



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1623—2018

可重复使用医疗器械灭菌过程有效性的 试验方法

**Test method of effectiveness of sterilization processes for
reusable medical devices**

2018-09-21 发布

2019-09-26 实施

国家药品监督管理局 发布

目 次

前言	Ⅲ
引言	Ⅳ
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 概述	2
5 试验器材	2
6 试剂	2
7 步骤	3

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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这些专利的责任。

本标准由国家药品监督管理局提出。

本标准由全国消毒技术与设备标准化技术委员会(SAC/TC 200)归口。

本标准起草单位：广东省医疗器械质量监督检验所、杭州德诺科技有限公司、威海威高海盛医用设备有限公司。

本标准主要起草人：黄鸿新、林曼婷、周志龙、江为、梁泽鑫。

引 言

本标准介绍了确定可重复使用医疗器械灭菌过程有效性的试验方法,该方法是一种实际操作的试验方法。本标准适用于按照器械制造商的说明进行清洗和灭菌的可重复使用医疗器械。

本标准设定可重复使用医疗器械经清洗后无可见污垢,但仍可能有一定残留的生物负载。可使用菌悬液模拟最难灭菌的生物负载。市售的菌悬液可用于器械染菌。

相对于可重复使用医疗器械上的自然菌,由于细菌芽孢对测试灭菌剂具有更强的抗力,因此作为试验微生物。应确定所用细菌芽孢满足所要评价的特定灭菌过程和灭菌剂相应的抗力(D 值)要求。

基于器械的复杂性、尺寸大小和相容性(用于长期培养)或长期浸泡所造成的不利因素,采用直接接种法用于无菌试验是不可行的。因此,应使用洗脱、冲洗和棉拭子擦拭等技术回收已染菌器械的试验微生物。

本试验方法中的细菌芽孢染菌技术仅仅是器械无菌试验方法中的一种可行方法。细菌芽孢条(生物指示物)是用于灭菌过程监测的一种传统工具,也适用于医疗器械的灭菌评价。

本标准的意义是证明已清洗的可重复使用医疗器械经特定灭菌过程后,其所有可接触表面和内部管腔均可达到无菌水平。

可重复使用医疗器械灭菌过程有效性的 试验方法

1 范围

本标准规定了用于确定可重复使用医疗器械灭菌过程有效性的试验方法。本标准适用于对已建立灭菌过程有效性的试验,不适用于灭菌过程的验证。

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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 18281.2 医疗保健产品灭菌 生物指示物 第2部分:环氧乙烷灭菌用生物指示物

GB 18281.3 医疗保健产品灭菌 生物指示物 第3部分:湿热灭菌用生物指示物

GB 18281.4 医疗保健产品灭菌 生物指示物 第4部分:干热灭菌用生物指示物

中华人民共和国药典(2015版)四部

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

生物负载 bioburden

一件产品和/或包装上或其中存活的微生物总数。

3.2

菌落形成单位 colony forming unit; CFU

微生物在固体培养基上生长繁殖所形成的肉眼可见的集落。

3.3

菌悬液 inoculum

用于染菌受试样品或器械的一定数量(通常用 CFU 来表示)和类型(基因和种群)的存活微生物。

3.4

灭菌剂 sterilant

可杀灭一切微生物(包括细菌细菌芽孢)使其达到灭菌要求的制剂。

3.5

无菌 sterile

无存活微生物。

3.6

回收菌量对照 recovery control

染菌和干燥未经灭菌处理的器械,对其每件的内部或表面进行回收得到的菌落形成单位(CFU)。

3.7

过程测试周期 process test cycle

使用制造商规定范围内的灭菌参数的一个完整灭菌周期。

3.8

可重复使用医疗器械 reusable medical devices

制造商声明处理后可再次使用的医疗器械。

4 概述

4.1 本标准通过分析回收菌量对照和过程测试周期结果来确定灭菌过程的有效性。回收菌量对照应大于或等于 10^6 CFU/件。

4.2 残留细菌芽孢通过洗脱液冲洗、擦拭或灌注的方式进行回收。可通过机械震荡、超声和洗脱液重复冲洗等方法来提高回收率。

4.3 样品经过一个完整的灭菌过程处理后,应采用特定的洗脱技术回收器械上的所有残留细菌芽孢。

4.4 最少用 5 件器械进行一次过程测试周期,或一件器械最少进行连续 5 次过程测试周期,若均通过,则证明该灭菌过程有效。

4.5 从事该标准检测人员应具备微生物学或相关专业知识的教育背景。

4.6 无菌检查和微生物限度检查应符合《中华人民共和国药典》(2015 版)四部的相应要求。

5 试验器材

应至少包括以下器材:

- a) 无菌棉拭子;
- b) 压力蒸汽灭菌器;
- c) $(48 \pm 2)^\circ\text{C}$ 的恒温水浴箱;
- d) $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$ 和 $(55 \pm 2)^\circ\text{C}$ 的细菌培养箱;
- e) $0.45 \mu\text{m}$ 孔径的一次性或可重复使用的无菌膜过滤器;
- f) 灭菌剂、医疗器械或灭菌器制造商指定的其他装置或设备。

6 试剂

6.1 试剂的纯度

所有试验应使用化学纯试剂。除非另有说明,应保证试验中所有的试剂符合相应现行国家标准的规定。如使用其他纯度试剂,应确定试剂具有更高的纯度,保证使用时没有降低要求的准确度。

6.2 水的纯度

除非另有说明,试验用水都应符合 GB/T 6682 中规定的三级水。

6.3 培养基

6.3.1 制备培养基和洗脱液,应使用 GB/T 6682 中规定的三级水或者更高级别的水。

6.3.2 无菌洗脱液。见《中华人民共和国药典》(2015 版)四部中冲洗液的制备方法。

6.3.3 胰酪大豆胨液体培养基。根据每个试验选择常用浓度或者双倍浓度,加入中和剂灭菌(若需要),并选择合适的体积。见《中华人民共和国药典》(2015 版)四部中液体培养基的制备方法。

6.3.4 胰酪大豆胨琼脂培养基。根据每个试验选择常用浓度或者双倍浓度,加入中和剂灭菌;在(48±2)℃的温度下使用。见《中华人民共和国药典》(2015版)四部中琼脂培养基的制备方法。

6.4 试验微生物/菌悬液

6.4.1 湿热灭菌用标准菌悬液为:包含 10^8 CFU/mL的嗜热脂肪细菌芽孢杆菌,达到GB 18281.3的蒸汽灭菌抗力标准。

6.4.2 环氧乙烷或干热灭菌用标准菌悬液为:包含 10^8 CFU/mL的枯草细菌芽孢杆菌,达到GB 18281.2的环氧乙烷抗力标准或GB 18281.4的干热灭菌抗力标准。

6.4.3 若以上微生物对灭菌剂不适用,或以上灭菌方法不适用,需用其他微生物,应提供证据和实验数据证明该微生物的适用性。

6.4.4 应确认细菌芽孢菌株的来源、生产、储存和保质期,符合国家的相关规定。

6.5 中和剂

若使用中和剂,见《中华人民共和国药典》(2015版)四部1105非无菌产品微生物限度检查:微生物计数法中中和剂的说明。

7 步骤

7.1 选取所需评估器械。

7.2 阅读每个所需评估器械的清洗说明,保证所有需要的配件齐全并可用。按照制造商的说明对器械进行清洗、干燥。

7.3 对器械进行染菌,染菌部位应包括器械最难灭菌部位。染菌部位的数量应根据器械复杂程度而定。用于识别和证明器械最难灭菌部位的理由应形成文件。

7.4 用于染菌、洗脱、对照试验、中和、促生长(灵敏度检查)和过程测试周期的操作步骤,实验室应当进行验证,制定标准操作规范。

7.5 回收菌量对照的确定

7.5.1 表面部位染菌

7.5.1.1 微量移液器法

采用微量移液器直接将包含大于等于 10^7 CFU菌悬液滴染到表面部位。若制造商规定了器械在无菌过程前的干燥要求,则干燥染菌液。将器械浸泡在洗脱液中或立即冲洗或用棉拭子擦拭染菌部位后转至无菌试管或其他无菌容器中。振荡使其彻底混匀。做梯度稀释,吸取1 mL适宜梯度的稀释液至培养皿,将冷却至不超过45℃的融化琼脂培养基,倾注于已加样液的平皿中,每平皿15 mL~20 mL。待琼脂凝固后,置适宜温度培养。培养48 h后进行菌落计数,并每天重复计数直到7 d。通过选择适合的培养皿进行计数,确定每个稀释级别的平均微生物数量,然后使用稀释因子计算出染菌器械上的微生物总数。得出所有重复试验数据的平均值。

7.5.1.2 棉拭子法

将包含大于等于 10^7 CFU菌悬液菌悬液湿润一个无菌棉拭子,擦拭选择的部位。若制造商规定了器械在无菌过程前的干燥要求,则干燥染菌液。应立即洗脱和擦拭染菌器械表面来进行微生物计数。如7.5.1.1所述进行梯度稀释和倒平板进行微生物计数。得出所有重复试验数据的平均值。

7.5.2 内部部位染菌

适当连接医疗器械制造商推荐的清洗或冲洗的配件,将包含大于或等于 10^7 CFU菌悬液菌悬液灌洗内腔或凹壁处进行染菌。若制造商规定了器械在无菌过程前的干燥要求,则干燥染菌液。用一个无菌灌洗器械(如注射器、泵等),采用无菌操作技术,用一定量的洗脱液灌洗内腔或凹壁处洗脱器械上的

菌悬液。收集所有洗脱液,充分混匀,如 7.5.1.1 所述进行梯度稀释和倒平板进行微生物计数。得出所有重复试验数据的平均值。

注:干燥时,细小管腔可能很难干燥。

7.6 促生长(灵敏度检查)和中和控制

应通过试验说明任何中和剂可停止灭菌剂的抗菌作用,不抑制试验细菌芽孢的萌发或生长。见《中华人民共和国药典》(2015 版)四部中中和剂的试验方法。

7.7 过程测试周期结果的确定

7.7.1 重复 7.5.1.1、7.5.1.2 或 7.5.2 描述的步骤,除洗脱步骤外,对器械进行一个完整的灭菌过程。根据灭菌剂或灭菌器的制造商说明,在灭菌室及其过程中放置染菌后的器械。

7.7.2 经灭菌处理后器械需过程测试周期,可采用以下三种方式进行无菌试验。同时进行阳性对照和阴性对照试验,见《中华人民共和国药典》(2015 版)四部 1100 生物检查法中阳性对照和阴性对照的说明。

7.7.2.1 染菌器械直接浸泡在培养基中。采用无菌操作技术将这些器械直接转至培养基中,培养并逐日观察微生物生长情况,共 7 d。

7.7.2.2 经过灭菌周期后,确保回收菌量对照(7.5)的洗脱技术能回收所有残留细菌芽孢。无菌试验的洗脱过程应在严格的无菌条件下进行。培养所有的洗脱液。不大于 50 mL 的小容量洗脱液,可加入到相同容量的两倍浓度的培养基中。如从器械内腔洗脱收集得到的大量洗脱液,应通过薄膜过滤器进行无菌过滤,然后含有适宜的液体培养基的容器内将滤膜充分浸没培养。所有容器应在微生物最适宜的温度下培养,逐日观察微生物生长情况,共 7 d。

7.7.2.3 若染菌部位需用棉拭子进行采样,则用洗脱液湿润一个无菌棉拭子,并严格地擦拭整个染菌部位。采用无菌技术,将棉拭子前端剪断到含 10 mL 培养基的试管中。超声或涡旋振荡出棉拭子上采集到的细菌芽孢。试管培养 7 d,逐日观察微生物生长情况。

7.7.3 最少用 5 件器械进行一次过程测试周期,或一件器械最少进行连续 5 次过程测试周期。在每次试验后对器械进行清洗、干燥(如有说明)和再染菌。

7.7.4 培养 7 d,逐日观察试验结果,阳性对照应生长良好,阴性对照不得有菌生长。否则,试验无效;若供试品管均澄清,或虽显浑浊但经确证无菌生长,判供试品无菌;若供试品管中任何一管显浑浊并确证有菌生长,判供试品不无菌,除非能充分证明试验结果无效,即生长的微生物非供试品所含。

7.7.5 当出现一个或多个试验无效时,应确定、记录失败的原因,并进行纠正,直到获得连续 5 个均通过的过程测试周期结果。