北京市医疗器械灭菌工艺检查

要点指南（2023版）

灭菌工艺过程控制是无菌医疗器械生产生产企业质量管理体系中极其重要的一环，灭菌控制水平的结果直接影响着无菌医疗器械产品的质量安全。为加强对医疗器械灭菌工艺的管理及相关监督检查，进一步贯彻国家药品监督管理局关于《医疗器械生产质量管理规范》实施的具体要求，依据《医疗器械生产质量管理规范》及相关配套文件，制定本指南。

本指南旨在帮助北京市医疗器械生产监管人员增强对无菌医疗器械相关知识的掌握，指导和规范全市医疗器械生产监管人员对医疗器械注册人、备案人、受托生产企业（以下简称“生产企业”）灭菌工艺控制水平的监督检查工作，同时，为生产企业的灭菌工艺过程管理要求提供参考和依据。

本指南中涉及和引用的国家相关法律、法规、规章、标准、检查指南等发生内容和效力变化时，要以当时执行的最新版为准。必要时，北京市药品监督管理局应重新研究修订，以确保本指南持续符合要求。

一、适用范围

根据灭菌方式的不同，医疗器械行业常用的灭菌方法有环氧乙烷灭菌（以下简称EO灭菌）、辐射灭菌和湿热灭菌等，生产企业应当根据产品特性自行选择灭菌方法，并对相关方法的适宜性进行评价。本指南主要用于对目前北京市生产企业普遍采用的EO灭菌、钴-60（60Co）辐射灭菌和湿热灭菌的监督检查。

本检查指南可作为北京市药品监督管理局组织、实施医疗器械注册质量管理体系现场核查、医疗器械生产许可现场核查、医疗器械生产监督检查等涉及灭菌工艺检查的参考资料。

二、EO灭菌的检查

EO灭菌过程的检查应在了解生产企业是否掌握灭菌知识和要求的基础上，围绕灭菌设备的管理、灭菌确认及再确认和日常灭菌活动等情况开展，重点检查生产企业实施灭菌过程控制及动态监视灭菌过程的情况。

## EO灭菌确认的检查

灭菌工艺的确认是保证灭菌效果达到灭菌要求的重要步骤，也是生产企业日常对灭菌活动进行监视控制的主要依据。生产企业应在初次对产品进行灭菌前，对灭菌过程进行确认，确认产品特性、灭菌器参数设置、工艺参数等。生产企业的灭菌工艺控制部门应熟练掌握灭菌确认过程的关键点和重要环节，确认工作可与灭菌服务供应商共同完成，但生产企业应全程参与灭菌确认工作。

灭菌确认过程应符合下图要求：

1.安装确认

安装确认应证明灭菌设备及其辅助设施已按照其规范提供和安装，建立和规定用于输送环氧乙烷的全部设备（包括其辅助设施）。

安装确认应规定设备的操作程序和设备待安装地点（包括任何所需的服务），识别所有特定的预防措施和规定；安装说明应形成文件，并应包含与人员健康和安全相关的说明；在安装确认中应完成所安装设备、管道和其他附属设备的图纸。安装记录应包括设备供应商资料（营业执照、生产许可证、医疗器械注册证等）；设备资料包括但不限于详细的操作说明，故障状况、故障显示方式和处理措施，维护和校准说明，技术支持联系方式。

2.运行确认

在运行确认之前，应确定所有用于监视、控制、指示或记录的仪器(包括测试仪器)处于校准状态，应证明已安装的设备能够在设定的公差范围内运行规定的过程。运行确认可在空载设备中进行，或使用适当的测试材料。

在空载设备中开展运行确认时，应对下列参数进行验证：灭菌柜柜壁、空间温度均匀性、湿度均匀性；预真空时达到真空的程度和速度；柜室的泄漏率（在负压或正压状态时进行）；处理过程中加入蒸汽时压力升高的程度应能满足灭菌要求；加入EO时压力升高的程度和达到的速度，与用于监测灭菌剂浓度的因素的相互关系；排除EO所需达到的真空程度和速度；通入空气（或其他气体）时压力升高的程度和达到压力的速度；以上后两个阶段重复的次数以及连续重复中的各种变化；有关辅助系统的性能，如所提供的蒸汽的质量、气化器气化灭菌剂的能力、供给灭菌器经过滤的气和水的可靠性、在有最大量被灭菌物品的情况下蒸汽发生器持续保质供汽的能力等。

运行确认应进行多次循环，以验证控制的重现性。

3.性能确认

微生物性能确认应通过对符合《医疗保健产品灭菌 生物指示物 第1部分:通则》（GB 18281.1）的生物指示物灭活，证明该灭菌过程适合产品灭菌。确定灭菌过程杀灭率，应使用生物指示物/生物负载法或过度杀灭法。在微生物性能确认过程中，应利用运行确认和物理性能确认或取得结果确定需特别研究的某些关键特性。

生物指示物应放置于产品中最难灭菌的部分。若产品的设计使生物指示物不能放置于最难灭菌的位置，则产品应接种已知数量的活性芽孢悬液，或将生物指示物放置于可以确定与最难灭菌位置关系的位置。

生物指示物或接种的产品应平均分布在灭菌负载中，但分布位置应包括最难达到灭菌条件的位置。微生物性能确认应证明灭菌负载中的微生物杀灭率（灭活性）。放置的位置应包括选择用于温度监控的位置。可在各温度监视点附近放置两个生物指示物对过程有效性进行进一步研究。通常进行这类微生物性能确认时，应采用以下生物指示物数量：产品负载体积为10m3 以下，生物指示物数量为3个/m3，至少为5个/m3；可用柜室体积为10m3~100m3，每增加1m3 增加1个生物指示物。对于常规控制，生物指示物数量为微生物性能确认时的一半。

物理性能确认应包括：在规定的预处理时间（若采用）结束时，灭菌负载在规定的温度和湿度范围内；预处理（若采用）结束至灭菌周期开始之间规定的最大时间间隔是合适的；气态环氧乙烷已进入灭菌柜；压力上升和环氧乙烷的使用量或灭菌柜内环氧乙烷浓度在规定范围内；在灭菌周期中，灭菌柜的温度、湿度和适用的其他过程参数在灭菌过程规范的规定范围内；在暴露期间，负载温度在规定的范围内；在解析期间，负载温度在规定的范围内；解析后EO和其反应产物的残留水平应低于规定的限度。

4.上述灭菌确认完成后，还应对灭菌过程对产品其它性能（如化学性能、物理性能、生物相容性等）的影响进行确认，以确定该灭菌过程适宜于其产品。

5.如需要重复灭菌的，还应对重复灭菌情况进行确认，包括灭活确认、其它性能确认（如化学性能、物理性能、生物相容性等）。

6.确认报告

生产企业应编制确认报告，报告应由指定的负责人进行审核与批准，确认报告应描述或引用具体的已确认的产品、规定的装载模式和形成文件的环氧乙烷灭菌过程规范，同时应包括以下数值和公差：预处理（若采用）、处理（若采用）、环氧乙烷注入与暴露、解析（若采用）。还应包括：进行性能确认时所有仪表、记录仪等经过校准的证明；复审和重新确认的规定；确认方案；所用程序的文件资料；所有人员的培训手册和记录；文件化操作规程，包括过程控制范围；维护与校准程序；确认结论。

生产企业制定的灭菌工艺应包括温度、湿度、压力、EO浓度和灭菌时间等灭菌工艺的主要技术性能指标。以下给出的部分技术性能指标参考值仅供检查员参考，每个产品的具体灭菌工艺参数应以生产企业的灭菌确认结果为准。

（1）灭菌温度：灭菌温度的常规极限通常在37℃～63℃，一般常用的合适温度为50℃±5℃，当温度高到足以使药物发挥最大作用时，再升高温度，杀菌作用不再加强。灭菌温度与产品的材料、物理化学性能，产品在灭菌柜中的摆放，产品包装材料、大小、厚度、装载数量有关。

（2）湿度：灭菌产品的含水量、微生物本身的干燥程度和灭菌环境的相对湿度，对EO的灭菌作用均有显著的影响。应保证灭菌室加湿效果具有在相对湿度≤40%时加湿到75%以上的能力；在抽真空后、加药前，此时灭菌器内的湿度应控制30%RH～80%RH范围内。

（3）压力：预真空的大小决定残留空气的多少，而残留空气可直接影响EO气体、热量、湿气到达被灭菌物品的内部，所以灭菌过程尤其是加湿前真空度对灭菌效果影响较大。预真空度应考虑以下因素的影响：对被灭菌物品及其包装的影响；负压灭菌与正压灭菌；对湿度的影响；设定真空度与达到该真空度所需时间；真空持续时间（保压）。

（4）EO浓度：300～1000mg/L是目前常用的EO浓度条件。生产企业选择EO浓度应考虑以下因素的影响：产品的装载量、加入时所需时间及EO残留量。

（5）灭菌时间：采用半周期法进行微生物性能验证的，灭菌工艺规定的作用时间至少为半周期2倍。

（二）EO灭菌活动的检查

EO灭菌活动通常包括：灭菌前准备、灭菌实施。生产企业的灭菌活动的过程一般通过灭菌器打印的过程参数记录反映，也可通过计算机编译后的过程图表等电子文档方式反映。生产企业应结合《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、确认和常规控制的要求》（GB18279.1），确定EO灭菌活动的常规监视与控制、产品灭菌放行要求。灭菌过程记录应结合相关要求，至少包含灭菌产品名称、灭菌产品批号、灭菌器的编号、操作人员、灭菌全过程工艺参数（如灭菌开始时间、投药量、灭菌结束时间、压力、湿度、温度）等基本信息。

对于灭菌过程的控制，生产企业应建立详细的灭菌控制要求，包括：灭菌工艺规程、灭菌产品解析要求和灭菌设备使用维护规程。灭菌器是灭菌工艺中使用的主要设备，生产企业对灭菌器设备的控制文件至少应包含设备调试、设备保养、设备维修、设备报废处理等方面的内容，设备运行记录的留存期限应满足灭菌产品追溯的要求。

（三）产品解析的检查

对于EO灭菌的产品，除以上提到的检查内容外，还应注意生产企业对EO残留量的控制能力。检查员可通过现场检查产品解析库、成品库和查阅EO残留量检验记录的方式对生产企业的控制水平进行检查。通常情况下，宽敞的场地（保证相邻独立大包装间拉开距离）、良好的通风条件（强排风设备）、适宜的解析温度和经验证的解析时间可以保证产品的解析效果符合标准要求。

在没有强制通风措施的情况下，可采用自然解析法。自然解析法受自然环境条件（如季节）和产品摆放方式的影响很大，因此，对于采用自然解析法的，在EO残留检验时，生产企业应参考有关标准（GB/T 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）相关内容，确认EO解析场所中最难解析产品的位置，并规定抽检解析最差的样品。

解析记录应包括：解析的产品名称、数量、批号（或灭菌批号）、开始时间和结束时间、温度、场所、操作人姓名等。

三、钴-60（60Co）辐射灭菌的检查

由于目前国家对放射性元素使用的有关规定，国内采用辐射灭菌的生产企业普遍采取委托的形式开展灭菌活动。因此，对此类灭菌活动的检查应着重对生产企业是否了解辐射灭菌工作原理和监视受托方灭菌过程参数的能力进行评价。

（一）辐射灭菌确认的检查

生产企业的辐射灭菌确认应与辐射灭菌服务供应商共同完成，并能清晰描述确认流程。

1.灭菌确认应包括几个组成部分：

（1）辐照装置的安装确认：确认文件中至少应有辐照装置的技术规格和参数、传输系统有关的结构和参数说明、辐照容器的尺寸、材料和结构说明、操作辐照装置和传输系统的操作程序、源活度及单个源部件的位置的描述、表明源活度测量日期的证书、过程和辅助设备（包括相关软件）的测试记录、辐照装置测试记录和修改记录等。

（2）在已进行安装确认的辐照装置中进行产品运行确认：运行确认之前，应证实所有仪器设备经过校准。通过辐射均匀材料的代表产品执行运行确认以证明设备有能力实施灭菌过程要求的剂量范围。运行确认应证明安装后的辐照装置根据可接受的标准有能力运行并实施合适的剂量。

执行剂量分布测试以刻画出辐照装置的关于剂量分布和剂量变化性的特性。应使用均匀密度的材料，装填至辐照容器设计规范容积的上限，进行剂量分布测试。剂量计应用于测定在均匀材料中、不同已知深度位置的剂量。在剂量分布测试过程中，辐照装置中应有足够数量的、装载有相同材料至设计规范容积上限的辐照容器，以有效模拟完全满载的辐照装置的辐射效果。应在剂量分布测试中使用足够数量的辐照容器，以确定辐照容器间的剂量分布和变化性。

如果传输路径不止一个，应对用于加工产品的每个路径作出剂量分布测试，应确定过程中断对剂量造成的影响并记录。剂量分布测试的记录应包括对辐照容器、辐照装置运行条件、被辐射的材料、剂量测量和得出结论的描述，应建立时间设定或传输装置速度和剂量间的关系。

（3）在已确认合格的设备中，用指定的产品或模拟产品进行性能确认：执行剂量分布测试时，应按照规定的装载模式装载产品，以便确定最大与最小剂量值和位置、确定最大与最小剂量和日常监测位置的剂量间的关系。

应规定产品的灭菌方式，包括包装产品的尺寸和密度、产品在包装中的位置摆放、对辐照容器的描述(如果在一个辐照装置中使用多种辐照容器)、对传输途径的描述(如果在辐照装置中有多个传输路径)。

剂量分布应按指定装载模式在产品装载内找出最小和最大剂量区域，并研究辐射的重复性。生产企业应将该信息用于常规辐射选择剂量监测位点。

应对每个同类加工类别进行剂量分布测试。剂量分布测试应在有足够数量、有代表性的辐照容器内进行，以确定在辐照场中处于不同位置的辐照容器之间剂量分布的差异，特别在期望最大和最小剂量区及常规监测位置的吸收剂量变化。生产企业应对所有的装箱模式和辐照加工中运行的各途径做剂量分布试验，用于辐射的产品通道也应包括在该工作中。如果出于常规加工的目的使用加工类别，则应按照产品的技术要求进行评估。评估应包括影响产品吸收剂量的产品相关变量和加工规范的考虑，并保持相关记录。

1. 建立灭菌剂量：依照《医疗保健产品灭菌 辐射 第2部分：建立灭菌剂量》（GB18280.2）建立灭菌剂量，建立灭菌剂量试验报告中至少应含有：初始污染检测试验报告、初始污染检测的回收率报告、验证剂量检测报告、无菌试验报告以及无菌试验的验证实验报告。

生产企业应评价产品上或产品中存在的自然微生物群体的数量和辐射抗力，以确定灭菌剂量。该剂量应能达到预先选定的无菌保证水平（SAL）。选择灭菌剂量时可利用生物负载信息或由增量剂量实验获得的信息；也可在证明其适合性后选择25kGy或15KGy作为灭菌剂量。生产企业还应有计划的定时监测产品中存在的自然微生物群体数量以确定选定的灭菌剂量的有效性。

（5）建立最大耐受剂量：依照《最终灭菌医疗器械包装 第1部分：材料、无菌屏障系统和包装系统的要求》（GB/T 19633.1） 和《最终灭菌医疗器械包装 第2部分：成形、密封和装配过程的确认的要求》（GB/T 19633.2）， 完成包装材料的灭菌过程确认实验，确定包装材料耐受的最大吸收剂量。在性能确认之前，应先就灭菌过程对产品其它性能（如化学性能、物理性能、生物相容性等）的影响进行确认，以确定产品的最大耐受剂量。

（6）如需要重复灭菌的，还应对重复灭菌情况进行确认，包括灭活确认、其它性能确认（如化学性能、物理性能、生物相容性等）。

（7）应建立灭菌过程确认程序并形成文件。

（8）支持保持确认所进行的活动。

2.产品和包装材料的选择

生产企业应考虑辐射对产品（或产品组件）和包装材料所产生的影响，应证明产品经辐射灭菌后在完整寿命周期内的质量、安全性和性能得到保证。生产企业在设计实验程序时应考虑：工序、限度、辐射剂量、辐射源、原材料性能及贮藏环境的变化。

3.产品装载模式的确定

生产企业对每种产品类型都应建立其产品装载模式。该装载模式的技术规格应制定下述文件：

（1）包装产品的说明，包括尺寸、密度及在此参数中可接受的偏差，在需要时还有包装内产品的方位；

（2）在辐照容器内产品装载模式的说明；

（3）辐照容器机器尺寸说明。

4.确认报告

在安装确认、运行确认和性能确认中获得的信息应得到评审，应记录评审的结果。过程规范的制定应包含以下信息并进行评审：对包装产品的描述；产品在辐照容器中的装载模式；使用的传输路径；最大可接受剂量；灭菌剂量；对于支持微生物生长的产品，从制造到完成辐照之间的最大时间间隔；常规剂量计监测位置；监测位置的剂量和最大与最小剂量间的关系；对多次辐射的产品，每次辐射再定位的要求。

（二）灭菌活动的检查

生产企业应结合《医疗保健产品灭菌 辐射 第1部分:医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求》（GB18280.1），确定辐射灭菌活动的常规监测与控制、产品灭菌放行要求。检查员可通过询问和查阅记录的形式检查生产企业整体灭菌控制水平，灭菌过程记录应结合相关要求，至少包含灭菌产品名称、灭菌产品批号、辐射源的编号、辐射剂量及剂量计溯源证明、辐射开始时间、辐射结束时间、操作人员姓名等。

四、湿热灭菌的检查

湿热灭菌包括饱和蒸汽-重力排气系统、饱和蒸汽-动力排气系统、空气蒸汽混合气体、水喷淋、水浸没等灭菌过程，其灭菌效果与灭菌器的性能以及被灭菌产品的性能相关。在对生产企业湿热灭菌工艺检查中，应重点对生产企业实施灭菌过程控制及动态监视灭菌过程的情况进行检查。

（一）湿热灭菌确认的检查

1.安装确认

湿热灭菌安装确认应规定用于实施灭菌过程的设备、设备和配套设施的操作程序、设备安装的位置，且应验证设备和安全操作系统能按规格运行，运行周期与规定要求一致，同时没有任何来自供给或设备的泄漏。具体内容可以参考《医疗保健产品灭菌 湿热 第1部分:医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求》 （GB18278.1）中的6.2.1、6.2.2和6.2.3要求。

2.运行确认

湿热灭菌运行确认应证明已安装的设备能按照《医疗保健产品灭菌 湿热 第1部分:医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求》 （GB18278.1）中的相关要求实施灭菌过程，并保存有关记录。湿热灭菌工艺确认相关文件中应明确空灭菌室内及测试负载(若使用)内的温度分布达到要求时的温度传感器的数量、位置及相关原理。

3.性能确认

湿热灭菌性能确认应证明，产品使用常规灭菌的设备并已暴露于规定的灭菌过程。用于证明灭菌负载已符合要求的温度传感器的数量和位置，其原理应予以文件化。

湿热灭菌检查应包括并验证：文件证实安装确认和运行确认合格；灭菌测试负载构成的产品会被常规处理，且该产品所属的产品族与灭菌过程分属的产品族一致，或该产品能代表对灭菌过程构成最大挑战的产品族；包装系统与预期用于常规生产或再处理的产品的包装系统相同；预处理、负载配置、灭菌负载的尺寸和/或质量应符合相关要求。

湿热灭菌性能确认应包括灭菌负载经一系列至少连续3次暴露于灭菌过程，这证明与灭菌过程规定一致并且灭菌程序具有可重复性。性能确认过程中不符合灭菌程序规定的项目应予以评审并纠正。若故障原因与被确认灭菌过程的有效性无关，则可将该测试形成文件，因为与灭菌过程的性能无关而无需再连续暴露3次。

具体性能确认要求可以参考《医疗保健产品灭菌 湿热 第1部分:医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求》（GB18278.1）中的相关要求。

4.确认报告

湿热灭菌对于安装确认、运行确认和性能确认过程中汇集的或产生的信息，应评审其与确认过程中每个阶段规定的可接受准则的一致性。评审的结果应形成文件并批准。应证实灭菌过程的规格，包括过程参数及其容差。该规格应包括将特定灭菌负载分属于灭菌过程的符合性准则，形成文件应至少包括以下内容:能进行处理的产品族、负载配置、灭菌负载的尺寸和/或质量、产品的任何预处理步骤、包装系统和包装方法的描述、医疗器械在包含有多种医疗器械的包装内的分布（若适用）、定期试验、过程挑战装置和与之相关的产品族、生物负载（若适用）。

（二）灭菌活动的检查

生产企业应结合《医疗保健产品灭菌 湿热 第1部分:医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求》（GB18278.1）确定湿热灭菌活动的常规监测与控制、产品灭菌放行要求。灭菌过程记录应结合相关要求，至少包含灭菌产品名称、灭菌产品批号、灭菌器的编号、操作人员、灭菌全过程工艺参数（如灭菌时间、压力、温度）等基本信息。

五、其它应关注的内容

1.灭菌活动是生产企业日常生产行为的一部分，其活动过程应按照灭菌确认的结果开展，生产企业参与灭菌活动的工作人员应能熟练操作灭菌设备、明确灭菌设备工作的流程和熟知特殊情况下的处理措施。检查员可以通过询问或要求生产企业实际操作的方式对其进行评价，对于灭菌设备操作人员的能力可以通过查阅生产企业的培训情况和实际操作的情况进行评价。

2.灭菌工艺的确认是保证灭菌效果达到灭菌要求的重要步骤，也是生产企业日常对灭菌活动进行监视控制的主要依据。生产企业应在初次对产品进行灭菌前，对灭菌过程进行确认，确认产品特性、灭菌器参数设置、工艺参数等。生产企业的灭菌工艺控制部门应熟练掌握灭菌确认过程的关键点和重要环节；对于采用委托灭菌方式的，确认工作应与灭菌服务供应商共同完成。为保证产品的灭菌效果，生产企业应保证灭菌过程与灭菌确认结果的一致性，检查员也应注意结合确认的结果开展灭菌过程的检查。

3.灭菌确认工作应包括输入、策划、确认过程及确认报告等。输入应包括：与产品有关的要求，如法规要求、顾客要求、产品无菌保证水平、产品的设计、包装的设计、产品性能要求等。策划应包括：建立灭菌确认控制程序；具体的灭菌确认方案或确认计划，如依据的标准；验证的时间、内容、程序；人员（成立确认工作小组并进行资格审查）；提出确认（合格）的标准。灭菌确认过程包括安装确认、运行确认、性能确认等内容。生产企业应将上述过程形成确认报告。

4.生产企业留存的灭菌确认、灭菌过程、产品解析等各种原始记录，应能够充分体现灭菌过程的实际参数，且保存期限应当至少相当于生产企业所规定的医疗器械的寿命期，但从放行产品的日期起不少于2年，或者符合相关法规要求，并可追溯。

5.如允许对产品重复灭菌，生产企业应评价对产品和包装的影响，并提供相应的评价记录及报告。

6.本指南中涉及的检查方法，不仅限于在生产企业内部完成的过程，如生产企业采用委托灭菌方式时，应着重对生产企业在灭菌服务供应商过程控制中采用的监视测量手段进行评价。如必要，可依照本指南及《北京市医疗器械产品委托灭菌方式检查要点指南》对灭菌服务供应商进行延伸检查。

附件：1.常见的名词解释

2.常用的灭菌方法介绍

3.环氧乙烷灭菌原理

4.环氧乙烷残留

5.辐射灭菌工作原理

6.湿热灭菌工作原理

7.参考依据

附件1

常见的名词解释

1.灭菌：经确认的使产品无存活微生物的过程。目前国际上规定，灭菌过程必须使物品污染微生物存活概率减少到10-6及以下。

2.灭菌剂：能够杀灭特定外环境或物品中一切微生物（包括细菌繁殖体、芽孢、真菌、病毒、立克次体、原生动物和藻类等）的化学物质或其复方制剂。

3.微生物：在显微镜下才能看到的微小实体，包括细菌、真菌、原生动物和病毒。

4.生物指示物：对规定的灭菌过程有特定的抗力，含有活微生物的测试系统。

5.化学指示物（非生物指示物 ）：根据暴露于某一灭菌过程所产生的化学或物理变化，显现一个或多个预定过程变量变化的测试系统。

6.无菌保证水平（SAL）：灭菌后产品上存在单个活微生物的概率。

附件2

常用的灭菌方法介绍

常用的灭菌方法有湿热灭菌法、干热灭菌法、辐射灭菌法、气体灭菌法、过滤除菌法、汽相灭菌法、液相灭菌法等，可根据被灭菌物品的特性采用一种或多种方法组合灭菌。

一、湿热灭菌法

本法系指将物品置于灭菌设备内利用饱和蒸汽、蒸汽-空气混合物、蒸汽-空气-水混合物、过热水等手段使微生物菌体中的蛋内质、核酸发生变性而杀灭微生物的方法。该法灭菌能力强，为热力灭菌中最有效、应用最广泛的灭菌方法，适用于药品、容器、培养基、无菌衣、胶塞以及其他遇高温和潮湿性能稳定的物品。湿热灭菌条件通常采用温度-时间参数或者结合F0值（F0值为标准灭菌时间，系灭菌过程赋予被灭菌物品121°C 下的等效灭菌时间）综合考虑。

二、干热灭菌法

本法系指将物品置于干热灭菌柜、隧道灭菌器等设备中，利用干热空气达到杀灭微生物或消除热原物质的方法。适用于耐高温但不宜用湿热灭菌法灭菌的物品灭菌，如玻璃器具、金属制容器、纤维制品、陶瓷制品、固体试药、液状石蜡等。干热灭菌条件通常采用温度-时间参数或者结合FH值（FH值为标准灭菌时间，系灭菌过程赋予被灭菌物品160°C下的等效灭菌时间）综合考虑。

三、辐射灭菌法

本法系指利用电离辐射杀灭微生物的方法。常用的辐射射线有60Co 或137Cs衰变产生的γ射线、电子加速器产生的电子束和X射线装置产生的X射线。适用于能够耐辐射的医疗器械、生产辅助用品、药品包装材料、原料药及成品等。辐射灭菌控制的参数主要是辐射剂量（指灭菌物品的吸收剂量），为保证灭菌过程不影响被灭菌物品的安全性、有效性及稳定性，应确定最大可接受剂量。

四、气体灭菌法

本法系指用化学灭菌剂形成的气体杀灭微生物的方法，最常用的化学灭菌剂是环氧乙烷，一般与80% ~90%的惰性气体混合使用，在充有灭菌气体的髙压腔室内进行。适用于不耐高温、不耐辐射的物品（如医疗器械、塑料制品和药品包装材料等），干粉类产品不建议采用本法灭菌。采用环氧乙烷灭菌时，腔室内的温度、湿度、灭菌气体浓度、灭菌时间是影响灭菌效果的重要因素，同时需确认灭菌完成后灭菌气体和反应产物残留量对灭菌物品的安全性、有效性和稳定性的影响。

五、过滤除菌法

本法系指采用物理截留去除气体或液体中微生物的方法，常用于气体、热不稳定溶液的除菌。应根据待过滤介质属性及工艺目的选择合适的过滤器，除菌级过滤器的滤膜孔径通常选用0.22μm(或更小孔径或相同过滤效力）。过滤器的孔径定义来自过滤器对微生物的截留能力，而非平均孔径的分布系数。选择过滤器材质时，应充分考察其与待过滤介质的兼容性。

六、汽相灭菌法

本法系指通过分布在空气中的灭菌剂杀灭微生物的方法，常用的灭菌剂包括过氧化氢、过氧乙酸等。适用于密闭空间的内表面灭菌。灭菌效果通常与灭菌剂量(一般是指注入量）、相对湿度和温度有关。

七、液相灭菌法

本法系指将被灭菌物品完全浸泡于灭菌剂中达到杀灭物品表面微生物的方法。具备灭菌能力的灭菌剂包括：甲醛、过氧乙酸、氢氧化钠、过氧化氢、次氯酸钠等。灭菌剂种类的选择应考虑灭菌物品的耐受性。灭菌剂浓度、温度、pH值、生物负载、灭菌时间、被灭菌物品表面的污染物等是影响灭菌效果的重要因素。

附件3

环氧乙烷灭菌原理

环氧乙烷（以下简称EO）是一种最简单的环醚，低温时为无色易流动液体，沸点10.4℃，在该温度以上为无色气体。EO液体在室温下易挥发，有醚味。EO杀灭微生物是由于它能与微生物的蛋白质、DNA和RNA发生强烈的非特异性烷基化作用，可以与蛋白质上的游离羧基（-COOH）、氨基（-NH2）、硫氢基（-SH）和羟基（-OH）发生烷基化作用，造成蛋白质失去反应基团，阻碍了微生物蛋白质的正常化学反应和新陈代谢，导致微生物死亡。EO也可以抑制生物酶的活性。

EO是一种广谱、高效和对灭菌物品无损害的气体杀灭消毒剂。EO杀菌能力强且广泛，可以杀灭病原微生物，包括细菌繁殖体、芽孢、病毒和真菌。蒸汽压高，对消毒物品的穿透力强，可达到物品深部，适合于包装物品的灭菌。

典型的灭菌工艺要经过正压过程和负压过程：产品进入灭菌器后关闭闸门，首先对灭菌室加温，直到温度达到预定的灭菌温度；然后，灭菌室抽真空，当达到预定的真空度后，开始对灭菌室加湿、加药；在上述过程后，灭菌过程开始，灭菌计时器开始计时，在整个灭菌过程中需保持恒温状态；灭菌时间到达预设值，则开始对灭菌室进行换气，即用经过过滤后的清洁空气置换灭菌室内的残余EO气体，将残气排出（通常通过水解对残气进行处理），灭菌过程结束。

常见的EO灭菌器由灭菌箱体、辅助设备、监测设备和控制装置组成。灭菌箱体包括灭菌室、部件管路、密封材料、安全阀和门；辅助设备包括加热及热循环装置、真空装置、加湿装置、加药及气化装置、密封装置和残气处理装置等；监测设备和控制装置包括温度传感器、压力传感器、湿度传感器和温度指示器、压力指示器、湿度指示器、计时器、记录仪表及报警装置。

附件4

环氧乙烷残留

一、医疗器械产品如采用环氧乙烷（以下简称EO）灭菌，应不断提高各类人员对EO残留量造成健康风险的意识：EO能够高效地对医疗产品进行灭菌；在杀灭微生物的同时，医疗产品上的EO残留也会对使用者和患者的身体带来一定的毒害。其毒性主要包括两个方面：

（一）EO本身的毒性。

在很多情况下，环氧乙烷具有致突变性、胎儿毒性和致畸特性，对睾丸功能具有不良作用，并能对体内的多个器官系统产生损害。通过呼吸器官吸入体内刺激呼吸道，可引起恶心、呕吐、头昏、头痛、嗜睡等症状，严重者可引起肺水肿；通过皮肤、粘膜接触后，可引起红肿、水泡及血泡，严重者可出现局部皮肤烧伤及粘膜组织灼伤，造成毛发脱落；超量进入人体血液内，可致红细胞溶解，补体灭活和凝血酶破坏引起全身性溶血。在动物致癌研究中，当食入或皮下注射EO时，会在接触部位形成肿瘤；吸入EO可产生几种赘生性变化，包括白血病、脑肿瘤和乳房肿瘤。

（二）灭菌后生成物的毒性。

残留的EO与产品中氯元素接触产生2-氯乙醇（以下简称ECH），与水接触形成乙二醇，这两种物质都具有一定的毒性。特别是ECH，在中毒剂量下可通过皮肤快速吸收，具有急性毒性、体表刺激、轻微的致突变性，具有产生胎儿毒性和致畸性改变的潜能，可对肺、肾、中枢神经系统和心血管系统等器官系统造成损伤。

二、经EO灭菌的医疗器械应采用透气性好，有助于消除EO残留的纸塑包装，以最大限度地降低EO残留，降低器械使用的风险。

产品灭菌后还必须按照经验证的方法进行解析，综合评价解析的场地、通风条件、温度、时间和产品的包装形式、材质等条件，并经检测确定器械上的EO残留量应符合产品技术要求。

产品的解析时间应进行验证，若无强制解析的条件，还应考虑验证不同季节中产品的解析时间。

三、医用敷料、无纺布、合成医用乳胶手套等对EO气体有很强的吸附性，吸附在这类产品上的残留量很难彻底解析，所以对此类产品，应关注EO的解析，或参考相关标准（如：YY/T 1267-2015适用于环氧乙烷灭菌的医疗器械的材料评价），从材料相容性角度考虑EO灭菌的适用性。

四、对每一种医疗器械，按接触时间分类，其所允许释放给患者的EO和ECH的最大日剂量应不超过以下给出值：

（一）对于持久接触器械（超过30天以上一次、多次或重复长期使用或接触的器械）

EO对患者的平均日剂量不应超过0.1mg。此外最大剂量：前24小时不应超过4mg；前30天不应超过60mg；一生不应超过2.5g。

ECH对者的平均日剂量不应超过0.4mg。此外最大剂量：前24小时不应超过9mg；前30天不应超过60mg；一生不应超过10g。

（二）对于长期接触器械（超过24小时以上30天以内一次、多次或重复长期使用或接触器械）

EO对患者的平均日剂量不应超过2mg。此外最大剂量：前24小时不应超过4mg；前30天不应超过60mg。

ECH对患者的平均日剂量不应超过2mg。此外最大剂量：前24小时不应超过9mg；前30天不应超过60mg。

（三）短期接触器械（在24h以内一次、多次或重复使用或接触的器械）

EO对患者的平均日剂量不应超过4mg。

ECH对患者的平均日剂量不应超过9mg。

（四）表面接触的器械和植入物可耐受接触限量

EO可耐受接触限量均不应超过10μg/cm2，或应显示出如ISO10993-10中规定的极轻微刺激反应。

ECH的可耐受接触限量均不应超过5mg/cm2，或应显示出如ISO10993-10中规定的极轻微刺激反应。

（五）特殊情况

对于多器械系统，应对每个患者接触的器械规定限量。

每个人工晶状体EO残留量每天不应超过0.5μg，或每个晶状体不应超过1.25μg。以单个人工晶状体质量20mg计算，其他眼内器械根据其质量按比例算出限量。由于产生眼毒性的ECH水平大约比相应EO水平高四倍，含氯的黏弹性材料制成的眼内器械的ECH可接受水平需要进行评价。

对患者和献血者使用的血细胞分离器，EO的最大允许剂量为10mg，ECH的最大允许剂量不应超过22mg。

对血液氧合器和血液分离器，EO对患者的最大允许剂量为60mg，ECH对患者的最大允许剂量不应超过45mg。

对心肺旁路过程所用的器械，EO的最大允许限量应为20mg，ECH的最大允许限量应为9mg。

对体外血液净化器械，每个器械的EO和ECH规定限量应为4.6mg，但可能会超过EO一生可允许剂量。

对于预期仅接触完好皮肤的手术单，EO的最大允许限量为10μg/cm2的可耐受接触限量，ECH为5mg/cm2，或手术单应显示出如ISO 10993-10中规定的极轻微刺激反应。

此外，还应关注《医疗器械生物学评价 第7部分:环氧乙烷灭菌残留量》（GB/T 16886.7）对早产儿、新生儿、婴儿、儿童和成人等不同人群的EO和ECH允许限量规定，并按要求执行。

五、EO残留量检测方法

气相色谱法是EO残留量检测的常规方法。气相色谱法是利用气体作流动相的色谱法。汽化的试样被载气带入色谱柱，试样中各组分分子由于与色谱柱中的固定相作用力不同，从色谱柱中流出时间不同而彼此分离；各组分先后进入检测器，用数据处理系统记录色谱信号，根据信号强度对测试组分进行定量。

气相色谱仪由载气源、进样部分（一般为顶空进样系统）、色谱柱、柱温箱、检测器和数据处理系统组成。

检测流程如下：先取标准溶液于顶空进样系统中进行培养。当试样达到气液平衡时，不同浓度的液体会生成不同浓度的气体，取平衡后的气体，注入进样器，记录EO的峰高（或面积）。根据不同浓度的标准溶液对应的峰高（或面积），绘制峰高（或面积）－浓度标准曲线。取样品适量，制取浸提液，同法测定峰高（或面积），以测得的峰高（或面积）从标准曲线上查得相应的标准溶液的浓度。根据公式，计算出EO留量。

检测方法应明确浸提液的制备方式、标准曲线的制备以及试样的测试条件等。

（一）浸提液的制备方式包括：模拟使用浸提法、加严浸提法和极限浸提法。

模拟使用浸提法是指采用使浸提尽量模拟产品使用的方法。这一模拟过程使测量的环氧乙烷残留量相当于患者使用该器械的实际环氧乙烷摄入量。

加严浸提法是与临床使用条件下相比，预期会导致更多或更大量化学成分释放的浸提。

极限浸提法是指再次浸提测得的环氧乙烷的量小于首次浸提测得值的10%，或浸提到测得的累积残留量无明显增加。

浸提液的制备方式应明确浸提液类型（一般为水）、浸提温度、浸提时间、浸提的方式等。

（二）标准溶液的制备，首先应尽量选择有标准物质证书的EO纯品或EO标准溶液，使用前应确认标准物质是否在有效期内，存储环境是否符合说明书的要求。取标准物质进行逐级稀释，制取至少5个浓度的系列标准溶液（不应把零浓度的溶液作为标准溶液），用于标准曲线的制备。

（三）试样的测试条件，应明确顶空进样设备的条件（加热温度和时间）、色谱柱类型、进样口温度、进样量、柱温箱温度、升温程序、检测器类型和温度等。

目前医疗器械标准中EO残留量的检测方法大部分引用GB/T 14233.1中推荐的极限浸提和加严浸提的气相色谱法。引用该标准或其他标准中的检测方法时，应进行方法学的验证，确保引用方法适用于所检测产品。

也可以使用其它经确认的分析方法，如质谱法。

附件5

辐射灭菌工作原理

辐射灭菌是利用电离辐射杀灭微生物的物理过程。常用的辐射射线有60Co 或137Cs衰变产生的γ射线、电子加速器产生的电子束和X射线装置产生的X射线。电离辐射可以直接作用于微生物体内的蛋白质、核酸、酶等对生命有重要意义的大分子，破坏或改变生物大分子的结构，从而达到杀灭微生物的目的。同时，电离辐射也可作用于微生物体内的水分子，引起水的电离和激发，通过产生自由基和对生物起化学腐蚀作用的活性分子来破坏微生物。

辐射灭菌有灭菌彻底、节约能源、操作方便、宜于工业化连续操作等优点。附件6

湿热灭菌工作原理

湿热灭菌法是指在灭菌器内利用高压蒸汽或其他热力学灭菌手段杀灭物品中的微生物。通常利用饱和蒸汽、蒸汽-空气混合物、蒸汽-空气-水混合物、过热水等湿热的方法，使微生物体内的蛋白质和核酸发生变性，达到杀灭微生物的目的。这种变性首先是生物大分子中的氢键断裂，蛋白质和核酸内部结构被破坏，进而丧失原有功能。

灭菌温度和时间是影响湿热灭菌效果的最关键因素。此外，同等灭菌温度和时间下，被灭菌物品的热稳定性和热穿透性、生物负载数量和种类、装载方式等也会影响最终的灭菌效果。

根据被灭菌物品的微生物污染水平和耐受湿热能力的不同，湿热灭菌程序通常可划分为过度杀灭法和残存概率法，都可使被灭菌的产品和材料达到相同的无菌保证水平。

湿热灭菌具有穿透力强、传导快、灭菌能力强的特点，且无残留、不污染环境、不破坏产品表面、易控制和重现性好，是医药行业中常用的灭菌方法。

附件7

参考依据

1.《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、确认和常规控制的要求》（GB 18279.1-2015）

2.《医疗保健产品灭菌 生物指示物 第2部分：环氧乙烷灭菌用生物指示物》（GB 18281.2-2015）

3.《环氧乙烷灭菌器》（YY 0503-2023）

4.《医疗卫生用品辐射灭菌消毒质量控制》（GB 16383-2014）

5.《医疗保健产品灭菌 辐射 第1部分:医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求》（GB 18280.1-2015）

6.《医疗保健产品灭菌 辐射 第2部分:建立灭菌剂量》（GB 18280.2-2015）

7.《医疗保健产品灭菌 湿热 第1部分:医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求》（GB 18278.1-2015）

8.《医疗保健产品灭菌 生物指示物 第3部分:湿热灭菌用生物指示物》（GB 18281.3-2015）

9.《医用输液、输血、注射器具检验方法 第1部分：化学分析方法》（GB/T 14233.1）

10.《医疗器械生物学评价 第7部分：环氧乙烷灭菌残留量》（GB/T 16886.7-2015）

11.《最终灭菌医疗器械包装 第1部分:材料、无菌屏障系统和包装系统的要求》（GB/T 19633.1-2015）

12.《最终灭菌医疗器械包装 第2部分:成形、密封和装配过程的确认的要求》（GB/T 19633.2-2015）

13.《医疗保健产品灭菌 术语》（GB/T 19971-2015）