

前 言

GB/T 16886 的本部分等同采用国际标准 ISO 10993-7:1995《医疗器械生物学评价——第 7 部分：环氧乙烷灭菌残留量》。

本部分的附录 A 和附录 B 为标准的附录，附录 C、附录 D 和附录 E 均为提示的附录。

本部分由国家药品监督管理局提出。

本部分由全国医疗器械生物学评价标准化技术委员会归口。

本部分起草单位：国家药品监督管理局济南医疗器械质量监督检验中心。

本部分主要起草人：施燕平、秦冬立、田青、朱雪涛。

ISO 前言

ISO(国际标准化组织)是由个各国标准化团体(ISO 成员团体)组成的世界性的联合会。制定国际标准的工作通常由 ISO 的技术委员会完成,各成员团体若对某技术委员会已确立的标准项目感兴趣,均有权参加该委员会的工作。与 ISO 保持联系的各国际组织(官方或非官方的)也可参加有关工作。在电工技术标准化方面 ISO 与国际电工委员会(IEC)保持密切合作关系。

由技术委员会正式通过的国际标准草案提交各成员团体表决,国际标准需取得至少 75% 参加表决的成员团体的同意才能正式通过。

国际标准 ISO 10993-7 是由 ISO/TC 194 国际标准化组织医疗器械生物学评价技术委员会制定的。

ISO 10993 的总题目是医疗器械生物学评价,由下列部分组成:

第 1 部分:评价与试验;

第 2 部分:动物保护要求

第 3 部分:遗传毒性、致癌性和生殖毒性试验

第 4 部分:与血液相互作用试验选择

第 5 部分:细胞毒性试验:体外法

第 6 部分:植入后局部反应试验

第 7 部分:环氧乙烷灭菌残留量

第 9 部分:与生物学试验有关材料降解[技术报告]

第 10 部分:刺激与致敏试验

第 11 部分:全身毒性试验

第 12 部分:样品制备与标准样品

第 13 部分:聚合物降解产物的定性与定量

第 14 部分:陶瓷制品降解产物的定性与定量

第 15 部分:金属与合金降解产物的定性与定量

第 16 部分:降解产物和可沥滤物毒性动力学研究设计

第 17 部分:工业化灭菌的医疗器械戊二醛和甲醛残留量

本标准的附录 A 和附录 B 为标准的附录,附录 C、附录 D 和附录 E 仅供参考。

引 言

用环氧乙烷气体对医疗产品进行灭菌,其确认和常规监测的质量体系要求已由 TC198 制定了国际标准。关于医疗器械的生物学试验、试验选择和器械分类的各国际标准则由 ISO/TC194 制定。有关环氧乙烷和其他灭菌过程残留量的特殊要求也是 ISO/TC194 的工作范围,其他的国际标准叙述了对具体产品生物试验的特殊要求。

当确定环氧乙烷对医疗器械灭菌的适宜性时,重要的是应确保环氧乙烷和 2-氯乙醇的残留量对正常使用此产品的患者造成的危害最小。环氧乙烷会产生一定程度的生物反应。在制定本标准的过程中,对包括刺激、器官损害、人和动物体内的致突变和致癌性、动物体内的生殖反应等在内的反应都给予了考虑,同样也考虑到 2-氯乙醇和乙二醇的有害反应。实际上对大多数器械而言,环氧乙烷和 2-氯乙醇的接触量明显低于在本标准中规定的最大数值。

产品的开发和设计应考虑选择合适的材料和灭菌过程,以使残留量降至最低。本标准中的要求不在 GB/T 16886.1 所述各医疗器械的生物试验要求的范围之内。生物试验要求连同环氧乙烷灭菌残留量限量一起,方能证明经环氧乙烷灭菌的器械是否可用。

中华人民共和国国家标准

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—2001
idt ISO 10993-7:1995

Biological evaluation of medical devices—
Part 7: Ethylene oxide sterilization residuals

1 范围

本标准规定了经环氧乙烷灭菌的医疗器械单位产品上环氧乙烷(EO)和2-氯乙醇(ECH)残留量的允许极限、环氧乙烷及2-氯乙醇的测量方法以及确定器械是否可以放行的方法。本标准提示的附录中还给出了其他背景资料和指南。本标准不包括那些不与患者接触的经环氧乙烷灭菌的器械(如,体外诊断器械)。

2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

GB/T 16886.1—2001 医疗器械生物学评价 第1部分:评价与试验

GB/T 16886.3—1997 医疗器械生物学评价 第3部分:遗传毒性、致癌性和生殖毒性试验

GB/T 16886.10—2000 医疗器械生物学评价 第10部分:刺激和致敏试验

3 定义

本标准使用GB/T 16886.1给出的定义和下列定义。

3.1 模拟使用浸提法 simulated-use extraction

按照本标准要求,模拟产品使用的过程,用水来提取残留物质,以此评价患者或使用者在日常使用器械过程中所接触到的残留量。

注1:对于分析实验室验证的重点是,须证明采用的模拟使用浸提法是在预期使用最严格的条件下进行的。用模拟法提取产品,是假设器械按最严格的接触时间分类,并考虑所接触的组织 and 温度。

3.2 极限浸提法 exhaustive extraction

浸提到下次浸提中的EO或ECH的量不足第一次浸提测得值的10%。或浸提到测得的累积残留量无明显增加(见E1)。

注2:对残留量完全回收是不可能的,所以用以上极限浸提法的定义。

4 要求

注3:在本标准提示附录中给出了确定极限值的信息和其他使用本标准的背景信息。

4.1 总则

本章规定了医疗器械灭菌后单位产品上环氧乙烷(EO)的最大允许残留量,以及当发现用EO进行灭菌的医疗器械存在2-氯乙醇(ECH)时,ECH的最大允许残留量。

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 2001-09-24 批准

2002-02-01 实施

没有规定乙二醇(EG)的接触量限度,因为风险评价表明,当按本标准的要求控制 EO 时,不太可能存有显著生物学影响的 EG 残留量(见 E1)。

本标准的要求不包括在 GB/T 16886.1 中规定的生物试验要求。对用 EO 灭菌的器械,应特别注意 GB/T 16886.1 和 GB/T 16886.10。GB/T 16886.1 中所有适用的要求都应考虑到各种类型的医疗器械放行时 EO 残留量的水平。

器械生物学评价的结果,会导致采用比在 4.3 中所规定的更为严格的限度(4.3 中规定的极限是为防止全身反应所设定的)。例如,所有的器械应考虑刺激反应,尤其是小器械(见 E2)。本标准不考虑急性局部反应,因为这方面的数据还不充分。但对小器械,要注意特别出现这种反应的可能性和 EO 在单位表面积上的浓度。

4.2 器械的分类

在确定医疗器械所允许释放给患者的 EO 和 ECH 的最大日剂量时,器械应按接触时间进行分类。

按照 GB/T 16886.1—2001 4.2,有以下三种作用类型。

- a) 短期接触:一次或多次使用、接触器械不超过 24 h。
- b) 长期接触:一次或多次使用、接触器械超过 24 h,但不超过 30 d。
- c) 持久接触:一次、多次或长期使用、接触器械超过 30 d。

注 4: 如果材料或器械兼属于一种类型以上的时间分类,应使用较严的试验要求。对于多次接触的器械,在确定器械属于哪一分类时,建议考虑潜在的累加次数作用时间的总和。

注 5: 本标准中的“多次使用”是指重复使用同种器械。

4.3 允许限量

对每一种医疗器械,按 4.2 分类,释放给患者的 EO 和 ECH 的最大剂量应不超过以下给出值。

注 6: 持久接触和长期接触器械的限量以最大平均日剂量表述。同时还要遵循前 24 h 接触期的附加限定,对持久接触器械要遵循前 30 d 接触期的附加限定。这些限定规定了早期释放给患者的 EO 和 ECH 限量。附录 E E2 中叙述了确定允许限量的过程。

4.3.1 持久接触器械

EO 对患者的平均日剂量不应超过 0.1 mg/d。此外最大剂量:

前 24 h 不应超过 20 mg;
前 30 d 不应超过 60 mg;
一生不应超过 2.5 g。

ECH 对患者的平均日剂量不应超过 2 mg/d。此外最大剂量:

前 24 h 不应超过 12 mg;
前 30 d 不应超过 60 mg;
一生不应超过 50 g。

4.3.2 长期接触器械

EO 对患者的平均日剂量不应超过 2 mg/d。此外最大剂量:

前 24 h 不应超过 20 mg;
前 30 d 里不应超过 60 mg。

ECH 对患者的平均日剂量不应超过 2 mg/d。此外最大剂量:

前 24 h 不应超过 12 mg;
前 30 d 里不应超过 60 mg。

4.3.3 短期接触器械

EO 对患者的平均日剂量不应超过 20 mg。

ECH 对患者的平均日剂量不应超过 12 mg。

注 7: 同时使用多个器械或器械用于新生儿会使作用加剧,如 E 2.1.1 所述。

4.3.4 特殊情况

对多器械系统,应对每个器械规定限量。

眼内透镜上 EO 残留量每只每天应不超过 $0.5\ \mu\text{g}$,每个透镜不应超过 $1.25\ \mu\text{g}$ 。

对血液氧合器和血液分离器,EO 对患者的平均日剂量不应超过 $60\ \text{mg}$ 。

对体外血液净化装置,上述长期和短期分类中规定的 EO 和 ECH 的限量同样适用,但允许超过 EO 一生剂量的限量。

注 8: 对某些器械所规定的 EO 限量的原则与 E2.1.3 所述的一般要求是有出入的。

4.4 EO 和 ECH 残留量的测定

测定残留量是否符合 4.3 的步骤包括从样品中浸提残留物、确定残留物的数量、分析并解释数据。

4.4.1 安全考虑

危险:制备样品的分析人员进行的所有工作,包括化学试剂的使用,应在通风橱内进行,并穿戴防护衣。使用化学药品之前应阅读材料安全方面的说明。

4.4.1.1 环氧乙烷

环氧乙烷是一种可刺激身体表面并引起强烈反应的可燃气体。在很多情况下,环氧乙烷是可致突变的,对胎儿可产生毒性并可致畸,对睾丸的功能具有副作用,并能损害体内的许多器官系统。在动物致癌研究中,吸入 EO 可产生几种增生性变化,包括白血病、脑肿瘤和乳房肿瘤。而当食入或皮下注射 EO 时,则只在接触部位形成肿瘤。一位调查者曾报道过,与 EO 接触的工作人员,致癌率和死亡率较高,但对工人的几项近期研究结果则表明与该发现不相符。

4.4.1.2 2-氯乙醇

2-氯乙醇是一种刺激身体表面、具有急性毒性、可以通过皮肤快速被吸收的可燃液体。ECH 还具有微弱的致突变性,有潜在的致胎儿毒性和致畸性的可能,并对体内的几种器官系统:包括肺、肾、中枢神经系统和心血管系统造成损伤。ECH 在动物的癌肿瘤生物评价中,呈阴性。

4.4.2 残留量的测定

应使用确认过的浸提和测量方法,测定患者所接受的 EO 及 ECH(必要时)的量值。

注 9: 如果按 B5.2 和 B5.7 所给的方法进行分析后,没有检测到 ECH,那么无需再对 ECH 进行测试。

附录 B 中描述了符合该要求的确认过的方法。但是,任何表明其分析可靠的方法,只要经证明符合附录 A 的要求,并且是以附录 B 中的仲裁方法为基准的,都可以使用。

在选择适当的定量测定 EO 和 ECH(必要时)的浸提方法(4.4.6)时,指导原则是评价患者的接收剂量,以符合 4.3 规定的要求。

通过极限浸提测试,残留量在产品要求范围之内,且符合 4.3 中所有限量,那么就没有必要进一步通过模拟使用浸提法来测试器械。当使用极限浸提法时,应特别注意 4.3 中所述的 EO 在前 24 h 和前 30 d 的限量。

附录 B 描述了这些方法。这些方法已由知识丰富的专家在装备良好的实验室内进行了研究,并在实验室间进行了对比和评价。但是,由于材料和无菌医疗器械的制造方法有很大差异,在某些情况下,使用附录 B 的方法测定 EO 和 ECH 残留量仍可能存在问题。

因此,任何表明其分析可靠(即有一定精度、准确度、线性、灵敏度和选择性)的方法,只要经确认,就可以采用。附录 A 中给出了一般性确认要求,附录 B 中的方法可用作仲裁方法,作为评价其他可供选择方法的基准。

4.4.3 产品抽样

4.4.3.1 有代表性的样品

用于残留量分析的样品应能真实地代表产品。在选择样品时,应注意在附录 C 中提到的诸多因素。因为这些因素不但影响器械组成部分上的最初残留量水平,而且影响残留量消散速度。当试验样品从总批量中选出送往实验室分析时,也应注意到这些因素。

从刚完成灭菌循环的批量产品中抽取样品,运送至远离灭菌地点的实验室或贮存在实验室里以备日后分析,会造成样品上的残留量不能反映批量产品中的残留量。但是,如果样品不能从批量产品中抽取,也就没必要考虑通风条件对样品的影响。在一年中的各个季节需进行试验以确立样品通风和产品总量通风的关系。

4.4.3.2 处理样品

应采取预防措施,减少或控制实验室条件在通风速度方面对从批量产品(另见 C1.5)中抽取的试验样品的影响。此外,应确保操作者和分析者的安全。

在分析之前,建议样品与批量产品保存在一起。应尽量缩短从一受控的通风区域中取出到开始浸提样品之间的时间。

如果要推迟分析时间,应将样品冷冻密封、运输和贮存。样品应贮存在干冰中夜间运去送检。容器在整个运输过程中,直至实验室打开包装时应始终保持有干冰。或者在所要求的通风时间间隔上,直接从灭菌批中取样立刻放于适当的浸提液或顶端上空管瓶中,密封后,送到实验室分析。

样品应按照产品标签中的使用前说明来制备。

用于分析的样品,建议在通风橱内打开包装。当器械从包装中取出或用前准备工作完成之后,宜尽早进行样品浸提。

4.4.3.3 “空白”样品

在同一保留时间内,为了确保测定残留物时无其他样品成分存在,应评价“空白”样品中是否有这种干扰出现。方法是用与 EO 灭菌的样品相同的浸提过程对未灭菌的样品浸提。在气相色谱分析中,如果出现从“空白”中提取的物质与残留物保持时间相抵触或相重叠,则应改变色谱条件,把干扰峰从分析峰中分离出来,或应选用另一分析过程。

4.4.4 样品/液体比率

用于浸提器械或器械上有代表性部分上残留物的液体体积,应足以达到最高提取效率,同时又保持检测灵敏度。因此,由器械样品的性质和大小确定浸提用液的最佳体积。各种器械样品/浸提用液之比的范围是从 1:2 至 1:10(也就是 1 g 浸于 2 mL 中至 1 g 浸于 10 mL 中)。由高吸收材料制成的器械或用充入浸提用液的方法提取残留物的器械,可能需要反映浸提液体积增加的样品,浸提用液之比。但无论何种情况,样品、浸提用液之比不应降低检测灵敏度。

4.4.5 浸提时间和条件

产品浸提的目的是为表明器械在实际使用中可能释放给患者的“最坏情况”的量值:接触期为一天的短期接触限量,一天至一个月的长期接触限量,以及一天至一个月乃至一生的持久接触限量。如附录 E 所述,如下所述的极限浸提只要保证其满足了较短期接触器械限量,就适用于持久接触器械。

4.4.6 产品浸提

有两种基本的浸提方法用于确定医疗器械的灭菌残留量:模拟使用浸提法(仲裁法)和极限浸提法。在某些情况下,后者是理想的选择,应根据器械的预定用途选择浸提方法。推荐的浸提方法的例子见附录 D。

所选的浸提方法应能代表产品预定使用中带给患者的最大风险,而不单是追求分析效率或使残留量表观浓度降至最低。浸提温度和时间应按照器械作用于患者的性质和接触时间来确定,如 4.2 和 4.3 所述。

4.4.6.1 模拟使用浸提法(仲裁方法)

4.4.6.1.1 模拟使用水溶液浸提法是仲裁方法,它是唯一直接产生 4.3 中规定极限可比结果的方法。这些限量以“EO 和 ECH 释放给患者的剂量”表示。

因为很有必要评价患者或其他最终使用者在常规使用中从器械中接受到的残留量水平,所以要用模拟使用浸提法。模拟使用浸提法应在对预定使用最为严格的条件下进行。

例如,对许多血液接触器械和肠胃外器械,可用水或其他水溶液充入或冲洗血路或液路来进行浸

提。浸提样品的时间应大于或等于产品使用一次所用的最长时间(即保证全部浸提),浸提温度采用器械实际使用中的最高温度。也可以制备一系列代表各种短期时间的浸提液(建议最少三个),从而能用浸提比例来计算长期或日常重复作用的影响。

为测定在正常使用产品的过程中 EO 和 ECH(必要时)释放给患者的剂量,可用模拟使用水溶液浸提过程,模拟使用浸提过程应经确认,以证明患者实际接触 EO 的水平。

注 10: 通过模拟正常产品使用过程浸提出的 EO(或 ECH)的量值,不一定与整个产品上残留的总含量相同。

一般用水和其他水溶液系统(Kroes 等人,1985)作为浸提液,来回收在模拟使用浸提法中 EO 和 ECH 的残留量。这些水溶液用于洗脱样品上的环氧乙烷残留物而不溶解样品物质本身。如果是将水溶液注入器械来模拟产品使用,器械应被充满并排出残存空气。如果不能马上进行测定,应从样品中分离出浸提液,密封于盖内衬有聚四氟乙烯衬垫的瓶中。

不论盛有何种标准溶液或浸提液,管瓶的液面上空间应少于总体积的 10%。浸提液允许在冰箱里贮存几天(见附录 E)。但应注意用水浸提时,在浸提液贮存过程中,环氧乙烷可转换成 EG 或 ECH(或两种都有)(Chesler 等人,1985),分析人员有义务在分析地点评价贮存过程中这种转化的可能性。

4.4.6.1.2 极限浸提法

极限浸提法是另一种能提供有用信息的方法。其测得的结果代表大于或等于患者可以接受的剂量。因为这种浸提排除了时间对剂量测量的影响,它不能保证患者在前一天或前一个月与器械接触时器械未释放给患者的 EO 残留的限量。但是由极限浸提测试的产品满足了 4.3 中所有可适用的限度,并且残留量显示是在要求的范围之内,那么就没有必要再用模拟使用浸提法测试器械。当用极限浸提法时,应特别注意在 4.3 中叙述的前 24 h 和前 30 d 的限量。

4.4.6.2 极限浸提法(另一适宜的方法)

4.4.6.2.1 极限浸提方法是用于测定器械上的全部残留量。测定 EO 时,浸提过程包括热浸提和溶剂浸提两种。前者浸提完后进行顶端空间气体分析;而后者可以用溶剂浸提液进行顶端空间气体分析(溶剂浸提液色谱)。也可制备 EO 溴代醇衍生物,用较灵敏的 GC(气相色谱)检测器测定。

a) 残留的环氧乙烷

多种浸提液被用来极限浸提残留的环氧乙烷。但 B5.3 所述的热解吸后进行顶端空间气体分析则是一个不使用浸提用液的例子。如果按所描述的方法进行操作,顶端空间法被认为是最彻底的,因为这种方法是测定样品上所有残留的环氧乙烷而设计的。然而,对于大的或是组合器械的非破坏性试验,顶端空间法便不可操作或不易操作。当评价像甲基丙烯酸甲酯这类聚合物中的残留量水平时,分析人员使用顶端空间法时应注意保证 EO 全部回收。

对于溶剂浸提过程,选择合适的浸提液取决于器械及其组件的材料成分。为了更容易地从样品中测出所有的 EO,在极限浸提时,一般都采用能溶解样品材料的液体,前提是溶解液中无干扰物质。B5.4 描述了溶剂浸提和顶端空间气体分析过程。这一浸提过程可以将样品中的 EO 与同时从样品基体中提取出的化学干扰物质分离开来。B3.2 中所述的浸提用液是经试验室间比对试验评价的(Marlowe, 1983; Marlowe et al., 1986a; Marlowe et al., 1986b),其他液体的浸提效率应通过与本标准所述的一种或几种方法进行对照来评价,以确定它们是否适用于极限浸提过程。

谨慎的分析过程表明,在对供试材料的最初分析中,采用极限浸提法时,应用一个以上的浸提过程来确认定量回收。对 EO 含量相对较少的器械,即使是采用较长的浸提时间,用一般的方法也可能浸提不出来。

b) 残留的 2-氯乙醇

水是最典型的用于浸提医疗器械上的 ECH 的浸提用液。

4.4.6.2.2 当有必要测定 EO 残留量时,小器械应被放置于一管瓶中整体浸提,对大型器械应选择器械部件材料有代表性的部分置于管瓶中浸提。对后一种情况应注意,为了确保从大型器械上获取小样本数据的可信度,有必要从器械上多选取几个有代表性的部分。

选择器械上有代表性的部分,可用下列两种方法中的任何一种。一种方法是,如果含有几种不同的材料,每一样品部件占样品总质量的比例应与该部件总质量占被测器械总质量的比例一致。另一方法是,选择经评价证明是器械上残留含量最高的一个部件进行试验,所选方法应经过确认。

4.4.7 数据分析与解释

4.4.7.1 浸提出的残留量的计算

浸提液中测定得到的残留物的浓度 AE ,按下式转换为质量,以 mg 为单位:

$$AE = \sum_0^n ER \times EV$$

通过模拟使用浸提得出的残留量可按下式计算:

$$AR = \frac{ER \times m}{\rho}$$

通过极限浸提得出的残留量可按下式计算:

$$AE = \frac{R_s \times m_D}{m_s}$$

式中: AE ——浸提的残留量, mg ;

n ——浸提数量;

ER ——从标准曲线中得到的每毫升浸提液中 EO 量, mg ;

EV ——浸提液体积, mL ;

AR ——回收的残留物的质量, mg ;

m ——浸提液的质量, g ;

ρ ——水的密度, g/mL ;

R_s ——从样品中浸提的残留量, mg ;

m_D ——器械总质量, g ;

m_s ——样品的质量, g 。

4.4.7.2 为与 4.3 中的允许限量进行比较计算平均释放量(ADD)

4.4.7.3 对持久接触器械,日平均释放量,ADD,以 mg/d 为单位,计算公式如下:

$$ADD = \frac{AE}{25\,000}$$

式中: 25 000——人一生的天数;

AE ——浸提的残留量, mg 。

持久接触器械还应满足按以下计算的长期接触和短期接触的限度。

对长期接触器械,

$$ADD = \frac{AE}{30}$$

式中: 30——一个月的天数;

AE ——浸提的残留量, mg 。

长期接触器械也应满足按以下计算的短期接触的限度。

对短期接触的器械:

$$ADD = AE$$

式中: AE ——浸提的残留量, mg 。

5 产品放行

当产品满足了对 EO 、 ECH (如果有)的要求,产品就符合 GB/T 16886 的本部分,如果具有充分的残留物扩散运动学的试验数据,就有可能按材料、生产过程和应用的相近性(见附录 C)对器械分组,以便

进行质量保证试验。

对成批灭菌产品的放行应采用 5.1 和 5.2 中两个方法中的一个。

5.1 无扩散曲线数据的产品放行

当产品无扩散曲线数据时,如果符合 GB/T 16886 的本部分的要求,且按附录 B 所述的适用方法试验时,所得数据符合 4.3 中规定的 EO 和 ECH(如果有)的要求时,产品就可放行。

5.2 用残留量扩散曲线的产品放行程序

扩散曲线是用来估算某产品或同类相似产品在达到符合 4.3 规定的(主要是指 EO)残留限量时所需的灭菌后时间。产品应是根据实验扩散曲线所确定的灭菌后达到符合 4.3 规定的 EO 残留量的时间和条件放行上市。如果一年中不同时期的通风温度有变化,则要通过采集来自隔离通风贮存的灭菌负载的数据来考虑附录 C 所列出的产品通风因素,在为绘制扩散曲线获取实验数据时,还应考虑附近其他 EO 灭菌器械的影响。

按照 GB 18279 所述的受控条件制造并灭菌的产品,如果数据来自不同时间的三个以上的灭菌批,产品就可以放行。EO 从多数材料和器械上的扩散遵循一级动力学,即 $\ln[\text{EO}]$ 正变于灭菌后的时间,实验测定的 EO 浓度的自然对数对应于灭菌后时间的曲线为线性。产品应在灭菌后平均回归线和最大容许残留量交叉处对应的时间之后放行,这一方法可用于灭菌次数不超过规定次数的产品,也可在收集所述的扩散曲线数据的同时使用。

对至少三个批量相同产品,在足够多的时间点测得的数据采用回归分析来确定扩散曲线的性质,就产品的容许残留极限而言,可使产品在求得的 95% 以上的预测极限处放行。对于由不相近材料组成的器械,其时间-浓度曲线在整个范围内可能不是呈这种简单的模式,可能需另行对待。

计算预测极限 PL 的公式:

$$x_0 = \frac{y_0 - a}{b}$$

$$PL = x_0 + t_\alpha \times \sqrt{\frac{(S_e)^2}{b^2} \times \left[1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - y_\mu)^2}{b^2 \times \sum (x_i - x_\mu)^2} \right]}$$

式中: x_0 ——求得的符合 EO 极限的放行时间的平均值;

y_0 ——EO 极限的对数值;

a ——线性回归线的截距;

b ——线性回归线的斜率;

PL ——某一产品的预测极限;

t_α ——自由度为 $n-2$ 的显著水平为 α 的“学生-t”分布的值;

$(S_e)^2$ ——回归线的残留量方差;

y_μ ——log EO 值的平均值;

n ——测量次数;

x_i ——灭菌后某次测量时的时刻;

x_μ ——灭菌后各测量时刻的平均值;

$\sum (x_i - x_\mu)^2$ —— x (时间)的平方和。

医疗器械是否符合 GB/T 16886 的本部分而能否放行的所有数据,应按照现行的标准操作程序通过试验和数据分析来获得。

当在附录 C 中所列的灭菌参数有所改变时,应对产品残留量进行审核。当审核表明 EO 残留量的水平上升时,应重新获取残留量扩散曲线以保证产品的可接受性。当审核表明 EO 残留量水平下降时,建议考虑绘制新的扩散曲线。

附录 A
(标准的附录)
气相色谱评价

A1 概述

本附录讨论了用于测量 EO 和 ECH 的分析过程的最低要求。

A2 背景

这些要求在有关气相色谱的参考书籍中有所讨论(USP, 1989)建议分析人员在采用任何方法前要对其进行评审。同时建议再阅读有关检测极限的文章(Ball, 1984; Chesler 等人., 1985, Hubaux and Gilbert, 1970)。

A3 符号

在使用本附录时,用到以下符号(见图 A1 和图 A2):

R ——分辨率;

T ——拖尾系数;

t_1, t_2 ——色谱峰 1 和峰 2 的保留时间, t_1 是 EO(或 ECH)峰的保留时间, t_2 是最近的邻近峰的保留时间;

W_1, W_2 ——峰 1 和峰 2 的峰宽度,单位与保留时间相同;

$W_{0.05}$ ——峰高的 5% 处的峰宽度;

f ——峰顶至峰的上升沿的距离;

k' ——容量因子;

t_a ——像空气这种不含成分的气体的保留时间,气体通过柱子时不受阻;

t ——相应残留量(EO 或 ECH)峰的保留时间。

A4 最低要求

A4.1 对这些程序,建议满足下列参数的最低要求(见图 A1 和图 A2):

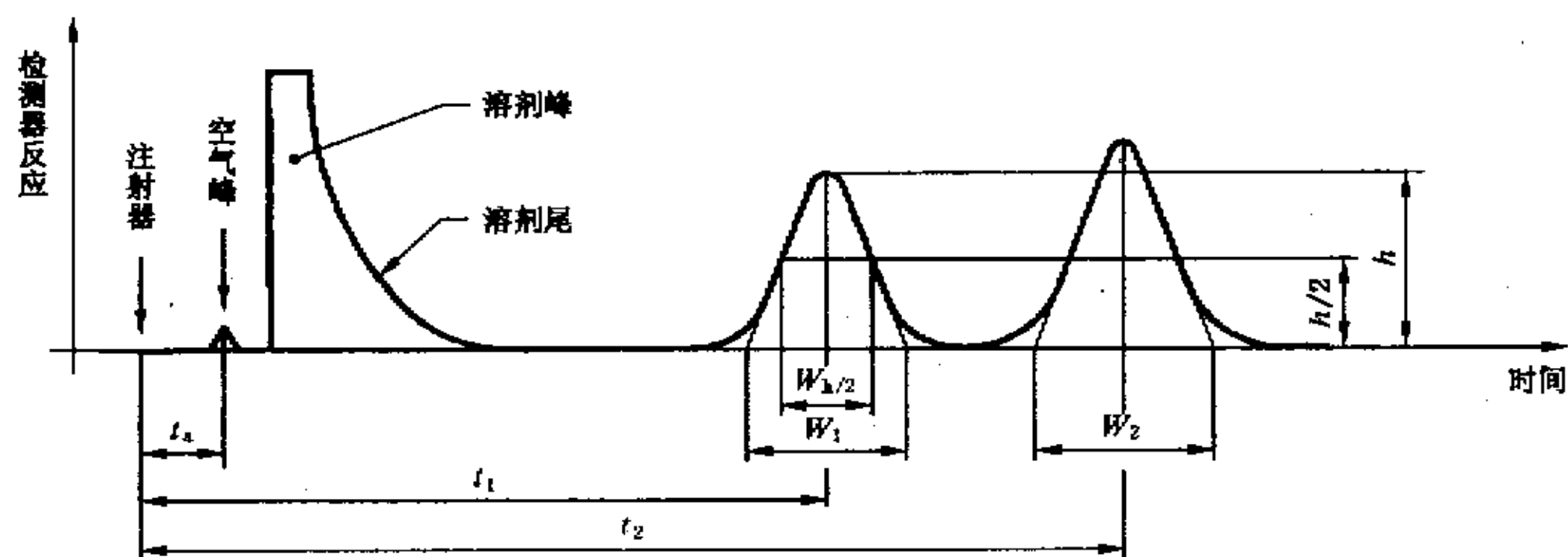
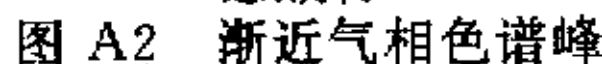


图 A1 两个物质的气相色谱谱图


$$R = 2 \frac{(t_2 - t_1)}{(W_2 + W_1)}$$
$$k' = \frac{t}{t_0} - 1$$
$$T = \frac{W_{0.05}}{2f}$$

为了更精确地计算分辨率和拖尾系数,记录纸速度宜至少设置为 10 cm/min,峰高应至少为满幅度的 75%。

$$RSD = \left[\frac{\sigma}{\lambda} \right] \times 100$$

$$\sigma^2 = \frac{\left[\Sigma y^2 - \frac{(\Sigma y)^2}{n} \right] - S \times \left[\Sigma xy - \frac{(\Sigma x \Sigma y)}{n} \right]}{n - 2}$$

$$\lambda = \frac{y'}{y}$$

σ^2 ——方差。

在改变分析程序时,建议查看以下信息资料:GC 制造厂的使用手册和各种气相色谱的书籍。

附录 B

(标准的附录)

气相色谱测定 EO 和 ECH

B1 色谱分析步骤

B1.1 环氧乙烷残留量的测量方法

许多方法适用于环氧乙烷浸提液的定量分析。关于极限浸提后用气相色谱测定 EO 的论述也很多。附录 F 中给出了几种已发表的方法和有关的评论文章。也许还有许多没有发表的测定 EO 残留量的方法,加之医疗器械种类繁多,已发表的方法不一定适用于所有器械。因此,任何方法,只要证明分析可靠,并对照 GB/T 16886 的本部分中已经确认的仲裁方法进行了评价,都可以使用。

“分析可靠”是指当对一规定 EO 量的器械(用于分析 4.3 所示的残留限量)进行测定时所选择的分析方法具有足够的精度、选择性、线性和灵敏度,且适合于所要分析的器械。

本附录所描述的方法,建议作为评价其他方法的仲裁方法。这些方法在本附录中有详细的说明,以便分析者选择最合适的一种。为了更详细地论述每一种方法,最好参考它们的原始资料。分析人员最好确定用来校准所用色谱过程的标准物的稳定性,以保证不使用过期的标准。

B1.2 EO 标准液的制备

B1.2.1 总则

以下略述了气相色谱标准物质的制备过程。

注 11: 可以购买按 GMP 控制生产,质量稳定的标准物质。

制备标准物质可用体积法(通过稀释已知体积的 EO 气体)或称重法(稀释已知质量的 EO 液体)。在这两种情况下,都需绘制一峰高或峰面积对 EO 浓度的标准曲线。

按图 B1 所示将 EO 标准气体钢瓶与血清瓶(大约 30 mL)连接。把一皮下注射针(排气针)插入塞子,使针尖位于血清瓶的瓶口处,把一定长度的聚氯乙烯管子连在排气针 2 上,把管子的末端浸入烧杯内的水中。

危险:为了保护试验人员,这一步骤在通风橱中进行(见 4.1.1)。

把另一根接于 EO 钢瓶调节器的管子与一皮下注射针连接,将该针(即进气针 1)插入管瓶塞子,把针尖插入瓶底。使环氧乙烷以每秒钟冒一个气泡的速度流经该系统。通气约 15 min,从管瓶上拔出进气针,当最后一个气泡从烧杯中的排气管中冒出后去掉管瓶上的排气针,使管瓶中的压力与大气压力平衡。用理想气体定律可得出:在 101.325 kPa¹⁾和 20℃下,管瓶中的 EO 浓度约为 1.83 μg/μL。

根据理想气体定律,用下式可以计算任何给出温度 t (℃)和压力 p (以 Pa 为单位)的环氧乙烷的浓度以微克/毫升为单位。

$$\rho_{EO} = 5.295 \times 10^{-3} \frac{p}{273 + t}$$

式中: 5.295×10^{-3} ——EO 气体转换常数 R , (g·K)/(Pa·L)。

1) 101.325 kPa=760 mmHg,或 1 mmHg=133.322 Pa。

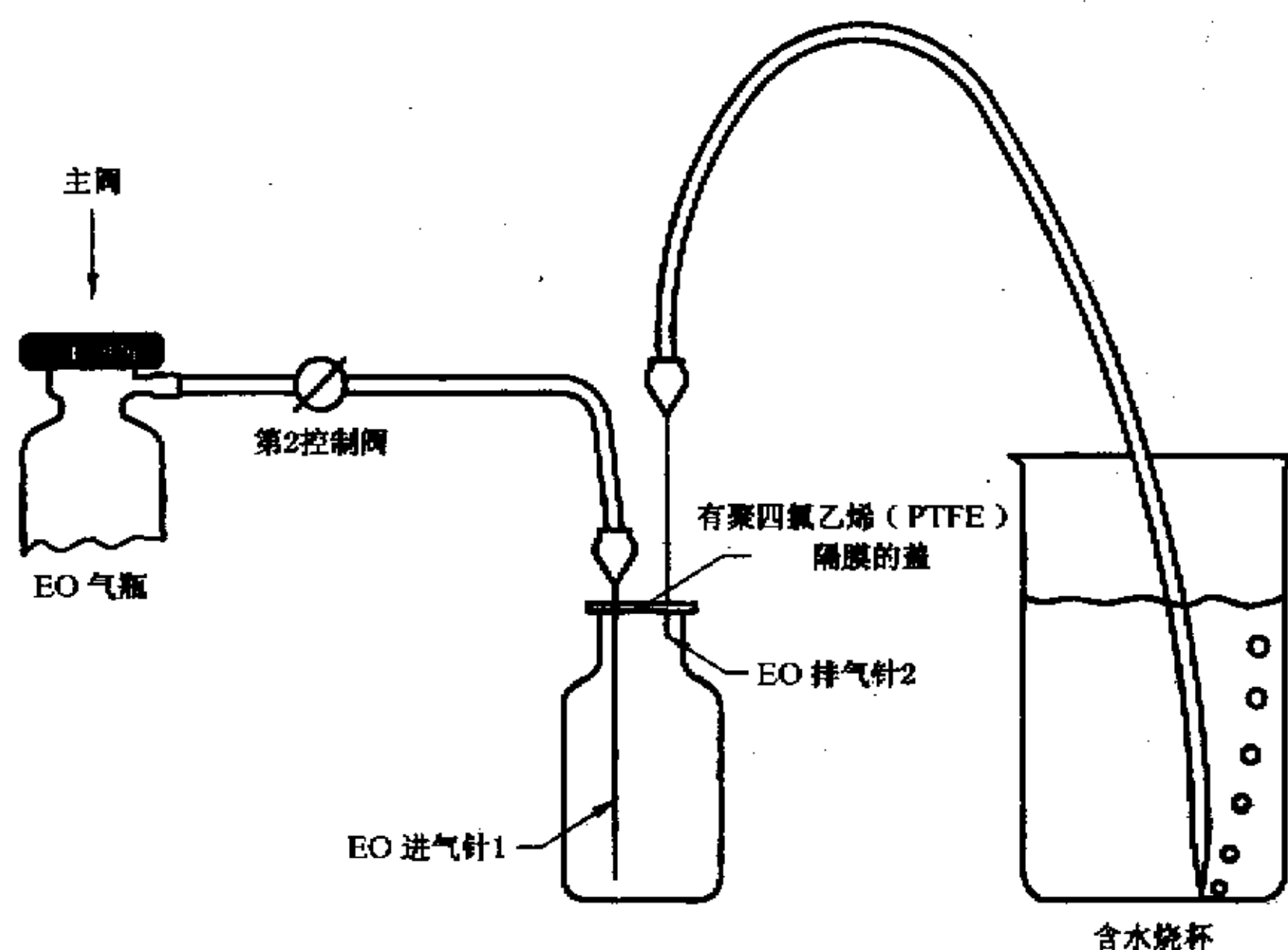


图 B1 EO 标准制备装置

B1.2.2 顶端空间法用 EO 标准稀释

在公称容量为 15 mL 的管瓶内对 B1.2.1 的标准进行稀释。管瓶的容积事先测定,精确到 0.01 mL (样本分析中使用相同规格的管瓶),并先用无水氮气清洗 1 min。用一气密性注射器从第一个管瓶中抽出约 10 μ L EO 气体。从管瓶上取下注射器,针尖向上,推芯杆至所需体积 10 μ L。

将用氮洗过的管瓶置于注射器上方,瓶口向下,注射器针尖向上,向瓶内注入 10 μ L 的 EO,随后立即从管瓶上移开注射器。该瓶内在 20 $^{\circ}$ C 和 101.325 kPa 条件下即含有 18.3 μ g 的 EO,如果是其他环境条件,按 B1.2.1 条调整 EO 浓度。

从第二标准瓶中取 100 μ L 气体注入色谱柱,重复两次,使仪器有响应。从第一瓶中抽取更大量的纯 EO 气体,稀释制备更高浓度的标准。由于这些管瓶中所含的是随意可得的 EO 气体,所以不必像样本那样需要被加热。

B1.2.3 溶剂法用 EO 标准稀释

注:

- 12 用一事先冷却的注射器转移液体 EO,需注意确保不使注射针碰到溶剂。
- 13 经验证明,制备储备液时所造成的测量误差是一常数,与所制备的体积无关。如果制备大量试验所需的贮备液多,其百分比误差将会减少。
- 14 该步骤也用于制备 EO 标准水溶液。

按 B1.2.1 所述,将 EO 标准气瓶和上述容量管瓶(事先用所述方法净化)连接,容量瓶放于干冰/异丙醇浴或其他相似物中,使 EO 气体冷凝成为液体。从气体钢瓶向管瓶中输送 EO,只需一根聚氯乙烯管与一插入管瓶的皮下注射针连接。因为 EO 是以液体形式收集的,没有必要用第二个皮下注射针给管瓶排气。

向管瓶中注入适量的液体 EO,关闭气瓶上的阀门,拔下连接于聚氯乙烯管上的皮下注射针,从冰浴中取出管瓶。

将一密封的装有 60 mL 溶剂的 100 mL 容量瓶(有一 PTFE 密封的阀门)称重,精确到 0.1 mg。向容量瓶内加入 5 滴液体环氧乙烷,再次称重。加溶剂至烧瓶 100 mL 刻线,倒置并定期摇晃²⁾。

用能整除的体积的溶剂稀释,制备稀释液。比如,向 100 mL 溶剂中精确加 100 mg 的 EO,其结果浓度为 1 mg/mL,1 mL 该溶液稀释至 10 mL,得到 100 μ g/mL 的 EO 标准液。同法配制较高或较低浓度

2) 如果容量瓶需要暂时贮存,要将其倒置,因已发现容量瓶倒置时标准溶液更稳定。

的标准液,制备出的标准液的最大浓度应超过被测试样中 EO 的预期数值。

在 $1\ \mu\text{L}\sim 5\ \mu\text{L}$ 中选取各标准溶液的整数微升数,对每种溶液重复进样两次,得到峰面积或峰高的响应曲线。

经验表明,在进行气相色谱分析时,进样时的进样精度随注射体积的增加而提高。由于注射器抽吸体积的增加,注射器刻度的不精确性所引起的恒定误差占抽吸体积的比例相对减小。为了进样精确,不要选择抽吸体积不足注射器容量的 10% 的注射器。

B1.3 ECH 标准液的制备

对装有 60 mL 水的 100 mL 容量瓶称重,精确到 0.1 mg。向容量瓶中滴加 ECH(约 100 mg),再称重,计算两次称重之差。然后加水稀释至满容量并摇匀。不用时将标准贮备液贮存于冰箱(见附录 E)。14 d 后以合适的方法处理掉。

放置 ECH 标准液至室温。制备至少三个浓度的工作标准液。在作为标准曲线应用之前,检验这些浓度的 GC 响应的线性。标准液的最大浓度应超过被测试样的 ECH 期望值。在 $1\ \mu\text{L}\sim 5\ \mu\text{L}$ 中选取各标准溶液的整数微升数,对每种溶液重复进样两次,得到峰面积或峰高的响应曲线。

B2 方法的准确性

B2.1 EO 法

在 13 个实验室内,用本附录 B 中所述的几种测定环氧乙烷的方法对一系列含量从 40×10^{-6} 到 350×10^{-6} 的样品进行实验室间比对评价(Marlowe 等人,1986),测得各种方法的总变异系数见表 B1。

表 B1 实验室内和实验室间变异的比对

EO 法	实验室内, %	实验室间, %
顶端空间法	3.7	21.3
丙酮法	4.1	16.3
DMF 法	2.9	8.3
水溶液法	2.7	17

还有人(Kikuuchi et al., 1988)针对 B5.6 中描述的 EO 法进行过实验室间的比对评价。在两个实验室内,对一系列从 $3.6\times 10^{-6}\sim 26\times 10^{-6}$ 不同含量的样品进行试验,得出比对结果。由此得到了线性回归数据。求出的回归方程是: $y=0.04+0.904x$; 其置信系数 $r=0.974$ ($P<0.000\ 01$)。在 14×10^{-6} 和 30×10^{-6} 的试验浓度处,这些方法的实验室间的变异系数分别确定在 4.0% 和 8.3% (由 A Nakamura, H Kikuchi, 和 K Tsuji 提供,未曾发表)。

在两个实验室内,用 B5.4(Oba et al., 1982)所述的溶剂浸提顶端空间气体分析方法和 B5.6(Kikuchi et al., 1988)所述的溴化法对三个不同 EO 含量的样品进行分析,得出数据,其结果用线性回归分析比较,得出以下回归数据: $y=-0.03+1.07x$, 置信系数 $r=0.999$ 。EO 含量为 12×10^{-6} 、 25×10^{-6} 、 56×10^{-6} 时,按 B5.4 方法实验室间的变异系数分别为 4.7%、1.8% 和 2.7%。

B2.2 ECH 法

用 B5.7(AAMI, 1989)所述的 ECH 法进行实验室间比对评价,方法的总变异系数如下:

实验室内: 7.46%

实验室间: 10.99%

以上数据是对从 $3.0\ \mu\text{g/mL}\sim 100\ \mu\text{g/mL}$ 的 ECH 浓度试验所得出的。

B3 仪器和试剂

B3.1 仪器

B3.1.1 气相色谱仪: 配有氢焰检测器(FID)或电子捕获检测器(ECD)。

注 15: 电子积分仪有助于获得重现结果。

B3.1.2 皮下注射针和聚氯乙烯管:用以制备标准液。

B3.1.3 玻璃量器:有 PTFE 衬垫或 PTFE 密封的阀门,用以制备标准。

注

16 压盖式玻璃量器还需要有一压盖工具。

17 应注意选择适当的玻璃量器,以减小浸提液或标准液的顶端空间。当制备标准液和浸提液时,顶端上空间不应超过标准液或浸提液体积的 10%。

B3.1.4 微量注射器(容量为 5 μL 或 10 μL):用于向气相色谱仪中注入整微升数的浸提液。

B3.1.5 通风橱:制备标准液或样品时,提供良好的通风。

B3.1.6 分析天平:能精确到 0.1 mg。

B3.1.7 气体调节器:用于开、关含有 EO 的管瓶。

B3.1.8 气密性注射器:容量为 10 μL , 50 μL , 100 μL 和 1 000 μL ,用于制备标准液及把顶端空间气体注入色谱柱。

B3.1.9 试验室烘箱:能加热样品至 $100^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 。

B3.1.10 试验室烘箱:能加热样品至 $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

B3.1.11 水浴:能使样品保持在 $70^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 。

B3.1.12 机械振动器

B3.1.13 具有 PTFE 衬垫的塞子和压紧盖的玻璃顶端空间瓶,公称容量为 20 mL,用于制备校准标准。

注 18:压紧盖式玻璃器皿还需有一压紧工具。

B3.1.14 平底螺盖瓶:用于 EO 浸提和反应,容量为 4 mL(外径约 15 mm)具有 PTFE 衬垫的硅橡胶塞和 PTFE 薄膜。

B3.1.15 注射针:尺寸为 0.65 mm $\times$ 25 mm,用以加注氢溴酸。

B3.1.16 微孔³⁾滤膜:孔径为 0.45 μm ,用于色谱分析前过滤反应混合液。

B3.1.17 冰箱:能使样品保持在 $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ 之间。

B3.2 试剂

B3.2.1 环氧乙烷:装在适当的气瓶中,纯度 99.7%。

B3.2.2 2-氯乙醇: $\geq 99\%$ 分析纯。

B3.2.3 氧化丙烯:试剂纯。

B3.2.4 新制备的二次蒸馏氢溴酸:制备如下:

蒸馏含 100 mg 二氯化锡的 47% 的 100 mL 氢溴酸。弃去前 25 mL 的馏出液,收集随后的 50 mL 馏出液。对该含有 50 mg 二氯化锡的 50 mL 馏出液再次蒸馏。弃去前 15 mL 的馏出液,收集随后的 20 mL 的无色液体(bp(沸点) $125^{\circ}\text{C} \sim 126^{\circ}\text{C}$),贮存在具塞玻璃容器中,一星期内使用。

B3.2.5 氯化锡:试剂纯。

B3.2.6 水:其纯度适合于气相色谱仪。

B3.2.7 乙醇:其纯度适合于气相色谱仪。

B3.2.8 丙酮:其纯度适合于气相色谱仪。

B3.2.9 二甲基甲酰胺(DMF):其纯度适合于气相色谱仪。

B4 标准液制备

B4.1 环氧乙烷标准液的制备

需要时,按 B1.2 准备相应的标准液。

3) “微孔”是商品名。提供本信息是为了方便本标准的使用者,但不意味着对该产品的认可。如表明能出现同样的结果,也可使用等效产品。

B4.2 2-氯乙醇标准液的制备

需要时,按 B1.3 制备 2-氯乙醇标准液。

B4.3 氧化丙烯(PO)标准液的制备

在乙醇中稀释 PO,得到浓度为 $0.5 \mu\text{g/mL}$ 的 PO 标准液。

B5 产品浸提**B5.1 概述**

按 4.4.6 中所述原理制备浸提液。

B5.2 模拟产品使用的浸提

用水模拟产品使用,在最严格的预定使用条件下,进行模拟使用浸提。

例如,用水或其他水溶液通过完全充入或冲洗血路或液路来浸提与血液接触器械和胃肠外器械。

注 19: 全部充满时,应保证没有空腔。

在不能对器械上与患者或使用者接触的部分用充入法浸提时,则把整个器械或器械上关键性的和有代表性的部分放入一容器中,选用合适样品/浸提液比进行浸提,必须取器械上有代表性的部分才能保证从小器械或大器械上得到的数据可信。

浸提样品的时间应大于或等于一次使用器械时的最长时间(或保证全部的浸提),浸提温度采用最严格的模拟条件温度,如 4.4.6 所述。也可以制备一系列代表各种浸提时间较短的浸提液(建议最少三个),以此按比例推算长期或每日重复作用的影响。

如果测定不能马上进行,则将浸提液从样品中分离出来,密封于衬有聚四氟乙烯膜衬垫的瓶中盖紧。任何盛有标准溶液或浸提液的管瓶,其顶端空间应少于总体积的 10%。浸提液能在冰箱里贮存至多 4 d。用水浸提法分析 EO 时,应注意在贮存浸提液时,EO 可能会转换成 EG 或 ECH,或两者都有。

B5.3 用热极限浸提

称取 1 g 样品,精确到 0.1 mg,放入一有盖的 15 mL 带塞子的管瓶中,把管瓶密封后放到 100°C 的烘箱内,加热 60 min 后取出,放至室温。取样前用力摇晃。两次抽取 $100 \mu\text{L}$ 气体,进样,测定 EO 的峰面积或峰高。计算两次的平均值。

在通风橱内打开瓶盖,用干燥氮气净化管瓶 30 s。用一新塞子重新盖上瓶盖,并重复上述加热和进样过程至极限浸提。当浸提到 EO 的浸提量不足第一次浸提测得值的 10% 时,即达极限浸提。将每次加热样品所得到的 EO 平均峰面积或峰高相加,与标准曲线对照,计算出样品中的 EO 值。

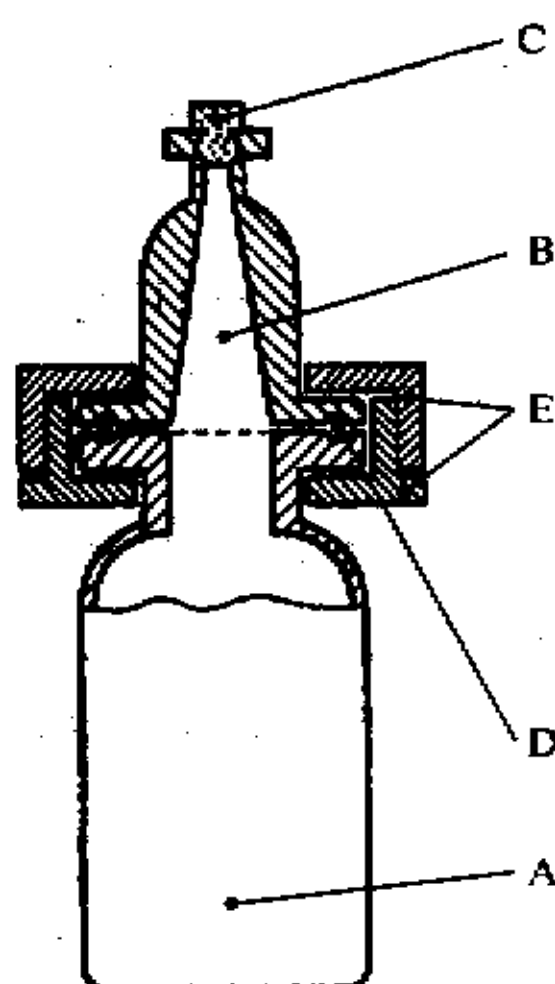
注

20 本章所述的时间/温度状态具有相对的随意性。用改变时间来平衡顶端空间 EO 的局部压力是一较好的试验技术。注意进样时不要使柱子的填充材料沾到针上。经验表明,从烘箱内取出样品之后立即测试热的样品常会导致大于 20% 的误差。因为当注射针从管瓶上拔出时,注射器中的压力要平衡至室内压力,这就导致部分物质从注射器中损失掉。有的材料,当温度平衡至室温时,会将 EO 吸收回去。有些材料在瓶中冷却时,甚至会将 EO 全部吸回。在分析这些材料时,须在样品和标准物处在高温或有余热时将其注射到柱子中,不等其冷却便进行净化(如上所述)。

21 ISO/TC 194/WG11 正在研究顶端空间分析的自动程序,以便在 ISO 10993-7 中增加这部分内容。

B5.4 用乙醇极限浸提,随后对乙醇浸提液进行顶端空间气体分析**B5.4.1 校准标准液**

通过在乙醇中稀释 EO,制备浓度为 $0.4 \mu\text{g/mL}$; $0.8 \mu\text{g/mL}$; $1.2 \mu\text{g/mL}$; $1.6 \mu\text{g/mL}$ 和 $2 \mu\text{g/mL}$ 的 EO 标准液,按 B4.3 所述制备在乙醇中 PO 浓度为 $0.5 \mu\text{g/mL}$ 的标准液。在干冰/异丙醇浴或其他替代物中冷却这些标准溶液和适当数量的专用顶端空间瓶(图 B2)。称取能被整除的各个浓度的 EO 标准液和同体积的 PO 标准液至专用顶端空间瓶中。在 70°C 下加热顶端空间瓶 30 min,并在 $100 \mu\text{L} \sim 1 \text{ mL}$ 中选取一能被整除的量,将各瓶顶端空间气体重复进样,测量 EO 和 PO 的峰面积或峰高,绘出峰高或峰面积比 EO 浓度曲线,得到一校准线。



A—液体;B—顶端空间;C—塞子;D—O型环;E—夹子

图2 专用顶端空间瓶

B5.4.2 分析步骤

称取 5 g (或 0.5 g) 样品, 精确至 0.1 mg, 将样品切成小片 (管状样品切成 5 mm 长, 片状样品切成 10 mm²), 放入一容积为 100 mL (或 10 mL) 顶端空间瓶中, 加入 50 mL (或 5 mL) 的 PO 标准液 (0.25 μg/mL), 盖紧瓶盖, 密封后在 70℃ 下加热 3 h, 加热时轻轻摇晃。在 100 μL~1 mL 范围内选取能被整除的量, 重复进样, 测定 EO/PO 的峰比。根据校准线计算样品的平均 EO 含量。

B5.5 用溶剂极限浸提

精确称取约 1 g 的产品样本, 放入一有盖的玻璃容量瓶内, 使玻璃器皿的顶端空间尽量减小。用移液管移取 10 mL 所选溶剂至容量瓶, 盖上容量瓶, 室温放置 24 h。

注 22: 这些温度和时间用于仲裁评价, 也可采用其他认可的温度和时间。

在 1 μL~5 μL 中选取整微升数重复进样两次。根据标准曲线计算两次进样的 EO 均值。

B5.6 用乙醇极限提取, 随后制备溴氢衍生物 (bromohydrin derivative), 然后用备有 ECD 的气相色谱仪分析**B5.6.1 校准标准**

用乙醇稀释 EO 制备浓度分别为 0.4 μg/mL; 0.8 μg/mL; 1.2 μg/mL; 1.6 μg/mL 和 2 μg/mL 的 EO 标准液, 按 B4.3 制备一乙醇中 PO 浓度为 0.5 μg/mL 的标准液, 各浓度的 EO 标准液与 PO 标准液等体积混合制得标准混合液。

移取各标准混合液 1 mL 至螺盖瓶中, 用一注射针穿过一塞子向混合液中加两滴 (约 0.015 g) 氢溴酸, 室温放置 1 h。在 50℃ 水浴中加热 1 h, 加热时轻轻摇晃, 然后冷却至室温。

向瓶中加入 0.02 g 碳酸氢钠, 纵向晃瓶 30 min, 放置 10 min 后, 再水平晃瓶 30 min。放置 10 min, 以 3 000 r/min 离心 5 min。用微孔滤膜⁴⁾过滤混合液。

取各滤出液 1 μL 重复进样两次, 得到二溴乙醇 (EBH) 与丙溴醇 (PBH) 的峰高比, 绘制 EBH/PBH 峰高比例对应 EO 量 (以 μg 为单位) 的校准线。

B5.6.2 分析步骤

用本方法时, 按 B5.6.1 制备标准液。

在干冰/异丙醇浴或其他相似物中冷却 PO 标准液 (0.25 μg/mL) 和一螺盖瓶, 移取 1 mL 的 PO 标准液至瓶中。

称取 10 mg~30 mg 样品, 精确至 0.1 mg, 放入瓶内。

用注射针通过一塞子向瓶中注入两滴 (约 0.015 g) 氢溴酸, 室温放置 1 h, 再在 50℃ 水浴中加热

4) 用 U 型或 V 型底的瓶子, 往往会使中和不完全, 影响色谱分析。

8 h,加热过程中轻轻摇晃管瓶,随后在烘箱中 50℃下再加热 16 h,冷却至室温。

向瓶中加入 0.02 g 碳酸氢钠,纵向晃瓶 30 min,放置 10 min 后,再水平晃瓶 30 min。放置 10 min,以 3 000 r/min 离心 5 min。用微孔滤膜⁵⁾过滤混合液。

取各滤出液 1 μ L 重复进样两次,得到二溴乙醇(EBH)与丙溴醇(PBH)的峰高比。

计算样品的平均值,根据校准线测定样品中的 EO 量。

B5.7 用水对 ECH 极限浸提

取约 1 g~50 g 部分样品(或完整样品),精确称重,放入一体积适当的有盖的玻璃器皿内,使玻璃器皿的顶端空间尽量减小。以 1:2 到 1:10[样品质量(以 g 为单位)比水的体积(以 mL 为单位)]之间的一个比例加水并加盖,室温放置 24 h,用一机械振荡器强烈振动容器和内容物 10 min。⁵⁾

从 1 μ L~5 μ L 中选取一整微升数的水溶液重复进样两次,根据先前得出的标准响应曲线,从色谱峰高或峰面积计算样品中 ECH 浓度。

B6 气相色谱仪

B6.1 总则

从 B5.2 至 B5.7 中选择最合适的方法,采用表 B2 中列出的相应的色谱条件。

注 23: 可能需要对条件进行优化。

B6.2 模拟产品使用的浸提

测定 EO,用 I 号条件,柱温约 60℃~75℃;测定 ECH 用 I 号条件,柱温约 150℃至 170℃(见表 B2),或用 I 号条件,取 1 μ g~5 μ g 中的整微升数的水浸提液进样。

B6.3 用热极限浸提的程序

用 I 号条件,柱温为 125℃,注入 100 μ L 顶端空间气体。

B6.4 用乙醇浸提后分析乙醇浸提液顶端空间气体

采用 IV 号条件。

B6.5 用乙醇极限浸提后制备溴氢衍生物(bromohydr in derivative),然后用备有 ECD 的气相色谱仪分析

采用 VI 号条件。

5) 这些温度和时间是仲裁评价中所用的(AAMI,1989)。其他温度与时间也可以使用。若需要,可在整个浸提时间内进行搅拌,对有些材料可能不需要搅拌。

表 B2 推荐的气相色谱条件

条件 编号	柱			载气		温度			进样体积 μL	浸提溶剂
	尺寸 长度(m) $\times$ 内径(mm)	材料	担体	种类	流速 mL/min	柱	进样器	检测器		
I	2 $\times$ 2	玻璃	3% Carbowax 20M on Chromosorb 101 ¹⁾ (80 至 100 目)	氮气 或氦气	20~40	60~75(EO) 150~170(ECH)	200~210	220~250	1.0~5.0	水
II	2 $\times$ 2	玻璃	5% Lgepal CO-990 on Chromosorb T ¹⁾ (40 至 60 目)	氮气 或氦气	20~40	140~160	200~250	240~280	1.0~5.0	水
III	3 $\times$ 3.2	不锈钢	20% Tricyanoethoxy propane on Chromosorb W AW DMCS ¹⁾ (100 至 120 目)	氮气 或氦气	20	60	100	200	1 000	顶空气体 (水浸提液上方)
IV	2 $\times$ 3	玻璃	25% Flexol 8N8 on Chromosorb W AW ¹⁾ (80 至 100 目)	氮气	40	50	120	120	100~1 000	顶空气体 (乙醇浸提液上方)
V	2 $\times$ 2	玻璃	Chromosorb 102 ¹⁾ (80 至 100 目)	氮气 或氦气	20~40	60~170	200~210	220~250	1.0~5.0	丙酮或 DMF
VI	2 $\times$ 3	玻璃	10% Carbowax 20M on Chromosorb W AW ¹⁾ (80 至 100 目) ²⁾	氮气	60	120	250	250	1.0	乙醇

1) 这些是商标名。给出这些信息是为了方便本标准的使用者,并不代表 ISO 对这些产品的认可。只要能得出相同的结果,也可使用其他同等产品。

2) 在使用前须将柱在 190 $^{\circ}\text{C}$ 下放置 7 d。

附 录 C
(提示的附录)
影响产品残留量的因素

C1 灭菌过程参数

GB 18279 或 EN 550 中规定了灭菌过程参数,但要正确分析在 EO 作用后的器械的残留量,有必要确认这些影响残留量的参数。可以通过分析有代表性的“最坏情况”,经 EO 动力学研究来掌握一族相似的产品。所谓一族相似的产品,是指在尺寸及用途、材料组成、包装、EO 作用、含水量以及暴露于周围环境等情况相似的产品,可不必分析生产线上的每一个项目。以下参数影响残留量含量,可用于分析一个或多个有代表性的“最坏情况”。

C1.1 材料的组成

各种材料的吸收、保持和释放 EO 的能力有显著差异。当 EO 有可能向 ECH 转化时,两个由不同材料制成的相似器械,其残留量分布可能会有很大的不同。例如,材料如能释放氯离子,便会对形成的 ECH 的浓度有很大的影响。

同样,对于由两种不同的材料组成的一个器械,为使分析精确,须从两种材料上取有代表性样本进行分析。在考虑模拟产品正常使用时,器械的组成和体积尤为重要。

C1.2 包装

各种包装材料对 EO 气体和其他残留物的透过或扩散的能力有显著差异,也可能会影响 ECH 残留量。包装的密度以及运输容器的密度也会有影响。

C1.3 环氧乙烷的灭菌循环

EO 作用于器械的条件将影响残留量的大小。这些条件包括气体浓度、作用时间、温度、循环类型(也就是纯 EO 或 EO 混合物)、湿度(包括水源质量)、抽真空与换气次数,以及在灭菌器内产品的装载密度或排列方式。

C1.4 通风

器械中的 EO 残留量还与通风温度、装载密度和排列、气流、堆码、被通风产品的表面积、通风时间有关。有些材料的通风温度每增加 10℃,通风速度可提高约 1 倍(通风时间减少一半)。

注

24 湿度、温度、空气流动等因素,可能会影响 ECH 的形成,这取决于从灭菌器里取出产品后其中的 EO 含量情况。

25 当样品贮存在与仓库条件不同的实验室里时,分析人员应注意到通风速度随季节的变化。在某些情况下,产品在分析前须存放于产品实际通风存放时的最低温度条件下,最好根据经验来确定。

C1.5 样品校正

产品完成灭菌过程后,应马上从灭菌批中抽样进行日常分析。应特别注意,当产品样品或其浸提液被运到远离灭菌地点的分析地点时,要考虑到样品残留量与批产品残留量之间会不会有误差,并用实验来建立这些条件之间的关系。

C2 控制变量

残留量扩散动力学(如,EO 从某些器械的包装中向外扩散的速度)具有充分的实验依据,使得将材料、生产工艺和使用相近的器械分为一组成为可能,以便进行质量保证试验。这样的工作所用的分类系统,需对以上曾讨论过的诸多变量进行控制,否则,所得的残留量的数据仅适用于供试样品。

附录 D

(提示的附录)

测定 EO 残留量的浸提条件

4.4 中论述了测定 EO 残留量是否符合 GB/T 16886 的本部分的浸提条件,表 D1 中是为实验室操作所推荐的浸提条件,在 4.4.6 中给出了模拟使用浸提和极限浸提的定义。

测定 EO 选相应浸提方法的指导原则是,要能对释放给患者的 EO 进行评价,看是否符合 GB/T 16886 的本部分要求。在任何情况下,尽量模拟使用浸提。对于长期接触类的器械,注意器械还要符合短期接触类器械的残留量要求;持久接触类器械还要求符合长期类和短期类器械的残留量要求,不管使用何种浸提条件,若用极限浸提法对产品测试后表明残留量在规定的范围之内,那么就没有必要再用模拟使用浸提法对器械进行测试。

表 D1 建议性浸提条件

器械接触时间		
持久接触时间(>30 d)	长期作用 (24 h~30 d)	短期作用 (<24 h)
极限浸提	模拟使用	模拟使用

附录 E

(提示的附录)

说明

E1 范围[第 1 章]

第 1 章规定了根据接触时间确定医疗器械上环氧乙烷残留限量的原理。包括确定环氧乙烷(EO)和 2-氯乙醇(ECH)限量的依据。对(乙二醇)EG 的最大允许限量没作要求。当 EO 的残留量被控制到规定的限量时,在器械上不太可能存有对生物有显著影响的 EG 残留量(Danielson 等人,1990;Muzeni, 1995,Spitz 和 Weinberger,1971)。

对某些器械,当前的发展水平不能满足这些限量,根据对患者的利益,可适当提高剂量。这些器械包括体外血液净化装置,其最大 EO 日剂量不应超过 20 mg,最大 EO 月剂量不应超过 60 mg,但是一生的最大限量可超过 2.5 g,对于血液氧合器和血液分离器,最大 EO 日剂量和最大 EO 月剂量不应超过 60 mg,一生的最大 EO 剂量不应超过 2.5 g(见 4.3)。

E2 允许限量[4.3]

E2.1 EO 残留限量的确定

E2.1.1 背景

医疗器械中 EO 残留限量是采用了美国医药生产者协会(PMA,1989)推荐的缓释药物中的有机挥发性杂质限量的确定方法来确定。侧重点是非肠道数据和口服数据,因为这些数据比吸入数据更接近于医疗器械在使用中 EO 潜在的系统接触。对于短期接触(<24 h)的全身作用和长期(>24 h 至 30 d)(Conine 等人,1992)的系统作用,该方法做了修改。这需要对设定限量过程中的所有有关数据进行评价。这也是从这样一个概念出发,即急性数据应是短期限量的基础。亚慢性和生殖作用数据应是长期接

触限量的基础。而慢性和致癌性数据应是持久接触限量的基础。如果急性数据不能提供除半数致死量以外的有用的剂量-反应关系信息,可以用亚慢性/生殖毒性数据来证实从急性数据中得出的残留限量是否合适。

为确定全身限量,采用了表 E1 中示出了安全系数,它随接触时间而变。安全系数的考虑包括:用动物数据推测人体,获取限量所用研究的质量,这些限量用于体重轻的人以及若干个器械在一个人身上的同时使用等。对于这些系数中的任何一个都不规定具体值。

注 26: 这些系数是在 ISO 10993-7 制定的时候确定的,ISO/TC 194 认为下次修定时随着数据的增加,这些系数可能会有所变化。

采用安全系数计算限量 $L(\text{mg/d})$ 的一般公式如下所示:

$$L = \frac{D \times BW}{SM}$$

式中: D ——剂量,以 $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 表示,可以是下列之一;

NOEL——未观察到作用剂量;

LOEL——最低可见作用剂量;

NOAEL——未观察到损害作用剂量;

LOAEL——最低观察到损害作用剂量;

LD_{50} ——半数致死量;

LDL_0 ——低致死剂量;

TDL_0 ——低毒剂量;

BW ——人体体重, kg ;

SM ——是安全限度,等于安全系数乘以修正系数。

由于 EO 具有基因毒性,并在几种动物研究中都导致肿瘤且受主管当局的重视,全世界一致认为是一种致癌物,对数据进行统计学定量风险性评价也曾被用来确定持久接触的残留限量。由于许多组织进行过 EO 致癌风险评价,用这些评价来提出的残留限量代表着致癌风险超过 $1/10\,000$ 的一生最坏 EO 日剂量,此剂量正是药物生产者协会对缓释药物中作为有机挥发性杂质的 EO 所做的规定。 10^{-4} 的风险水平是各管理当局推荐或使用的中等的风险水平,它是在无菌医疗产品对人无害的前提下对风险与受益的综合考虑。实际上当从器械的使用中使健康受益时稍大一些的风险一般也被社会认为是合适的。没有无菌医疗器械,许多救护过程和装备就无法使用,医院的传染反而成了主要的健康风险。

总之,医疗器械上 EO 限量的确定是在许多文献报告和一些评价 (Bruch, 1973; Cyr 等人, 1989; Environ, 1987; EPA, 1985; Glaser, 1979; PMA, 1990) 的基础上确立的。由 EO 灭菌的医疗器械其潜在的刺激性由生物学试验进行评价,所以认为急性毒性数据、靶组织反应数据、动物致癌性数据和人体耐受数据是为防止因接触 EO 而产生的副作用,获取残留限量的最佳数据。此外,在评价 EO 的潜在毒性时,应考虑下列情况:同时使用多个器械,器械用于护理新生儿 [Environ 1987; ISO 10993-1:1992, 第 6.1b)5)]。

E2.1.2 一般性考虑

急性毒性数据和重复给药数据表明,一旦 EO 进入体内容易进入循环系统。对半数致死量 (LD_{50}) 和未观察到作用剂量 (NOEL) 的检查也认为通过一定时间间隔,如短期口服、非肠道甚至吸入接触可比较 EO 的潜害。当接触时间增加时,低剂量被发现有副作用。但某些靶器官可能有不同的反应。下列条文所讨论的允许日限量反映的是一般的观察结果。

E2.1.2.1 持久接触限量

30 d 至一生接触 EO 的限量为 0.1 mg/d 。在任何一天中接触 EO 的限量不得超过 20 mg 。

表 E1 用于确定 EO 全身限量的安全系数

全身残留限量	研究类型	剂 量	安全系数 ¹⁾
持久接触	慢性毒性(>12 个月治疗/ 接触)	NOEL 或 NOAEL	10
		LOEL 或 LOAEL	≥10
	致癌性	NOEL 或 NOAEL	100
		LOEL 或 LOAEL	≥100
长期接触	亚慢性毒性(≤6 个月治疗/ 接触)	NOEL 或 NOAEL	100
		LOEL 或 LOAEL	≥100
	生殖/发育毒性	NOEL 或 NOAEL	100
		LOEL 或 LOAEL	≥100
短期接触	急性毒性	LD ₅₀ 动物	>100
		LDL ₀ 人或动物	≥10 或 ≥100
		TDL ₀ 人或动物	>1 或 >10
1) 在评价和专业仲裁数据基础之上可修改所使用的实际安全系数。在每种情况下变动系数范围在 1 至 10 之间。实际安全限度是安全系数与修正系数的乘积。			

或在任何一个月中不得超过 60 mg,或在一生中不得超过 2 500 mg。此限量是以众多调研者(Dunkelberg,1982;Snellings 等人,1984b;Lynch 等人,1983,1984;NTP,1987)曾报道过的慢性数据和致癌数据为基础。除 Dunkelberg(Dunkelberg,1982)报道的数据之外,其他所有报道都是对吸入研究的报道,没有发现可接受的非肠道数据。

在 Dunkeberg 的研究中,用安装有管子的一次性使用注射器将物质输进动物的胃里,即管饲法。剂量范围从 2.1 mg/(kg·d)向上。在这些研究中慢性给药的靶器官副作用包括精子功能减弱、骨骼肌肉萎缩、胃癌前期损害,同时还发现其他几种癌,包括单核细胞白血病,早期脑瘤、腹膜间皮瘤、皮下纤维瘤、肺腺瘤/癌、哈德氏腺乳头状囊腺瘤、贲门窦鳞状细胞癌。在口服研究中只发现胃癌,而其他的病变只能在吸入研究中才能发现。对这些数据的评价既采用了安全系数评价,又采用了统计学定量风险评价技术。基于 EO 具有致突变潜能,能在与人相似的动物身上致癌,所以认为它是一种遗传毒性致癌物。但因缺少 EO 在人体或动物体内的生物分布(biodisposition)数据及接触 EO 与癌症间的明确的流行病学联系数据,所以统计学定量风险评价技术不能作为唯一的计算 EO 持久接触限量的方法。因此采用安全系数法和定量风险评价两种方法来确定预期持久接触限量,比较两种方法得出的结果,作为计算永久限量的基础(PAM 1990;Conine 等人 1992)。

使用安全系数计算预期持久接触限量的主要数据总结如表 E 2。

表 E2 确定持久接触 EO 限量的数据概要

数据类型	口服 LOEL mg/(kg·d) [参考]	吸入 LOEL mg/(kg·d) [参考]
慢性毒性	2.1 按 7.5 mg/kg,每周两次[Dunkelberg,1982]	9.2 ¹⁾ [Lynch 等人,1983]
致癌性	2.1 按 7.5 mg/kg,每周两次[Dunkelberg,1982]	2.1 ²⁾ [Snellings 等人,1984 b]
1) 是根据对猕猴为期两年的研究中的 LOEL 值 50×10^{-6} 计算出的,用于评价精子功能。每周 5 d,每天 7 h 吸入 EO。假设通气率和体重分别是 1.2 m ³ /d 和 2.7 kg。 2) 是根据对大白鼠的致癌研究中的 LOEL 值 10×10^{-6} 计算出的。大白鼠每周 5 d,每天 6 h 吸入 EO 假定通气率为 290 L/d,体重为 0.5 kg。		

检查这些数据表明尽管没有适宜的数据评价非肠道接触反应,但在不考虑途径和反应的情况下,EO 持久接触期(30 d 至一生)的 LDLo 是可比的。

最低 LOEL 剂量以 $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 表示,其组织反应为癌,采用大白鼠口服 3 年的,按比例分配的剂量 $2.1 \text{ mg}/\text{kg}$ 作为计算预期持久接触限量 L_p 的基础,使用安全系数法计算如下:

$$L_p = \frac{D \times BW}{SM} = \frac{2.1 \times 70}{1\,000} = 0.15 \text{ mg}/\text{d}$$

式中: D ——在慢性毒性或致癌性研究中的最低观察到作用剂量;

BW ——成年人的体重 70 kg ;

SM ——安全限度 $1\,000$,用于把在动物身体上进行的致癌生物评价中的低作用水平数据转化为适用于人的数据。此安全限度的考虑包括物种之间的差异,人群、种族、地域间固有的差异,所观察到的结果的偶然性,非肠道数据的缺乏,在相关研究中确定的无反应水平数据的缺乏,以及使用灭菌医疗器械的受益情况。

从文献报告中获取定量风险评价。如 Environ(Environ,1987)引述的许多团体已计算出了致癌风险评价值。这些团体包括 FDA,加利福尼亚 DHS,OSHA 和 USEPA,已运用线性化多极模型或 Gaylor-Kodell 线性比例法,从报道的动物白血病、脑瘤、胃瘤和间皮瘤数据中得出单位致癌风险评价值。这些单位致癌风险评价值范围在 $0.016[\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})]^{-1}$ 和 $0.35[\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})]^{-1}$ 之间。运用最坏情况,过量致癌风险(excess cancer risk) $1/10\,000$,将这些值转化为一体重为 70 kg 的成年人的一生 EO 日剂量,范围是 $0.02 \text{ mg}/\text{d}$ 至 $0.44 \text{ mg}/\text{d}$,平均值为 $0.12 \text{ mg}/\text{d}$ 。用单位致癌风险值 $0.016[\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})]^{-1}$ 计算平均剂量 AD 的示例如下:

$$AD = \frac{R \times BW}{UCR} = \frac{0.0001 \times 70}{0.016} = 0.44 \text{ mg}/\text{d}$$

式中: R ——过量致癌风险 $1/10\,000$;

BW ——成年人体重 70 kg ;

UCR ——单位致癌风险单位为 $[\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})]^{-1}$

在对预期限量 $0.15 \text{ mg}/\text{d}$ 的和过量致癌风险为 $1/10\,000$ 的最坏情况平均剂量 $0.12 \text{ mg}/\text{d}$ 的评价基础之上,确定剂量 $0.1 \text{ mg}/\text{d}$ 足以可防止持久接触 EO 所产生的副作用。持久接触限量包括一非常广的潜在接触时间段,从 30 d 至一生时间 70 年,即 $25\,000 \text{ d}$ 。因此,既然在许多情况下假定在此限量下接触 EO 70 年,那么在此限量下接触 EO 产生的最坏致癌风险可能大大小于 $1/10\,000$ 。从对用 EO 灭菌的医疗器械的研究中得出,接触 EO 灭菌的医疗器械,实际致癌概率很低,只为 $7/1\,000\,000$ 左右(Environ,1987)。

E2.1.2.2 长期接触限量

接触 EO 24 h 至 30 d 的限量为 $2 \text{ mg}/\text{d}$,在任何一天中不得超过 20 mg ,或在任何一个月中不得超过 60 mg 。从几种物种中得出的亚慢性毒性和生殖反应数据(致畸性、生殖功能、胎儿毒性等)是构成此限量的基础。许多调研者(Hollingsworth 等人,1956;Woodard 和 Woodard,1971;Balazs,1976;Northup 等人,1981;Snellings 等人,1984a;NTP,1987;Jacobson 等人,1956;Jones-Price 等人,1982;LaBorde 和 Kimmel,1980;Hackert 等人,1982;Snellings 等人,1982a,1982b)曾报道过这些数据。持续时间不同,最长至 226 d 的口服,非肠道和吸入研究表明 EO 能产生众多不同的副作用,包括呕吐、震颤、呼吸刺激,损伤胃、肾、睾丸、肾上腺、胸腺、肝和胃肠道,抑制生长和体重下降,破坏神经系统的功能,瘫痪、肌肉萎缩(下肢)和贫血。剂量范围从 $1 \text{ mg}/\text{kg}$ 至 $100 \text{ mg}/\text{kg}$ 或更多。生殖研究包括在动物进行交配之前接触 EO 12 周,在动物生产之后接触 EO 21 d 。剂量范围从 $5 \text{ mg}/\text{kg}$ ~ $150 \text{ mg}/\text{kg}$ 或更多。在这些研究中,EO 能产生母性毒性、胚胎毒性、胎儿毒性,延缓胎儿生长和导致颈/胸骨路畸形。后面一个副反应是以 $150 \text{ mg}/\text{kg}$ 的剂量,约是向雌鼠注射 LD_{50} (半数致死量) $260 \text{ mg}/\text{kg}$ 的 $2/3$,向小白鼠进行 EO 静脉注射后发现的。作为计算长期限量基础的主要数据总结如表 E3。

检查这些口服和非肠道数据表明,在不考虑接触途径或类型,靶器官或生殖反应的前提下,长期接触 EO(即 1 d 至 30 d)的未观察到作用剂量是可比的。尽管估价的亚慢性 NOEL 值似乎低于从口服或非肠道数据中得出的 NOEL 值。但从吸入研究中得出数据表明两者表现出相似的模式。在吸入研究中部分 NOEL 值显得偏低是由于在研究中所使用的浓度引起的。调研者曾报道过,在 50×10^{-6} 的稍高浓度下会引起运动活力降低、走路时身体前倾、睾丸质量降低等副作用。因为口服和非肠道数据是研究医疗器械上 EO 量的最佳数据,所以在兔致畸研究中,从非肠道给药的最低 NOEL 值,即静脉注射 9 mg/kg,用作计算长期接触 EO 限量的基础,如下所示:

$$L = \frac{D \times BW}{SM} = \frac{9 \times 58}{250} = 2 \text{ mg/d}$$

式中: D ——在亚慢性或生殖反应研究中通过非肠道给药的最低未观察到损害作用剂量,mg/(kg·d);

BW ——女性身体体重,58 kg,因为数据取自雌性怀孕动物的致畸研究。

SM ——安全限度,250(安全系数 100 乘以修正系数 2.5),用于将动物的不反应数据转化成体现物种反应变化的数据。

长期接触 EO 会产生的潜在副作用,而依据在动物数据基础上得出的此限量为体重为 58 kg 的成年人提供了一可接受的安全限度。

表 E3 确定长期接触 EO 的限量的数据概要

研究类型	口服 NOEL mg/(kg·d) [参考]	非肠道 NOEL mg/(kg·d) [参考]	吸入 NOEL mg/(kg·d) [参考]
亚慢性毒性	30 [Hollingworth 等人,1956]	25 [Northrup 等人,1981]	5 ¹⁾ [Snellings 等人,1984a]
生殖毒性	无数据	9 [Jones-Price 等人,1982]	13 ²⁾ [Snellings 等人 1982a]
1) 是根据对小白鼠为期 10~11 周研究中的 NOEL 值 10×10^{-6} 计算出的,小白鼠每周 5 d,每天 6 h 吸入 EO。 假设通气率 43 L/d 和体重 30 g。 2) 是根据对怀孕的大白鼠,在怀孕期 6~15 d 的致畸研究中的 NOEL 值 33×10^{-6} 计算出的。在怀孕期大白鼠 每天 6 h 吸入 EO,假定通气率为 290 L/d,体重为 0.35 kg。			

表 E4 确定短期接触 EO 的限量的数据概要

mg/kg

口服 LD ₅₀	静脉内 LD ₅₀	腹腔内 LD ₅₀	皮下 LD ₅₀	吸入 LD ₅₀ ¹⁾
大白鼠:72 大白鼠:240 豚鼠:270 大白鼠:280 小白鼠:280 大白鼠:330 小白鼠:360 家兔:631	家兔:175 家兔:178 家兔:180 小白鼠:260 小白鼠:290 大白鼠:350 大白鼠:355 大白鼠:380	大白鼠:150 小白鼠:175 小白鼠:178 大白鼠:178 大白鼠:180 大白鼠:180 家兔:251	小白鼠:130 大白鼠:140 大白鼠:187 大白鼠:190 家兔:200 小白鼠:260	155 至 773(估计值)
1) 是在通气速率为 290 L/24 h,浓度 $800 \times 10^{-6} \sim 4\,000 \times 10^{-6}$ 条件下,体重(BW)为 250 g 大白鼠(界于其他物种的中间值)吸入 4 h 的 LD ₅₀ 计算出的。				

E2.1.2.3 短期接触限量

接触时间少于 24 h 的限量为 20 mg。此限量是以从几种动物物种中得出的急性毒性数据为基础。这些数据曾被多名调研者(Carpenter 等人,1949,Smith 等人 1941;Bruch,1973;Jacobson 等人,1956;Woodard 和 Woodard,1971;RTECS,1987)报道过。尽管存在 LDLo 或 TDL₀ 数据(PMA,1990),但因

LD₅₀是用于评价的唯一的最佳数据,所以在研究中使用 LD₅₀。在 100 mg/kg 至 200 mg/kg 范围内,非 LD₅₀数据包括 3 个 LDLo 值。唯一一个剂量-反应数据是在小白鼠急性吸入研究中发现的(NTP,1987)。在此项研究中,9/10 的小白鼠在接触浓度为 800×10^{-6} (V/V) 的 EO 4 h 后死亡。在接触浓度为 400×10^{-6} (V/V) 的 EO 时无小白鼠死亡。因此,在确实存在的有限的剂量反应数据中,急性生物反应,致死和不致死剂量的剂量反应曲线非常接近,系数相差不大于 2。LD₅₀数据汇总如表 E4。

检查这些数据表明,不管作用途径如何,短期接触(即少于 24 h)EO 的毒性在系数 3 左右是可比的。因为数据显示出的是半数致死量而不是低致死或低毒性剂量,所以使用对大白鼠的 LD₅₀的最低值 72 mg/kg,而不是中间值,作为计算短期接触限量的基础,如下所示:

$$L = \frac{D \times BW}{SM} = \frac{72 \times 70}{250} = 20 \text{ mg}$$

式中: D——最低半数致死量,mg/kg;

BW——成年人体重 70 kg;

SM——安全限度为 250,用于将动物急性数据转化为适用于人的单次接触 EO 数据。此数的考虑包括物种间的差异,人类固有的差异,采用半致死剂量(LD₅₀)而非无作用剂量(no-effect level)数据,所得数据的质量以及使用灭菌器械的受益情况。

短期接触 EO 会产生的潜在副作用,而依据在动物试验数据上得出的此限量为一直重为 70 kg 的成年人提供了至少 250 倍的安全限度。在此安全限度下,即使在几分钟之内患者接受全部最大日剂量 20 mg 也不会出现其他急性反应,如血细胞溶血(Tana-ka 等人,1982;Ohba,1986;)。此安全限度与从亚慢性/生殖毒性数据中得出的未观察到作用剂量(NOEL)相符,该数据是以在非肠道低 NOEL 值 9 mg/(kg·d)或 522 mg/d(如果按比例向一 58 kg 的妇女重复使用 EO)为基础的。

E2.1.3 特殊情况

在某些情况下,如重大的外科手术,治疗过程中抢救生命的性质明显影响着风险-受益分析。所以接触限量是以非紧急情况下的受益和风险为基础。因此在危及生命时,在不可能满足规定限量的情况下,可适当放宽限量范围。

在制定 GB/T 16886 的本部分的过程中,有三种特殊情况,由于器械本身的限制,4.3 中规定的限量对它们不适用,或存在的人类数据表明 4.3 中规定的限量不适用。患者接触 EO 灭菌的眼内透镜的人类数据有所提供,对此类器械的残留限量的要求应提出修改。在使用氧合器或血液分离器处理血液时,认为其医疗受益大于医疗风险,所以对这些器械应考虑提出一可接受短期限量。如果长期使用体外血液净化装置,可能导致接触 EO 量超出其一生最大限量要求,对此也应考虑提出一可接受限量。

E2.1.3.1 眼内透镜限量

眼内透镜(植入眼内的器械)的残留限量为一个透镜 0.5 μg/d,此限量不是以持久接触限量,即平均日剂量 0.1 mg(100 μg)/d 直至一生时间为基础,这是一特殊情况,患者接受的最大剂量是一个透镜一天不得超过 0.5 μg。此限量可防止 EO 对眼内组织的刺激作用(Shimizu 等人,1986;McDonald 等人,1973;McDonald 等人,1977;Edelhauser 等人,1983 和 Patel,1993)。

E2.1.3.2 血液氧合器和血液分离器

此类器械的短期接触限量是 24 h 内 60 mg。这些器械应用于大手术,如切开心脏手术。在手术过程中,此限量考虑到了患者的紧急情况,允许超过 80 倍安全系数。在这种情况下,可放宽对限量的要求。

E2.1.3.3 体外血液净化装置

如果既满足每天接触 EO 的最大日剂量 20 mg,又满足每月接触 EO 的最大月剂量 60 mg 的剂量要求,那么可能会超过 EO 一生最大允许剂量 2.5 g。患者在进行血液净化时,需每周接触 2 mg EO 三次,且这种接触要持续 8 年,才能超过 EO 一生最大剂量 2.5 g。如果这种接触持续 70 年(但没有人能接受这么久的治疗)致癌风险将从 1/10 000 增加至 1/1 000。增加的风险可与 70 年的血液净化受益相抵消。

E2.2 确定 ECH 的残留限量

E2.2.1 背景

医疗器械中的 ECH 残留限量是运用了 E2.1 规定的确定 EO 残留限量的方法来确定的,但不包括使用统计学定量风险评价法确定 EO 持久接触的残留限量的方法。因此法的致癌险 1/10 000 不适用于 ECH。在动物身上进行的生物评价表明,ECH 没有潜在的致癌性,并且管理机构或舆论团体甚至认为 ECH 不可能是一种人体致癌物。对众多文献报道的评价构成确定医疗器械上 ECH 残留限量的基础。认为急性毒性数据、靶器官反应数据、动物慢性毒性数据是获取限量(如 E2.2.2 所讨论)的最佳数据。

E2.2.2 一般考虑

急性毒性数据和重复用药数据表明,通过皮肤、口服和非肠道给药,ECH 很容易进入全身循环系统。检查半数致死量(LD₅₀)和未观察到作用剂量(NOELS),也证实通过口服和非肠道给药一个时期,如短期接触等可比较 ECH 的潜在危害。从亚慢性和慢性毒性研究中获得的数据表明,接触时间增加时,ECH 的毒性效力不会增加。尽管 ECH 的毒性对靶器官不明显,特定的靶器官反应因接触途径及接触时间不同而不同。下列条文中允许日剂量的讨论反应出这些普遍性的发现。

E2.2.2.1 持久接触限量

30 d 或 30 d 至一生时间接触 ECH 限量为 2 mg/d。任何一天接触 ECH 的量不得超过 12 mg,任何一个月不得超过 60 mg,一生时间不得超过 50 000 mg。此限量是以 Johnson(1967b),Mason 等人(1971)和 NTP(1985)曾报道过的慢性数据和致癌性数据为基础。

在这些研究中,大白鼠通过饮水服入 ECH 直至 24 个月大,或对大白鼠皮下注射 ECH,每周 2 次,持续至少一年,或对大白鼠和小白鼠进行 103~104 周的 ECH 的皮肤敷贴。剂量范围从 0.086 mg/(kg·d)至 71 mg/(kg·d)或更多。在这些研究中没有发现因使用 ECH 导致肿瘤增多或发现慢性毒性迹象[不包括成活率可能降低(Johnson,1967b)]。构成计算预期持久接触限量基础的主要数据总结如表 E5。

表 E5 确定持久接触 ECH 的限量的数据概要

研究类型	口服 NOEL mg/(kg·d) [参考]	非肠道 NOEL mg/(kg·d) [参考]	皮肤 NOEL mg/(kg·d) [参考]
慢性	4 LOEL [Johnson,1976b]	2.9 按 10 mg/kg,每周两次 [Mason 等人,1971]	无数据
致癌性	16 ¹⁾ [Johnson,1976b]	无数据	71 按 100 mg/kg,每周 5 次 ¹⁾ [NTP1985]
1) 试验中最高剂量的 ECH 也不会导致肿瘤机会的增加。			

检查这些数据表明,通过口服或非肠道途径,ECH 持久接触期(即 30 d 至一生时间)的未观察到作用剂量是可比的,可与从亚慢性和生殖毒性研究中得出的未观察到作用剂量相比。动物对 ECH 的系统毒性比对其致癌性潜害(如可能有的)更为敏感。

慢性毒性的最低未观察到作用剂量,即向大白鼠进行皮下注射,2.9 mg/(kg·d),至少一年,和生成肿瘤的剂量,即给大白鼠口服 ECH 16 mg/(kg·d)直至其 24 个月龄,是用于构成计算预期持久接触限量($L_{p,chronic}$)的基础。如下所示:

$$L_{p,chronic} = \frac{D \times BW}{SM} = \frac{2.9 \times 70}{100} = 2 \text{ mg/d}$$

式中: D ——为慢性反应的最低未观察到作用剂量,以 mg/(kg·d)为单位。

BW ——成年人的体重 70 kg;

SM ——安全限度,100(安全系数10乘以修正系数10),用于将动物数据转化为人的数据。

$$L_{p,cancer} = \frac{D \times BW}{SM} = \frac{16 \times 70}{100} = 11 \text{ mg/d}$$

式中: D ——产生肿瘤(事实上,没发生肿瘤机会增加的现象)的最低未观察到作用剂量,mg/(kg·d);

BW ——成年人的体重 70 kg;

SM ——安全限度,100(安全系数100乘以修正系数1)表明在动物生物学评价中没有产生肿瘤。

检查这些预期限量 2 mg/d 和 11 mg/d,确定限量 2 mg/d 完全可以防止长期接触 ECH 产生的副作用。根据在动物数据基础上得出的因持久接触 ECH 而产生的潜在副作用,此限量为一直重为 70 kg 的成年人提供了至少 100 倍的安全限度。

E2.2.2.2 长期接触限量

接触时间为 24 h 至 30 d 的限量为 2 mg/d。在任何一天,接触 ECH 不得超过 12 mg,在任何一月不得超过 60 mg。此限量是以从几种动物中获得的亚慢性毒性数据和生殖反应(致畸性)数据为基础。许多调研者(Ambrose, 1950; Oser 等人, 1975, Balazs, 1976; Balazs, 1976 中引用的 Alleva; Woodard 和 Woodard, 1971; Courtney 等人, 1982; Jones-Price 等人, 1985a 和 1985b)曾报道过这些数据。

在研究时间各异,最长持续 403 d 的口服、非肠道重复给药研究中,ECH 产生了各种副作用,包括死亡(在一项研究中同时出现相关器官质量增加,肝脏出现黑色斑点,肾上腺出血,垂体腺出血,胃肠道出血,心肌炎,甲状腺出血,肺充血等症状),体重减轻、脑、肾上腺、肾、肺和甲状腺增生,小睾丸和睾丸损伤,呕吐,血红蛋白降低,肝损伤,异位造血作用和骨髓细胞构成过多,改变白细胞转化为淋巴细胞。剂量范围从 2.7 mg/(kg·d)至 93 mg/(kg·d)或更多。在怀孕期间的不同时期将 ECH 用于动物的生殖研究仅是畸形研究。在这些研究中,ECH 产生了母性毒性、胎儿毒性,一项研究中畸形胎儿的增加。后一个副作用只是在以 120 mg/(kg·d)的剂量[此剂量在急性致死剂量范围内(Jones-Price 等人, 1985b)]向小白鼠幼仔静脉注射时才出现。作为计算长期接触限量基础的主要数据总结如表 E6。

表 E6 确定长期接触 ECH 的限量的数据概要

研究类型	口服 NOEL mg/(kg·d) [参考]	非肠道 NOEL mg/(kg·d) [参考]
亚慢性毒性	13 [Oser 等人, 1975]	2.7 按 6.4 mg/kg, 每周 3 次 [Lawrence 等人, 1971b]
生殖毒性	50 [Courtney 等人, 1982]	9 [Jones-Price 等人, 1985a]

检查这些数据表明,在不考虑途径或特定靶器官或生殖反应的情况下,ECH 长期接触期(即 1 d 至 30 d)的未观察到作用剂量是可比的。动物对 ECH 的系统毒性比对 ECH 引起的生殖副反应更为敏感。从对大白鼠进行的腹膜内研究得出的经非肠道用药 2.7 mg/kg 的最低未观察到作用剂量(NOEL)作为计算长期限量 L 的基础:

$$L = \frac{D \times BW}{SM} = \frac{2.7 \times 70}{100} = 1.9 \text{ mg/d}$$

式中: D ——为亚慢性和生殖反应研究中,通过非胃肠外用药的最低未观察到作用剂量,mg/(kg·d);

BW ——成年人的体重 70 kg;

SM ——安全限度,100(安全系数100乘以变动系数1)。

计算出的限量略小于实际限量(分别是 1.9 mg/d 和 2.0 mg/d),考虑到 ECH 在慢性接触、长期接触后并未增加毒性,后一限量被认为足以起保护作用。长期接触 ECH 会产生的潜在副作用,根据在动

物数据得出的此限量为—体重为 70 kg 的成年人提供了至少 100 倍的安全限度。

E2.2.3 短期接触限量

接触时间少于 24 h 的 ECH 限量为 12 mg。此限量是以几种动物物种的急性毒性数据为基础。这些数据曾被多名调研者 (Rowe 和 McCollister, 1982; Woodard 和 Woodard, 1971; Lawrence 等人 1971a 和 1972; RTECS, 1990; Mason 等人, 1971; Weil, 1972) 报道过。尽管有一定数量的急性数据而且也被评价过, 但这些数据不是半数致死量, 所以不适于该评价。半数致死量总结如表 E2。

表 E7 确定短期接触 ECH 的限量的数据概要

mg/kg

口服 LD ₅₀	静脉内 LD ₅₀	腹膜内 LD ₅₀	皮下 LD ₅₀	其他 LD ₅₀
大白鼠: 50	大白鼠: 67	大白鼠: 44	大白鼠: 60	皮肤
大白鼠: 60	家兔: 80	大白鼠: 58	大白鼠: 72	家兔: 67.8
家兔: 60	大白鼠: 84	大白鼠: 60	家兔: 100	豚鼠: 84
大白鼠: 70	大白鼠: 100	大白鼠: 63	大白鼠: 120	
大白鼠: 71.3	大白鼠: 110	大白鼠: 64	大白鼠: 150	
大白鼠: 72	小白鼠: 120	大白鼠: 70		
小白鼠: 80		家兔: 80		
小白鼠: 81.4		家兔: 84.6		
小白鼠: 91		豚鼠: 85		
小白鼠: 95		豚鼠: 85.5		
豚鼠: 110		家兔: 90		
小白鼠: 150		小白鼠: 97		
小白鼠: 180		小白鼠: 98.4		
		小白鼠: 120		
		小白鼠: 130		

检查表 E7 表明, 在不考虑接触途径的前提下, 短期接触 ECH (即少于 24 h) 的毒性基本相同。因为数据反映的是半数致死而不是低致死量或低毒性剂量, 所以以最低 LD₅₀, 即向大白鼠进行腹膜内注射的剂量 44 mg/kg, 而非中间值作为计算短期接触限量 L 的基础, 如下所示:

$$L = \frac{D \times BW}{SM} = \frac{44 \times 70}{250} = 12 \text{ mg/d}$$

式中: D ——最低半数致死量, mg/kg;

BW ——成年人体重 70 kg;

SM ——安全限度为 250, 用于将动物急性数据转化为适用于人的单次接触 ECH 数据。此数据的考虑包括物种间的差异, 人类固有的差异, 采用半数致死量 (LD₅₀) 而非无作用剂量数据, 所得数据的质量以及使用灭菌器械的受益情况。

根据动物因短期接触 ECH 而产生的潜在副作用数据得出的此限量为—体重为 70 kg 的成年人提供了至少 250 倍的安全限度。同样, 此限量也于从亚慢性/生殖毒性数据中取得的 NOEL 相符, 这些 NOEL 是以低 NOEL 值 2.7 mg/(kg·d) 或 189 mg (如果对一个成年人进行按比例重复给药) 为基础。

E2.3 EG 残留量的确定

试验人员对 EG 风险评价进行了详细的讨论, 所采用的方法与对 EO 和 ECH 进行风险评价的方法相同。评价指出, 短期接触限量 435 mg/d 至 588 mg/d 是可以接受的, 其基础是动物的急性接触数据。(Rowe 和 Wolf, 1982; Woodard 和 Woodard, 1971; Latven 和 Molitor, 1939; Yin 等人 1986; Karel 等人, 1947; Mason 等人 1971; RTECS, 1990) 和人类的急性接触数据 (Rowe 和 wolf, 1982)。基于动物亚慢性和生殖反应数据 (Gaunt 等人, 1971; Woodard 和 Woodard, 1971; Tyl, 1988) 基础上的人类长期接触限量 30 mg/d 或 750 g/—生是可以接受的 (Blood 1965; Depass 等人 1986; Mason 等人, 1971; Morris 等人, 1942)。对 EG 没有最大允许残留量的要求。当 EO 残留限量被控制至该规定的限量, 器械上就不大可能存有对生物有显著影响的 EG 残留量。

E3 确定 EO 和 ECH 残留量[4.4]

E3.1 产品提取

EO 灭菌残留量条例中的关键参数是患者或使用者从使用经 EO 灭菌的器械上所接受到的剂量。为评价患者和使用者的剂量,要求模拟产品正常使用进行提取。在有些情况下只是简单的将产品浸入水中就可完成提取。但在其他情况下则要求更为复杂的模拟,如要求水流不断流动。一般认为,如果通过极限提取可确定出产品上存在的全部 EO 残留量,那么就无须再用模拟法了。

极限提取的定义包括这样一个概念,提取到最后一次,所产生的分析物少于第一次从样品中提取产生的分析物的 10%。但当第一次从样品中提取的分析物很少时,例如,如果器械残留量很少或样品释放分析物的速度很慢,此概念无效。在这些情况下提取应持续几次,直至提取到的累积总分析物的增加相对于不确定物很少时。

E3.2 分析方法

E3.2.1 乙醇中 EO 的稳定性

在 EO 法的试验室间比较研究中,如 B6.4 所述(Oba 等人,1982),应进行对乙醇中 EO 标准溶液的稳定性研究。制备浓度为 25 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$ 和 100 $\mu\text{g/mL}$ 的 EO 溶液。将这些溶液贮存在冰箱温度和 40℃ 下。在 6 个星期内的不同时间分析这些溶液,结果表明在 40℃ 下两周后浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 和 100 $\mu\text{g/mL}$ 的 EO 溶液浓度降为原来的 70%,而所有在冰箱温度(5℃)下贮存 60 d 的研究用标准溶液,其浓度与原溶液相比变化只在 10% 之内。

E3.2.2 ECH 的稳定性

在进行 ECH 实验室间比较研究之前,11 个实验室参与了 ECH 标准溶液稳定性的研究。ECH 水溶液应由一个实验室制备,然后运送到其他实验室。水溶液运到时应将其贮存在冰箱温度下,通过各种类型的柱在不同的时间段对这些溶液进行分析,如试验液运到后马上分析,运到 1 周后,2、3、4、8、12 周后进行分析。分析表明,在前 2 周内,浓度无明显变化。因此得出结论,ECH 标准溶液在冰箱温度下贮存至少 14 d 是稳定的。

E3.2.3 标准曲线的线性

理想状况下,即使超出满足 4.3 规定的限量的浓度范围,GB/T 16886 的本部分描述的步骤也是可适用的。但是这些在步骤上进行的 ILC 研究中,测试的 EO 线性范围为 2 $\mu\text{g/mL}$ 和 50 $\mu\text{g/mL}$,测试的 ECH 的线性范围是 3 $\mu\text{g/mL}$ 和 15 $\mu\text{g/mL}$ 。参加 ILC 研究的试验人员在个人经验的基础上认为,EO 和 ECH 的分析系统浓度范围可安全扩大至 100 $\mu\text{g/mL}$,但当前没有数据能确定线性范围是否可以扩大至较低的标准浓度。

E3.3 数据分析和解释[4.4.7]

通过正确分析数据,试验人员可计算出产品的残留量水平,并据此推出释放给患者的潜在剂量。这样就可以使产品在符合 4.3 的要求下投放市场。