

验证灭菌设备的验证

一 灭菌的概念

- 灭菌是用适当的物理或化学手段将物品中活的微生物杀灭或除去的方法。
- 无菌物品是指物品中不含任何活的微生物。对任一批产品来说，绝对的无菌既无法保证也无法用实验来证实。实际生成过程中，灭菌是指将物品中污染的微生物残存概率下降至一定水平，以无菌保证水平SAL表示。最终灭菌的产品微生物存活概率不得高于 10^{-6} 。

二 灭菌的方法

常用的灭菌方法有：

- 湿热灭菌法
- 干热灭菌法
- 辐射灭菌法
- 气体灭菌法和过滤除菌法。

只要产品允许尽量采取最终灭菌的方法。

1、湿热灭菌

- 是用高压饱和蒸汽、过热水喷淋等手段使微生物菌体中蛋白质、核酸发生变性而杀灭微生物的方法。
- 灭菌能力强，是热力灭菌中最有效，应用最广泛的灭菌方法。
- 适用范围：遇高温和潮湿不发生变化和损坏的物品。如容器、培养基、胶塞、无菌衣等。

1、湿热灭菌

- 热压灭菌用的灭菌器种类很多，但其基本结构大同小异。
- 注意：被灭菌物应有适当的装载方式，不能排列过密。以保证灭菌的有效性及均一性。
- 必须将灭菌器内的空气排出。如果灭菌器内的空气存在，则压力表上所表示的压力是器内蒸气和空气二者的总压而非单纯的蒸气压力。

2 干热灭菌法

- 系指物品于干热灭菌柜、隧道灭菌器等设备中、利用干热空气达到杀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的灭菌，如玻璃器具、金属制容器、纤维制品、固体试药、液状石蜡等均可采用本法灭菌。

2 干热灭菌法

- 干热灭菌条件：一般为 $160\sim 170^{\circ}\text{C}\times 120\text{min}$ 以上、 $170\sim 180^{\circ}\text{C}\times 60\text{min}$ 以上或 $250^{\circ}\text{C}\times 45\text{min}$ 以上，也可采用其它温度和时间参数。总之，应保证灭菌后的产品其SAL（无菌保证水平） $\leq 10^{-6}$
- 注意：被灭菌物品应有适当的包装和装载方式，保证灭菌的有效性和均一性

2 干热灭菌法

- 干热灭菌法验证与湿热灭菌法相同，应进行热分布试验、热穿透试验、生物指示剂验证试验或细菌内毒素灭活验证试验。以确认灭菌柜中的温度分布符合设定的标准、确定最冷点位置等。常用的生物指示剂为枯草芽孢杆菌孢子。细菌内毒素灭活验证试验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。验证时，一般采用最大装载方式。

3 辐射灭菌法

- 系指将灭菌产品置于适宜放射源辐射的 γ 射线或适宜的电子加速器发生的电子束中进行电离辐射而达到杀灭微生物的方法。
- 本法最常用的为 ^{60}Co - γ 射线辐射灭菌。医疗器械、容器、生产辅助用品、不受辐射破坏的原料药及成品等均可用本法灭菌。

3 辐射灭菌法

- 辐射灭菌所控的参数主要是辐射剂量（指灭菌物品的吸收剂量）。该剂量的制定应考虑灭菌物品的适应性及可能污染的微生物最大数量及最强抗辐射力，所使用的剂量事先应验证其有效性及安全性。常用的辐射灭菌吸收剂量为 **25kGy**。对最终产品、原料药、某些医疗器材应尽可能采用低辐射剂量灭菌。
- 灭菌时，应采用适当的化学或物理方法对灭菌物品吸收的辐射剂量进行监控，以充分证实灭菌物品吸收的剂量是在规定的限度内。

4 气体灭菌法

- 系指用化学消毒剂形成的气体杀灭微生物的方法。
- 常用的化学消毒剂有环氧乙烷、气态过氧化氢、甲醛、臭氧（ O_3 ）等，本法适用于在气体中稳定的物品灭菌。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。
- 本法中最常用的气体是环氧乙烷，一般与80%~90%的惰性气体混合使用。该法可用于医疗器械，塑料制品等不能采用高温灭菌的物品灭菌。含氯的物品及能吸附环氧乙烷的物品则不宜使用。另外，使用气态过氧化氢和臭氧（ O_3 ）灭菌，因其无危害性残留物，不会对操作人员和环境造成危害，适合于空间和物品表面的灭菌。

4 气体灭菌法

- 臭氧灭菌：臭氧在常温、常压下分子结构不稳定，很快自行分解成氧气和单个氧原子；后者具有很强的活性，对细菌有极强的氧化作用，将其杀死，多余的氧原子则会自行重新结合成为普通氧原子，不存在任何有毒残留物，故称无污染消毒剂，它不但对各种细菌（包括肝炎病毒，大肠杆菌，绿浓杆菌及杂菌等）有极强的杀灭能力，而且对杀死霉菌也很有效。

4 气体灭菌法

- 1、臭氧的灭菌机制及过程类属于生物化学过程，氧化分解了细菌内部氧化葡萄糖所必须的葡萄糖氧化酶。
- 2、直接与细菌、病毒发生作用，破坏其细胞器和核糖核酸，分解DNA、RNA，蛋白质、脂质类和多糖等大分子聚合物，使细菌的物质代谢生产和繁殖过程到破坏。
- 3、渗透胞膜组织，侵入细胞膜内作用于外膜脂蛋白和内部的脂多糖，使细胞发生通透畸变，导致细胞溶解死亡。

5 除菌过滤法

- 系利用细菌不能通过致密具孔滤材的原理以除去气体或液体中微生物的方法。
- 适用于热不稳定的药品溶液或原料的除菌。
- 除菌过滤器微孔滤膜分亲水性和疏水性两种。对除菌过滤器的要求：除菌过滤器必须选择具有截留实验证明的除菌级过滤器。药品生产中采用的除菌滤膜孔径一般不超过 $0.22\mu\text{m}$ 。过滤器不得对被滤过成分有吸附作用，也不能释放物质，不得有纤维脱落，禁用含石棉的过滤器。过滤器和滤膜在使用前应进行洁净处理，并用高压蒸汽进行灭菌或作在线灭菌。更换品种和批次应先清洗过滤器，再更换滤膜。

5 除菌过滤法

- 过滤过程中无菌保证与过滤液体的初始生物负荷及过滤器的对数下降值 LRV (Log Reduction Value) 有关。LRV系指规定条件下，被过滤液体过滤前的微生物数量与过滤后的微生物数量比的常用对数值。
 - 即： $LRV = \lg N_0 - \lg N$
 - 式中 N_0 为产品除菌前的微生物数量。
 - N 为产品除菌后的微生物数量。

5 除菌过滤法

- 在过滤除菌中，一般无法对全过程中过滤器的关键参数（滤膜孔径的大小及分布，滤膜的完整性及LRV）进行监控。因此，在每一次过滤除菌前后均应作滤器的完整性试验，即气泡点试验或压力维持试验或气体扩散流量试验。确认滤膜在除菌过滤过程中的有效性和完整性。除菌过滤器的使用时间不应超过一个工作日，否则应进行验证。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/818043106130006126>