

YY

中华人民共和国医药行业标准

YY/T 0471.7—XXXX

接触性创面敷料试验方法 第7部分：微生物学

Test methods for primary wound dressing –
Part 7: Microbiological

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

(征求意见稿)

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

发 布

目 次

前 言 II

引 言 III

1 范围 4

2 规范性引用文件 4

3 术语和定义 4

4 无菌检查 5

5 细菌内毒素检查 7

6 生物负载测定 9

7 无菌试验 12

参 考 文 献 14

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。

本文件是YY/T 0471《接触性创面敷料试验方法》的第8部分。YY/T 0471已经发布了以下部分：

- 第1部分：液体吸收性
- 第2部分：透气膜敷料的水蒸气透过率
- 第3部分：阻水性
- 第4部分：舒适性
- 第5部分：阻菌性
- 第6部分：气味控制

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。

本文件由全国医用防护器械标准化工作组（SAC/SWG 30）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

引 言

在接触性创面敷料产品上进行的微生物学试验一般包括：

- 对无菌成品进行的无菌检查；
- 对无菌成品进行的细菌内毒素检查；
- GB/T 19973.1给出的用于灭菌过程的定义、确认和维护的生物负载测定；
- GB/T 19973.2给出的用于灭菌过程的定义、确认和维护的无菌试验；

本文件涵盖上述内容。

本文件给出的“无菌检查”适用于经受常规灭菌剂量或无菌加工的产品，是在参考各国药典等基础上根据接触性创面敷料的具体特点制定的。无菌检查常用于监督抽检。无菌检查若不符合规定，表明产品在该检验条件下发现微生物污染，该结论可以证实供试品代表的总体有存活微生物。无菌检查不能替代灭菌过程的开发、确认和常规控制用于产品放行。若要证明 10^{-6} 的无菌保证水平，需要对数百万件产品进行无菌检查。无菌检查是破坏试验，显然如此高的检验数量无法实现，故无菌检查无法用于证实供试品代表的总体满足 10^{-6} 的无菌保证水平。无菌检查若符合规定，仅表明供试品在该检验条件下未发现微生物污染，即“未检出”。

本文件给出的“细菌内毒素检查”适用于经受常规灭菌剂量或无菌加工的产品，是在参考各国药典、ISO 11737-3等基础上根据接触性创面敷料的具体特点制定的。细菌内毒素检查常用于日常质量控制以及监督抽检。本文件规定的方法包括凝胶法和光度测定法。为了减少鲎试剂的使用量和适应特殊医疗器械检查的需要，亦可使用新的细菌内毒素检查方法，如重组C因子法，微量凝胶法等。

本文件给出的“生物负载测定”适用于待灭菌的产品，是 GB/T 19973.1 在接触性创面敷料上的具体应用。生物负载包含微生物数量、特征和特性的范畴，非无菌产品微生物检查也属于宏观意义上的生物负载的范畴。制造商在制定非无菌接触性创面敷料的微生物污染检查方法时，可综合考虑法规标准的相关要求、产品特点、生产工艺和产品的预期用途等因素，制定包括需氧菌总数、霉菌和酵母菌总数、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌以及其它不可接受微生物等一项或多项检查方法。本文件给出的生物负载测定特指灭菌前产品上存活微生物总数的试验方法。

本文件给出的“无菌试验”适用于低于常规灭菌过程的灭菌因子处理后的产品，是GB/T 19973.2在接触性创面敷料的具体应用。无菌试验的应用示例包括建立辐射灭菌剂量、证明规定灭菌剂量的持续有效性、通过评估产品自然存在的生物负载来建立灭菌周期。为便于区分，本文件用“无菌检查”和“无菌试验”分别表示两种试验类型。

接触性创面敷料包含部分声称非无菌的产品。对于声称非无菌的产品，建议制造商采取相应的措施，将产品的微生物污染水平降至最低。附录A给出的“非无菌产品微生物检查指南”方法适用于声称非无菌的产品，制造商应根据产品特点，参考本文件设计开发适宜的微生物检查方法并进行确认。

YY/T 0471 由 8 个部分构成。

- 第 1 部分：液体吸收性。描述了评价接触性创面敷料液体吸收性方面的试验方法。
- 第 2 部分：透气膜敷料的水蒸气透过率。描述了评价接触性创面敷料水蒸气透过率的试验方法。
- 第 3 部分：阻水性。描述了评价接触性创面敷料阻水性的试验方法。
- 第 4 办法：舒适性。描述了评价接触性创面敷料舒适性的试验方法。
- 第 5 部分：阻菌性。描述了评价接触性创面敷料阻菌性的试验方法。
- 第 6 部分：气味控制。描述了评价接触性创面敷料阻抗气味透过的试验方法。
- 第 7 部分：微生物学。描述了接触性创面敷料进行微生物学试验的试验方法。
- 第 8 部分：生物学。描述了接触性创面敷料进行生物相容性评价的试验方法。

接触性创面敷料试验方法

第7部分：微生物学

1 范围

本文件规定了接触性创面敷料的微生物学试验方法，包括无菌检查、细菌内毒素检查、生物负载测定和无菌试验试验方法。

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。

ISO 11139:2018 Sterilization of health care products — Vocabulary of terms used in sterilization and related equipment and process standards

《中华人民共和国药典》（2025年版 四部）

GB18280.2 医疗保健产品灭菌 辐射 第2部分：建立灭菌剂量

GB/T 19973.1 医疗保健产品灭菌 微生物学方法 第1部分：产品上微生物总数的确定

GB/T 19973.2 医疗产品灭菌 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

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

无菌检查 test for sterility

在经无菌加工或灭菌工艺处理的产品上所进行的药典规定的技术操作。

[来源：ISO 11139:2018, 3.298]

3.2

直接接种法 direct inoculation method

无菌检查/无菌试验方法之一，系将产品直接浸没于液体培养基中进行培养。

3.3

薄膜过滤法 membrane filtration method

无菌检查/无菌试验方法之一，系将液体产品或非液体产品经过冲洗液洗脱后的洗脱液进行薄膜过滤，对滤膜进行培养。

3.4

细菌内毒素检查 bacterial endotoxin test

利用鲎试剂来检测或量化由革兰氏阴性菌产生的细菌内毒素，以判断产品中细菌内毒素的限量是否符合规定。

3.5

产品内毒素限值 product endotoxin limit

产品中内毒素的最大可接受量。

3.6

供试液内毒素限值 test solution endotoxin limit

由产品制备的供试液中内毒素的最大可接受量。

3.7

生物负载测定 test of bioburden
测定产品存活微生物总数的试验方法。

3.8

样品份额 sample item portion, SIP
用于测试医疗保健产品的规定部分。
[来源: ISO 11139:2018, 3.244]

3.9

回收率 recovery efficiency
衡量某一特定技术从产品上转移、采集和/或培养微生物的能力。
[来源: ISO 11139:2018, 3.228]

3.10

生物负载校正因子 bioburden correction factor
用以存活微生物计数时补偿无法完全从产品和/或微生物培养中采集的数值。
[来源: ISO 11139:2018, 3.24]

3.11

生物负载估计值 bioburden estimate
通过将生物负载校正因子应用于生物负载计数而确定的值。
[来源: ISO 11139:2018, 3.25]

3.12

无菌试验 test of sterility
开发、确认或再鉴定过程中要求的一项技术操作,用于确定产品或其份额上是否有存活微生物存在。
[来源: ISO 11139:2018, 3.299]

4 无菌检查

4.1 材料与仪器

4.1.1 培养基

无菌检查用培养基通常为硫乙醇酸盐流体培养基 (FTM) 和胰酪大豆胨液体培养基 (TSB)。培养基的配制、灭菌、贮藏以及质量控制等宜符合《中华人民共和国药典》2025年版 四部 1101无菌检查法和9203药品微生物实验室质量管理指导原则的要求。

4.1.2 菌种

无菌检查用菌种主要用于培养基的适用性检查、方法适用性试验及阳性对照试验等。菌种种类、来源、复苏、贮藏、传代、使用等宜符合《中华人民共和国药典》2025年版 四部 1101无菌检查法和9203药品微生物实验室质量管理指导原则的要求。

注: 方法回收率确认试验一般采用芽孢杆菌芽孢。

4.1.3 稀释液、冲洗液

无菌检查用稀释液、冲洗液通常为0.1 %无菌蛋白胨水溶液、pH7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液、0.9%无菌氯化钠溶液等,其制备宜符合《中华人民共和国药典》2025年版 四部 1101无菌检查法的要求。

4.1.4 培养容器

薄膜过滤器、试管、三角瓶等。

4.1.5 仪器

天平、压力蒸汽灭菌器、洁净工作台、生物安全柜、薄膜过滤装置、培养箱等。

4.2 试验环境

供试品处理及接种培养基宜在不低于静态ISO7级（10 000级）洁净实验室内的洁净工作台或生物安全柜内进行，或在不低于静态ISO8级（10 0000级）洁净实验室内的隔离器系统中进行。涉及生物安全的操作，应在生物安全实验室内的生物安全柜中进行。也可遵循《中华人民共和国药典》 2025年版 四部 9203药品微生物实验室质量管理指导原则中的环境要求。

4.3 方法设计及确认

4.3.1 方法设计

4.3.1.1 检验量

通常选择整件供试品（不含包装）进行每种培养基的检查。若供试品性状不允许，宜满足表1供试品的最少检验量要求。

表1 供试品的最少检验量

供试品	供试品装量	每支供试品接入每种培养基的最少量
贴类	/	约100mg或1cm×3cm
粉末类	<50 mg	全量
	≥50 mg，<300 mg	半量，但不得少于 50 mg
	≥300 mg，≤5 g	150 mg
	>5 g	500 mg
膏状类	/	取每支供试品，总量合计不少于200mg
液体类	<1 mL	全量
	≥1 mL，≤40 mL	半量，但不得少于1mL
	≥40 mL，≤100 mL	20mL
	V>100 mL	10%，但不得少于20mL

4.3.1.2 供试品处理及接种培养基

贴类供试品：取规定量，直接接种或剪碎后等量接种于各管足以浸没供试品的适量培养基中。宜保证培养基与供试品充分接触。若因产品浮力而无法满足这一要求，则宜实施相关程序对容器定期进行操作，以便在培养期间实现更充分的接触。对于有粘贴层的供试品，宜去掉防粘层，但要避免供试品粘贴在一起。分开的防粘层宜同时接种。若由于供试品的特性（如尺寸或产品抑菌性等）而无法使用直接接种法，可采用薄膜过滤法。

粉末类供试品、凝胶类供试品、膏状类供试品：对于水溶性供试品，取规定量，加适宜的稀释液溶解后薄膜过滤，如果使用直接接种法，则应考虑培养体系的改变（浓度、溶剂等）对培养基促生长能力的影响；对于非水溶性供试品，宜采用适宜的方法将其分散后直接接种。

液体类供试品：宜直接过滤。可成膜液体供试品成膜后将膜粉碎后直接接种。

对于含抑菌成分的供试品，应使用相应方法来中和、消除或者最大程度地降低（若不能中和或消除）抑菌物质的影响，如增加冲洗量、增加培养基的用量、使用中和剂或灭活剂、更换滤膜品种或者以上几种方法的组合。

4.3.1.3 培养及观察

宜参照《中华人民共和国药典》2025年版 四部1101无菌检查法进行培养及观察。

4.3.1.4 阳性对照

宜参照《中华人民共和国药典》2025年版 四部1101无菌检查法进行阳性对照试验。

4.3.1.5 阴性对照

宜参照《中华人民共和国药典》2025年版 四部1101无菌检查法进行阴性对照试验。

4.3.1.6 结果判断

宜符合《中华人民共和国药典》2025年版 四部1101无菌检查法的要求。

4.3.2 方法确认

4.3.2.1 方法适用性试验

进行供试品无菌检查时，宜参照《中华人民共和国药典》2025年版 四部1101无菌检查法进行方法适用性试验，以确认所采用的方法适合于该供试品的无菌检查。若检查方法或供试品等发生变化可能影响检验结果时，应重新进行方法适用性试验。

4.3.2.2 方法回收率确认试验

若需要通过洗脱方式采集产品中的微生物，除进行方法适用性试验外，宜结合风险评估及方法原理，参照GB/T 19973.1进行方法回收率确认试验来了解微生物回收率。

4.4 供试品测试

4.4.1 检验数量

一般宜随机抽取不少于2个最小包装的供试品。该检验数量不包括阳性对照试验供试品用量。

4.4.2 检验方法

宜采用经4.3.2确认的方法进行试验。

4.4.3 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 供试品名称、批号、规格型号；
- b) 检验数量；
- c) 检验量；
- d) 供试品处理及接种培养基方法；
- e) 观察结果；
- f) 结果判断。

5 细菌内毒素检查

5.1 材料与仪器

5.1.1 标准品

细菌内毒素国家标准品、细菌内毒素工作标准品等。宜符合《中华人民共和国药典》2025年版 四部 1143细菌内毒素检查法的要求。

5.1.2 鲎试剂

宜符合《中华人民共和国药典》 2025年版 四部 1143细菌内毒素检查法的要求。

5.1.3 细菌内毒素检查用水

用作溶剂、稀释剂及浸提介质。宜符合《中华人民共和国药典》 2025年版 四部 1143细菌内毒素检查法的要求。

5.1.4 反应容器

安瓿、试管、微孔板等。宜符合《中华人民共和国药典》 2025年版 四部1143细菌内毒素检查法的要求。

5.1.5 仪器

电热鼓风干燥箱、恒温水浴箱/试管恒温仪、动态试管检测仪、旋涡混合器等。

5.2 试验环境

细菌内毒素检查通常不需要在受控环境(例如洁净室，洁净工作台或生物安全柜等)内进行，试验人员应遵循基本的无菌技术以防止污染。

5.3 方法设计及确认

5.3.1 方法设计

5.3.1.1 供试液制备

贴类供试品：通常需要通过浸提的方式制备供试液。将整件供试品浸没于无热原器皿内，必要时可将供试品剪碎处理，加入一定体积的浸提介质，在（37±1）℃浸提不少于1 h，也可采用其他经验证的浸提条件。浸提介质体积的设计取决于供试品的尺寸和结构组成，应保证浸提介质能充分接触和浸提供试品。对于有粘贴层的供试品，宜去掉防粘层，但要避免供试品粘贴在一起。对于浸提时漂浮于水面、吸水性强或较大的供试品，在浸提过程中可持续搅拌或振荡以提供整个供试品的持续冲洗/浸提（代替完全浸没）。

粉末类供试品、凝胶类供试品、膏状类供试品：通常需要通过溶解、复溶、充分饱和或浸提等方式制备供试液。对于水溶性供试品，一般应使用内毒素检查用水溶解样品进行细菌内毒素检查；在水中溶解度较低的样品可以采取超声波、加热助溶、添加助溶剂、调节PH等方法提高其溶解度；某些易形成柔韧团块的供试品，不应仅通过冲洗团块外部来浸提，应采取适宜方法将其破坏，使包裹在内部的细菌内毒素完全释放，再进行检测。也可采用经验证的其他供试液制备方法。

液体类供试品：可直接将液体作为供试液；可成膜液体供试品，成膜后将膜粉碎，按照“贴类供试品”进行供试液制备。

5.3.1.2 供试液内毒素限值确定

供试液内毒素限值根据式（1）计算：

$$E = \frac{K \times N}{V} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- E—供试液内毒素限值(EU/mL)；
- K—产品内毒素限值(EU/件、EU/g、EU/mL等)；
- N—供试品量（件、g、mL等)；
- V—供试液体积（mL）。

5.3.1.3 检验技术选择

检验技术的选择应基于实验室能力、经验、数据处理要求和供试品性质进行，宜按照《中华人民共和国药典》 2025年版 四部1143细菌内毒素检查法中的凝胶法或光度测定法进行。

在选择凝胶法进行供试液内毒素检查时，须选择不大于供试液内毒素限值的适宜灵敏度的鲎试剂；如果没有合适灵敏度的鲎试剂，应在风险评估的基础上，通过调整浸提介质体积或产品内毒素限值以满足供试液内毒素检查需求。

5.3.1.4 结果判定

应符合《中华人民共和国药典》2025年版 四部1143细菌内毒素检查法的要求。

5.3.2 方法确认

供试品初次进行细菌内毒素检查之前应先参照《中华人民共和国药典》2025年版 四部1143细菌内毒素检查法进行干扰试验，以检验供试品对所选用的试验方法是否有抑制或增强作用。若鲎试剂、检查方法或供试品等发生可能影响检查结果的变化时，应重新进行干扰试验。

如果供试液存在干扰作用，通常通过稀释供试液排除干扰，稀释倍数不超过最大有效稀释倍数(MVD)。若供试液稀释到MVD仍不能排除干扰作用，可通过其他适宜的方法如过滤、中和、透析或加热处理等排除干扰。

最大有效稀释倍数(MVD)根据式(2)计算：

$$MVD = \frac{E}{\lambda} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

MVD—最大有效稀释倍数；

E—供试液内毒素限值（EU/mL）；

λ —所用鲎试剂灵敏度标示值（EU/mL）。

5.4 供试品测定

5.4.1 检验数量

同一批号一般宜随机抽取3~10个最小包装的供试品。

5.4.2 检验方法

宜采用经5.3.2确认的方法进行试验。

5.4.3 产品内毒素含量报告

一般以EU/件、EU/g、EU/mL为单位报告内毒素含量。

试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 供试品名称、批号、规格型号；
- b) 检验数量；
- c) 供试液制备方法；
- d) 检验方法
- e) 细菌内毒素限值；
- f) 结果判定。

6 生物负载测定

6.1 材料与仪器

6.1.1 培养基

生物负载测定用培养基通常为胰酪大豆胨琼脂培养基（TSA）。培养基的配制、灭菌、贮藏以及质量控制等应符合《中华人民共和国药典》2025年版 四部1105非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法和9203药品微生物实验室质量管理指导原则的要求。当产品中有疑似厌氧菌时，可增加适宜的培养基。

6.1.2 菌种

表2列举了生物负载测定常用菌种。以下菌种用于培养基的适用性检查、方法适用性试验。菌种的来源、复苏、贮藏、传代、使用等宜符合《中华人民共和国药典》 2025年版 四部1105非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法和9203药品微生物实验室质量管理指导原则的要求。

注1：方法回收率确认试验一般采用芽孢杆菌芽孢。
注2：必要时，增加从生产环境及产品常见中分离的常见污染菌株作为试验用菌株。

表2 常用菌种

菌种类型	常用菌种
需氧菌	金黄色葡萄球菌
	铜绿假单胞菌
	枯草芽孢杆菌
霉菌和酵母菌	白色念珠菌
	黑曲霉

6.1.3 洗脱液、稀释液

宜采用GB/T19973.1规定的洗脱液、稀释液。

6.1.4 仪器

天平、压力蒸汽灭菌器、生物安全柜、振荡仪或均质器、薄膜过滤装置、培养箱等。

6.2 试验环境

微生物采集及转移至培养基宜在不低于静态ISO8级（100000级）洁净实验室内的生物安全柜或洁净工作台内进行。涉及生物安全的操作，应在生物安全实验室内的生物安全柜中进行。也可遵循《中华人民共和国药典》 2025年版 四部 9203药品微生物实验室质量管理指导原则中的环境要求。

6.3 方法设计及确认

6.3.1 方法设计

6.3.1.1 样品份额（SIP）

宜符合GB/T19973.1的要求。

6.3.1.2 微生物采集

贴类供试品：将供试品浸入装有洗脱液的适当容器中，采用超声法、振摇法或袋蠕动（均质）法进行洗脱。宜规定接触时间、洗脱液用量、频率。对于有粘贴层的供试品，宜去掉防粘层，但要避免供试品粘贴在一起。分开的防粘层宜同时进行洗脱。

粉末类供试品、凝胶类供试品、膏状类供试品：对于水溶性供试品，取规定量，加适宜的稀释液溶解后装入适当容器中进行洗脱；对于非水溶性供试品，宜采用超声、旋涡混合或振摇将其分散后进行洗脱。

液体类供试品：可直接过滤进行检查。可成膜液体供试品成膜后将膜粉碎后进行洗脱。

对于含抑菌成分的供试品，应使用相应方法来中和、消除或者最大程度地降低（若不能中和或消除）抑菌物质的影响，如使用稀释法、中和法、过滤法或者以上几种方法的组合等。

6.3.1.3 移至培养基

取供试液，按照《中华人民共和国药典》 2025年版 四部1105非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法进行。

6.3.1.4 微生物培养

将TSA平板在（30～35）℃培养（3～7）天。
注：当产品中存在本培养条件无法检出的霉菌和酵母菌时，可改变培养条件或增加沙氏葡萄糖琼脂培养基（SDA）。

6.3.1.5 微生物计数

按照《中华人民共和国药典》2025年版 四部1105非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法进行。

6.3.2 方法确认

6.3.2.1 方法回收率确认试验

按照GB/T 19973.1进行方法回收率确认试验，得到生物负载校正因子。由于接触性创面敷料一般生物负载含量较低，通常选择产品接种法进行方法回收率确认试验，通过在产品上接种已知数量的选定微生物形成人工生物负载确定回收率。许多特殊产品或复杂产品存在不易接种或接种后不易干燥等情况，可将产品放置于自然环境或用菌悬液浸泡等方式提高其生物负载后，采用重复回收法来确认回收率。对不需要洗脱采集微生物的供试品，无需进行方法回收率确认试验。

6.3.2.2 方法适用性试验

若产品在生物负载测试条件下可能有抑菌作用，宜参照《中华人民共和国药典》2025年版 四部1105非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法进行方法适用性试验。

6.4 产品测试

6.4.1 检验数量

随机选取同批次3～10件产品。

6.4.2 检验方法

采用经6.3.2确认过的方法进行试验。

6.4.3 菌数报告

以每件产品为单位报告计数结果。

6.4.4 生物负载估计值

6.4.4.1 按式（3）计算每件产品的生物负载估计值。

$$M_i = f \times Y_i \dots\dots\dots (3)$$

式中：
M_i—第i件产品生物负载估计值，单位为菌落形成单位（CFU）；
f—生物负载校正因子；
Y_i—第i件产品菌落数，单位为菌落形成单位（CFU）。

6.4.4.2 所有产品生物负载估计值的均值即为该批产品生物负载估计值。

6.4.5 试验报告

- 试验报告中宜给出下列信息：
- a) 试品名称、批号、型号；
 - b) 检验数量；
 - c) 样品份额；
 - d) 微生物采集方法；
 - e) 生物负载校正因子；
 - f) 每个产品的生物负载估计值（若适用）；
 - g) 每批产品生物负载估计值（若适用）。

7 无菌试验

7.1 材料与仪器

7.1.1 培养基

无菌试验用培养基通常为胰酪大豆胨液体培养基（TSB）。培养基的配制、灭菌、贮藏以及质量控制等宜参照《中华人民共和国药典》2025年版 四部1101无菌检查法和9203药品微生物实验室质量管理指导原则进行。其中，培养基的适用性检查时培养温度为 $(30\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 。当产品中有疑似厌氧菌时，可增加适宜的培养基。

7.1.2 菌种

表2列举了无菌试验常用菌种，这些菌种用于培养基的适用性检查、方法适用性试验。菌种的来源、复苏、贮藏、传代、使用等宜符合《中华人民共和国药典》2025年版 四部1101无菌检查法和9203药品微生物实验室质量管理指导原则的要求。

注1：若适用，方法回收率确认试验一般采用芽孢杆菌芽孢。

注2：必要时，增加从生产环境及产品常见中分离的常见污染菌株作为试验用菌株。

7.1.3 稀释液、冲洗液

采用GB/T19973.1规定的洗脱液、稀释液。

7.1.4 培养容器

薄膜过滤器、试管、三角瓶等。

7.1.5 仪器

天平、压力蒸汽灭菌器、薄膜过滤装置、洁净工作台、生物安全柜、培养箱等。

7.2 试验环境

见4.2。

7.3 方法设计及确认

7.3.1 方法设计

7.3.1.1 样品份额（SIP）

宜符合GB/T19973.2的要求。

7.3.1.2 产品处理及接种培养基

见4.3.1.2

7.3.1.3 培养及观察

宜符合GB/T19973.2的要求。培养条件一般采用 $(30\pm 2)^{\circ}\text{C}$ ，培养14天。

7.3.1.4 阴性对照

见4.3.1.5。

7.3.1.5 结果判断

宜按照GB/T19973.2判断是否有微生物生长。

7.3.2 方法确认

7.3.2.1 方法适用性试验

见4.3.2.1。其中，培养温度为 (30 ± 2) ℃。

7.3.2.2 方法回收率确认试验

见4.3.2.2。

7.4 产品测试

7.4.1 检验数量

宜符合GB18280.2等灭菌过程确认及常规控制标准要求。

7.4.2 检验方法

采用经7.3.2确认的方法进行试验。

7.4.3 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 产品名称、批号、型号；
- b) 灭菌日期；
- c) 灭菌批号；
- d) 灭菌剂量（若适用）；
- e) 检验数量；
- f) 样品份额；
- g) 产品处理及接种培养基方法；
- h) 观察结果；
- i) 结果判断。

参 考 文 献

- [1] GB/T19973.1 医疗保健产品灭菌 微生物学方法 第1部分：产品上微生物总数的确定
- [2] GB/T19973.2 医疗产品灭菌 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
- [3] GB18280.3 医疗保健产品灭菌 辐射 第3部分：剂量测量指南
- [4] YY/T0618 医疗器械细菌内毒素试验方法常规监控与跳批检验
- [5] 《中华人民共和国药典》第四部
- [6] ISO 11737-1 Sterilization of health care products —Microbiological methods — Part 1:Determination of a population of microorganisms on products
- [7] ISO 11737-2 Sterilization of health care products-Microbiological methods-Part 2:Tests of sterility performed in the definition,validation and maintenance of a sterilization process