

*****有限公司

无菌检验方法 验证方案

验证方案申请人: 日期: 年 月 日

验证方案审核人: 日期: 年 月 日

验证方案审批人: 日期: 年 月 日

1. 概述:

无菌检查法是为了检查药典要求无菌的医疗器械产品是否无菌而建立的检查法，是作为批准无菌产品放行的检验或监督部门对无菌产品质量监督中的一个重要项目。它是根据用于实验的培养基中是否有微生物生长来判定样品的无菌性，液体培养基变浑浊一般表明样品受微生物的污染。基于微生物污染的不均匀性，使无菌检查法结果的可信度受许多因素制约，如抑菌因素、检查法、检验量、检查用的培养基质量、操作环境、无菌技术等。检验方法的验证是现代质量保证体系中关系到质控技术、方法、手段的科学性、准确性的重要组成部分，是保证检验结果的公正、科学、准确的基础。

2. 验证目的:

验证所采用的方法和条件是否适合于供试品的无菌检查。即确认供试品在该检验量、该检验条件下无抑菌活性或其抑菌活性以被充分消除到可以忽略不计。

3. 验证范围:

适用于医用纱布无菌检查法的验证。

4. 验证人员及职责

姓名	职务	职责
		负责验证方案的批准实施、验证报告的批准
		验证方案、验证报告的起草并负责验证过程中现场的监控及取样
		负责按制订无菌检验规程实施检验和验证实验

5. 文件准备和培训

检查验证所需的各类文件资料，应齐全；相关的文件草案是否已具备。

文件编码	文件名称	存放部门

6. 验证条件

6.1. 仪表量器经过校验合格，且在有效期内。

6.2. 供试品：随机抽取*****医药有司生产的3个批次医用无菌医用纱布

6.3. 培养基及试剂:

6.3.1. 试剂试液:

0.9%氯化钠、氯化钠—蛋白胨缓冲液, 配制记录见附件 1

6.3.2. 培养基

硫乙醇酸盐流体培养基	生产厂家:	批号:
改良马丁培养基	生产厂家:	批号:
营养琼脂培养基	生产厂家:	批号:
改良马丁琼脂培养基	生产厂家:	批号:
蛋白胨	生产厂家:	批号:

培养基配制记录见附件 2。

6.4. 验证用菌株:

金黄色葡萄球菌	【CMCC (B) 26003】
铜绿假单胞菌	【CMCC (B) 10104】
枯草芽孢杆菌	【CMCC (B) 63501】
生孢梭菌	【CMCC (B) 64941】
白色念珠菌	【CMCC (F) 98001】
黑曲霉	【CMCC (F) 98003】

标准菌株购自: 浙江省食品药品检验研究中心

各验证用菌种传代记录见附件 3。

6.5. 无菌检验仪器及相关设备:

压力蒸汽灭菌器

型 号: 生产厂家:

校验日期: 有效期:

生化培养箱 (细菌培养)

型 号: 生产厂家:

校验日期: 有效期:

生化培养箱 (霉菌培养)

型 号: 生产厂家:

校验日期: 有效期:

7. 验证内容:

7.1. 培养基无菌性检查:

每批培养基随机取不少于 5 支, 培养 14 天, 应无菌生长。

培养基无菌性检查记录

日期:

培养基 支数 培养天数	培养基					硫乙醇酸盐流体培养基					改良马丁培养基				
1															
2															
3															
4															
5															
6															
结论															
备注:															

检测人/日期:

复核人/日期:

7.2 供试品的制备

医用纱布供试品: 将包装好的医用纱布打开, 用剪刀将医用纱布剪碎, 放入 100ml pH7.0 氯化钠—蛋白胨缓冲液中浸泡 1 小时, 取水层作为供试品。

7.3. 试验菌液的制备

7.3.1. 接种金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌的新鲜培养物至营养琼脂培养基斜面中, 置 30—35℃培养 18-24 小时, 分别取用 3-5ml 0.9% 的无菌氯化钠溶液, 反复吹洗, 冲下菌苔, 震荡 80 次, 用 10 倍递增稀释制成每 1ml 含菌数小于 100 CFU 的菌悬液。

7.3.2. 接种生孢梭菌的新鲜培养物至 12ml 硫乙醇酸盐流体培养基中, 30~35℃培养 18~24 小时, 取上述培养物 1ml 加 9ml 0.9% 无菌氯化钠溶液 10 倍递增稀释制成每 1ml 含菌数小于 100 CFU 的菌悬液。

7.3.3. 接种白色念珠菌的新鲜培养物至 10ml 改良马丁培养基中, 置 23—28℃培养 24-48 小时, 取上述培养物 1ml 加 9ml 0.9% 的无菌氯化钠溶液 10 倍递增稀释制成每 1ml 含菌数小于 100CFU 的

菌悬液。

7.3.4. 接种黑曲霉的新鲜培养物至改良马丁琼脂斜面培养基中,置 23-28℃培养 5-7 天,使大量孢子形成。用 3-5ml0.9%的无菌氯化钠溶液将孢子洗脱并过滤孢子悬液至无菌试管内作为原液,取 1m 原液加 9ml 0.9%的无菌氯化钠溶液 10 倍递增逐级稀释制成每 1ml 含孢子数小于 100CFU 的孢子悬液。

7.4. 培养基灵敏度检查

取每管装量为 12ml 的硫乙醇酸盐流体培养基 9 支,分别接种小于 100 CFU 的金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌、生孢梭菌菌悬液各 1ml,每种培养基各接种 2 支,另 1 支不接种作为空白对照,培养 3 天;取每管装量为 9ml 的改良马丁培养基 5 支,分别接种小于 100 CFU 的白色念珠菌、黑曲霉菌悬液各 1ml,每种培养基各接种 2 支,另 1 支不接种作为空白对照,培养 5 天,逐日观察结果。空白对照管无菌生长,加菌的培养基管均生长良好,判灵敏度检查合格。

硫乙醇酸盐流体培养基:

日期:

菌种 \ 培养天数 \ 支数		1	2	3
金黄色葡萄球菌	1			
	2			
铜绿假单胞菌	1			
	2			
枯草芽孢杆菌	1			
	2			
生孢梭菌	1			
	2			
空白对照				
结论				

检测人/日期:

复核人/日期:

改良马丁培养基:

日期

菌种 \ 培养天数 \ 支数		1	2	3	4	5
白色念珠菌	1					

	2					
黑曲霉菌	1					
	2					
空白对照						
结论						
备注：“+”表示长菌，“—”表示不长菌，“±”表示可疑长菌						

检测人/日期：

复核人/日期：

7.5. 拟验证的医用纱布无菌检查试验方法

分别取医用纱布供试品，加入相应的硫乙醇酸盐流体培养基与改良马丁培养基各 100ml，细菌于 30~35℃ 培养 14 天，真菌于 23~28℃ 培养 14 天。同时每天观察并记录实验结果。

日期：

培养基 培养天数 \ 支数	硫乙醇酸盐流体培养基					改良马丁培养基				
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
12										
13										
14										

结论		
备注：“+”表示长菌，“—”表示不长菌，“±”表示可疑长菌		

检测人/日期：

复核人/日期：

7.6. 验证试验的方法

7.6.1. 将医用纱布供试品分别人工污染小于 100cfu 的金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、铜绿假单胞菌、生孢梭菌、黑曲霉、白色念珠菌菌悬液后加入相应的硫乙醇酸盐流体培养基与改良马丁培养基各 100ml，作为供试品阳性对照组；另分别取装有同体积培养基的容器，加入等量试验菌，作为阳性对照组；同时平行做缓冲液的阴性对照组。

7.6.2. 细菌于 30～35℃培养 5 天，真菌于 23～28℃培养 5 天。每天观察并记录实验结果。

7.7. 可接受标准

阴性对照呈阴性，阳性对照呈阳性，供试品阳性对照组微生物生长情况与阳性对照组一致，说明医用纱布按照《无菌检查法标准操作规程》操作，供试品对微生物生长无不良影响，则医用纱布的无菌检查方法通过。

7.8. 试验记录

日期

菌株	次数	培养基										
		硫乙醇酸盐						改良马丁培养基				
		1	2	3	4	5	(d)	1	2	3	4	5
金黄色葡萄球菌	阳性供试品											
	阳性对照											
生孢梭菌	阳性供试品											
	阳性对照											
枯草杆菌	阳性供试品											
	阳性对照											
铜绿假单胞菌	阳性供试品											
	阳性对照											
阴性对照												
黑曲霉	阳性供试品											
	阳性对照											
白色念株菌	阳性供试品											
	阳性对照											
阴性对照												
备注：“+”表示长菌，“—”表示不长菌，“±”表示可疑长菌												

检测人/日期：

复核人/日期：

日期

菌株	次数	培养基										
		硫乙醇酸盐						改良马丁培养基				
		1	2	3	4	5	(d)	1	2	3	4	5
金黄色葡萄球菌	阳性供试品											
	阳性对照											
生孢梭菌	阳性供试品											
	阳性对照											
枯草杆菌	阳性供试品											
	阳性对照											
铜绿假单胞菌	阳性供试品											
	阳性对照											
阴性对照												
黑曲霉	阳性供试品											
	阳性对照											
白色念株菌	阳性供试品											
	阳性对照											
阴性对照												
备注：“+”表示长菌，“—”表示不长菌，“±”表示可疑长菌												

检测人/日期：

复核人/日期：

日期

菌株	次数	培养基										
		硫乙醇酸盐					改良马丁培养基					
		1	2	3	4	5	(d)	1	2	3	4	5
金黄色葡萄球菌	阳性供试品											
	阳性对照											
生孢梭菌	阳性供试品											
	阳性对照											
枯草杆菌	阳性供试品											
	阳性对照											
铜绿假单胞菌	阳性供试品											
	阳性对照											
阴性对照												
黑曲霉	阳性供试品											
	阳性对照											
白色念珠菌	阳性供试品											
	阳性对照											
阴性对照												
备注：“+”表示长菌，“—”表示不长菌，“±”表示可疑长菌												

8 验证结果与评价

实验人：_____

日 期： 年 月 日

9 验证报告批准

检验人：_____

日期： 年 月 日

审核人：_____

日期： 年 月 日

批准人：_____

日期： 年 月 日



医课汇
公众号
专业医疗器械资讯平台
WECHAT OF
HLONGMED



hlongmed.com
医疗器械咨询服务
MEDICAL DEVICE
CONSULTING
SERVICES



医课培训平台
医疗器械任职培训
WEB TRAINING
CENTER



医械宝
医疗器械知识平台
KNOWLEDG
ECENTEROF
MEDICAL DEVICE



MDCPP.COM
医械云专业平台
KNOWLEDG
ECENTEROF MEDICAL
DEVICE