



中华人民共和国医药行业标准

YY 0970—2013/ISO 14160:1998

含动物源材料的一次性使用医疗器械 的灭菌 液体灭菌剂灭菌的确认 与常规控制

Sterilization of single-use medical devices incorporating materials of animal origin—Validation and routine control of sterilization by liquid sterilants

(ISO 14160:1998, IDT)

2013-10-21 发布

2014-10-01 实施

国家食品药品监督管理总局 发布

目 次

前言	III
引言	IV
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 总则	4
5 确认	4
6 过程控制和监视	6
7 灭菌后产品的放行	7
附录 A (资料性附录) 指南	8
参考文献	16

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准使用翻译法等同采用国际标准 ISO 14160:1998《含动物源材料的一次性使用医疗器械的灭菌 液体灭菌剂灭菌的确认与常规控制》。

与本标准中规范性引用的国际文件有一致性对应关系的我国文件如下：

GB 18281.1—2000 医疗保健产品灭菌 生物指示物 第 1 部分：通则(idt ISO 11138-1:1994)

GB/T 19001—2008 质量管理体系 要求(ISO 9001:2008, IDT)

GB/T 19973.1—2005 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(ISO 11737-1:1995, IDT)

YY/T 0567.1—2005 医疗产品的无菌加工 第 1 部分：通用要求(idt ISO 13408-1:1998)

本标准由国家食品药品监督管理总局提出。

本标准由全国医疗器械生物学评价标准化技术委员会(SAC/TC 248)提出并归口。

本标准起草单位：国家食品药品监督管理局济南医疗器械质量监督检验中心、国家食品药品监督管理局中检院医疗器械质量监督检验中心。

本标准主要起草人：吴平、由少华、张丽梅、冯晓明、陈亮。

引 言

无菌产品是指无存活微生物的产品。当医疗器械需要以无菌形式供应时,标准要求使用一切可行的手段,在灭菌前将医疗器械上各种外来微生物的污染降至最低。产品即使是在符合医疗器械质量体系标准(见 ISO 13485)规定的条件下生产,灭菌前仍可能会带有微生物,虽然数量较少。此类产品属非无菌产品。灭菌加工的目的是灭活污染的微生物,从而使非无菌产品成为无菌产品。

采用用于医疗器械灭菌的物理和/或化学手段灭活微生物的纯培养物,通常遵循一个近似的指数规律,这就意味着无论所施加的灭菌程度如何,微生物的存活总是存在一个有限概率。对于一个给定的灭菌过程,存活概率取决于微生物的数量和种类,还与灭菌过程中生物体所处的环境有关。因此,经受灭菌处理过程的产品总体中任何单个产品无法保证绝对无菌,产品总体的无菌水平只能以器械上存活微生物的概率来表示。

ISO 9000 族标准以及 ISO 13485 规定了设计/开发、生产、安装和服务质量体系的通用要求。ISO 9000 系列标准把某些不能通过随后的产品检验和试验来充分证实其结果的生产过程称之为“特殊”。灭菌就是这样一个特殊过程,因为其过程的功效不能通过产品的检验和试验来证实。因此,灭菌过程需在使用前进行确认,过程的性能应进行常规监视,设备需进行维护。

重要的是要认识到,产品经过适当确认并精确受控的灭菌过程,并非是提供产品无菌以及在这方面适合于预期用途可靠保证的唯一因素。还必须注意其他一系列因素,包括所用原材料和/或组件的微生物状态(生物负载)、随后的贮存,以及产品生产、装配和包装环境的控制。

医疗器械最常使用的灭菌手段是湿热、干热、辐射和环氧乙烷灭菌。有些含有动物组织的器械可能适合于这些常用的灭菌方法(如羊肠线通常用辐射灭菌),而其他一些器械,如生物心脏瓣膜或组织敷料,则不适合采用传统的灭菌过程。目前已经认识到,在这些例外情况下可能需使用其他灭菌手段。液体化学灭菌剂在这种情况下得到了广泛应用,同其他灭菌方法一样,该过程在作为常规使用之前,需要证实并记录其过程的有效性。

本标准包含了使用液体化学灭菌剂对含动物源性材料的一次性使用医疗器械进行灭菌的确认和常规控制的要求,附录 A 中给出了本标准的应用指南。含有动物组织医疗器械的生产过程常包括与化学试剂接触,这些试剂能显著降低医疗器械的生物负载。医疗器械在生产过程完后,经受一个确定的灭菌过程,本标准规定的确认和常规控制的要求仅适用于这一确定的灭菌过程,而没有考虑其他生物负载降低步骤的杀灭作用。

注:附录 A 中给出的指南是非强制性的,不作为审核人员的检查清单。

含动物源材料的一次性使用医疗器械 的灭菌 液体灭菌剂灭菌的确认 与常规控制

1 范围

本标准规定了使用液体化学灭菌剂对全部或部分含动物源性材料的一次性使用医疗器械灭菌的开发、确认、过程控制和监视的要求。

本标准不适用于人体来源的材料。

本标准不涉及用于控制整个生产阶段的质量保证体系。

注 1: 注意用于控制包括灭菌过程在内的整个生产阶段质量体系的标准(见 ISO 9001 和 ISO 13485 或 ISO 9002 和 ISO 13488)。

本标准不涉及任何选用的灭菌方法对医疗器械使用适宜性的试验。

注 2: 此类试验是医疗器械设计和开发中的重要内容。

本标准不涉及病毒灭活确认的方法。

注 3: 在开发含动物源性材料医疗器械加工方法时,由于这些特殊医疗器械生产中所用材料来源的影响,还必须考虑液体化学灭菌剂对潜在病毒污染的影响。对病毒灭活过程确认的重要性已得到公认,本标准不包括这方面的要求,相关内容见 EN 12442-3。

注 4: 通常用于医疗器械中动物组织灭菌的液体化学灭菌剂对灭活传播性海绵状脑病[如:牛海绵状脑病(BSE)]或痒病的致病因子可能不起作用,因此不宜用符合本标准的合格确认结果来推断这一类传播因子已被灭活。

本标准不包括医疗器械中灭菌剂残留量的水平。

注 5: 此类信息见 ISO 14538。

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。

ISO 9001:1994 质量体系 设计、开发、生产、安装和服务的质量保证模式(Quality systems—Model for quality assurance in design, development, production, installation and servicing)

ISO 9002:1994 质量体系 生产、安装和服务的质量保证模式(Quality systems—Model for quality assurance in production, installation and servicing)

ISO 11138-1:1994 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)

ISO 11737-1:1995 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 health care products—Microbiological methods—Part 1: Estimation of the population of microorganisms on product)

ISO 13408-1:1998 医疗保健产品的无菌加工(Aseptic processing of health care products)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

批 batch

一定数量的原材料、中间产品或成品,预期或声明采用规定的生产工艺制造,其特性和质量均匀一致。

3.2

生物负载 bioburden

一件产品和/或包装上的活菌总数。

3.3

载体 carrier

涂有试验菌的支持材料。

3.4

试运行 commissioning

获得形成文件的证据,表明设备按技术规范提供和安装后,按照使用说明操作,其功能在规定范围之内。

3.5

降低十倍值 decimal reduction value

D 值 D value

在一定的作用条件下,灭活 90%的试验菌所需的时间(以 min 表示)或辐射剂量(以千戈瑞表示)。

3.6

作用时间 exposure time

在规定温度和灭菌剂浓度条件下对医疗器械作用的时间。

3.7

灭活 inactivation

使微生物生长和/或增殖能力丧失的过程。

注:本标准中的微生物包括芽孢菌和非芽孢菌、病毒、真菌和原生动物。

3.8

染菌载体 inoculated carrier

涂覆了规定数量试验菌的载体。

3.9

液体化学灭菌剂 liquid chemical sterilant

具有确定化学配方用于达到无菌状态的溶液或流体。

3.10

医疗器械 medical device

制造商预期为下列目的用于人类的单独或者组合使用的仪器、设备、器具、机器、用具、植入物、体外试剂、或校准器、软件、材料或其他物品:

- 疾病的诊断、预防、监护、治疗或缓解;
- 伤残的诊断、监护、治疗、缓解或替代;
- 人体结构或生理过程的研究、替代、修复或维持;
- 生命的维持;
- 妊娠的控制;
- 医疗器械的消毒;
- 以人体采集样本的体外检查的方式提供医疗信息。

其用于人体体表及体内的作用不是用药理学、免疫学或代谢的手段获得,但是可能有这些手段的参与并起一定的辅助作用。

3.11

性能鉴定 performance qualification

获得并形成文件的证据,表明设备在试运行后按照过程规范进行操作时,能生产出合格产品。

3.12

灭菌前计数 presterilization count

灭菌前的活菌计数。

3.13

产品适用性 product compatibility

在对产品无损害作用的情况下,灭菌过程取得预期效果的能力。

3.14

过程开发 process development

根据产品/包装/被灭菌物品摆放方式和/或设备限度来确定灭菌过程的形成文件的研究程序。

3.15

重新确认 revalidation

重复部分或全部确认的试验要求,以再次证实过程的可靠性。

3.16

无菌状态 sterility

无存活微生物的状态。

注:这种无微生物存活的绝对提法实际上是无法证实的(见 3.18 灭菌)。

3.17

无菌 sterile

无存活微生物。

注:这种无微生物存活的绝对提法实际上是无法证实的(见 3.18 灭菌)。

3.18

灭菌 sterilization

使产品无任何类型存活微生物的确认过的过程。

注:在灭菌过程中,微生物的死亡规律以指数函数表示。因此,任何单件产品上存活微生物的存在可用概率表示。

该概率可减少到很低,但不可能到零。该概率可用无菌保证水平(SAL)表示,通常用 10^{-n} 表示。

3.19

贮存液 storage solution

用于保存最终使用状态医疗器械的液体。

3.20

确认 validation

对获取、记录和整理所需数据形成文件的程序,以表明某个过程可持续生产符合预定技术规范的产品。

注:对于液体化学灭菌剂灭菌,确认包括试运行和性能鉴定的全过程。

3.21

活菌计数 viable count

在规定的培养条件下,通过单个菌落的生长测定微生物的数量。

注:单个菌落不一定来源于一个活的微生物。

4 总则

4.1 生产过程控制

应建立并控制生产过程,以保持灭菌前计数在规定限度之内。

注 1: 采用符合 ISO 13485 或 ISO 13488 的质量体系以满足这一要求。

应建立并保持形成文件的体系,以控制动物源性原始材料来源。

注 2: ISO 12442-2 规定了有关动物材料来源、收集和处置的控制。

应有效执行本标准所要求的形成文件的程序和说明,文件和记录应经过指定人员(见 4.2)的评审和批准。

4.2 人员

应由符合 ISO 9001 或 ISO 9002 规定的有资格的人员负责设备的维护(见 4.4)、使用液体化学灭菌剂进行灭菌确认(见第 5 章)和常规控制(见第 6 章)以及产品的放行。

4.3 校准

应为灭菌过程确认和常规控制所用的全部控制、指示和记录仪器建立一个有效的校准系统,形成文件并加以保持。该体系应符合 ISO 9001 或 ISO 9002 的要求。

4.4 设备维护

应按照形成文件的程序去策划和执行预防性维护,应规定每项策划的维护任务程序和维护频次,并形成文件。

应对设备进行全面维护并加以记录,否则不能用于医疗器械灭菌。

应按照 ISO 9001 或 ISO 9002 的规定保留维护记录。

应由一名指定人员(见 4.2)定期评审维护计划、维护程序和维护记录。

4.5 过程开发和产品适用性

4.5.1 应规定在引入新产品、新包装、新灭菌摆放方式或新的灭菌过程,或这些方面发生改变前,灭菌过程需要得到确认并形成文件。

证明与以往确认过的产品、包装或被灭菌物品的摆放方式具有等效性,应认为符合本条的要求。任何等效性证明均应形成文件。

注: 规定的灭菌过程可包含用多种液体化学灭菌剂分别进行处理。

4.5.2 产品及其包装的设计应能使其与液体化学灭菌剂接触,且灭菌剂的残留量低于制造商规定的水平。应识别出产品上最难灭菌的部位。

4.5.3 应证实灭菌过程不对产品使用或其包装产生不良影响并形成文件。如果允许再次灭菌,应评价该过程的效果并形成文件。

5 确认

5.1 总则

确认程序应形成文件,并应保留每项确认记录(见 5.4.1)。

5.2 试运行

试运行应证实用于灭菌过程的设备符合其规范要求。

5.3 性能鉴定

5.3.1 性能鉴定应证实灭菌过程具有：

- a) 对有代表性范围内的微生物有适当的杀灭作用(见 5.3.5, 5.3.6 和 A.5)。
- b) 确定的处理参数(如:时间、温度、液体化学灭菌剂浓度、pH)能在全过程中得到控制。

5.3.2 性能鉴定应考虑针对产品最难灭菌的部分来进行,如 4.5.2 中规定。

5.3.3 应按 ISO 11737-1 的要求确定产品灭菌前的计数。

5.3.4 在进行性能鉴定之前,应对培养存活菌之前中和液体化学灭菌剂的方法进行确认,该方法本身不应解释产生不良影响。

5.3.5 应确定过程规范中最低微生物灭活的条件组合,并应在性能鉴定中使用此条件组合。

5.3.6 微生物性能鉴定应包括以下三个阶段：

- a) 筛选试验,用于识别对灭菌过程具有高抵抗力的微生物(见 A.4.2.3)。
- b) 灭活动力学的确定。

包括对被识别为对灭菌过程具有高抵抗力的微生物建立其存活对数曲线,该灭活曲线至少包括 5 个且数量至少降低千倍的点(另见 A.4.2.4.1 和 A.4.2.5)。若产品不适合于上述过程,可使用 A.4.2.4.2 中规定的最大可能数法(MPN 法),应说明理由并形成文件。

微生物应被置于能代表医疗器械的载体材料上经受灭菌过程。

- c) 对灭菌前微生物计数灭活的评定,其方法是将其引入到组织载体上生长。

所采用的微生物范围,除生物负载中所包括的那部分微生物之外,还应包括对灭菌过程具有已知高抵抗力的微生物。在任何情况下,其抗力应等同于符合 ISO 11138-1 要求的枯草芽孢杆菌(见表 A.2)。

注:在这一试验的设计过程中,宜考虑微生物污染和/或非微生物污染的水平以及重复试验间的差异。

5.3.7 灭菌过程的作用时间应不少于 $D[6 + \log_{10}(100 + B)]$, D 是指在性能鉴定过程中所确定的最高抗力微生物的 D 值, B 是指按 ISO 11737-1 要求估计出的生物负载值。

注:本条文这一规定提供了至少 1×10^{-6} 的微生物存活概率。EN 556 规定这是标注无菌的最终灭菌器械的要求(见参考文献)。

5.3.8 如果在灭菌过程完成后对医疗器械进行无菌转移,则：

- a) 应按照相应的标准对产品组件(如:容器、贮存液)的灭菌过程进行确认和常规控制；
- b) 应按照 ISO 13408(见 A.4.2.7)的要求对液体化学剂灭菌后的转移程序进行确认。

5.4 确认证书

5.4.1 应以文件形式出具确认报告,包括全部确认过程的结果。报告应由负责编制、审核和批准的指定人员进行签署,并应按 ISO 9001 或 ISO 9002 中规定的要求保存确认报告。

5.4.2 确认报告应包括或引用形成文件的液体化学灭菌剂过程规范,该过程规范应规定所确认的医疗器械,并应详述以下方面(适当时包括各值和允差)：

- a) 生物负载估测的频次、方法以及作用限制；
- b) 制备液体化学灭菌剂和容器以及进行无菌转移的环境规范(见 5.3.8)；
- c) 授权可从事无菌转移人员的培训以及人员证书的批准准则(见 5.3.8)；
- d) 确保液体化学灭菌剂溶液中无活菌的方法(见 A.6)；
- e) 液体化学灭菌剂配方,包括其组分规范；
- f) 液体化学灭菌剂的 pH；

- g) 灭菌过程之后,液体化学灭菌剂在化学浓度和/或微生物活性方面所需的残留活性;
- h) 产品与液体化学灭菌剂接触所用容器的规范,包括构成材料、大小以及适用的所有预处理的详细说明;
- i) 每单位体积液体化学灭菌剂可灭菌产品的数量;
- j) 灭菌作用时间;
- k) 灭菌温度;
- l) 过程开发中测定的其他关键过程变量;
- m) 存放灭菌后产品贮存液的灭菌方法(见 5.3.8)。

5.4.3 如对某一具体器械的确认也适合于其他器械,其理由应形成文件。

5.5 重新确认

5.5.1 应至少每年对确认和随后的重新确认数据进行评审,对是否需要重新确认应说明理由并形成文件。

除非有足够的证据证实灭菌过程的持续适宜性,否则应进行重新确认。确认和重新确认数据的评审程序应形成文件,并应保留重新确认的记录。

5.5.2 重新确认报告应形成文件。该报告应由负责编制、审核和批准该原始确认报告的同一机构/组织的指定人员进行签署(见 5.4.1)。

6 过程控制和监视

6.1 应按 ISO 11737-1 的要求,在规定的时间内估计生物负载。如果在灭菌前计数的常规估计中分离出一种在以往的性能鉴定时未曾研究过的微生物,应对其进行 5.3.5 中的步骤。

6.2 应记录并保留每一批灭菌产品的数据,以证实符合灭菌过程规范。这些数据应至少包括下列内容:

- a) 适宜时,最终容器灭菌过程中被监视的变量;
- b) 适宜时,贮存液灭菌过程中被监视的变量;
- c) 液体化学灭菌剂的最初化学浓度和 pH;
- d) 液体化学灭菌剂制备过程中被监视的参数;
- e) 适宜时,溶液除菌过滤器的完整试验结果;
- f) 作用时间;
- g) 作用时间过程中的温度;
- h) 适宜时,无菌转移过程中环境监视的结果;
- i) 下列人员的识别:
 - 1) 制备贮存液和液体化学灭菌剂溶液的人员;
 - 2) 控制灭菌过程的人员;和
 - 3) 适宜时,进行无菌转移的人员;
- j) 灭菌产品的编号(或其他唯一性识别)。

6.3 对使用液体化学灭菌剂进行灭菌后的每批医疗器械,应检验以下各项是否有活菌的存在:

- a) 化学灭菌剂溶液;
- b) 贮存液,适用时;
- c) 以下至少一项:
 - 1) 成品;
 - 2) 已完成全部生产过程但是不合格的产品;或

3) 证明能代表该医疗器械并已经过全部生产过程的分离的动物组织。

6.4 对每批医疗器械,应对

- a) 液体化学灭菌剂,或
- b) 灭菌过程后剩余的液体化学灭菌剂溶液。

用一个接种了符合 ISO 11138-1 要求、已知对灭菌过程具有高抵抗力的微生物(正如性能鉴定中所识别的,见 5.3)至少 10^6 的动物组织载体,在与该批医疗器械相同的条件下进行挑战试验。

注:试验时宜采取适当的预防措施,使生产设备污染风险降至最低。

6.5 如果采用不适合于将试验菌引入灭菌容器或生产环境中的规模化液体化学灭菌过程,而且

- a) 液体化学灭菌剂的化学组成与其杀微生物活性之间的关系已经得到证实;并且
- b) 按 6.4 进行检验至少 30 批医疗器械的灭菌过程未出现不合格;

则可不必再持续进行 6.4 中所规定的试验,而应在灭菌过程结束后对剩余的液体化学灭菌剂进行全面的化学分析,以证明符合过程规范的限度。

注:30 批这一数值的提出,是基于这样一种假定,即不合格达到 0.95 的置信水平($\alpha:0.05$)和 0.9 的置信区间的二项式分布。

6.6 从 6.2、6.3 和 6.4 或 6.5 所得的结果,应作为允许产品无菌放行证据的组成部分,并应作为灭菌记录的组成部分予以保留。

6.7 所有记录应按 ISO 9001 或 ISO 9002 规定予以保留。

7 灭菌后产品的放行

7.1 对给定的灭菌过程是否符合要求的准则应形成文件,这些准则应包括:

- a) 过程规范的符合性;和
- b) 在微生物试验中(见 6.3 和 6.4),培养后无微生物生长。

7.2 如果发生下列情况:

- a) 过程变量在文件规定的允差之外;或
- b) 微生物试验(见 6.3 和 6.4)培养后,表明有微生物生长。

则应认为给定的灭菌过程不合格,不合格产品应按 ISO 9001 或 ISO 9002 的规定进行处置。

附 录 A
(资料性附录)
指 南

A.1 引言

本指南不作为评定是否符合本标准的检查清单。

为达到与规定的要求的符合性,本指南给出了公认的合适的解释和方法。本指南用以帮助对本标准的统一理解和执行,也可使用本指南之外的方法,但宜证实所采用的这些方法能有效符合本标准的要求。

本指南不拟详细论述,而是只给出宜引起关注的重要方面。本指南举例说明了怎样符合要求,以及如何认可其他能获得相同结果的方法来满足要求,同时给出了怎样符合要求的一般性建议,并针对不熟悉医疗器械灭菌的人员不易引起重视的方面给出了提示。

与本附录中的指南相对应的本标准条文在方括号中给出。

A.2 人员[4.2]

不同层次人员所需的资格、培训和经验水平取决于其所从事的工作。ISO 9004-1 中给出了质量保证体系组成部分中培训方面的总体指南。

宜对具有以下职责的人员进行特定的资格培训:

- 微生物学试验;
- 兽医微生物学;
- 化学分析和配方;
- 设备安装;
- 设备维护;
- 物理性能鉴定;
- 常规灭菌器的操作;
- 校准;
- 过程设计;
- 设备规范;
- 无菌加工。

A.3 过程开发和产品适用性[4.5]

A.3.1 一个特定医疗器械灭菌过程的开发需要建立一个对医疗器械既有效又适用的过程,因此在产品的设计阶段,在确定和/或优化灭菌过程实验的同时,就可开展产品适用性的最初研究。

ISO 9001 和 ISO 13485 中规定了包括医疗器械设计在内的质量体系的要求。

A.3.2 在液体化学灭菌过程中,产品可能会承受环境压力,也可能会与所用的液体化学灭菌剂反应,因此产品的设计宜确保,在预计的灭菌条件范围内产品的有效性和安全性不会受到影响。

A.3.3 选择医疗器械灭菌过程时,宜将影响过程功效的所有因素考虑在内。考虑因素可包括(另见第 1 章的注 5):

- a) 灭菌设备的可得到性；
- b) 适用的灭菌设备提供的灭菌条件的范围；
- c) 已在其他产品上得到应用的灭菌过程；
- d) 残留化学物质和/或化学反应产物的水平的要求；
- e) 过程开发试验的结果；
- f) 使用液体化学灭菌剂导致有抵抗力的微生物增殖的可能性。

A.3.4 过程开发中可包括若干要素：

- a) 灭菌过程中关键过程变量和这些变量范围的测定；
- b) 产品上生物负载的估计，宜以此确定灭菌过程的生物指示物；
- c) 宜确定性能鉴定和常规监视所用的接种载体的适宜性。

过程开发活动的结果是能确定一个灭菌过程，此灭菌过程的适宜性则是在性能鉴定研究(见 5.3)中得到证实。

A.4 确认[5]

A.4.1 过程确认中生物负载的估计[5.3.3]

由于对动物组织进行生物负载估计特别困难，除按 ISO 11737-1 外，本附录还提拱了指南。

估计生物负载的目的有以下三个方面：

- 确定存在于产品上的污染微生物的属性；
- 确定存在于产品上的微生物数量；
- 确定变异范围，以通过比较连续批间染菌数量的变异程度来确定污染的一致性。

宜进行生物负载估计的有：

- 来源于动物的原料；
- 每一重要加工阶段完成后的材料；
- 即将灭菌之前的产品(即：灭菌前计数)；

任何估计生物负载的方法只能以有限的比例形式指示所存在的微生物数量和种类，因此宜针对从产品上提取微生物的效率和检测这些微生物所用培养条件的有效性中所存在的误差对生物负载值进行修正。动物组织微生物的复苏效率估计可能有变化，并且可能非常低。因此为了保险起见，5.3.7 中给出的作用时间的计算式中对生物负载增加了 100 这样一个安全系数，用于补偿这些局限性。

宜注意选择所列举的适宜的培养基和培养条件。另外，宜考虑与动物源性材料相关微生物的分离要求。表 A.1 中的培养基可能在某些情况下适用。

表 A.1 促进生长的培养基、培养条件和微生物一览表

培养基 ^a	培养条件 ^c	证实促进生长能力的挑战微生物 ^d
1. 胰胨大豆汤和胰胨大豆琼脂	需氧 30 °C ~ 35 °C	枯草芽孢杆菌(<i>Bacillus subtilis</i>) 肺炎杆菌(<i>Klebsiella pneumoniae</i>) 铜绿假单胞杆菌/缺陷假单胞菌(<i>Pseudomonas aeruginosa/diminuta</i>) 表皮葡萄球菌(<i>Staphylococcus epidermidis</i>)

表 A.1 (续)

培养基 ^a	培养条件 ^c	证实促进生长能力的挑战微生物 ^d
2. 营养肉汤和营养琼脂	a. 需氧 30 °C ~ 35 °C b. 需氧 20 °C ~ 25 °C	枯草芽孢杆菌(<i>Bacillus subtilis</i>) 肺炎杆菌(<i>Klebsiella pneumoniae</i>) 铜绿假单胞杆菌/缺陷假单胞菌(<i>Pseudomonas aeruginosa/diminuta</i>) 酿酒酵母菌(<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)
3. 勒文斯坦氏 ^a	需氧 30 °C ~ 35 °C	红色毛癣菌(<i>Trichophyton rubrum</i>) 草分枝杆菌(<i>Mycobacterium phlei</i>), (3 周)
4. 血琼脂	a. 需氧 30 °C ~ 35 °C b. 厌氧 30 °C ~ 35 °C	枯草芽孢杆菌(<i>Bacillus subtilis</i>) 肺炎杆菌(<i>Klebsiella pneumoniae</i>) 铜绿假单胞杆菌/缺陷假单胞菌(<i>Pseudomonas aeruginosa/diminuta</i>) 表皮葡萄球菌(<i>Staphylococcus epidermidis</i>) 粪肠球菌(<i>Enterococcus faecalis</i>) 生孢梭菌(<i>Clostridium sporogenes</i>)
5. 马铃薯葡萄糖琼脂	需氧 20 °C ~ 25 °C	酿酒酵母菌(<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) 红色毛癣菌(<i>Trichophyton rubrum</i>)
6. 罗伯逊氏庖肉 ^b	需氧 30 °C ~ 35 °C	生孢梭菌(<i>Clostridium sporogenes</i>)
<p>^a 培养基中不宜加入颜色变化指示剂染料(通常会抑制微生物生长),特殊情况除外,如勒文斯坦氏(L-J)培养基。在检测液体培养基中的生长情况时,宜通过目测浊度或者特殊的密度/显微镜方法,必要时,可在适宜的固体培养基上再培养进行确认。</p> <p>^b 亦可选用于厌氧菌生长检测的抑制性选择培养基。</p> <p>^c 除 L-J 培养基宜最少采用 3 周的培养期外,其他所有促生长培养基宜最少采用两周的培养期,温度宜控制在给定范围的允差之内。受损微生物可能需要较长的培养期。</p> <p>^d 宜对每批培养基进行检验,以证实该批培养基对每一接种物可复苏 10~100 个微生物(宜以同批原材料并经同一高压灭菌的制备品为一批)。宜采用公认的标准菌库的规定菌株进行试验。</p> <p>如使用含有 10 个微生物的接种物,则在固体培养基上很少能复苏 10 个菌落形成单位(CFU),因为:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 在总数和活菌计数方面将存有差异,和 2) 接种物微生物的精确数量会在 10 的均值左右变化。 <p>接种微生物的一个或多个菌落形成单位(或在液体培养基中的可见生长)的复苏可证明该培养基具有支持挑战菌生长的效力。在检验液体培养基时,如为了避免稀释带来的抑制作用,宜采用小体积(10 cm³)。</p>		

A.4.2 性能鉴定[5.3]

A.4.2.1 总则

用于确认动物源性材料液体化学灭菌过程的微生物种类的选择,宜考虑以下全部准则:

- 可能存在于动物组织上的微生物种类;
- 估计产品生物负载时分离出的微生物种类;

- 从动物组织采集环境和最终医疗器械生产环境中分离出的微生物种类；
- 已证实对液体化学灭菌剂具有高抗力或可能会增长抗力的微生物种类；
- 微生物种类的范围。

表 A.2 中给出了已得到应用的一些微生物的示例,已证实表中所列动物组织上的微生物对液体化学灭菌剂具有显著的抗力。此表仅作为指南,不作为必须评价的微生物的一览表。

表 A.2 用于特定液体化学灭菌剂活性评定的微生物示例

种类	菌库编号		
	ATCC ¹⁾	NCTC ²⁾	NCIMB ³⁾
芽孢类:			
生孢梭菌	3584	—	10696
枯草芽孢杆菌	6051 9372	3610	3610
短小杆菌	27142	10327	10692
毛壳球菌	6205	—	—
灰色微囊	16594	—	—
植物细胞类:			
龟分枝杆菌	35752	946	1474
extroquens 甲基杆菌	43645	—	9399
白吉尔氏毛芽孢菌	22310	—	—
注:可使用布达佩斯协定的规定菌库中的相似或等同菌种。			
¹⁾ 美国标准菌库。 ²⁾ 美国国家标准菌库。 ³⁾ 美国国立工业和海洋菌库。			

微生物性能鉴定的三个阶段(筛选、构建存活曲线和对组织载体灭活的评定)分别在 A.4.2.3、A.4.2.4和 A.4.2.5 中予以考虑。

A.4.2.2 中和[5.3.4]

在进行微生物性能鉴定之前,应确保鉴定试验结果没有受到因残留液体化学灭菌剂引入复苏系统所导致的杀菌或抑制菌作用的不利影响,可通过稀释、过滤去除或与中和剂反应的方法来降低杀菌或抑制菌物质的影响。

中和系统的选择受液体化学灭菌剂成分的影响,宜在性能鉴定开始之前证实所选系统的有效性。

A.4.2.3 微生物分离菌筛选[5.3.6 a)]

A.4.2.3.1 总则

通常不对产品上所有分离菌都进行灭活研究,宜采用筛选试验。将组织样本置于低于灭菌处理条件的环境中时,较高抗力的分离菌能快速分离出来用于灭活研究。宜对任何比确认试验选用的标准微生物(见表 A.2)具有更高抗力的分离菌进行充分鉴别。

由于灭菌过程所用液体化学制剂的应用是相对固定的,需对测定、筛选和试验中所发现的对灭菌过

程具有显著抗力的微生物予以特别关注。由于生产过程中存在引入新微生物或变异微生物的风险,而这些微生物对灭菌过程的抗力可能比原始试验和确认微生物更高,因此宜建立对生产过程和环境中存在的微生物的抗力进行不断筛选与评价的程序(微生物分离菌筛选程序)(另见 A.5)。

宜进行微生物筛选过程,以确保新的或变异微生物被及时测定出来并得到评价。

微生物分离菌筛选程序宜包括以下三个阶段:

- a) 微生物分离菌收集;
- b) 微生物分离菌鉴别;
- c) 挑战试验(筛选)。

A.4.2.3.2 微生物分离菌收集

宜从医疗器械的生产过程和环境中收集微生物分离菌。初始宜着重收集灭菌前产品上存在的已知微生物(生物负载分离菌)。除产品上的生物负载外,还宜从产品的生产环境中收集分离菌,所指的环境可包括(但不仅限于此)加工溶液、工作表面、水纯化系统、原材料和人员。

A.4.2.3.3 微生物分离菌表征

对用于评价的收集的微生物分离菌宜进行表征和/或鉴别以作为将来的基准。表征宜至少包括:菌落形态、细胞形态学、革兰氏反应和生长率描述。可能时,最好是对种类或亚种类进行鉴别。

A.4.2.3.4 挑战试验(筛选)

宜按 5.3.6 的要求进行微生物分离菌挑战试验。宜全面评价在初始挑战试验中表明对灭菌过程具有显著抗力的微生物分离菌,并与最初过程鉴定和确认研究中使用的微生物进行比较。宜评价挑战微生物分离菌对整个灭菌过程的相对抗力。

初始挑战试验的一种方法是在最低灭菌过程规范条件下,将至少含有 10^5 分离菌的菌悬液加入液体化学灭菌剂中,作用时间等于性能鉴定中所用的最高抗力微生物的 D 值。试验完成后,如仍能检测出存活菌,则表明该分离菌的抗力至少比性能鉴定中所用的最高抗力的微生物高 20%。此时,宜对该分离菌进行全面表征,并对其进行详细的灭活动力学研究。

A.4.2.4 微生物灭活动力学研究[5.3.6]

A.4.2.4.1 总则

性能鉴定需要为每种微生物提供灭活曲线,各曲线最少包括 5 个且数量至少降低千倍的点。每一点通常采用 3 次重复测定,并宜在两倍标准偏差范围内具有再现性。

该试验过程中所用最高抗力微生物的 D 值可由试验所得结果计算得出。只有对数存活曲线(存活数量的对数值对应作用时间的坐标曲线)呈线性,才可能进行 D 值的计算。若偏离线性,则较难预测一个有效的灭菌过程,宜进一步研究此类偏离,以更好地表征灭活动力学。

当可复苏存活微生物的分数低时,为估计其 D 值,可用 MPN 法测定三种对灭菌过程有极大抗力的微生物。该 D 值可作为计算出的作用时间可接受性的一种指示。

ISO 11135 的附录 B 中给出了 D 值测定的 MPN 法,在本标准的 A.4.2.4.2 中也有进一步的论述。

A.4.2.4.2 研究阶段

宜对液体化学灭菌过程进行确认,以能够评价试验微生物与医疗器械之间可能发生的相互作用,可通过对医疗器械上培养或接种的试验微生物灭活动力学的确定来完成。

此项评价需要研究人员进行以下四个基本阶段的研究工作:

- 确定液体化学灭菌剂最难到达的组件；
- 限定医疗器械或选择组件上微生物的确定方法；
- 确认医疗器械或选择组件上试验微生物的复苏/检验方法；
- 确定医疗器械或选择组件上试验菌的灭活动力学。

试验方法可采用直接计数建立存活菌数量-时间曲线(存活曲线)的方法,也可用 MPN 估计的方法(如:Stumbo、Murphy、Cochrana 或 Spearman Karber 法)。最好是用存活曲线法,因为该法能获得足够多的数据来确定在医疗器械或选择组件存在的情况下试验微生物对应时间的灭活动力学。如果医疗器械或组件不能恒定复苏对应于时间的存活菌群(即:无法浸透医疗器械或载体,从而无法估计存活微生物菌群),就只能使用 MPN 法。

虽然直接计数建立存活菌曲线的方法提供了较多有关试验菌灭活动力学信息,但需要消耗较多的时间和财力。直接计数程序是在预定的液体化学灭菌剂接触时间之后,设法提取全部活的试验菌。可按生物负载估计(ISO 11737-1)中所用的提取技术,例如可均化试验组件和制备适宜的存活菌计数稀释液。

可在无菌稀释液中无菌浸透或混合试验组件(即:动物组织)来均化试验组件。制备一系列同质稀释液,用标准计数方法对相应稀释液进行存活菌计数(见 ISO 11737-1)。

A.4.2.5 组织载体的使用

A.4.2.5.1 总则

使用悬浮液试验中被证实对液体化学灭菌剂具有最高抗力的微生物,宜评价该试验菌在试验组件中的灭活动力学。这一研究设计宜包括接种或培养的试验组件在液体化学灭菌剂中对应时间受控的(“最坏状况”)接触,宜在预定时间间隔内提取样本,用确认过的复苏方法估计存活菌总数。

根据完成的灭活动力学研究,宜绘制估计出的存活菌数对数值对应时间的存活菌曲线。然后可确定在最坏状况的灭菌条件下,试验组件上试验菌的 D 值。宜进行不少于 3 次灭活动力学的评价,以证实其重现性。

A.4.2.5.2 载体的选择

微生物灭活动力学研究宜在最不利于灭菌过程的载体材料上进行,载体的选择宜考虑载体与液体化学灭菌剂的接触和/或相互作用(如疏水性纤维状材料会比亲水性的光滑表面更难灭菌)。

如载体不易选择,则宜进行能识别最难灭菌载体的筛选试验。

A.4.2.5.3 确定试验组件(载体)上的微生物

为了创建一个评定灭菌过程有效性的模拟试验,并以一种与实际灭菌方式相近的方式进行估计,确定与液体化学灭菌剂接触前载体上存活微生物的方法非常重要。在试验组件上确定存活微生物的方法有两个:直接接种法或模拟生产条件培养法。

直接接种法是与液体化学灭菌剂接触之前,将活芽孢或细胞悬液接种于载体上。宜考虑在接触液体化学灭菌剂之前,向载体内渗透和附着的接种时间。另外,也宜对载体的杀菌作用予以考虑。

在可能会过量接种、所选定的微生物能在正常生产条件下在产品内/上生长时,则微生物培养方法宜首选模拟生产条件。宜确立试验菌载体的培养条件,在此条件下,产品内/上所存在的活菌水平应不低于 1 000 CFU,并在接触液体化学灭菌剂之前,同一培养系统中各组件上彼此是均匀的。在即将进行灭活动力学研究之前,宜收集用以证实最小适宜菌数和均匀性的数据。

宜对接触液体化学灭菌剂后载体上存活微生物的复苏方法进行确立和确认,确认宜能证实所选择的存活微生物的复苏方法具有再现性。

A.4.2.6 有机物质的影响

对某些产品来说,有机物质造成的污染会成为限制过程功效的因素。研究宜包括对含相应有机物质(如血清、白蛋白等)的溶液或无菌浸透组织悬液的评价。有机物质的种类及浓度宜形成文件。

对于含有机物质并要经过干燥的产品,所采用的载体宜接种在适宜的有机物质中干燥的微生物。这种接种过的载体宜含有抗干燥微生物,如:生孢芽孢梭菌、枯草芽孢杆菌、粪肠球菌、龟分枝杆菌和白色念珠菌(见表 A.1 和表 A.2)。

A.4.2.7 无菌操作过程的确认[5.3.8]

产品由灭菌剂中移至最终无菌容器中的无菌转移过程也需进行确认,确认宜包括下列各项:

- a) 按所采用的灭菌过程国家标准(见 ISO 11134、ISO 11135、ISO 11137)的要求对空容器进行灭菌的过程;
- b) 用于产品无菌转移的贮存液的灭菌过程;
注:宜按照 ISO 13408-1 的要求进行过滤除菌。
- c) 无菌转移所处环境的物理和微生物监视;
- d) 利用培养基试验,模拟从灭菌剂溶液向最终容器转移时可能接触环境的无菌转移技术。

A.5 常规微生物监视[6.1]

宜常规性地进行微生物分离和挑战性试验,此类试验的目的是测定灭菌过程中存在的微生物可能发生的变异。确认程序是针对给定范围的微生物评价灭菌过程,而常规试验则是提供证据,证实灭菌过程中存在的微生物抗力不高于原始确认研究(另见 A.4.2.3.1)中所用的微生物。

A.6 过程控制和监视[6]

使用液体化学灭菌剂的灭菌过程通常包含多个阶段:

- 液体化学灭菌剂的制备;
 - 在控制温度条件下,产品在规定时间内与灭菌剂接触;
- 如不是最终灭菌过程,则附加以下两个阶段:
- 产品初包装及产品贮存液的制备和灭菌;
 - 产品由灭菌剂移至初包装的无菌转移过程。

应认真控制灭菌剂的制备,宜保留诸如批号、批量的有关记录,并通过分析确定符合这些活性成分的最终浓度。灭菌剂溶液通常在使用前需过滤,以滤除灭菌剂各组分中的微生物和其他杂质。宜对滤后的滤器进行完整性试验。

灭菌过程要求在温度受控的条件下,并在有明确技术规范的灭菌容器中进行。

为了评定一个常规灭菌过程的可接受性,在产品取出后宜检查灭菌剂的组分。此类检查可以是化学方法或生物学方法。化学检查可以通过试验确定在过程全部完成之后,各组分在规范要求的范围之内。微生物检查则可将接种过的载体与使用后的灭菌剂接触,以证实其仍具有杀菌效力。

产品经过灭菌剂作用后,可能要无菌转移至最终容器中。在转移过程中,宜对周围环境进行微生物学监视。

宜确定并保持经过鉴定的从事无菌转移人员的名单。被批准人员名单宜得到持续评审,并以规定间隔对人员进行重新鉴定。对转移人员鉴定和重新鉴定一般采用培养基转移的方式,类似于鉴定过滤除菌和无菌加工所用的“模拟培养基灌装”的方法。

如果产品存放在贮存液中,贮存液在使用前宜进行灭菌。如使用无菌加工,则宜符合 ISO 13408-1。

在最终产品上进行无菌试验通常只能为一批产品无菌状态提供有限的测定。但作为例外,用这一试验可检测出灭菌过程完成后是否又发生微生物污染这类大的过失(见 6.3)。当进行此类微生物学试验时,重要的是确保去除任何残留杀菌活性的灭菌剂或贮存液(见 A.4.2.2)。

参 考 文 献

- [1] ISO 9004-1:1994 Quality management and quality system elements—Part 1:Guidelines
- [2] ISO 11134:1994 Sterilization of health care products-Requirements for validation and routine control-Industrial moist heat sterilization
- [3] ISO 11135:1994 Medical devices—Validation and routine control of ethylene oxide sterilization
- [4] ISO 11137:1995 Sterilization of health care products—Requirements for validation and routine control-Radiation sterilization
- [5] ISO 13408-1—¹⁾ Aseptic processing of health care products
- [6] ISO 13485:1996 Quality systems—Medical devices—Particular requirements for the application of ISO 9001
- [7] ISO 13488:1996 Quality systems—Medical devices—Particular requirements for the application of ISO 9002
- [8] ISO 14538—¹⁾ Biological evaluation of medical devices-Methods for the establishment of permissible limits for sterilization and process residues in medical devices using health-based risk assessment
- [9] EN 12442-1 Animal tissues and their derivatives utilized in the manufacture of medical devices—Part 1:Analysis and management of risks.
- [10] EN 12442-2 Animal tissues and their derivatives utilized in the manufacture of medical devices—Part 2:Sourcing,controls,collection and handling.
- [11] EN 12442-3 Animal tissues and their derivatives utilized in the manufacture of medical devices—Part 3:Elimination and/or inactivation of viruses and other transmissible agents—Determination of non-viability.
- [12] Commission of the European Communities (1989). The Rules Governing Medicinal Products in the European Community, Vol. IV, Guide to good manufacturing practice for medicinal products.
- [13] Commission of the European Communities(1992), Committee on Proprietary Medicinal Products: Ad Hoc Working Party on Biotechnology/Pharmacy-Guidelines for minimizing the risk of transmission of agents causing spongiform encephalopathies via medicinal products(11113298191-EN).
- [14] Directive 64/433/EEC,Council Directive of 26 June 1964 on health problems affecting intra-community trade in fresh meat(QJ 1121 29107164).
- [15] Directive 93/42/EEC,Council Directive of 14 June 1993 on Medical devices.
- [16] Pflug,I.J.and Holcomb,R.G..Principles of Thermal Destruction of Microorganisms,In: Disinfection, Sterilization and Preservation. 3rd edition. S. S. Block, ed., Philadelphia (PA): Lea and Febiger,1983.

中华人民共和国医药
行业标准
含动物源材料的一次性使用医疗器械
的灭菌 液体灭菌剂灭菌的确认
与常规控制

YY 0970—2013/ISO 14160:1998

*

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(100013)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235

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

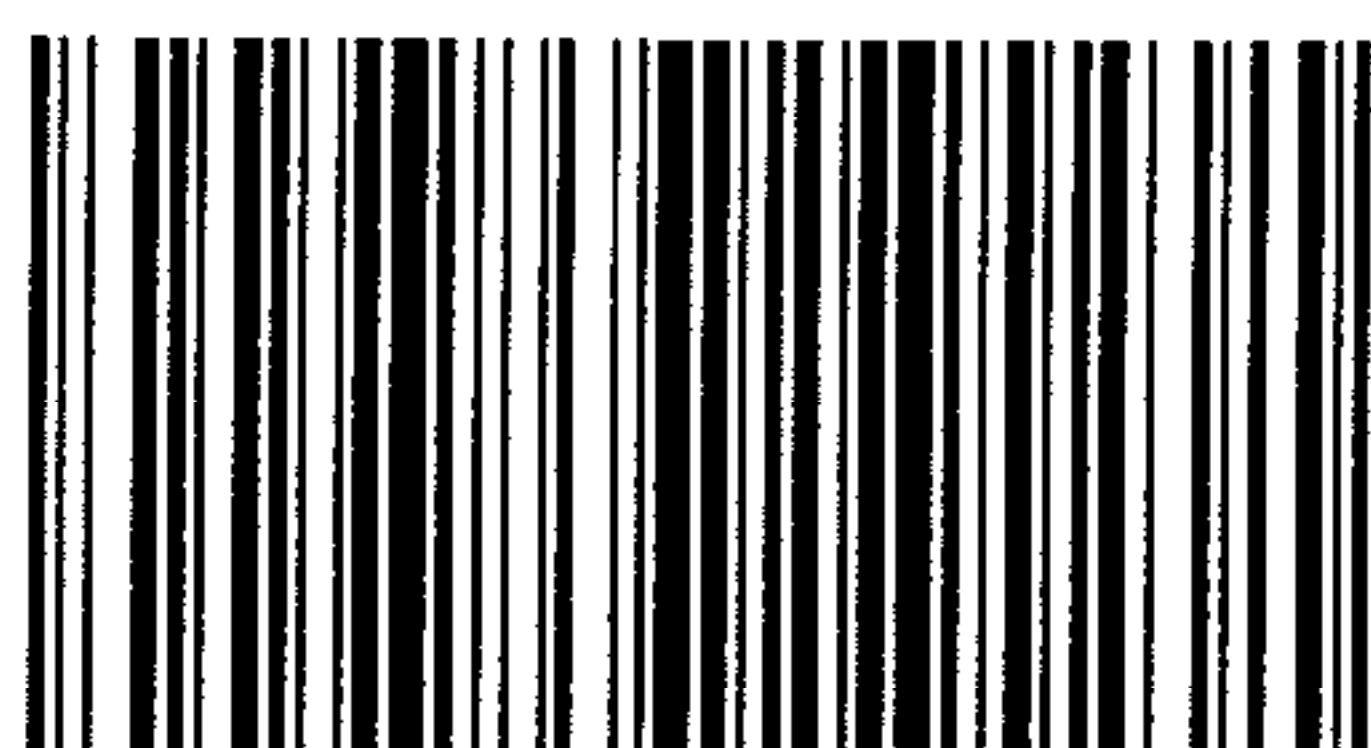
*

开本 880×1230 1/16 印张 1.5 字数 34 千字
2014年2月第一版 2014年2月第一次印刷

*

书号: 155066·2-26407

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 0970-2013