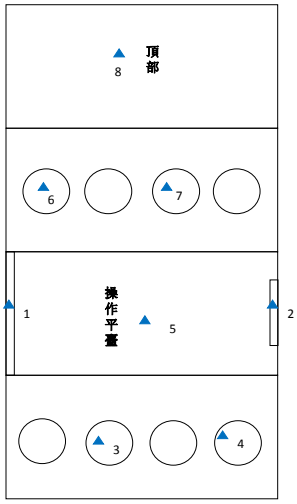
五、 芽孢挑戰試驗

VHPS傳遞艙芽孢挑戰試驗

五、 芽孢挑戰試驗



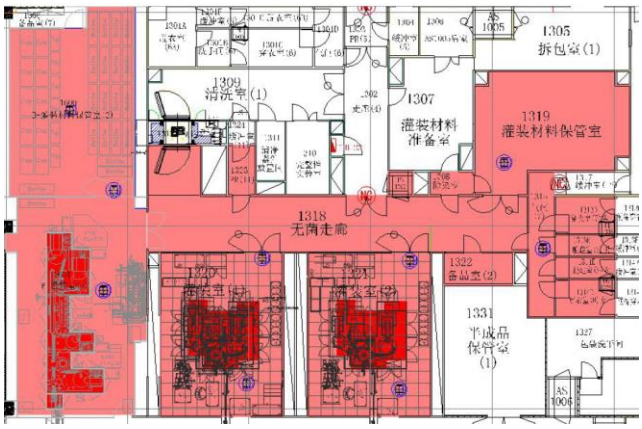
無菌隔離器BI布點示意圖

五、 芽孢挑戰試驗

無菌隔離器芽孢挑戰試驗

五、 芽孢挑戰試驗

大空間消毒效果確認示例

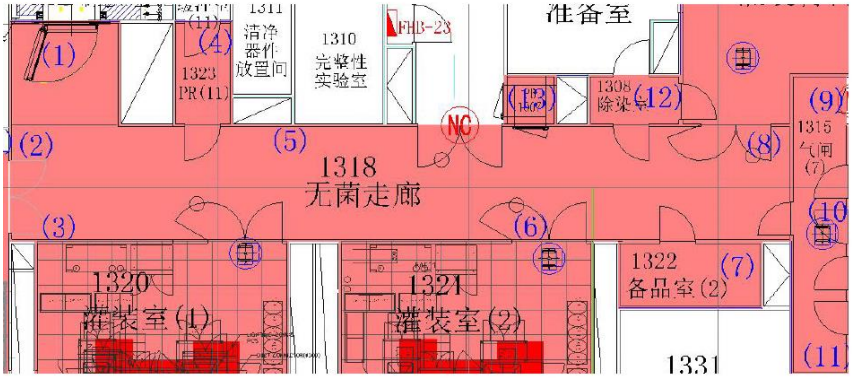


某公司灌裝車間佈局圖，圖中粉色區域為待消毒空間，總滅菌空間約1540m³；

滅菌方案：通過分散式過氧化氫消毒控制系統VSC控制9台汽化過氧化氫發生器同時滅菌；

——汽化過氧化氫發生器

五、 芽孢挑戰試驗



無菌走廊及相鄰區域CI/BI布點圖

五、 芽孢挑戰試驗

編號	選擇理由	備註	編號	選擇理由	備註
1	(2) (4)	3點： 地面+離地面80cm+天花板	2	(2)	地面
3	(2) (4)	3點： 地面+離地面80cm+天花板	4	(2) (4)	3點： 地面+離地面80cm+天花板
5	(2)	地面	6	(2)	地面
7	(2)	地面	8	(2)	地面
9	(2) (4)	3點： 地面+離地面80cm+天花板	10	(2)	地面
11	(2) (4)	3點： 地面+離地面80cm+天花板	12	(2) (4)	3點： 地面+離地面80cm+天花板
13	(4)	傳遞窗	/	/	/
走廊：選擇理由：(1)灌裝過程中人出現最多的（使用較頻繁）；(2)環境監測過程中較差的地方；(3)容器接觸最多的一個面等；(4)氣體較難到達的地方；(5)根據面積均勻分佈					

無菌走廊及相鄰區域CI/BI布點說明

五、 芽孢挑戰試驗

編號	選擇理由	備註	編號	選擇理由	備註
1	(5)	地面	2	(5)	地面
3	(4)	傳遞窗	4	(5)	地面
5	(5)	地面	6	(5)	地面
7	(4)	傳遞窗	8	(5)	地面
更衣室：選擇理由：(1)灌裝過程中人出現最多的（使用較頻繁）；(2)環境監測過程中較差的地方；(3)容器接觸最多的一個面等；(4)氣體較難到達的地方；(5)根據面積均勻分佈					

更衣室相關區域CI/BI布點圖及說明

五、 芽孢挑戰試驗

VHPS發生器空間消毒

五、 芽孢挑戰試驗

TAILIN®

PCD

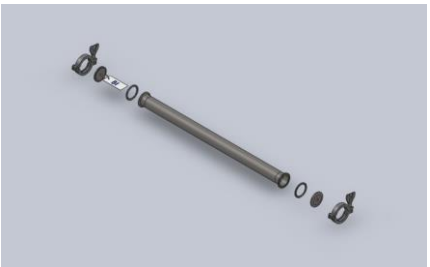
PCD，即Process ChallengeDevice，指對滅菌工藝形成確定的抗力，用於評估滅菌過程性能的裝置。

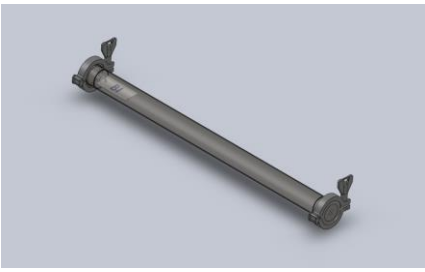
常用的類型主要有敷料型PCD和管腔型PCD，前者由內部一疊厚紙加表面紙包裹而成，模擬了敷料包裹的滅菌狀況，起到抗力的作用（如左下圖所示）而後者通過在塑膠管或金屬管中加入化學或生物指示劑等方式類比了官腔類器械的滅菌狀況，起到增加抗力的作用（如右下圖所示）。

五、 芽孢挑戰試驗

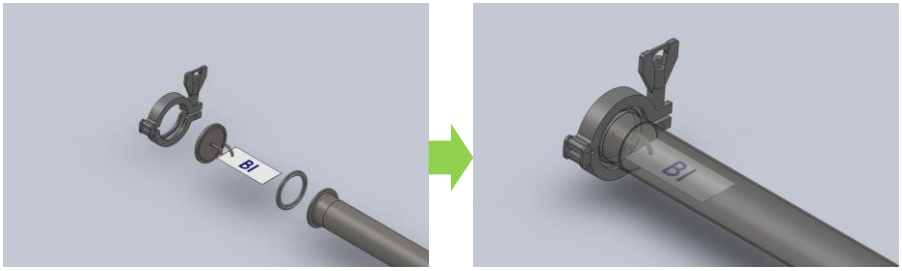
TAILIN®

對於凍幹機內部管路等盲點，可選擇合適的管腔型PCD模擬凍幹機的內部盲點，通過對PCD的滅菌效力評估來驗證VHP對凍幹機腔室內部滅菌盲點的滅菌效力

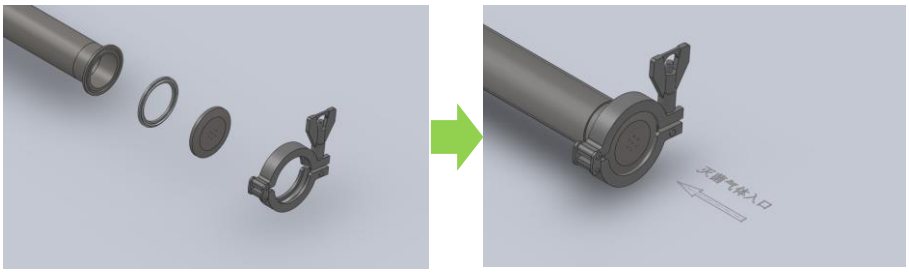




五、 芽孢挑戰試驗



五、 芽孢挑戰試驗



浙江泰林生物技術股份有限公司

五、 芽孢挑戰試驗

TAILIN®

PCD試驗方法

- 化學指示劑（CI）、生物指示劑（BI）布點；
- 凍幹機腔體抽真空，關閉真空閥，關閉真空泵；
- 將過氧化氫發生器出風口與腔室外部進氣口緊密連接，設置發生器滅菌參數；
- 過氧化氫氣體的發生和給藥；
- 滅菌維持；
- 排殘階段；
- BI的處理和培養；
- BI培養結果的觀察與記錄

五、 芽孢挑戰試驗

TAILIN®

以上為每個測試點佈置一個BI的測試方法。然而，當結果出現陽性時，對結果的分析將會陷入兩難，因為無法確認是因為BI的原因（如生物指示劑不正確的製備或不合適的儲存導致的孢子堆積）還是滅菌迴圈本身的原因。對於上述情況，統計學的分析是不可行的。**而如果採用每個點至少佈置兩到三個BI可以克服這個困難。**

© Copyright AAMI 2016. Single user license only. Copying, networking, and distribution prohibited.

Decontamination and Validation of Isolators for Sterility Testing

Maria Luisa Bernuzzi

浙江泰林生物技術股份有限公司

五、 芽孢挑戰試驗

對於該特殊的情況，Halvorson-Ziegler方程可以應用。它允許計算陽性樣品存活微生物最可能的數量（MPN），以及隨之而來的SLR。該公式只適用於每點使用多個生物指示劑時進行的統計。

Halvorson-Ziegler方程如下：

MPN = ln (n/r)

其中：

ln =自然對數

n =每個點的生物指示劑的數量

r =每個點的陰性結果的數量

五、 芽孢挑戰試驗

例如，考慮三個生物指示劑被放同一個點的情況和觀察到的結果是（+ - -）（一個陽性兩個陰性）。在這種情況下面臨的挑戰，在於歸因於BI產生的陽性結果，而不是迴圈設置。 在該點上，重複迴圈以確定結果變得重要。

應用到上面提及到的情況（+ - -）：

MPN = ln (3/2) = 0.405

得到的SLR可以通過以下公式進行計算：

$SLR = Log_{10}N_0 - Log_{10}\ MPN$

其中：

N_0 =每個載體上最初的孢子數量；如果N_0等於2.8×10^6，然後：

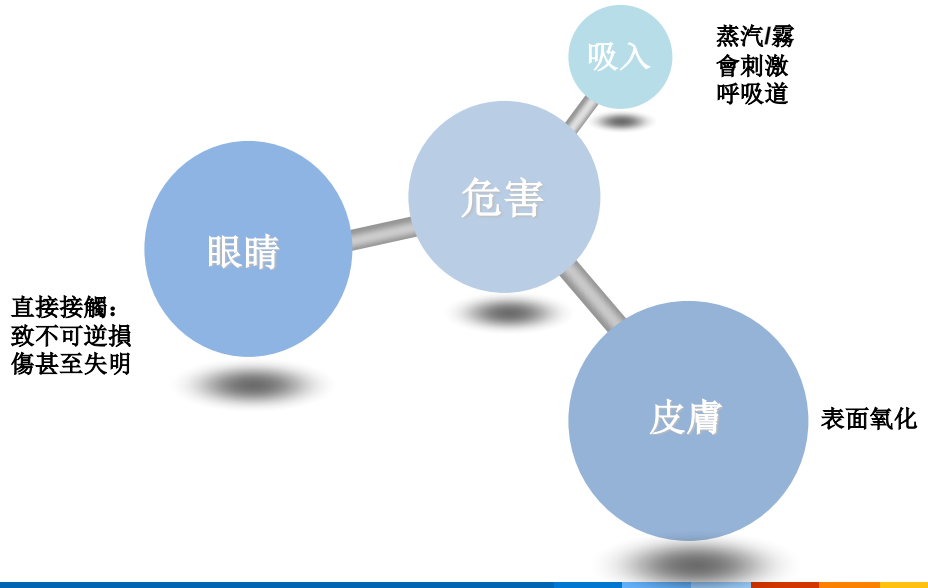
SLR = 6.447 -（-0.393）=6.840；獲得了在該情況（+ - -）下的SLR。

浙江泰林生物技術股份有限公司

五、 芽孢挑戰試驗

在此種情況下，儘管有一個或多個陽性結果，但SLR符合USP定義的去汙過程3到4個log降低的要求，也達到了滅菌所需的降低6個log的要求。作為對比，如果只放置一個生物指示劑並得到了陽性的結果，將不能確定SLR，以及是否接受該結果。**放置一些生物指示劑在同樣的地方，使人們能夠思考的陽性結果（產生）的原因，並探討出現假陽性的假設。**

六、 汽化過氧化氫殘留檢測



六、 汽化過氧化氫殘留檢測

對於空間VHPS滅菌，出于**人員安全考慮**，通常需要在滅菌迴圈結束時測試滅菌空間內部殘留的過氧化氫濃度。

- 美國職業安全與健康管理局（OSHA）給出的允許暴露限值（PEL）為**1ppm；**
- 短期接觸30min暴露濃度（IDLH）**75ppm；**
- 8小時允許暴露極限濃度（TWA）**1ppm**

The current Occupational Safety and Health Administration (OSHA) permissible exposure limit (PEL) for hydrogen peroxide is 1 part per million (ppm) parts of air (1.4 milligrams per cubic meter (mg/m(3))) as an 8-hour time-weighted average (TWA) concentration [29 CFR 1910.1000, Table Z-1]. ↓

六、 汽化過氧化氫殘留檢測

可選用掌上型低濃度過氧化氫濃度檢測儀，若滅菌空間內部殘留過氧化氫濃度超過了1ppm，感測器會进行**聲光報警**。殘留過氧化氫測試時，應配套防護面具與防護手套等相應裝置

Figure 8. Electrochemical sensor for detecting residuals of hydrogen peroxide

用於檢測殘留過氧化氫的電化學感測器

3M防毒面具

六、 汽化過氧化氫殘留檢測

VHPS傳遞艙內殘留過氧化氫測試

六、 汽化過氧化氫殘留檢測

滅菌空間殘留過氧化氫測試

六、 汽化過氧化氫殘留檢測

此外，該低濃度檢測儀也可用于**滅菌過程中距離設備一定距離處（如1米）的過氧化氫洩漏濃度**以及VHPS處理時的**相鄰房間過氧化氫洩露濃度**

六、 汽化過氧化氫殘留檢測

而對於隔離器等操作性設備，为**避免殘留過氧化氫對後續的微生物相關實驗造成假陰性或影響系統的生產活动**等原因，通常需要在迴圈結束時測試物料表面和內部的殘留

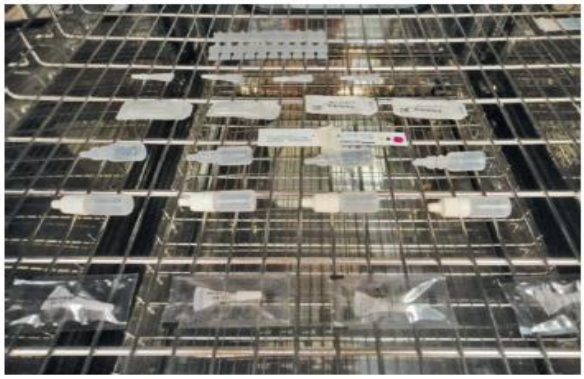
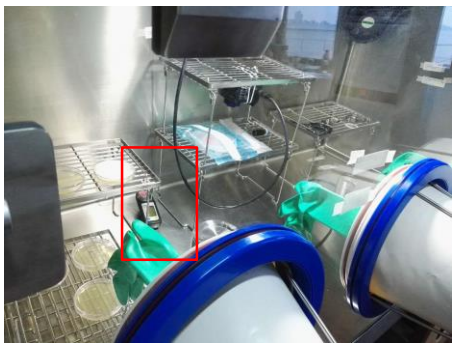


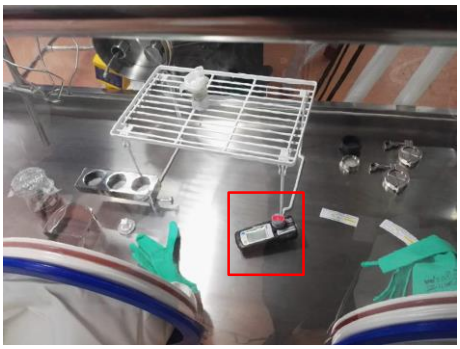
Figure 7. Several plastic samples inside a decontamination chamber

艙體內部滅菌時的一些塑膠樣品

六、 汽化過氧化氫殘留檢測

對於隔離器內部進行VHPS滅菌，在迴圈結束時，操作人員將密閉空間內部的塑膠包或安瓿瓶取出，並盡可能快的使用該濃度感測器來檢測殘留在表面的濃度。





無菌隔離器艙體內殘留VHP測試

六、 汽化過氧化氫殘留檢測

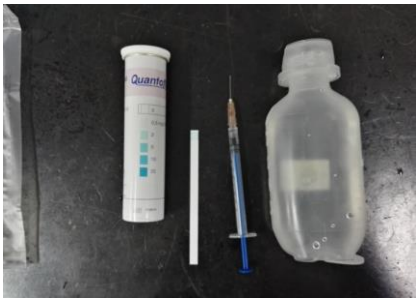
如果容器裡有溶劑，我們也可以用化學（測試）條對其內部的滅菌劑殘留進行檢測。這些化學測試條包含有過氧化物酶，可以將過氧化物氧化為有機氧還原指示劑；該反應會生成特定顏色.過氧化物的濃度通過試紙條反應區（的顏色）與（比色卡）色標範圍的直觀比較來進行半定量的測試。市面上有能檢測低濃度過氧化氫的化學試紙：（最低靈敏度）1ppm以下。

Figure 9. Ampoules for ocular solutions: plastic for the primary container

眼藥水安瓿瓶：主要包裝為塑膠材質

過氧化氫測試用化學測試條，左邊：標準比色卡；右邊：空白測試條與變色測試條的對照

六、 汽化過氧化氫殘留檢測



化學測試條測試滅菌結束後物品內部液體中VHP濃度

六、 汽化過氧化氫殘留檢測

如果製藥產品也有二次包裝，調查初始包裝和二次包裝之間的空間的化學物殘留可能比較有用。在去汙迴圈結束時，取出負載，在二次包裝上開一個小孔，將感測器的探頭或連接管插入空間內部。（孔儘量與感測器的探頭或連接管一樣小，以避免過氧化氫的擴散。）過氧化氫的濃度隨後被測試

Figure 11. Biocide residuals inside a secondary packaging container

二次包裝容器中殘留的滅菌劑

浙江泰林生物技術股份有限公司

六、 汽化過氧化氫殘留檢測

此外，也可考慮採用該低濃度線上過氧化氫濃度传感器**線上检測**隔離器艙體內部或滅菌空間殘留的過氧化氫濃度，但應避免在使用時艙體內部的過氧化氫濃度達到或超過該感測器的上限從而引起的感測器中毒問題；通常，只需合理設置感測器的上電值即可

總結

- 汽化過氧化氫滅菌應用已經超過15年，應用廣泛，是一項十分成熟的技術；
- 根據被滅菌設施/設備的特徵選擇發生器和滅菌方式，材料相容性需要充分評估；
- 過氧化氫濃度、溫度和濕度等過程參數需要監控；

總結

- 選擇和使用適當數量的生物指示劑和化學指示劑來驗證滅菌效果，以證實滅菌的可重現性；
- 滅菌迴圈時間需要根據應用物件週期開發的具體情況設定；人員進入前，過氧化氫殘留濃度應得到確認；
- OSHA(operator safety & health association) 職業安全和衛生條例要求是八小時工作濃度需控制在0.5（2007）-1.0（1993-2005）ppm以內。

謝 謝！

Thank you