ICS 11.080.01
C 47

YY

中华人民共和国医药行业标准

YY/T 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

Physical requirements and microbiological performance of ethylene oxide sterilization—Part 2：Microbiological aspects

2015-03-02 发布　　2016-01-01 实施

国家食品药品监督管理总局　发布

目　　次

前言 …… Ⅲ
1　范围 …… 1
2　规范性引用文件 …… 1
3　术语和定义 …… 2
4　过程定义 …… 2
4.1　过程定义考虑事项 …… 2
4.2　过程定义方法 …… 4
4.3　灭菌过程定义疑难解答 …… 9
4.4　过程挑战装置(PCD) …… 10
5　确认 …… 12
5.1　微生物性能鉴定(MPQ) …… 12
5.2　灭菌装载 …… 13
5.3　模拟预期过程条件 …… 14
5.4　确认装载的放行 …… 14
5.5　小批量放行 …… 14
6　过程有效性维护 …… 15
6.1　失败调查 …… 15
6.2　再鉴定 …… 16

前　言

YY/T 1302《环氧乙烷灭菌的物理和微生物性能要求》由以下2部分组成：

——第1部分：物理要求；

——第2部分：微生物要求。

本部分为YY/T 1302的第2部分。

本部分按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本部分由国家食品药品监督管理总局提出。

本部分由全国消毒技术与设备标准化技术委员会(SAC/TC 200)归口。

本部分起草单位：泰尔茂医疗产品(杭州)有限公司、施洁医疗技术(上海)有限公司、广州阳普医疗科技股份有限公司、国家食品药品监督管理局广州医疗器械质量监督检验中心。

本部分主要起草人：林玉清、翁辉、徐海英、苗晓琳、周志龙、贾永前、龚耀仁。

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

1 范围

YY/T 1302的本部分规定了环氧乙烷灭菌微生物方面的过程定义、确认、过程有效性维护等。

本部分适用于医疗器械及其他相关产品或材料的环氧乙烷灭菌过程，为环氧乙烷(EO)灭菌过程的开发和确认中的各种微生物方面问题提供了解决方法。本部分还为采用ISO 11135-1：2007和ISO/TS 11135-2：2008标准的医疗器械制造商(包括使用外包灭菌工厂或外包灭菌操作的制造商)提供额外的应用指南。

YY/T 1302的本部分未包括可能对产品生物负载和灭菌过程有影响的各个因素。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 19974—2005 医疗保健产品灭菌 灭菌因子的特性及医疗器械灭菌工艺的设定、确认和常规控制的通用要求

ISO 11135-1：2007 医疗保健产品的灭菌 环氧乙烷 第1部分：医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求(Sterilization of health care products—Ethylene oxide—Part 1：Requirements for development，validation and routine control of a sterilization process for medical devices)

ISO/TS 11135-2：2008 医疗保健产品的灭菌 环氧乙烷 第2部分：ISO 11135-1：2007使用指南(Sterilization of health care products—Ethylene oxide—Part 2：Guidance on the application of ISO 11135-1)

ISO 11138-1：2006 医疗保健产品灭菌 生物指示物 第1部分：通则(Sterilization of health care products—Biological indicators—Part 1：General requirements)

ISO 11138-2：2006 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(Sterilization of health care products—Biological indicators—Part 2：Biological indicators for ethylene oxide sterilization processes)

ISO 11737-1：2006 医疗器械的灭菌 微生物学方法 第1部分：产品上微生物总数的估计(Sterilization of medical devices—Microbiological methods—Part 1：Determination of a population of microorganisms on products)

ISO 11737-2：2009 医疗器械的灭菌 微生物学方法 第2部分：确认灭菌的无菌试验(Sterilization of medical devices—Microbiological methods—Part 2：Tests of sterility performed in the definition，validation and maintenance of a sterilization process)

ISO 14161：2009 医疗保健产品灭菌 生物指示物选择、使用及检验结果判断指南(Sterilization of health care products—Biological indicators—Guidance for the selection，use and interpretation of results)

3 术语和定义

ISO 11135-1:2007 和 ISO 11135-2:2008 中界定的术语和定义以及下列术语和定义均适用于本文件。

3.1

受损组织 compromised tissue

有意或意外地打开、暴露或损伤的皮肤或黏膜。

3.2

染菌载体 inoculated carrier

在其表面或内部接种规定数量测试菌的支持性材料。

4 过程定义

4.1 过程定义考虑事项

4.1.1 概述

过程定义的目的是为灭菌过程建立具体规范用于指定产品的性能鉴定(PQ)。若常规处理有额外的放行要求,过程定义对规定用参数放行的新产品和新灭菌周期尤为重要。周期开发方法的选择基于多种因素,包括产品生物负载的性质、包装、生产条件、灭菌设备和成本。通常通过生物指示物(BI)/生物负载法(过度灭杀法)或其他已确认方法,以开发达到产品要求的无菌保证水平(SAL)所需的参数。

4.1.2 环氧乙烷暴露参数

利用周期开发信息并考虑所涉及产品的 SAL 以计算获得环氧乙烷周期暴露参数。公认的 SAL 包括:

a) 接触受损组织或者身体无菌部位的产品,SAL 为 10^{-6};

b) 不接触受损组织或身体无菌部位的产品,SAL 为 10^{-3}。

注:通常标记"无菌"的产品的 SAL 为 10^{-6}。不同国家对于标记为"无菌"的产品的 SAL 要求可能会不同。

多无菌保证水平要求的产品——有些产品含有不同预期用途的部件或组件。在器械包中,用于未受损皮肤或黏膜或预期不与患者接触的部件,与预期与内部组织、神经系统或血液接触的部件相比,有不同的 SAL 要求。基于器械的预期用途,灭菌过程对于每个组件都应达到要求的杀灭率。

4.1.3 产品包装

产品包装应是透气的、并能耐受抽真空/压力上升变化以及抽真空/压力上升速率。

4.1.4 过程开发方法

若产品在受控环境下生产且生物负载数量持续较低,用于识别灭菌参数的过程开发方法可以是生物负载/生物指示物法,但需了解产品上的不同微生物种类。

4.1.5 过程开发研究取样考虑事项

研究开始前,过程开发研究应考虑以下两个因素:

a) 确定使用方法:部分阴性法或直接计数法。若采用部分阴性法获取数据,建议每个测试周期使用 20 个样品。若采用直接计数法获取数据,应至少使用 5 个样品。详见 ISO 11138-1:2006。

若过程开发在较大的生产型灭菌柜内实施，作为微生物性能鉴定的一部分，则实际使用的样品数量应大于 ISO 11138-1:2006 或 ISO 11135-1:2007 的附录 C 所要求的数量。

b) 测试样品放置位置。若微小变化对数据分析是关键的，则所有样品都应放置在灭菌柜的特定位置，该位置经证实为“最冷点”且通常反映测试样品在装载中放置的“最恶劣情况”(见 4.1.6.1)。生物指示物样品位置选择参考表 1。

若研究是作为灭菌柜初始微生物性能鉴定的一部分，则测试样品应分布于整个柜室，以了解装载对 PCD 灭菌的潜在影响，或者，除了为灭菌产品建立灭菌参数而进行预期的部分暴露以外，还应进行独立的微生物性能鉴定研究。

注：当样品要求已明确时，应考虑是否将部分周期作为微生物性能鉴定周期。这些研究用于显示整个生产型灭菌器可达到的杀灭率，因而建议使用特定样品数量。根据 ISO 11135-1:2006 标准，样品数量应基于生产型灭菌柜的容积进行确定。

4.1.6 试验型或生产型灭菌柜中采用的生物计数法和部分阴性法

4.1.6.1 计数法或部分阴性法

选择方法前，建议查阅 4.2。

表 1 生物指示物(BI)样品位置选择

灭菌柜类型	灭菌柜内 BI 样品的位置	建议
试验型/研究型灭菌柜	单一位置或者遍布于整个装载	将数据转换至生产型灭菌柜可能存在问题。但是，小型试验柜对过程参数的可控性比大型灭菌柜好，更容易获得生物指示物/生物负载法或过度灭杀法的部分暴露结果(短周期)。本表所列其余位置选择指南也同样适用于试验型灭菌柜中的位置选择。若使用单一位置，该位置杀灭率增强的可能性较小
生产型灭菌柜	单一位置-选定的位置	应尽可能使用装载温度/湿度分布数据以助于样品位置的选择。基于装载的几何结构以及组成对整个装载的温度/湿度渗透性的潜在影响选择该位置，该位置由灭菌专家判定，可代表整个装载。所有无菌测试样品放置于某一选定位置可抵消装载中不同位置的温度/湿度变化。为确定该位置是否代表整个装载，可要求进行额外的杀灭率研究
生产型灭菌柜	单一位置-对于可达到的杀灭率，装载中最坏情况的位置	该位置位于生产型灭菌柜内，所有生物指示物位于装载中的单一位置，该位置已被证实代表最难达到灭菌的位置。存活曲线应在灭菌器内具有最小杀灭率的区域中获得。微生物和/或参数分布数据可用于该位置的选择
生产型灭菌柜	分布于整个装载	该位置位于生产型灭菌柜内，生物指示物分布于整个确认装载。将生物指示物分布于整个灭菌柜能获得代表整个装在杀灭率的存活曲线
注：在生产型大小的灭菌器内进行开发研究，可能因测试周期灭菌剂注入和去除阶段产生的杀灭率，从而导致 D 值和暴露时间计算不准确，见 4.3 疑难解答。		

4.1.6.2 确定试验柜和生产柜之间的关系

由于灭菌柜大小和柜室内环氧乙烷注入/排除所需时间的原因，在生产型灭菌柜中并非总能获得微

生物灭活曲线。长时间注入和排除限制了获取指示物的微生物所需的部分复活能力。这些灭活曲线可以在试验型柜室中开发，该试验型柜可以传递生产型灭菌柜使用的等同参数。为证明在试验型灭菌柜和生产型灭菌柜中所获取的数据之间的关系，建议采用物理属性比较和/或密度比较的方法。试验型灭菌柜中的灭菌条件应与生产型灭菌柜中获取的物理属性进行比较。

若使用小型试验柜建立产品生物负载抗力、放置在产品样品中或者模拟产品中合适的生物指示物与使用的外部 PCD 之间的关系，将试验样品置于常规包装和最终包装箱配置中，以了解过程对包装箱内产品的影响。因为 EO 注入和后抽真空时间很短，有助于 BI/IPCD 与待用于常规监测 EPCD 之间的适宜性比较。由于常规产品托盘装载的多层渗透会影响最终杀灭率，要达到试验柜中所获得的相同杀灭率耗时更长。因而，试验型灭菌柜中开发的所有参数应在生产型设备中加以确定以作为确认过程的一部分。

此外，试验型装载容积与试验型柜可用容积的比值应代表用于生产型柜中的装载容积与生产型柜容积的比值。试验型和生产型装载之间的比较应基于装载的等同性，不仅在重量/体积比上等同，还应在产品和装载配置对灭菌过程所表现的挑战性上等同。

4.1.6.3 参数

可以通过比较以下因素确定在试验型和生产型两种灭菌柜中实施的研究之间的关系：

a) 预处理室内温度设定值和范围(若采用)；
b) 预处理室内相对湿度设定值和范围(若采用)；
c) 预处理时间；
d) 灭菌柜内温度设定值和范围；
e) 灭菌柜内相对湿度设定值和范围；
f) 灭菌柜内气体浓度设定值和范围(若在试验型灭菌柜内有气体分析仪器)；
g) 所采用的灭菌剂(气体混合物)(即：所有气体的体积分数)；
h) 气体驻留时间；
i) 真空压力/转移深度和速率；
j) 微生物杀灭率；
k) 解析室内温度设定值和范围(若采用)；
l) 装载内温度和相对湿度范围。

通常认为装载中温度最低的位置或加热最慢的位置是最恶劣或最难灭菌的位置。对于生产型柜，若已知上述条件和位置，应在试验型柜中进行模拟。

4.2 过程定义方法

4.2.1 概述

过程定义是指实施研究以确定灭菌过程的参数，这些参数在不影响产品功能、产品安全性或包装完整性的情况下提供所要求的无菌保证水平(SAL)。上述研究可在小型开发型柜或大型生产型柜内进行。在周期开发过程中小型研究型柜具有以下优势：

a) 快速进气；
b) 快速排气；
c) 较好的温度和气体浓度均匀性；
d) 检测样品易取回。

若仅可使用大型灭菌柜获取数据，且零驻留时间无微生物存活，应考虑不同的周期参数。

产品设计和包装可影响微生物杀灭的速率。因此，周期开发和确认过程中的研究应包括用于常规

生产的代表最终产品设计的产品。

用于开发有效的 EO 灭菌周期的常用方法包括生物指示物/生物负载法和过度灭杀法。过度灭杀法包括半周期法和周期计算法。也可采用其他方法，如完全生物负载法。

PCD 可用于周期开发的过度灭杀法和生物指示物/生物负载法。参见 4.4。

4.2.2 评估周期杀灭率的方法

4.2.2.1 概述

估算或计算周期杀灭率的两种常用方法如 ISO 11135-1:2007 中所述为：直接计数法和部分阴性法。有关建立 D 值方法，参见标准 ISO 14161:2009 和 GB/T 19974—2005。

注：周期结束后，应尽快取回 BI 和产品样品。一旦样品取回，即按确认过的方法进行生物试验。

4.2.2.2 直接计数法

存活曲线法或直接计数法包括将染菌的 PCD 作用于递增的 EO 暴露时间、将 BI 从 PCD 中取出、计算(计数)每个 BI 上的存活微生物数量。同 ISO 11135-1:2007 附录 A 所述，该方法可获得存活微生物数量用于建立存活曲线。

通常微生物杀灭率遵守一级动力学规律，当灭菌条件(即：过程温度、RH 和 EO 浓度)在驻留时间阶段内保持在规格范围内时，该杀灭率在半对数曲线图上接近为一条直线。利用存活菌对数与相应的气体暴露时间的回归分析，通过相关技术可建立存活曲线(图 1 和图 2)。然后，利用回归直线的斜率估算 PCD 的微生物菌量的 SLR(即：微生物菌量降低 90%或 1 个对数值所需的时间)。

注：在给定的一组条件下，PCD 的 SLR 为一特定值。多个变量，如产品大小和复杂性、灭菌器大小以及装载配置，均可影响常规灭菌过程中的热、湿气和 EO 的渗透性。

4.2.2.3 部分阴性法

部分阴性分析法是指在运行灭菌周期过程中，部分而非所有生物指示物被灭活。包括 HSK、有限 HSK 以及 SMC 法。

通常，上述 3 种计算方法可以估算与指定灭菌过程相关的 D 值，以用于确定常规灭菌过程中适宜的 EO 暴露时间。

若在试验型/研究型柜内实施这些研究，由于试验型/研究型柜与生产型柜在装载体积、托盘配置、密度以及灭菌柜性能特征方面的不同，达到相同杀灭程度所需的实际生产暴露时间会有所不同。应实施“全灭杀”的部分周期以确定灭菌过程的 BI 存活曲线未发生严重拖尾现象。

4.2.3 生物指示物/生物负载法

生物指示物/生物负载法是指利用 BI 菌量反映产品生物负载总数。BI 所含有的菌量等于生物负载平均值加上 3 个标准偏差，以用于建立达到期望的 SAL 所需的参数。应注意 BI 的菌量不小于 10^3。

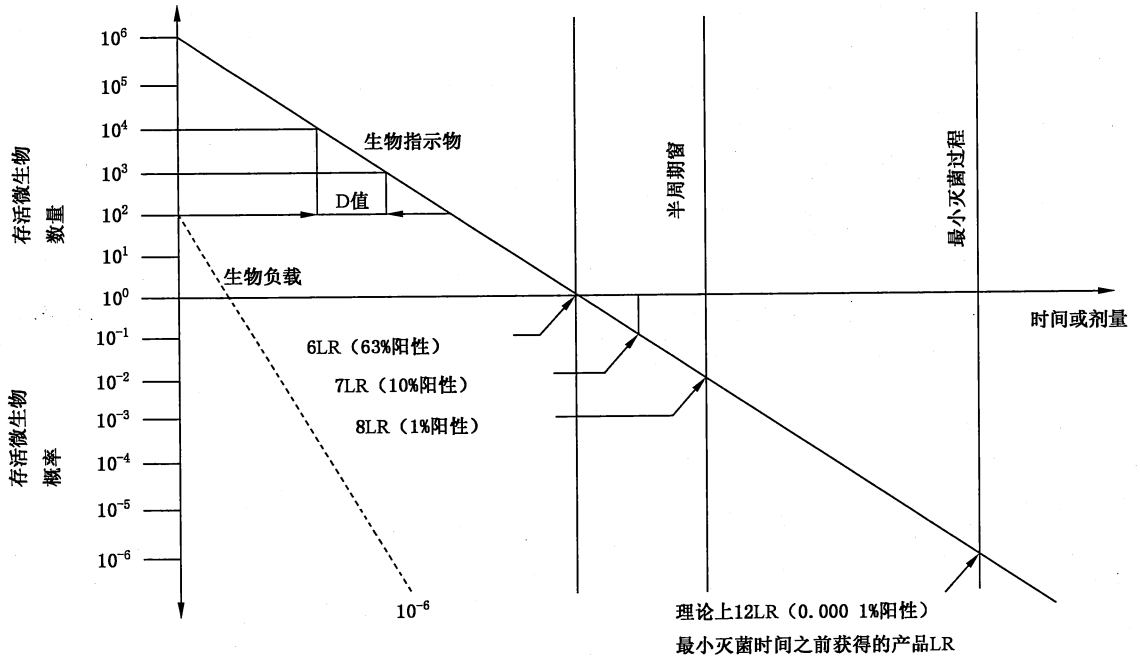
实施生物指示物/生物负载法需考虑将生物指示物置于产品和装载中对灭菌过程最具挑战性的位置。只有在数据充分能进行有效的统计分析，且生物负载数据代表了“最恶劣”的条件，具有高置信度水平时，该方法才适用。

还应注意的是，生物负载的类型和数量应始终保持一致，且有数据证实用于设定灭菌周期的信息反映最恶劣的灭菌挑战。

产品上生物负载的测定方法应经过确认，且应在该方法确认过程中规定选择生物负载样品的方法。

生物负载的类型和数量应始终保持一致，且有数据证实用于设定灭菌周期的信息反映最恶劣的灭菌挑战。产品上生物负载的测定方法应经过确认，且应在该方法确认过程中规定选择生物负载样品的方法。

若常规测试产品生物负载且菌数低时，则可以采用生物指示物/生物负载结合法用于周期开发。该方法基于以下假设：生物负载的抗力小于或等于生物指示物的抗力。周期杀灭率应通过直接计数法或部分阴性法构建存活曲线确定。利用 BI 在部分周期中全部灭活，或者产品生物负载在部分周期中灭活（此时生物指示物显示部分存活），然后基于可能的最大生物负载和已证实的 SLR 计算 SAL 值，实施微生物性能鉴定（MPQ），见图 1。



注：本图的目的是为显示暴露条件（时间、温度和 EO 浓度）是高度受控的稳定条件，可能不适用于暴露阶段记录的过程灭菌柜条件。

图 1　利用生物指示物/生物负载法确定生物指示物和产品生物负载之间关系的示例

不同生物负载数量、生物指示物数量以及所要求的无菌保证水平的不同组合的举例见表 2。

表 2　用于过程定义的生物指示物/生物负载的多种组合

用于要求 SAL 为 10^{-6} 的产品				
最大生物负载	BI 菌量	BI 数量	BI 的 SLR	产品的 SAL
≤1 000	10^7	100	≥9	≤10^{-6}
≤100	10^6	100	≥8	≤10^{-6}
≤10	10^5	100	≥7	≤10^{-6}
≤1	10^4	100	≥6	≤10^{-6}
用于要求 SAL 为 10^{-3} 的产品				
最大生物负载	BI 菌量	BI 数量	BI 的 SLR	产品的 SAL
≤10 000	10^5	100	≥7	≤10^{-3}
≤1 000	10^4	100	≥6	≤10^{-3}
≤100	10^3	100	≥5	≤10^{-3}
≤10	10^2	100	≥4	≤10^{-3}

示例：若某一产品有生物负载量为 100 CFU，则 BI 的 8 SLR 将产生 10^{-6} 的 SAL（见图 1）。

4.2.4 过度灭杀法

4.2.4.1 半周期法

因其相对容易使用并可达到无菌保证水平(SAL),医疗器械制造商普遍使用过度灭杀法。该方法证明半周期暴露时间下,含有10^6菌量的BI可获得大于6 SLR。无阳性结果时,该过程理论上可产生小于10^0存活微生物。当暴露时间翻倍时,在EO暴露过程中可产生大于12SLR(或12D过程)的结果(见图2)。

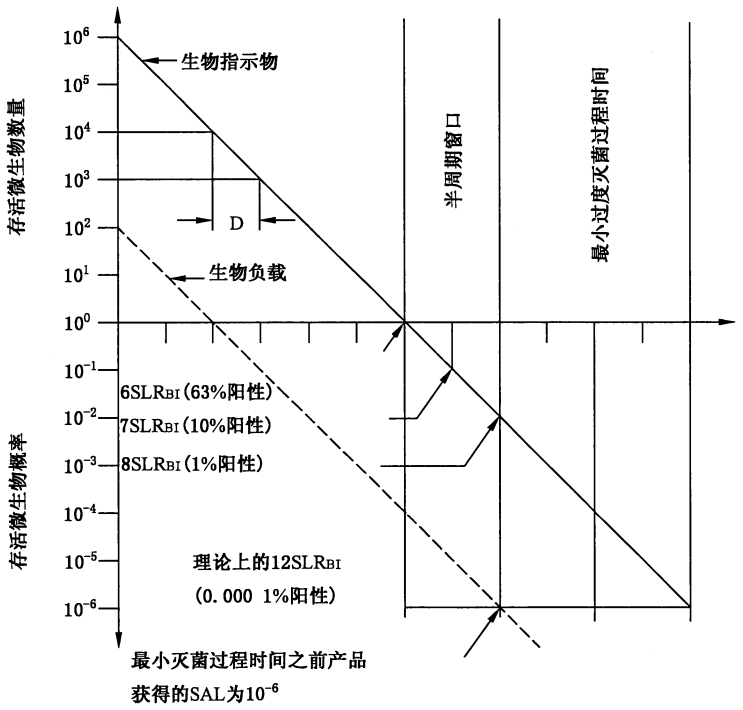


图2 过度杀灭法举例

使用过度灭杀法时,制造商应证实微生物挑战测试系统的抗力大于或等于产品生物负载的抗力。这可在用于确定周期参数的部分周期或确认过程中得以证实,但应有一方法来了解与被灭菌产品相关的BI的适宜性。为获取抗力比较数据进行的部分研究无需像在使用周期开发的生物指示物/生物负载结合法或完全生物负载法时那样频繁或大量实施,但要确保灭菌周期能够达到目标SAL。

应评估产品组件、包装、生产方法或环境的变化对产品生物负载及其抗力的影响。

过度灭杀周期包括使用置于产品内部的菌量为10^6的BI。该过程应使BI样品达到无菌。可实施两次该过程以达到12SLR,或者利用该过程获得的数据计算达到期望的SAL的暴露时间。

在EO暴露过程中使用稀释气体控制灭菌柜压力时,有必要考虑装载周围顶空内连续降低的EO气体平均浓度所产生的影响。

4.2.4.2 周期计算法

使用ISO 11135-1:2007 A.3描述的方法之一建立生物指示物芽孢对数下降值至少为12SLR的常规处理参数。进行这些研究时,应考虑以下事项:

a) 应在过程温度、湿度和EO气体平均浓度小于或等于拟定下限条件下实施所有试验周期,以建立生产参数最低值,从而确保可接受的杀灭率。

b) 需考虑增加暴露时间以补偿灭菌剂的注入和排除时间。例如,将灭菌剂注入和排除的一半时

间作为估算的等效暴露时间。若采用，应包括氮气覆盖层注入时间。

c) 若采用计数法，其中应有一个周期获得的存活菌量少于 1×10^{1}，以确保不会发生拖尾现象。应建立并符合对数下降的线性相关统计范围。

d) 应确定并证实计算得到的 12SLR 暴露时间在有生产装载的生产型灭菌柜中具有重复性，这可通过运行计算得到的 9SLR 暴露时间的灭菌周期得以实现，在该周期中，适当数量已鉴定的 PCD 中含有的生物指示物达到无菌。

4.2.5 其他方法——周期开发的完全生物负载法

4.2.5.1 概述

由于开发和维护灭菌周期需要大量的微生物学方面的工作，完全生物负载法在 EO 灭菌中使用相对较少。但在以下两种情况下，该方法可能是最佳选择：

a) 当产品生物负载产生的 EO 抗力水平比 PCD 高时（由于高生物负载量、高固有 EO 抗力、微生物在产品上的位置等因素或上述因素的组合）；

b) 当产品生物负载产生的 EO 抗力水平比 PCD 低（由于生物负载量较低且相对稳定），确认周期允许使用优化的产品周期时。

若使用微生物特性及抗力水平的相关信息建立灭菌过程，则完全生物负载法要求对环境和过程进行控制以保持稳定的生产过程。该方法还要求对生物负载回收法进行确认并定期实施部分暴露周期（建议每季度一次），根据书面程序确保灭菌过程的持续有效性。周期选择的准则包括将挑战降低到 10^{-1} 以下水平，并基于产品所要求达到的 SAL 加上额外的安全系数。选择周期暴露时间的准则见4.2.4.2。

定期监测生物负载，以发现可能对生物负载抗力或数量有显著影响的产品组件、生产环境或生产工艺的变化。另外，由于生产场所之间的微生物类型和数量的差异，研究还应包括每个生产场所的代表性产品。同时应建立限度，以记录可能影响灭菌过程的微小偏差。若微生物数量逐渐增加和类型发生变化，表明过程失去控制，应实施调查并保持记录，采取符合工厂质量体系的纠正措施。更多信息请参考 ISO 11737-1:2006。

对于参数放行，不推荐采用完全生物负载法。

4.2.5.2 生物负载分离法

在该方法中，将代表性产品样品暴露于递增周期。采用 ISO 11135-1:2007 A.3 所述的直接计数法或部分阴性法开发灭活曲线，该曲线可确定达到规定的 SAL 所必需的周期参数。

4.2.5.3 产品样品法

实施完全生物负载法也可使用含有生物负载的产品样品作为生物指示物。在该方法中，利用已知生物负载的产品样品而非生物指示物实施 ISO 11135-1:2007 A.3 所述的直接计数法或部分阴性法。若采用本方法，应注意以下事项：

a) 确定使用的样品生物负载应通过测试所用产品批次的代表性样品。

b) 所用产品样品应从常规生产批次中抽取，以确保其确实具有代表性。

c) 当计算生产周期暴露时间时，应考虑灭菌剂注入和排除过程中产生的杀灭率。

d) 温度、湿度和气体浓度的测试循环参数应等于或低于推荐的产品循环最小参数值。

e) 生物负载微生物的繁殖可能导致 EO 抗力降低，相对于自然状态下的分离菌的原始抗力来说，导致最终过程的 SAL 减少。

4.3 灭菌过程定义疑难解答

4.3.1 概述

在无法获得全部阳性结果、全部阴性结果和/或线性斜率的情况下，可采取如下措施。

4.3.2 获得全阳性结果

4.3.2.1 利用新过程获得全阳性结果的方法

若在EO驻留时间为零的研究中产生部分或全部杀灭率，该灭菌过程可能过于严酷，建议重新评估周期开发过程中的灭菌参数。可通过降低气体浓度或处理温度修改该灭菌过程，使用新的参数完成过程开发。在常规处理中可以实施更严酷的周期或研究中使用的周期，在该周期中，产品功能、包装功能和EO残留水平的要求均已满足，且已完成产品参数放行(若采用)适用的质量管理文件。

4.3.2.2 在现有周期中获得全阳性结果的方法

确定D值或SLR的HSK法要求有一个部分周期的所有样品获得全阳性结果。若为支持现有周期而实施过程开发，应意识到多数现有生产周期具有高度杀灭率，当在已批准的灭菌规格的极限条件下运行，即使气体暴露时间设定值已降到零，也可能很难获得全阳性结果。因此，当确定要对灭菌周期的控制限在已批准规格限制范围外作大幅度调整，以试图实现所有BI挑战装置的微生物生长时，通过以下步骤科学有效地达到此要求：

a) 缩短注入时间和/或排除时间。若采用，则研究中所有的周期应使用缩短的时间；
b) 在EO驻留开始时，对所有BI测试样品都将显示有菌生长进行技术分析，在测试方案中记录作出该结论的技术性理由。使用等效暴露时间(t)完成HSK计算(见ISO 11135-1:2007 A.3)。等效暴露时间等于一半的灭菌剂注入时间、氮气注入时间(若采用)、驻留时间和一半的灭菌剂排除时间。

4.3.3 在杀灭曲线上获得线性斜率

当无法获得线性斜率时，应采取以下措施：

a) 确定装载温度是否均匀分布且为灭菌的最佳温度。若不是，延长预处理和/或处理时间，必要时，提高灭菌过程的温度；
b) 确定装载湿度是否均匀分布且为灭菌的最佳湿度。若不是，增强预处理和/或湿度水平。确保不发生湿度过大和装载潮湿的情况；
c) 确定是否使用惰性气体控制柜室压力。若使用惰性气体，且装载具有显著的EO分子选择性吸附率，那么可能很难获得线性杀灭率曲线；
d) 若与产品和包装功能相容，增加气体浓度或气体停留时间；
e) 考虑注入和排除灭菌剂时产生的杀灭率。

上述步骤可能并不能解决问题。这可能是因产品装载中染菌产品的性质所致，但应证明染菌产品全部灭活以确保产品的SAL。同样，还应考虑对产品或其包装的审核，以确保两者均不是问题的原因所在。

4.3.4 获得全阴性结果

当无法消除阳性结果时，应评估以下作为潜在原因的情况：

a) 装载/样品加湿不完全或湿度较低；
b) 接种菌的分布（仅染菌产品）；

c) 灭菌柜的某些部分达到的条件不一致；
d) 整个装载温度分布不均衡；
e) 加湿过大(>90%)；
f) 产品设计；
g) 包装设计；
h) 不适当的过程参数。

若仍不能获得全阴性，应审核该过程，并应考虑提高温度和 EO 浓度或重新配置装载，从而更有助于灭菌剂的渗透。应谨慎操作以不影响灭菌产品或包装的完整性。

注：即使有严酷且完善的周期，在此周期的合理暴露时间内，器械设计也可能使产品最恶劣位置达不到全阴性结果。这种情况下，该产品可能需要重新设计，从而改善灭菌剂的渗透状况，或可能需要除 EO 灭菌法以外的其他灭菌方法。

4.4 过程挑战装置(PCD)

4.4.1 概述

过程挑战装置(PCD)为微生物挑战系统，用于评估选定的过程参数的杀灭率。通常 PCD 包含已知芽孢数量的萎缩芽孢杆菌(*Bacillus astrophaeus*)的生物指示物或另一种经证实对 EO 抗力大于或等于萎缩芽孢杆菌的微生物。

注：在 PCD 的设计中，应考虑如何放置染菌载体，该放置可能会增强或抑制 EO 或湿气的渗透。

在 ISO 11135-1:2007 的附录 A 和附录 B 中以及 ISO 11135-2:2009 中已广泛讨论了使用生物指示物的 PCD 和 PCD 鉴定的要求和指南。此外，具有生物负载的产品也可用作周期开发的完全生物负载方法的微生物挑战系统。测定生物负载时，应确认生物负载回收技术，以确定每个产品的微生物的数量和变异性。当生物负载抗力大于 BI 抗力时，建议使用该方法。

4.4.2 PCD 的类型

4.4.2.1 内部 PCD(IPCD)

内部过程挑战装置通常为由制造商选定的用于代表产品族的医疗产品或器械，通常，基于设计和材料组成，该产品被认为是较难灭菌的产品之一。在该产品最难灭菌的部位放置生物指示物，在灭菌过程中注意不要堵塞通道或影响产品设计。在 PCD 的开发中，可以在产品的不同位置放置 BI 或接种试验微生物，以确保当包装后的产品用于确认一产品族时，所选择的位置有试验数据支持。若 BI 或试验微生物不能放置在被确定为挑战位置的区域时，可使用两种方法满足此要求：

a) 利用各种试验微生物接种技术实施研究，以建立相对于已确定的对于灭菌过程具有显著挑战的较容易使用的不同位置的适宜性。两位置之间的杀灭率关系可用于证明易于放置位置的使用；
b) 设计一种替代放置于无菌屏障系统内已包装的挑战装置，该装置对产品样品内最难灭菌的位置具有同等抗力。

4.4.2.2 外部 PCD(EPCD)

EPCD 是指置于装载中产品外部的 PCD。通常 EPCD 用于常规处理过程以便处理后从装载上取回。应已知外部 PCD 对灭菌产品的生物负载和 IPCD 的抗力。EPCD 还应代表装载内最难灭菌的产品。

应定期审核 EPCD 与染菌产品样品之间的关系，以确定灭菌产品未发生改变，且 EPCD 仍代表装载内最难灭菌的产品。

4.4.3 PCD 的适宜性

选定 PCD 后，通过部分周期研究证明该选择的适宜性，该研究结果应显示 PCD 的抗力大于或等于产品最难灭菌位置的生物负载的抗力(见 ISO 11135-1:2007 的 8.6)。当产品用天然纤维和材料制造或含有湿度较大的生产过程时，上述研究尤其重要。

若这些研究显示产品生物负载的抗力大于预期使用的 PCD 抗力，可选择下述方法之一：

a) 开发一个与产品生物负载具有同等或更大抗力的新 PCD；

b) 灭菌前对产品进行前处理以减少生物负载的数量；

c) 对产品、过程或两者进行评估，以确定如何降低生物负载的数量或抗力（如：通过改变所用原材料或制造过程、通过改善制造环境或修改产品设计等)；

d) 使用完全生物负载法实施确认。若外部 PCD 抗力强于内部 PCD，在半周期确认研究中可能无需证明外部 PCD 全部被杀灭。若研究表明内部 PCD 置于“最难灭菌”的位置且内部 PCD 上未检出存活菌时，该方法是有效的。若在确认过程中要求抗力较大的外部 PCD 全部被灭活，获得的周期暴露时间将提供超出最低要求的额外安全系数。

注：当进行比较研究时，建议用于样品的生物指示物的批次和准备均相同，以降低不同批次 BI 之间抗力变化的影响。

4.4.4 PCD 举例

4.4.4.1 内部 PCD 举例

内部 PCD 包括但不限于：

a) 将染菌载体置于环形物、活塞头、垫圈或注射器活塞推杆之间的位置；

b) 将微生物挑战置于导管内腔的中间位置，然后使用黏合溶剂或连接器将导管重新连接以还原产品的完整性；

c) 将微生物挑战置于活塞接口的位置；

d) 高生物负载的天然材料，如未漂白的棉织品。

4.4.4.2 整个行业内使用的外部 PCD 举例

外部 PCD 包括但不限于：

a) 将生物指示物置于产品包装或同等物内，如：塑料袋，然后置于马尼拉文件袋内；

b) 将生物指示物置于折叠了规定次数的厚塑料袋中；

c) 将生物指示物置于注射器不同部位，如置于活塞的垫圈或活塞头内；

d) 含有染菌载体的密封塑料管，有或无额外包装。

注：若使用者更改了 BI 的包装，应重新评估对 BI 抗力的影响。

4.4.4.3 用于产品族的 PCD

PCD 可设计为代表整个产品族或处理组。PCD 示例如下：

a) 在由不同尺寸的注射器组成的产品族中，最具挑战的注射器可选作为 PCD；

b) 在由不同长度的导管组成的产品族中，最长的导管可选作 PCD；

c) 当处理器械包产品族时，应选择器械包中最难灭菌的部件或产品监测灭菌过程。例如：吸痰管器械包含有导管、纱布片、酒精擦和乳胶手套。染菌载体应置于其中一只手套的手指内或置于导管内，显示灭菌难度较大的任何一处。

注 1：当灭菌器装载含有一种以上的产品族时，应使用代表最具挑战性的产品族的 PCD 监测灭菌过程。

注 2：若使用者更改了生物指示物的包装，应重新评估对生物指示物抗力的影响。

5 确认

5.1 微生物性能鉴定(MPQ)

5.1.1 概述

通常,性能鉴定要求连续三次成功的确认周期,以证明第一次周期再现性。第一次成功的周期表示拟定周期的致死率可以达到。第二次成功的周期表示该周期可以成功地重复,第三次成功的周期证明该周期可以再现。性能鉴定应在生产型灭菌柜中运行,设定的参数同常规参数的下限或低于下限。通常,设定一个或多个过程变量同常规参数的下限或低于下限。IQ 和 OQ 测试完成后,通常才启动性能鉴定。若灭菌周期失败,需实施全面调查以确定失败的原因。若因机械或与灭菌柜相关的故障所导致的失败,应采取纠正措施并进行校准,若适用,重复运行该灭菌周期。若因灭菌过程不充分所导致的失败,应调整该过程,并进行重复鉴定直至完成连续三次成功的周期。

5.1.2 确认周期选择标准

审核产品设计、材料和包装后,选择适当的过程,选择的参数能灭活微生物,但不会对产品或包装的功能产生不利影响。若在规定的过程参数下限未证明灭菌周期的杀灭率,则在过程变量下限实施部分周期以证明低于已建立的规范下限的灭菌周期的有效性。在部分周期中,若无法调整灭菌前后的处理,可以缩短预处理时间,以获得 ISO 11135-1:2007 规定的最低装载温度。

5.1.3 PCD、测试样品和传感器的放置和处理

5.1.3.1 概述

灭菌专家或在环氧乙烷灭菌方面有经验的人应利用试运行信息以及专业的判断以评估 PCD、测试样品和传感器在确认研究中的放置方法。

测试样品应以代表从生产到灭菌的常规条件的方式准备和储存,并应置于产品包装箱或运输箱内,或方案中规定的其他方式。PCD 的数量和分布应充分,以证明灭菌过程能在整个灭菌柜装载中获得预期的灭菌条件。ISO 11135-1:2007 表 C.3 推荐了 PQ 中所需的最少 PCD 数量。若已选择的外部 PCD 用于常规监测,这些外部 PCD 应根据方案和程序的规定置于产品装载上。

注:若开发过程包括产品生物负载抗力研究,并已证实 PCD 的抗力等于或大于产品生物负载抗力,则无需进一步实施产品无菌测试。

5.1.3.2 周期监视设备

应使用安装鉴定(IQ)和操作鉴定(OQ)的信息确定温度和湿度传感器的放置位置,以便确认中包含最高和最低温度区域。应评估最低温度区域的微生物杀灭率和最高温度区域的产品和包装功能。温度和湿度传感器应置于含有 PCD 或测试样品的运输箱内,或者置于离 PCD 或测试样品尽可能近的位置。若在初次确认研究中识别出其他低温区域,随后的周期运行中可以包含这些区域,但在实际运行前,需更新方案中放置位置图以反映这些变化。

当产品灭菌地点与生产地点不同时,在确认过程中应考虑从生产到灭菌的时间间隔、温度、湿度、储存地点以及其他可能影响灭菌过程的因素。

5.1.3.3 产品处理、运输和测试

应建立程序,以确保在灭菌周期结束时,PCD 在装载中的时间不超过拟定的最小时间,该时间符合劳动者保护要求。采取该预防措施的原因是在灭菌周期结束到无菌试验开始过程中,经 EO 处理的芽

孢复苏率会随着时间延长而降低。若证明解析阶段可提供部分 SLR，最终确定灭菌过程的规范需包括解析时间和条件。

注：若可能，应设计确认周期，以便在灭菌过程的解析阶段产生的杀灭率不包含在达到所需 SAL 要求的时间内。BI 应在解析前从装载上取出。周期结束后，应尽快取出 BI 和测试样品。

样品在处理后需尽快（推荐 48 h 内）转移至实验室，应建立运送服务。样品运送要求应在确认方案和后处理说明中予以清晰概述。若样品测试未在标准操作规程中说明，应在方案中予以明确。

实验室接收时，产品和生物指示物应置于生长培养基中，按照制造商建议的温度和时间进行培养，除非有其他已确认的替代方法。

若试验过程中产品出现阳性，应实施失败调查。需考虑的事项在 6.1 中有说明。若无法确定原因，应重新评估确认周期的参数，若可能，适当地修改参数。若识别出确定的原因，根据方案或内部质量体系要求，重复测试在确认周期中暴露过的样品。若在特定确认周期中无法获得额外的样品，可以使用新的测试样品重复此周期。

注：在确认过程中，应实施抑细菌-抑真菌试验以评估并记录产品的 EO 吸附量对无菌测试样品的影响。

产品阳性对照应结合实际情况，经历与装载相同的条件，经过所有阶段，包括灭菌阶段。

5.2 灭菌装载

5.2.1 概述

微生物性能鉴定研究中使用的灭菌装载应代表待灭菌的产品。代表性装载可以包括实际产品，或者，还可以包括填充物或模拟产品（有文件证明其适当性）。应考虑模拟装载配置和密度，以保证产生的数据能反映待灭菌的产品，或比待灭菌的产品具有更大挑战性。

5.2.2 包装

性能鉴定应使用常规产品包装，包括二级和/或三级包装。

5.2.3 满装载和部分装载

若在待鉴定的柜室内灭菌满装载，则在微生物性能鉴定过程中应使用满装载。若待灭菌的是较小的产品装载，因可能产生气体分层和温度差异，应考虑小装载对微生物鉴定的影响，并应确定最恶劣装载配置。可以采用以下两种方法或其一进行确定：

a) 最恶劣装载配置可以根据之前形成文件的研究进行选择；

b) 最恶劣装载配置可以根据灭菌专家的技术判断确定并形成文件。

当无法提前确定最恶劣装载时，建议在最大规定装载配置下至少进行三次研究。另外，在最低装载配置下再实施一个额外周期，以证实此装载配置不会对过程杀灭率造成影响。常规的再鉴定研究应反映最恶劣情况。

注：在某些情况下，最小装载可证实为最恶劣装载。

在研究过程中，若产品装载有显著的温度差异并伴随 PCD 失败，应考虑改变托盘配置。托盘中设置开口或气体通道将减少温度差异，同时还可以改善湿度和气体的穿透性。

若常规灭菌采用托盘缠绕膜，确认过程应保证使用相同材料的缠绕膜。缠绕膜在材料组成上有很大差异时，应评估灭菌剂对该缠绕膜的渗透性、透湿性、厚度等影响。

5.2.4 混合装载

当对具有不同装载配置的产品族进行性能鉴定时，在性能鉴定中应考虑装载差异的影响。装载配置差异包括但不限于：放置在托盘上的纸箱数量、纸箱在托盘上的排布、装载在托盘上的产品密度以及托盘上纸箱的缠绕膜。在微生物性能鉴定中，可通过以下几种方式处理此类装载配置的差异：

a) 根据之前形成文件的研究选择整个产品族最恶劣的装载配置；
b) 根据环氧乙烷灭菌专家的技术判定(理论依据应形成文件)确定最恶劣的装载配置可；
c) 当无法提前识别最恶劣的装载时，在微生物性能鉴定研究中建议使用的装载配置能代表所有装载配置。

5.2.5 装载的重复使用

在微生物性能鉴定研究中，当重复使用灭菌装载（产品、填充物或模拟产品)时，装载的充分解析很重要。

产品装载经过多次使用后，受湿度和气体渗入的影响，从而影响包装对灭菌过程物理条件的响应能力。在装载多次使用后，应考虑重新包装，以确保确认研究不会受到不利影响。

5.3 模拟预期过程条件

应考虑一年当中最冷或最干燥的环境对 EO 灭菌的影响，参考 YY/T 1302.1。

5.4 确认装载的放行

若满足了以下要求，用于确认研究的产品装载可以放行给客户使用：

a) 若适用，此类产品的生物负载水平在正常限制范围内；
b) 已经成功获得确认过程参数；
c) 部分气体暴露周期成功完成后，装载已在全周期中经过再次灭菌；
d) 全周期的灭菌参数合格；
e) 部分周期和全周期过程的无菌试验满足方案中确认要求和最终产品放行的要求；
f) 经过全周期暴露后，产品和包装满足最终的功能和包装完整性测试的所有要求；
g) 已满足所有质量及法规要求；
h) 灭菌后，EO 残留水平未超出要求；
i) 满足所有标签声称的要求。

5.5 小批量放行

若由于小量生产或新产品开发，仅有足够的产品生产用于完成一次灭菌装载，那么，可以根据方案的要求进行以下确认：

a) 从批量产品中随机抽取样品进行生物负载测试，以测定产品上微生物的数量；
b) 对成品进行评估并记录结果，以确定该产品是否可置于现有产品族内用于试验。其中，需要考虑的问题有：产品组成、包装、设计、生物负载水平和托盘密度。若无法将产品置于现有产品族中，则：
   1) 将灭菌装载暴露于规定的最小过程参数下的部分气体暴露周期中，经估计该参数可达到 $<10^{-1}$ 的 SAL(见 4.1)；
   2) 取出 PCD 和产品样品用于无菌试验；
   3) 使用新的 PCD 对装载进行重新灭菌，增加一个灭菌周期的时间，该时间至少为部分周期长度的 2 倍。

若所有 PCD 和产品无菌试验结果呈阴性，两次周期研究的运行记录均合格、产品功能和包装完整性测试通过、EO 残留水平限度内、所有测试都已完成并满足标签声称的要求，则根据 5.4 中所述要求和制造商质量体系要求，该产品装载本身可以放行分销。

应满足其余的确认要求，且应记录开发确认周期标准的原理，以确保能获得并使用历史信息，若适用，可用于证明产品等效、周期等效或两者均适用。

6 过程有效性维护

6.1 失败调查

6.1.1 概述

若因生物学失败，确认研究未满足已建立的要求，应进行失败调查并保持记录。失败调查应集中于失败周期和之前成功周期之间的潜在差异(变化)。需考虑的问题包括但不限于以下几点：

6.1.2 灭菌过程或设备问题

6.1.2.1 潜在过程差异

潜在过程差异包括但不限于：

a) 处理之前装载所处物理环境是否发生变化(如：预处理之前的装载温度)；
b) 预处理、处理或暴露过程中，所记录的过程参数是否发生显著变化；
c) EO 储存区域的环境是否发生显著变化；
d) 蒸气供应来源或纯度是否发生显著变化；
e) 参与该过程的所有关键人员是否经过适当培训。

6.1.2.2 潜在设备差异

潜在设备差异包括但不限于：

a) 灭菌柜是否被改造；
b) 监测设备或过程设备是否发生变化；
c) 最近是否实施预防性维护和校准；
d) 过程区域或扣留区域是否进行过施工。

6.1.2.3 潜在过程设施差异

潜在过程设施差异包括但不限于：

a) 关键设施是否发生变化(水、空气、压缩空气)；
b) EO 或惰性气体规格或供应商是否变化。

6.1.3 产品问题

6.1.3.1 产品设计或材料

产品设计或材料问题包括但不限于：

a) 产品设计是否改变(原材料、尺寸、配置)；
b) 包装是否变化；
c) 装载配置是否变化；
d) 关键原材料供应商是否变化；
e) 生产工艺或场所是否变化(如：手动和自动组装之间的变化)。

6.1.3.2 产品生物负载

产品生物负载问题包括但不限于：

a) 生物负载水平是否发生显著变化；

b) 生物负载微生物菌群是否变化；
c) 卫生规范是否变化。

6.1.4 微生物试验问题

6.1.4.1 测试实验室

测试实验室问题包括但不限于：
a) 从微生物控制的角度，PCD 准备区域的条件是否适当；
b) BI 和/或 PCD 是否由相同员工以同样的方式进行处理；
c) 用于准备和测试 PCD 的程序是否与规定相同；
d) 是否有新员工参与，是否经过培训；
e) 最近整个实验室是否进行设备的预防性维护和校准；
f) 测试区域的环境是否发生物理或微生物方面变化，是否发生微生物方面的偏差，是否超出已建立的限制范围；
g) BI 在接收、质量控制检查、储存和使用过程中，处理和储存方式是否有差异。

6.1.4.2 生物指示物(BI)

6.1.4.2.1 生物指示物问题

生物指示物问题包括但不限于：
a) BI 或包装材料是否来自不同批次或供应商；
b) BI 在使用时是否在有效期内(即：未超过制造商规定的有效期)；
c) BI 和 PCD 准备是否以相同的方式完成；
d) 在运输、EO 处理和灭菌后处理之前、期间和之后，样品是否在规定条件下储存；
e) BI 阳性和阴性对照是否合格。

6.1.4.2.2 解决方案

若可以明确指明原因，如人为失误或设备故障，且发现该原因为独立事件，重复该周期是可以接受的。若无法明确指明原因，建议实施部分周期以验证周期参数，必要时，可调整周期参数，同时建议重复进行确认，直到成功完成连续三次的周期。

6.2 再鉴定

6.2.1 再鉴定的主要事项

定期进行再鉴定可能只包括由灭菌专家实施的对所有适用过程进行的有记录的审核，以验证未发生影响过程的变化。应使用专业的判断评估再确认，该确认包括但不限于验证以下事项：
a) 产品设计、制造和包装材料、PCD、供应商、制造区域或设施、或制造过程未发生可能影响产品无菌的变化；
b) 产品生物负载是否显著上升，或生物负载特性是否变化，这些可能会导致获得的 SAL 失效；
c) 热分布和灭菌柜运行研究证明在过去一年中未发生变化；
d) 温度分布和再循环检查表明预处理柜室或预处理房间或解析区域内在过去一年中未发生变化；
e) 自上次确认以来的灭菌过程历史记录证明过程具有可重复性；
f) 变更控制和预防性维护程序表明灭菌设备没有发生可能影响过程的改造或变更；

g) 灭菌过程未发生可能影响产品无菌的变更；
h) 生物环境监视表明微生物菌落类型或数量未发生显著变化；
i) 校准程序有效运行。

6.2.2 再鉴定的周期和方式

建议至少每两年实施一次再确认研究，以验证形成记录的文件审核已发现灭菌过程中所有的疑点。该审核还应证明产品生物负载的抗力未增强到使 PCD 使用失效，或影响灭菌过程声明的 SAL。也可使用在开发型柜内实施的部分周期以支持再确认程序。对于参数放行，应每年实施一次再鉴定。

中华人民共和国医药
行业标准
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
YY/T 1302.2—2015
*
中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)
网址 www.spc.net.cn
总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销
*
开本 880×1230 1/16 印张 1.5 字数 36 千字
2015年9月第一版 2015年9月第一次印刷
*
书号:155066·2-28908 定价 29.00元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107

YY/T 1302.2-2015

打印日期:2015年10月2日 F009