

中华人民共和国国家标准

GB/T 19973.2—2018/ISO 11737-2:2009
代替 GB/T 19973.2—2005

医疗器械的灭菌 微生物学方法 第 2 部分：用于灭菌过程的定义、确认和 维护的无菌试验

**Sterilization of medical devices—Microbiological methods—
Part 2: Tests of sterility performed in the definition, validation and
maintenance of a sterilization process**

(ISO 11737-2:2009, IDT)

2018-03-15 发布

2019-04-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会



目 次

前言	I
引言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 质量管理体系要素	3
5 产品选择	3
6 无菌试验方法	4
7 无菌试验方法的评价	5
8 无菌试验方法的维护	5
附录 A (资料性附录) 关于灭菌过程的确认和维护中进行的无菌试验的指南	6
参考文献	12

前 言

GB/T 19973《医疗器械的灭菌 微生物学方法》分为以下 2 个部分：

- 第 1 部分：产品上微生物总数的测定；
- 第 2 部分：用于灭菌过程的定义、确认和维护的无菌试验。

本部分为 GB/T 19973 的第 2 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分代替 GB/T 19973.2—2005《医疗器械的灭菌 微生物学方法 第 2 部分：确认灭菌过程的无菌试验》，与 GB/T 19973.2—2005 相比主要技术内容变化如下：

- 修改了“总则”，改为“质量管理体系要素”（见第 4 章，2005 年版的第 4 章）；
- 修改了“人员”的标题及其下内容，改为“管理职责”和相关要求（见 4.2，2005 年版的 4.2）；
- 修改了“设备与材料”标题及其下内容，改为“产品实现”和相关要求（见 4.3，2005 年版的 4.3）；
- 增加了“测量、分析和改进”（见 4.4）；
- 修改了“试验产品单元的选择与准备”，改为“产品选择”（见第 5 章，2005 年版的第 5 章）；
- 修改了“选择”，改为“总则”，将“样品份额(SIP)”单列（见 5.1、5.2，2005 年版的 5.1、5.1.2）；
- 修改了“产品单元和样品份额的包装”的标题，改为“产品和样品份额的包装”（见 5.3，2005 年版的 5.2）；
- 修改了“无菌试验”，改为“无菌试验方法”（见第 6 章，2005 年版的第 6 章）；
- 增加了在试验中采用无菌技术的要求（见 6.3）；
- 增加了选择洗脱液或液体产品分离时应考虑的因素（见 6.5）；
- 增加了时限的要求（见 6.8）；
- 增加了结果记录的要求（见 6.9）；
- 删除了“无菌试验方法的评价”中关于试验方法评审的要求（见 2005 年版的 7.2）；
- 增加了“无菌试验方法的维护”的标题和相关内容（见第 8 章）；
- 修改了“确认灭菌过程的无菌试验指南”的标题，改为“关于灭菌过程的确认和维护中进行的无菌试验的指南”（见附录 A，2005 年版的附录 A）；
- 修改了“引言”，改为“范围”（见附录 A.1，2005 年版的附录 A.1）；
- 增加了“规范性引用文件”的标题和相关内容（见 A.2）；
- 增加了“术语和定义”的标题和相关内容（见 A.3）；
- 修改了“实验室质量体系”的标题，改为“质量管理体系要素”（见 A.4，2005 年版的 A.2）；
- 删除了“仪器与材料”的标题，其下内容“电子数据处理”列入“文件”，“生物学仪器”和“微生物生长培养基”列入“产品实现”（见 A.4.1、A.4.3，2005 年版的 A.3.1、A.3.2、A.3.3）；
- 增加了“管理职责”的标题和相关内容（见 A.4.2）；
- 增加了“测量、分析和改进”的标题和相关内容（见 A.4.4）；
- 修改了“试验用产品单元的选择与准备”，改为“产品选择”（见 A.5，2005 年版的 A.4）；
- 修改了“为确认选择产品单元的方法”的标题及其下内容，改为“概述”和相关要求（见 A.5.1，2005 年版的 A.4.1）；
- 删除了“成套器械的样品份额”的标题及其下内容（2005 年版的附录 A.4.3）；
- 修改了“产品单元的包装”的标题及其下内容，改为“产品和样品份额(SIP)的包装”和相关要求（见 A.5.3，2005 年版的 A.4.4）；

- 修改了“无菌试验”的标题,改为“无菌试验方法”,删除“类型”“直接浸泡”“洗脱微生物”“膜过滤”“洗脱液培养”“培养条件的选择”“无菌试验后培养基检查”等标题,其下内容均列入“无菌试验方法”(见 A.6、A.6.1、A.6.4、A.6.5、A.6.7,2005 年版的 A.5、A.5.1、A.5.2、A.5.3、A.5.4、A.5.5);
- 删除了“无菌试验的评价”的标题,其下内容“无菌试验操作中污染引起的假阳性评价”“杀微生物和/或抗微生物物质的试验”“灭菌与无菌试验间的时间”删除标题后均列入“无菌试验方法”(见 2005 年版的 A.6.1、A.6.2.3、A.6.3);
- 删除了“无菌试验进行中假阴性的评价”的标题及其下内容(见 2005 年版的附录 A.6.2);
- 增加了“用于培养基外观检查的方法”的标题和相关内容(见 A.6.9);
- 增加了“无菌试验方法的评价”的标题和相关内容(见 A.7);
- 增加了“无菌试验方法的维护”的标题和相关内容(见 A.8);
- 删除了表 A.2(2005 年版的表 A.2)。

本部分使用翻译法等同采用 ISO 11737-2:2009《医疗器械的灭菌 微生物学方法 第 2 部分:用于灭菌过程的定义、确认和维护的无菌试验》。

与本部分中规范性引用的国际文件有一致性对应关系的我国文件如下:

- GB/T 19022—2003 测量管理体系 测量过程和测量设备的要求(ISO 10012:2003, IDT)

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本部分由国家食品药品监督管理总局提出。

本部分由全国消毒技术与设备标准化技术委员会(SAC/TC 200)归口。

本部分起草单位:浙江泰林生物技术股份有限公司、广东省医疗器械质量监督检验所、施洁医疗技术(上海)有限公司。

本部分主要起草人:赵振波、苗晓琳、夏信群、刘嫣红、徐海英、张玲。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为:

- GB/T 19973.2—2005。

引 言

无菌医疗器械是指不含有活的微生物的医疗器械。GB/T 18278、GB/T 18279、GB/T 18280 等规定了灭菌过程确认和常规控制的要求,当有必要提供无菌医疗器械时,应对医疗器械的微生物污染减少到最低限度。即使如此,按照质量管理体系要求(例如参见 YY/T 0287),在标准制造条件下生产的医疗器械在灭菌之前可能带有少量的微生物。此类产品为非无菌产品。灭菌的目的是破坏微生物污染物的活性,从而将非无菌产品转变为无菌产品。

通常用物理和/或化学制剂来对医疗器械产品上微生物的纯培养物灭活时,可得到近似于一种指数效应的关系,这就意味着不管处理的程度如何,微生物总会以有限的概率存活下来。对于一个给定的处理方法,微生物存活的概率是由微生物的数量、抵抗力以及在处理期间微生物存在的环境所决定的。由此可见,进行灭菌处理的产品总体中任何一个个体的无菌性是无法保证的,可以用一个产品个体上存在活的微生物的概率来定义经过处理的产品总体的无菌性。

关于产品设计与开发、生产、安装和维修保养的质量管理体系的一般要求包含在 ISO 9001 中,而关于医疗器械生产的质量管理体系的特别要求则包含在 YY/T 0287 中。根据质量管理体系的标准,对于某些制造流程,其流程的有效性不能够完全通过后期的产品检验与测试来验证。灭菌是这种流程的一个例子。为此,需要对灭菌过程进行确认,对灭菌过程进行常规监控,并对设备进行维护。

关于医疗器械灭菌过程的确认与常规控制的执行程序,已经制定这方面的标准(例如,参见 GB/T 18279、GB 18280 和 GB/T 19974,YY 0970,GB 18278.1 和 YY/T 1276。验证的一个要素可能包括将医疗器械暴露于灭菌剂中,并相对于常规灭菌处理降低处理程度,以了解医疗器械上自然产生的微生物污染对试剂的耐受性。暴露之后,如标准本部分所述对医疗器械单独进行无菌试验。“a) 确定辐射灭菌剂量”和“b) 证明已确定的灭菌剂量的持续有效性”给出了关于使用此类试验的示例。

本部分的附录 A 给出了关于所采用的技术和关于实施方面的指南。

医疗器械的灭菌 微生物学方法

第2部分：用于灭菌过程的定义、确认和维护的无菌试验

1 范围

GB/T 19973 的本部分规定了已使用灭菌剂进行低于常规灭菌处理程度时,处理的医疗器械进行无菌试验的一般标准。这些试验预期在定义、确认或维护灭菌过程时进行。

本部分不适用于:

- a) 经过灭菌过程的产品在常规放行时进行的无菌检查;
- b) 进行无菌检查(参见 3.12);

注1: 执行 a) 或 b) 不是 ISO 11135-1, ISO 11137-1, ISO 14160, ISO 14937 或 ISO 17665-1 的要求。

- c) 生物指示剂或接种产品的培养。

注2: ISO 14161 中包含了关于培养生物指示剂的指导。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 19973.1—2015 医疗器械的灭菌 微生物学方法 第1部分:产品上微生物总数的测定 (ISO 11737-1:2006, IDT)

GB/T 27025—2008 检测和校准实验室能力的通用要求 (ISO/IEC 17025:2005, IDT)

YY/T 0287—2003 医疗器械 质量管理体系 用于法规的要求 (ISO 13485:2003, IDT)

ISO 10012 测量管理体系 测量过程和测量设备的要求 (Measurement management systems—Requirements for measurement processes and measuring equipment)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

需氧微生物 aerobic organism

需要氧气进行代谢的微生物。

3.2

厌氧微生物 anaerobic organism

不需要氧气进行代谢的微生物。

3.3

抑制细菌/抑制真菌试验 bacteriostasis/fungistasis test

使用选择的微生物进行的技术操作,用于确认在无菌试验中抑制这些微生物繁殖的物质存在。

3.4

生物负载 bioburden

一件产品和/或包装上存活的微生物总数。

注: 改写 ISO/TS 11139:2006, 定义 2.2。

3.5

培养条件 culture conditions

促进微生物复苏、生长和(或)繁殖所采用的生长培养基和培养方法的组合。

注：培养方法可包括温度、时间和其他规定用于培养的条件。

[ISO/TS 11139:2006,定义 2.10]

3.6

兼性微生物 facultative organism

既能进行需氧代谢,又能进行厌氧代谢的微生物。

3.7

促生长试验 growth promotion test

为了证明一种培养基能够支持微生物繁殖而进行的技术操作。

3.8

医疗器械 medical device

制造商的预期用途是为下列一个或多个特定目的用于人类的,不论单独使用或组合使用的仪器、设备、器具、机器、用具、植入物、体外试剂或校准物、软件、材料或其他相似或相关物品。这些目的是:

- 疾病的诊断、预防、监护、治疗或者缓解;
- 损伤的诊断、监护、治疗、缓解或者补偿;
- 解剖或生理过程的研究、替代、调节或者支持;
- 支持或维持生命;
- 妊娠控制;
- 医疗器械的消毒;
- 通过取自人体的样本进行体外检查的方式来提供医疗信息。

其作用于人体体表或体内的主要设计作用不是用药理学、免疫学或代谢的手段获得,但有可能有这些手段参与并起一定辅助作用。

注：本定义由全球协调工作组(GHTF 2002)制定。

[YY/T 0287—2003,定义 3.7]

3.9

产品 product

生产过程的结果。

注 1：对于灭菌标准而言,产品是有形的,可以是原材料、中间体、组件和保健产品。

注 2：改写 ISO 9000:2005,定义 3.4.2。

3.10

样品份额 sample item portion, SIP

被测医疗器械的规定部分。

3.11

无菌 sterile

无存活微生物的。

[ISO/TS 11139:2006,定义 2.43]

3.12

无菌检验 test for sterility

产品经过灭菌处理后,按药典上的规定对产品进行技术操作。

[ISO/TS 11139:2006,定义 2.53]

3.13

无菌检查 test of sterility

为确定单元产品或其部分上是否存在活微生物而进行的技术操作,是开发、确认或再鉴定的一部分。

[ISO/TS 11139:2006,定义 2.54]

4 质量管理体系要素

4.1 文件

4.1.1 应规定执行无菌试验的程序。

4.1.2 应由指定人员(见 4.2.1)评审和批准 GB/T 19973 该部分要求的文件和记录。根据 YY/T 0287 和 GB/T 27025 对文件和记录进行控制。保留的记录应包括所有原始观察记录、计算、导出数据和最终报告。记录应包括参与取样、制备和试验的所有人员身份。

4.1.3 应对计算和数据转化进行适当的校核。

4.2 管理职责

4.2.1 应对本部分所述执行和实施程序的职责和权限进行规定。根据标准 YY/T 0287 和 GB/T 27025,应对能胜任的人员落实职责。

4.2.2 若本部分的要求由不同组织的质量保证体系来保证,则应对组织内各部分的职责和权限做出规定。

4.2.3 应提供所有用于正确实施规定检测和测量的设备。

4.3 产品实现

4.3.1 应规定采购程序。程序应符合标准 YY/T 0287 或 GB/T 27025 的要求。

4.3.2 应在符合 YY/T 0287、GB/T 27025 或 GB/T 19022 的文件体系中,建立满足本部分要求的所有设备,包括用于试验目的仪表的校准规定。

4.3.3 在试验过程中与产品、洗脱液或培养基接触的设备或零件应是无菌的。

4.3.4 应规定无菌试验(包括适当的质量试验)用材料的制备和灭菌方法。

4.4 测量、分析和改进

应规定不合格结果的调查程序以及纠正、纠正措施和预防措施程序。程序应符合 YY/T 0287 或 GB/T 27025 的要求。

5 产品选择

5.1 总则

5.1.1 进行无菌试验所需产品的选择和处理程序应确保产品能够代表常规生产,包括包装材料和过程(参见 5.3)。

5.1.2 如果为了灭菌过程的开发、确认和常规控制(无菌试验是在此期间进行的)而对产品进行分组,应记录将某产品归于某组的理由(见 4.1.2)。理由中应包括标准,以确保被选定用于试验的产品能够代表整个小组。

5.2 样品份额(SIP)

5.2.1 如果关于灭菌过程的开发、确认和常规控制的适用标准允许,当使用整个产品不可行时,如果灭菌方法允许,可以用产品的选定部分[样品份额(SIP)]来代替。

5.2.2 如果产品上/内的生物负载分布是未知的,SIP 应由随机选取的按比例代表制造产品所用的各种材料的产品部分组成。

如果生物负载分布是已知的,且生物负载均匀分布在产品上/内,可以从产品的任何部分选取 SIP。

如果生物负载分布是已知的,且生物负载不均匀分布在产品上/内,应从被视为对灭菌过程的最严峻挑战的产品部分选取 SIP,或者由随机选取的按比例代表制造产品所用的各种材料的产品部分组成 SIP。

5.2.3 应证明所选择的 SIP 的充分性。

注:规定灭菌过程的开发、确认和常规控制要求的标准可能会规定 SIP 充分性。

5.3 产品和样品份额的包装

如果无菌试验用产品或 SIP 的包装材料和/或方法与常规生产中所使用的不同,包装材料和包装方法的选择应确保:

- a) 产品或 SIP 得到使用灭菌剂进行的预期处理;
- b) 产品或 SIP 的微生物状态保持不变;
- c) 灭菌剂与产品或 SIP 的接触情况与使用常规生产用包装时相似。

6 无菌试验方法

6.1 进行无菌试验一般有以下两种方法:

- a) 将产品直接浸入培养基或在产品中加入培养基,然后进行培养;
- b) 从产品上分离出微生物,将分离的微生物移入培养基,然后进行培养。

6.2 对于确定的产品,应考虑并记录影响无菌试验方法的设计的因素(见 4.1.2)。需考虑的因素至少包括:

- a) 已在标签上声明其无菌性的产品部分;
- b) 待测产品的物理和/或化学性质(参见 6.6);
- c) 可能的污染性微生物类型及其在产品上/内的位置。

6.3 在无菌试验过程中,在进行可能影响试验结果的操作时应采用无菌技术。

6.4 如果要在移入培养基之前通过洗脱的方法将微生物从产品上分离,需考虑的因素应包括:

- a) 选择合适的洗脱液;
- b) 洗脱技术有效分离污染性微生物的能力(见示例;GB/T 19973.1—2015 的 7.2);
- c) 洗脱技术对污染性微生物活性的影响。

6.5 如果要在移入培养基之前通过过滤的方法将微生物从洗脱液或液体产品中分离,需考虑的因素应包括:

- a) 有效过滤系统的选择;
- b) 适宜冲洗液容器、过滤器和相关设备(如需要)的选择。

6.6 如果待测产品的物理或化学性质[见 6.2 b)]可能存在或释放对微生物的生长产生不良影响的物质,应使用一个系统来中和、消除或(如果无法中和或消除)最大程度降低任何此类物质的作用。应证明此类系统的有效性。

6.7 考虑预期存在的微生物类型之后,应选择培养条件。应记录考虑的结果和作出决定的理由(参见

4.1.2)。

6.8 应尽可能缩短产品暴露于灭菌剂与对产品进行无菌试验之间的时间间隔。

6.9 培养之后,应检查培养基是否存在微生物生长迹象并记录检查结果(见 4.1.2)。

7 无菌试验方法的评价

在利用无菌试验结果之前,应对选定方法的适当性进行评价并记录评价结果(见 4.1.2)。

8 无菌试验方法的维护

8.1 应对产品和/或制造过程的变更进行评审,以确定是否需要改变无菌试验方法。如果评审指示需要变更,第 6 章中给出的要求适用。

8.2 应对无菌试验方法的修改进行评价,以确定其对试验方法适用性的影响。应记录评价结果(见 4.1.2)。

附录 A

(资料性附录)

关于灭菌过程的确认和维护中进行的无菌试验的指南

A.1 范围

本附录包含关于执行本部分中规定的要求的指导。本指导并非详尽无遗,其目的是强调需注意的重要方面。

可以采用本附录规定之外的方法,但应证明此类替代方法能够有效地达到与本部分要求的符合性。本附录不作为评价与本部分要求的符合性的检查表。

A.2 规范性引用文件

关于规范性引用文件 YY/T 0287,应注意本部分不要求完整的质量管理体系。然而,控制用于确认和维护医疗器械灭菌过程的无菌试验必需的质量管理体系要素作为规范性引用文件出现在本部分中的适当位置(特别参见第4章)。需注意的医疗器械生产或再加工的所有阶段的质量管理体系的标准(参见 YY/T 0287)以及实验室质量管理体系(参见 GB/T 27025)。关于医疗器械供应的国家和/或区域规定可能要求实施完整质量管理体系并由第三方对该体系进行评价。

A.3 术语和定义

无指南。

A.4 质量管理体系要素

A.4.1 文件

A.4.1.1 无指南。

A.4.1.2 在 YY/T 0287 中,文件部分的要求与文件(包括规范和程序)和记录的生成和控制有关。YY/T 0287—2003 中的 4.2.3 和 4.2.4,或 GB/T 27025—2008 中 4.3、4.13 和 5.4 规定了文件和记录的控制要求。

A.4.1.3 实验室可能会使用计算机进行数据的直接和间接收集、处理和/或存储。应对用于此目的的硬件和软件进行控制。

应对使用中的计算机系统的硬件和软件进行鉴定,并对其硬件或软件的修改进行文件记录和审批(参见 4.1.2 和 4.2.1)。

如果使用电子数据处理技术进行计算,应在使用前对软件(例如电子表格计算)进行验证并保留验证记录。

对于软件,应提供文件描述:

- 软件应用;
- 软件操作;
- 使用中的数据包。

所有软件在投入使用之前应经过验收试验。

如使用内部开发的计算机软件,应制定适合的程序以确保:

- 保留描述软件开发的文件,包括源代码;
- 保留验收测试记录;
- 对程序的修改进行文件记录;
- 对设备的修改进行文件记录,并在投入使用之前对修改后的设备进行测试。

应将这些控制手段应用于商业软件包的任何修改或定制。应提供检测或防止擅自更改软件的程序。

对数据进行组织、列表和/或统计或其他数学处理的软件,或者以其他方式对电子存储数据进行处理或分析的软件,应允许原始数据输入的检索。可能需要对计算机数据进行归档的特殊程序,应将这些程序形成文件。

关于将质量管理体系应用于计算机软件的指导,另请参见 ISO 90003。

A.4.2 管理职责

A.4.2.1 在 YY/T 0287 中,管理职责部分的要求与管理承诺、以客户为关注焦点、质量方针、计划、资源的提供、职责、权限和沟通以及管理评审有关。

实验室应致力于提供优质服务,并将此形成文件,作为质量方针。应规定实验室组织内部的职责和权限并形成文件。应指定实验室质量管理体系的负责人,确保该体系的实施。

YY/T 0287—2003 中的 5.5 规定了职责和权限要求,6.2 规定了人力资源要求。

A.4.2.2 无菌试验的使用和执行可能涉及不同的团队,每个团队负责方法或程序的某些要素。本部分要求规定接受特定职责的团队并将职责的规定形成文件。职责的规定在确定的团队的质量管理体系内形成文件。接受规定要素的职责的团队需要将这些要素分配给通过适当的培训和资格证明而证实其能力胜任的人员。

如果在医疗器械制造商直接管理下的实验室进行无菌试验,实验室操作属于制造商的质量管理体系。如果使用外部实验室,该实验室应具有适当国家标准(例如 GB/T 27025)或适用管理要求的证明。

A.4.2.3 YY/T 0287—2003 第 6 章规定了资源提供的要求,GB/T 27025—2008 中的 5.5 规定了设备要求。

A.4.3 产品实现

A.4.3.1 在 YY/T 0287 中,产品实现部分的要求与客户要求的产品寿命周期、设计和开发、采购、生产控制和监控与测量装置的校准有关。

YY/T 0287—2003 中的 7.4 规定了采购要求。应特别注意的是,YY/T 0287—2003 中的 7.4.3 对采购产品的验证要求适用于从组织外部得到的所有产品和服务。

A.4.3.2 应提供一个识别每个实验室设备的维护要求的系统。

应清楚地标识不需要校准的设备。

YY/T 0287—2003 中的 7.6 规定了监控与测量装置的校准要求。GB/T 27025—2008 的 5.5 和 5.6 规定了设备和测量溯源性的要求。

A.4.3.3 用于除去微生物的洗脱液或培养基的制备方式应确保其无菌性。

A.4.3.4 适当的质量试验应包括促生长试验。通常,使用少量(10 CFU~100 CFU)选定微生物的接种物对每批培养基进行促生长试验。药典专论中对培养基的微生物促生长试验进行了详细描述。

A.4.4 测量、分析和改进

在 YY/T 0287 中,测量、分析和改进部分的要求与过程中监控、数据分析和改进(包括纠正措施和

预防措施)有关。

应对实验室操作定期进行内部审核。应对审核结果进行文件记录并由实验室管理人员进行审查。

需要对无菌试验产生的异常、意外或超标结果进行调查。调查的初始阶段应包括评价该结果是真实的还是错误的。下列因素可以导致错误的结果,应该得到解决:

- 不适当的样品(示例:非代表性、非均匀或不合格的材料);
- 不适合的运输/装卸/储存条件;
- 不适当的试验材料(示例:移液管、过滤装置);
- 不正确的处理或试验方法;
- 不适当的培养基或稀释剂;
- 不适当的实验室环境;
- 不适当的培养环境;
- 试验结果解释错误;
- 抄写错误。

基于调查的结果,可能需要采取特定的纠正措施。如果需要采取纠正措施,应证明其有效性。YY/T 0287—2003 中的 8.5.2 和 GB/T 27025—2008 中的 4.11 规定了纠正措施的程序。

A.5 产品选择

A.5.1 概述

A.5.1.1 从一批在常规处理程序的条件下生产的产品中选择代表产品。最好是随机选择试验用产品。

规定灭菌过程的确认和常规控制要求的相关国际标准可能会对选定的产品项目的数量和供选择的批数进行描述。

产品样品的选择和处理技术的选择和执行应避免由于疏忽而引入污染物和改变样品上/内的微生物数量和类型。

可以从制造过程中被拒收的项目中选择试验用产品,只要它们的处理和条件与合格产品相同,并且其拒收原因不损及试验的有效性。

A.5.1.2 通常在关于灭菌过程的开发、确认和常规控制的具体标准(例如:ISO 11135-1 和 ISO 11137-2)中对有关产品分组的要求进行描述。

A.5.2 样品份额(SIP)

A.5.2.1 条件允许时,试验中应使用整个产品,但不适用于所有产品。在这种情况下,可以用产品的选定部分(SIP)来代替,它在试验中更便于处理。SIP 应为在实验室中容易处理的一个尽可能大的产品部分。SIP 的选择应以产品的长度、质量、体积或表面积为基础。参见表 A.1。

表 A.1 SIP 的选择示例

SIP 的基本参数	产品
长度	管材(等径) 绷带卷
质量	粉末 罩衣
体积	液体
表面积	手术单 管材(变径)

如果无法在实验室现有的容器中对产品或 SIP 进行试验,可将其分为两个或更多容器,并将这些容器记为一个。如果一个容器得出阳性结果,整个样品被视为阳性。

如果产品只有液路的无菌性的标签声明,应将液路视为整个样品(即 SIP = 1)。

A.5.2.2 SIP 上的微生物污染应代表灭菌过程所面临的微生物挑战。对于复杂产品,SIP 应代表产品的不同要素的生物负载。

A.5.2.3 无指南。

A.5.3 产品和样品份额(SIP)的包装

产品最好在其原始形式和包装下暴露于灭菌剂中。然而,为了减少和/或简化无菌试验的操作,从而降低由于污染而产生假阳性的可能性,可以在暴露于灭菌剂之前对产品进行分解和重新包装。

考虑产品分解和重新包装对微生物对灭菌剂的反应的影响非常重要。例如,分解可能改变微生物的化学环境。

考虑产品分解对灭菌剂与微生物的接触情况的影响同样重要。

如果在暴露于灭菌剂之前进行 SIP 的制备和包装,应选择在将生物负载的改变减至最少的条件下进行这些操作。

A.6 无菌试验方法

A.6.1 如第 6 章所示,无菌试验方法可以大致分为两个一般类别,如 a)和 b)所述。

a) 产品直接浸入:直接浸入为医疗器械无菌试验的首选方法。采用直接浸入法时,将产品或 SIP 在无菌条件下放入一个盛有培养基的容器(或多个容器,见 A.5.2.1)进行培养。应使用足够量的培养基以实现培养基与整个产品或 SIP 的接触。此外,应考虑:

——暴露于灭菌剂之前进行分解(参见 A.5.3);

——浸入培养基之前进行分解和/或操作;

——放入培养基之后进行搅拌;

——在培养基中加入表面活性剂(已被证明没有抑微生物或杀微生物作用)以更好地润湿产品表面。应在整个培养期内保持培养基与产品或 SIP 之间的接触。

要对产品的液路进行无菌试验,使液路充满培养基,对产品进行培养。

b) 从产品上除去微生物:由于医疗器械的特性,例如抑菌/抑真菌活性,而无法采用直接浸入法时,可能需要除去微生物。

采用此技术时应谨慎。此技术不能从产品上洗脱所有微生物。无法从产品上除去所有微生物可能导致试验无效。相关操作期间产生的污染可能导致假阳性的出现。

在移至培养条件下之前通过物理处理的方法从产品上除去微生物的程序可进一步依次细分为:

——洗脱和膜过滤;

——洗脱和培养洗出液。

这两个子部分的初始操作都是从产品或 SIP 上除去微生物。所采用的技术与生物负载测定时相同,GB/T 19973.1—2015 中的 B.2.2 对其进行了描述。同样的,选择适当的洗脱液时需要考虑的事项与生物负载测定时相同,GB/T 19973.1—2015 中的 B.2.3 和表 B.1 对其进行了描述。

一旦从产品项目或 SIP 上除去了微生物,即可通过膜过滤或培养全部洗出液(参见 A.6.4)进行无菌试验。

A.6.2 无指南。

A.6.3 无菌试验过程中采用的无菌技术包括以下方面:

——在受控环境中进行试验。

例如:设置在洁净室内的层流罩或生物安全柜;隔离器系统。

注：ISO 14644-1, 14644-4 和 14644-7 给出了关于受控环境的详细信息。

- 对试验中使用的所有设备、材料和项目进行灭菌。
- 将试验器具、培养基和供试品在无菌条件下引进试验区。
- 在将供试品引入试验区之前对包装外部进行净化。
- 对试验区内的表面进行净化。
- 将试验所需的操作减至最少。
- 进行关于无菌技术操作的培训。

A.6.4 要通过培养洗出液的方法进行无菌试验,一种方法是将培养基用作洗脱液,洗脱后将洗出液移入无菌容器进行培养。另一种方法是使用一种不支持微生物生长的洗脱液,洗脱后将洗出液在无菌容器中与等体积的双倍浓度培养基混合进行培养。或者,如果洗出液的体积不大于培养基体积的 10%,可以将洗出液在无菌容器中与正常浓度培养基混合进行培养。

A.6.5 要通过过滤的方法进行无菌试验,借助于正压或真空使洗出液通过标称孔径不大于 0.45 μm 的无菌薄膜过滤器。

用含有中和剂的无菌洗脱液或溶液(参见 A.6.6)冲洗与洗出液接触过的表面,使洗液通过薄膜过滤器。此后,将培养基在无菌条件下移入过滤装置,或者将滤膜在无菌条件下移入培养基。然后进行培养。

A.6.6 应对被测产品进行筛分,以确定是否有任何可能导致假阴性的抑制物质被释放进入培养基(参见 A.7)。这是通过将少量代表性微生物注入含有产品的培养基来完成的,正如在抑制细菌不/抑制真菌试验中所做的一样。

如果检测到杀微生物或抑微生物物质,可通过下列方法将其影响减至最小:

- a) 在培养基或洗脱液中加入中和剂;
- b) 通过过滤的方法从洗出液中除去杀微生物或抑微生物物质;
- c) 通过稀释的方法将杀微生物或抑微生物物质的浓度降至无效的水平。可以通过增加培养基或洗脱液的体积或者(必要时)将产品细分为若干个试验容器来实现此目的。

现行药典中引用的程序、微生物、加菌量和培养时间通常是合适的,但培养温度和培养基应与无菌试验中使用的相同。

A.6.7 关于灭菌过程的开发、确认和常规控制的具体标准可能会推荐无菌试验中采用的培养条件。

使用一种培养基的依据通常是假定其对于在暴露于灭菌剂的情况下可能存活的好氧和兼性微生物的培养而言为最佳选择。当使用大豆-酪蛋白消化液培养基作为唯一培养基时,通常采用(30 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 、14 d 的培养条件。使用其他培养基进行无菌试验时,应考虑其他培养条件。

无菌试验的建议培养温度可能低于生物负载测定的建议培养温度。采用较低的温度和较长的培养时间有助于受损或受伤微生物的恢复。

在下列情况下需要选择培养条件:

- 关于灭菌过程的开发、确认和常规控制的特定国际标准没有规定要使用的培养基;
- 使用一组培养条件是不适当的,由于微生物类型可能在暴露于灭菌剂的情况下存活(示例,存在厌氧微生物或分枝杆菌)。

在这些情况下选择培养条件时需要考虑的因素包括:

- 产品的性质;
- 制造方法;
- 潜在微生物污染的来源;
- 可能遇到的微生物类型。

按照 GB/T 19973.1 进行的生物负载测定得出的关于微生物类型的信息可能有助于培养条件的选择。

A.6.8 暴露于灭菌剂与移至培养条件下之间的时间间隔可能会影响灭菌剂对微生物引起的潜在致死损伤的修复。应在暴露于灭菌剂之后尽快完成样品或 SIP 的无菌试验。如果转移的延迟是不可避免

的,应选择样品的储存条件,以防止微生物失去活性或微生物总数发生改变。应规定进行无菌试验之前的最大时间间隔。

A.6.9 外观检查典型用于在培养后对培养基进行观察。生长迹象包括浊度、气味、变色、菌膜、沉淀和絮凝。

可以在逆光下进行目视检验以辅助浊度检测。

浊度可能不是由微生物生长引起的。可通过下列方法证明浊度是由微生物生长引起的:

- a) 镜检;
- b) 将几份(每份不小于 1 cm³)混浊的培养基移入盛有相同培养基的干净容器,对再次培养容器进行至少 4 d 的培养;
- c) 使用普遍接受的微生物学方法(例如划线分离)对混浊的培养基进行再次培养。

A.7 无菌试验方法的评价

评价无菌试验方法时,应考虑由假阳性或假阴性产生不正确结果的可能性。

无菌试验中出现假阳性使得使用灭菌剂进行处理看来不那么有效,从而影响确认过程中获得的数据的解释。除非另有证明(参见 A.4.4),应将阳性视为来源于在使用灭菌剂进行处理后存活下来的微生物。要评价无菌试验中假阳性的出现频次,应使用代表性无菌产品进行模拟。

影响假阴性出现的因素包括:

- 培养条件不支持微生物生长(参见 A.4.3.3);
- 无菌试验过程中产品释放出来的杀微生物和/或抑微生物物质的存在(参见 A.6.6);
- 使用灭菌剂进行处理与暴露于培养条件下之间的时间间隔(参见 A.6.8)。

A.8 无菌试验方法的维护

无指南。

参 考 文 献

- [1] ISO 11135-1 Sterilization of health care products—Ethylene oxide—Part 1; Requirements for the development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices
- [2] ISO/TS 11135-2 Sterilization of health care products—Ethylene oxide—Part 2; Guidance on the application of ISO 11135-1
- [3] ISO 11137-1 Sterilization of health care products—Radiation—Part 1; Requirements for development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices
- [4] ISO 11137-2 Sterilization of health care products—Radiation—Part 2; Establishing the sterilization dose
- [5] ISO 11138-2 Sterilization of health care products—Biological indicators—Part 2; Biological indicators for ethylene oxide sterilization processes
- [6] ISO/TS 11139;2006 Sterilization of health care products—Vocabulary
- [7] ISO 14160 Sterilization of single-use medical devices incorporating materials of animal origin—Validation and routine control of sterilization by liquid chemical sterilants
- [8] ISO 14161 Sterilization of health care products—Biological indicators—Guidance for the selection, use and interpretation of results
- [9] ISO 14644-1 Cleanrooms and associated controlled environments—Part 1; Classification of air cleanliness
- [10] ISO 14644-4 Cleanrooms and associated controlled environments—Part 4; Design, construction and start-up
- [11] ISO 14644-7 Cleanrooms and associated controlled environments—Part 7; Separative devices (clean air hoods, gloveboxes, isolators and mini-environments)
- [12] ISO 14937 Sterilization of health care products—General requirements for characterization of a sterilizing agent and the development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices
- [13] ISO 17665-1 Sterilization of health care products—Moist heat—Part 1; Requirements for the development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices
- [14] ISO 20857 Sterilization of health care products—Dry heat—Requirements for the development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices
- [15] ISO 9000;2005 Quality management systems—Fundamentals and vocabulary
- [16] ISO 9001;2008 Quality management systems—Requirements
- [17] ISO 90003 Software engineering—Guidelines for the application of ISO 9001;2000 to computer software
- [18] Akers, J.D., et al., Survey on Sterility Testing Practices, J. Parenteral Sci. Technol., 41, 6, 1987
- [19] Alexander, K. and Bryans, T., Evaluation of the Sterility Test for Detection of Microbial Contaminants of Allografts, Cell and Tissue Banking, 7, 1, pp.23 28, 2006
- [20] Association of Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 15th ed., Arlington, AOAC; pp. 430 437, 1992
- [21] Association of Analytical Chemists. Bacteriological Analytical Manual (BAM). 6th ed., Arlington, AOAC; 1984

- [22] Block, S.S., *Disinfection, Sterilization, and Preservation*, 5th ed., 2001
- [23] Gerhardt, P., et al., *Manual of Methods for General Bacteriology*, American Society for Microbiology, Washington, DC, 1981
- [24] Mathews, A.G., Optimal incubation conditions for sterility tests, *Develop. Biol. Stand.*, 23, pp.94-102, 1974
- [25] Meltzer, L.L. and Ordal, Z.J., Thermal Injury and Recovery of *Bacillus subtilis*, *Applied Microbiology*, 24, 6, pp.878-884, 1972
- [26] Russell, A.D., *Principles of Antimicrobial Activity*, in Block, S.S., (ed.) *Disinfection, Sterilization and Preservation*, Lea & Febiger, Philadelphia, PA, 4th edition, p.27, 1991
- [27] Sokolski, W.T. and Chidestey, C.G., Improved viable counting method for petroleum-based ointments, *J. Pharm. Sci.*, 53, pp.103-107, 1964
- [28] Straka, R.P. and Stokes, J.L., Rapid destruction of bacteria in commonly used diluents and its elimination, *J. App. Microbiology*, 5, p.21, 1957
- [29] *The European Pharmacopoeia*, 6th ed., European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM), Strasbourg, 2008
- [30] *The Japanese Pharmacopoeia*, 14th ed., Society of Japanese Pharmacopoeia, Tokyo
- [31] *The United States Pharmacopoeia*, 31st ed., United States Pharmacopoeial Convention (USP), Rockville, MD
-

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
医 疗 器 械 的 灭 菌 微 生 物 学 方 法
第 2 部 分：用 于 灭 菌 过 程 的 定 义、确 认 和
维 护 的 无 菌 试 验

GB/T 19973.2—2018/ISO 11737-2:2009

*

中 国 标 准 出 版 社 出 版 发 行
北 京 市 朝 阳 区 和 平 里 西 街 甲 2 号 (100029)
北 京 市 西 城 区 三 里 河 北 街 16 号 (100045)

网 址 www.spc.net.cn

总 编 室：(010)68533533 发 行 中 心：(010)51780238

读 者 服 务 部：(010)68523946

中 国 标 准 出 版 社 秦 皇 岛 印 刷 厂 印 刷
各 地 新 华 书 店 经 销

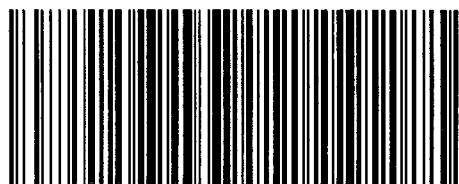
*

开 本 880×1230 1/16 印 张 1.25 字 数 32 千 字
2018 年 3 月 第 一 版 2018 年 3 月 第 一 次 印 刷

*

书 号：155066·1-59807 定 价 21.00 元

如 有 印 装 差 错 由 本 社 发 行 中 心 调 换
版 权 专 有 侵 权 必 究
举 报 电 话：(010)68510107



GB/T 19973.2-2018