立式压力蒸汽灭菌器验证

1主题内容

本标准规定了立式压力蒸汽灭菌器的确认方案。

2适用范围

本方案适用于立式压力蒸汽灭菌器。

3职责

项目负责人：负责检验设备及检验方法确认方案的起草，并组织相关人员负责各确认过程中的检验工作。

质量部长：负责检验设备及检验方法确认方案及报告的审核评价工作，并监督相关确

作的实施。

质量受权人：负责检验方法及检验设备确认方案及确认报告的审批。

验证管理员：负责确认工作的组织及协调工作。

4概述

立式压力蒸汽灭菌消毒器是完全符合GMP规范要求的高档次的灭菌仪器，该产品是利用高压高温湿热蒸汽杀死细菌，用于卫生学检查的培养基及各种不能干热灭菌器具的灭菌。验证依据《\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*》

5验证对象

仪器名称：立式压力蒸汽灭菌器　　　　　　仪器型号：

规　　格：　　　　　　　　　　　　生产厂家：

6确认目的

通过对该仪器进行验证确认该设备的设计符合GMP的要求，所采用的灭菌方法准确、可靠，能够达到灭菌目的，确保检验的准确性。

7确认内容

运行确认

接受范围：设备在公用工程系统正常供给条件下连续三次空载及满载及试验运转正常，各部件动作状态良好，腔室内各点灭菌温度均能满足灭菌要求。

7.1.1运行前确认检查

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 检测内容 | 接受标准 | 实际检测 | 结论 |
| 阀泵系统 | 阀组开关灵活、机泵试车良好 |  |  |
| 控制系统 | 能正常显示设备状态 |  |  |
| 门密封 | 密封材料无裂痕、损伤和污物 |  |  |
| 能源供给 | 检查能源供给是否正常 |  |  |

结论：

检查人：日期：复核人：日期：

7.1.2测试用的仪器仪表

测试用的仪器仪表等用品和设备的主要仪器仪表均应确认合格，以保证设备能够正常运行，同时保证设备测试结果的真实性。

测温元件采用热电偶，精度应达到±℃，并在实际测试过程中考虑精度负值对测试结果的影响。测温元件在验证前后在0℃和125℃两个点分别进行校正。验证中使用的标准温度计必须经过标准计量管理部门校验认可。温度记录仪以能记录数字并配多点打印为宜，打印和储存参数有各种温度、压力、F0值、日期、灭菌时间等。

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 仪器仪表用品名称 | 生产厂家 | 编号 | 测量范围 | 有效期至 | 结果 |
| 温度记录仪 |  |  |  |  |  |
| 测温元件1 |  |  |  |  |  |
| 测温元件2 |  |  |  |  |  |
| 测温元件3 |  |  |  |  |  |
| 测温元件4 |  |  |  |  |  |
| 测温元件5 |  |  |  |  |  |
| 测温元件6 |  |  |  |  |  |
| 测温元件7 |  |  |  |  |  |
| 测温元件8 |  |  |  |  |  |
| 测温元件9 |  |  |  |  |  |
| 测温元件10 |  |  |  |  |  |
| 测温元件11 |  |  |  |  |  |
| 测温元件12 |  |  |  |  |  |
| 压力表1 |  |  |  |  |  |
| 留点温度计 |  |  |  |  |  |
| 嗜热脂肪芽孢杆菌 |  |  |  |  |  |

结论：

检查人：日期:　复核人:日期：

7.1.3运行时间的确认

测试过程：各项操作准备工作就绪后，按照标准操作程序进行操作，设备运行后，温度达到121℃的时间应≤60分钟。在121℃保温20分钟，控温功能应良好，无明显的偏差。

结论：

检查人：日期：复核人：日期：

7.1.4热分布测试

7.1.4.1空载热分布的测试

选用12个热电偶做温度探头，分别编号，将其中1支的探头置于灭菌器的蒸汽进气口处，1支探头置于灭菌器排气口处，1支探头置于灭菌器的温度控制和记录的探头旁边，其余探头的分布在腔内的各处，如下图，将探头置于上层长方形的四角和下层长方形的四角及中心点。检测温度分布均匀性，同时找出冷点位置，检测腔室内温差是否符合要求。

　　温度探头分布图：

。

设备空载运行3次，，按设备灭菌操作程序启动设备，记录设备运行过程中的各点温度，最大温差应在恒温平均温度的±2℃以内，以检查其重现性。

运行检测结果：

刚到121℃时，各探头温度：

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 编号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| 第一次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 第二次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 第三次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

121℃稳定15分钟时各探头温度：

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 编号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| 第一次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 第二次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 第三次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

121℃稳定20分钟时各探头温度：

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 编号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| 第一次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 第二次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 第三次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

空载热分布试验验证结果：

□经过三次空载热分布试验，灭菌器内冷点能够达到灭菌温度，腔内温差符合要求，可以进行装载热分布试验。

□经过三次空载热分布试验，灭菌器内冷点不能够达到灭菌温度，腔内温差不符合要求，不能进行装载热分布试验，需进一步检测调试。

检查人：日期：复核人：日期：

7.1.4.2满载热分布的测试

测试过程：将灭菌器内装满含有培养基的锥形瓶（250ml的锥形空瓶，装玫瑰红钠琼脂培养基200ml），自下而上摆放。取12支探头，将其中1支的探头置于进气口处，1支探头置于排气口处，1支置于温度控制和记录的温度计旁边，其余的探头均匀分布在腔内装载的各处（同空载的分布）。开启灭菌锅，按照121℃，20分钟运行，分别记录15、20分钟时各个点的温度。连续运行3次，以检查其重现性。

121℃稳定15分钟时各探头温度：

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 编号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| 第一次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 第二次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 第三次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

121℃稳定20分钟时各探头温度：

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 编号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| 第一次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 第二次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 第三次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

满载热分布试验验证结果：

□经过满载热分布试验，灭菌器内冷点能够达到灭菌效果，腔内温差符合要求，可以进行性能测试。

□经过满载热分布试验，灭菌器内冷点不能够达到灭菌效果，腔内温差不符合要求，不能进行性能测试，需进一步检测调试。

检查人：日期：复核人：日期：

性能确认

接受范围：按照设备操作说明书操作均运行正常，在热分布试验的基础上，确定装载中的最冷点，并肯定该点在灭菌过程中获得的无菌保证值，在121℃，F0≥8分钟。

7.2.1运行确认的检查

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 检测内容 | 接受标准 | 查看结果 | 结论 |
| 运行确认 | 确认已进行并签发合格 |  |  |

结论：

检查人：日期：复核人：日期：

7.2.2满载热穿透试验

7.2.2.1装载热穿透的测试

选用10个热电偶做温度探头，分别编号，置于待灭菌含培养基的锥型瓶中。温度探头摆放位置应选择灭菌柜内的冷点、高温点、其余探头均匀分布。

7.2.2.2器皿选择：250ml锥型瓶，100ml锥型瓶

7.2.2.3培养基的选择：每次可以选择几种培养基，三次可以选择不同的培养基。

7.2.2.4灭菌程序：121±2℃，20分钟。

7.2.2.5连续运行3次，以检查其重现性。

121℃稳定15分钟时各探头温度：

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 编号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 第一次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 第二次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 第三次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

121℃稳定20分钟时各探头温度：

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 编号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 第一次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 第二次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 第三次 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

7.2.2.6热穿透试验验证结论：

□经过三次装载热穿透试验，灭菌柜内冷点能够达到灭菌效果，腔内温差符合要求，热穿透验证试验合格。

□经过三次装载热穿透试验，灭菌柜内冷点不能够达到灭菌效果，腔内温差不符合要求，热穿透验证试验不合格。

检查人：日期：复核人：日期：

7.2.3留点温度计与细菌生物指示剂验证

7.2.3.1首先将灭菌器满载，然后通过物理与生物的方法来验证灭菌锅内是否达到设定温度

和热分布的情况能否达到灭菌效果。

7.2.3.2物理方法

在灭菌前将留点温度计放入灭菌器，置于灭菌器温度最低点处，从留点的最高温度可以知道其温度是否都达到了设定的条件。

7.2.3.3生物方法

在灭菌器开始灭菌前将生物指示剂和被灭菌物品一起放置在灭菌器内，121℃下30分钟，灭好菌后将生物示剂56-60℃培养24-48小时；同时做空白对照，就是将没灭菌的生物指示剂直接同灭好菌的生物指示剂相同条件培养，培养到时间后根据颜色判断灭菌效果。连续试验三次，9、10号设为空白对照。生物指示剂的使用可以用作压力蒸汽灭菌设备灭菌效果的依据。

生物指示剂：即为非致病性嗜热脂肪杆菌芽胞(ATCC7953)制成的蓝紫色液体。含菌量为5×1０5-6／支。

布点：根据灭菌锅的层数而定,对二层装灭菌器设4个点，上层中央部位1个点，下层前后部位各1个点，热穿透试验最低温度点1个点，每点置生物指示剂2支。

7.2.3.4结果判定

物理方法：留点温度计达到设定温度为合格；生物方法：(无菌生长“-”、有菌生长“+”)

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 次数 | 试管号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 第一次试验 | 结果 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 第二次试验 | 结果 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 第三次试验 | 结果 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

结论：

检查人：日期：复核人：日期：

7.2.4灭菌后培养基适用性检查

7.2.4.1菌种

试验用的菌株传代次数不得超过5代（从菌种保存中心获得的冷冻干燥菌种为第0代），并采用适宜的菌种保藏技术进行保存，以保证试验菌株的生物学特性。

大肠埃希菌（Escherichiacoli)［CMCC（B）\*\*\*\*\*］

金黄色葡萄球菌（Staphylococcusaureus)［CMCC（B）\*\*\*\*\*］

枯草芽孢杆菌(Bacillussubtilis)［CMCC（B）\*\*\*\*\*］

白色念珠菌(Candidaalbicans)[CMCC(F)\*\*\*\*\*]

黑曲霉(Aspergillusniger)　[CMCC(F)\*\*\*\*\*]

7.2.4.2菌液制备

接种大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的新鲜培养物至营养肉汤培养基中或营养琼脂培养基上，培养18-24小时；接种白色念株菌的新鲜培养物至改良马丁培养基中或改良马丁琼脂培养基上，培养24-48小时。上述培养物用%无菌氯化钠溶液制成每1ml含菌数为50-100cfu的菌悬液。接种黑曲霉的新鲜培养物至改良马丁琼脂斜面培养基上，培养5-7天，加入3-5ml含%(ml/ml)聚山梨酯80的%无菌氯化钠溶液，将孢子洗脱。然后，采用适宜的方法吸出孢子悬液至无菌试管内，用含%(ml/ml)聚山梨酯80的%无菌氯化钠溶液制成每1ml含孢子数50-100cfu的孢子悬液。菌液制备后若在室温下放置，应在2小时内使用；若保存在2-8℃，可在24小时内使用。黑曲霉孢子悬液可保存在2-8℃，在验证过的贮存期内使用。

7.2.4.3适用性检查

取大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌各50-100cfu，分别注入无菌平皿中，立即倾注营养琼脂培养，每株试验菌平行制备2个平皿，混匀，凝固，置30-35℃培养48小时，计数；取白色念珠菌、黑曲霉各50-100cfu，分别注入无菌平皿中，立即倾注玫瑰红钠琼脂培养基，每株试验菌平行制备2个平皿，混匀，凝固，置23-28℃培养72小时，计数。同时，用相应的对照培养基替代被检培养基进行上述试验。

7.2.4.4结果判定

若被检培养基上的菌落平均数不小于对照培养基上的菌落平均数的70%，且菌落形态大小与对照培养基上的菌落一致，判该培养基的适用性检查符合规定。

第一次试验结果：

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 金黄色葡萄球菌 | 枯草芽孢杆菌 | 大肠埃希菌 | 白色念珠菌 | 黑曲霉 |
| 试验组 |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
| 平均值 |  |  |  |  |  |
| 对照组 |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
| 平均值 |  |  |  |  |  |
| 比率 |  |  |  |  |  |

第二次试验结果：

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 金黄色葡萄球菌 | 枯草芽孢杆菌 | 大肠埃希菌 | 白色念珠菌 | 黑曲霉 |
| 试验组 |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
| 平均值 |  |  |  |  |  |
| 对照组 |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
| 平均值 |  |  |  |  |  |
| 比率 |  |  |  |  |  |

第三次试验结果：

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 金黄色葡萄球菌 | 枯草芽孢杆菌 | 大肠埃希菌 | 白色念珠菌 | 黑曲霉 |
| 试验组 |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
| 平均值 |  |  |  |  |  |
| 对照组 |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
| 平均值 |  |  |  |  |  |
| 比率 |  |  |  |  |  |

结论：

检查人：日期：复核人：日期：

8确认结果分析与评价

项目负责人根据确认数据对确认结果进行分析评价。

分析评价结果：

。

项目负责人：日期：

9确认结果的审核

质量部长根据项目确认结果提出审核意见。

审核意见：

。

审核人：日期：

10确认结果的批准

由本方案的批准人对确认报告进行最终批准。

批准意见：

。

批准人：日期：

