

# 大输液洁净室与过滤系统无菌处理后菌检效果的实验研究

药剂科  
第三军医大学三院  
检验科

李新生  
孙 为

大型输液在现代医学治疗中已形成独立的输液疗法,对抢救危重病人、应付自然灾害等都居于十分重要的地位,但因输液质量问题偶尔也会引起热原反应。众所周知热原主要是细菌产生的内毒素所致,热原反应可给患者带来严重的不适和痛苦。在制备大输液过程中,热原的污染途径来源于注射用水、容器和设备、原料药物及其制备过程和环境。笔者就输液制备过程中常规洁净室的空气消毒处理,过滤系统的滤器、滤材、管道等的消毒灭菌方法进行了实验探讨。

目前,国内大多数医院的灭菌制剂室净化系统都是采用紊流型的常规洁净室,往往达不到无菌或GMP中的有关菌落数限量要求,故须采用多种辅助灭菌手段才达到要求。常用药液蒸汽法如用甲醛溶液直接加热法,对设备有不同程度的损害,对人粘膜有强烈的刺激性,同时还需要特殊装置,殊多不便,根据我院实际情况分别对配制间(净化级别是万级)和灌封间(净化级别是千级)两个洁净室的环境消毒,过滤系统的消毒灭菌处理及除菌效果等进行了实验研究,结果证明是可以达到GMP的菌落数限量标准。

## 实验设备和材料

洁净室 (万级,北京半导体设一厂 9 M<sup>2</sup>)  
 洁净室 (千级,北京半导体设一厂 11 M<sup>2</sup>)  
 高效紫外消毒器 (2 XY-86-I型海宁玻璃仪器厂)  
 板框式压滤机 (XAS-0.3-172/g 广州医药机械厂)

不锈钢滤器 (150cm 上海产)  
 不锈钢滤器 (300cm 上海产)  
 微孔滤膜 (1.2—0.65μm 上海集成药厂等)  
 医用硅胶管 (长江橡胶厂)  
 垂熔玻璃滤球 (G<sub>3</sub> 长春玻璃仪器厂)  
 除湿机 (Bz-Js 重庆缝纫机厂)  
 乙醇 (医用 内江糖厂)  
 双氧水 (分析纯 上海桃浦化工厂)  
 煤酚皂 (大原卫星制药厂)  
 琼脂培养皿 (本院检验科自制)  
 血液琼脂培养皿 (本院检验科自制)  
 注射用水 (本院灭菌室自制)  
 各种输液 (本院灭菌室自制)

## 实验方法与结果

1. 洁净室的消毒处理方法:先用自来水冲洗洁净室的四周,擦干后用75%乙醇擦拭洁净室的四周及顶部,再用2~5%煤酚皂液均匀喷洒于地面。尔后开启两支从不同角度照射的高效紫外消毒器1~2小时,采样前十分钟启动净化装置(两套净化间的自净时间分别为5分钟和8分钟),采样时关闭部分紫外线灯(机房缓冲间的紫外线灯不关)。

2. 过滤系统的消毒处理方法:①将过滤系统所用的管道先用3%双氧水浸泡,再用75%乙醇浸泡,用常水冲洗,尔后用新鲜蒸馏水洗数次。②把不锈钢滤器、板框压滤机的板框等先用洗衣粉液刷洗,常水冲洗除去洗衣粉液,再用蒸馏水清洗数次,沥干水和滤纸一同高压灭菌。③微孔滤膜用新鲜蒸

馏水反复冲洗,放置于70~80℃左右的蒸馏水中12小时。④垂熔玻璃滤球按常规处理后用新鲜蒸馏水冲洗,对上述各部分处理之后的过滤系统安装,使用前以新鲜蒸馏水反复抽滤冲洗整个过滤系统。

3. 菌检及采样方法; ①洁净室在上述消毒处理的条件下,按实验要求操作者换上专用的防护服、鞋、帽、口罩经风淋室风淋后进入洁净室进行采样。笔者根据洁净室的布局 and 实际生产上的情况,选择了七个采样

点(采样点见图1、2),采样方法、按空气自然菌沉法进行对二个洁净室的空气消毒效果观察,使用血液琼脂培养基,采样暴露时间分两组,20分钟为一组(常规采样暴露时间)30分钟为一组(GMP的规定)。每周采样培养一次,连续观察6周,室温:25~35℃,湿度:40~60%。采样后经37℃培养48小时,另外以单纯启动净化装置作空白对照组,结果见表1、表2。

表1 灌封间(千级净化间)空气培养细菌菌落数

采样位置		1号位	2号位	3号位	4号位	5号位	6号位	7号位	平均
20分钟	对照组	11	2	>100	0	>50	16	11	>40
	实验组	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
30分钟	对照组	11	0	0	0	1	23	14	>6
	实验组	<1	<1	<1	<1	<1	1	0	<1

注:菌落数指9 Cm双碟内细菌平均个数(6次测试平均值)

表2 配制间(万级净化间)空气培养细菌菌落数

采样位置		1号位	2号位	3号位	4号位	5号位	6号位	7号位	平均
20分钟	对照照	3	1	2	4	>100	7	2	17
	实验组	<2	<2	<3	<2	<3	<1	<1	<2
30分钟	对照组	3	0	0	>1000	7	6	5	<145
	实验组	2	2	<2	2	4	<2	<1	<2

注:菌落数指9 Cm双碟内细菌平均个数(6次测试平均值)

②过滤系统分四段进行采样。A.未过滤药液(加有0.02%活性炭)。B.一级过滤药液(板框式压滤机滤过液)。C.三级过滤液(经板框式压滤机→G<sub>3</sub>垂熔滤球→微孔滤膜)。D.四级过滤液(在三级过滤

基础上,在药液灌装出口处再加一微孔滤膜过滤),采用细菌点数测定琼脂倾注法,在37℃培养48小时。

同时对过滤系统消毒灭菌方法改进前后的除菌效果进行了对比观察,结果见表3。

表3 过滤系统消毒灭菌方法改进前后不同阶段过滤药液细菌个数

不同阶段	消毒方法	
	改进前	改进后
未过滤药液	< 9	< 8
一级过滤药液	< 15	< 2
三级过滤药液	< 7	< 1
四级过滤药液	< 8	无菌生长

注：细菌数指每 1 ml 药液中所含细菌个数（3次测试平均值）。

讨 论

1. 我院的灭菌制剂室配制间和灌封间的净化室经数次测试均达到或超过规定标准，其中灌封间实测结果可达百级洁净标准。但由于净化空气气流呈紊流状态，故除菌效果不彻底。实验结果表明未经任何消毒处理，仅开启洁净室的净化装置十分钟后，采样作为对照组；在条件相同情况下，对照组细菌菌落，大大超过《药品生产管理规范》规定的菌落数。而采用实验方法一“洁净室的消毒处理方法”后，洁净室菌落数均达到或超过了规定范围。说明以实验方法一所设计的消毒处理方案作为洁净室的辅助消毒法是切实可行的。

其中所使用的 2 xy86—1 型高效紫外消毒器是新近国内引进的新产品，是目前世界上比较先进的热阴极低压石英汞灯，在同样条件下其消毒效果比 30W 紫外线灯强 2~5 倍，一般细菌只需照射 3~5 秒钟，杀菌率可达 99.99%。一具高效紫外消毒器可消毒 12m<sup>2</sup>，25~30 分钟杀菌率 90% 以上，该消毒器小巧，使用方便，值得在洁净室空气中消毒中推广、使用。

2. 对我院新鲜蒸馏水及放置 12 小时内的蒸馏水采样作细菌培养，结果均为无菌生长。用新鲜蒸馏水配制各种输液，按实验方法 I、“过滤系统的消毒处理方法”进行，经分段采样，并比较对过滤系统的消毒方法改进前后的细菌数，结果表明，消毒方法改

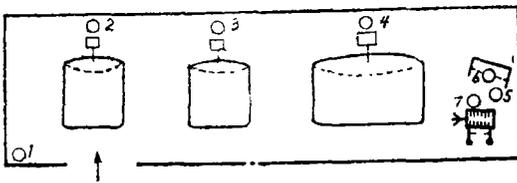


图1 配制间（万级净化间）布局及采样点位置图

注：1 号位：入口处地面。2、3、4 号位：在配料桶的顶端，离地面约 2 m 处。5 号位：入口的最里面的地面。6 号位：在过滤架上，离地面 1.3m 左右。7 号位：在板框式压滤机上离地面 1 m。

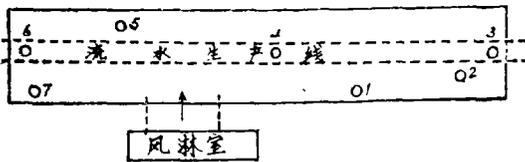


图2 灌封间（4级净化间）布局及采样点位置图

注：1 号位：入口处右侧离地面 1 m。2 号位：在流水生产线和 1 号位之间地面处。3、4、6、号位：在与操作平台平行处两端和中间处。5 号位：流水生产线的最里侧地面。7 号位：入口处的左侧地面。

## · 药物分析和鉴定 ·

## 高效液相色谱法测定法莫替丁及其稳定性溶液的选择

第三军医大学新桥医院临床药理学室

徐传福 李松林 吴瑞芸 尚福堂

法莫替丁 (Famotidine, MK-208, YM-11170) 系一种新型的组胺 $H_2$ 受体阻滞剂。临床主要用于治疗消化性溃疡及 Zollinger-Ellison 综合症, 以控制胃酸的大量分泌。其抑制胃酸分泌的作用比西米替丁强20倍, 比雷尼替丁强7.5倍, 并具有长效、低毒之特点<sup>(1)</sup>。国内最近已仿制成功。

为研究新药的药代动力学, 在测试临床生化样本的同时, 发现本品在某些溶剂中不够稳定。本文在建立法莫替丁的反相高效液相色谱测定方法的基础上, 对筛选出的三种溶剂进行了稳定性考察。其结果表明, 置5℃的贮存条件下, 以水或甲醇作溶剂, 本品至少可以稳定7天以上。

## 实 验

## 一、药品与试剂

1. 法莫替丁标准品: 由西南制药一厂合成提供, 经多次精制纯化而得。

2. 磷酸 (AR): 武汉无机盐化工厂。

进后, 经四级过滤后的药液、已无菌生长, 而消毒方法改进前的药液在四个分段均有细菌生长。其原因由于消毒方法改进后对过滤系统的管道及多种滤器、滤材分别采用双氧水、乙醇浸泡处理, 高压消毒, 新鲜蒸馏水冲洗等措施, 保证了整个过滤系统在洁净室内呈无菌状态, 同时药液通过过滤时经活性炭吸附及二次微孔滤膜的截留, 大大降低了药液中的含菌数甚至达到了无菌程度。从本实验中可表明, 四级过滤系统对该系统的消毒灭菌处理方法, 对改善药液中的微粒及消除细菌无疑提供了可靠的条件。

3. 对我院洁净室的空气采样培养, 按细菌分类学分类, 污染的细菌有: 霉菌、

3. 乙腈 (AR): 北京化工厂。

4. 甲醇 (AR): 成都化学试剂厂。

## 二、仪器及色谱条件

1. 仪器: GILSON 高效液相色谱仪、数据微处理机、UV 检测器等 (法国产)。

2. 色谱条件: 色谱柱 ODS (5 $\mu$ m); 4.6mm ID  $\times$  25cm; 流动相, 0.019M 磷酸: 乙腈 (9:1); 流速, 1 ml/min 恒速; 纸速, 5 mm/min; UV 检测器测试波长, 266nm; 灵敏度, 0.2 a.u.f.s。

## 三、标准溶液

精密称取干燥至恒重的法莫替丁约 5 mg 置 100ml 容量瓶中, 以甲醇适量溶解并稀释至刻度, 摇匀, 于 5℃ 冷藏备用。

## 结 果 与 分 析

## 一、色谱图

按本实验摸索的色谱条件进样所获得的色谱图 (图 1)。

枯草杆菌、表皮葡萄球菌, 假单胞产碱杆菌、不动杆菌、金黄色葡萄球菌、八叠球菌等菌种。主要的 (即菌落多少而言) 为霉菌、表皮葡萄球菌、枯草杆菌等。而药液中污染的细菌有: 枯草杆菌、表皮葡萄球菌、产硷杆菌、霉菌、不动杆菌等菌种, 主要的是枯草杆菌、表皮葡萄球菌、产硷杆菌。

4. 对洁净室空气细菌培养, 采用双碟法 (9 cm) 采样时间一般是 20 分钟, 而 GM P (82 年) 规定为 30 分钟, 经笔者实验表明, 双碟法暴露 20 分钟和 30 分钟采样的菌粉, 经统计学处理、 $P > 0.05$ , 无显著差异。为节约采样时间, 一般可采用暴露 20 分钟进行采样即可。