

附件 4

同种异体植入性医疗器械病毒灭活 工艺验证技术审查指导原则

(2020 年修订版)

同种异体植入性医疗器械是以同种来源组织为原料加工或组成的产品。

我国目前对同种异体植入性医疗器械产品组织供体的病毒筛选多采用检测血清中病毒特异性抗体或抗原的方法，其中对人免疫缺陷病毒（HIV）还要求检测血液中的病毒核酸。但是，尽管对供体进行了严格的筛选，仍然存在漏检和未知病毒存在的风险，以及生产过程中带入外源病毒的风险。因此，要求同种异体植入性医疗器械产品在生产过程中采用有效的病毒灭活工艺，并对病毒灭活工艺的有效性进行科学的验证。

本指导原则是对同种异体植入性医疗器械生产过程中特定病毒灭活工艺的效果进行验证的一般要求，注册申请人应依据具体产品的特性对注册申报资料的内容进行充实和细化，如采用的病毒灭活工艺及相关参数等，并依据具体产品的特性确定其中的具体内容是否适用。

本指导原则是对注册申请人和审评人员的指导性文件，但不包括注册审批所涉及的行政事项，亦不作为法规强制执行，如果有能够满足相关法规要求的其他方法，也可以采用，但是需要提供详细的研究资料和验证资料。应在遵循相关法规的前提下使用本指导原则。

本指导原则是在现行法规和标准体系以及当前认知水平下制定的,随着法规和标准的不断完善,以及科学技术的不断发展,本指导原则相关内容也将进行适时的调整。

本指导原则为 2011 年发布的《同种异物植入性医疗器械病毒灭活工艺验证技术审查指导原则》的修订版。主要修订内容包括:修改指导原则中部分语言描述,如常用病毒灭活方法、染毒方法、病毒灭活效果判定、其他需考虑的问题、病毒灭活工艺的再验证等;完善指示病毒类型选择及举例的相关描述;增加病毒灭活/去除有效性验证的原则。

一、适用范围

本指导原则适用于需要对生产过程中特定病毒灭活工艺的效果进行验证的同种异物植入性医疗器械。

二、基本要求

(一) 常用的病毒灭活方法

同种异物植入性医疗器械的病毒灭活有多种方法,企业应根据产品的特性选择合适的病毒灭活工艺。采用病毒灭活工艺应综合考虑病毒灭活效果的验证,病毒灭活工艺对产品性能的影响,病毒灭活工艺本身的公认性、可靠性、重现性、易放大性及经济性。常用的病毒灭活方法举例如下。

1. 巴斯德消毒法(巴氏消毒法)

巴氏消毒法是湿热灭活法之一,利用病毒不耐热的特点,通过适当温度和保温时间处理,灭活病毒。该灭活方法可灭活脂包膜和部分非脂包膜病毒。同种异物植入性医疗器械在充分清洗血液及骨髓成分后,可运用该方法进行病毒灭活。采用该方法时应

考虑温度分布的均一性和灭活时间。

2. γ 射线辐照灭活法

γ 射线辐照灭活法主要是通过破坏核酸而灭活病毒，其优点包括灭活效率高、穿透力强、剂量易控制、无有害物质残留、无明显温度升高等。由于病毒在不同介质中对射线的抗性不同，该方法用于同种异体植入性医疗器械的病毒灭活时，应去除产品中的宿主组织和细胞，例如同种异体骨应充分清洗血液及骨髓成分。采用该方法时应根据产品的特性确定辐照剂量，考虑辐照剂量的分布和灭活时间。

3. 过氧乙酸-乙醇灭活法

过氧乙酸-乙醇灭活法可灭活脊髓灰质炎病毒、艾滋病病毒、伪狂犬病病毒、牛病毒性腹泻病毒、猪细小病毒等多种病毒。其用于同种异体植入性医疗器械病毒灭活的效果已为实验室和临床试验所证实。过氧乙酸具有极强的病毒灭活能力，乙醇可降低溶液的表面张力，有助于消毒剂完全渗透入同种异体植入性医疗器械中。采用该方法时应严格控制产品过氧乙酸残留量及乙醇残留量，考虑灭活实际浓度和灭活时间。

4. 乙醇灭活法

乙醇是临床上最为常用的表面消毒剂。该方法对多数有包膜病毒，如单纯疱疹病毒、艾滋病病毒等具有灭活作用。在用于同种异体骨的病毒灭活时，应充分清洗血液及骨髓成分。采用该方法时应严格控制乙醇残留量，考虑乙醇浓度和灭活时间。

(二) 病毒灭活工艺的验证

1. 指示病毒的选择

应选择医疗器械可能污染的病毒，或与该病毒理化性质相似

的病毒。病毒选择应具有代表性，需考虑病毒颗粒的大小、核酸类型以及有无包膜等方面，应考虑选择对物理和/或化学处理有明显抗性的病毒。根据产品的特性及所采用的病毒灭活工艺，至少应选择四类指示病毒，包括有包膜 RNA 病毒、有包膜 DNA 病毒、无包膜 RNA 病毒、无包膜 DNA 病毒，可参照下表选择适宜的指示病毒。注册申请人应结合产品的生产工艺过程，考虑 HIV 对病毒灭活工艺的灭活抗性，确保相应剩余风险可接受。

表 1 可经同种异物植入性医疗器械传播疾病的相关病毒及可选用的指示病毒（举例）

病毒	基因组	包膜	大小 (nm)	指示病毒举例
HAV	RNA	无	20	脊髓灰质炎病毒 (Polio virus)、脑心肌炎病毒 (EMCV)
HBV	DNA	有	45	鸭乙型肝炎病毒 (DHBV)、伪狂犬病毒 (PRV)
HCV	RNA	有	40-60	牛病毒性腹泻病毒 (BVDV)、辛德毕斯病毒 (Sindbis virus)
B19	DNA	无	20	细小病毒 (犬、猪) (CPV、PPV)

2. 染毒方法

由于同种异物植入性医疗器械多为固体形态，应尽量模拟植

入材料的病毒负载方式，考虑材料的结构、尺寸和致密性，以及病毒在材料中的分布情况，结合产品特点选择合适的染毒方法，可采用浸泡法染毒（若适用）。病毒灭活零时的滴度应至少 $\geq 10^6 \text{TCID}_{50}/\text{mL}$ ，可根据产品和病毒的特点，选择合适的浸泡温度、时间及其他条件。

3. 方案设计

3.1 试验分组：应进行合理分组，注意设置全面的对照组，对照组的设计应能够用于判定病毒灭活效果，以确保结果的科学性。建议包括细胞空白对照组、病毒对照组、样品细胞毒性对照组（或滴定前进行细胞毒性试验）、病毒灭活方法终止对照组及试验组。其中，病毒对照组的滴度是计算灭活量的基础，应证实其病毒的零时滴度 $\geq 10^6 \text{TCID}_{50}/\text{mL}$ 。病毒灭活方法终止效果对照组需采用稀释、中和或其他适宜方法终止病毒灭活方法的作用，其病毒滴度应与病毒对照组相当或接近，以证实病毒灭活方法能够在设定的时间终止作用。试验组至少应有适宜的时间点（包括零时），以阐明病毒灭活的动力学，包括灭活动力学曲线。

3.2 观察指标：

3.2.1 灭活病毒的滴度，采用细胞病变或其他适宜的指标。

3.2.2 病毒灭活速率、灭活曲线。以列表和做图的形式报告验证结果。

3.3 病毒灭活效果的判定

应综合判断病毒灭活的有效性，除了考虑病毒灭活的量以外，还必须考虑如下因素，审慎评价每次验证结果。

3.3.1 所选择的指示病毒是否适宜，验证的设计是否合理。

3.3.2 病毒滴度降低量：病毒灭活零时的滴度为污染了病毒

的组织释放的病毒量，通过与病毒灭活后测定的残留病毒量比较，计算出该方法实际灭活病毒量。病毒滴度降低量 $\geq 4 \log s$ ，表示该方法灭活病毒有效。如因检测方法的灵敏度造成检测出的病毒降低量接近但小于 $4 \log s$ 时，应盲传三代，如无病毒检出，亦可认为是有效的去除/灭活病毒步骤。病毒去除/灭活有效性验证的目的是为了确定生产工艺去除/灭活病毒的能力，因此需获得生产全过程中估计去除/灭活病毒的总降低量。一般每种指示病毒的总降低量为各步骤降低数量的总和。但是由于验证方法的局限性，如分步骤中指示病毒降低量 $\leq 1 \log$ ，则不宜将其计算在总量中。

3.3.3 病毒灭活动力学：病毒灭活通常不是简单的一级反应，评价验证结果不能仅考虑病毒降低量，同时也要考虑病毒灭活动力学。需以作图的形式报告灭活动力学验证结果。如果指示病毒残留量很快降到最低检出限度值，则说明此方法灭活病毒效果较好；如果指示病毒灭活速率缓慢，在灭活结束时才达到最低检出限度值，则不能认为是一个有效的病毒灭活方法，或者残留的指示病毒对该灭活方法有抵抗力，说明该步病毒灭活方法无效。

4.病毒灭活工艺验证原则

4.1 若采用一步病毒灭活工艺，应同时对有包膜 RNA 病毒、有包膜 DNA 病毒、无包膜 RNA 病毒、无包膜 DNA 病毒等四类病毒或其指示病毒（参见表 1）的灭活效果均达到 $4 \log s$ 以上，可认为是有效病毒灭活工艺；若采用多步不同灭活原理的病毒灭活工艺，应分别进行病毒灭活效果验证，并保证上述每类病毒灭活工艺至少有一步的灭活效果可达到 $4 \log s$ 以上。

4.2 若采用的病毒灭活/去除工艺将导致医疗器械产生不可

接受的性能改变，则需要根据产品来源、采集及过程控制情况以及对患者的风险/受益分析来判断其可接受性，但其单一去除/灭活病毒步骤的降低量仍需达到 4 logs 以上。

5. 举例说明病毒灭活效果的判断

5.1 初始病毒负载量为 6 logs，检测到剩余病毒量为 4 logs，则该病毒灭活工艺不是有效工艺，只能说明具有一定的病毒灭活作用。

5.2 初始病毒负载量为 6 logs，但由于产品本身的细胞毒作用使得检测灵敏度限值为 4 logs，仅能证明灭活 2 logs 的病毒。此种情况需改变试验设计重新进行验证，或者应盲传三代，如仍无病毒检出，可认为是有效的病毒灭活方法。

5.3 初始病毒负载量为 6 logs，但仍可检测到 2 logs 的剩余病毒，且清除病毒的量可重复，应认为是有效的灭活病毒的方法。

5.4 初始病毒负载量为 6 logs，之后未检测出病毒。但是由于检测灵敏度限值为 2 logs，仅能认为大约灭活了 4 logs 病毒。事实上可能等于或大于 4 logs，因此应判定此方法为有效的灭活病毒的方法。

6. 其他需考虑的问题

6.1 如果样品必须做进一步处理，或不同时间取出的样品要在同一时间进行测定，应考虑这些处理方法对病毒检测结果的影响。

6.2 模拟的生产工艺参数应尽可能与实际的生产工艺相一致，如 pH、温度、反应时间等。应分析生产工艺中各种参数的偏差对病毒灭活效果的影响。

6.3 病毒灭活工艺对某些类型病毒灭活效果的局限性。

（三）病毒灭活工艺的再验证

产品结构组成改变，生产工艺、生产场地等变更时，应考虑可能对特定病毒灭活工艺效果的影响，均需评价是否需对病毒灭活工艺的效果进行再验证。

三、名词解释

1.同种异体植入性医疗器械：是指以人体来源组织为原料加工或组成的产品，例如同种异体骨、肌腱、脱细胞异体真皮等。

2.植入性医疗器械：用于下列目的的医疗器械：

- 全部导入人体；
- 替代上皮表面或眼表面；

通过外科侵入方法，保留在上述操作位置的器械。通过外科侵入方法，部分导入人体保留至少 30 天的器械，也认作是植入性器械。

3.病毒灭活工艺：是指生产企业采用特定的病毒灭活方法对其产品进行病毒灭活。

四、参考文献

- 1.《血液制品去除 / 灭活病毒技术方法及验证指导原则》(国药监注〔2002〕160号)
- 2.《消毒技术规范》卫生部 2002 版
- 3.YY/T 0340-2002 《外科植入物 基本原则》

五、编写单位

本指导原则由国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心编写并负责解释。

