|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 发起人：Erin Huber | | |  | | 日期：2020年4月22日 | |
| **LexaMed批准信息** | | | | | | |
| 研究负责人： | Erin Huber |  |  |  | 日期： | 2020年4月22日 |
| 印刷体姓名 |  | 签名 |  |  |  |
| 技术审查： | Anne Schuler |  |  |  | 日期： | 2020年4月22日 |
| 印刷体姓名 |  | 签名 |  |  |  |
| 质量保证人： | Brandi Heckman |  |  |  | 日期： | 2020年4月22日 |
| 印刷体姓名 |  | 签名 |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |

**1. 概述**

1.1. 本研究旨在确认Trophon® 2可用作Siemens Healthineers Konica Minolta 9VE4 4D EC探头的全自动高水平消毒系统。

1.2. 使用下列指导文件进行试验。该方案于2020年2月10日启动，2020年2月27日完成。

1.2.1. FDA指导文件：*医疗护理中的医疗器械再处理：确认方法和标记（2015年3月）*

1.2.2. AAMI TIR 12 - *医疗应用中可重复使用医疗器械的设计、试验和标签：医疗器械制造商指南。*

1.2.3. ANSI/AAMI/ISO 17664：2017 - *医疗护理产品的处理 - 医疗器械制造商提供的关于医疗器械处理的信息。*

1.3. 9VE4 4D EC探头接种*土壤分枝杆菌*微生物悬浮液。根据微生物标志物的残留水平评估自动消毒过程的作用。

1.4. 残留的*土壤分枝杆菌*微生物结果符合Trophon® 2系统在Siemens Healthineers 9VE4 4D EC探头上进行的消毒效果周期的可接受标准。

1.5. 根据本研究的结果，本报告中所述过程表示，Trophon®系统自带的Sonex-HL®消毒液可对Siemens Healthineers Konica Minolta 9VE4 4D EC探头进行有效的高水平消毒。

**2. 样本识别**

2.1. 9VE4 4D EC探头，部件号：11289564

**图1：9VE4 4D EC探头**

****

**图2：9VE4 4D EC探头试验区域**

****

2.1.1. 仅测试了图2所示探头的患者接触部分。本研究未评估手柄部分。

2.2. Sonex® HL消毒液（P/N：N05002），批号C80901（有效期至：2020年9月24日）用作Trophon® 2全自动高水平消毒系统的消毒剂装置。消毒液中含有浓度为34-35%的过氧化氢（H2O2）。

**3. 程序**

3.1. 初步清洁

3.1.1. 开始研究前，对每个供试品实施初步清洁工艺。

**注：**此清洁步骤仅供实验室使用。

3.1.2. 在每个组件上标记一个小标识，以确保整个方案活动的可追溯性。

3.1.3. 在洗涤剂溶液的制备和清洁过程中佩戴手套。

3.1.4. 在20-25℃条件下，通过每加仑（3785 mL）自来水稀释一（1）盎司（29.6 mL）ENZOL®酶洗涤剂，在容器中制备ENZOL®酶洗涤剂溶液。使用校准温度计验证温度。

3.1.5. 批量清洁试验组件。

3.1.6. 试验组件批量浸入配制溶液中五（5）分钟。

3.1.7. 五（5）分钟后，从洗涤剂溶液中取出试验组件，用无绒擦拭布擦拭。

3.1.8. 擦拭完所有试验组件后，将其分别在20-25°C的自来水下连续冲洗至少三十（30）秒。

3.1.9. 自来水冲洗后，立即在去离子水中进行二次冲洗，方法是将各组件浸入一加仑(3785 mL)的去离子水中一(1)分钟。

3.1.10. 用干净擦拭布擦干试验组件，静置完全干燥。

3.2. 经确认的微生物回收方法

3.2.1. 先前已根据LexaMed方案19-L114确认了该探头的回收方法。确认方法概述如下：

3.2.1.1. 将供试品置于无菌塑料袋中，并盖上500 mL无菌蛋白胨回收缓冲液。

3.2.1.2. 无菌袋置于约200 rpm的旋转振荡器上二十（20）分钟。

3.2.1.3. 基于之前的方法确认结果，使用此方法的回收率因子（RF）为1.04。将该RF应用于本研究的消毒效果结果。

3.3. 消毒剂中和验证

3.3.1. 试验前，按照第3.1节的规定清洁所有用于中和研究的供试品，然后用无菌异丙醇（IPA）浸湿的无绒擦拭布擦拭，使其干燥。

3.3.2. 在Trophon® 2系统中验证Sonex HL消毒溶液的充分中和作用，以对*土壤分枝杆菌*进行计数。中和测试程序在LAF层流罩内进行。

3.3.3. 三（3）个供试品重复样本将用于消毒剂中和程序。

3.3.4. 消毒

3.3.4.1. 对三（3）个供试品分别按以下方式消毒：

3.3.4.1.1. 器械在Trophon® 2系统中单独消毒，消毒使用制造商提供的Sonex® HL消毒液，其中过氧化氢浓度为制造商可接受的高水平浓度36-37%。

3.3.4.1.2. 操作技术人员加载和消毒后取出器械时需佩戴新手套。

3.3.4.1.3. 在装入Trophon®之前，使用无绒擦拭布擦拭以确保器械完全干燥。

3.3.4.1.4. 器械被装入系统的消毒室，确保它不会与室壁接触，并位于压花线上方。9VE4 4D EC探头正确的消毒装载方向见图3。

**图3：9VE4 4D EC Trophon® 2装载方向**

****

3.3.4.1.5. 将Trophon®化学指示剂（红色的一面朝上）放入室门底部的定位器中。

3.3.4.1.6. 关闭室门，按下启动按钮，开始7分钟的消毒。

3.3.4.1.7. 一轮消毒结束后，技术员对照化学指示剂纸盒上的厂家颜色评定图，对化学指示剂颜色变化进行验证。

3.3.4.1.8. 戴手套取出器械，用干净的、无绒擦拭布擦拭，然后立即放入提取器中。

3.3.4.1.9. 室门关闭，器械转移到LAF层流罩内测试。

3.3.5. 提取

3.3.5.1. 根据章节3.2所述的微生物回收方法提取消毒后的成分。

3.3.6. 中和效果

3.3.6.1. 在5%胎牛血清（FBS/LB）/卵磷脂肉汤（LB）中制备*土地分枝杆菌*有效浑浊悬浮液至约100 CFU/0.1 mL目标物。

3.3.6.2. 提取器在过滤时搅拌混合。

3.3.6.3. 提取液直接接种章节3.3.6.1所述的0.1 mL微生物悬浮液。通过0.45 μm过滤器分别过滤来自各提取物的流体。将过滤器用50 mL的卵磷脂肉汤（LB）分别冲洗三（3）次。然后按以下步骤对过滤器进行培养：

3.3.6.3.1. 将过滤器转移至预先浇有T80和卵磷脂琼脂培养皿的单个M7H10中，M7H10添加了Middlebrook OADC增菌肉汤（每9 mL M7H10琼脂约添加了1 mL Middlebrook OADC增菌肉汤）。同样制备一（1）个阴性对照品并对其进行培养皿接种。

3.3.6.4. 毒性对照板

3.3.6.4.1. 制备毒性对照板，验证消毒效果中和剂溶液对感染微生物菌群无负面影响。

3.3.6.4.2. 将三（3）个用于提取程序的无菌蛋白胨的等分试样转移至各个无菌容器中。按照章节3.3.6.3所述的提取液方法，使用卵磷脂肉汤中和剂冲洗液，对样本进行接种、过滤和培养。

3.3.6.5. 活性对照品

3.3.6.5.1. 将悬浮液接种至100 mL蛋白胨的等分试样中，过滤后，对章节3.3.6.1中制备的微生物悬浮液的接种物进行三次验证。如章节3.3.6.3.1所述对过滤器进行平板培养。

3.3.7. 将培养皿在34-38℃下培养7-14天，或直至明显观察到菌落。

3.3.8. 孵育后，对所有培养皿进行计数，记录结果，并将中和剂效果培养皿计数和毒性对照培养皿计数与从活性对照培养皿计数中获得的中和剂效果板计数和毒性控制培养皿计数进行比较来确定回收率（%）。

3.3.9. 使用以下公式计算中和剂效果和毒性回收系数百分比：

3.4. 消毒效果测试

3.4.1. 消毒效果试验前，按照第3.1节清洁所有用于消毒效果试验的供试品，再用无菌异丙醇（IPA）浸湿的无绒擦拭布擦拭，然后在LAF通风罩中干燥。

3.4.2. 进行三（3）个完整的消毒效果测定周期。

3.4.3. 每个周期包括以下步骤：器械表面微生物接种、消毒以及确定消毒效果。在LAF通风罩内进行试验。

3.4.4. 接种程序

3.4.4.1. 在5% FBS/LB溶液中制备土地分枝杆菌悬浮液，使目标微生物总数约为107 CFU/0.1 mL。

3.4.4.2. 在LAF通风罩内，在图4所示的位置上，用第3.4.4.1节中制备的共0.1 mL微生物悬浮液接种四（4）个供试品。按照LEXLP-054“液体和水溶性产品中细菌和真菌总数的标准培养皿计数”进行标准稀释和培养皿接种，对微生物悬浮液进行菌群验证。

3.4.4.3. 使接种表面干燥十（10）分钟。

3.4.4.4. 一（1）份供试品未接种，用作阴性对照品。

**图4：9VE4 4D EC探头接种部位**

****

3.4.5. 消毒程序

3.4.5.1. 按照以下步骤对三（3）个接种的供试品和一（1）个未接种的阴性对照品进行消毒：

3.4.5.1.1. 器械在Trophon® 2系统中单独消毒，消毒使用制造商提供的Sonex® HL消毒液，其中过氧化氢浓度为34-35%。

3.4.5.1.2. 操作技术人员加载和消毒后取出器械时需佩戴新手套。

3.4.5.1.3. 在装入Trophon®之前，使用无绒擦拭布擦拭以确保器械完全干燥。

3.4.5.1.4. 器械被装入系统的消毒室，确保它不会与室壁接触，并位于压花线上方。9VE4 4D EC探头正确的消毒装载方向见图3。

3.4.5.1.5. 将Trophon®化学指示剂（红色的一面朝上）放入室门底部的定位器中。

3.4.5.1.6. 关闭室门，按下启动按钮，开始7分钟的消毒。

3.4.5.1.7. 一轮消毒结束后，技术员对照化学指示剂纸盒上的厂家颜色评定图，对化学指示剂颜色变化进行验证。

3.4.5.1.8. 戴手套取出器械，用干净的、无绒擦拭布擦拭，然后立即放入提取器中。

3.4.5.1.9. 室门关闭，器械转移到LAF层流罩内测试。

3.4.5.2. 一（1）个接种供试品未消毒，作为阳性对照品。

3.4.6. 消毒效果测定

3.4.6.1. 将消毒的供试品和阴性对照品以及未消毒的阳性对照组件转移至提取器中，并按照章节3.2所述方法进行提取。

3.4.6.2. 将三（3）个供试品接种和消毒的重复样本和一（1）个未接种和消毒的阴性对照品进行提取，将全部提取物进行过滤、冲洗并在M7H10上直接进行培养皿接种，其中M7H10添加了T80和卵磷脂Middlebrook OADC增菌肉汤（每9 mL M7H10琼脂约1 mL Middlebrook OADC增菌肉汤）。

3.4.6.3. 根据需要，连续稀释阳性对照品的提取物以确定菌种。按照第3.4.6.2节所述，对来自指定稀释液的重复1 mL等分试样进行类似的过滤、冲洗和平板化。

3.4.6.4. 将培养皿在34-38℃下培养7-14天，或直至明显观察到菌落。

3.5. 细胞毒性试验

3.5.1. 对消毒后的9VE4 4D EC探头进行细胞毒性试验，以评估试验组件中是否有残留的Sonex® HL消毒液。根据LexaMed SOP LEXLP-047“细胞毒性洗脱试验-USP和ISO方法”进行测试。

**4. 结果**

4.1. 使用前和试验后，成功进行初步清洁。

4.2. 消毒剂中和验证

4.2.1. 进行消毒剂中和验证，确定消毒剂或中和剂溶液对微生物无负面影响。使用卵磷脂肉汤，从中和验证和毒性对照品中回收≥70%的土地分枝杆菌。结果列于表1。阴性对照品按预期执行。

**表1：消毒剂中和结果**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **消毒剂** | **中和介质** | **IV平均CFU** | **供试品平均CFU** | **供试品均值与IV均值** | **毒性平均CFU** | **毒性均值与IV均值** | **通过/未通过** |
| Sonex® HL | 卵磷脂肉汤 | 72 | 67 | 93% | 71 | 99% | 通过 |

4.3. 消毒效果测定

4.3.1. 方案规定的可接受标准为，Trophon® 2系统中Sonex- HL®的对数减少值≥ 6。结果汇总见表2-4。

**表2：消毒效果接种验证结果**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **消毒剂类型** | **周期#** | **稀释比** | **过滤量** | **CFU计数** | | **平均CFU** | **接种菌群** |
| **#1** | **#2** |
| Sonex-HL® | 1 | 10-6 | 1 mL | 18 | 37 | 28 | 2.8 x 10**6**CFU/0.1mL |
| 2&3 | 10-7 | 1 mL | 32 | 28 | 30 | 3.0 x 107CFU/0.1mL |

**表3：消毒效果阳性对照品（PC）结果**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **消毒剂类型** | **周期** | **被测提取液的稀释度** | **过滤量（mL）** | **实际回收CFU** | | **实际回收菌群** | **提取量** | **RF** | **人群\*** | **PC菌群对数** |
| Sonex-HL® | 1 | 10-2 | 1 mL | 25 | 30 | 2.8 x 103CFU | 500mL | 1.04 | 1.5x106CFU | 6.2 |
| 2 | 10-2 | 1 mL | 56 | 39 | 4.8x105CFU | 2.5 x 107 CFU | 7.4 |
| 3 | 10-2 | 1 mL | 40 | 43 | 4.2x104CFU | 2.2 x 107 CFU | 7.3 |

\*

**表4：Sonex-HL®消毒效果结果**

| **周期** | **组分ID** | **过滤量（mL）** | **回收的CFU** | **要应用的RF** | **校正群体CFU1** | **回收CFU的对数** | **阳性对照菌群的对数** | **对数减少值达到2** | **符合方案要求≥6对数减少值** |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 1 | 500 mL | 1 | 1.04 | 1 | 0 | 6.2 | 6.2 | 是 |
| 2 | 0 | < 1 | 0 | 6.2 | 是 |
| 3 | 1 | 1 | 0 | 6.2 | 是 |
| 5 (NC) | 0 |  | | 0 |  | | |
| 2 | 1 | 500 mL | 0 | 1.04 | < 1 | 0 | 7.4 | 7.4 | 是 |
| 2 | 0 | < 1 | 0 | 7.4 | 是 |
| 3 | 0 | < 1 | 0 | 7.4 | 是 |
| 5 (NC) | 0 |  | | 0 |  | | |
| 3 | 1 | 500 mL | 1 | 1.04 | 1 | 0 | 7.3 | 7.3 | 是 |
| 2 | 3 | 3 | 0.5 | 6.8 | 是 |
| 3 | 0 | < 1 | 0 | 7.3 | 是 |
| 5 (NC) | 0 |  | | 0 |  | | |

1

2对数减少值计算=阳性对照品组分的对数-校正菌群的对数

4.4. 细胞毒性试验结果

4.4.1. 经Sonex®HL消毒的9VE4 4D EC探头无细胞毒性。最终报告的副本见附件2。

**5. 偏差**

5.1. 方案19-L115实施期间未发生偏差。

**6. 结论**

6.1. 自动Trophon® 2的使用说明书规定了Sonex® HL溶液的消毒程序（如下文所述），消毒后的*分枝杆菌*对数减少值≥6，由此确认Sonex® HL溶液是Siemens Healthineers Konica Minolta 9VE4 4D EC探头的高水平消毒剂（HLD）。

6.1.1. 接通Trophon® 2系统的电源。

6.1.2. 戴手套用无绒擦拭布擦拭，确保探头在装载前完全干燥。

6.1.3. 将探头装入系统消毒室，放置在压花线上方。

6.1.4. 将Trophon®化学指示剂（红色的一面朝上）放入室门底部的定位器中。

6.1.5. 关闭室门，按下“启动”按钮开始消毒。

6.1.6. 换戴新手套，取下探头，用干净的、无绒擦拭布擦拭，放入干净的探头盖。

6.1.7. 取出化学指示剂，检查颜色变化。

**7. 参考文件**

7.1. AAMI TIR 12 - *医疗应用中可重复使用医疗器械的设计、试验和标签：制造商指南 - 第三版。*

7.2. 行业和食品药品监督管理局人员指南：*医疗护理中的医疗器械再处理：确认方法和标签（2015年3月）。*

7.3. ANSI/AAMI/ISO 17664：2017 - *医疗护理产品的处理 - 医疗器械制造商提供的关于医疗器械处理的信息。*

7.4. LexaMed SOP LEXLP-054“液体和水溶性产品中细菌和真菌总数的标准培养皿计数”。

7.5. SOP LEXLP-047，“MEM洗脱细胞毒性试验-USP和ISO方法”。

7.6. LexaMed研究方案19-L114，“Siemens Healthineers Konica Minolta 9VE4 4D EC探头清洁和高水平消毒剂的回收提取方法确认。”

**8. 记录保存**

8.1. 与本研究有关的所有原始数据以及最终报告将由LexaMed存档至少十五（15）年。

**9. 附件**

9.1. 附件1：人员身份

9.2. 附件2：细胞毒性最终报告

9.3. 附件3：研究方案19-L115的执行副本

**附件1**

**人员身份**

**附件1**

**人员信息/培训清单**

本方案工作表上的每个数据记录人员均须填写本页上对应的一个条目。签名表示他们已经阅读了方案，在执行方案前已经理解了方案中的目标、可接受标准和程序要求。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 名称 | 职位 | 签名 | 姓名首字母 | 日期 |
|  | | | | |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 审查人： |  |  | 日期： |  |



**附件2**

**细胞毒性最终报告**

供试品：研究方案19-L115：使用Trophon® 2系统确认Siemens Healthineers Konica Minolta 9VE4 4D EC探头的细胞毒性

部件号11289564 批号 不适用 批号 不适用

**ISO 10993-5细胞毒性试验 - 洗脱方法最终报告**

供试品接收日期：2020年2月14日

试验开始日期: 2020年2月18日

试验结束日期：2020年2月21日

SOP号（当前版本）LEXLP-047

**材料：**

供试品： 最低必需培养基中添加5%血清、1%抗生素和L-谷氨酰胺（MEM）并在37°C下提取24小时，由此得到35.06 mL提取物并用其包被105.18 cm供试品。

空白对照品： 取一份不含供试品的一等分MEM，置于供试品的相同条件下。

阴性对照品： 使用与制备供试品相同的条件，在MEM中提取高密度聚乙烯（HDPE）。

阳性对照品： 使用与所述供试品相同的条件在MEM中提取当前的LexaMed阳性对照品乳胶。

提取物条件：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **供试品：** | 红色，澄清 | **阴性对照品：** | 红色，澄清 |
| **空白对照品：** | 红色，澄清 | **阳性对照品：** | 粉色，浑浊 |

**程序：**

将5 mL体积试验提取物、试剂对照品、阴性对照品和阳性对照品一式三份添加至单独的烧瓶中，烧瓶中装有成片的单层L929小鼠成纤维细胞。将烧瓶置于5% CO2在37℃下培养48小时。孵育后，用显微镜观察培养物。

结果如下所示，适用于供试品。

**评估标准：**

单层融合度记录为（+）或（-）。观察试验提取物的颜色，并将其与阴性对照品进行比较，以评估试验提取物中是否发生了pH值变化。每个烧瓶的裂解百分数和细胞特征评估如下：

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **等级** | **反应性** | **观察结果** |
| 0 | 无 | 离散的胞质内颗粒、无细胞裂解、细胞生长无减少。 |
| 1 | 轻微 | 可观察到不超过20%的细胞呈圆形，松散附着且没有胞质内颗粒，或表现出形态变化；偶尔存在裂解细胞；只有轻微的生长抑制。 |
| 2 | 轻度 | 可观察到圆形细胞不超过50％，没有胞浆内颗粒，没有广泛的细胞裂解；生长抑制不超过50％。 |
| 3 | 中度 | 含圆形细胞的细胞层或发生溶解的细胞层不超过70%；细胞层未完全损坏，但是观察到细胞生长抑制超过50%。 |
| 4 | 重度 | 几乎完全破坏细胞层。 |

**结果：**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **烧瓶** | **单层融合度** | **舍入百分比** | **无胞浆内颗粒的细胞百分比** | **裂解细胞百分比** | **等级** | **反应性** |
| 供试品（1） | + | <5 | <5 | <5 | 0 | 无 |
| 供试品（2） | + | <5 | <5 | <5 | 0 | 无 |
| 供试品（3） | + | <5 | <5 | <5 | 0 | 无 |

pH 观测：中性线

空白对照品、阴性对照品和阳性对照品的性能均符合预期。

**结论：** 在本试验条件下，供试品的MEM提取物未显示细胞裂解或毒性迹象。因反应性等级£ 2（轻度），所以符合参考试验程序和ISO 10993-5指南的试验要求。

**记录保存：** 与本研究有关的所有原始数据将由LexaMed存档至少15年。

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 批准人 |  | 技术人员： | EO | 日期 |  |

**附件3**

**研究方案19-L115的执行副本**

| 发起人：Erin Huber | |  | | | 日期：2020年2月3日 | | | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **LexaMed批准信息** | | | | | | | | |
| 研究负责人： | Erin Huber |  |  | |  | 日期： |  | |
| 印刷体姓名 |  | 签名 | |  |  |  | |
| 技术审查： | Anne Schuler |  |  | |  | 日期： |  | |
| 印刷体姓名 |  | 签名 | |  |  |  | |
| 质量保证人： | Michael Suqo |  |  | |  | 日期： | 2020年2月3日 | |
| 印刷体姓名 |  | 签名 | |  |  |  | |
| **Siemens Healthineers批准信息** | | | | | | | | |
|  |  |  | | 签名 |  | 日期： | |  |
| 印刷体姓名 |  | |  |  |  | |  |
|  |  | | 签名 |  | 日期： | |  |
| 印刷体姓名 |  | |  |  |  | |  |

**1. 目的**

1.1. 本研究旨在确认Trophon® 2可用作Siemens Healthineers Konica Minolta 9VE4 4D EC探头的全自动高水平消毒系统。测试遵循以下指导文件：

1.1.1. FDA指导文件：*医疗护理中的医疗器械再处理：确认方法和标记（2015年3月）*

1.1.2. AAMI TIR 12 - *医疗应用中可重复使用医疗器械的设计、试验和标签：医疗器械制造商指南。*

1.1.3. ANSI/AAMI/ISO 17664：2017 - *医疗护理产品的处理 - 医疗器械制造商提供的关于医疗器械处理的信息。*

1.2. 9VE4 4D EC探头接种*土壤分枝杆菌*微生物悬浮液。根据微生物标志物的残留水平评估自动消毒过程的效果。

**2. 范围**

2.1. 本研究将证实Trophon® 2系统可对Siemens Healthineers Konica Minolta 9VE4 4D EC探头的患者接触面进行自动高水平消毒。

**3. 背景**

3.1. 9VE4 4D EC探头是由Konica Minolta生产的腔内探针，与Siemens Healthineers ACUSON Sequoia超声系统兼容。

3.2. Nanosonics目前生产的Trophon®系统有两种。两种都是自动化的封闭系统，可以借助过氧化氢（Sonex-HL®）雾化超声波在7分钟内实现高水平消毒。

3.2.1. 两种Trophon®系统之前都由LexaMed在Siemens Healthineers半临界探头上进行了测试，测试结果类似，因此本次确认只测试了一种系统。

| 发起人：Erin Huber | |  |  | |  | 日期：2020年2月3日 | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **LexaMed批准信息** | | | | | | | |
| 研究负责人： | Erin Huber |  |  | |  | 日期： |  |
| 印刷体姓名 |  | 签名 | |  |  |  |
| 技术审查： | Anne Schuler |  |  | |  | 日期： |  |
|  | 印刷体姓名 |  | 签名 | |  |  |  |
| 质量保证人： | Michael Suqg |  |  | |  | 日期： | 2020年2月3日 |
| 印刷体姓名 |  | 签名 | |  |  |  |
| **Siemens Healthineers批准信息** | | | | | | | |
|  | Rumwell Reginald |  | | 由Rumwell Reginald进行数字签名  DN：序列号=Z002VKCB，  名=Reginald，姓=Rumwell，  o=Siemens，cn=Rumwell Reginald  日期：2020.02.06 13:27:08-08'00' |  |  |  |
|  | 印刷体姓名 |  | | 签名 |  | 日期： |  |
|  |  |  | |  |  |  |  |
|  | 印刷体姓名 |  | | 签名 |  | 日期： |  |
|  |  |  | |  |  |  |  |

**1. 目的**

1.1. 本研究旨在确认Trophon® 2可用作Siemens Healthineers Konica Minolta 9VE4 4D EC探头的全自动高水平消毒系统。测试遵循以下指导文件：

1.1.1. FDA指导文件：*医疗护理中的医疗器械再处理：确认方法和标记（2015年3月）*

1.1.2. AAMI TIR 12 - *医疗应用中可重复使用医疗器械的设计、试验和标签：医疗器械制造商指南。*

1.1.3. ANSI/AAMI/ISO 17664:2017 - *医疗护理产品的处理 - 医疗器械制造商提供的关于医疗器械处理的信息。*

1.2. 9VE4 4D EC探头接种土壤分枝杆菌微生物悬浮液。根据微生物标志物的残留水平评估自动消毒过程的效果。

**2. 范围**

2.1. 本研究将证实Trophon® 2系统可对Siemens Healthineers Konica Minolta 9VE4 4D EC探头的患者接触面进行自动高水平消毒。

**3. 背景**

3.1. 9VE4 4D EC探头是由Konica Minolta生产的腔内探头，与Siemens Healthineers ACUSON Sequoia超声系统兼容。

3.2. Nanosonics目前生产的Trophon®系统有两种。两种都是自动化的封闭系统，可以借助过氧化氢（Sonex-HL®）雾化超声波在7分钟内实现高水平消毒。

3.2.1. 两种Trophon®系统之前都由LexaMed在Siemens Healthineers半临界探头上进行了测试，测试结果类似，因此本次确认只测试了一种系统。

3.2.2. Siemens Healthineers选择进行自动高水平消毒的代表性系统是Trophon® 2系统。

3.2.3. 本次确认测试使用的Sonex-HL®消毒液生产于2018年9月，灌装时的过氧化氢浓度为36%。根据制造商的说法，过氧化氢的浓度在两（2）年的保质期内预计会降低1-2%，因此，在本研究中使用的Sonex-HL®的浓度在测试时很可能降至34-35%。

3.3. 本研究旨在评估供试品表面的化学消毒工艺的有效性，研究选用的表面部位代表了在常规使用期间最有可能与患者接触的9VE4区域。

3.4. 将根据以下特征对化学消毒工艺的效果进行评估：

3.4.1. 验证是否能够有效中和消毒剂残留物和回收受影响的生物而不对试验生物的生存能力产生不利影响。

3.4.2. 评估前用土壤分枝杆菌接种供试品，确定消毒后的微生物log10减少值。

3.5. 根据AAMI TIR 12，HLD的确认需要证明接种至试验器械上的分枝杆菌微生物减少6 log。根据章节5.2.2中AAMI TIR 12所述，表2所列*微生物*对*化学杀菌剂*和*消毒剂*的耐药性从高到低排序，分枝杆菌的耐药性超过病毒、真菌和营养生物，因此，因此分枝杆菌的测试结果适用于表中列出的所有耐药性较低的微生物。该表源自美国疾病控制与预防中心（CDC），并得到FDA和国际监管机构的认可。附件9提供了本表的副本。

3.6. *土壤分枝杆菌*被视为一种临床相关生物体，因为它是一种生长缓慢的分枝杆菌种，会导致严重的皮肤感染，且对与感染相关的抗生素有“相对”耐药性。它的耐药性比结核分枝杆菌稍强，被视为确定结核菌活性的合适替代物，通常用于实验室检测。

3.7. 在开始本研究之前，Trophon® 2系统制造商Nanosonics对负责系统操作的全体技术人员进行了认证。

3.8. 由本方案得到的测试结果将确认使用Siemens Healthineers 9VE4 4D EC探头消毒指南中提供的Trophon® 2系统的高水平消毒程序。

**4. 职责**

4.1. LexaMed Ltd.

4.1.1. 编制并批准本研究方案。

4.1.2. 提供必要的人员和材料进行研究方案协调和执行。

4.1.3. 从制造商（Nanosonics）处获得Trophon® 2系统和消毒剂。

4.1.4. 编制、审查并批准最终报告。

4.2. Siemens Healthineers

4.2.1. 审查和批准研究方案。

4.2.2. 提供用于确认研究的探头。

4.2.3. 审查最终报告。

**5. 材料和设备**

5.1. 3份VWR® Spec-Wipe®湿巾（或同等无绒擦拭布）

5.2. ENZOL®酶洗涤剂，高级灭菌产品

5.3. 去离子水（DI）

5.4. 无菌去离子水（SDI）

5.5. 超声发生器

5.6. 胎牛血清白蛋白（FBS）

5.7. *土壤分枝杆菌*悬浮液（ATCC® 15755）

5.8. Middlebrook OADC增菌肉汤

5.9. 含Tween 80和卵磷脂的Middlebrook 7H10琼脂（M7H10琼脂）

5.10. 蛋白胨回收缓冲液

5.11. 卵磷脂肉汤

5.12. 层流空气（LAF）罩

5.13. 标准实验室设备和用品

5.14. 过滤器，孔径0.45µm，Nalgene或等效设备

**6. 样本识别**

6.1. 9VE4 4D EC探头，部件号：11289564

**图1：9VE4 4D EC探头**

****

**图2：9VE4 4D EC探头试验区域**

****

6.1.1. 将仅测试图2所示探头的患者接触部分。本研究将不评估手柄部分。

6.2. Sonex® HL消毒液（P/N：N05002）含有浓度为34-35%的过氧化氢（H2O2），将用在Trophon® 2内部作为本研究的自动高水平消毒系统。研究中使用的批号将在最终报告中列出。

**7. 程序**

7.1. 初步清洁

7.1.1. 在开始研究之前，将对每个测试样品进行初步清洁。

**注：**此清洁程序仅供实验室使用。

7.1.2. 初步清洁活动将记录在附件5“初步清洁工作表”中。

7.1.3. 将在每个组件上标记一个小标识，确保整个方案活动的可追溯性。

7.1.4. 在洗涤剂溶液的制备和清洁过程中需佩戴手套。

7.1.5. 将在20-25°C的温度下，用每加仑（3785 mL）自来水稀释一（1）盎司（29.6 mL）ENZOL®酶洗涤剂，在容器中制备ENZOL®酶洗涤剂溶液。使用校准温度计验证温度。

7.1.6. 批量清洁测试组件。

7.1.7. 将测试组件批量浸入制备好的溶液中五（5）分钟。

7.1.8. 五（5）分钟后，从洗涤剂溶液中取出测试组件，用无绒擦拭布擦拭。

7.1.9. 擦拭完所有试验组件后将其分别在20-25°C的自来水下连续冲洗至少三十（30）秒。

7.1.10. 自来水冲洗后，立即在去离子水中进行二次冲洗，方法是将各组件浸入大量去离子水中一（1）分钟。记录实际冲水量。

7.1.11. 用干净擦拭布擦干测试组件，放置到完全干燥。

7.2. 经确认的微生物回收方法

7.2.1. 先前已根据LexaMed方案19-L114确认了该探头的回收方法。确认方法概述如下：

7.2.1.1. 将供试品置于无菌塑料袋中，并包被500 mL无菌蛋白胨回收缓冲液。

7.2.1.2. 将无菌袋置于约200 rpm的旋转振荡器上二十（20）分钟。

7.2.1.3. 基于之前的方法确认结果，使用此方法的回收率因子（RF）为1.04。该RF将应用于本研究的消毒效果结果。

7.3. 消毒剂中和验证

7.3.1. 试验前，按照第7.1节的规定清洁所有用于中和研究的供试品，然后用无菌异丙醇（IPA）浸湿的无绒擦拭布擦拭，使其干燥。

7.3.2. 在Trophon® 2系统中验证Sonex HL消毒溶液的充分中和作用，以对*土壤分枝杆菌*进行计数。消毒中和验证程序应记录在附件7“消毒剂中和验证工作表”中。将在LAF通风罩内进行中和试验程序。

7.3.3. 三（3）份供试品重复样本将用于消毒剂中和程序。

7.3.4. 消毒

7.3.4.1. 三（3）个供试品分别按以下方式消毒：

7.3.4.1.1. 器械在Trophon® 2系统中单独消毒，消毒使用制造商提供的Sonex® HL消毒液，其中过氧化氢浓度为制造商可接受的高水平浓度36-37%。

7.3.4.1.2. 操作技术人员加载和消毒后取出器械时需佩戴新手套。

7.3.4.1.3. 在装入Trophon®之前，使用无绒擦拭布擦拭以确保器械完全干燥。

7.3.4.1.4. 器械被装入系统的消毒室，确保它不会与室壁接触，并位于压花线上方。9VE4 4D EC探头正确的消毒装载方向见图3。

**图3：9VE4 4D EC Trophon® 2装载方向**

****

7.3.4.1.5. 将Trophon®化学指示剂（红色的一面朝上）放入室门底部的定位器中。

7.3.4.1.6. 关闭室门，按下启动按钮，开始7分钟的消毒。

7.3.4.1.7. 一轮消毒结束后，技术员对照化学指示剂纸盒上的厂家颜色评定图，对化学指示剂颜色变化进行验证。

7.3.4.1.8. 戴手套取出器械，用干净的、无绒擦拭布擦拭，然后立即放入提取器中。

7.3.4.1.9. 室门关闭，器械转移到LAF层流罩内测试。

7.3.5. 提取

7.3.5.1. 如章节7.2所述，使用微生物回收方法提取消毒后的成分。

7.3.6. 中和效果

7.3.6.1. 在5%胎牛血清（FBS）/卵磷脂肉汤（LB）中制备土壤分枝杆菌的工作悬浮液，目标浓度约为100 CFU/0.1 mL。

7.3.6.2. 提取容器在过滤时搅拌混合。

7.3.6.3. 提取液直接接种至章节7.3.6.1中配制的0.1 mL微生物悬浮液。在0.45μm过滤器中对每次提取的液体分别过滤。用适当体积的Letheen肉汤（LB）分别冲洗过滤器三（3）次。过滤器将按如下方式进行平板化：

7.3.6.3.1. 将过滤器转移至预先浇有T80和卵磷脂琼脂培养皿的单个M7H10中，M7H10添加了Middlebrook OADC增菌肉汤（每9 mL M7H10琼脂约添加了1 mL Middlebrook OADC增菌肉汤）。类似地制备并铺板一（1）个阴性对照品。

7.3.6.4. 毒性对照板

7.3.6.4.1. 制备毒性对照板，验证消毒效果中和剂溶液对感染微生物菌群无负面影响。

7.3.6.4.2. 将三（3）个用于提取程序的无菌蛋白胨的等分试样转移至各个无菌容器中。按照第7.3.6.3节中所述的提取液方法，使用卵磷脂肉汤中和剂冲洗液，同样对样本进行接种、过滤和培养皿接种。

7.3.6.5. 活性对照品

7.3.6.5.1. 将悬浮液接种至100 mL蛋白胨的等分试样中，过滤后，

对章节7.3.6.1中制备的微生物悬浮液的接种物进行三次验证。按照章节7.3.6.3.1所述，对过滤器进行平板培养。

7.3.7. 平板将在34-38°C下培养7-14天或直至菌落易于显现。

7.3.8. 培养后，对所有平板进行计数，记录计数结果，将中和剂效果平板计数和毒性对照板计数与从活性对照板计数中获得的中和剂效果平板计数和毒性对照板计数进行比较来确定回收率（%）。

7.3.9. 以下方程式用于计算中和剂效果和毒性回收率百分比：

7.3.10. 与接种物验证的平均值相比，从中和验证中回收的试验生物平均回收率应≥70％。与接种物验证的平均值相比，从毒性对照品中回收的生物平均回收率应≥70%。若回收率不符合≥70%的要求，可对中和系统进行修改，直至接种菌群的回收率≥70%。

7.4. 消毒效果测试

7.4.1. 消毒效果测试前，按照章节7.1清洁所有用于消毒效果测试的供试品，再用无菌异丙醇（IPA）浸湿的无绒擦拭布擦拭，然后在LAP通风罩中干燥。

7.4.2. 消毒效果测试程序将记录在附件8“消毒效果测试”中。

7.4.3. 将进行三（3）轮完整的消毒效果测定。每个周期包括以下步骤：对器械表面进行微生物接种、消毒以及确定消毒效果。在LAF通风罩内进行试验。

7.4.4. 接种程序

7.4.4.1. 在5% FBS/LB溶液中制备*土壤分枝杆菌*悬浮液，由此培养得到约107 CFU/0.1mL的目标微生物菌群。按照LEXLP-054“液体和水溶性产品中细菌和真菌总数的标准培养皿计数”进行标准稀释和铺板，由此对微生物悬浮液进行菌群验证。菌群验证结果将记录在附件6中。

7.4.4.2. 按照章节7.4.4.1制备的微生物悬浮液共0.1 mL，分别接种四（4）种组件，接种在被确定为最难消毒的位置。接种位置将记录在附件8中。

7.4.4.3. 接种表面干燥时间不超过三十（30）分钟。

7.4.4.4. 一（1）份供试品未接种，用作阴性对照品。

7.4.5. 消毒程序

7.4.5.1. 按照以下步骤对三（3）个接种的供试品和一（1）个未接种的阴性对照供试品进行消毒：

7.4.5.1.1. 器械在Trophon® 2系统中单独消毒，消毒使用制造商提供的Sonex® HL消毒液，其中过氧化氢浓度为34-35%。

7.4.5.1.2. 操作技术人员加载和消毒后取出器械时需佩戴新手套。

7.4.5.1.3. 在装入Trophon®之前，使用无绒擦拭布擦拭以确保器械完全干燥。

7.4.5.1.4. 器械被装入系统的消毒室，确保它不会与室壁接触，并位于压花线上方。9VE4 4D EC探头正确的消毒装载方向见图3。

7.4.5.1.5. 将Trophon®化学指示剂（红色的一面朝上）放入室门底部的定位器中。

7.4.5.1.6. 关闭室门，按下启动按钮，开始7分钟的消毒。

7.4.5.1.7. 一轮消毒结束后，技术员对照化学指示剂纸盒上的厂家颜色评定图，对化学指示剂颜色变化进行验证。

7.4.5.1.8. 戴手套取出器械，用干净的、无绒擦拭布擦拭，然后立即放入提取器中。

7.4.5.1.9. 室门关闭，器械转移到LAF层流罩内测试。

7.4.5.2. 一（1）份接种的供试品未经消毒，作为阳性对照品。

7.4.6. 消毒效果测定

7.4.6.1. 将消毒的供试品和阴性对照品以及未消毒的阳性对照组件转移至提取容器中，并使用第7.2节中测定的方法进行提取。

7.4.6.2. 三（3）份接种并消毒的供试品和阴性对照品的全部提取物将被过滤、冲洗并直接铺板。

7.4.6.3. 根据需要，连续稀释阳性对照品的提取物以确定菌种。将指定稀释液的适量等分试样一式两份进行过滤、冲洗和铺板。

7.4.6.4. 将过滤器铺板至预先浇有T80和卵磷脂琼脂培养皿的M7H10中，M7H10添加了Middlebrook OADC增菌肉汤（每9 mL M7H10琼脂约添加了1 mL Middlebrook OADC增菌肉汤）。平板将在34-38°C下培养7-14天或直至菌落易于显现。培养后，将对平板进行计数，记录计数，并在附件8上计算对数减少。

7.4.6.5. 回收后和后续使用前，应按照章节7.1的规定清洁供试品。

7.5. 细胞毒性试验

7.5.1. 按照章节7.4.5所述对一（1）台器械进行消毒，然后根据LexaMed SOP LEXLP-047“细胞毒性洗脱试验—USP和ISO方法”进行细胞毒性试验，评估残留消毒剂是否有毒性。消毒程序将记录在附件10“细胞毒性测试消毒程序”中。

7.5.2. 试验报告副本指示将包含在方案最终报告中。

**8. 可接受标准**

8.1. 与平均接种验证结果相比，第7.3节中开发的消毒剂中和程序方法必须从供试品中获得≥70%的微生物回收率，以确保存在残留消毒剂的情况下可回收感染微生物。

8.2. 消毒效果测试

8.2.1. 根据AAMI TIR12，消毒剂被评估为HLD，至少需要土壤分枝杆菌减少6个log10。接种的阳性质控品必须能为土壤分枝杆菌带来≥106总CFU的活菌回收可疑性种群，以证明消毒过程能够至少减少6 log10的能力。

8.2.2. 与阳性对照品相比，每个消毒过程必须至少减少6个log10的*土壤分枝杆菌*，以使消毒剂符合高级消毒剂的要求。

8.2.3. 阴性对照品的*土壤分枝杆菌*必须＜3 CFU。生长恢复情况将通过菌落形态和抗酸染色法来鉴定，以确定*土壤分枝杆菌*是否生长迹象。

8.2.4. 用于细胞毒性试验的消毒供试品必须无细胞毒性。

**9. 文件记录**

9.1. 执行与本方案相关工作的所有人员将在附件1“人员识别/培训清单”中进行识别。

9.2. 将在附件2“偏差报告”中记录方案程序或可接受标准的偏差。

9.3. 在附件3“通用数据表”中记录补充数据。

9.4. 将在附件4“设备和材料工作表”中记录所用设备和材料信息。

9.5. 将在附件5“初步清洁工作表”中记录初步清洁程序。

9.6. 在附件6“工作悬浮液制备和接种物验证工作表”中记录工作悬浮液制备和接种物验证程序。

9.7. 将在附件7“消毒剂中和验证工作表”中记录消毒剂中和验证程序。

9.8. 在附件8“消毒效果测试”中记录消毒效果测定的测试程序和结果。

9.9. 在附件10“细胞毒性试验的消毒程序”中记录细胞毒性试验的消毒程序。

**10. 参考文件**

10.1. AAMI TIR 12 - *医疗应用中可重复使用医疗器械的设计、测试和标签：制造商指南 - 第三版。*

10.2. 行业和食品药品监督管理局人员指南：*医疗护理中的医疗器械再处理：确认方法和标签（2015年3月）。*

10.3. ANSI/AAMI/ISO 17664:2017 - *医疗护理产品的处理 - 医疗器械制造商提供的关于医疗器械处理的信息。*

10.4. LexaMed SOP LEXLP-054“液体和水溶性产品中细菌和真菌总数的标准培养皿计数”。

10.5. SOP LEXLP-047，“MEM洗脱细胞毒性试验-USP和ISO方法”。

10.6. LexaMed研究方案19-L114，“Siemens Healthineers Konica Minolta 9VE4 4D EC探头清洁和高水平消毒剂的回收提取方法确认。”

**11. 附件**

11.1. 附件1：人员信息/培训清单

11.2. 附件2：偏差报告

11.3. 附件：通用数据表

11.4. 附件4：设备和材料工作表

11.5. 附件5：初步清洁工作表

11.6. 附件6：工作悬浮液制备和接种物验证工作表

11.7. 附件7：消毒剂中和验证工作表

11.8. 附件8：消毒效果测试

11.9. 附件9：AAMITIR 12表2

11.10. 附件10：细胞毒性试验的消毒程序

**附件1**

**人员信息/培训清单**

本方案工作表上的每个数据记录人员均须填写本页上对应的一个条目。签名表示他们已经阅读了方案，在执行方案前已经理解了方案中的目标、可接受标准和程序要求。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 名称 | 职位 | 签名 | 姓名首字母 | 日期 |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 审查人： |  |  | 日期： |  |

**附件2**

**偏差报告**

**#\_\_\_\_\_\_\_**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 偏差来源： | （ ）程序（ ）可接受标准 | |
| 描述偏差和任何即时调查 | | |
|  | | |
|  | | |
|  | | |
|  | | |
| 编制人： | | 日期： |
| 描述建议的措施、研究和理由 | | |
|  | | |
|  | | |
|  | | |
|  | | |
| 编制人： | | 日期： |
| 研究负责人/部门经理和客户批准 | | |
| 批准人： | | 日期： |
| 客户批准： | | 日期： |
| 描述偏差的消除： | | |
|  | | |
|  | | |
|  | | |
| 编制人： | | 日期： |
| 研究负责人/部门对最终处置/决议的批准。经理和QA | | |
| 批准人： | | 日期： |
| QA： | | 日期： |

**附件3**

**通用数据表**

|  |  |
| --- | --- |
| **注释** |  |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 审查人： |  |  | 日期： |  |

**附件4**

**设备和材料工作表**

以下设备和材料用于\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_（日期）的试验。

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 设备/材料：   |  |  |  | | --- | --- | --- | | **条件项** | **校准ID** | **校准到期日** | | 温度计 |  |  | | 计时器 |  |  | | 移液管 |  |  | |  |  | |  |  | | 34-38°C保温箱 |  |  | | 旋转振荡器 |  |  | | |  |  |  | | --- | --- | --- | | **条件项** | **批号/部件号** | **失效日期** | | 去离子水（DIW） |  |  | | VWR® Spec-Wipe® 3罐湿巾 |  | 不适用 | | ENZOL®酶洗涤剂 |  |  | | IPA |  |  | | *土壤分枝杆菌*储备悬浮液 |  | 不适用 | | Sonex HL消毒液 |  |  | | Trophon®化学指示剂 |  |  | | 胎牛血清 |  |  | | 卵磷脂肉汤 |  |  | | M7H10 w/T-80和卵磷脂培养皿（浇注日期：\_\_\_\_\_\_\_）\* |  |  | | Middlebrook OADC增菌肉汤 |  |  | | S-DI |  |  | | Nalgene过滤器 |  |  | | 蛋白胨 |  |  | |

\* 每9 mL M7H10琼脂用约1 mL Middlebrook OADC增菌肉汤制备M7H10培养皿。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 执行人： |  |  | 日期： |  |
| 审查人： |  |  | 日期： |  |

**附件5**

**初步清洁工作表**

日期：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

试验组件ID：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

按照以下步骤清洁试验组件：

**洗涤剂的制备：**

将\_\_\_\_\_\_mL ENZOL®酶洗涤剂加入\_\_\_\_\_加仑（\_\_\_\_\_L）自来水中（20-25°C）。

温度： \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_°C

**清洁程序：**

试验组件批量浸入配制溶液中五（5）分钟。

五（5）分钟后，从洗涤剂中取出测试组件并用无绒抹布擦拭。

将组件在20-25°C（温度：\_\_\_\_\_°C）自来水中冲洗至少三十（30）秒。

各组件批量浸入\_\_\_\_\_ mL去离子水中一（1）分钟。

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **五（5）分钟洗涤剂浸泡** | | **三十（30）秒自来水冲洗** | | **一（1）分钟去离子水冲洗** | |
| 开始 | 结束 | 开始时间： | | 开始 | 结束 |
|  |  | 器械  ID | ✓指示任务已完成 |  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
| 结束： | |

用干净、干燥擦拭布擦拭试验组件，然后使其完全干燥。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 执行人： |  |  | 日期： |  |
| 审查人： |  |  | 日期： |  |

**附件6**

**工作悬浮液制备和接种物验证工作表**

日期：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

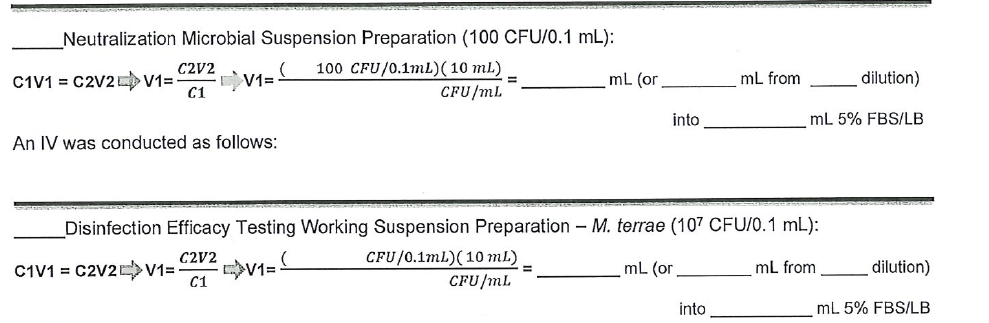
工作悬浮液和IV制备如下。

5% FBS溶液的制备：

通过将\_\_\_\_\_mL的FBS稀释到\_\_\_\_\_mL的LB中，制备5% FBS溶液

微生物悬浮液制备计算（勾选所有适用项）：

其中：C1=原液菌群，02=所需菌群，V2=所需菌群量，V1=所需原液量



\_\_\_\_\_消毒效果试验工作悬浮液制剂 - *土壤分枝杆菌*（107 CFU/0.1 mL）：

\_\_\_\_中和微生物悬浮液制剂（100 CFU/0.1 mL）：

（或\_\_\_\_稀释后得到\_\_\_\_\_mL）

加入\_\_\_\_mL 5% FBS/LB

接种物验证如下：

（或\_\_\_\_稀释后得到\_\_\_\_\_mL）

加入\_\_\_\_mL 5% FBS/LB

接种物验证如下：

接种开始时间/日期/技术人员：\_\_\_\_\_\_

**结果：**

\_\_\_\_\_中和微生物悬浮液制剂IV

接种结束时间/日期/技术人员：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **CFU计数** | | | **平均CFU** | **种群** |
|  |  |  |  | CFU/0.1 mL |

\_\_\_\_消毒效果试验工作悬浮液制剂IV-土壤分枝杆菌：

接种结束时间/日期/技术人员：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **稀释比** | **过滤量** | **CFU计数** | | | **平均CFU** | **种群** |
| 10- |  |  |  |  |  | CFU/0.1 mL |
| 10- |  |  |  |  |  |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 执行人： |  |  | 日期： |  |
| 审查人： |  |  | 日期： |  |

**附件7**

**消毒剂中和验证工作表**

日期：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

消毒剂标识：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

测试前，将组件置于LAF层流罩中，用IPA擦拭/喷涂，静置干燥。技术人员/日期：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**接种物制备：**

在5%FBS/LB中制备约102 CFU/0.1 mL微生物悬浮液（参见附件6）。

**消毒：**

三（3）台器械（ID：\_\_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_\_\_\_）分别按如下步骤消毒：

使用干净的无绒擦拭布擦干器械。

将器械和化学指示剂装入消毒室。

室门关闭，按下“启动”按钮。

消毒结束后，检查化学指示剂，取出器械。

使用干净的无绒布擦拭消毒后的器械，立即放入提取容器，然后转移至LAF罩测试。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 器械ID | Trophon®周期编号 | 显示Trophon®“消毒完成”（是/否） | 化学指示剂颜色变（通过/不通过） | 技术人员/日期： |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |

**回收率：**

容器：**无菌塑料袋**蛋白胨体积：**500 mL**提取物参数：**200 rpm振荡20分钟**

开始时间：\_\_\_\_\_\_\_\_停止时间：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**供试品提取物试验程序：**

供试品提取物接种配制好的0.1 mL微生物悬浮液并进行过滤。用\_\_\_\_\_\_mL的Letheen肉汤分别冲洗过滤器三(3)次。

每份悬浮液毒性对照品过滤三次。将用于提取过程的三（3）等份\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_mL的蛋白胨

转移到独立的无菌容器中。按照上述方法接种并测试样本。

通过将0.1 mL接种体积接种到100 mL等份蛋白胨中，然后过滤，一式三份进行IV。

同样，过滤由\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_mL蛋白胨组成的一（1）份阴性对照品。取出过滤器，T80和卵磷脂铺设至Middlebrook 7H10（M7H10）上进行计数。在培养皿中加入OADC增菌肉汤，约为每9ml M7H10琼脂1ml OADC增菌肉汤。将培养皿在34-38℃下孵育7-14天，或直至明显观察到菌落。在附件6中记录培养信息。

结果：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **样本ID** | **回收的CFU** | | **平均值** | **回收率%均值和IV均值** | **是否可接受？是/否** |
| 组件# |  | |  |  |  |
| 组件# |  | |
| 组件# |  | |
| 毒性#1 |  | |  |  |  |
| 毒性#2 |  | |
| 毒性#3 |  | |
| IV（参见附件6） |  |  | | 阴性对照品：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ | |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 执行人： |  |  | 日期： |  |
| 审查人： |  |  | 日期： |  |

**附件8**

**消毒效果测试**

**第1页，共2页**

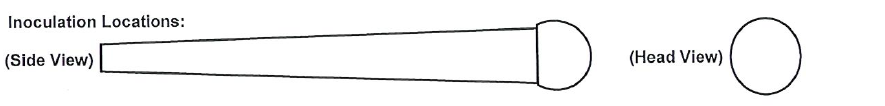
日期：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 周期编号\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

测试前，将组件置于LAF层流罩中，用IPA擦拭/喷涂，静置干燥。技术人员/日期：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**接种物制备和接种程序：**

在5% FBS/LB中制备约107 CFU /0.1 mL土壤分枝杆菌**工作悬浮液**（参见附件6）。

四（4）种组件（\_\_\_\_\_\_\_\_，\_\_\_\_\_\_\_\_，\_\_\_\_\_\_\_\_，\_\_\_\_\_\_\_\_）分别接种\_\_\_\_\_\_\_mL的预制悬浮液，每个组件的每个位置都接种了\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_次，总接种量为\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_mL，静置干燥不超过30分钟。



**接种位置：**

**（侧视图）**

**（顶视图）**

干燥开始：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_干燥结束：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**消毒：**

三（3）台器械（ID：\_\_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_\_）和一（1）份阴性对照品（ID：\_\_\_\_\_\_）分别按如下步骤消毒：

使用干净的无绒擦拭布擦干器械。

将器械和化学指示剂装入消毒室。

室门关闭，按下“启动”按钮。

消毒结束后，检查化学指示剂，取出器械。

使用干净的无绒布擦拭消毒后的器械，立即放入提取容器，然后转移至LAF罩测试。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 器械ID | Trophon®周期编号 | 显示Trophon®“消毒完成”（是/否） | 化学指示剂颜色变（通过/不通过） | 技术人员/日期： |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |

**提取：**

使用以下方法提取供试品和阴性、阳性对照品：

容器：**无菌塑料袋**蛋白胨体积：**500 mL**提取物参数：**200 rpm振荡20分钟**

开始时间：\_\_\_\_\_\_结束时间：\_\_\_\_\_\_

**微生物测试：**

对三（3）份接种且消毒后的组件的提取物和阴性对照品进行过滤。用\_\_\_\_\_\_\_\_\_mL\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_等分试样对过滤器冲洗\_\_\_\_\_\_次，然后将过滤器置于预先灌注的平板中。

阳性对照品处理-

对提取物的重复等分试样进行过滤。需要时，在S-DI中制备稀释液。按以下步骤进行试验：将M7H10培养皿在34-38℃下培养7-14天，或直至明显观察到菌落。培养信息见附件6。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 执行人： |  |  | 日期： |  |
| 审查人： |  |  | 日期： |  |

**附件8**

**消毒效果测试**

**第2页，共2页**

**日期：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 周期编号\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

**结果：**

阳性对照（PC）组件测试：

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **稀释比** | **过滤量** | **回收的CFU** | | **回收菌群** | **提取量** | **总菌群1** | **PC菌群对数** |
| 10- |  |  |  |  | 500 mL |  |  |
| 10- |  |  |  |

1

**试验组件消毒效果：**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **样本ID** | **实际回收CFU** | **过滤量（mL）** | **校正的菌群CFU2** | **回收CFU的对数** | **校正的PC菌群对数** | **达到的对数减少值3** | **规定的对数减少值** | **是否符合要求？（是/否）** | |
|  |  |  |  |  |  |  |  | 🞏是 | 🞏否 |
|  |  |  |  |  |  |  | 6.0 | 🞏是 | 🞏否 |
|  |  |  |  |  |  |  |  | 🞏是 | 🞏否 |
| 阴性对照品 |  |  | | | | | | 🞏是 | 🞏否 |

2

3对数减少值计算=阳性对照品组件的对数–校正菌群的对数

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 执行人： |  |  | 日期： |  |
| 审查人： |  |  | 日期： |  |

**附件9**

**AAMI TIR 12，表2**

**表2 — 按照对化学灭菌剂和消毒剂的抗性从高到低列出的微生物1)**

|  |
| --- |
| **细菌孢子**  *嗜热脂肪地芽孢杆菌2）*  *枯草芽孢杆菌*  *萎缩芽孢杆菌3）*  *产芽胞梭状芽胞杆菌* |
| **囊型寄生虫**  *隐孢子虫囊肿* |
| **分枝杆菌**  *牛结核分枝杆菌*  *非结核分支杆菌4）* |
| **非脂类或小病毒**  脊髓灰质炎病毒  柯萨奇病毒  鼻病毒 |
| **真菌**  *毛癣菌属*  *隐球菌属*  *念珠菌属* |
| **非囊型寄生虫** |
| **营养细菌**  *铜绿假单胞菌*  *金黄色葡萄球菌*  *猪霍乱沙门菌*  肠球菌 |
| 脂质或中型病毒  单纯性疱疹病毒  巨细胞病毒  呼吸道合胞病毒  乙型肝炎病毒  丙型肝炎病毒  人体免疫缺损病毒 |

注1—给出的耐药性排序仅供参考，具体视微生物和化学灭菌剂或消毒剂的施用情况而定。

注2—曾用名为*嗜热脂肪芽孢杆菌*（参见Nazina等人，2001年）。

注3—现在的萎缩杆菌株先前属于*枯草杆菌*株（参见Fritze和Pukall，2001年）。

注4—某些非结核分枝杆菌株对戊二醛和OPA表现出独特的耐药性（Duarte等人，2009年；Griffiths等人，1997年；Svetllkova等人，2009年）。

注5—朊病毒，即传染性海绵样脑病的病原体对化学杀菌制品有独特的耐药性。朊病毒对热和化学物质的耐药性异常高，在某些情况下表现出比细菌孢子更强的耐药性。应特别考虑疑似或确认病例中被污染的装置。有关暴露于朊病毒的器械处理信息，参见附录C。

**附件10**

**细胞毒性试验的消毒程序**

消毒剂标识：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**消毒：**

供试品的消毒步骤概述如下：

使用干净的无绒擦拭布擦干器械。

将器械和化学指示剂装入消毒室。

室门关闭，按下“启动”按钮。

消毒结束后，检查化学指示剂，取出器械。

使用干净的无绒布擦拭消毒后的器械，立即放入提取容器，然后进行细胞毒性测试。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 器械ID | Trophon®周期编号 | 显示Trophon®“消毒完成”（是/否） | 化学指示剂颜色变（通过/不通过） | 技术人员/日期： |
|  |  |  |  |  |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 执行人： |  |  | 日期： |  |
| 审查人： |  |  | 日期： |  |