



中华人民共和国国家标准

GB/TXXXXX—20XX

医药工业洁净室（区）表面微生物的测试方法

Test method for surface contamination in clean room (zone) of the pharmaceutical industry

（工作组讨论稿）

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

目 次

目 次..... I

前 言..... II

1 范围..... 3

2 规范性引用文件..... 3

3 术语和定义..... 3

4 概述..... 3

5 人员要求..... 3

6 主要仪器设备..... 3

7 培养基..... 3

8 方法适用性试验..... 4

9 测试条件..... 4

10 测试方法..... 4

11 试验报告..... 5

附录 A 采样方法指南..... 6

附录 B 方法适用性试验指南..... 7

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

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专利的责任。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件由全国医用输液器具标准化技术委员会（SAC/TC 106）归口。

本文件起草单位：山东省医疗器械和药品包装检验研究院、

本文件主要起草人：

医药工业洁净室（区）表面微生物的测试方法

1 范围

本文件规定了医药工业洁净室（区）表面微生物的测试方法。

本文件适用于医药工业洁净室（区）洁净厂房、洁净实验室等的房间、设备、人员（洁净服、手套等）的表面微生物测试。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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。

中华人民共和国药典

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

4 概述

表面微生物测定是对环境、设备和人员的表面微生物进行监测，目前主要的测试方法为接触碟法（直径55mm），用于对规则表面或平面进行取样。

擦拭法、表面淋洗法、柔性薄膜法作为接触碟法的补充，相关测试方法指南见附录A。

5 人员要求

洁净室（区）的测试人员应接受卫生和微生物学基础知识等相关专业知识的培训并获得相应资格后才能履行对洁净室（区）测试的职责。应使测试活动对洁净室（区）的干预降至最低。

6 主要仪器设备

培养箱、压力蒸汽灭菌器等，应定期对其进行校准或检定。

7 培养基

一般选择胰酪酪大豆胨液体培养基琼脂培养基（TSA），当监测结果有疑似真菌或考虑季节因素影响时，可增加沙氏葡萄糖琼脂培养基(SDA)。

培养基应符合《中华人民共和国药典》的相关要求。在进行培养基适用性检查时，应采用“10.3 培养计数”中的培养方案。

8 方法适用性试验

应进行方法适用性试验，以确认所采用的方法适合于该洁净室（区）的表面微生物测试。若测试方法或洁净室（区）条件发生变化可能影响测试结果时，应重新进行适用性试验。方法适用性试验指南见附录B。

9 测试条件

应在操作结束或批生产完成后开始测试。
表面微生物测试前，被测试洁净室的温湿度、静压差、换气次数、空气流速必须控制在规定值内。

10 测试方法

10.1 确定采样点

应基于洁净度级别、洁净室布局、产品类别、生产工艺、人流、物流、洁净室历史数据（若有）等因素进行风险评估，以确定采样点位置和采样点数量。

采样点位置和采样点数量示例见表1

表1 洁净室（区）表面微生物采样点位置与采样点数量示例

采样点位置	采样点数量
与产品直接接触的位置	两个点
墙壁	两个点
门正、反面	各一个点
门把手	一个点
设备外表面	两个点
地板（人员活动处）	两个点
手套（左右手，主要监测双手的五指指尖和手掌）	各一点
洁净工作服（帽子、袖口、肘部、拉链、胸部等）	至少五个点
鞋套	一个点
口罩（外表面）	一个点

10.2 采样步骤

采用接触碟法取样时，打开碟盖，无菌培养基表面与采样面直接接触，均匀按压接触碟底板，确保全部琼脂表面与取样点表面均匀充分接触，接触约5秒钟，再盖上碟盖。取样后，需要立即用适当的清洁剂擦拭被取样表面，以除去残留琼脂。五指手套指尖选用接触碟法时，被检人员五指并拢，从于指尖处开始平均压力按在培养基表面上约5秒钟。每碟取样面积约为25cm²。

10.3 培养计数

采样结束后，将培养皿倒置于培养箱中进行培养。

对于环境微生物种群不确定的情况下，可先在20℃～25℃培养2天～3天后再转移至30℃～35℃培养3天～4天。宜根据环境污染微生物历史数据及种群特性调整培养方案。

用肉眼对培养皿上所有的菌落直接计数标记或在菌落计数器上点计。若培养皿上有2个或2个以上的菌落重叠，可分辨时仍以2个或2个以上菌落计数。

10.4 结果报告

微生物计数结果以cfu/碟报告。

10.5 阴性对照试验

取同批次制备的培养皿作为阴性对照，与采样培养皿同法操作但不进行暴露采样，培养后阴性对照培养皿应无菌生长，否则测试无效。

11 试验报告

测试报告应包含以下内容：

- a) 测试洁净室(区)名称、地址；
- b) 测试洁净室(区)占用状态；
- c) 测试洁净室(区)环境条件；
- d) 测试洁净室(区)人数；
- e) 生产时间
- f) 测试人数；
- g) 测试时间；
- h) 测试依据；
- i) 采样方式
- j) 采样频率；
- k) 采样点数目及布置图；
- l) 培养基种类、培养条件、培养时间；
- m) 每个采样点表面微生物浓度。

附录 A 采样方法指南

（资料性附录）

B.1 概述

接触碟法、擦拭法、表面淋洗法、柔性薄膜法均能提供表面微生物监测数据，可评估医药工业洁净室（区）环境质量。方法需适用于被取样表面的类型，并且能够取样。

B.2 擦拭法

擦拭法可以对不适用于接触碟法的设备和不规则表面进行取样。

擦拭法使用的拭子可以由涤纶、尼龙或藻酸钙等物质组成，并且以棉束或纺纱材料的形式进行生产。

用 0.9%氯化钠溶液、pH7.0 氯化钠-蛋白胨缓冲液或其他经验证的洗脱液浸湿的无菌拭子擦拭取样点外表面 25cm² 的范围，来回涂擦 5 次，翻转取样棉签，再与前次擦拭移动方向垂直来回涂擦 5 次。取样过程尽可能采用固定力度、擦拭速度和擦拭线路。门把手等小型物体采用拭子直接涂抹物体采样。五指手套选用擦拭法时，被检者五指并拢，用洗脱液浸湿的无菌拭子在双手指曲面从指跟到指端往返涂擦 2 次。

根据取样后对拭子的处理方式，擦拭法可以提供定性或定量的结果。定性方法是取样后直接将拭子放入液体培养基中。定量方法是取样后，折断拭子手柄部分，将拭子置于洗脱液中，充分振荡得到供试液。取供试液，采用适宜的方法在培养基上按照《中国药典》通则 1105 进行供试品中微生物的回收。

B.3 表面冲洗法

这个方法推荐使用在对内表面有微生物污染水平要求的大面积的区域。此方法适用反应器、设备、轨道和罐体。通常使用无菌水与内表面进行接触然后对其进行收集和测试。由于样品量较大，通常使用膜过滤法对淋洗水进行测试。

B.4 柔性薄膜法

该方法是使用含有培养基的柔性薄膜，与以接触碟法类似的方式进行取样。这些薄膜也能提供一个规定的取样区域。将培养基薄膜的表面按压在一个平面上，以旋转滚动的方式，从而确保完全接触到柔性薄膜。将薄膜放置在培养箱中按验证过的时间进行培养。在培养结束后对生长的菌落进行计数。如同接触碟一样，柔性薄膜会在取样表面上留有培养基残留，也必须去除。

附录 B 方法适用性试验指南

（资料性附录）

A.1 概述

本附录为表面微生物测试方法适用性试验的设计提供指南。相较于空气微生物测试，洁净室（区）消毒中和剂的残留对表面微生物测试结果具有重要影响，应进行方法适用性试验确认消毒剂不会影响微生物的回收。

A.2 试验组

A.2.1 接种微生物

一般使用《中华人民共和国药典》推荐的标准菌株进行，必要时可加入从环境分离的具有代表性的菌株。从环境分离的具有代表性的菌株可包含革兰氏阳性杆菌、革兰氏阳性球菌、丝状霉菌或酵母、革兰氏阴性杆菌。

按照 10.2 采样步骤进行采样后，将微生物接种接触碟表面。接种菌数量宜小于 100cfu，以测试采样培养皿对较低数量微生物的促生长能力。接种体积宜不大于 0.1mL。

A.2.2 微生物回收

按照拟定好的培养条件和培养时间进行微生物回收。

A.3 菌液对照组

与试验组 A.2 同法操作，接种微生物，不进行表面微生物采样。

A.4 本底对照组

与试验组 A.2 同法操作，不接种微生物，进行表面微生物采样。

A.5 计算回收率

采用如下公式计算回收率：

$$\text{回收率} = \frac{\text{试验组} - \text{本底对照组}}{\text{菌液对照组}} \times 100\%$$

A.6 结果判断

每种接种微生物的回收率均应处于 50%~200%。