

环氧乙烷灭菌过程确认及常见问题探讨

孔学礼,周红娇

(云南省药品和医疗器械审评中心,云南昆明 650101)

关键词 环氧乙烷;灭菌;过程确认

中图分类号:R187

文章编号:1001-7658(2022)07-0555-03

文献标识码:B

DOI:10.11726/j.issn.1001-7658.2022.07.023

环氧乙烷灭菌过程是终端灭菌型无菌医疗器械生产过程中的特殊过程,其涉及的灭菌过程和参数要严格的控制并经过确认,是无菌医疗器械生产过程中的难点,现对过程确认及常见问题进行如下探讨。

1 环氧乙烷灭菌原理及应用

环氧乙烷(以下简称 EO)的灭菌机制为,烷基化作用和抑制生物酶活性,在一定温度、压力和湿度条件下,环氧乙烷可与微生物蛋白质和核酸分子中的巯基(-SH)、羧基(-COOH)、氨基(-NH₃)、羟基(-OH)等基团发生烷基化反应,使其失去活性,从而杀灭微生物;EO 也能抑制微生物各种酶的活性,阻碍了微生物正常代谢,从而导致微生物死亡,达到灭菌的目的^[1]。

EO 属于低温广谱灭菌剂,具有穿透能力强,杀灭效率高,低温低湿,无辐射的优点,可以穿透纸质、大多数高分子材料的包装,灭菌后无需重新包装,不会破坏产品无菌状态,可用于大部分终端灭菌型无菌医疗器械的生产。EO 灭菌也有其缺点和局限性,EO 是易燃易爆气体,操作不当会引起安全事故;此外,其具有毒性,有刺激致敏性,长期接触可致畸、致癌^[2]。

2 过程确认

EO 灭菌过程是终端灭菌型无菌医疗器械生产过程中的特殊过程,其涉及的灭菌过程和参数需要严格的控制并经过确认。按照 GB18279.1—2015 标准要求,EO 灭菌确认包括安装鉴定、运行鉴定、性能鉴定三部分。

2.1 安装鉴定

安装鉴定的目的是确保环氧乙烷灭菌器的各个

组成部分按照设计初衷被准确安装。

2.1.1 安装鉴定准备 (1)收集设备供应商的法定资质,包括《营业执照》、生产许可证、注册证等法定许可文件,确认设备供应商为合法机构,设备已取得二类医疗器械注册证。(2)收集设备技术文件,如国家或行业标准、设备使用说明书、维护手册、电气机械安装图纸、产品技术要求及检验报告等,编制环氧乙烷灭菌器运行规范文件。(3)人员培训,参与确认人员应对 EO 的物理化学性能,环氧乙烷灭菌器的结构、运行、使用方面,安全生产和个人安全防护知识方面,医疗器械法规和标准方面,微生物学 and 环境保护方面全面掌握。相关操作人员应持证上岗。

2.1.2 安装确认工作 (1)安装环境:要求远离生活办公区、人员聚集区域,远离高温、有明火区域;环氧乙烷灭菌器摆放在平整整洁、防雨通风的空间内,通风不足的空间应安装防爆型排风设备,空间足够日常灭菌操作和设备检修;环境温湿度、大气压强符合设备说明书要求。(2)设备安装:设备电源应完全符合设备说明书要求的参数;进水进气,排水排气管道应连接完好,进水口一般应加装检修阀门与过滤器,进气口一般加装有 0.3 μm 滤芯的空气过滤器,接口密封无泄露无堵塞,排水管路和排气管路的铺设应保证排放废气及废水符合法规要求,管路标识清晰;加热系统、真空系统、加药及气化装置、残气处理系统、监测、控制系统均按照设备说明书正确安装。EO 气瓶应储存在阴凉、通风、远离火源、避光的房间内,具有防爆型通风照明设备,可加装 EO 浓度检测报警器。

2.2 运行鉴定

运行确认是为了证明已安装的设备能够在设定的公差范围内正常运行。^[3]应对灭菌器的各个组成部分逐一运行,确保正常运行,排除安全隐患和运行不正常的可能性。GB 18279.1—2015 标准规定“运

行确认可在空载设备中进行,或使用适当的材料”^[3],但笔者认为运行确认在满载待灭菌产品条件下进行是最恰当的,因为不同装载条件下,柜内传热传湿效率不同,空载确认的温湿度均匀性和预处理条件在满载时可能会失效。通常认为满载较空载要求更为严苛。该过程至少包括以下内容:

(1)温湿度传感器、压力计、计时器、称量设备等计量设备应被检定、校准,确认准确度合格,证书在有效期内。

(2)柜室泄漏测试,灭菌设备柜室的密封性是灭菌成功、安全生产的前提,因此应进行正负压保压泄漏测试,测试方法:抽真空至 -50 kPa ,加压至 $+50\text{ kPa}$,分别保压 60 min ,泄漏速率应 $\leq 0.01\text{ kPa/min}$ 。

(3)抽真空速率测试,从 0 kPa 抽真空至 -20 kPa 应 $\leq 10\text{ min}$ 。 0 kPa 抽真空至 -50 kPa 应 $\leq 30\text{ min}$,抽真空速率会影响生产效率。

(4)环氧乙烷、水蒸汽、空气(或氮气)的加入速率确认,应分别确认并符合设备说明书的要求。

(5)温度均匀性测试,温度传感器的数量至少为 3 个,同时满足每立方米产品体积使用 1 个温度传感器;温度传感器布放应平均分布在灭菌柜内并保证可能的温度冷点和热点均被覆盖(如柜内最难加热位置、柜门处或气体加入口附近)^[3]。画出布放图,对布放点进行评审并保存记录。

(6)湿度均匀性测试,湿度传感器的数量至少为 2 个,同时满足每 2.5 m^3 柜室使用一个湿度传感器,产品堆垛中央、边缘和表面均被覆盖^[3]。画出布放图,对布放点进行评审并保存记录。

(7)监测、控制系统确认:当温度湿度探头显示温度、湿度超出允许的偏差范围,报警系统应启动,操作人员通过控制系统能使运行参数恢复正常值。

(8)预处理时间确认,对柜室和装载产品进行预加热和加湿,确保灭菌过程的实际温湿度能达到预期值。记录设备参数和时间。

2.3 性能鉴定

性能确认包括物理性能确认和微生物性能确认。物理性能确认又包括灭菌柜物理性能和产品物理性能的确认。GB18279.1—2015 标准规定了生物指示物/生物负载法和过度杀灭法 2 种方法,基于方法的简易性和可操作性,本文对过度杀灭法中的半周期法进行阐述。

2.3.1 包材选择与装载方式 (1)包装材料的选择与评估,用于 EO 灭菌的包材应考虑 EO 的穿透能力和解析能力,同时应满足医疗器械包装完整性的要求。常用的内袋为纸塑袋,外箱为瓦楞纸箱。也

有用医用皱纹纸、无纺布、聚乙烯塑料袋等包装材料,不采用不透气的尼龙、聚氯乙烯、聚酯、各种金属箔、玻璃纸、聚丙烯等做包装材料^[4]。(2)装载方式:装载量和装载密度,会直接影响灭菌柜内的传热性和湿度、EO 分布。产品堆垛之间应留有足够的空间,能够使 EO、水蒸气和产品充分接触。满载灭菌,一般指装载量为灭菌柜体积的 80%。当装载方式发生变化时,应进行重新确认或评估灭菌效果和产品性能。GB 18279.2—2015 标准规定可装载与待灭菌产品相似的填充料或待灭菌产品进行性能确认,但装载填充料存在包装、装载密度与待灭菌产品不一致的问题,会导致两者在 EO 穿透能力、传热、传湿效率不一致,需重点关注。

2.3.2 微生物性能确认 (1)待灭菌产品的初始污染菌检测。按照 GB/T 19973.1—2019《微生物学方法第 1 部分:产品上微生物总数的测定》,目的是证明待灭菌产品的生物抗力小于生物挑战装置的生物抗力。(2)生物挑战装置的制作和布放。为达到 10^{-6} SAL 的无菌保证水平,生物挑战装置一般用具有较强生物抗力的生物负载 $1.0 \times 10^6\text{ cfu/片}$ 以上的枯草杆菌黑色变种芽孢制作。将微生物接种于待灭菌产品上或将菌片直接放置于最难灭菌位置。如待灭菌产品为注射器,应将菌片放置在注射器管内,塞好活塞,内包封口,并将该装置放置于包装箱中部。生物挑战装置的数量要求, 10 m^3 以下的灭菌柜,3 个/ m^3 ,至少为 5 个; 10 m^3 以上,每增加 1 m^3 增加 1 个生物挑战装置。^[3]生物挑战装置均匀分布于灭菌柜内,兼顾柜内温度湿度最高点和最低点,预期最难灭菌的位置。(3)灭菌周期。确认影响 EO 灭菌效果有 5 个关键因素,即 EO 气体浓度、时间、温度、湿度和压强。其中 EO 气体浓度、温度、湿度、压强可依据行业经验初步确定,EO 气体浓度一般为 $600 \sim 900\text{ g/m}^3$;温度一般为 $50 \sim 60^\circ\text{C}$;相对湿度一般为 $50\% \sim 80\%$ 。预处理抽真空压强一般为 $-20 \sim -50\text{ kPa}$,EO 暴露过程压强常见的为 $-10 \sim 30\text{ kPa}$ (由预处理抽真空压强和加 EO 量决定)^[5]。选定以上范围中的参数后,保证设备在设定参数允许的偏差范围内运行,灭菌温度偏差一般为 $\pm 3^\circ\text{C}$,灭菌相对湿度偏差一般为 $\pm 10\%$ 。然后对灭菌时间进行确认。

短周期:依据生物指示剂的 D 值初步确认短周期时间进行灭菌,灭菌后应有部分生物挑战装置微生物复长,以证明生物挑战装置有足够的生物抗力。

半周期:其他灭菌参数不变,在短周期时间的基础上增加灭菌时间。同一参数,连续运行 3 次,灭菌后生物挑战装置微生物全部被灭活。则该时间可确

定为半周期。

全周期:灭菌时间为半周期时间的 2 倍,其他参数不变,灭菌后生物挑战装置微生物全部被灭活。以上 5 个关键参数会相互影响,因此在实际操作中需要试错,才能确认短周期和半周期。

2.3.3 物理性能确认 (1) 灭菌柜物理性能确认。在完成以上周期时间确认后,再进行至少一次全周期运行以证明该过程的可重复性,若参数符合设定要求并在允许的偏差范围内,则全周期灭菌参数即为批量生产的灭菌参数。EO 加药量需要采用压强变化量、EO 质量(减重法)、EO 体积、探头监测的 EO 浓度中的 2 种途径来确保 EO 加药量准确。换气(排残)次数和解析温度直接影响 EO 解析的效果,因此应确认换气次数和解析温度,换气次数一般为 3~5 次。(2) 产品物理性能确认。EO 灭菌具有强氧化性,会对部分材料和产品性能产生影响,因此需对全周期灭菌后的产品按照产品标准或产品技术要求进行产品性能检测,其结果符合要求则证明该种灭菌方式和灭菌参数是可接受的。(3) EO 残留解析验证。全周期灭菌完成的产品 EO 残留通常超标,需要放置在特定条件的环境下解析一定时间,待 EO 残留和其他性能指标均检验合格方可放行。解析验证结果应明确解析时间、温湿度要求、通风条件、产品堆码方式等^[6]。

2.3.4 产品放行 (1) 参数放行:通过确认的参数进行灭菌,并对该批的灭菌记录参数(包括 EO 浓度、时间、温度、湿度、压强和装载方式)进行分析;有 2 个及以上的探头直接测定柜内温湿度;过程参数与灭菌确认的参数一致并在允许的偏差范围内,可依据参数放行。但每年至少要进行一次再确认。(2) 检验放行:确认灭菌参数,同时对生物指示剂培养或产品进行无菌检验,结果显示无菌方可放行。因生物指示剂的生物抗力通常强于产品,建议用生物指示剂培养的方式。

3 常见问题及对策

3.1 温湿度均匀性问题

注册人 A,运行鉴定中,空载温湿度均匀性很好,能达到标准要求。但在验证满载温湿度均匀性时,用温湿度巡检仪反复探索,其最热点和最冷点,同一布放点前后温差达到 20℃ 左右,湿度偏差达 ± 20%,达不到预期要求。经查找原因,推测可能是预处理时间不够,传热传湿效率不足引起的。解决办法:在其他设定参数不变的情况下,将预处理时间由 2 h 增加到了 5 h。堆垛方式改进,在层与层之间增加了有空隙的隔板,使空气与产品包装充分接触,增

加传热传湿效率。采取措施后,其温度均匀性达到均值的 ± 5℃,相对湿度在均值的 ± 10% 内。

3.2 无法确认合理的灭菌周期时间

注册人 B,运行鉴定时,空载满载温湿度均匀性都能达到标准要求,其灭菌参数为,EO: 500 g/m³,相对温度 50℃ ± 3℃,湿度 60% ± 10%,灭菌压强 -10 ~ 0 kPa。在摸索灭菌时间时,3、4 和 5 h 灭菌时间,生物挑战装置皆有复长情况。分析原因:EO 浓度、温度、湿度、压强均在合理范围内。但温湿度巡检仪未放置在产品包装内,其检测到的温湿度不能代表产品的实时温湿度。后将温湿度巡检仪放入产品包装中做满载温湿度均匀性,证实产品实际温湿度达不到预期要求。措施:温湿度巡检仪放入产品包装内做满载温湿度均匀性,调整预处理时间和加热温度,产品温湿度达到要求后再进行性能鉴定。

3.3 包材、包装方式不适宜

注册人 C,在解析验证过程中,发现用 PE 塑料袋真空包装的一次性使用医用防护服在解析 14 d 后其 EO 残留仍然比标准高出 2 倍。原因分析为,EO: 600 g/m³,灭菌时间 8 h 都在合理范围内,排除 EO 浓度过高和作用时间过长的可能性。再进一步分析,发现产品采用 PE 塑料袋真空包装,解析时,EO 较难穿透 PE 塑料袋,加之该产品采用真空包装,限制了包装内 EO 与空气之间的流动性。措施:将产品包装换为纸塑袋,非真空包装后,同样的灭菌参数,解析 7 d 就能达到标准要求^[7]。

参考文献

- [1] 朱瑞银,陆蓓,何忠平. 无菌医疗器械环氧乙烷灭菌的验证方法[J]. 中国医疗器械信息,2008,14(9):10-13.
- [2] 刘成虎,施燕平,吴平. 应用 ISO10993-7:2008 确定医疗器械中环氧乙烷残留限量[J]. 中国医疗器械信息,2012,29(7):29-32.
- [3] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 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[S]. 2015.
- [4] 牛芹. 环氧乙烷低温灭菌方法及灭菌效果监测[J]. 中国民康医学,2012,24(14):1690-1691.
- [5] 赵香玉,李晓霞. 环氧乙烷低温灭菌器使用中存在的问题及对策[J]. 中国消毒学杂志,2013,30(6):574-575.
- [6] 孙娜娜. 无菌医疗器械中环氧乙烷的残留问题分析[J]. 科学技术创新,2020(16):189-190.
- [7] 兰海,乔燕,李志刚. 纸塑包装减少环氧乙烷残留评价分析[J]. 湖南中医药大学学报,2013,33(12):8-9.

(收稿日期:2021-04-13)