

## 附件：1421 灭菌法公示稿（第一次）

### 1 1421 灭菌法

2 本通则介绍的常用灭菌方法，可用于制剂、原料、辅料、医疗器械、药品包装  
3 材料以及设备表面等物品的灭菌，从而使物品残存活微生物的概率下降至预期水平。

4 灭菌（sterilization）系指用适当的物理或化学手段将物品中活的微生物杀灭或  
5 除去的过程。无菌物品是指物品中不含任何活的微生物，但对于任何一批无菌物品  
6 而言，绝对无菌既无法保证也无法用试验来证实。一批物品的无菌特性只能通过物  
7 品中活微生物的概率来表述，即非无菌概率（Probability of a Nonsterile Unit, PNSU）  
8 或无菌保证水平（Sterility Assurance Level, SAL）。已灭菌物品达到的非无菌概率  
9 可通过验证确定。

10 无菌物品的无菌保证不能依赖于最终产品的无菌检验，而是取决于生产过程中  
11 采用经过验证的灭菌工艺、严格的 GMP 管理和良好的无菌保证体系。

12 无菌药品的生产分为最终灭菌工艺和无菌生产工艺。经最终灭菌工艺处理的无  
13 菌物品的非无菌概率不得高于  $10^{-6}$ 。灭菌工艺控制涉及灭菌工艺的开发、灭菌工艺  
14 的验证和日常监控等阶段。

#### 15 灭菌工艺的开发

16 灭菌工艺的开发应综合考虑被灭菌物品的性质、灭菌方法的有效性、灭菌后物  
17 品的完整性和稳定性，并兼顾经济性等因素。只要物品允许，应尽可能选用最终灭  
18 菌工艺灭菌。若物品不适合采用最终灭菌工艺，应选用无菌生产工艺达到无菌保证  
19 要求。

20 综合考虑灭菌工艺的灭菌能力和对灭菌物品的影响，灭菌工艺可以分为过度杀  
21 灭法、生物负载 / 生物指示剂法（也被称为残存概率法）和生物负载法。对耐受的  
22 灭菌物品，通常选用过度杀灭法。

23 物品的无菌保证与灭菌工艺、灭菌前物品的生物负载相关。灭菌工艺开发时，  
24 需要对物品污染的微生物种类、数目及其耐受性进行综合评估。

#### 25 灭菌工艺的验证

26 灭菌工艺的验证是无菌保证的必要条件。灭菌工艺经验证后，方可交付正式使  
27 用。验证内容包括：①撰写验证方案及制定评估标准；②确认设备的设计与选型；  
28 ③确认灭菌设备资料齐全、安装正确，并能正常运行；④确认灭菌设备、关键控制  
29 和记录系统能在规定的参数范围内正常运行；⑤采用被灭菌物品或模拟物品按预定  
30 灭菌程序进行重复试验，确认各关键工艺参数符合预定标准，确定经灭菌物品的无  
31 菌保证水平符合规定；⑥汇总并完善各种文件和记录，撰写验证报告。

### 32 灭菌工艺的实时监控

33 日常生产中，应对灭菌工艺的运行情况进行监控，确认关键参数（如温度、压  
34 力、时间、湿度、灭菌气体浓度及吸收的辐射剂量等）均在验证确定的范围内。同  
35 时应持续评估灭菌工艺的有效性、被灭菌物品的安全性和稳定性，并建立相应的变  
36 更和偏差控制程序，确保灭菌工艺持续处于受控状态。灭菌工艺应定期进行再验证。  
37 当灭菌设备或程序发生变更（包括灭菌物品装载方式和数量的改变）时，应进行重  
38 新验证。

39 验证及日常监控阶段，可根据风险评估的结果对微生物的种类、数目及耐受性  
40 进行监控。在生产各个环节应采取各种措施降低生物负载，确保生物负载控制在  
41 规定的限度内。灭菌结束后，应采取措施防止已灭菌物品被再次污染。任何情况下，  
42 都应要求容器及其密封系统确保物品在有效期内符合无菌要求。

### 43 灭菌方法

44 常用的灭菌方法有湿热灭菌法、干热灭菌法、辐射灭菌法、气体灭菌法、过滤  
45 除菌法、汽相化灭菌法、液相灭菌法。可根据被灭菌物品的特性采用一种或多种方  
46 法组合灭菌。

### 47 湿热灭菌法

48 本法系指将物品置于灭菌设备内利用饱和蒸汽、蒸汽-空气混合物、蒸汽-空气-  
49 水混合物、过热水等手段使微生物菌体中的蛋白质、核酸发生变性而杀灭微生物的  
50 方法。该法灭菌能力强，为热力灭菌中最有效、应用最广泛的灭菌方法。药品、容  
51 器、培养基、无菌衣、胶塞以及其他遇高温和潮湿性能稳定的物品，均可采用本法  
52 灭菌。流通蒸汽不能有效杀灭细菌孢子，一般可作为不耐热无菌产品的辅助处理手  
53 段。

54 湿热灭菌工艺的开发应考虑被灭菌物品的热稳定性、热穿透性、生物负载等因素。  
55 湿热灭菌通常采用温度-时间参数或者结合  $F_0$  值 ( $F_0$  值为标准灭菌时间, 系灭  
56 菌过程赋予被灭菌物品 121℃ 下的等效灭菌时间) 综合考虑, 无论采用何种控制参  
57 数, 都必须证明所采用的灭菌工艺和监控措施在日常运行过程中能确保物品灭菌后  
58 的  $PNSU \leq 10^{-6}$ 。多孔或坚硬物品等可采用饱和蒸汽直接接触的方式进行灭菌, 灭菌  
59 过程中应充分去除腔体和待灭菌物品中的空气和冷凝水, 以避免残留空气阻止蒸汽  
60 到达所有暴露的表面, 从而破坏饱和蒸汽的温度-压力关系。对装有液体的密闭容  
61 器进行灭菌, 灭菌介质先将热传递到容器表面, 再通过传导和对流的方式来实现内  
62 部液体的灭菌, 必要时可采用空气过压的方式平衡容器内部和灭菌设备腔体之间的  
63 压差, 避免影响容器的密闭完整性。

64 采用湿热灭菌时, 被灭菌物品应有适当的装载方式。装载方式的确认应考虑被  
65 灭菌物品最大、最小和生产过程中典型的装载量和排列方式等, 确保灭菌的有效性和  
66 重现性。装载热分布试验应尽可能使用被灭菌物品, 如果采用类似物替代, 应结  
67 合物品的热力学性质等进行适当的风险评估。热穿透试验应将足够数量的温度探头  
68 置于被灭菌物品内部的冷点。如有数据支持或有证据表明将探头置于物品外部也能  
69 反映出物品的热穿透情况, 也可以考虑将探头置于物品外部。

70 微生物挑战试验用来进一步确认灭菌效果, 生物指示剂的放置位置应结合被灭  
71 菌物品的特点、装载热分布以及热穿透试验结果来确定。应根据灭菌工艺选择适宜  
72 的生物指示剂。过度杀灭法常用的生物指示剂为嗜热脂肪地芽孢杆菌 (*Geobacillus*  
73 *stearothermophilus*), 热不稳定性物品灭菌常用的生物指示剂为生孢梭菌  
74 (*Clostridium sporogenes*), 枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 和凝结芽孢杆菌  
75 (*Bacillus coagulans*)。

76 对于采用生物负载 / 生物指示剂法和生物负载法的灭菌工艺, 日常生产全过程  
77 应对物品中污染的微生物进行连续地、严格地监控, 并采取各种措施降低微生物污  
78 染水平, 特别是防止耐热菌的污染。

79 湿热灭菌在冷却阶段应采取防止已灭菌物品被再次污染。

80 干热灭菌法

81 本法系指将物品置于干热灭菌柜、隧道灭菌器等设备中，利用干热空气达到杀  
82 灭微生物或消除热原物质的方法。适用于耐高温但不宜用湿热灭菌法灭菌的物品灭  
83 菌，如玻璃器具、金属制容器、纤维制品、陶瓷制品、固体试药、液状石蜡等均可  
84 采用本法灭菌。

85 干热灭菌法的工艺开发应考虑被灭菌物品的热稳定性、热穿透力、生物负载  
86 （或内毒素污染水平）等因素。干热灭菌条件采用温度-时间参数或者结合  $F_H$  值  
87 （ $F_H$  值为标准灭菌时间，系灭菌过程赋予被灭菌物品  $160^\circ\text{C}$  下的等效灭菌时间）综  
88 合考虑。干热灭菌温度范围一般为  $160\sim 190^\circ\text{C}$ ，当用于除热原时，温度范围一般  
89 为  $170\sim 400^\circ\text{C}$ ，无论采用何种灭菌条件，均应保证灭菌后的物品的  $\text{PNSU}\leq 10^{-6}$ 。

90 装载方式的确认应考虑被灭菌物品最大和最小的装载量和排列方式等，对于连  
91 续干热灭菌设备还应考虑传送带运转时不同位置可能产生的温度差异，同时应关注  
92 热力难以穿透的物品，以保证灭菌的有效性和重现性。由于空气热导性较差，应通  
93 过热分布和热穿透试验确认冷点能够达到预期的灭菌效果。微生物挑战试验用生物  
94 指示剂通常选择萎缩芽孢杆菌（*Bacillus astrophaeus*）。细菌内毒素灭活验证试验  
95 是证明除热原过程有效性的试验。一般将不小于 1000 单位的细菌内毒素加入待去  
96 热原的物品中，证明该去热原工艺能使内毒素至少下降 3 个对数单位。细菌内毒素  
97 灭活验证试验所用的细菌内毒素一般为大肠埃希菌内毒素（*Escherichia coli*  
98 *endoxin*）。

99 灭菌设备内的空气应当循环并保持正压。进入干热灭菌生产设备的空气应当经  
100 过高效过滤器过滤，高效过滤器应定期进行检漏测试以确认其完整性。

### 101 辐射灭菌法

102 本法系指利用电离辐射杀灭微生物的方法。常用的辐射射线有  $^{60}\text{Co}$  或  $^{137}\text{Cs}$  衰  
103 变产生的  $\gamma$  射线、电子加速器产生的电子束和 X 射线装置产生的 X 射线。能够耐辐  
104 射的医疗器械、生产辅助用品、药品包装材料、原料药及成品等均可用本法灭菌。

105 辐射灭菌工艺的开发应考虑被灭菌物品对电离辐射的耐受性以及生物负载等因  
106 素。为保证灭菌过程不影响被灭菌物品的安全性、有效性及稳定性，应确定最大可  
107 接受剂量。辐射灭菌控制的参数主要是辐射剂量（指灭菌物品的吸收剂量），灭菌  
108 剂量的建立应确保物品灭菌后的  $\text{PNSU}\leq 10^{-6}$ 。辐射灭菌应尽可能采用低辐射剂量。

109 辐射灭菌验证的关键在于剂量分布测试，在开展剂量分布测试前，应规定灭菌  
110 物品的包装形式、密度以及装载模式等。通过剂量分布测试，确定灭菌过程的最大  
111 和最小剂量值及其位置，如果日常监测使用参照计量位置，还需确定其剂量值与最  
112 大和最小剂量值之间的关系。辐射灭菌一般不采用生物指示剂进行微生物挑战试验。

113 日常使用中，应进行生物负载监控和定期剂量审核，确保辐射灭菌效果及剂量的  
114 持续有效。灭菌时，应采用剂量计对灭菌物品吸收的辐射剂量进行监控，剂量计  
115 放置的位置应经验证确定，以充分证实灭菌物品吸收的剂量是在规定的限度内。剂  
116 量测量应溯源到国家标准或是国际标准。

### 117 气体灭菌法

118 本法系指用化学灭菌剂形成的气体杀灭微生物的方法。本法最常用的化学灭菌  
119 剂是环氧乙烷，一般与 80%~90%的惰性气体混合使用，在充有灭菌气体的高压腔  
120 室内进行。采用气体灭菌法时，应注意灭菌气体的可燃可爆性、致畸性和残留毒性。  
121 该法适用于不耐高温、不耐辐射物品的灭菌，如医疗器械、塑料制品和药品包装材  
122 料等，干粉类产品不建议采用本法灭菌。

123 采用本法灭菌需确认经过解析工艺后，灭菌气体和反应产物残留量不会影响被  
124 灭菌物品的安全性、有效性和稳定性。采用环氧乙烷灭菌时，腔室内的温度、湿度、  
125 灭菌气体浓度、灭菌时间是影响灭菌效果的重要因素。

126 气体灭菌工艺的验证，应考虑物品包装材料和灭菌腔室中物品的排列方式对灭  
127 菌气体的扩散和渗透的影响。环氧乙烷气体灭菌的生物指示剂一般采用萎缩芽孢杆  
128 菌（*Bacillus atrophaeus*）。

129 采用环氧乙烷灭菌时，应进行泄漏试验，以确认灭菌腔室的密闭性。灭菌后，  
130 可通过经验证的解析步骤，使残留环氧乙烷和其他易挥发性残留物消散，并对灭菌  
131 物品中的环氧乙烷残留物和反应产物进行监控，以证明其不超过规定的浓度，避免  
132 产生毒性。

### 133 过滤除菌法

134 本法系指采用物理截留去除气体或液体中微生物的方法。常用于气体、热不稳  
135 定溶液的除菌。

136 过滤除菌工艺开发时，应根据待过滤介质属性及工艺目的选择合适的过滤器。  
137 除菌级过滤器的滤膜孔径选用 0.22 $\mu\text{m}$ （或更小孔径或相同过滤效力），过滤器的  
138 孔径定义来自过滤器对微生物的截留能力，而非平均孔径的分布系数。选择过滤器  
139 材质时，应充分考察其与待过滤介质的兼容性。过滤器不得因与待过滤介质发生反  
140 应、释放物质或吸附作用而对过滤产品质量产生不利影响，不得有纤维脱落，禁用  
141 含石棉的过滤器。为保证过滤除菌效果，可使用两个除菌级的过滤器串联过滤，主  
142 过滤器前增加的除菌级过滤器即为冗余过滤器，并须保证这两级过滤器之间的无菌  
143 性。

144 过滤除菌法常用的挑战微生物为缺陷短波单胞菌（*Brevundimonas diminuta*）。  
145 除菌级过滤器的截留试验要求是在规定条件下，在有效过滤面积内每平方厘米截留  
146 缺陷短波单胞菌的能力达到  $10^7\text{cfu}$ ，但在有些情况下，缺陷短波单胞菌不能代表最  
147 差条件，则需要考虑采用生产中发现的最差条件细菌进行截留试验。

148 在每一次过滤除菌后应立即进行滤器的完整性试验，即起泡点试验、扩散流 /  
149 前进流试验或水侵入法测试，确认滤膜在除菌过滤过程中的有效性和完整性。过滤  
150 除菌前是否进行完整性测试可根据风险评估确定。灭菌前进行完整性测试应考虑滤  
151 芯在灭菌过程中被损坏的风险；灭菌后进行完整性测试应采取措施保证过滤器下游  
152 的无菌性。

153 过滤除菌前，产品的生物负载应控制在规定的限度内。过滤器使用前必须经过  
154 灭菌处理（如在线或离线蒸汽灭菌，辐射灭菌等）。在线蒸汽灭菌的设计及操作过  
155 程应关注滤芯可耐受的最高压差及温度。

156 与过滤除菌相关的设备、包装容器及其他物品应采用适当的方法进行灭菌，并  
157 防止再污染。

### 158 汽相化灭菌法

159 本法系指 通过分布在空气中的灭菌剂杀灭微生物的方法。将灭菌剂经过蒸发汽  
160 化后，通过气流及其他方式输送到待处理环境中，使得其中暴露表面的生物负载下  
161 降一定水平的方法。

162 在药品的生产和检验中，本法主要应用于密闭空间的内表面、空间内设备及物  
163 品暴露的表面除菌，例如无菌隔离系统等屏障系统、传递舱等密闭腔室、密闭房间

164 等场景。在常见的表面除菌应用中，基于应用场景和风险评估，一般期望能达到使  
165 生物指示剂的孢子数至少下降 3~6 个对数单位的效果。

166 常用的灭菌剂包括过氧化氢（ $H_2O_2$ ）、过氧乙酸（ $CH_3COOOH$ ）、过氧化氢  
167 和过氧乙酸混合物等，灭菌剂的选择需考虑安全性、被表面除菌材料的兼容性和被  
168 表面除菌物品包装材料的吸附性、渗透性和残留情况等。~~汽相灭菌适用于密闭空间~~  
169 ~~的内表面灭菌。~~

170 常见的汽化表面除菌工艺一般包括多个阶段：灭菌剂注入前的预处理阶段（对  
171 待除菌空间的温湿度控制、汽化发生器的准备等），灭菌剂的注入、扩散及维持阶  
172 段，排除灭菌剂残留的阶段。

173 在汽化表面除菌工艺中，往往存在相变和气液两相共存的复杂状态，汽相化表  
174 面灭菌除菌效果与灭菌剂量（一般是指注入量）、注入速率和持续时间、被处理空  
175 间的相对湿度和温度、气流和灭菌剂分布情况、物品装载方式、清洁情况等因素有  
176 关。装载方式的确认应考虑密闭空间内部物品的装载量~~和~~、排列方式和表面暴露程  
177 度。

178 根据不同型号设备的控制原理，用户和设备制造商可考虑通过适当的工艺开发  
179 或基于经验来确定关键工艺参数（包括初始的温湿度条件、灭菌剂的注入速率或注  
180 入频次、灭菌剂的注入时间以及排残条件等），工艺开发中可考虑温湿度分布研究、  
181 灭菌剂分布研究、最差位点的微生物挑战等。

182 微生物挑战试验用来确认表面灭菌除菌效果，生物指示剂的放置位置应基于风  
183 险评估，可包括灭菌剂最难到达的位置或工艺开发中发现的其他最差位点。汽相化  
184 表面灭菌除菌用生物指示剂一般为嗜热脂肪地芽孢杆菌（*Geobacillus*  
185 *stearothermophilus*）、萎缩芽孢杆菌（*Bacillus atrophaeus*）~~、生孢梭菌~~  
186 ~~（*Clostridium sporogenes*）~~等。

187 日常使用中，应关注灭菌剂注入精度、温湿度条件等重要工艺参数的重现性。  
188 汽相化表面灭菌除菌前应对待处理空间、设备及物品表面灭菌物品应进行清洁，按  
189 照规定的装载模式装载物料并。~~灭菌时应~~最大限度地暴露表面，确保表面灭菌除菌  
190 效果。表面灭菌除菌完成后应将灭菌剂残留充分去除或灭活。

191 液相灭菌法

---

192 本法系指将被灭菌物品完全浸泡于灭菌剂中达到杀灭物品表面微生物的方法。  
193 具备灭菌能力的灭菌剂包括：甲醛、过氧乙酸、氢氧化钠、过氧化氢、次氯酸钠等。  
194 灭菌剂种类的选择应考虑灭菌物品的耐受性。灭菌剂浓度、温度、pH 值、生  
195 物负载、灭菌时间、被灭菌物品表面的污染物等是影响灭菌效果的重要因素。  
196 灭菌工艺验证时，应考虑灭菌物品表面积总和最大的装载方式，并确保灭菌剂  
197 能够接触到所有表面，如狭小孔径物品的内表面。微生物挑战试验常用的生物指示  
198 剂是萎缩芽孢杆菌（*Bacillus atropheus*）和枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）。通  
199 过重复试验来验证灭菌剂浓度和灭菌时间等灭菌参数条件。灭菌后应将灭菌剂残留  
200 充分去除或灭活。  
201 灭菌剂残留去除阶段，应采取措施防止已灭菌物品被再次污染。使用灭菌剂的  
202 全过程都应采取适当的安全措施。

---

起草单位：浙江省食品药品检验研究院

联系电话：0571-86459427

参与单位：上海市食品药品检验研究院、广州市药品检验所



## 1421 灭菌法 修订说明

### 一、制修订的目的意义

以《中国药典》2025年版编制大纲为指导，在2020年版四部通则1421灭菌法基础上，根据国内制药业对于汽化灭菌工艺的推广应用现状，进一步理顺和明确汽化灭菌工艺的定义、应用场景、监测和控制等关键性技术要求。

### 二、起草过程

本次修订分为文献法规调研、问卷调研和文稿修订三个阶段。围绕各国药典、国内外技术指南及文献进行法规文献调研；并通过问卷调查和访谈形式对国内外主流汽化灭菌/消毒设备制造商就设备控制原理、工艺开发、用户验证水平等方面进行深入调研；并将前两方面的调研成果向业内专家进行咨询和沟通，了解行业共识，最终形成修订草案。

### 三、制修订的总体思路

根据文献法规调研、设备制造商调研、专家咨询所了解的行业共识，总结不同型号设备在控制原理、工艺开发和验证中的共同点，明确汽化灭菌的定义、主要应用场景和适用范围，介绍影响因素和去污染工艺开发、验证及日常工艺控制等要点。

### 四、需重点说明的问题

#### 1. 修订“汽相灭菌法”名称

参考国内外相关标准措辞，修订为“汽化灭菌法”更为准确。

#### 2. 引入“表面除菌”概念和应用场景规定

根据课题调研，目前制药行业主要应用的是常压下的汽化工艺，用于较大密闭空间内的表面除菌。不同于传统的湿热灭菌法、干热灭菌法和气体灭菌法等，这类汽化工艺主要对暴露表面的生物负载进行杀灭，穿透力较差，因此使用“表面除菌”更合适。

近期，部分国外监管机构在监管政策方面，将医疗器械所应用的过氧化氢汽化/等离子工艺认可为与湿热灭菌法同类别的灭菌工艺，这类工艺在极小空间内的抽真空条件下运行，其运行原理、工艺开发和参数控制与常压下的汽化表面除菌工艺

---

存在较大差异。本次修订主要针对目前制药行业中已达成共识的常压下的汽化表面除菌工艺。

### 3. 表面除菌工艺开发

汽化工艺运行中存在相变及多相共存的复杂状态，目前行业中没有公认的标准杀灭条件，不同型号设备的工艺控制参数存在客观差异。制造商和用户常常基于经验确定可完全杀灭生物指示剂的工艺参数，而根据本次课题调研，近年来在国内新增的生产线设备中，也有部分用户开展了不同程度的工艺开发研究来优化参数，以增加最差杀灭条件的冗余度，以及改善对产品的兼容性。

用户和制造商可基于不同应用场景的风险评估，考虑采用基于经验的工艺参数，或开展合适程度的工艺开发来研究优化工艺参数。