

综述

文章编号: 1001-8689(2020)08-0733-05

中国药典气体灭菌法质量标准的分析与现状思考

刘洪祥 李娅男 曹晓云* 郭福庆
(天津市药品检验研究院, 天津 300070)

摘要: **目的** 分析中国药典气体灭菌法质量标准与国外药典的差异以及对现状的思考, 探索进一步提高和完善中国药典气体灭菌法标准的路径。**方法** 将美国药典、欧洲药典、日本药局方与中国药典收载的气体灭菌法质量标准进行比对, 同时采取参阅其他文献和企业调研的方式展开研究。**结果** 中国药典与国外药典在气体灭菌法的质量控制上整体要求是一致的, 但在一些方面还存在一定的差异性, 如气体灭菌法的定义和范畴、生物指示剂的菌株种类和编码、物理化学指示剂的分类和异常说明、验证方法、灭菌剂残留的解析和检测等, 需要通过充分的技术评估和可行性分析来逐步完善; 此外我国大部分企业的硬件水平差距较为明显, 如气体浓度探头的使用、灭菌柜循环系统的配备、热解析室的建立等, 其根源很大程度上在于企业成本和发展观念的制约。**结论** 应根据我国实际情况, 进一步完善我国气体灭菌法的国家标准, 同时以提高技术标准为依托, 推动我国气体灭菌企业转变思维模式和观念, 不断优化工艺, 提高整体行业水平。

关键词: 中国药典; 气体灭菌法; 质量标准

中图分类号: R9 **文献标志码:** A

Analysis and reflection on gas sterilization quality standards of Chinese Pharmacopoeia

Liu Hong-xiang, Li Ya-nan, Cao Xiao-yun and Guo Fu-qing
(Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070)

Abstract Objective To analyze the difference of gas sterilization quality standards between Chinese pharmacopoeia and foreign pharmacopoeia and reflect on the current situation, exploring the means to improve gas sterilization quality standards of Chinese Pharmacopoeia. **Methods** The gas sterilization quality standards of Chinese Pharmacopoeia were compared with those in United States Pharmacopoeia, European Pharmacopoeia and Japanese Pharmacopoeia, at the same time referring to other literatures and investigating enterprises. **Results** The Chinese Pharmacopoeia and the foreign Pharmacopoeia are consistent with the overall requirements for quality control of gas sterilization, but there are still some differences in some aspects, such as the definition and scope of gas sterilization, the types of strains of biological indicators and coding, physicochemical indicators classification and anomaly description, verification methods, analysis and detection of sterilant residues, which need to be gradually improved through adequate technical evaluation and feasibility analysis. In addition, the gap in hardware level of most enterprises in China is relatively high. Obviously, the use of gas concentration probes, the circulatory system of sterilizing cabinets and the establishment of thermal desorption chambers are largely due to the constraints of enterprise costs and development concepts. **Conclusion** According to the actual situation in China, we should further

收稿日期: 2019-07-17

基金项目: 国家药典委员会“药品医疗器械审评审批制度改革——通则<1421>灭菌法的修订研究”(No. ZG2017-4-03)

作者简介: 刘洪祥, 男, 生于1982年, 硕士, 主管药师, 研究方向为药品质量标准研究, E-mail: yangjunsheng10@163.com

*通讯作者, E-mail: xiaoyuncao@126.com

revise the gas sterilization quality standards of Chinese Pharmacopoeia. Using promotion of quality standards, we can improve the thinking mode and the concept of enterprises, and optimize the technology and boost the level of industry.

Key words Chinese Pharmacopoeia; Gas sterilization; Quality standards

医药领域用品的安全性是国家最为关心的民生问题之一, 切实关系到百姓的切身利益, 真正的无菌、无毒、无害, 与其灭菌的方法密切相关。气体灭菌法是医药行业常采用的灭菌方式之一, 系指用化学灭菌剂形成的气体杀灭微生物的方法^[1]。

我国早有对气体灭菌法使用的文献报道, 如朱枫春^[2]在1978年论述了加压福尔马林气体灭菌法、氧化乙烯和二氧化碳混合气体(1:9)灭菌法对医院手术室的灭菌研究; 李荣芬^[3]在1986年对甲醛和环氧乙烷灭菌法的重要影响因素以及该法处理的医疗用品使用后出现的皮肤黑点、人员过敏等问题进行了阐述; 徐华雄等^[4]在1989年对20种中药袋泡剂采用环氧乙烷气体灭菌法的效果研究; 史春胜等^[5]在1996年利用乙醇气体对中药材灭菌方法的评估等。随着气体灭菌法被广泛应用于医院手术室、药品生产企业洁净室、中药材、医疗器械等的灭菌处理^[6-9], 为了规范和指导其使用, 我国药典开始收载和说明相关的内容, 并逐步完善气体灭菌法的相关定义、分类和使用范畴等。

1 中国药典中气体灭菌法历史概况与发展

中国药典自2000年版开始收载灭菌法, 附录灭菌法中对灭菌方法的分类为湿热灭菌法、干热灭菌法、除菌过滤法、辐射灭菌法和环氧乙烷灭菌法。事实上, 2000年版中国药典是以简要概述的形式阐述了环氧乙烷灭菌法, 尽管环氧乙烷灭菌法属于气体灭菌法, 但这一版的药典并未正式给出这种灭菌方式的定义。2005年版中国药典在附录XVII灭菌法中正式定义了气体灭菌法, 并将环氧乙烷灭菌法划归在该法项下, 同时提及了气态过氧化氢、甲醛、臭氧等其他方法, 并以常用的环氧乙烷气体为例进行了详细说明, 细化了其定义、增加了参数说明等。后续2010年版和2015年版中国药典对灭菌法再无进一步的细化修订, 气体灭菌法也无内容上的变更。

2 中国药典同国外药典的差异性

2.1 定义及范畴

在第42版美国药典、第9版欧洲药典、第17版日本药局方和2015版中国药典的比较中, 除美国药典对气体灭菌的定义进行了细化说明, 认为以气体形式灭菌的操作为气体灭菌而以气液混合形式灭菌则

为汽相灭菌, 特别指出过氧化氢、过乙酸、多聚甲醛等属于汽相灭菌, 其他3国药典均将这些方法合并称为气体灭菌。

在涉及的范畴中, 美国药典涵盖了具体方法, 如环氧乙烷、臭氧、混合氮氧化物和二氧化氯; 欧洲药典则以灭菌原理, 即烷基化试剂和氧化试剂进行了介绍; 日本药局方涉及了环氧乙烷和过氧化氢; 中国药典包括环氧乙烷、气态过氧化氢、甲醛、臭氧等。

2.2 生物指示剂

美国药典将所罗列气体灭菌法的生物指示剂一一对应给出, 如环氧乙烷为萎缩芽孢杆菌(先前是枯草芽孢杆菌尼日尔变种)、臭氧是嗜热脂肪芽孢杆菌和萎缩芽孢杆菌、二氧化氯是萎缩芽孢杆菌、二氧化氮是嗜热脂肪芽孢杆菌和萎缩芽孢杆菌。欧洲药典、日本药局方和中国药典都以环氧乙烷为例给出了生物指示剂的类别, 不同的是欧洲药典和日本药局方, 所列的生物指示剂都给出了具体的菌种保藏中心和菌株编号, 如欧洲药典所列为“环氧乙烷灭菌使用萎缩芽孢杆菌(例如ATCC9372、NCIMB8058、NRRRLB-4418和CIP77.18), 或其他经验证具有等同性能的微生物菌株”, 此外需要指出的还有中国药典中环氧乙烷的生物指示剂仍为枯草芽孢杆菌, 与国外药典及中国国家标准均不一致。

2.3 物理化学指示剂

美国药典中对物理化学指示剂定义为提供直观证据证明经过一个或多个关键灭菌参数的装置。物理化学指示剂不能作为灭菌效果的主要证据。日本药局方除了对其进行定义外, 则更为详细的根据应用, 列举了6类。欧洲药典和中国药典则未涉及此方面内容。

2.4 验证方法

美国药典给出了半循环和归纳法两种, 欧洲药典和日本药局方给出的均为半循环法, 中国药典指出需验证但未给出具体方法。

3 现存问题的研究与建议

根据现行各国药典对气体灭菌法的阐述以及我国在此方面的现状, 本文作者采取文献研究法、企业问卷调查法、企业现场走访座谈法, 挖掘存在的

问题，思考标准制定的难点，下面对较为重要的5个问题进行总结阐述。

3.1 化学灭菌剂的收载

甲醛熏蒸的气体灭菌法具有较好的灭菌效果^[10-12]，曾一度为我国实验室广泛使用，但因安全性和腐蚀性的原因，欧美等国家已经明确规定禁止使用该法灭菌^[13]。臭氧灭菌法是通过使氧气或空气穿过高压电区域而产生的一个强氧化剂O₃杀灭微生物的方法，该法常用于制药行业的物品^[14-16]和洁净区的消毒^[17]、医院临床如牙科的辅助消毒^[18]等。混合氮氧化物灭菌法曾有用于农产品^[19]、水产品^[20]、医疗器械等的消毒记载，此法中主要气体为二氧化氮，其使用安全且残留物不具有致癌和细胞毒素，与环氧乙烷相比，对聚合物材料的穿透性有限。二氧化氯灭菌法用途广泛，对水、食品、环境等消毒多有涉及^[21]，其使用纯的二氧化氯气体，是亚稳定状态，非致癌的、不可燃烧，穿透物料的能力较环氧乙烷小。

在企业调研中，根据大部分企业反馈的意向，同时考虑到中国药典更为针对的是无菌产品的指南，因此本研究提出如下4点意见：①生产实践中甲醛和臭氧在现有设备条件下是很难达到无菌水平，即非无菌概率(probability of a nonsterile unit)PNSU≤10⁻⁶，故建议不必留存甲醛法和臭氧法的相关内容；②不建议收载混合氮氧化物法和二氧化氯法，因这两种方法仅在美国药典有收录，并未普及和广泛使用，效果有待考察；③建议将过氧化氢法置于其他部分进行阐述，因过氧化氢使用中是气-液共存的形态，并非纯气体状态；④因环氧乙烷在我国现阶段的大范围使用，建议中国药典增加对此法的更进一步细致说明。

3.2 环氧乙烷气体灭菌法的适用范围

环氧乙烷灭菌法的使用约有90年的历史^[22]原主要用于工业规模的灭菌，随着现代工业技术和自动化、智能化技术的发展，已经使得环氧乙烷灭菌法应用于不耐高温、不耐辐射物品的灭菌^[23-25]，如医疗器械^[26]、塑料制品和药品包装材料等。此外，由于该法穿透力强、杀菌谱广、对物品损伤轻、物品保存期长、灭菌效果好^[27-28]、费用低廉等优点而被广泛使用，美国20世纪90年代起几乎所有的医疗器械物品均用环氧乙烷进行灭菌，我国近些年也开始大量地使用此法对医药用品进行灭菌。

2015年版中国药典对环氧乙烷气体灭菌法的使用说明中指出“含氯的物品及能吸附环氧乙烷的物品则不宜使用本法灭菌”。但在企业反馈中提到，

含氯物品用环氧乙烷灭菌后的副产物只有氯乙醇且经解析后的残留在规定范围内时，是可以使用的，另GB/T16886.7-2015也规定了医疗器械环氧乙烷灭菌后氯乙醇的残留标准。此外，医疗器械虽然对环氧乙烷是存在吸附的，但只要能在解析阶段将残留的环氧乙烷去除，该法仍可被使用。因此，建议对此说明进行修订。

3.3 物理化学指示剂变色异常情况

化学指示剂用于提供直观证据，证明物品经过一个或多个关键灭菌参数，因此其重要性不言而喻^[29-30]。化学指示剂的制造商应在技术信息中提供化学指示剂变色异常情况的说明以对用户科学、合理的使用进行指导，但就目前的情况，本研究发​​现众多制造商并未提供指南。那么就在中国药典中是否需要增加同样的说明以进行指导的问题上，本研究对企业进行了调研，未关注此问题的企业高达40%，具体情况见表1。在关于化学指示剂变色异常的问题上，GB/T33418-2016环氧乙烷灭菌化学指示物检验方法中“5.2.3中提及了化学指示剂变色情况的说明”，本研究认为中国药典应给予企业使用化学指示剂的相关指导，建议其关注制造商对异常变色情况的说明。

表1 物理化学指示剂情况

Tab. 1 The situation of physicochemical indicators

是否关注和遇到过指示剂变色异常的情况			
关注过且 遇过类似情况	关注过但未 遇过类似情况	未关注过 但遇过类似情况	未关注过且 未遇过类似情况
4家	8家	2家	6家

3.4 灭菌气体浓度监控探头的必要性

灭菌柜内的浓度监控探头，在一定程度上会提高成本，但对于保证灭菌效果，及时发现问题具有重要意义。以具有典型意义的环氧乙烷气体灭菌法为例，其浓度监控探头可依据红外吸收技术，通过接收器对气体在特定吸收波长和非吸收波长的强度值对比计算，实现浓度的检测。该法与国家标准中可以采取的其他间接方式(重量、体积、压强来推测控制灭菌腔内的灭菌气体浓度)相比，优势在于：①具备数据的直观性、准确度高；②实现数据的实时采集、监控；③反馈灭菌柜内低浓度点数据，以满足灭菌要求。而劣势则为①价格不菲；②探头易被腐蚀，需定期检测性能及更换。在调查中，本研究发​​现65%的企业认为浓度监测探头在灭菌中的直观性、准确性和及时性是无可替代的，具体情况见表2。但实际

表2 浓度探头情况
Tab. 2 The situation of concentration probe

浓度监测探头的必要性			
非常有必要	有必要	有或无均可	没有必要
13家	4家	1家	2家

上在走访的企业中安装该探头的企业很少，在进一步的了解后，本研究认为浓度探头的成本和日常维护以及校准的难点，是众多企业采用间接方式的根源。如果无法做到通过浓度探头来实现灭菌柜体内的灭菌气体均匀性的考评，建议中国药典中增加采用安装灭菌柜体内的循环系统来进行纠偏的指导。循环系统是通过灭菌柜内风机的全程运转来实现灭菌气体的均匀分布。间接方式(重量、体积、压强来推测控制灭菌腔内的灭菌气体浓度)一般只能确定灭菌柜内气体的理论浓度，而无法确定灭菌柜内各部分灭菌气体的均匀性。因环氧乙烷灭菌气体密度大于空气，注入柜体后通常会出现底部浓度高，上部浓度低的情况，而灭菌气体自然扩散达到柜体内浓度均匀的时间也是不确定。因此，采用循环系统可以消除灭菌气体不均匀所带来的影响，如部分产品灭菌效果欠佳、局部产品残留过高等问题。

3.5 残留物的解析及检测方式

气体灭菌法存在一个共性的问题就是灭菌化学试剂的残留问题，本研究以环氧乙烷气体灭菌法解析方式为例展开研究分析，一是因为此法现阶段在我国广泛的使用、二是环氧乙烷气体具有高致畸性。在业内采用新鲜空气置换的方法称为自然解析，但在实际使用过程中，由于自然解析的速度慢、效果不佳，因此生产企业对一些具有良好热稳定性的物品，可采用通入加热过的空气并控制时间、温度、压力改变、空气或其他气体的换气次数等参数，达到加快解析速度的目的。在企业调研，即表3的统计中，本研究发现有70%的企业使用较为传统的自然解析方法，但这些企业都表示他们的自然解析过程和工艺也是经过确认的，当然他们也在逐步使用热解析的方式来替代旧方法来提高解析的效率和效果。本研究认为自然解析和热解析均可以达到降低残留的目的，区别在于前者需要的时间较

表3 解析方式情况
Tab. 3 The situation of desorption method

残留去除的方式	
自然通风解析	设定有固定参数的热解析
14家	6家

后者长一些，但需要强调的是自然解析的时间需要经过验证，这样才能保证最终的解析效果。

表4列举了国家标准中的3种残留量的检查方法，但可以发现尽管比色法是最为经济的，但认可并采用该法的企业仅占10%。环氧乙烷灭菌后产品内会残留环氧乙烷和氯乙醇，使用精准的检测方法对使用者的安全保障具有重大意义。因此，本研究建议中国药典增加残留量检测的相关指导内容。

表4 残留量检测方法
Tab. 4 Detection method of residual quantity

采用何种残留量检查方法较为准确				
液相法	气相法	比色法	液相法和气相法均可	3种方法均可
4家	9家	0家	5家	2家

4 总结与展望

目前本研究所使用的“无菌”概念，是概率意义上的“无菌”，即活微生物存在的概率低至可接受的水平。因此，灭菌法对这种概率意义上的无菌保证意义重大。对照现行版中国药典与国外药典，在气体灭菌法的质量控制上整体要求是一致的，在其收载分类、生物指示剂、验证方法等方面存在一定的差异性，后续本研究需要通过充分的技术评估和可行性分析，同时根据我国现有的实际情况，来逐步完善我国药典中气体灭菌法的指导原则。

在对我国部分企业的调研中，本研究发现企业的灭菌硬件水平上差距较为明显，如气体浓度探头的使用、灭菌柜循环系统的配备、热解析室的建立等。经进一步的走访和深入研究后，本研究认为有些企业采取非优良的硬件设备和非优技术方法的根源很大程度上在于企业成本和发展的观念制约。因此，我国药典不但需要从技术方面上给予指导还需要从技术层次上来引导本研究企业发展观念，提倡通过高水平的行业标准和自身技术，将企业做大做强，而非过度关注成本和利润，追求低层次的盈利；其次也要在逐步提高国家法规标准中，推动企业提升、求生存，摒弃粗放式发展。

参考文献

[1] 孔静. 医疗器械的灭菌方法以及灭菌效果的验证[J]. 科技与企业, 2012, 1(4): 223-224.
[2] 朱枫春. 手术室无菌技术的进展简介[J]. 辽宁中级医刊, 1978, 1(5): 46-47.
[3] 李荣芬. 气体灭菌法[J]. 消毒与灭菌, 1986, 3(1): 117.
[4] 徐华雄, 马蓁. 单味药袋泡剂灭菌方法的探讨[J]. 湖南中医杂志, 1989, 16(2): 49-51.

- [5] 史春胜, 刘君富, 孙永晨, 等. 应用乙醇气体灭菌法提高药品质量[J]. 中医药信息, 1996, 14(3): 49.
- [6] 郭奕, 李春娥, 李光达. 中药原生药粉的灭菌方法及其设备选型[J]. 机电信息, 2016, 16(29): 9-15, 56.
- [7] 徐国凤, 韩德辉, 周美娜, 等. 腹腔镜手术器械环氧乙烷灭菌管理[J]. 吉林医学, 2016, 37(1): 248-249.
- [8] 孙敬, 陈彦丽, 柴海荣, 等. 环氧乙烷在医疗器械消毒应用中质量分析[J]. 继续医学教育, 2017, 31(2): 130-131.
- [9] 彭远明. 档案消毒灭菌新方法——臭氧消毒房的适用性、功效及影响探析[J]. 档案学通讯, 2019, 42(1): 90-96.
- [10] 黎特利, 吴曼若. 无菌制剂生产环境甲醛熏蒸灭菌的验证[J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(21): 23.
- [11] 商晓会. 两种低温灭菌方法在供应室物品灭菌的选择运用效果评价[J]. 临床医药文献电子杂志, 2017, 4(76): 14901-14902.
- [12] 梁平. CSSD低温灭菌方式选择及存在的问题[J]. 中国医疗器械信息, 2018, 24(23): 36-38, 142.
- [13] 宋文光, 余军阳, 吴美英. 浅析生物指示剂在制药工艺验证中的应用[J]. 机电信息, 2017, 17(5): 7-10, 24.
- [14] 孙昱. 中药灭菌方法探讨[J]. 中国临床药理学志, 2018, 34(19): 2380-2382.
- [15] 黄兴. 药厂洁净室空调系统的消毒及灭菌[J]. 机电信息, 2018, 18(17): 38-43.
- [16] 王学成, 伍振峰, 万娜, 等. 臭氧与硫熏处理后当归品质变化情况的比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(3): 36-40.
- [17] 马玲玲. 臭氧灭菌在药品生产中的应用分析[J]. 化工管理, 2019, 32(5): 192-193.
- [18] Krunic J, Stojanovic N, Đukić L, *et al.* Clinical antibacterial effectiveness and biocompatibility of gaseous ozone after incomplete caries removal[J]. *Clinl Oral Investig*, 2018, 2(23): 785-792.
- [19] 赵翀, 高智军. 水产品消毒剂的应用现状和发展趋势[J]. 饲料广角, 2013, 29(23): 20-21.
- [20] 潘家相. 新的灭菌药剂——二氧化氮[J]. 吉林农业科学, 1960, 1(5): 83-84.
- [21] Jung K M, Lee G W, Cho M A, *et al.* Effect of chlorine dioxide in reduction of harmful microbes on fermented hot pepper paste[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2019: 1-6. doi: 10.1007/s10068-019-00606-8.
- [22] Frosin V N, Tsibikov V B, Izvekova G I, *et al.* Selection of a mode for formaldehyde-gas sterilization[J]. *Biomedical Engineering*, 1980, 5(14): 178-181.
- [23] 潘红. 循证法应用于环氧乙烷灭菌质量控制的探讨[J]. 科技经济导刊, 2018, 26(30): 113-115.
- [24] 邹从霞. 环氧乙烷灭菌原理及影响灭菌效果的因素[J]. 计量与测试技术, 2018, 45(8): 65-66.
- [25] 谭捷. 环氧乙烷生产技术研究新进展[J]. 精细与专用化学品, 2018, 26(4): 43-45.
- [26] Yoon J H, Yoon B C, Lee B L, *et al.* Comparison of sterilization of reusable endoscopic biopsy forceps by autoclaving and ethylene oxide gas[J]. *Digest Dis Sci*, 2012, 2(57): 405-412.
- [27] 孙敬, 陈彦丽, 柴海荣, 等. 环氧乙烷低温灭菌使用中问题及防范策略分析[J]. 中国卫生标准管理, 2017, 8(1): 137-139.
- [28] 韩海军, 张玉红, 贾东涛. 环氧乙烷消杀DNA污染效果初探[J]. 中国法医学杂志, 2018, 33(1): 47-50.
- [29] 吴晓松, 徐燕. 环氧乙烷灭菌化学指示标签指示效果评价[J]. 中国消毒学杂志, 2013, 30(12): 1124-1126.
- [30] 徐燕, 孙巍, 吴晓松. 环氧乙烷灭菌技术应用与发展[J]. 中国消毒学杂志, 2013, 30(2): 146-151.