范围内。一般在加源后、源的位置及形态改变、传送系统变化、辐照容器改变时都需要进行操作确认。

性能确认：包括物理性能确认和微生物性能确认。

物理性能确认包括确认产品放装载模式、包括日常产品的包装方式（尺寸，密度等），剂量分布、包括最大和最小吸收剂量及位置，产品的最大可吸收剂量（评价灭菌剂量对产品的影响）。

微生物学性能验证，目的是应书面证明在灭菌过程后，产品的无菌性能已经达到特定的要求（ $SAL=10^{-6}$ ）。

2.3 产品放行

辐照灭菌的产品批次放行采用参数放行，不需要进行无菌实验。通过放置在最大可吸收剂量点和最小可吸收剂量点的剂量计，检测每批次灭菌的最大和最小剂量，最大和最小灭菌剂量在验证剂量的范围内，产品即可放行。

这一放行准则是基于定期的辐照灭菌剂量审核，审核内容一般涉及到生物负载限度、微生物特性分析、建立灭菌剂量的方法等。

2.4 应用

在使用 ^{60}Co - γ 射线灭菌时，不同菌种，甚至同一菌株的不同发育阶段的抗辐射性均不同。一般来讲，细菌的营养细胞抗辐射性弱，芽孢的抗辐射性强。同一种菌株在不同介质中的抗辐射性也是不同的。在有抗菌剂存在的条件下，大多数菌的抗辐射性增强，在缺氧条件下，菌种的抗辐射性也有所增强。一般来说辐照剂量大，灭菌效果好。但是辐照剂量过大，对样品中的某些成分可能会有一定得影响，因此在具体的辐照实践中需要确定辐照剂

由于 γ 射线本身的能量大、辐射强，对物质损害大，对辐射灭菌产品的材质有一定的要求。有些产品在灭菌后出现了材质的强度、清晰度、颜色、生物相容性以及包装的完整性等方面的问题，有的是在辐射灭菌完成后不久便显现出来，这主要是因为部分企业的产品特别是所用的包装材料不适合辐射灭菌方式。

对于适合辐射灭菌的产品和材质的选择，在 GB18280-2000《医疗保健产品灭菌确认和常规控制要求辐射灭菌》的附录 A 中给出了器材材料和包装材料的确认方法；在 GB16352《一次性医疗用品 γ 射线辐射灭菌标准》的附录 C 中则较为详细的列举了适合辐射灭菌的医疗用品。

3. 高压蒸汽灭菌

高压蒸汽灭菌是热力消毒方法中最普遍、效果最可靠的一种灭菌方法，其优点是蒸汽穿透力强，能杀灭所有微生物。

3.1 灭菌原理

高压灭菌是湿热消毒法的一种，其原理是：在密闭的蒸锅内，其中的蒸汽不能外溢，压力不断上升，使水的沸点不断提高，从而锅内温度也随之增加。

在 0.1MPa 的压力即 103.4kPa(1.05kg/cm²) 蒸汽压下，锅内温度达 121℃，维持 15~30min。当温度超过细胞最佳生理活动的温度范围时，细胞代谢减缓，细胞的蛋白质、酶及核酸会被永久性破坏，从而导致细胞发生不可逆转的死亡。在此蒸汽温度下，可以很快杀死各种细菌及其高度耐热的芽孢，是最可靠、应用最普遍的物理灭菌法。

3.2 灭菌验证

灭菌验证一般分为以下几部分内容。

安装确认：一要确认灭菌器随机文件和附件的完整性，如安装记录、图纸、计算机软件、计量装置的校准（温度表、压力表、时间计量表）等；二要对灭菌器工作环境的符合性进行验证，如水质检测、安全要求等；三是要验证灭菌器安装是否符合设备安装要求，确认灭菌剂的浓度及质量状况。

操作确认：验证灭菌设备有能力在指定的允差范围内提供特定的过程，如热分布试验、包括空载热分布试验等。

性能确认：物理性能确认和微生物性能确认，包括满载热分布试验（最高最低温度点）热穿透试验等，生物指示物的使用等。

3.3 产品放行

日常监测中，需要监测预处理时的温度、整个灭菌过程的温度和压力等。最终只有生物指示物（BI）培养全部显阴性且灭菌过程参数在性能验证的参数范围内，产品才可以放行。

3.4 应用

由于高压蒸汽灭菌本身具备不破坏产品表面并药品、药品溶液、玻璃器械、培养基等在高温高湿条件下不发生变化或损坏的物质，均可以采用高压灭菌法。

高压蒸汽灭菌已经被广泛地应用到各种生化实验室和医院，用于一些培养基、玻璃制品、生理盐水等的灭菌。

目前的高压蒸汽灭菌器的类型和样式较多，如：

①下排气式压力蒸汽灭菌器是普遍应用的灭菌设备，压力升至 102.9kPa ($1.05\text{kg}/\text{cm}^2$)，温度达 $121\sim 126\text{ }^\circ\text{C}$ ，维持 $20\sim 30\text{min}$ ，可达到灭菌目的。

②脉动真空压力蒸汽灭菌器已成为目前最先进的灭菌设备。灭菌条件要求：蒸汽压力 205.8kPa ($2.1\text{kg}/\text{cm}^2$)，温度达 $132\text{ }^\circ\text{C}$ 以上并维持 10min ，即可杀死包括具有顽强抵抗力的细菌芽胞在内的一切微生物。

高压蒸汽灭菌的注意事项：

(1) 必须先用流通蒸汽或真空排除灭菌器腔内空气。若灭菌器内有空气存在，则压力表上所指示的压力是灭菌器内蒸汽和空气二者的总压，结果压力虽达到要求，但灭菌温度却达不到，达不到灭菌效果。

(2) 灭菌时间必须是从全部装载的灭菌物均已达到灭菌温度时开始计算。

(3) 装载方式的确定，不同的装载类型须验证确认，避免随意性。

(4) 高压蒸汽灭菌器必须进行周期性验证。

4. 甲 醛 蒸 汽 灭 菌

现代的低温蒸汽甲醛灭菌 (Sterilization by Low Temperature Steam Formaldehyde, LTSF) 方法，是上世

纪 60 年代发明的一种低温灭菌技术，使用负压低温蒸汽甲醛法对一些怕热怕湿的医疗器械进行灭菌。

4.1 灭菌原理

甲醛杀菌作用是阻止细菌核蛋白的合成，影响生物细胞浆基本代谢。一些研究指出，甲醛为强烷基化剂，其杀菌原理是一种非特殊性的烷基化作用，甲醛分子直接作用于细菌的菌体蛋白质、酶以及核酸的活性基团，使蛋白质链上的氨基、胍氨基、羟基、羧基等烷基化，从而破坏细菌的蛋白质，导致微生物的死亡。

其中烷基化效应包括两种作用：一是可降低水对蛋白质的穿透、膨润作用，使其硬化；二是对核酸的烷基化反应，可导致病毒的灭活。

甲醛对细菌繁殖、芽孢、分枝杆菌、真菌和病毒等各种微生物都有高效的杀灭作用。甲醛对细菌病毒毒素亦有破坏作用，对肉毒杆菌毒素和葡萄球菌肠毒素，用 50g/L 甲醛水溶液作用 30min 可将其完全破坏。

4.2 灭菌验证

无菌生产环境甲醛蒸汽灭菌验证，验证的目的为甲醛灭菌的时间、排风时间及效果验证。确保无菌环境中用甲醛灭菌提供的空气环境始终复合国家《药品生产质量管理规范》对洁净室中空气浮游菌及表面细菌的规定。

在准备甲醛蒸汽灭菌的房间取样点位置放入验证装置，指示物采用枯草杆菌芽孢。取样点数量根据灭菌区域面积确定。在 $\leq 9\text{m}^3$ 的空间放置 2 个取样点，在小于 14m^3 大于 9m^3 的房间放置 3 个取样点，大于 14m^3 的空间放置 4 个取样点。

在无菌生产环境中取样点设置在分装机罩内、出瓶转盘、分装间回风口、分装间回风管、分装机底部。在灭菌后进行取样点菌片培养，将菌片接种于培养液中 37°C 培养至 7d，若无菌生长则判断灭菌合格。

目前国内对低温甲醛蒸汽灭菌器功效检验尚没有标准，对低温甲醛蒸汽灭菌器的灭菌效果生物指示剂也没有专门研究定标，因此这将影响低温蒸汽甲醛灭菌技术的研究和推广应用。

甲醛熏蒸法灭菌目前使用较少，验证及产品放行准则可参照国际标准 ISO 25424:2009。

4.3 应用

常温常压下使用甲醛熏蒸消毒主要利用化学法和加热法产生甲醛气体。将福尔马林或多聚甲醛与某些强氧化剂如高锰酸钾、氯制

剂等发生化学反应，通过化学产热促使甲醛气化。加热法是将福尔马林或多聚甲醛直接用电加热，使甲醛气化进行熏蒸消毒。

有研究用每立方米 120ml 福尔马林与 60g 高锰酸钾混合反应产生甲醛气体熏蒸 1h，可使物体表面达到消毒，熏蒸 75min 可使尿管达到有效消毒。甲醛熏蒸消毒后会残留浓烈的甲醛刺激性气味，可以采用化学中和法进行消除。在熏蒸消毒结束后，在熏箱底层放入一定量的浓氨水继续熏蒸 30min 可以降低刺激性气味。

甲醛可用于对怕热怕湿怕腐蚀的医疗用品的消毒与灭菌，可采用低温蒸汽甲醛灭菌的器材主要有：

外科器械、包括导气管、麻醉用具、关节镜、心导管、腹腔镜、膀胱镜等；

诊疗器械有血氧合器、湿化器、注射器、呼吸机、乳胶导管、乳胶手套等；

电子器材有植入电极、变压器、电位器、电容器、导线以及眼科手术使用的热敏器材等。



医课汇
公众号
专业医疗器械资讯平台
WECHAT OF
HLONGMED



hlongmed.com
医疗器械咨询服务
MEDICAL DEVICE
CONSULTING
SERVICES



医课培训平台
医疗器械任职培训
WEB TRAINING
CENTER



医械宝
医疗器械知识平台
KNOWLEDG
ECENTEROF
MEDICAL DEVICE



MDCPP.COM
医械云专业平台
KNOWLEDG
ECENTEROF MEDICAL
DEVICE