

目录

1. 灭菌概念
2. 灭菌方法及选择
3. E0灭菌基础知识
4. 灭菌确认
5. E0灭菌常见问题

第一章

灭菌概念

- ISO 11135-2014 灭菌医疗产品 环氧乙烷 医疗器械灭菌验证、批准和常规控制过程的要求

警 示 告 知

环氧乙烷 C₂H₄O	危 险 特 性	理 化 特 性
 当 心 爆 炸	职 业 危 害	注 意 防 护
	危险特性：其蒸气能与空气形成范围广阔的爆炸性混合物。遇热源和明火有燃烧爆炸的危险。若遇高热可发生剧烈分解，引起容器破裂或爆炸事故。其蒸气比空气重，能在较低处扩散到相当远的地方。遇火源会着火回燃。	该物品易燃易爆。有毒，为致癌物，具刺激性，具致敏性。
	健康危害：该物品是一种中枢神经抑制剂、刺激剂和原浆毒物。 急性中毒：患者有剧烈的头痛、呕吐、流涕、胸闷、呼吸困难。 皮肤接触：可发生红肿，数小时后起泡，反复接触可导致过敏。 面部接触：可导致面部灼伤，对眼睛角膜的刺激。 应急救援：应立即用清水冲洗后，到医院就医。	操作人员专业培训。操作时必须佩戴自吸过滤式防毒面具。穿防静电工作服。戴橡胶手套。
应 急 处 置		
如有泄漏，立刻切断电源，远离火种、热源，禁止明火。人员迅速撤离污染区，应急处理人员戴自给正压式呼吸器，穿防静电工作服，切断泄漏源。用堵漏工具稀释、溶解。		
注 意 防 护		
 当 心 中 毒	 禁 止 烟 火	 禁 打 手 机
	 闲 人 免 进	 穿 防 静 电 工 作 服
 戴 防 毒 面 具		

昵图网 www.nipic.com BY:guanlifa
河北伟业电子材料有限公司

- GB 18279.1-2015 医疗保健产品灭菌 环氧乙烷 第1部分 医疗器械灭菌过程的开发、确认和
- GB 18279.2-2015 医疗保健产品的灭菌 环氧乙烷 第2部分 GB 18279.1应用指南
- GB 18281.2-2015 医疗保健产品灭菌生物指示剂第2部分 环氧乙烷用生物指示剂
- GBT 33418-2016 环氧乙烷灭菌化学指示物检验方法
- GBT 33419-2016 环氧乙烷灭菌生物指示物检验方法
- GBT 16886.7-2015 医疗器械生物学评价 第7部分 环氧乙烷灭菌残留量

- YY 0503-2016 环氧乙烷灭菌器
- YYT 0822-2011 灭菌用环氧乙烷液化气体
- YYT 1267-2015 适用于环氧乙烷灭菌的医疗器械的材料评价
- YYT 1268-2015 环氧乙烷灭菌的产品追加和过程等效
- YYT 1302.1-2015 环氧乙烷灭菌的物理和微生物性能要求 第1部分：物理要求
- YYT 1302.2-2015 环氧乙烷灭菌的物理和微生物性能要求 第2部分：微生物要求
- YYT 1403-2017 环氧乙烷分包灭菌的要求

- 无菌 Sterile
- **无存活微生物。**
- 无菌状态 Sterility
- **无存活微生物的状态**
- **注：实际上，绝对无微生物存活的状态是无法被证实的。**
- 无菌保证水平 Sterility assurance level (SAL)
- **灭菌后产品上存在单个活微生物的概率。**
- **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比 10^{-3} SAL具有更高的无菌保证。**

注：上述术语定义见 “GB 18279.1-2015”

- 灭菌 Sterilization

- **经确认的使产品无存活微生物的过程。**

注：灭菌过程中，微生物的灭活特性用指数函数表示，因此，任何单件产品上微生物的存活可用概率表示；概率可减少到最低，但不可能到零。

灭菌周期

- **在一密闭的柜室内，包括进行去除空气、处理（若采用）、环氧乙烷注入、环氧乙烷暴露、环氧乙烷去除和换气（若采用），以及加入空气/惰性气体的一系列处理步骤。**

注：上述术语定义见“GB 18279.1-2015”

- 灭菌过程

- **达到无菌规定要求所需的一系列动作和操作。**

注：这一系列动作或操作包括预处理（若需要）、在规定条件下的环氧乙烷暴露和环氧乙烷及其产物去除所需的后处理；但不包括灭菌过程之前的任何清洗、消毒或包装操作。

- 无菌检查

- **开发、确认或再鉴定的一部分，确定产品或其部件上是否存在存活微生物的技术操作。**

注：上述术语定义见“GB 18279.1-2015”

- 生物负载 Bioburden
- **产品和（或）无菌屏障系统表面或内部存活微生物的总数。**

解析 Aeration

灭菌过程的一部分，是使环氧乙烷和/或其反应物从医疗器械解析附至预定水平的过程。

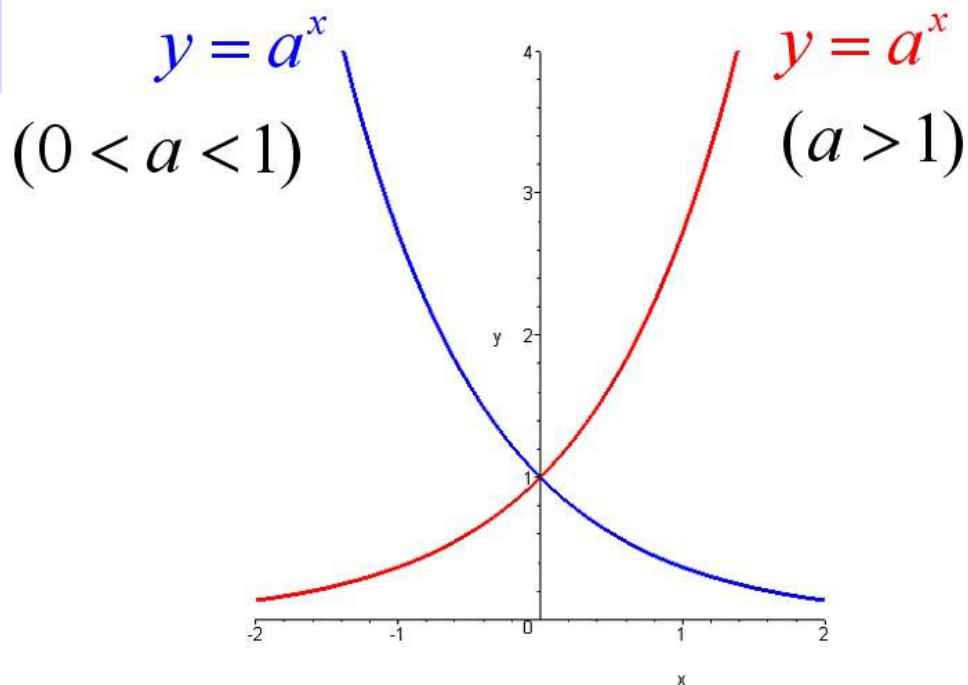
注：可在灭菌器中进行，也可在独立的柜室或房间内进行。

注：上述术语定义见“GB 18279.1-2015”

3、灭菌函数

一、灭菌概念

指数函数：一般地，形如 $y=a^x$ ($a>0$ 且 $a\neq 1$) ($x\in\mathbb{R}$)的函数叫做指数函数。



灭菌函数

$$N_t = N_0 e^{-kt}$$

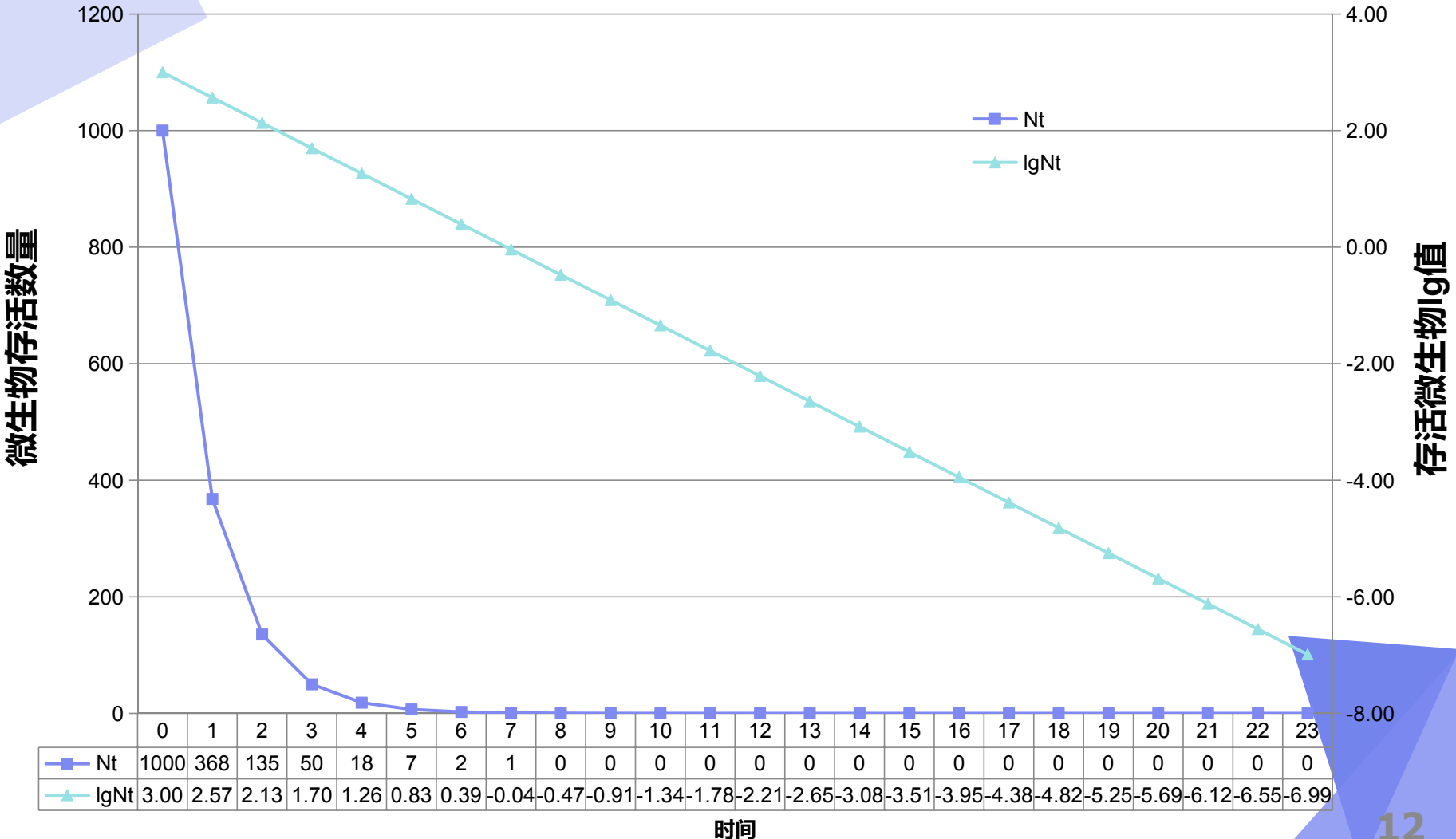
N_t ——灭菌后微生物数量；
 N_0 ——初始微生物数量
 k ——常数系数
 t ——作用时间

3、灭菌函数

一、灭菌概念

$$N_t = N_0 e^{-kt}$$

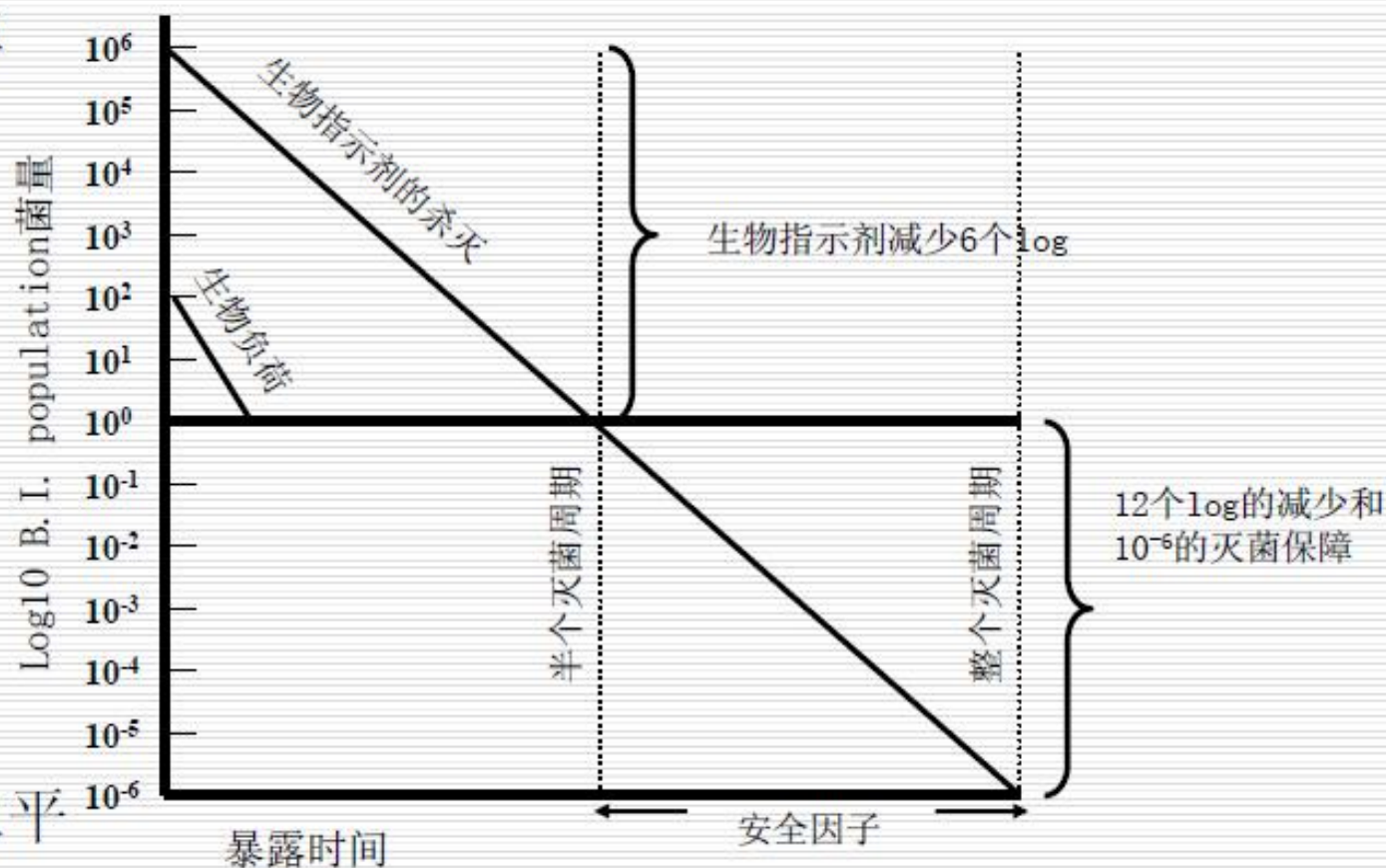
灭菌过程微生物存活曲线&对数曲线



3、灭菌函数

一、灭菌概念

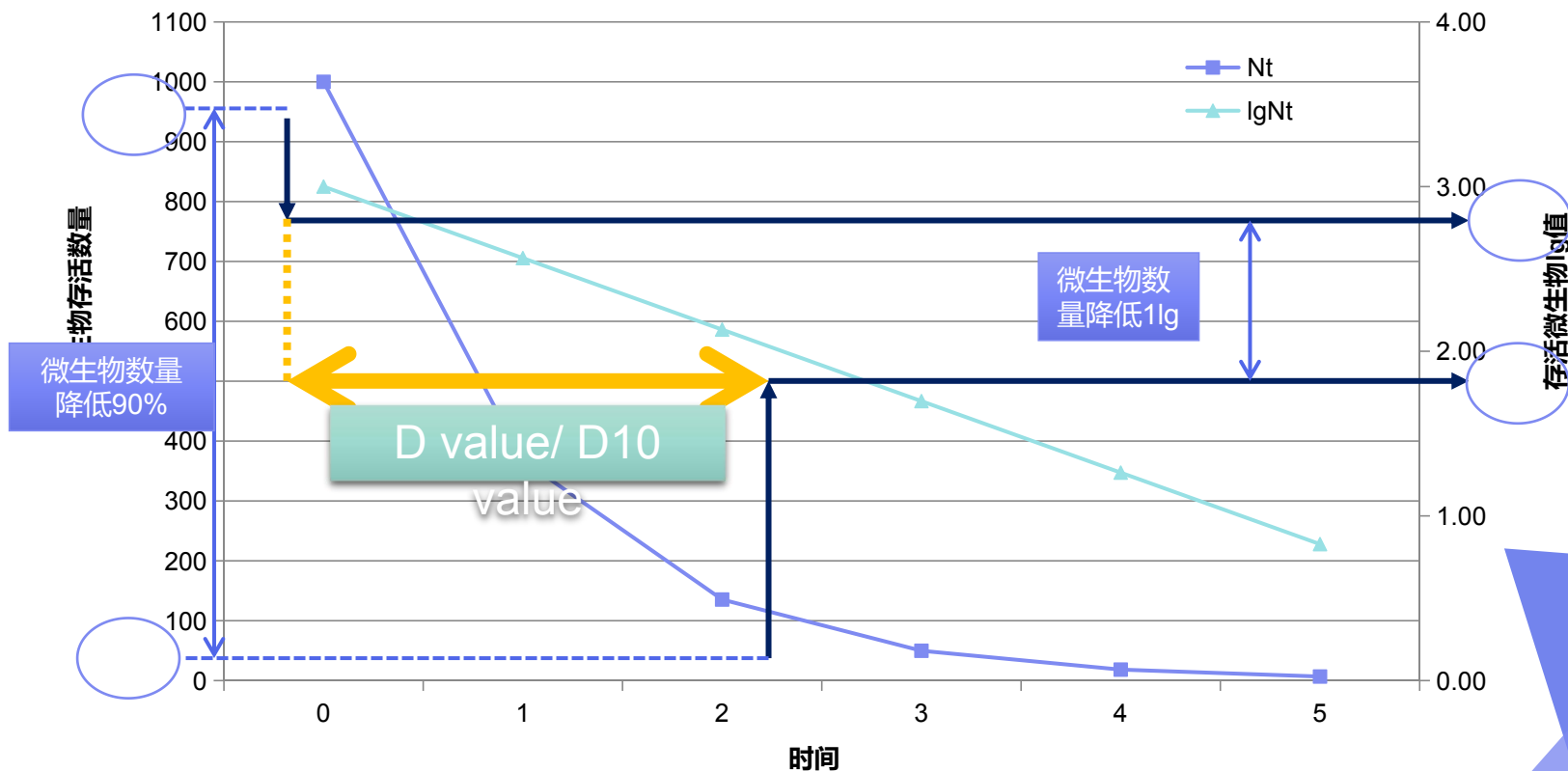
微生物概率



D值/ D_{10} 值

- 在设定条件下，灭活90%测试微生物所需的时间或辐射剂量。

灭菌过程微生物存活曲线&对数曲线



第二章

灭菌方法及选择

- 化学灭菌 → ⊙ EO: Ethylene Oxide
- 辐照灭菌 → ⊙ γ -ray辐射
- 干热灭菌 → ⊙ 高温干燥箱
- 湿热灭菌 → ⊙ 蒸汽灭菌
- ... ⊙ ...

1、灭菌方法

二、灭菌方法及选择

灭菌方法	辐照灭菌	环氧乙烷灭菌	蒸汽灭菌
材料	部分塑料变色 有些塑料会降解	大部分材料均可	部分塑料溶化变形
包装	耐辐射	可渗透 耐压耐真空	可渗透、耐高温 包装的膨胀
参数	时间、剂量	EO浓度、真空、压力、温度、湿度、时间	真空，压力，温度，时间
灭菌后处理	无	解析	晾干
对人体的健康	Gamma的安全性 EB无影响	EO残留之毒害 环保问题	无
放行方式	参数放行 *标准不要求进行无菌试验	传统放行/参数放行	关键参数和/或无菌检验

常见灭菌方法的比较

2、灭菌选择

二、灭菌方法及选择

产品相关因素

材料
结构
包装

环境相关

医院
工厂
实验室

经济因素

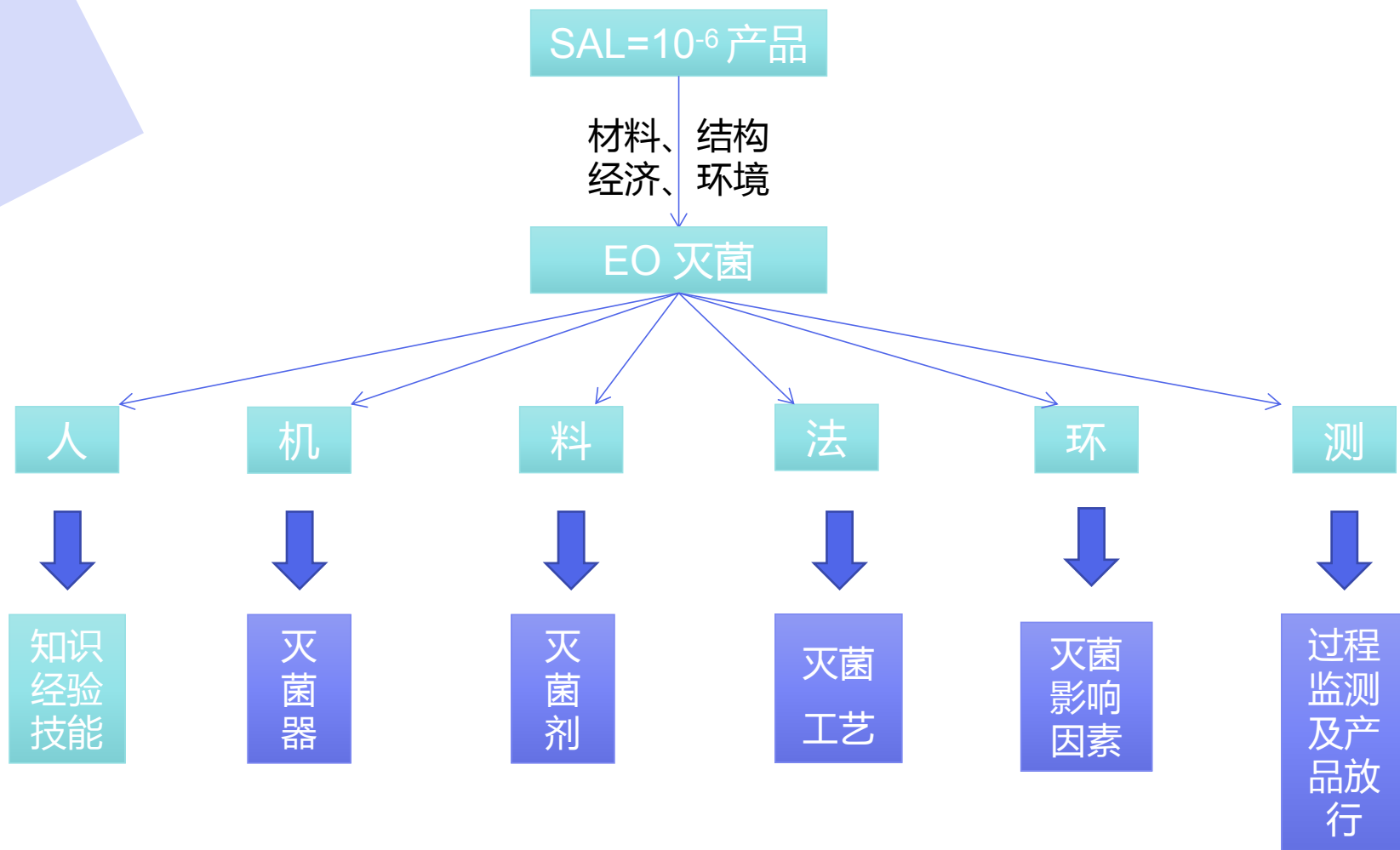
成本

第三章

EO灭菌基础知识

1、EO灭菌因素

三、EO灭菌基础知识



2、EO灭菌器

- EO灭菌器通常区分为两种灭菌器

YY 0503-2016 环氧乙烷灭菌器

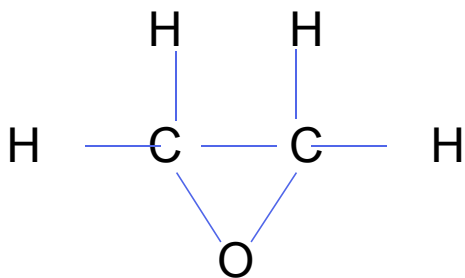
三、EO灭菌基础知识

A类	B类
可编程	灭菌工艺预置
适用于工业生产	适用于高值、复杂产品小批量灭菌或医院使用
具有多种功能柜体（预热、灭菌、解析）	所有过程在同一柜体完成
柜体体积较大（体积通常大于1立方）	尺寸限定（体积通常小于等于1立方）
灭菌周期长	灭菌周期短
灭菌剂为高浓度ETO气体（通常大于80%）	灭菌剂为低浓度ETO气体（通常低于20%）
正常气压或负压灭菌	灭菌压力较高（最高可达500kPa）

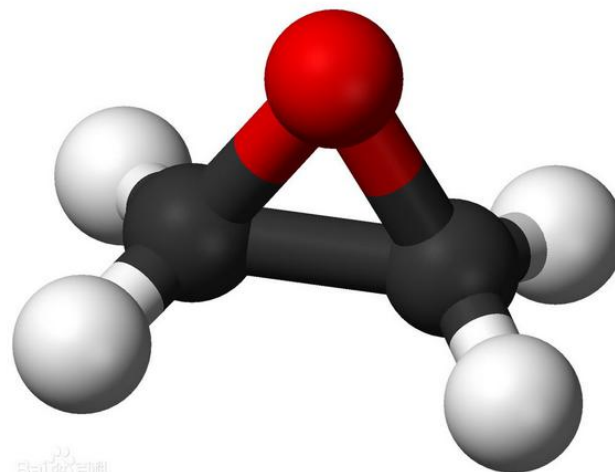
3、灭菌剂

三、EO灭菌基础知识

品名	别名	其他	分子式
环氧乙烷	氧化乙烯	ETO或EO	C ₂ H ₄ O
Epoxyethane	Ethylene oxide		



制作：乙烯在催化剂作用下，通过直接氧化过程制得，纯度达99.9%



物理性质



生物化学性质



化学性质



人体毒性



3、灭菌剂

三、EO灭菌基础知识

物理性质

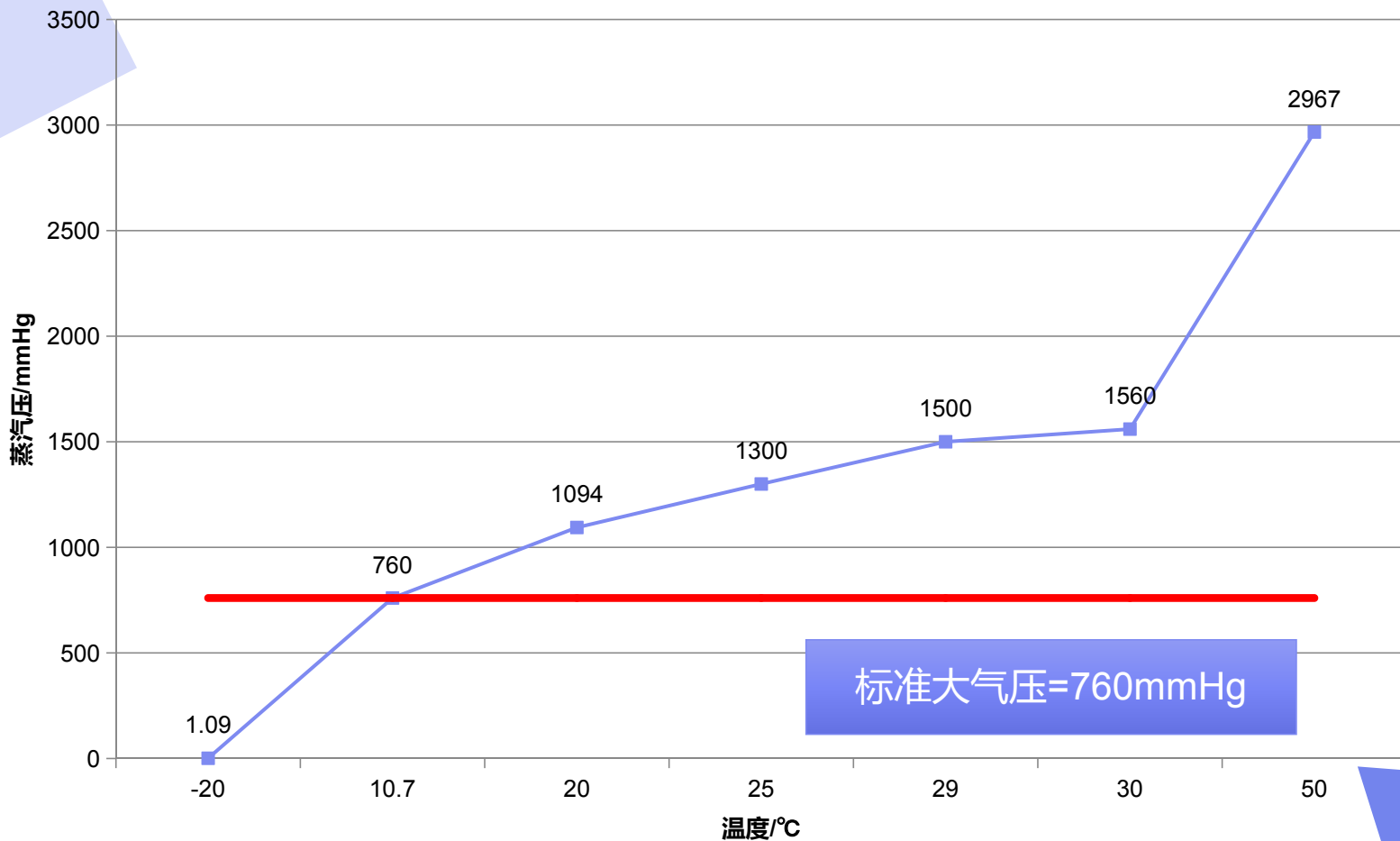
项目	参数
蒸汽压 (21℃)	1049mmHg
沸点	10.7℃
闪点	-20℃
燃烧点 (1bar)	430℃
空气中爆炸限 (1bar)	2.7 Vol.%~100 Vol.%
水溶性	100%可溶
颜色	无色
气味	具有芳香的醚味
气味阈值	500ppm

3、灭菌剂

三、EO灭菌基础知识

物理性质

ETO蒸汽压



标准大气压=760mmHg

蒸汽压意义：越高的蒸汽压意味着越高的穿透性

物理性质

环氧乙烷气体的穿透性示例

物质（薄膜）	厚度	穿透时间
聚乙烯PE/聚氯乙烯PVC	0.1mm	5min
尼龙	0.04mm	22min
氯丁胶布	0.3mm	26min
丁橡胶布	0.39mm	41min

注：环氧乙烷不能穿透铝箔、金属、玻璃、陶瓷等物质。

化学性质

化学性质**非常活泼**

- 与水反应生成乙二醇（ 废气处理 ）
- 与氯化氢（ 盐酸 ）反应生成氯乙醇（ ECH ）（ 灭菌后残留物质检测 ）
- 与氧化铁有特别强的反应（ 储运注意 ）

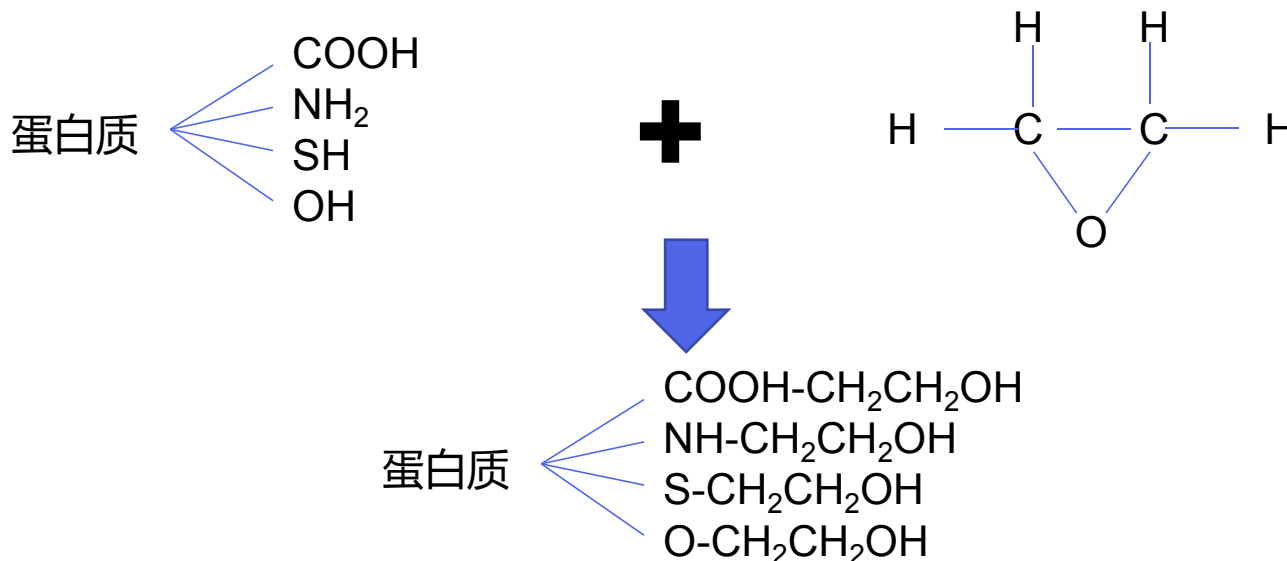
3、灭菌剂

三、EO灭菌基础知识

生物化学性质

生物化学性质 活泼

- EO可以与蛋白质上的羧基（-COOH）、氨基（-NH₂）、巯基（-SH）和羟基（-OH）发生烷基化作用，造成蛋白质失去反应基因，阻碍蛋白质的正常化学反应和新陈代谢，从而导致微生物死亡。



- 烷基化作用（或称：羟化）：针对各种物质/部位，反应完全不可逆。
- 作为杀菌剂，EO可与细菌蛋白质、营养体细胞及病毒、甚至与细胞核物质（核糖核酸）发生反应，且可与细胞的任何部位发生反应；
- 所有化学消毒/灭菌剂中灭菌效果最好的。

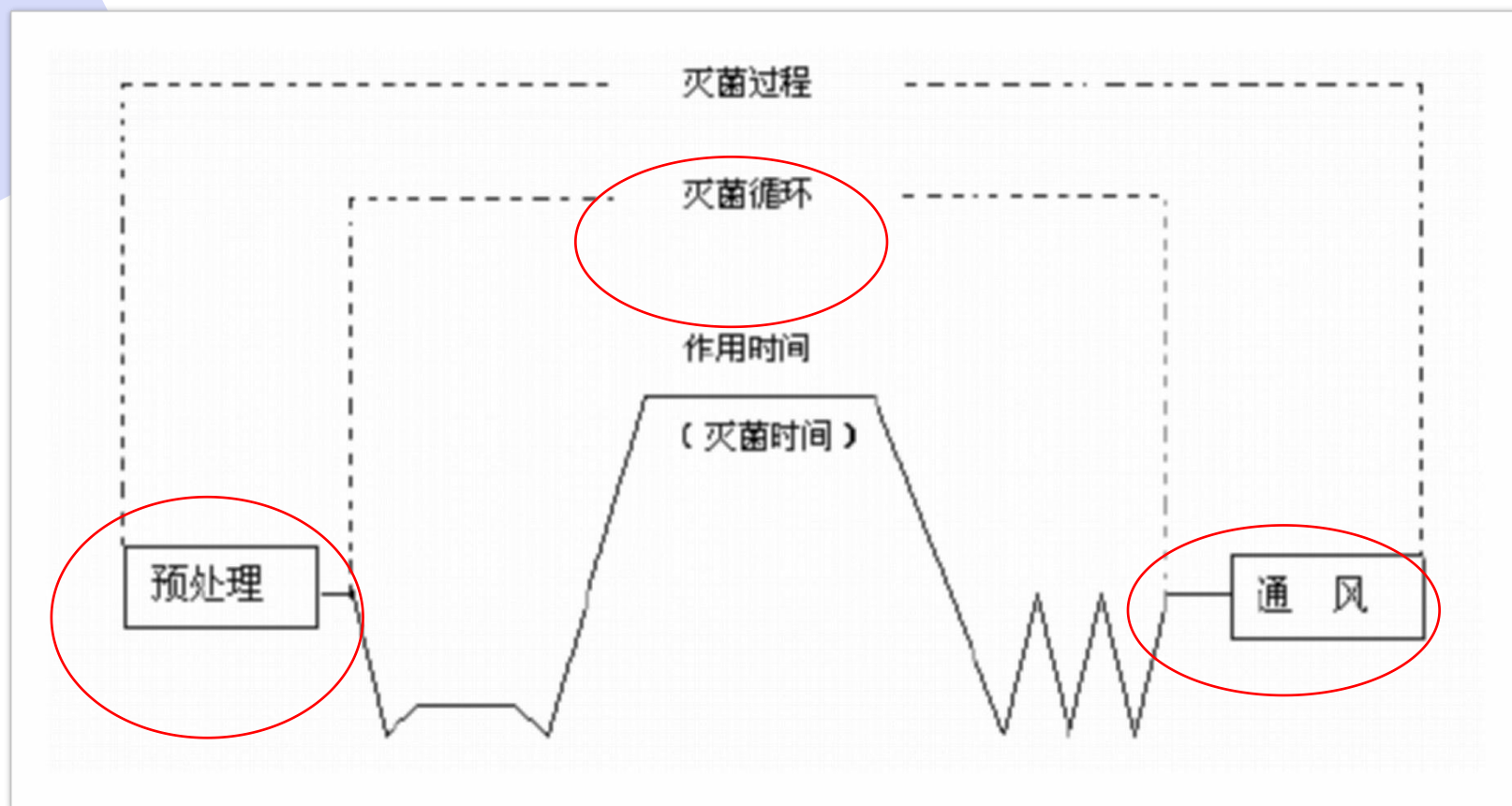
人体毒性

急性中毒

- 患者有剧烈的搏动性头痛、头晕、恶心和呕吐、流泪、呛咳、胸闷、呼吸困难；
- 重者全身肌肉颤动、言语障碍、共济失调、出汗、神志不清，以致昏迷；
- 还可见心肌损害和肝功能异常。

慢性影响

- 长期少量接触，可见有神经衰弱综合征和植物神经功能紊乱
- 国际癌症研究机构（IARC）分类为1类物质：对人类有确认的致癌性



典型的工艺过程

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，以达到预定温度和相对湿度。

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）其他反应产物从医疗器械解吸附至预定水平的过程。

5、EO灭菌过程影响因素

三、EO灭菌基础知识



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。

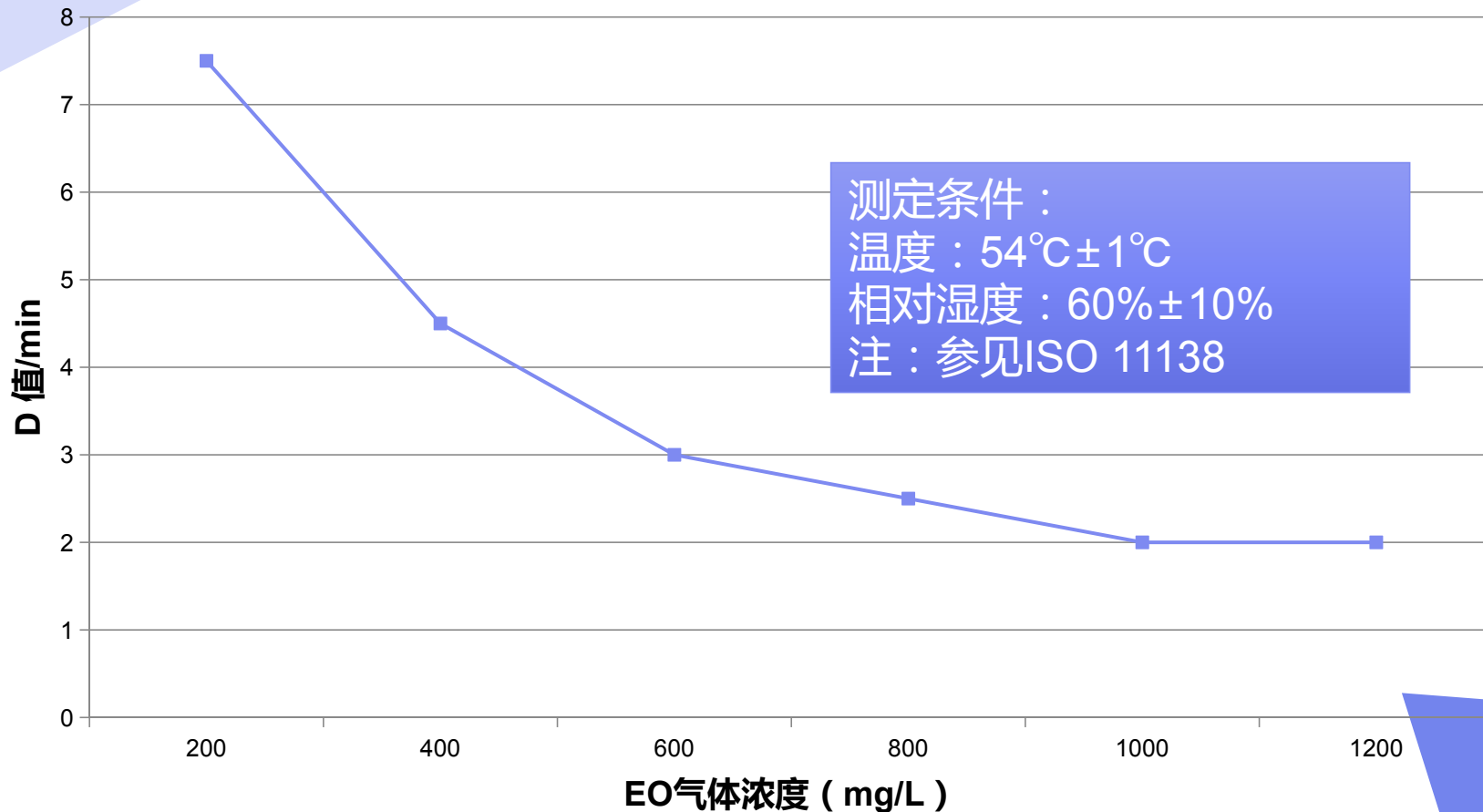
D值的意义

- D值表征微生物抗性
- D值越大，微生物抗性越高，越难杀灭

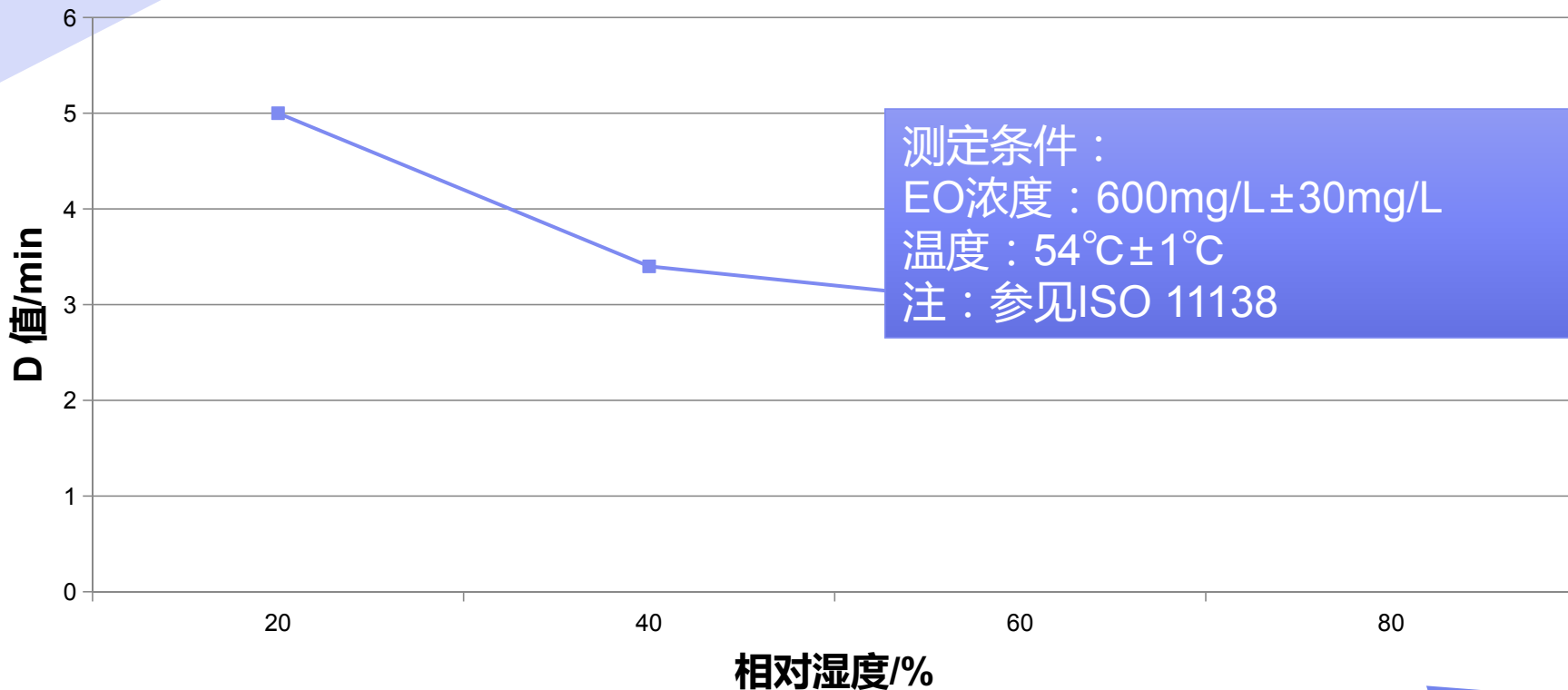
因此，我们通常希望

- D值越小越好
- D值与EO浓度、相对湿度和温度间存在密切关系
- D值越小，灭菌时间也就会越短

D值与EO浓度间关系曲线

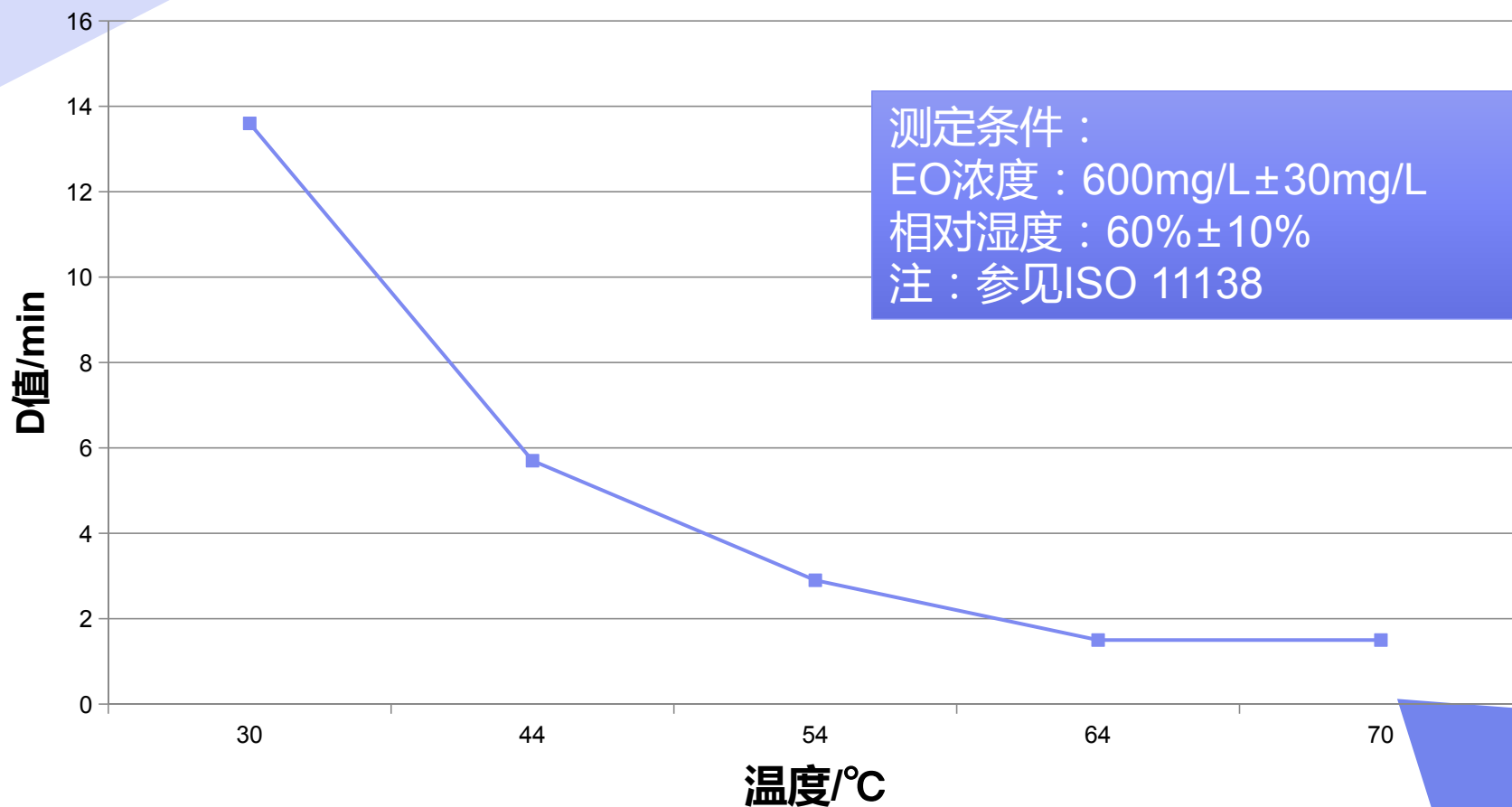


D 值与相对湿度间关系曲线



相对湿度：微生物孢子通常具备干的细胞壁，只有在一定湿度的情况下，环氧乙烷气体才能穿透。

D值和温度间关系曲线图



小结

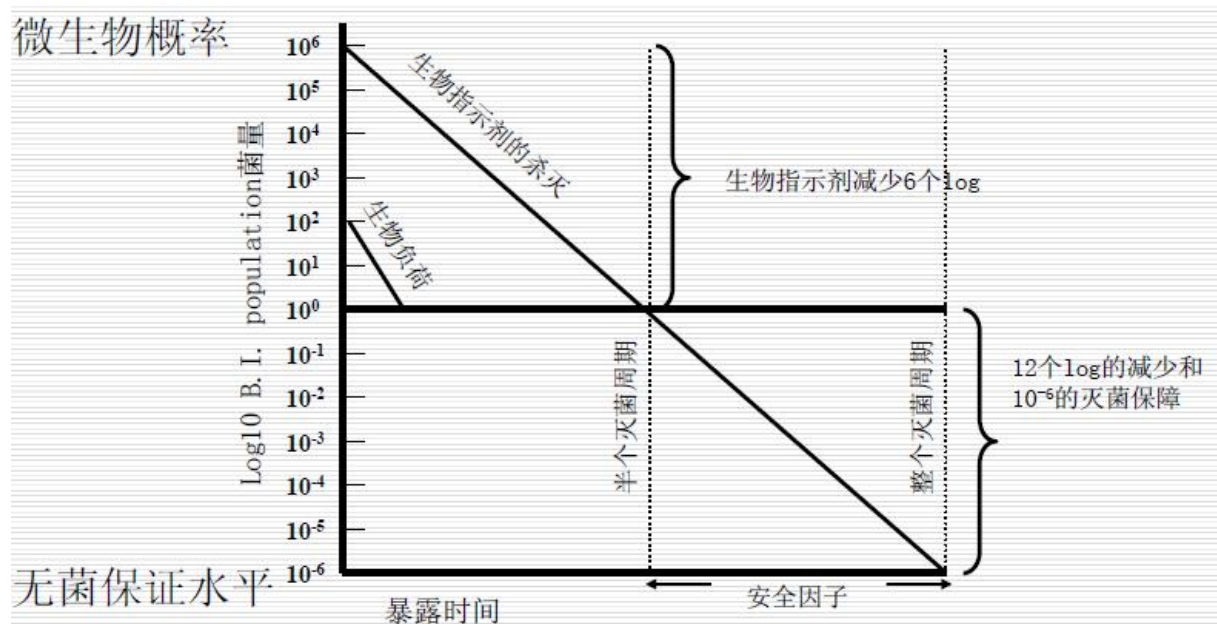
1. 一定气体浓度范围内，浓度越高，灭菌效果越好；超过1000mg/L，灭菌效果的提升不明显；
2. 相对湿度在40%-80%时，灭菌效果没有显著差别；低于40%，灭菌效果降低明显；高于90%，没有明显的提高，而且易于产生水滴，反而影响灭菌效果；
3. 温度在30-65℃间，每升高10℃，灭菌效果提升一倍；高于65℃时，没有显著的灭菌效果提升。

时间

- ETO浓度高，作用时间短；ETO浓度低，作用时间长。

存活概率

- 灭菌时间越长，产品中微生物的存活概率越小（灭菌效果好）
- 灭菌时间与存活的微生物数量的对数值呈线性关系（致死率确定的最重要理论支持）



其他影响因素

产品本身

1. 产品材料、结构（产品结构影响气体的进出、某些材料不适合环氧乙烷灭菌）、材料本身需要吸收较多的湿/热)
2. 包装材料
3. 产品初始污染菌的数量及种类(残存概率法及直接计数法对初始污染菌水平有要求、某些产品对内毒素有要求、某些微生物对环氧乙烷有抗性)

过程操作

1. 真空度（影响气体的扩散与渗透、影响作用于产品的气体浓度；影响包装安全及产品安全；影响置换效果、影响残留）
2. 装载情况（影响热/湿穿透及分布；影响气体循环）

参数放行	产品无菌放行
EN ISO11135-1 Section 11.1 a)	EN ISO11135-1 Section 11.1
是在不使用BI的情况下将产品作为无菌产品从灭菌环节放行的方法，它所依赖的是物理处理参数符合全部规范的证明。因此，应该收集其他处理参数的数据（如直接分析柜室相对湿度和EO浓度），从而确保灭菌过程与规范相符	在产品放行时，需要审核物理灭菌过程变量和生物指示物培养结果，评估灭菌过程的符合性。
常规情况下，医疗保健机构不使用参数放行；国内大多数灭菌站由于设备能力原因，基本无法满足参数放行要求。	国内对无菌产品放行的要求在此基础上通常也要求进行无菌检测

产品放行

- 参数放行
- 产品灭菌放行

第四章

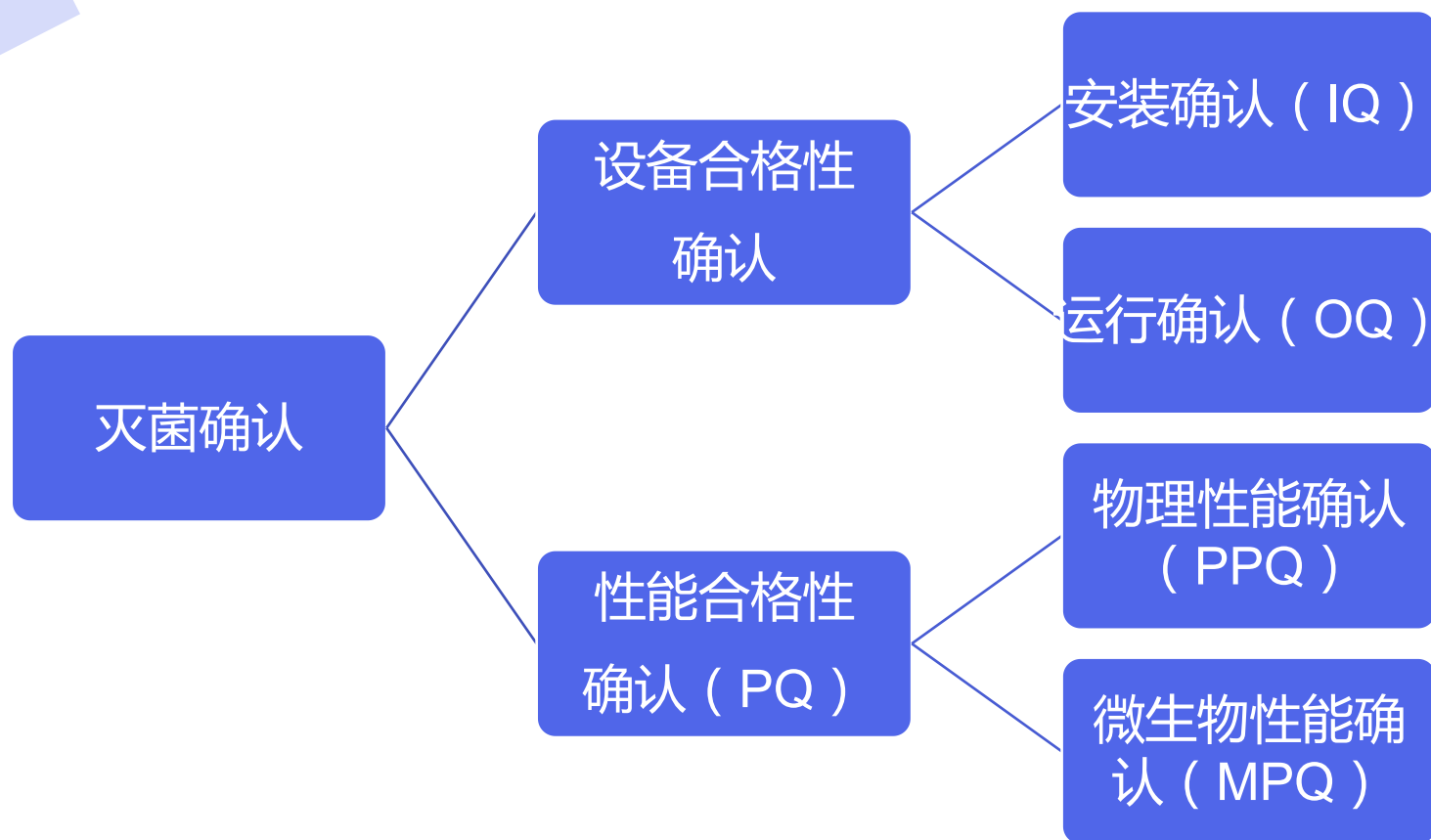
灭菌确认

定义

- 对获得的结果进行记录和整理的书面程序，证明灭菌过程可持续生产符合预定规格的产品。

目的

- 得出无菌保证水平 10^{-6} 的验证；
- 验证确认中的仪器、设备适合性；
- 验证灭菌循环科学性、适合性；
- 文件化。



目的

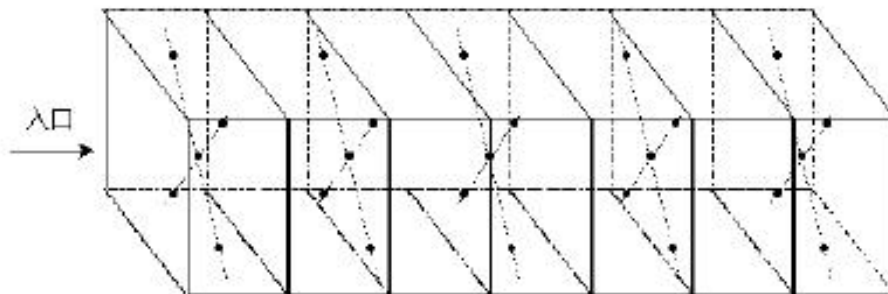
- 确认灭菌设备及其辅助系统的安装符合设备规格及设计规范；
- 环氧乙烷的贮存条件；
- 灭菌柜周边的环境；
- 灭菌柜装载区的温度与湿度状况；
- 操作区的卫生状况；
- 负压泵的供应水；
- 蒸汽产生系统的供应水。

3 运行确认 (OQ)

四、灭菌确认

目的

在指定的灭菌条件下对灭菌器进行实际空转运行，检查其运行参数的符合性。



灭菌柜温度检查示意图

步骤及方法

- 检测仪器的校准；
- 确认用温度传感器的设置；
- 实际运行3次；
- 数据处理、分析。

检查项目

- 柜内温度分布（平均值 $\pm 3^{\circ}\text{C}$ 内）；
- 抽真空到达的真空度及速度；
- 加压后气密性检查；
- EO气体导入压力上升及到达速度；
- 排气时的减压速度与减压度；
- 复压时压力上升及速度。

目的

- 使用产品（实际产品或替代产品）证明设备（灭菌器、辅助系统及灭菌工艺）能持续按照预定的准则运行，灭菌过程能够生产无菌产品。
- PQ实施的对象为产品灭菌设备。

样品要求

- PQ所用产品应能代表常规灭菌的产品，并应根据最具挑战性的常规产品进行设定；
- 如果使用产品外的其他材料，则材料应与该产品至少具有相同的灭菌过程挑战性；
- 所用的产品应与日常灭菌的产品包装相同；
- 如果装载在确认过程中被重复使用，装载代表物应经过适当的解析和冷却步骤。

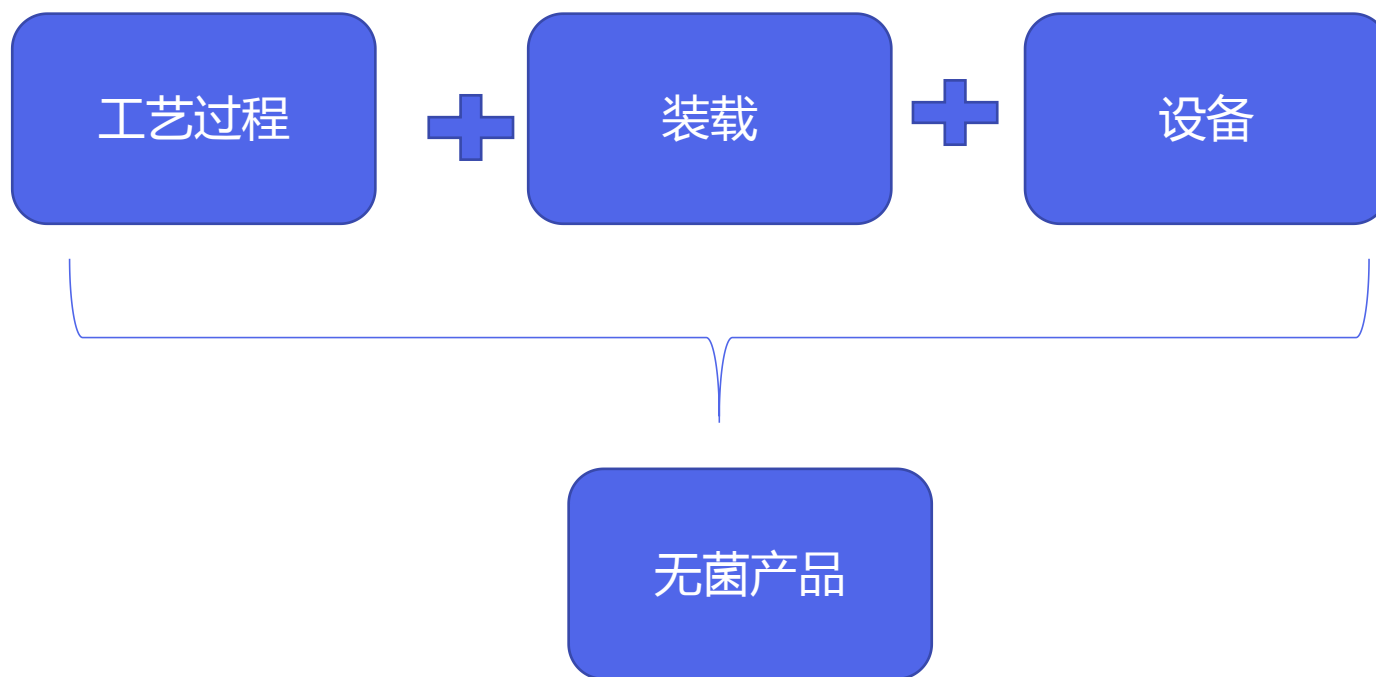
• 确认项目

- 微生物性能合格性确认 (MPQ)
- 物理性能合格性确认 (PPQ)
- 产品合格性确认

什么情况下进行？

- 引入新的或更改的产品、包装、装载方式、设备或过程参数时；

MPQ应证实规定的无菌要求已得到满足。



方法

- 生物负载法：致死率的确认
 - ① 直接计数法/列举法
 - ② 部分阴性法

- 过杀法：证实致死率降低12个对数值以上
 - ① 半周期法
 - ② 周期计算法

方法	基础	运行次数
半周期法	理论的初始污染菌为 10^6	1次有存活 (‘部分周期’ or ‘短周期’) 3次半周期, 不能有存活
周期算法	已知的初始污染菌&致死率	基于使用何种方法 (见 ‘部分阴性法’)
直接计数法	已知的初始污染菌	1次没有灭菌剂 1次达到4个对数值的降低 3次介于上述两点
部分阴性法	已知的初始污染菌	基于使用何种方法 A3.2 HSKP (Hocomb-Spearman Karber) ; A3.3 SMCP (Stumbo Murphy Cochran)

4.1 性能确认 (PQ) ----MPQ

四、灭菌确认

生物指示剂的类型

- 菌片、菌管、自含式菌管



物理性能确认 Physical performance qualification

- 应证实在整个过程中，所有规定的接受准则的重现性。

PPQ过程应运行几次？

- 为证实过程的重现性，至少有3次运行；
- 如果在MPQ过程中运行了3次半周期，则至少再运行1次包含完整暴露时间的运行；

重现性如何得到证明？

序号	过程步骤	项目	方法
1	预处理	在预处理结束时，灭菌装载的温度及湿度都在预定的范围内	在装载内测量
2	装载	在预处理结束时及时开始灭菌前的时间间隔应在预定的范围内	比对确认记录的时间数据
3	灭菌	环氧乙烷被气态的加入灭菌柜中	测量气体加入温度
4	灭菌	由于环氧乙烷气体加入导致压力升高在预定的范围内	在气体加入阶段测量压力数据
5	灭菌	灭菌柜内的环氧乙烷气体浓度在预定的范围内	称重药罐加药前后的重量差 测量进行柜体中的气体体积 直接测量柜内气体浓度
6	灭菌	在灭菌暴露阶段，装载产品的温度在预定的范围内	测量装载产品的温度
7	换气	在换气阶段，装载产品的温度在预定的范围内	测量装载产品的温度

在评估PPQ试验运行时，应注意哪些方面？

- 温湿度探头的数目是否符合要求？
- 探头（温湿度）是否位于装载包装内，并且置于最恶劣的位置（最难灭菌位置）？
- 产品装载的温度是否在规定的范围内？



总结

- IQ 应证实灭菌设备及附属的物件已经按照其规范要求正确的供应及安装；
- OQ 应证实安装的设备在规定允许的偏差范围内按照指定的程序运行；
- PQ 应证实设备连贯的按照预先设定的标准运行，整个过程可以生产出无菌的产品。

1、多长时间做一次再确认？

- 至少一年一次
- 应当至少每年一次对验证、后续重新验证数据和常规加工数据进行审核，应当确定和记录重新确认的范围。审核程序应当形成文件。

2、产品没有发生任何变化，需不需要做再确认？

- 需要

3、再确认需要做那些项目？

- 基于一定的前提，可以选择：
- 全面确认；
- 不需要物理或微生物再验证；
- 小规模微生物性能验证

再确认前提

- a) 应至少对以下内容进行回顾/试验：
- b) 产品设计、制造和包装材料、PCD、供应商、制造区域和设施、装载配置或制造过程是否发生可能影响产品无菌的重大变化；
- c) 产品生物负载变化趋势；
- d) 温度分布和灭菌柜操作研究证明自上次鉴定以来是否发生重大变化；
- e) 温度分布和再循环检查表明预处理柜或通风区自上次鉴定以来是否发生重大变化；
- f) 自上次确认医疗的灭菌过程历史证明具有可重复性；
- g) 更改控制和预防性维护项目表明灭菌设备没有发生可能影响过程的重大变更；
- h) 灭菌过程没有发生可能影响产品无菌的变更；
- i) 如果灭菌过程规范发生了变更，则灭菌过程的重新鉴定应当包括确定产品满足法规规定的EO残留量范围要求；

再确认前提

- 再确认应包装对柜室性能和年内工程变化的审查，从而确保原IQ和OQ结果仍然有效，审查应包括：
 - 预处理区的温湿度曲线（若采用）；
 - 实际空柜室湿度曲线；
 - 通风区温度（若采用）；
- 另外，当设备性能出现不利趋势或无菌性失效时，即时符合过程规范也应进行检查，以确定再验证是否得以保证。
- 灭菌专家应根据审查结果，确定所需要的物理和微生物再验证范围。

注意点

- 如果重新鉴定中发现有重大变更，则可能需要重新实施IQ、OQ和PQ的一些项目。
- 如果采用参数放行，以下额外要求适用：
 - a) 重新验证应至少每年一次；
 - b) 重新验证应包括通过微生物学研究确认规定的SAL。

在发生以下情况是需要进行全面确认：

- a) 灭菌器大规模维修；
- b) 构造、地点或环境变化；
- c) 不明原因无菌性失效；
- d) EO供应或交付、稀释液或柜室装载模式发生变化。

不需要进行物理或微生物再鉴定

- 在产品、包装、设备/服务和过程未发生变化时，柜室性能和工程审查合格，并且在期间阶段中日常灭菌过程运行可靠的情况下，可以通过专业判断来决定在下一次审查之前不需要进行物理或微生物再鉴定。

小规模微生物性能鉴定

- 在某些情况下可能需要，例如核实BI相对于产品生物负载的持续适用性，或在经过规定的时间间隔后，提供证据证明自从前一次（再）确认后未在意间发生变化。
- 一般情况下（至少）应包括一次短周期或半周期运行，包括被灭菌物品的温度和湿度测量。

常规监视和控制

- 应记录并保存每一灭菌周期数据，以证明已达到灭菌过程的要求。

- ① 预处理阶段
- ② 气体作用阶段
- ③ 通风阶段

如果采用参数放行，则应额外记录和保留以下数据：

- ① 在灭菌周期阶段，至少从两个位置测定的柜内温度；
- ② 在处理阶段，直接测定的柜内湿度；
- ③ 在规定时间间隔直接分析柜内气体测定的EO浓度值和公差，充分验证作用时间内的所需条件。

A、参数放行

- 参数放行是在不使用BI的情况下将产品作为无菌产品从灭菌环节放行的方法，它所依赖的是物理处理参数符合全部规范的证明。因此，应该收集其他处理参数的数据（如直接分析柜室相对湿度和EO浓度），从而确保灭菌过程与规范符合。

B、产品灭菌放行

- 在产品放行时，需要审核物理灭菌过程变量和生物指示物培养结果（若采用），评估灭菌过程的符合性。

灭菌过程参数



菌片培养结果

放行周期

灭菌过程参数



菌片培养结果



无菌检测

周期：7d

为什么要做？

- ① 行标、企标逐批检验要求；
- ② 目前检查通用要求

周期：14d

第五章

EO灭菌常见问题

五、EO灭菌常见问题

序号	问题	答案	原因
1	是否可在其他相同的灭菌柜内进行确认分析	不可以	确认用于独立的证明一个灭菌周期/灭菌柜的偏差 型号、参数相同，不同的设备 不能简单的等同评估
2	确认用PCD是否可以不进行评价	不可以	PCD应该能挑战确认及常规控制的产品与装载，应有文件规定其要求并进行适当的评价； 没有标准的PCD
3	装载方式是否		劣的情况，需要出装载的覆盖范围规格的缘故



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