

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

一、法规要求：

1、无菌药品附录第六十一条

无菌药品应当尽可能采用加热方式进行最终灭菌，最终灭菌产品中的微生物存活概率（即无菌保证水平，SAL）不得高于 10^{-6} 。采用湿热灭菌方法进行最终灭菌的，通常标准灭菌时间 F_0 值应当大于 8 分钟，流通蒸汽处理不属于最终灭菌。

对热不稳定的产品，可采用无菌生产操作或过滤除菌的替代方法。

2、无菌药品附录第六十三条

任何灭菌工艺在投入使用前，必须采用物理检测手段和生物指示剂，验证其对产品或物品的适用性及所有部位达到了灭菌效果。

3、无菌药品附录第六十四条

应当定期对灭菌工艺的有效性进行再验证（每年至少一次）。设备重大变更后，须进行再验证。应当保存再验证记录。

4、无菌药品附录第六十五条

应当通过验证确认灭菌设备腔室内待灭菌产品和物品的装载方式。

5、无菌药品附录第六十七条

应当按照供应商的要求保存和使用生物指示剂，并通过阳性对照试验确认其质量。使用生物指示剂时，应当采取严格管理措施，防止由此所致的微生物污染。

6、无菌药品附录第六十九条

每一次灭菌操作应当有灭菌记录，并作为产品放行的依据之一。

7、无菌药品附录第七十条

热力灭菌通常有湿热灭菌和干热灭菌，应当符合以下要求：

（一）在验证和生产过程中，用于监测或记录的温度探头与用于控制的温度探头应当分别设置，设置的位置应当通过验证确定。每次灭菌均应记录灭菌过程的时间-温度曲线。采用自控和监测系统的，应当经过验证，保证符合关键工艺的要求。自控和监测系统应当能够记录系统以及工艺运行过程中出现的故障，并有操作人员监控。应当定期将独立的温度显示器的读数与灭菌过程中记录获得的图谱进行对照。

（二）可使用化学或生物指示剂监控灭菌工艺，但不得替代物理测试。

（三）应当监测每种装载方式所需升温时间，且从所有被灭菌产品或物品达到设定的灭菌温度后开始计算灭菌时间。

（四）应当有措施防止已灭菌产品或物品在冷却过程中被污染。除非能证明生产过程中可剔除任何渗漏的产品或物品，任何与产品或物品相接触的冷却用介质（液体或气体）应当经过灭菌或除菌处理。

8、无菌药品附录第七十一条

湿热灭菌应当符合以下要求：

（一）湿热灭菌工艺监测的参数应当包括灭菌时间、温度或压力。腔室底部装有排水口的灭菌柜，必要时应当测定并记录该点在灭菌全过程中的温度数据。灭菌工艺中包括抽真空操作的，应当定期对腔室作检漏测试。

（二）除已密封的产品外，被灭菌物品应当用合适的材料适当包扎，所用材料及包扎方式应当有利于空气排放、蒸汽穿透并在灭菌后能防止污染。在规定的温度和时间，被灭菌物品所有部位均应与灭菌介质充分接触。

9、无菌药品附录第七十二条

干热灭菌符合以下要求：

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

- （一）干热灭菌时，灭菌柜腔室内的空气应当循环并保持正压，阻止非无菌空气进入。进入腔室的空气应当经过高效过滤器过滤，高效过滤器应当经过完整性测试。
- （二）干热灭菌用于去除热原时，验证应当包括细菌内毒素挑战试验。
- （三）干热灭菌过程中的温度、时间和腔室内、外压差应当有记录。

10、中国药典（2015 版）第四部 1421：灭菌法

10.1 灭菌程序的验证是无菌保证的必要条件。灭菌程序经验证后，方可交付正式使用。验证内容包括：

- （1）撰写验证方案及制定评估标准。
- （2）确认灭菌设备技术资料齐全、安装正确，并能处于正常运行（安装确认）。
- （3）确认灭菌设备关键控制和记录系统能在规定的参数范围内正常运行（运行确认）。
- （4）采用被灭菌物品或模拟物品按预定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菌保证水平符合规定（性能确认）。
- （5）汇总并完善各种文件和记录，撰写验证报告。日常生产中，应对灭菌程序的运行情况进行监控，确认关键参数（如温度、压力、时间、湿度、灭菌气体浓度及吸收的辐照剂量等）均在验证确定的范围内。灭菌程序应定期进行再验证。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，应进行重新验证。

10.2 湿热灭菌法：

通常采用 $121^{\circ}\text{C} \times 15\text{min}$ 、 $121^{\circ}\text{C} \times 30\text{min}$ 或 $116^{\circ}\text{C} \times 40\text{min}$ 的程序，也可采用其他温度和时间参数，但无论采用何种灭菌温度和时间参数，都必须证明所采用的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的 $\text{SAL} \leq 10^{-6}$ 。

当灭菌程序的选定采用 F0 值概念时，应采取特别措施确保被灭菌物品能得到足够的无菌保证，此时，除对灭菌程序进行验证外，还必须在生产过程中微生物进行监控，证明污染的微生物指标低于设定的限度。

对热稳定的物品，灭菌工艺可首选过度杀灭法，以保证被灭菌物品获得足够的无菌保证值。热不稳定性物品，其灭菌工艺的确定依赖于在一定的时间内，一定的生产批次的被灭菌物品灭菌前微生物污染的水平及其耐热性。因此，日常生产全过程应对产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物品微生物污染水平，特别是防止耐热菌的污染。热不稳定性物品的 F0 值一般不低于 8 分钟。

湿热灭菌法应确认灭菌柜在不同装载时可能存在的冷点。当用生物指示剂进一步确认灭菌效果时，应将其置于冷点处。本法常用的生物指示剂为嗜热脂肪芽孢杆菌孢子 (Spores of *Bacillus stearothermophilus*)。

10.3 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、 $(170 \sim 180^{\circ}\text{C}) 60\text{min}$ 以上或 $250^{\circ}\text{C} \times 45\text{min}$ 以上，也可采用其他温度和时间参数。无论采用何种灭菌条件，均应保证灭菌后的物品的 $\text{SAL} \leq 10^{-6}$ 。

采用干热过度杀灭后的物品一般无需进行灭菌前污染微生物的测定。 $250^{\circ}\text{C} \times 45\text{min}$ 的干热灭菌也可除去无菌产品包装容器及有关生产灌装用具中的热原物质。

采用干热灭菌时，被灭菌物品应有适当的装载方式，不能排列过密，以保证灭菌的有效性和均一性。

干热灭菌法应确认灭菌柜中的温度分布符合设定的标准及确定最冷点位置等。常用的生物指示剂为枯草芽孢杆菌孢子 (Spores of *Bacillus subtilis*)。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

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

验所用的细菌内毒素一般为大肠埃希菌内毒素（*Escherichia coli* endotoxin）。

10.4 生物指示剂

D 值：微生物的耐热参数，系指一定温度下，将微生物杀灭 90%所需的时间，以分钟表示。

生物指示剂中包含一定数量的一种或多种孢子，可制成多种形式。通常是将一定数量的孢子附着在惰性的载体上，如滤纸条、玻片、不锈钢、塑料制品等；孢子悬浮液也可密封于安瓿中；有的生物指示剂还配有培养基系统。

常用生物指示剂：

（1）**湿热灭菌法** 湿热灭菌法最常用的生物指示剂为嗜热脂肪芽孢杆菌孢子（Spores of *Bacillus stearothermophilus*，如 NCTC 10 007、NCIMB 8157、ATCC 7953）。D 值为 1.5~3.0min，每片（或每瓶）活孢子数 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ 个，在 121° C、19min 下应被完全杀灭。此外，还可使用生孢梭菌孢子（Spores of *Clostridium sporogenes*，如 NCTC 8594、NCIMB 8053、ATCC 7955），D 值为 0.4~0.8min。

（2）**干热灭菌法** 干热灭菌法最常用的生物指示剂为枯草芽孢杆菌孢子（Spores of *Bacillus subtilis*，如 NCIMB 8058、ATCC 9372）。D 值大于 1.5 min，每片活孢子数 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ 个。去热原验证时使用大肠埃希菌内毒素（*Escherichia coli* endotoxin），加量不小于 1000 细菌内毒素单位。

11、 USP <1211>（药品生产验证指南 2003 版也提到）-针对干热灭菌，主要就是指隧道烘箱

对于运行温度高于 250℃的干热灭菌、除热原系统，其灭菌腔室内空载热分布的可接受的合格范围为±15℃。此试验应连续进行 3 次，以证明热分布的重现性，试验所采用的热电偶分布及全部试验数据的原始记录均应归档，必要时应附在验证报告中。

注：①即所有温度均在平均值的±15℃内，且都不低于 300℃。

或者可以理解为灭菌段内所有点的温度数值均在设定温度±15℃内为合格。如我们的隧道烘箱，由于需要去除热原，所以采用的温度常常高于或等于 300℃。因此，我们可以设置温度为 320℃，标准即为 305℃~335℃，实际验证中我们可以将范围在基础上再控制严格一点。个人建议方法使用①。

②可以定义为是温度均匀度和温度波动度都满足要求。

温度均匀度和温度波动度的定义出自：JJF 1101-2003 环境试验设备温度、湿度校准规范：主要是应用于常温常压设备，如培养箱、稳定性试验箱等。

温度均匀度：在稳定状态下，在 30min 内（每 2min 测试一次）每次测试中实测最高温度与最低温度之差的算术平均值。

温度波动度：在稳定状态下，工作空间中心点温度随时间的变化量，即中心点在 30min 内（每 2min 测试一次）实测最高温度与最低温度之差的一半。

个人认为温度均匀度可以算灭菌段内（比如 121℃30min，就是指 30min）所有时间点所有温度数值的最高点和最低点的之差，这其实是严于上面算算术平均值的要求的。温度波动度不光应用于工作中心几何点，也可以用于所有其他点的温度波动。均匀度考察的是所有点，波动度考察的是单点在一段周期内的波动。个人建议方法使用①即可。

12、 JB/T 20119-2009 热风循环灭菌柜（适用于物品灭菌去热源的热风循环灭菌柜）

12.1 灭菌柜内腔的层流空气洁净度因为 100 级。

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

12.2 在灭菌过程中，当灭菌温度超过设定的灭菌温度时，应自动报警并停止加热；在灭菌过程中，当灭菌温度低于设定的灭菌温度 5℃时，应自动报警并加热。

12.3 空载热分布温差应为±5℃。

注：如灭菌温度为 250℃，设定灭菌工艺参数：灭菌温度 255℃，灭菌时间 45min，30s 打印一个温度数值。分析 45min 内 12 个探头的温度数值，取其平均值与记录的最高温度和最低温度进行比较，差值为高差值和低差值，即**所有温度均在平均值的±5℃以内，且都不低于 250℃。**

12.4 满载热穿透性试验最冷点标准当量灭菌时间 $FH \geq 1365\text{min}$ 。

13、JB/T20033-2011 热风循环烘箱（本标准适用于加热温度为 60℃~140℃的热风循环烘箱，我们主要是要考虑到作为非灭菌烘干用的烘箱的使用。）-针对干热烘箱干燥

13.1 设定温度与实际温度的误差应为±1℃。

注：设备控温探头应首先经过校准，可以进行拆卸校准，如果不能拆卸，则可采用探头旁放一经校准过的温度验证仪探头进行比对，确认设备显示的实际温度首先是准确的。然后再查看设备显示的实际温度的数值是否都在设定温度的±1℃内。

13.2 烘箱空载热分布应均匀，各测定点温度与腔室平均温度允许误差为±3℃。

注：此标准是与平均值做比较，以平均值做为基准值，上下偏离 3℃。即在升温完毕，进入烘干程序后，先计算每个温度探头在烘干阶段的平均值，然后计算各个点的平均值的均值，这个各个点的平均值的均值即腔室平均温度。再查看干燥程序内，所有点的温度数值均在腔室平均温度的上下偏差 3℃内即为合格。这是考虑设备的性能，结合工艺干燥条件（假设某固体物料干燥温度为 70℃±5℃），则干燥程序内所有温度均在 65℃之上，75℃之下。或者说当干燥器具的时候，若假设使用 100℃烘干，那设备空载在满足上述±3℃的条件下，还应当满足干燥程序最低温度大于等于 100℃。

14、EN285/GB8599（空载/标准负载）-针对湿热灭菌

14.1 温度控制要求 1：灭菌温度范围下限为灭菌温度，上限应不超过灭菌温度+3℃。（2011GMP 指南无菌药品 P180 也是引用此标准，工艺有特殊要求时除外）

14.2 温度控制要求 2：灭菌维持阶段同一时刻最大温差不大于 2℃。

14.3 时间指示器：根据应用需要，分度为小时（h）、分钟（min）和秒（s），误差不超过±1%。

注：1、比较好理解，如灭菌温度为 121℃，在灭菌周期内的温度范围就是 121℃~124℃。

2、即在灭菌阶段，某个时刻，最大温度和最低温度的差值不大于 2℃。为方便简洁，我们也是可以考虑灭菌段内所有数据所有时间点，最大和最小的差值不大于 2℃，这个标准是严于上面的标准的，但是会存在超标的情况，直接看每个记录间隔最大和最小温差不大于 2℃就可以了。

15、PDA TR 01(空载及负载)

15.1 空载

①多孔负载（可以通过直接接触蒸汽进行灭菌的物品，如**织物、器械、软管、过滤器、灌装机部件...**）。

a. 在暴露平衡阶段，腔室内温度应不超过平均温度的 1.5℃。（个人认为直接引用 EN285/GB8599 的 3℃为好，结合了灭菌工艺条件）

b. 同一时刻差值（最大-最小）不超过 2.0℃。（同 EN285、GB8599）

c. 温度控制探头/记录仪与附近的温度探头温度差值不大于 1.0℃。（相当于设备控制记录探头的校准）

药品生产验证指南（2003 版）P352 温度监控设备的选择和校验下面提到：不管热电偶还是

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

热电阻探头，这两种测温元件精度应达到 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。这是因为温度计如有 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 的误差，将会导致F0值2.3%的偏差。

②无孔负载（通过蒸汽间接加热进行灭菌的物品，如**液体**）。

- a. 在暴露平衡阶段，腔室内温度应不超过平均温度的 1.0°C ；
- b. 同一时刻差值（最大-最小）不超过 1.5°C ；
- c. 在灭菌阶段，任何热电偶的温度波动不超过 1.0°C ；
- d. 温度控制探头/记录仪与附近的温度探头温度差值不大于 1.0°C 。（相当于设备控制记录探头的校准）

15.2 满载

①多孔负载。

- a. 所有热穿透的探头F0值不小于15分钟；
- b. 最冷点（由最小F0产生的）应一致的和可识别的；
- c. 灭菌后生物指示剂孢子含量降低至少6个对数单位；
- d. 个人认为所有点温度应是不低于灭菌温度的。

②无孔负载。

- a. 所有热穿透热电偶的值都能达到预期的范围（包括最大值和最小值）；
- b. 冷点和热点（由最小F0与最大F0产生的）在所有运行中应是一致的和清晰的；

注：可以理解为冷点就是F0最低的点，热点就是F0最大点，因为F0值本来就是一个累计的数值，能够说明该点的冷与热的程度。

- c. 生物指示剂的测试结果应与预期一致，并与杀死率有关。

16、 关于装载、温度设置

16.1 装载方式要求：在实际生产中可能使用较少的负载，如仅灭菌某一件物品或某一个零件，则应进行最小负载的热穿透实验，以保证在最小负载情况下的灭菌效果。或者说保证在最小负载的情况下被灭菌物品不被放在“冷点”处。（药品生产验证指南 2003）

热穿透测试通常应选择规格和类型有代表性的材料进行测试。对于干热烘箱而言，设定温度和时间应该缩短。对隧道烘箱，则尽可能提高输送带速度，降低设定温度。除了难于穿透的物料（如捆扎较紧的物质）外，代表性的装载还包括最小、最大两种装载。（药品 GMP 指南 2011）

注：装载方式，主要讲究一个平衡，为了使温度分布均匀。空载，验证灭菌柜本身的温度分布均匀性。满载，也就是最大装载，验证灭菌柜的最大容量（产量）能力和最大装量时的温度均匀性和灭菌效果。最小装量，我觉得意义不大，比如装一支、一盒、一个小包装单位……应该都叫最小装量，灭菌效果应该还可以吧？倒是可以验证一下你的所有产品规格中批量最小的一锅灭菌最小装载量。中间装量，如果装载方式合理，中间装量也应该没问题，主要是不要让装载方式影响蒸汽流动分布、冷凝水积聚、温度分布不均，尤其是偏载，可能温度分布影响最大。

最小装载不是指是 1 支或一盘，在实际应用上不能出现的情况验证何用，应该选择满载，实际最小装载（一半或 1/3 等情况），还可以增加两者中间的装载方式，做分析更有说服力。不同的装载方式可能会影响温度的分布，空气和产品的比热不一样，如果均匀的提升温度时，最小装载和满载的热分布可能会有一定区别，两种装载都做就是要通过数据来说明变化在可以接受范围。装载方式和装载物还是有影响的。无论灭菌物品还是产品，如果只有一种装载方式，是没有最小装载的说法的，是不需要刻意做的。

实际生产中，我们只会改变（减少）物品的数量，位置不会变动（比如灭菌柜验证时左上方放置了 5 个垫片，以后正常生产时左上方就会防止不超过 5 个垫片）。

16.2 温度设置要求：为了保证灭菌物品能够在灭菌温度下暴露足够长的时间，灭菌器控制

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

系统的温度设定值常常高于灭菌、除热原过程所要求的最低温度值，产品暴露于最低灭菌温度或高于此温度的全部时间及累积 Fh 值均应记录于验证文件之中。

注：考虑到装载情况和空载是不同的，设置温度应高于灭菌温度，以保证物品暴露于灭菌温度以上足够长的时间，应记录 Fh 值和累计时间。

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

二、 湿热灭菌的程序开发

1、湿热灭菌程序决策树

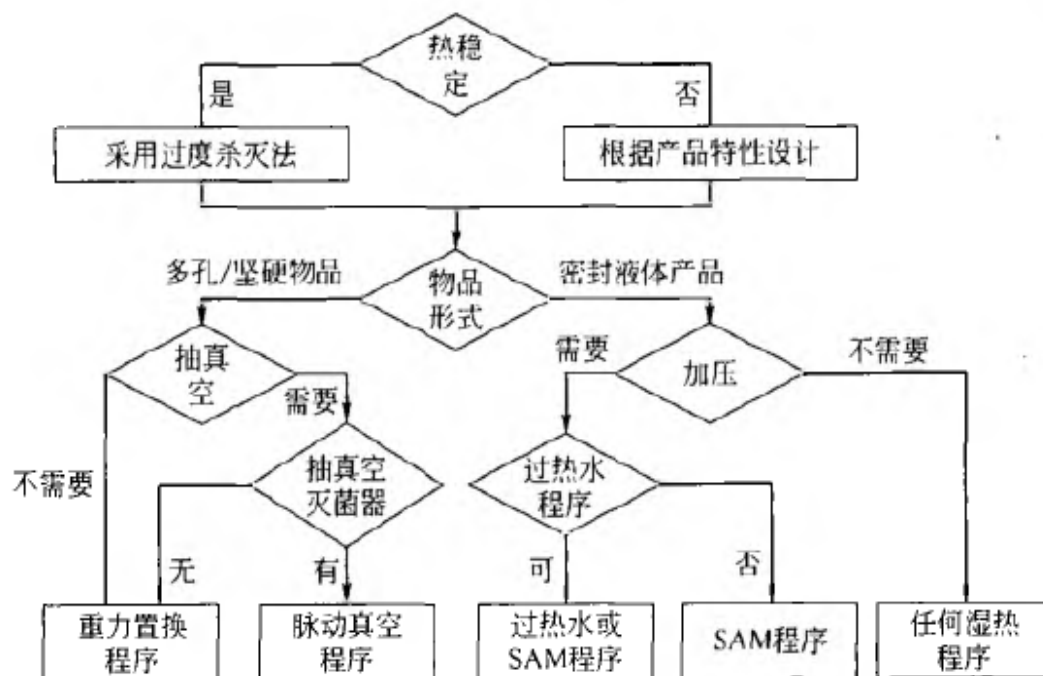


图 9-2 PDA 湿热灭菌程序设计决策树

解释：

- 1、按上图决策树（PDA 指南和国内指南一致），是否可以理解密封液体产品只能使用过热水或 SAM（蒸汽-空气混合物灭菌程序），不能选择脉动真空纯蒸汽灭菌？
目前各个指南暂未有明确规定，但是脉动真空纯蒸汽对密封液体灭菌确实会存在热传导低于过热水、且灭菌后的冷却效果差等。
- 2、脉动灭菌工艺主要用于对空气难以去除的多孔/坚硬物品进行灭菌，如灌装工器具、清洁用具（有人会提出一个疑问，工器具是否可以同清洁用具一起灭菌，个人觉得是可以的，分级别进行分次灭菌就行。东西不需分开，所有东西均是经过清洗干净才会进入灭菌程序，询问国内好多公司均是一起灭菌的。）
- 3、过热水或 SAM 用于密封液体产品的灭菌，如安瓿瓶小针、西林瓶水针、预灌封制剂等，安瓿水针必须每批 100% 检漏，西林瓶水针采用密封完整性方法测试包装容器的组件密封性，有三种方法（详见 GMP 指南无菌药品 P258，这些测试应在正式生产前做为包材选择的重要依据，培养基灌装时应确认包装容器的密封性（根据工艺选择是否灭菌或直接选择最差条件挑战），其中胶塞还需要确认灭菌后的上机率）。

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

三、 湿热灭菌柜的确认

3.1 设计确认

目的：设备建造前，对设备设计文件（URS、FDS、DDS 等）进行检查确保能够完全满足用户需求说明及 GMP 中的所有要求。具体包括：

- ① 设计文件检查，确认文件的完整性和准确性；
- ② 设备基本信息检查，如灭菌室容积、最高使用温度/压力、是否自带蒸汽发生器等，确认符合用户需求说明中的要求；
- ③ 仪器仪表检查，确认量程和分辨率、准确度以及材质等符合用户需求说明及 GMP 中的要求；
- ④ 设备及部件检查，确认设计中设备部件使用的材质、结构等符合用户需求说明及 GMP 中的要求。
- ⑤ 控制系统检查，确认控制系统的设计是否符合用户需求说明中规定的使用要求，如权限管理是否合理，是否有关键参数的报警，关键参数数据的存储等等。

3.2 安装确认

目的：对设备的安装情况进行检查，确保设备按照安装图纸、安装手册进行安装，与设计文件一致。主要测试项目如下：

- ① 检查随机文件，确认文件的完整性和准确性；
- ② 检查部件材质，确认材质与要求一致；
- ③ 检查焊接情况，确认焊接符合要求；
- ④ 检查安装情况，确认设备部件已被正确安装；
- ⑤ 检查仪器仪表校准情况，确认关键仪器仪表已校准合格且在有效期内；

注：首次确认时一般仪表都是已经经过校准合格的，只要检查即可，后续的话，我们对设备温度探头可进行自行校准，方法一：拆卸后干井或者低温油浴槽校准；方法二：无法拆卸时，可以在探头旁设置一个经过校准合格的探头（验证仪）进行比对，比对法相当于对探头和显示装置的组合进行了校准，在空载热分布时进行即可。

- ⑥ 检查公用工程的连接情况，确认已正确连接且牢固；
- ⑦ 检查过滤器完整性，确认过滤器规格符合用户需求说明的要求。空气过滤器与灭菌室之间应装有止回阀，以避免蒸汽进入过滤器。

注：当灭菌周期需要将空气导入灭菌室时，空气应经过过滤器过滤后进入。

3.3 运行确认

目的：对设备的运行情况进行检查，确保设备运行情况与操作手册和技术手册、设计文件所描述的一致。主要测试项目如下：

- ① 安装确认存在的偏差已关闭或不影响运行确认测试；
- ② 检查各部件功能，确认部件运转正常；
- ③ 检查软件控制功能，确认软件控制正常；
- ④ 进行断电恢复测试，确认设备断电恢复后运行情况符合安全工艺要求；
- ⑤ 运行程序，确认设备按照程序运行；
- ⑥ 进行设备时钟准确性测试和噪声水平测试，确认设备符合相应要求。

计时器确认程序：

- A、空载情况下启动灭菌器进行正常工作；
- B、当灭菌室达到预置的灭菌温度时，用标准秒表计时；
- C、当灭菌器的灭菌计时达到时，停止标准秒表的计时；

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

D、记录灭菌时间设定值和标准秒表计时数值；

E、进行 3 次同样的试验

F、比较灭菌器计时与标准秒表计时的差值（ $\leq \pm 1\%$ ，药品生产验证指南 2003 版、GB8599-2008 也提到，任何用于控制时间间隔的计时误差应不超过规定值的 1%。）

注：因为只是确认计时器的准确性，是否可以不在灭菌段测试，直接取 100 秒以上，如 5min、10min 等，灭不灭菌和计时器的准确性没有直接关系。

噪音确认：

灭菌器在灭菌周期内正常运行时不得有异常杂声，其噪声应不大于 85dB。

方法：用声级计在距离灭菌器表面 1m，离地面高度 1m，分左、右、前、后四个方向测量其噪声。

⑦ 博维-狄克实验（BD 实验）（2011 年药品 GMP 指南-无菌药品、GB8599-2008 大型蒸汽灭菌器技术要求自控控制型）-属于蒸汽渗透试验一类

（1）目的：用于检查高真空多孔物品本身及其灭菌腔室内的空气是否成功排除。该测试适用于脉动真空灭菌程序，不适用于下排气式蒸汽灭菌器。

（2）测试方法：

选择测试所需灭菌周期；空载运行一个灭菌周期；将标准测试包放置于灭菌室水平面几何中心，离灭菌室底面高度为 100mm~200mm，对只能装载 1 个灭菌单元的灭菌器，标准测试包放置在灭菌室底面上。不需要干燥。实验结束后查看灭菌测试包中的指示卡。

WST367-2012 医疗机构消毒技术规范：

B-D 测试方法如下：

B-D 测试包的制作方法 B-D 测试包由 100%脱脂纯棉布或 100%全棉手术巾折叠成长 30 cm $\pm$ 2 cm、宽 25 cm $\pm$ 2 cm、高 25 cm~28 cm 大小的布包；将专用 B-D 测试纸，放入上述布包的中间；制成的 B-D 测试包的重量要求为 4 kg $\pm$ 0.2 kg。或采用一次性使用或反复使用的 B-D 测试包。

B-D 测试方法 测试前先预热灭菌器，将 B-D 测试包水平放于灭菌柜内灭菌车的前底层，靠近柜门与排气口底前方；柜内除测试包外无任何物品；在 134℃温度下，时间不超过 3.5 min，取出测试包，观察 B-D 测试纸颜色变化。

结果判定 B-D 测试纸均匀一致变色，说明 B-D 试验通过，灭菌器可以使用；变色不均说明 B-D 试验失败，可再重复一次 B-D 测试，合格，灭菌器可以使用；不合格，需检查 B-D 测试失败原因，直至 B-D 测试通过后该灭菌器方能使用。

注：亚洲一般都采用 4KgBD 包。一般各标准都提到是空载做。是否满载时候做 BD 实验更加合适。虽然测试方法提出空载时灭菌，但是 BD 实验的目的提到检查高真空多孔物品本身及其灭菌腔室内的空气是否成功排除，满载时进行是否更好。

（3）判定标准：蒸汽快速平稳地渗入测试垫板（或测试包），使内部指示卡色条呈现均匀变色，符合要求。

可能的失败原因：没有充分进行真空排气作业；排出空气阶段出现泄漏；蒸汽源中存在不凝性气体。

⑧ 空腔负载试验（PCD 实验）（适用于需要对空腔负载进行灭菌的灭菌器-GB8599-2008）-属于蒸汽渗透试验一类

（1）目的：用来确定在达到设定的控制参数的水平时，空气稀释程度足以使蒸汽均匀地渗透入管腔测试体内部。

（2）测试设备：空腔负载过程挑战装置（PCD）

（3）测试方法：选择灭菌周期，空载运行；打开管盖，确认无可见液态水，PCD 中连接处

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

密封完整；将化学指示物固定，盖上管盖，保证密封；用纸塑包装材料将 PCD 包装并密封，放在灭菌室几何中心，距离灭菌室底部平面 100mm~200mm 的高度。

（4）判定标准：化学指示物的变色应能达到制造商规定的终点。

注（摘自网络）：BD 实验是验证设备性能的实验，判断设备是否可以正常灭菌。灭菌效果的检测是采用 PCD 实验，生物指示剂，化学检测等方式。是检测不同的方向，一个设备的检测，一个是对灭菌效果的检测。

BD 试验与空腔负载试验（螺旋装置试验）的区别：气体可以通过 BD 包的任何方位进入测试包中，但气体只能通过螺旋的开口结构。

美国 AAMI ST79（2008）：只要求做 BD 测试，不要求螺旋型测试；国际 ISO、AAMI 对灭菌器常规只要求做经典棉布 BD 测试，不要求做管腔测试，但 BD 包有两种：4 公斤（北美、亚洲等）、7 公斤（欧洲）；EN 对大型灭菌器常规只要求做经典棉布 BD 测试；验证指南（2003）、药品 GMP 指南（2011）也没有相关的 PCD 装置挑战试验的说法，只有 BD 试验；打听国内企业也没有做过此项验证项目，都是做的 BD 试验。

我们以后做验证，做 BD 试验即可。

F.10 空腔负载试验的过程挑战装置(PCD)

F.10.1 空腔负载试验的过程挑战装置 PCD 由管盖、连接器、指示物固定器、软管组成，如图 F.3 所示。化学指示物应符合 GB 18282.1 的要求，制造商提供化学指示物的选择和使用方法。

F.10.2 过程挑战装置符合如下要求：

- 材料：聚四氟乙烯(PTFE)；
- 管壁厚度： $(0.5 \pm 0.025)\text{mm}$ ；
- 管内直径： $\Phi(2.0 \pm 0.1)\text{mm}$ ；
- 软管长度： $(1500 \pm 15)\text{mm}$ ；
- 指示物固定器重量： $(10.0 \pm 0.1)\text{g}$ ；
- PCD 内部自由容积：装置内部总容积减去指示物固定器容积的 $(6 \pm 1)\%$ 。

注：可使用其他证实等同性的材料。当使用其他材料时，壁厚与指示物固定器重量可相应改变。

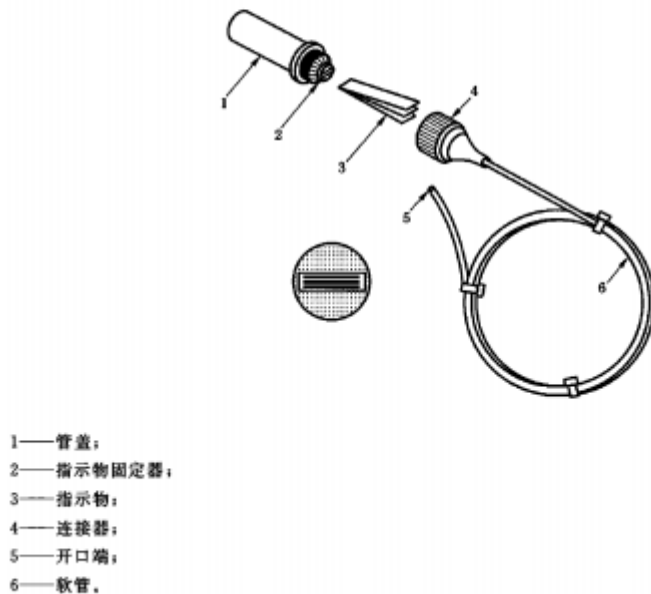


图 F.3 空腔负载试验的过程挑战装置(PCD)的例子

⑨ 气密性实验（真空状态下泄漏试验）（2011 年药品 GMP 指南-无菌药品、GB8599-2008）

（1）目的：气密性测试用于验证在排除空气的过程中，渗入灭菌腔室的气体量不应干扰蒸汽的渗透，并且在干燥过程不会受到二次污染。

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

（2）测试方法：

将监测压力仪表连接到灭菌室上（设备如具有相应的绝对压力表，可以不再安装），应使压力表的设计工作压力达到 380kPa。

使灭菌室温度稳定（带加热夹套，空载一个周期；没有加热夹套，确保温度不高于环境温度 20℃ 以上。）

抽真空室内室压力为 7kPa（或以下），关闭全部与灭菌室相连的阀门、真空泵，观察时间 t_1 和压力 P_1 ，至少等待 300 秒，但不得超过 600 秒，让灭菌器的冷凝水汽化，然后记录时间 t_2 和压力 P_2 。600 秒 $\pm$ 10 秒，再记录一次。计算 600 秒内的升压速率。

（3）判定标准：不应超出 1.3kPa/10min。

⑩ 空载热分布测试（不可拆卸探头的校准、设定温度与实际温度的对比、计时器校准、独立的温度显示器的读数与灭菌过程中记录获得的图谱进行对照都可在空载热分布时进行）

（1）目的：确认灭菌室内的温度均匀性和灭菌介质的稳定性，测定灭菌腔内不同位置的温差状况，确定可能存在的冷点。

（2）测试方法：设定灭菌柜参数（122℃，20min），然后至少选择 10 个温度探头，（较大的灭菌器可以选择 15~20 个探头），进行前校准（各探头校准偏差应小于 $\pm 0.5^\circ\text{C}$ ），然后进行编号后固定在水平向和垂直向有代表性的空间内，几何中心和角落应有代表性点，另外在与温度控制传感器相连的冷凝水排放口（低温点）放置探头。连续重复 3 次测试应符合要求。然后探头进行后校准也应符合要求。

（2）-1 验证用探头（无论有线还是无线）的前校准和后校准：验证前和验证后全部探头进行测试。通常可以进行 0℃、125℃两个条件的测试，各探头校准偏差应小于 $\pm 0.5^\circ\text{C}$ （验证设备有特殊要求时，可根据相关要求进行校准）。

注：a、关于校准温度点的选择：校准一般都采用三点法，如指南提到的 0℃、121℃、125℃；供应商提到的灭菌温度及上下 10℃三个点。但药品 GMP 指南未曾建议干热灭菌的上限点和下限点。JJF1101-2003 中提到校准一般应选择设备使用范围的下限、上限及中间点，也可根据用户需要选择实际常用的温、湿度点。

b、关于前后校准：做得最好的肯定是在每次试验前后都进行前后校准，即空载 1 前，空载 1 后，空载 2 前，空载 2 后，以此类推。但如此做不现实，耗费大量时间，至少要做 12 次，也没有必要。

经和温度验证仪公司进行咨询，国内某公司（在他们服务的企业内也是仅此一家）是这么做的：空载 1 前、空载 1 后、空载 2 后、空载 3 后、满载 1 后，以此类推，前提是每次试验不会相隔太久，一般一天内完成，防止试验时间相差太久，探头是否发生了偏移。如此做也是比较繁琐的，要做 7 次。

国内大部分企业的做法：做 2 次或者 4 次，空载 1 前和满载 3 后；或者空载 1 前、空载 3 后、满载 1 前、满载 3 后。如果某两次之间隔天了，前一次的后校准和后一次的前校准是肯定要做的。

（2）-2 探头设置的数量和位置：

A、2011 年药品 GMP 指南-无菌药品中提到：探头数量依据灭菌器托盘而定，但为保证热分布测试的代表性，探头必须覆盖被分化成大致体积一致的整个空间，必要要求的：最冷点的产品探头、设备本身附带的温度探头、冷凝排水口探头。测温探头尖端不能与灭菌腔的金属表面接触，连接线应与设备密封完好。通常情况下，冷凝的排水口是可能的最冷点。

B、JJF1101-2003 中提到：

位置：布置在设备工作室内的三个校准面上，上、中、下层，中层是几何中心平行于地面的校准工作面上；测试点与工作室内壁的距离不小于各边长的 1/10，遇风道，距离加大，不

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

应超过 500mm：设备带有样品架或样品车时，下层测试点布放在样品架或车上方 10mm 处。
数量：当设备容积小于 2m³ 时，温度测试点 9 个，湿度测试点 3 个（温度使用 A、B、C，湿度使用甲、乙、丙），见图 1。结合指南、GMP 要求，排水口也应该放置一个，也达到了 10 个。

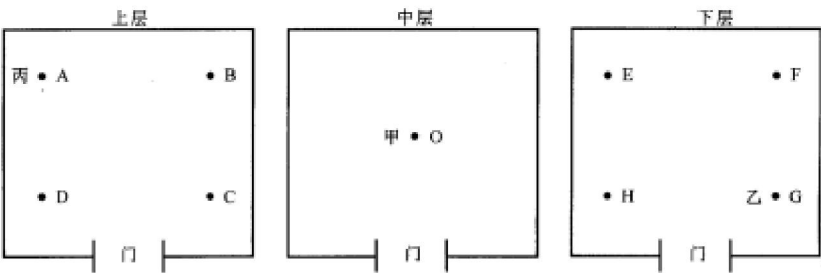


图 1

当容积大于 2m³ 时，温度测试点 15 个，湿度测试点 4 个，见图 2。

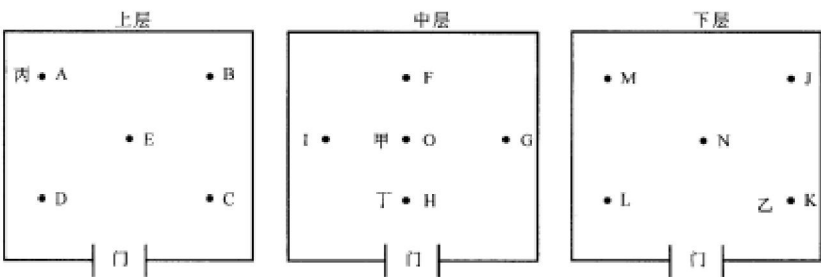


图 2

当容积大于 50m³ 时，测试点可适当增加。

(3) 判定标准：

- 1、所有温度点应在 121℃~124℃ 内（参照 EN285、GB8599：灭菌温度范围下限为灭菌温度，上限应不超过灭菌温度+3℃，以 121℃15min 来举例）。
- 2、灭菌维持阶段，同一时刻最大温差（最大-最小）不大于 2℃。
- 3、灭菌维持时间应都大于 15min。
- 4、找出最冷点（查看 F0 值的累计数值最小的点）、升温最慢点、温度最高和最低点。。。
- 5、验证探头前校准和后校准均符合要求。
- 6、设定温度与实际温度的误差应为 ±1℃（必要时，设备探头与验证探头的比对校准符合 ±0.5℃/≤1℃）。
- 7、温度显示器的读数与灭菌过程中记录获得的图谱读数的差值不得超过 ±0.5℃）。

注：F0 值为一定灭菌温度(T)下，Z 为 10℃ 时所产生的灭菌效果与 121℃，Z 值为 10℃ 所产生的灭菌效果相同时所相当的时间(min)。

F0 值的计算： $F0 = \sum \Delta t 10^{(T1-T0)/Z}$

式中：T1—— 实测温度；

T0—— 为灭菌保证温，121℃；

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

Z—— 温度变化升高的灭菌率，10；

Δt —— 灭菌时间。

（4）记录和评价

数据记录	循环次数	循环 1	循环 2	循环 3
前校准结果		☐ 合格	☐ 不合格	
后校准结果		☐ 合格	☐ 不合格	
程序中最高温度（℃）				
最高温度所在位置				
程序中最低温度（℃）				
最低温度所在位置				
温度上升最慢点位置（最后达到灭菌温度的点）				
程序中最小 F0 值				
最小 F0 值所在位置				
程序中最大 F0 值				
最大 F0 值所在位置				
升温时间记录				
降温时间记录				
设备探头与验证探头的比对校准 （ $\pm 0.5^{\circ}\text{C}/\leq 1^{\circ}\text{C}$ ）				
设定温度与实际温度的差值（设定温度 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ）				
温度显示器的读数与灭菌过程中记录获得的图谱读数的差值不得超过 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ）				
温度持续在 $121.0^{\circ}\text{C} \sim 124.0^{\circ}\text{C}$ 之间的最短时间 （ $\geq 15\text{min}$ ）				
灭菌维持阶段，同一时刻最大温差（最大-最小）				
原始数据及灭菌柜打印数据和统计数据是否附在表格后面		☐ Yes ☐ No		
备注 Comments:				
数据分析和评价:				
结论 Results: ☐ 1、通过 Pass ☐ 2、不通过 Not pass				
执行人/日期:		复核人/日期:		

XI 负载干燥度试验

（1） 测试方法：确认标准测试包的材料符合要求，对测试包称重 m1，选择灭菌周期，在

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

空载时运行测试周期，按说明书将测试包放置于灭菌室里。

- (2) 判定标准：织物（洁净服）负载的干燥度：试验样品质量的增加应不超过 1%。金属负载的干燥度：试验样品质量的增加应不超过 0.2%。

——用式(1)计算(以百分比计算)测试包的水分变化：

$$\Delta m = \frac{(m_2 - m_1)}{m_1} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

Δm ——水分变化百分比；

m_1 ——灭菌前测试包的质量，g；

m_2 ——灭菌后测试包的质量，g。

- i) 用式(2)计算(以百分比计算)水分变化：

$$\Delta m = \frac{(m_2 - m_1)}{m_1} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：

Δm ——水分变化百分比；

m_1 ——灭菌前测试包连同金属的质量，g；

m_2 ——灭菌后测试包连同金属的质量，g。

3.4 性能确认

主要测试项目如下：

- ① 运行确认存在的偏差已关闭或不影响性能确认测试；
- ② 确认相关 SOP 为正式批准版；
- ③ 负载热分布测试、热穿透测试（最小装载、最大装载各做三次）

(1) 目的：确认设备负载时性能、测试点持续到达足够的杀灭效力（热穿透）。

(2) 说明：

过度杀灭法：可以负载热分布与热穿透一起进行，同一物品灭菌时探头应均一分布，多种物品混装灭菌时探头放置应有代表性，热穿透探头数量没有硬性规定，但 F0 值必须大于 12min。每个循环从开始到灭菌的时间应该一致，可重现。通常只关注热穿透数据，对热分布温度没有硬性标准（热分布考察随着时间延长设备本身的性能变化）。热分布和热穿透同时进行，热穿透探头数量和热分布探头数量的推荐比例为 5:1。对均一灭菌物（如胶塞）而言，负载中的冷点非常容易识别。因此部分装载往往视为已验证的整体装载的一部分。

注：如果是同一灭菌物，那只需要做整体装载一个装载方式即可。

注意：负载的冷点因待灭菌物的包装方式、结构、灭菌物类型而不同。实施热穿透试验前，首先应明确装载布置图。

残存概率法：满载热分布和热穿透测试应分别实施。满载热分布温度探头分布与空载一致。每种装载的连续 3 次测试应能够证实温度分布的重现性。热分布的温度要求为同一时刻点之间的差值不超过 2℃。热穿透测试探头通常随着灭菌器容积大小而变化。典型的装载托盘或装载车至少配置 10 只探头，全部插入相应的产品容器，将容器固定在难于穿透的位置进行测试。通过验证试验确认热点、冷点、选择的温度控制点之间的关系。热穿透数据可以证实负载内所获取的最高温度和最大 F₀ 值，应不影响产品的质量稳定性，同时确保冷点达到足够的杀灭效果。

(3) 测试方法

设定灭菌柜参数（122℃，20min），按 SOP 装载要求进行装载物品（如果只有一种装载方式没有必要进行刻意最小装载，没必要验证没有的情况；不管是产品还是物品灭菌，如果正常是有几种情况的装载情况，应进行评估，在几种情况中选择分别进行最大和最小装载，甚

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

至是所有的装载方式），然后至少选择 10 个温度探头，（较大的灭菌器可以选择 15~20 个探头），进行前校准（各探头校准偏差应小于 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ），然后进行编号后布点，另外在与温度控制传感器相连的冷凝水排放口（低温点）放置探头。连续重复 3 次测试，设定记录时间间隔，记录时间不小于灭菌器的工作周期，启动灭菌器，满载情况进行热分布（过度灭菌法时，热穿透一起做），然后探头进行后校准也应符合要求。

（4）判定标准

- 1、灭菌段内，所有温度点应在 $121^{\circ}\text{C}\sim 124^{\circ}\text{C}$ 内，同一时刻各热分布点最大温差（最大-最小）不大于 2°C （残存概率法）；灭菌段内，所有温度点应不低于 121°C （过度灭菌法）。
- 2、探头实际摆放位置与应与布置图位置保持一致。
- 3、灭菌维持时间都大于 15min。
- 4、找出最冷点（查看 F0 值的累计数值最小的点）、最热点、升温最慢点（关注热穿透）。。。
- 5、验证探头前校准和后校准均符合要求。
- 6、设定温度与实际温度的误差应为 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ （必要时，设备探头与验证探头的比对校准符合 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}/\leq 1^{\circ}\text{C}$ ）。
- 7、温度显示器的读数与灭菌过程中记录获得的图谱读数的差值不得超过 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。

（5）记录和评价

数据记录 次数	循环	循环 1	循环 2	循环 3
程序中最高温度（ $^{\circ}\text{C}$ ）				
最高温度所在位置				
程序中最低温度（ $^{\circ}\text{C}$ ）				
最低温度所在位置				
温度上升最慢点位置				
程序中最小 F0 值				
最小 F0 值所在位置				
程序中最大 F0 值				
最大 F0 值所在位置				
升温时间记录				
降温时间记录				
设备探头与验证探头的比对校准 （ $\pm 0.5^{\circ}\text{C}/\leq 1^{\circ}\text{C}$ ）	校准在空 载或拆卸 时已经完 成，这边可 以不做			
设定温度与实际温度的差值（设定温度 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ）				

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

温度显示器的读数与灭菌过程中记录获得的图谱读数的差值不得超过 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$	空载时也已经比对过，没必要再做		
温度持续在 $121.0^{\circ}\text{C} \sim 124.0^{\circ}\text{C}$ 之间的最短时间 ($\geq 15\text{min}$) (残存概率法)			
同一时刻各热分布点最大温差 (最大-最小) (残存概率法)			
温度持续在 121.0°C 以上的最短时间 ($\geq 15\text{min}$) (过度杀灭法)			
原始数据及灭菌柜打印数据和统计数据是否附在表格后面	☐ Yes ☐ No		
备注 Comments:			
数据分析和评价:			
结论 Results: ☐ 1、通过 Pass ☐ 2、不通过 Not pass			
执行人/日期:	复核人/日期:		

⑤ 微生物挑战试验

- (1) 目的：确认装载灭菌效果。热穿透数据只能确认温度，不能确认真实杀灭微生物的能力，微生物挑战试验可以为负载各位置具有同样的杀灭效率提供必要的证据，通常和热穿透测试同时进行。
- (2) 指示剂的类型：生物指示剂的选用应构成挑战性的必要条件：可用药典，如 USP 〈1035〉、**ch. p 第四部通则 (1421)** 中规定的生物指示剂；对**存活概率灭菌程序**的产品而言，应当强调，所用生物指示剂的**耐热性**应大于产品中常见污染菌的耐热性，生物指示剂的用量也应大于产品中该污染菌的水平。
ch. p 第四部通则 (1421)：湿热灭菌法最常用的生物指示剂为**嗜热脂肪芽孢杆菌孢子** (Spores of *Bacillus stearothermophilus*, 如 NCTC 10 007、NCIMB 8157、ATCC 7953)。D 值为 $1.5 \sim 3.0\text{min}$ ，每片（或每瓶）活孢子数 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ 个，在 121°C 、 19min 下应被完全杀灭。此外，还可使用**生孢梭菌孢子** (Spores of *Clostridium sporogenes*, 如 NCTC 8594、NCIMB 8053、ATCC 7955), D 值为 $0.4 \sim 0.8\text{min}$ 。

表 4-14 湿热灭菌工艺验证中常用的生物指示剂

菌 种 名 称	常规 $D_{121^{\circ}\text{C}}$ 值/min
嗜热脂肪芽孢杆菌 <i>Bacillus stearothermophilus</i>	1.5~3.0
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i> ATCC5230	0.3~0.7
凝结芽孢杆菌 <i>Bacillus coagulans</i>	0.4~0.8
梭状芽孢杆菌 <i>Clostridium sporogenes</i>	0.4~0.8

- (3) 测试方法：同负载热分布和热穿透一起做，注：残存概率法灭菌不允许穿透和分布一起，所以仅能和**穿透**一起做。冷点处一定要放置生物指示剂。

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

过度杀灭指示剂选择方法：从 USP24 〈1211〉 的可以看出，过度杀灭是指能使 D 值约为 1.0min 的耐热孢子(常指嗜热脂肪芽孢杆菌) 至少下降 12 个对数单位的灭菌工艺。按此计算，**过度杀灭的时间不低于 12min**，在实际使用中达到 15min 的也不少见。在 USP24 〈1035〉 生物指示剂表中，**嗜热脂肪芽孢杆菌** *Bacillus stearothermophilus* 的 D_{121℃} 值范围在 1.5~3.0min 之间，孢子含量通常在 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ 个之间。在生物指示剂验证中所用孢子的量可事先计算，经过度杀灭的程序灭菌后，所有生物指示剂应被完全杀灭。

残存概率法指示剂选择方法：在生物指示剂验证中，**生物指示剂的用量比日常生产中检出污染菌的量**大，耐热性强，在这种条件下，验证赋予了灭菌程序较大的安全性。因此，如果设定的灭菌程序能将所加生物指示剂全部杀灭(培养后无阳性结果)，在实际生产中，产品中污染菌则也被全部杀灭。在残存概率法中典型的生物指示剂包括：**生孢梭菌、史密氏杆菌、枯草芽孢杆菌 5230**。

(4) 判断标准：生物指示剂应呈阴性结果，阳性对照生物指示剂应呈阳性结果。

3.5 其他信息：湿热灭菌程序包括脉动真空灭菌程序、混合蒸汽-空气（SAM）灭菌程序、过热水灭菌程序。以上确认主要针对于脉动真空灭菌。

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

四、干热灭菌柜的确认（包括隧道烘箱、干热灭菌柜、热风循环烘箱、培养箱、稳定性试验箱）

4.1 设计确认（略）

4.2 安装确认：

（1）除了按照设备确认一般安装确认要求外，隧道烘箱、干热灭菌柜应加入**高效过滤器的检漏**项目。

干热灭菌柜的出风系统必须保证符合 A 级洁净空气的标准，因此应对其高效过滤器定期进行完整性测试（如 PAO 测试）。

（2）**设备探头的校准**：可以拆卸进行干井校准，也可以随空载时，在探头旁设置一校准的验证探头进行比对校准。

4.3 运行确认

① 电器元件、设备部件的确认：

- 当温度低于灭菌/除热原**温度**时是否可以**报警**；
- 程序控制器的确认；
- 空气以一定的气流方向和速度（**风速**符合规定）进行循环，当层流风机风速低于规定值时能**报警**。
- 空气平衡是通过压差确认**灭菌腔室**处于正压实现（**压差**测试），确保设备外界非洁净空气进入腔室，并应该安装**失压报警装置**；
- 运行**联锁控制系统**，如前后门不能同时打开；

② 计时器的校准

（1）目的：确认设备自身在升温、灭菌、除热原及冷却过程中，其升温过程、保温过程、降温过程，设备程序时间控制的准确性。（ $\leq 1\%$ ）

（2）工具：标准秒表。

③ 空载热分布（正常情况放在 OQ 里面，但是放在 PQ 里也可以，比如 2003 版验证指南是放 PQ 里，GMP（2010）无菌指南是放在 OQ 里面，制药工艺验证实施手册是放在 OQ 里面）。不可拆卸探头的校准、设定温度与实际温度的对比、计时器校准、独立的温度显示器的读数与灭菌过程中记录获得的图谱进行对照都可在空载热分布时进行。

（1）目的：确认灭菌室内的温度均匀性及设备“冷点”。

（2）测试方法：设定灭菌柜参数 195°C 、60min（以灭菌参数 180°C 、60min 举例），然后选择温度探头（至少 10 支以上，2011 版药品 GMP 指南-无菌药品），进行前校准（各探头校准偏差应在 RTD 读数的 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 范围内），然后进行编号后固定在水平向和垂直向有代表性的空间内，几何中心和角落应有代表性点。连续重复 3 次测试应符合要求。然后探头进行后校准也应符合要求。按照 4-1-4-1 的原则，然后在设备自身控制系统的温度传感器旁再设置一个，正好为 10 个温度探头。

注：记录整个温度变化过程，包括升温与降温过程。升温和降温的时间的偏差有助于发现灭菌过程中的设备故障。如测试中温度分布不符合标准则应将此灭菌器进行调整或维修，通常情况下可通过调整进风、回风及循环风挡板，改善气流来解决。

（2）-1 验证用探头（无论有线还是无线）的前校准和后校准：验证前和验证后全部探头进行测试。通常使用 3 点法校准，如 185°C 、 195°C 、 205°C ；或者 195°C 、 230°C 、 265°C （对于既要干热灭菌又要除热原的两种灭菌参数的校准）。（验证设备有特殊要求时，可根据相关要求校准）。

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

注：关于前后校准：做得最好的肯定是在每次试验前后都进行前后校准，即空载 1 前，空载 1 后，空载 2 前，空载 2 后，以此类推。但如此做不现实，耗费大量时间，至少要做 12 次，也没有必要。经和温度验证仪公司进行咨询，国内某公司（在他们服务的企业内也是仅此一家）是这么做的：空载 1 前、空载 1 后、空载 2 后、空载 3 后、满载 1 后，以此类推，前提是每次试验不会相隔太久，一般一天内完成，防止试验时间相差太久，探头是否发生了偏移。如此做也是比较繁琐的，要做 7 次。**国内大部分企业的做法：做 2 次或者 4 次，空载 1 前和满载 3 后；或者空载 1 前、空载 3 后、满载 1 前、满载 3 后。**如果某两次之间隔天了，前一次的后校准和后一次的前校准是肯定要做的。

（2）-2 探头设置的数量和位置：

A、JJF1101-2003 中提到：

位置：布置在设备工作室内的三个校准面上，上、中、下层，中层是几何中心平行于地面的校准工作面上；测试点与工作室内壁的距离不小于各边长的 1/10，遇风道，距离加大，不应超过 500mm；设备带有样品价或样品车时，下层测试点布放在样品架或车上方 10mm 处。
数量：当设备容积小于 2m³时，温度测试点 9 个，湿度测试点 3 个（温度使用 A、B、C，湿度使用甲、乙、丙），见图 1。结合指南、GMP 要求，排水口也应该放置一个，也达到了 10 个。

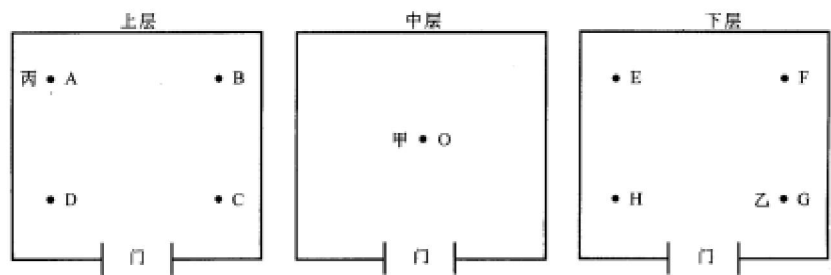


图 1

当容积大于 2m³时，温度测试点 15 个，湿度测试点 4 个，见图 2。

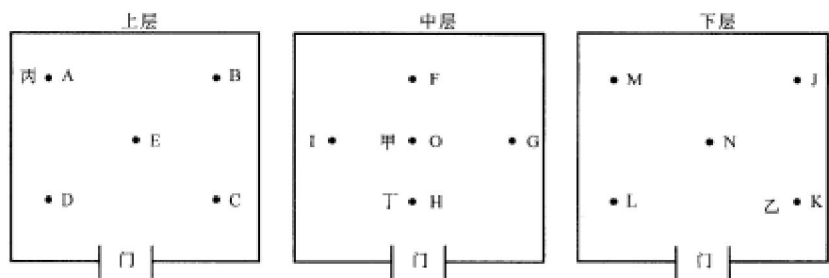


图 2

当容积大于 50m³时，测试点可适当增加。

B、JB/T 20119-2009 热风循环灭菌柜中提到：准备 12 只（5-2-5）经过校正合格的耐高温探头、导线和温度记录仪。探头离门端 200mm，距箱体端为 150mm。

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

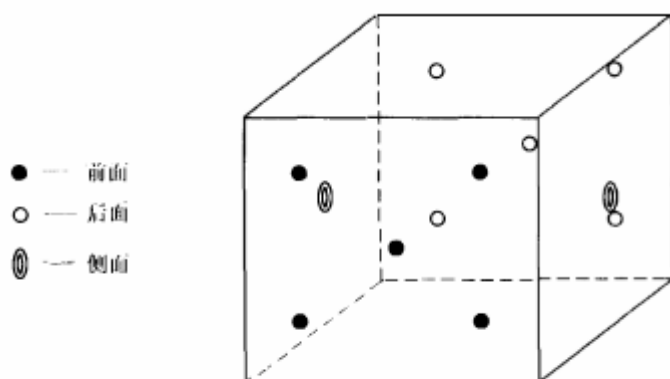


图 A.1 灭菌箱体内传感器分布图

（3）判定标准：

- 1、所有温度点应在 180℃~210℃内，或者说平均值的±15℃内，且不低于 180℃（参照 USP1211、2003 版药品生产验证指南：空载热分布的可接受范围为±15℃）。
- 2、灭菌维持时间应都大于 60min。
- 3、找出最冷点（查看 Fh 值的累计数值最小的点）、升温最慢点、温度最高和最低点…。
- 4、验证探头前校准和后校准均符合要求。
- 5、设定温度与实际温度的误差应为±1℃（必要时，设备探头与验证探头的比对校准符合±0.5℃/≤1℃）。
- 6、温度显示器的读数与灭菌过程中记录获得的图谱读数的差值不得超过±0.5℃）。

注：Fh 值的计算： $Fh = \sum \Delta t_{10} (T_1 - T_0) / Z$

式中：T1—— 实测温度；

T0—— 为灭菌保证温度 170℃；

Z—— 温度变化升高的灭菌率，去热原为 54，灭菌为 20；

Δt —— 灭菌时间。

老式的干热灭菌机是按照实际灭菌温度 260 度设计的所以其灭菌 30 分钟后，FH 值计算所得为 $\sum 10 (260 - 170) / 54 = 1392$ ，结果大于 1365。

新型的干热灭菌机则是按照实际灭菌温度 320 度设计的所以其灭菌 5 分钟后，FH 值计算所得为 $\sum 10 (320 - 170) / 54 = 2997$ 。

（4）记录和评价

数据记录	循环次数	循环 1	循环 2	循环 3
前校准结果		☐ 合格	☐ 不合格	
后校准结果		☐ 合格	☐ 不合格	
程序中最高温度（℃）				
最高温度所在位置				
程序中最低温度（℃）				
最低温度所在位置				
温度上升最慢点位置（最后达到灭菌温度的点）				

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

程序中最小 Fh 值			
最小 Fh 值所在位置			
程序中最大 Fh 值			
最大 Fh 值所在位置			
升温时间记录			
降温时间记录			
设备探头与验证探头的比对校准 ($\pm 0.5^{\circ}\text{C}/\leq 1^{\circ}\text{C}$)			
设定温度与实际温度的差值 (设定温度 $\pm 1^{\circ}\text{C}$)			
温度显示器的读数与灭菌过程中记录获得的图谱读数的差值不得超过 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$)			
温度持续在 $180.0^{\circ}\text{C}\sim 210.0^{\circ}\text{C}$ 之间的最短时间 ($\geq 60\text{min}$)			
原始数据及灭菌柜打印数据和统计数据是否附在表格后面	☐ Yes ☐ No		
备注 Comments:			
数据分析和评价:			
结论 Results: ☐ 1、通过 Pass ☐ 2、不通过 Not pass			
执行人/日期:		复核人/日期:	

4.4 性能确认

① 腔体洁净度测试（适用于干热灭菌柜、隧道烘箱，**热风循环烘箱必要时满足背景级别即可**）

- (1) 项目：一般只需测试**悬浮粒子**即可（ISO14644-1 洁净级别划分也是依据悬浮粒子来划分的）。
- (2) 判定标准：洁净度应符合 100 级要求（即 **A 级**要求）（摘自 JB/T 20119-2009 热风循环灭菌柜）。**热风循环烘箱一般符合背景级别洁净度即可**。

② 满载热分布和热穿透试验

- (1) 目的：确认设备负载时性能、测试点持续到达足够的杀灭效力（热穿透）。
- (2) 说明：对于烘箱来说，**设定温度和时间应该缩短**。对隧道式烘箱，则尽可能**提高输送带速度，降低设定温度**。除了难于穿透的物料（如捆扎较紧的物质）外，代表性的装载还包括**最小、最大**两种装载。

热穿透状况不仅取决于腔室内的热分布，也取决于灭菌对象的特性、包装情况，热穿透状况的数据可以通过将温度传感器放到容器、物料、西林瓶或其他物品的内部并使温度传感器与**物品表面接触**以反映**物品内表面温度**。

验证试验记录中必须有详细、准确的温度传感器分布图和相对应各点的温度值记录，并应在其分布上分别注明并找出装载状态下的**热点和冷点**，其**热点对热敏感物质**十

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

分重要，而冷点则对于验证灭菌、除热原的效果十分重要。

装载热分布试验中使用的温度传感器安装时也需防止与固体表面接触，以确定装载对设备内空气热分布的影响。灭菌对象达到最低灭菌温度的时间将滞后于腔室内热空气达到最低灭菌温度所需要的时间，而滞后值在最大装载时最为明显。为了保证灭菌对象能够在灭菌温度下暴露足够长的时间，灭菌器控制系统的温度设定值常常高于灭菌、除热原过程所要求的最低温度值，产品暴露于最低灭菌温度的全部时间及累计 Fh 值均应记录于验证文件中。

（3）测试方法：设定灭菌柜参数 195℃、60min（以灭菌参数 180℃、60min 举例），按 SOP 装载要求进行装载物品（如果只有一种装载方式没有必要进行刻意最小装载，没必要验证没有的情况；不管是产品还是物品灭菌，如果正常是有几种情况的装载情况，应进行评估，在几种情况中选择分别进行最大和最小装载，甚至是所有的装载方式），然后至少选择 10 个温度探头，进行前校准（各探头校准偏差应小于±0.5℃），然后进行编号后布点。连续重复 3 次测试，设定记录时间间隔，记录时间不小于灭菌器的工作周期，启动灭菌器，满载情况进行热分布、热穿透测试，然后探头进行后校准也应符合要求。

（4）判定标准

- 1、灭菌段内，所有温度点应不低于 180℃。
- 2、探头实际摆放位置与应与布置图位置保持一致。
- 3、灭菌维持时间应大于 60min。
- 4、找出最冷点（查看 Fh 值的累计数值最小的点）、最热点、升温最慢点（关注热穿透）。。
- 5、各点 Fh 值应≥1365。
- 6、验证探头前校准和后校准均符合要求。
- 7、设定温度与实际温度的误差应为±1℃（必要时，设备探头与验证探头的比对校准符合±0.5℃/≤1℃）。
- 8、温度显示器的读数与灭菌过程中记录获得的图谱读数的差值不得超过±0.5℃）。

（5）记录和评价

数据记录 次数	循环	循环 1	循环 2	循环 3
前校准结果		☐ 合格	☐ 不合格	
后校准结果		☐ 合格	☐ 不合格	
程序中最高温度（℃）				
最高温度所在位置				
程序中最低温度（℃）				
最低温度所在位置				
温度上升最慢点位置				
程序中最小 F0 值				
最小 F0 值所在位置				

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

程序中最大 F0 值			
最大 F0 值所在位置			
升温时间记录			
降温时间记录			
设备探头与验证探头的比对校准 ($\pm 0.5^{\circ}\text{C}/\leq 1^{\circ}\text{C}$)	校准在空载或拆卸时已经完成, 这边可以不做		
设定温度与实际温度的差值 (设定温度 $\pm 1^{\circ}\text{C}$)			
温度显示器的读数与灭菌过程中记录获得的图谱读数的差值不得超过 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$)	空载时也已经比对过, 没必要再做		
温度持续在 180.0°C 以上的最短时间 ($\geq 60\text{min}$)			
原始数据及灭菌柜打印数据和统计数据是否附在表格后面	☐ Yes ☐ No		
备注 Comments:			
数据分析和评价:			
结论 Results: ☐ 1、通过 Pass ☐ 2、不通过 Not pass			
执行人/日期:		复核人/日期:	

③ 微生物挑战试验（细菌内毒素灭活试验）（2011 版药品 GMP 指南-无菌药品）

(1) 目的：确认装载灭菌效果。

(2) 生物指示剂的类型、数量：

■ 2011 版药品 GMP 指南-无菌药品提到：

对灭菌工艺验证而言，可以将生物指示剂放置在**每一个冷点**（Fh 值最小）进行测试；也可选择负载中**最冷点**和**最小 Fh 值**放置，即最差条件情况。通常选择**枯草芽孢杆菌黑色变种芽孢**（*Bacillus subtilis* Spores）进行测试，浓度为 10^6 个/点。

对于除热原工艺的验证，生物指示剂一般选择大肠埃希菌内毒素进行测试，即细菌内毒素灭活试验。一般不少于 **1000 单位的内毒素**加入待除热原的物品中，证明除热原工艺能够使内毒素**至少下降 3 个对数单位**。

内毒素灭活验证时，应在装在条件最差（通常为最大装载）、升温最慢的区域放置样品，**每个点 2 个样品**，且应有一只探头放置在最差点附近。**由于除热原的工艺条件比杀灭孢子的灭菌工艺条件要苛刻得多，故而干热灭菌工艺验证中实施内毒素挑战性试验时，不必再进行生物指示剂挑战性试验。**

除热原验证使用的内毒素挑战试剂可使用直接采购的内毒素挑战测试管，也可根据情况使用自制内毒素挑战测试标准品，但**均需在测试前对内毒素标示量进行复核**。

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

■ 中国药典（2015 版）第四部 1421：灭菌法提到：

干热灭菌法最常用的生物指示剂为枯草芽孢杆菌孢子（Spores of *Bacillus subtilis*, 如 NCIMB 8058、ATCC 9372）。D 值大于 1.5 min，每片活孢子数 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ 个。去热原验证时使用大肠埃希菌内毒素（*Escherichia coli* endotoxin），加量不小于 1000 细菌内毒素单位。

（3）测试方法：和热穿透同步进行。

（4）判定标准：生物指示剂/细菌内毒素应呈阴性结果，阳性对照生物指示剂/细菌内毒素应呈阳性结果。

4.5 其他信息

4.5.1 培养箱、稳定性试验箱（参考 JJF1101-2003，结合 GB/T28851-2012 生化培养箱技术条件和 GB/T10586-2006 湿热试验箱技术条件）：

4.5.1.1 一般验证 3 次空载即可，即 24h×3 天。根据用户需要可以在负载条件下进行校准，但应说明负载的情况。培养箱只需考虑温度、稳定性试验箱应考虑温度和湿度。

GB/T28851-2012 生化培养箱技术条件：

3.3 负载条件

生化箱的负载应符合以下条件：

- a) 每立方米工作室容积内放置负载的质量不应超过 80 kg；
- b) 负载的总体积不应大于工作室容积的 1/5；
- c) 在垂直于主导风向的任意截面上，负载截面积之和不应大于该处工作室截面积的 1/3，负载置放时不可阻塞气流的流动。

GBT 10586-2006 湿热试验箱技术条件：

4.4 试验负载条件

试验负载应同时满足以下条件：

- a) 负载的总质量在每立方米工作室容积内放置不超过 80 kg；
- b) 负载的总体积不大于工作室容积的 1/5；
- c) 在垂直于主导风向的任意截面上，负载面积之和应不大于该处工作室截面积的 1/3，负载置放时不可阻塞气流的流动。

4.5.1.2 JJF1101-2003 中提到：

布置在设备工作室内的三个校准面上，上、中、下层，中层是几何中心平行于地面的校准工作面上；测试点与工作室内壁的距离不小于各边长的 1/10，遇风道，距离加大，不应超过 500mm；设备带有样品架或样品车时，下层测试点布放在样品架或车上方 10mm 处。

数量：当设备容积小于 2m³ 时，温度测试点 9 个，湿度测试点 3 个（温度使用 A、B、C，湿度使用甲、乙、丙），见图 1。

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

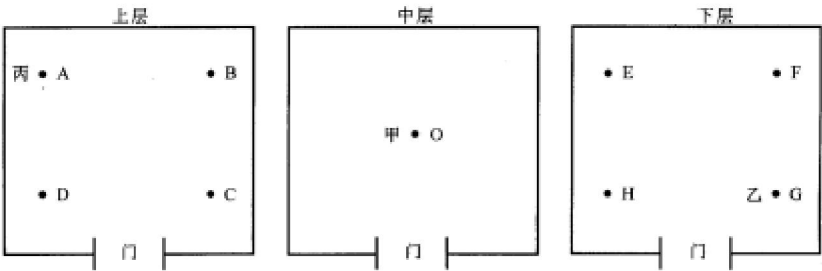


图 1

当容积大于 2m³ 时，温度测试点 15 个，湿度测试点 4 个，见图 2。

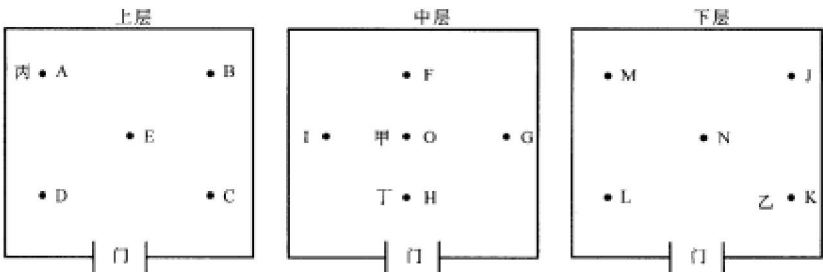


图 2

当容积大于 50m³ 时，测试点可适当增加。

因此培养箱和稳定性试验箱的布点可以参考以上原则，然后在设备探头旁边加设一个探头即可。计算温度和/或相对湿度均匀度、波动度。

6.3.5 相对湿度均匀度计算

环境试验设备在稳定状态下，在 30min 内（每 2min 测试一次）每次测试中实测最高相对湿度与最低相对湿度之差的算术平均值。用干、湿球法校准相对湿度均匀度时，按 GB 6999—1986 查相对湿度表。具体方法见附录 C。

$$\Delta h_u = \sum_{i=1}^n (h_{i\max} - h_{i\min}) / n \quad (5)$$

式中： Δh_u ——湿度的均匀度，% RH；

$h_{i\max}$ ——各校准点在第 i 次中测量的最高湿度，% RH；

$h_{i\min}$ ——各校准点在第 i 次中测量的最低湿度，% RH；

n ——测量次数。

6.3.6 相对湿度波动度计算

环境试验设备在稳定状态下，工作空间中心点相对湿度随时间的变化量，即中心点在 30min 内（每 2min 测试一次）实测最高相对湿度与最低相对湿度之差的一半，冠以“±”号。

$$\Delta h_f = \pm (h_{\max} - h_{\min}) / 2 \quad (6)$$

式中： Δh_f ——湿度的波动度，% RH；

$h_{\max}$ ——中心点 n 次测量中湿度的最高值，% RH；

$h_{\min}$ ——中心点 n 次测量中湿度的最低值，% RH。

温度、相对湿度均匀度、波动度计算均可参照以上公式。

温度、相对湿度接受标准可参照下面的表格。一般培养箱参照温度试验设备第一列，稳定性试验箱参照交变湿热试验设备。

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

设备名称		温度试验设备			湿热试验设备		交变湿热设备
温度和湿度范围		(0~100) ℃	(-60~0)℃ (100~200)℃	(200~300) ℃	(10~60)℃ (20~100) %RH	(10~60)℃ (20~100) %RH	(20~60)℃ (80~100) %RH
温度偏差		±1.0℃	±2℃	±3℃	±2℃	±2℃	±2℃
湿度偏差		—	—	—	+2 -3 %RH	±5%RH	+2 -3 %RH
均匀度	温度	1.0℃	2℃	3℃	1℃	2℃	2℃
	湿度	—	—	—	3%RH	5%RH	3%RH
波动度	温度	±0.5℃	±0.5℃	±2℃	±0.5℃	±1℃	±1℃
	湿度	—	—	—	±2%RH	±3%RH	±3%RH
注：1. 交变湿热设备应检查其交变能力。 2. 对于计量特性另有要求的温度、湿热试验设备，按有关技术文件规定的要求进行校准。							

GBT 28851-2008 生化培养箱技术条件：（适用培养箱）

序号	项目	单位	技术指标
1	工作温度范围*	℃	普通型：4~50，低温型：-10~+50
2	温度波动度	℃	±1(制冷运行状态) ±0.5(加热运行状态)
3	温度均匀度	℃	≤2.0 (37℃时) ≤3.0 (其他工作温度时)
4	降温时间*	min	≤60
5	升温时间	min	≤60
* 应注明 20℃环境温度条件下的规定。			

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

GBT 10586-2006 湿热试验箱技术条件：（适用稳定性试验箱）

表 1 试验箱的性能指标

参 数		类 别	
		I	II
调节范围	温度/℃	(室温+10)~60	20~80
	相对湿度/%	环境湿度至 100	75~100

表 1(续)

参 数		类 别	
		I	II
温度梯度/℃		≤1	
温度波动度/℃		≤1	
容许偏差	温度/℃	±2	交变试验应满足GB/T 2423.4—1993 图 2* 和其他商定要求
	相对湿度/%	+2 -3	
升温速率/(℃/min)		≤1	
降温速率/(℃/min)		—	
风速/(m/s)		≤1	
交变能力		恒定	恒定、交变
* I 型试验箱符合 GB/T 2423.3—1993,降温阶段的相对湿度分为不小于 95%和不小于 85%两种。			

3.4

温度稳定 temperature stabilization

工作空间内所有点的温度均达到温度设定值并维持在给定的容差范围内。

3.5

温度波动度 temperature fluctuation

稳定后,在给定的任意时间间隔内,工作空间内任一点的最高和最低温度之差。

4.5.1.3 培养箱其他指标:

- 噪音: 不应大于 75dB。
- 升降温时间: ≤60min。
- 门的开启和关闭转动灵活无异常噪音产生, 关闭时门与箱体之间应密封良好。
- 箱门的密封条应不易在高温或低温条件下老化、发黏、变形、失去密封性能。
- 在有些公司或论坛看到会做开关门时间的验证以及断电时间的验证。关于开关门时间验证: SOP 中规定开关门时间不超过多久并得到验证, 以保证箱体内温度; 关于断电时间验证: 个人认为应该是考虑有备用电源的前提下, 备用电源在常规电源断电后启动的时间限制, 这个时间应能保证供电的及时性, 使得箱体内温度保持在合格范围内。

4.5.1.4 稳定性试验箱其他指标:

- 噪音: 不应大于 75dB。
- 箱门应密封良好, 密封条应不易在湿热条件下发粘变形, 并便于更换。方法如下: 本检查在试验开始前和结束后各进行一次。将厚 0.1mm、宽 50mm、长 200mm 的纸条垂直夹在箱门与门框之间的任一部位, 用手轻拉纸条, 如纸条不能自由滑动, 即符合要求。

4.5.2 隧道烘箱 (2011 版药品 GMP 指南-无菌药品)

验证专题-干热灭菌柜、湿热灭菌柜的验证策略（包含培养箱、隧道烘箱、稳定性试验箱、干燥烘箱）

4.5.2.1 隧道烘箱只需进行空载热分布和热穿透，满载热分布无需进行。因为考虑隧道烘箱采用单向流送风，瓶体上部的温度仅仅是空气温度，温度热分布测试探头不需要单独进行。

4.5.2.2 空载热分布：将至少 16 支热电偶探头固定在不锈钢支架上。（也可排成一行分两层放置铂电阻的探头，其间隔距离为瓶子高度，测得的温度代表性也比较强。）然后进行预热，待达到控制温度时，以最快速度开动网带，这时探头随不锈钢钢带进入隧道烘箱。探头测得的温度有电脑屏显示，采集频率 10-30 秒为宜，待最后一支探头进入冷却段时，程序结束，停止试验。将所有温度数据打印出来，查明冷点位置。

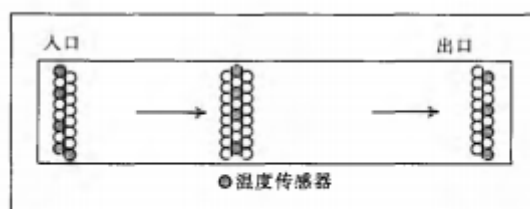


图 10-14 隧道烘箱空载探头布点

4.5.2.3 热穿透：最差条件通常在第一排、最后一排、输送带边缘以及中间堆放密度高的容器中。将至少 16 支探头也按照上图所示布置，放置在容器内，并接触容器，以确保测定的温度是容器表面温度，而不是空气的温度。由于气流很容易为灭菌瓶体所阻挡，瓶体本身的最低点通常是热穿透效果最差的位置。因此热穿透数据能够真实反映出冷点的灭菌情况。热穿透测试时，一般选择大于 1000 单元的细菌内毒素指示剂在热穿透探头附近的容器中，同时进行挑战性试验，以证明其杀灭能力。



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