



中华人民共和国医药行业标准

YY 0719.3—2009

眼科光学 接触镜护理产品 第3部分:微生物要求和试验方法 及接触镜护理系统

Ophthalmic optics—Contact lens care products—
Part 3: Microbiological requirements and test methods for products and regimens
for hygienic management of contact

(ISO 14729:2001, MOD)

2009-06-16 发布

2010-12-01 实施



国家食品药品监督管理局 发布

目 次

前言	Ⅲ
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 原则	1
5 性能要求	2
6 试验方法	3
附录 A (资料性附录) 其他菌种保藏机构的试验菌	9
附录 B (资料性附录) 膜过滤法操作程序实例	10
附录 C (资料性附录) 技术报告:病毒试验	11
附录 D (资料性附录) 技术报告:棘阿米巴试验	12
附录 E (资料性附录) 技术报告:实验室试验中的人工泪液(有机物)	13

前 言

YY 0719《眼科光学 接触镜护理产品》分为 7 个部分：

- 第 1 部分：术语；
- 第 2 部分：基本要求；
- 第 3 部分：微生物要求和试验方法及接触镜护理系统；
- 第 4 部分：抗微生物防腐有效性试验及测定抛弃日期指南；
- 第 5 部分：接触镜和接触镜护理产品物理相容性的测定；
- 第 6 部分：有效期测定指南；
- 第 7 部分：生物学评价试验方法。

本部分为 YY 0719 的第 3 部分，本部分修改采用 ISO 14729:2001《眼科光学 接触镜护理产品微生物要求和试验方法及接触镜消毒过程》。

本部分与 ISO 14729:2001 的主要差异如下：

- 增加了大肠杆菌(ATCC 8739 或 8099)用于抗微生物活性试验。

本部分的附录 A、附录 B、附录 C、附录 D、附录 E 为资料性附录。

本部分由全国医用光学和仪器标准化分技术委员会(SAC TC 103/SC 1)提出并归口。

本部分起草单位：国家食品药品监督管理局杭州医疗器械质量监督检验中心。

本部分主要起草人：陈靖云、虞海蓉、李家忠、马莉、何涛、齐伟明。

眼科光学 接触镜护理产品

第3部分:微生物要求和试验方法 及接触镜护理系统

1 范围

YY 0719 的本部分规定了两种方法用于评价上市产品的抗微生物活性,包括通过化学方式进行接触镜消毒护理产品和接触镜系统消毒护理产品。

本部分不适用于试戴镜片的卫生处理。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 YY 0719 本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本部分,然而,鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本部分。

YY 0719.1 眼科光学 接触镜护理产品 术语

YY 0719.2 眼科光学 接触镜护理产品 基本要求

3 术语和定义

YY 0719.1 确立的术语和定义适用于 YY 0719 的本部分。

4 原则

4.1 概要

直接杀菌试验是为验证具有适当的抗微生物活性水平的接触镜消毒护理产品溶液是否合格而设定的。模拟杀菌试验是为验证接触镜系统消毒护理产品溶液是否合格而设定的。符合模拟杀菌试验标准的产品应同时符合直接杀菌试验的最低性能要求。产品(未开启包装)在标示的有效期内能符合试验要求。

如图 1 所述,具有消毒特性的接触镜护理溶液首先应进行直接杀菌试验。如果符合直接杀菌试验的一类规范(见 5.1),则产品属于接触镜消毒护理产品。如果产品不符合直接杀菌试验的一类规范,则其应显示足够的抗微生物活性以符合 5.2 中的直接杀菌试验的二类规范,如果符合二类规范,则应进行模拟杀菌试验以验证作为接触镜系统消毒护理产品是否符合模拟杀菌试验标准(见 5.3)。如果产品符合直接杀菌试验的二类规范及模拟杀菌试验标准而不符合直接杀菌试验的一类规范,则产品属于接触镜系统消毒护理产品。

设计用于接触镜的清洁和消毒的接触镜护理产品时应考虑到使用者的依从性以及发生依从性问题的可能。例如,消毒时间必须适于接触镜的配戴。

注:多个或混合微生物的使用能影响特殊产品的表观消毒活性。对大量微生物的试验及抽取使用容器中部分样品的试验来评价其变化对发展接触镜护理产品可能是有价值的,但不在本部分的范围之内。

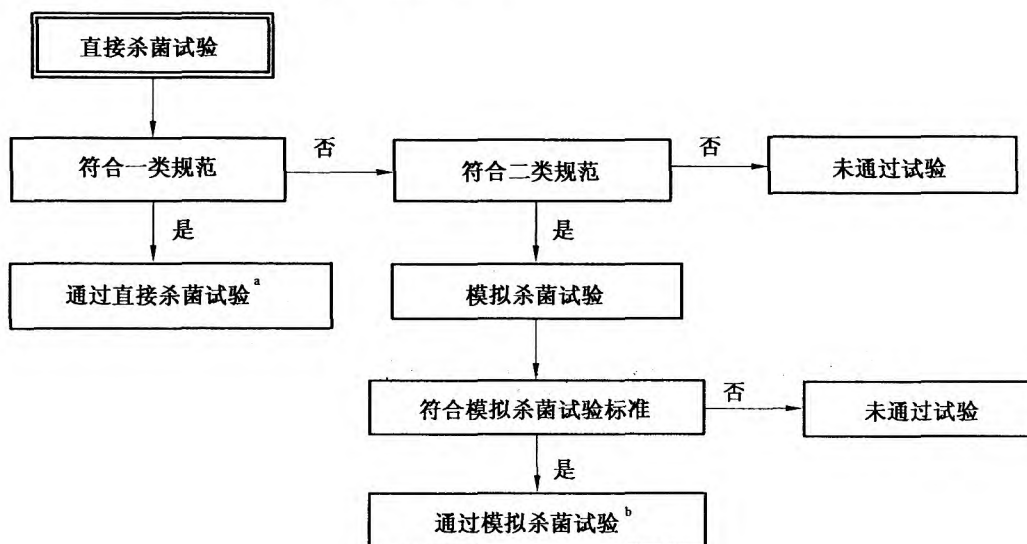
4.2 直接杀菌试验(悬液杀菌试验)

直接杀菌试验是将一定浓度范围的标准试验菌接入消毒产品中,在预定的、与产品使用相当的时间内测定试验菌活性降低的程度。本试验中所用的试验菌的量并不代表实际中可能的微生物量,而是提供可计数的量来估算微生物活性降低率和程度。

进行抗微生物活性试验时,应通过分析法或推断法定性和定量了解样品的组分。

在培养和计数存活试验菌的过程中,应采取合适的方法除去残留的抗菌剂或使其失效,该方法的有效性应经过验证。试验时应进行相应的对照试验。

注:病毒试验信息见附录 C,棘阿米巴试验见附录 D。



^a 产品属于接触镜消毒护理产品。

^b 产品属于接触镜系统消毒护理产品。

图 1 直接杀菌试验和模拟杀菌试验的流程图

4.3 模拟杀菌试验

本试验是将一定浓度范围的标准试验菌接入多功能消毒护理系统中,经预定的时间后测定试验菌活性降低程度。模拟杀菌试验通过将试验菌接入接触镜来进行。

本试验程序适用于多功能消毒护理系统包括清洁、冲洗和浸泡等步骤。在进行模拟杀菌试验时,按照产品标签和/或使用说明上建议的方法和用量来使用样品。

用本试验评价任一接触镜消毒系统的消毒步骤,应符合图 1 所述的直接杀菌试验的最低要求。只有符合直接杀菌试验的最低性能要求的产品才可进行模拟杀菌试验。

进行抗微生物活性试验时,应通过分析法或推断法定性和定量了解样品的组分。

在培养和计数存活试验菌的过程中,应采取合适的方法除去残留的抗菌剂或使其失效,该方法的有效性应经过验证。试验时应进行相应的对照试验。

注:人眼使用状态中镜片的相关问题见附录 E。

5 性能要求

5.1 直接杀菌试验:一类规范(见表 1)

5.1.1 细菌

在最短的推荐浸泡时间内,每种试验菌每毫升恢复生长菌数平均减少值应不少于 99.9% (3.0log_s)。

注:数值是由每批样品每种试验菌的平均对数减少值来确定的。

5.1.2 霉菌和酵母菌

在最短的推荐浸泡时间内,每种试验菌每毫升恢复生长菌数平均减少值应不少于 90% (1.0log),

并在不少于四倍的最短推荐浸泡时间内菌数不增加,试验误差在±0.5logs。

注:数值是由每批样品每种试验菌的平均对数减少值来确定的。

5.2 直接杀菌试验:二类规范(见表 1)

产品不符合 5.1.1 或 5.1.2 中的一类规范时,应按 6.4 所述的模拟杀菌试验步骤进行评价,在推荐的浸泡时间内,对三种细菌的平均减少值之和至少为5.0logs,且任一细菌的平均减少值至少为1.0log。在推荐的浸泡时间内,酵母菌和霉菌出现生长停滞,试验误差在±0.5logs。

5.3 模拟杀菌试验:模拟杀菌试验标准(见表 1)

对每种试验菌,对每种镜片类型/贮存液的组合,模拟杀菌试验的平均恢复生长菌数(对所有被测样品)应不超过 10 CFU。

从超过一种镜片类型的试验中得到的数据不能一起计算平均值。

注:当用一种类型的镜片来验证接触镜护理产品的模拟杀菌试验时,每种试验菌的平均计数值应为 24 个经接种和处理的同一类型镜片中得到的数据的平均值。当用超过一种镜片来进行接触镜护理产品的模拟杀菌试验时,按镜片类型,每种试验菌的平均计数值应为 12 个经接种和处理的同一类型的镜片中得到的数据的平均值。使用镜片数量见表 4。

表 1 接触镜消毒程序性能要求汇总

试验	浸泡时间平均对数减少值				
	真菌		细菌		
	FS ^a	CA ^a	EC ^a 或 SM ^a	PA ^a	SA ^a
直接杀菌试验:一类规范	1	1	3	3	3
直接杀菌试验:二类规范	b	b	c	c	c
模拟杀菌试验:模拟杀菌试验标准 ^d	≈4 至 5	≈4 至 5	≈4 至 5	≈4 至 5	≈4 至 5
^a PA =绿脓杆菌 ATCC 9027; SA=金黄色葡萄球菌 ATCC 6538; EC=大肠杆菌 ATCC 8739 或 8099,或 SM=粘质沙雷菌 ATCC 13880; CA=白色念珠菌 ATCC 10231; FS=茄科镰刀菌 ATCC 36031。 ^b 在浸泡时间内生长停滞。 ^c 三种细菌可接受的对数减少值之和至少为 5,且任一细菌可接受的对数减少值至少为 1。 ^d 即每种镜片类型/贮存液的组合的平均值不超过 10 CFU。					

6 试验方法

6.1 材料和试剂

直接杀菌试验程序和模拟杀菌试验程序所用的材料和试剂(即试验菌、培养基和试剂、器材和样品)均相同。

6.1.1 试验菌

用表 2 所列菌株进行试验。

注:可使用附录 A 中其他菌种保藏机构的试验菌。

表 2 试验菌

菌株名称	等同 ATCC 编号
绿脓杆菌	ATCC 9027
金黄色葡萄球菌	ATCC 6538
大肠杆菌 或粘质沙雷菌	ATCC 8739 或 8099 或 ATCC 13880
白色念珠菌	ATCC 10231
茄科镰刀菌	ATCC 36031

6.1.2 培养基和试剂

6.1.2.1 土豆-葡萄糖琼脂(PDA)或其他适用培养基。

6.1.2.2 胰蛋白胨大豆琼脂(TSA)或其他适用培养基。

6.1.2.3 沙氏葡萄糖琼脂(SDA)或其他适用培养基。

6.1.2.4 不含氯化钙和氯化镁的杜尔贝科(Dulbecco)磷酸盐缓冲液(DPBS):200 mg/L 的氯化钾,200 mg/L的磷酸二氢钾,8 000 mg/L 的氯化钠以及 2 160 mg/L 的七水磷酸氢二钠或合适的稀释液。

6.1.2.5 杜尔贝科(Dulbecco)磷酸盐缓冲液,加 0.05%聚山梨酯-80(DPBST)或合适的稀释液。

6.1.2.6 按要求经验证的中和剂/培养基,例如 Dey-Engley 中和肉汤(DEB)和 Letheen 肉汤¹⁾。

6.1.3 试验器材

需配备下列实验室常用器材。

6.1.3.1 无菌移液管。

6.1.3.2 擦拭子。

6.1.3.3 试管。

6.1.3.4 培养皿(90 mm~100 mm×20 mm)。

6.1.3.5 培养箱。

6.1.3.6 分光光度计,用于测定试验菌液浓度。

6.1.3.7 菌落计数仪。

6.1.3.8 离心机。

6.1.4 试验样品

试验样品应为上市的代表性产品。试验前从成品容器中直接取样。

应取三批样品用每种经制备的接种菌进行试验。

6.1.5 试验菌的维护

按菌种保藏机构的建议维护试验菌。

使用来自保藏菌种(ATCC, NCIB, NCTC, NCPF 或其他认可的菌种保藏机构,见附录 A)不超过 5 次传代的菌种。每一次传代是前一次传代的次培养菌。

6.2 试验菌(接种菌)的制备

直接杀菌试验程序和模拟杀菌试验程序的试验菌(接种菌)的制备是相同的。

对于模拟杀菌试验程序,可以在接种物内添加有机物。见附录 E 例子。

按表 3 的条件在琼脂斜面上培养每种试验菌。

1) Dey-Engley 中和肉汤(DEB)和 Letheen 肉汤是适用商品的例子,该信息为本标准使用者提供方便并不对其进行规定。

表 3 试验菌生长的培养基和培养条件

试验菌	培养基	温度℃	培养时间
绿脓杆菌	TSA	30~35	18 h~24 h
金黄色葡萄球菌	TSA	30~35	18 h~24 h
大肠杆菌或粘质沙雷菌	TSA	30~35	18 h~24 h
白色念珠菌	SDA	20~25	42 h~48 h
		或 30~35	18 h~24 h
茄科镰刀菌	PDA	20~25	10 d~14 d

用无菌的 DPBST 或合适的稀释液收集每种培养菌,冲洗培养基表面生长菌,转移至合适的试管内并漩涡混合均匀。采用无菌玻璃棉、粗滤布或纱布过滤茄科镰刀菌混悬液,除去菌丝碎片。

收集培养菌后,可用离心法洗涤培养菌。细菌混悬液可用过滤(如 $3\ \mu\text{m}$ ~ $5\ \mu\text{m}$ 孔径)制得单菌分散液。然后用 DPBST 或其他合适的稀释液将所有试验菌混悬液的浓度调节至 1.0×10^7 CFU/mL~ 1.0×10^8 CFU/mL。用浊度法或分光光度法测定混悬液来估算每种菌液的近似浓度。试验时,如用平板计数法来测定每种菌液的实际浓度即每毫升菌落数(CFU/mL)。

若使用离心法,离心操作应在 $20\ ^\circ\text{C}$ ~ $25\ ^\circ\text{C}$ 进行,在相当于 $4\ 000\ g$ 或更小转速下离心不超过 10 min。离心时间延长则要求转速更低。

细菌和酵母菌混悬液在制备当天使用。在冷藏($2\ ^\circ\text{C}$ ~ $8\ ^\circ\text{C}$)条件下储存孢子混悬液可使用至制备后 7 d。

6.3 直接杀菌试验程序

6.3.1 接种试验程序

6.3.1.1 对每批样品、每种试验菌,准备一个或多个可移入至少 10 mL 试验溶液的试管。

注:用试管而不用镜片盒,以便试验的有效技术操作。由于样品溶液成分和试管材料之间可能存在不相容性,宜使用与溶液成分相容的试管。

在样品管中接入一种试验菌液,使其菌液浓度在 1.0×10^5 CFU/mL~ 1.0×10^6 CFU/mL 之间。保证接种菌的体积不超过样品体积的 1%。充分混合使接种菌完全分散。

6.3.1.2 在 $20\ ^\circ\text{C}$ ~ $25\ ^\circ\text{C}$ 存放接种样品。监测存放温度并作记录。

若产品对光敏感,试验过程宜避光操作。

6.3.1.3 对所有试验菌,在最短的推荐消毒时间的 25%、50%、75% 和 100% 时,另外,对霉菌和酵母菌在不少于最短的推荐消毒时间的 400% 时,取 1.0 mL 接种样品测定活菌数。如果建议接触镜消毒过夜,则使用浸泡时间为 8 h。

6.3.1.4 在规定的时间内,吸取 1.0 mL 样品,移入经验证的中和培养基中进行系列 10 倍稀释。用漩涡方式使混悬液充分混匀,然后静置使中和完全。中和条件基于恢复生长培养基对照试验(见 6.3.2.2)。

若样品中的抗微生物剂未充分失效或被中和,则用经验证的膜过滤法除去(见附录 B)。

6.3.1.5 对合适的稀释液,用恢复生长培养基(如细菌用 TSA,酵母菌用 SDA 和霉菌用 PDA)制备的平板来测定活菌数,重复三次(除另有规定)。

如果用膜过滤方法除去或中和抗微生物剂,将滤膜放置在相应的培养基上进行培养。

如果用倾倒平板的方法,保持倾倒前的琼脂低于 $50\ ^\circ\text{C}$ 。

必要时,用于测定活菌数的琼脂培养基也可含有抗菌失效剂或中和剂。

6.3.1.6 在 $30\ ^\circ\text{C}$ ~ $35\ ^\circ\text{C}$ 培养细菌恢复生长平板;在 $20\ ^\circ\text{C}$ ~ $25\ ^\circ\text{C}$ 或 $30\ ^\circ\text{C}$ ~ $35\ ^\circ\text{C}$ 培养酵母菌恢复生长平板;在 $20\ ^\circ\text{C}$ ~ $25\ ^\circ\text{C}$ 培养霉菌恢复生长平板。细菌、酵母菌和霉菌的最佳恢复生长的培养时间应确定。最短培养时间基于恢复生长培养基对照试验(见 6.3.2)。记录在平板上观察到的活菌数(CFU)。

注:培养期间应定时地观察平板以防出现由于过度生长而无法计数的现象。

6.3.1.7 确定可计数平板上的平均菌落数。计算在规定时间点的微生物减少值。

注：可计数平板指细菌和酵母菌为 30 CFU/皿~300 CFU/皿，霉菌为 8 CFU/皿~80 CFU/皿，仅在 10^0 或 10^{-1} 的稀释级平板上观察到的除外。

6.3.1.8 在某一试验时间点，当所有样品稀释级的平板上没有菌落生长时，如用“0”或“NR”（没有恢复生长）来记录微生物没有生长。

6.3.2 对照试验

6.3.2.1 接种菌对照

通过将等量的接种菌接入如 6.3.1.1 所用的相同体积的适当的稀释液（如 DPBST）中，使菌液浓度达到 $1.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^6$ CFU/mL 进行接种量计数。保证接种菌的体积不超过溶液体积的 1%。充分混合使接种菌完全分散。在试验开始时估算对照溶液的每毫升菌落数（CFU/mL）为了证明用于试验菌生长的培养基的适用性，并用来推算初始接种菌浓度。从每个试管中吸取适量涂布在恢复生长琼脂平板上，重复三次（除另有规定）。

6.3.2.2 恢复生长培养基对照

将消毒产品以 1/10 比例稀释至验证过的中和肉汤中混匀（1 mL 消毒产品加入 9 mL 中和肉汤中）。将混合液静置，使中和作用完全。准备第二支对照管，加入 10 mL 适合的稀释液（如 DPBST）。将适量试验菌接入上述试管中使每个平板接种菌为 10 CFU~100 CFU。在环境温度下培养适当时间，但不能有足够的时间使接种菌出现增殖。从每个试管中吸取适量溶液涂布至恢复生长琼脂平板上，重复三次（除另有规定）。

在 30 °C~35 °C 培养细菌恢复生长平板；在 20 °C~25 °C 或 30 °C~35 °C 培养酵母菌恢复生长平板；在 20 °C~25 °C 培养霉菌恢复生长平板。确定细菌、酵母菌和霉菌的最佳恢复生长的最短培养时间。

检查中和肉汤中的恢复生长菌数至少是第二支对照管恢复生长菌数的 50%。对每种试验菌均应进行此对照试验。

如果中和作用所需的稀释比例大于 1/10，则应使用膜过滤法。

试验开始和必要时，用每种试验菌验证样品的中和作用。

6.3.2.3 对照试验规定

如果任何对照试验数据不符合规定，相关试验无效时重复该程序。

6.3.3 试验报告

试验报告应包括：

- a) 标准名称；
- b) 产品信息：
 - 产品名称；
 - 批号；
 - 有效期；
 - 制造商；
 - 贮存条件；
 - 有效物质及其浓度（若可用的）；
- c) 操作者姓名；
- d) 试验方案的偏离；
- e) 培养时间；
- f) 接种样品的存放时间；
- g) 试验结果。

如果产品通过直接杀菌试验的一类规范，属于为接触镜消毒护理产品。如果产品通过直接杀菌试

验的二类规范和模拟杀菌试验的标准,属于接触镜系统消毒护理产品。

6.4 模拟杀菌试验程序

6.4.1 镜片接种

用代表性镜片类型进行模拟杀菌试验,例如低含水非离子型、高含水离子型、硅丙烯酸酯等。该试验宜用未使用的镜片。当使用单一镜片类型进行接触镜护理产品模拟杀菌试验时,每批样品用每种试验菌接种 8 个镜片,则每个配方用每种试验菌共试验 24 个镜片。当用所有亲水性镜片进行模拟杀菌试验时,每批样品用每种试验菌接种 1 类镜片(低含水非离子型)镜片和 4 类镜片(中和高含水离子型)镜片各 4 个镜片,则每个配方每种试验菌每种镜片类型共试验 12 个镜片。其他亲水性镜片类型可用于试验,但是,每批样品每种试验菌每种镜片类型至少应试验 4 个镜片。当用所有非亲水性镜片进行模拟杀菌试验时,每批样品用每种试验菌接种 4 个硅丙烯酸酯镜片和 4 个氟硅丙烯酸酯镜片,则每个配方每种试验菌每种镜片类型共试验 12 个镜片。当用所有亲水性和所有非亲水性镜片进行接触镜护理产品的模拟杀菌试验时,要求用第 1 组和第 4 组的亲水性镜片及硅丙烯酸酯和氟硅丙烯酸酯的非亲水性镜片进行试验。

表 4 给出试验所需镜片数量。

将试验镜片和对照镜片的凹面朝上放置在无菌的培养皿中。对每个镜片用 0.01 mL 的接种菌接种在镜片下方培养皿与镜片之间的接触点处。同时用 0.01 mL 同样的接种菌直接接种在镜片的凹面上。

在 20 °C~25 °C 放置 5 min~10 min 使接种菌吸附到镜片上。

表 4 所需镜片数量

试验样品 ^a	每种试验菌的镜片数量				
	单一镜片类型试验 ^c	所有亲水性镜片试验 ^{b,d}		所有非亲水性镜片试验 ^{b,d}	
	(如 1 类镜片)	1 类镜片	4 类镜片	硅丙烯酸酯	氟硅丙烯酸酯
批号 1	8	4	4	4	4
批号 2	8	4	4	4	4
批号 3	8	4	4	4	4
总计 ^d	24	12	12	12	12

^a 试验至少 3 批接触镜护理产品。

^b 如果用超过一种镜片类型进行试验,则每种试验菌每批样品每种类型至少用 4 个镜片。

^c 如果仅用一种镜片类型进行试验,则每种试验菌每批样品每种类型至少用 8 个镜片。

^d 用所有亲水性和所有非亲水性镜片进行模拟杀菌试验时,要求用以下每种镜片类型至少 4 个镜片进行试验: 1 类镜片和 4 类镜片的亲水性镜片及硅丙烯酸酯和氟硅丙烯酸酯的非亲水性镜片。

6.4.2 镜片处理

镜片吸附接种菌后,按制造商给消费者的接触镜消毒说明中的描述处理镜片,包括制造商规定的清洁、冲洗和浸泡等所有步骤。试验方案应规定清洁和冲洗的步骤和时间(如揉搓和冲洗次数以及冲洗体积等)。

6.4.3 存活接种菌的恢复生长(见附录 B 膜过滤法操作程序实例)。

6.4.3.1 将适当体积经验证的中和培养基转移至过滤器(B.1.2.1)。中和条件基于恢复生长培养基对照试验(见 6.4.4.2)。

6.4.3.2 将每个试验镜片盒中的全部内含物(镜片和溶液)转移至过滤器内的中和培养基中,在过滤前已确定中和作用的时间(见附录 B)。

6.4.3.3 用减压过滤溶液。用适当体积的中和培养基冲洗过滤器。

6.4.3.4 无菌地将镜片转移至适合接种菌恢复生长的琼脂培养基上。将相同的琼脂培养基(保持温度在 50℃以下)覆盖在镜片上并使其冷却。

6.4.3.5 将试验滤膜移至含相应的固态培养基的平皿表面上(与 6.3.1.5 用法相同)。

6.4.3.6 在 30℃~35℃培养细菌恢复生长平板;在 20℃~25℃或 30℃~35℃培养酵母菌恢复生长平板;在 20℃~25℃培养霉菌恢复生长平板。细菌、酵母菌和霉菌的最佳恢复生长的培养时间应确定。最短培养时间基于恢复生长培养基对照试验(见 6.4.4)。记录在可数平板上观察到的菌落数(CFU)。培养期间应定时地观察平板以防由于过度生长而出现无法计数的现象。

6.4.4 对照试验

6.4.4.1 镜片接种对照

每个试验菌,将三个经接种的镜片移入内含稀释液(如 DPBST)的试管中,旋涡混合 30 s。系列稀释,选择适当的稀释液,重复三次(除另有规定)接入平板来测定活菌数。此计数来确认进行模拟杀菌试验时接入镜片上的菌数是足够的。平均菌数宜不少于 2.0×10^5 CFU/片和不大 2.0×10^6 CFU/片。

6.4.4.2 恢复生长培养基对照

按 6.4.3,准备三个过滤器(除另有规定),过滤器内含适当体积的中和培养基和消毒产品(见附录 B),静置使中和完全。加入 5 CFU~100 CFU 的试验菌(每个滤膜一种菌),过滤并按 6.4.3 培养。

用相应培养基来确定接种菌数,重复三次(除另有规定)。

保证中和肉汤滤膜上恢复生长菌数至少为接种菌数的 50%。

试验开始和必要时,用每种试验菌验证样品的中和作用。

6.4.5 试验报告

试验报告应包括:

- a) 标准名称;
- b) 产品信息:
 - 产品名称;
 - 批号;
 - 有效期;
 - 制造商;
 - 贮存条件;
 - 有效物质及其浓度(若可用的);
- c) 操作者姓名;
- d) 试验方案的偏离;
- e) 培养时间;
- f) 接种样品的存放时间;
- g) 试验结果。

如果产品通过直接杀菌试验的一类规范,属于接触镜消毒护理产品。如果产品通过直接杀菌试验的二类规范和模拟杀菌试验的标准,属于接触镜系统消毒护理产品。

附 录 A

(资料性附录)

其他菌种保藏机构的试验菌

A.1 概要

表 A.1 和表 A.2 分别列出试验菌及其保藏机构。

来自各菌种保藏机构的菌种等同于 ATCC 菌株。

表 A.1 其他菌种保藏机构的试验菌

绿脓杆菌	MUAVCR 278	CCM 1961	CIP 82.118	DSM 1128	DSM 1385
	IAM 10374	IFO 13275	NCIMB 8626	NRRL B-800	
金黄色葡萄球菌	CIP 4.83	DSM 799	IFO 13276	NCIB 9518	NCTC 10788
大肠杆菌	CIP 53.126	DSM 1576	NCDO 904	NCIB 8545	
粘质沙雷菌	CCM 303	DSM 47	DSM 30121	CDC 813-60	NCIB 9155
	NCTC 10211				
白色念珠菌	CBS 6431	CCY 29-3-106	CIP 48.72	DSM 1386	IFO 1594
	NCPF 3179	NCYC 1363	VTT C-85161		

表 A.2 菌种保藏机构

ATCC	美国菌种保藏机构, Rockville, Md, 美国
MUAVCR	Mikrobiologicky ustav Akademie ved Ceske republiky, 布拉格, 捷克共和国
CBS	荷兰真菌保藏机构, Baam, 荷兰
CCM	捷克微生物保藏机构, Pnrodovedecka fakulta Masarykovy univerzity, Bmo, 捷克共和国
CCY	斯洛伐克酵母保藏机构, Chemicky ustav SAV, Bratislava, 斯洛伐克
CDC	疾病控制中心, 亚特兰大, 乔治亚州, 美国
CIP	细菌保藏所, 巴黎, 法国
DSM	德国微生物保藏机构, Braunschweig, 德国
IAM	应用微生物研究所, 东京大学, 东京, 日本
IFO	日本大阪发酵研究所
NCIB	国家工业细菌保藏机构, 阿伯丁, 苏格兰, 英国
NCIMB	国家工业和海洋细菌保藏机构, 阿伯丁, 苏格兰, 英国
NCPF	国家致病性真菌保藏机构, 真菌参照标准实验室, 公共卫生中心实验室, 伦敦, 英国
NCTC	国家菌种保藏机构, 公共卫生中心实验室, 伦敦, 英国
NCYC	国家酵母菌保藏机构, Nutifeid, Surrey, 英国
NRRL	美国农业部北方研究中心, Peoria, 伊利诺斯州, 美国
VTT	芬兰技术研究中心, VTT 工业微生物保藏机构, Espoo, 芬兰

附 录 B
(资料性附录)
膜过滤法操作程序实例

B.1 材料和试剂

B.1.1 培养基和试剂

B.1.1.1 稀释液,含或不含中和剂。

B.1.1.2 胰蛋白胨大豆琼脂(TSA)或其他适用培养基。

B.1.1.3 不含氯化钙和氯化镁的杜尔贝科(Dulbecco)磷酸盐缓冲液(DPBS):200 mg/L KCl,200 mg/L KH_2PO_4 , 8 000 mg/L NaCl 和 2 160 mg/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 或合适的稀释液。

B.1.1.4 杜尔贝科(Dulbecco)磷酸盐缓冲液,加 0.05% 聚山梨酯-80(DPBST)或合适的稀释液。

B.1.1.5 按要求经验证的中和剂/培养基,例如 Dey-Engley 中和肉汤(DEB)和 Letheen 肉汤。

B.1.2 试验器材

常用的实验室器材(如无菌移液管、培养皿和容器等)和下列装备:

B.1.2.1 带无菌滤膜和过滤器的无菌装置。

B.1.2.2 相应的真空或压力装置,使接种试验溶液无菌地通过滤膜。

滤膜的孔径不大于 0.45 μm ,滤膜直径至少 47 mm,且不含对微生物有毒的化学物质。

B.2 试验方法和结果

B.2.1 用无菌 DPBST(B.1.1.4)或合适的稀释液,将无菌过滤装置(B.1.2.1)内的无菌滤膜湿润。

B.2.2 无菌地将一定体积的接种试验溶液移入 50 mL~100 mL 无菌 DPBST(B.1.1.4)或稀释液中,充分混匀。

注:本步骤可减少多个菌落聚集在滤膜同一位置上的可能性。

B.2.3 将稀释液转移至滤器,借助真空或压力立即过滤。

B.2.4 用稀释液的数倍体积冲洗滤膜,必要时稀释液中可添加中和剂。

注:通常,稀释液的三倍体积(每次 100 mL)对除去和/或稀释抗微生物剂是足够的。对每种试验菌每个配方可凭经验决定实际体积。

B.2.5 用合适的培养基培养滤膜,使菌落生长在滤膜表面。

注:从滤过装置上无菌地转移滤膜,并将滤膜放置在表面无明显液体的无菌琼脂平板上,或将滤膜封入琼脂层中。或者,将无菌培养基添加到封闭的过滤器中的滤膜上,原位培养滤膜。试验时使用适合试验菌生长的培养基。培养时间应确定。

B.2.6 测定可计数滤膜上的平均菌落数(细菌和酵母菌:3 CFU~100 CFU/47 mm;霉菌:3 CFU~10 CFU/47 mm)。计算并记录接种液的每毫升菌落数(CFU/mL)。

B.3 对照试验

将一定量未接种的试验溶液移入 50 mL~100 mL 的无菌稀释液中,试验溶液和稀释液之间的体积比与上述相同,来验证中和剂的有效性。用真空或压力对所有溶液进行过滤。用稀释液的数倍体积冲洗滤膜,稀释液的体积与上述试验步骤所用的相同。将 5 CFU~100 CFU 试验菌(每个滤膜一种菌)转入 100 mL 稀释液中并过滤。按试验步骤(见 B.2.5)用接触培养基的方法培养滤膜。

用不含试验溶液的稀释液重复该步骤。用合适的稀释液(例如 DPBST)代替试验溶液,用相同方法,比较其菌落数。用相应培养基来确定接种菌数,重复三次(除另有规定)。保证中和肉汤滤膜上恢复生长菌数至少为接种菌数的 50%。

附 录 C
(资料性附录)
技术报告:病毒试验

由于生物存在基本差别,病毒在接触镜上、眼镜盒内或接触镜护理液中不像革兰氏阴性菌如假单胞菌、沙雷氏菌或棘阿米巴等的方式进行复制和繁殖。这是由于病毒在细胞内寄生并且要在活的细胞内才能增殖。由单纯疱疹病毒引起的病毒角膜炎的传染方式通常发生在童年并且到 15 岁时 80% 的人群已经感染过单纯疱疹病毒。成人中的感染复发是由于压力、发热或紫外光等使已经在神经和其他组织中潜伏的病毒再度活化而引发的。感染可能从身体的一个部位转移至另一个部位。

从试验人员办公室的试验镜片上有传染病病毒如 HIV、肝炎或腺病毒的危險,因为病毒可能与镜片的表面有关。一项研究文献显示没有发现因个人使用接触镜而传染病病毒或配戴接触镜和眼睛外的病毒感染之间存在直接关联的报告。

该标准旨在提供仅限于个人使用的接触镜消毒系统的评价方法。由于尚未证明通过配戴接触镜而传染病病毒,并且病毒在接触镜上或眼镜盒内不能繁殖,因此该标准不建议进行抗病毒试验。

在配戴接触镜期间如果出现眼部的病毒感染,建议将接触镜和接触镜盒丢弃以免可能再感染。

附录 D

(资料性附录)

技术报告:棘阿米巴试验

棘阿米巴可引起罕见的但严重的角膜炎。这一形式的角膜炎主要出现在接触镜的配戴者中并且与使用污染的接触镜护理系统有关。使用自来水或用未经灭菌的蒸馏水自行配制的盐水处理接触镜是与这种疾病相关的重要的危险因素。配戴接触镜者应谨慎地按制造商提供的接触镜护理说明进行接触镜的护理。

有观点认为阿米巴生长在细菌上并附着在接触镜、接触镜盒和/或护理液中。当污染的接触镜从盒中取出放入眼睛中时,为棘阿米巴提供了附着角膜上皮细胞的途径。

一项研究文献显示阿米巴非常耐冷冻、耐干燥和耐抗微生物剂包括抗细菌剂、抗真菌剂、抗原虫剂、抗病毒剂和抗癌剂。另外,对试验样品、存活体的恢复和定量、棘阿米巴的种类或生命阶段等没有标准的方法进行试验。杀死棘阿米巴用加热或用强抗微生物剂的长时间浸泡,且这些抗微生物剂可能对眼睛有毒性。因此,在推荐的浸泡时间内大多数接触镜消毒产品不能杀死棘阿米巴,特别是包囊。由于细菌是棘阿米巴的食物来源,因此用无菌的接触镜护理液清洁和冲洗镜片、在无菌的防腐溶液中储存镜片、保持眼镜盒清洁和干燥并经常更换眼镜盒对防止棘阿米巴污染有极大地帮助。接触镜护理系统清除细菌的污染可减少棘阿米巴污染的影响范围。

基于上述情况,即罕见的感染影响范围、可防止的污染来源以及缺乏标准方法学,因此本标准不建议进行抗棘阿米巴试验。

附 录 E
(资料性附录)

技术报告:实验室试验中的人工泪液(有机物)

评价接触镜消毒产品时可对添加有机物不作要求,但也可以进行相应试验;该资料性附录是为讨论有机物与接触镜和接触镜护理产品的关系。

已经确定有机物的存在可影响一些接触镜消毒产品的抗微生物活性。在模拟杀菌试验中,有机物可添加到镜片上以模拟使用者实际使用时出现的沉积情况。有机物的存在涉及去除残留物和相关微生物的清洁步骤的评价,以及残余有机物与浸泡溶液之间的相互作用。

为用于评价接触镜护理产品,进行了许多人工泪液或有机物配方的开发和标准化尝试。目的是为了模仿或模拟天然泪液;但是,没有一个配方能够完全表现出人的泪液或在接触镜上的自然泪膜的非常复杂的特性。

泪膜由表面的脂质层,一个水相和黏液层组成。水相中含有至少 60 种蛋白成分,包括溶菌酶酵素、乳铁蛋白、泪液脂质、铁蛋白、白蛋白、血浆铜蓝蛋白、补体、糖蛋白、抗蛋白酶以及各种免疫球蛋白;特别是分泌型 IgA。虽然许多实验室的人工泪液或有机物配方是可用的,但其中没有一种能包含天然泪液中出现的所有成分。并且,人工泪液中泪液成分的浓度、活性和来源(如蛋清对比人的溶菌酶酵素)与人的泪液不是完全相关。

另外对于泪液成分的组成,在尝试模拟天然泪膜时需要考虑几个附加的因素。人体泪液的组成成分是随时间而改变的,且个体与个体之间也不同。更重要的是,一旦泪液附着在镜片上,泪液膜的活性可能与其原有的活性不同。

人工泪液沉积在镜片表面可发现其他的不一致性:

- a) 镜片上大分子膜的性质和组成将由镜片聚合物基质的化学性质决定;并且
- b) 镜片上的沉积物由使用的沉积步骤决定。镜片上的人造泪液不能精确地呈现沉积的人的泪液的情况,特别是当眼睛—空气界面和机械性眨眼在体外不能复制时。

由于使用添加有机物的方法目前没有标准化,因此在评价接触镜护理产品的过程中不要求使用人工泪液或有机物。一些政府的健康卫生部门(如美国食品与药物管理局 FDA)建议在产品注册时使用有机物。因此,本标准包含了使用或不用有机物情况下进行模拟杀菌试验。下面是一个有机物的制备和使用的例子。

如下制备有机物:在 20℃~25℃,在沙氏葡萄糖琼脂(SDA)上培养啤酒酵母 48 h,如 6.2 收集,在 100℃±2℃加热 10 min,对悬液杀菌。离心转速不超过 5 000×g 不超过 30 min。用在 56℃加热 30 min 灭活处理后的牛血清重制悬液。在血清中啤酒酵母的浓度应为 1.0×10^7 CFU/mL ~ 1.0×10^8 CFU/mL。

收集试验菌后,离心试验菌悬液。在有机物中重新配制悬液达到浓度为 1.0×10^7 CFU/mL ~ 1.0×10^8 CFU/mL。即为 6.4 中所用的接种菌。

中 华 人 民 共 和 国 医 药
行 业 标 准
眼科光学 接触镜护理产品
第 3 部分:微生物要求和试验方法
及接触镜护理系统
YY 0719.3—2009

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街 16 号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

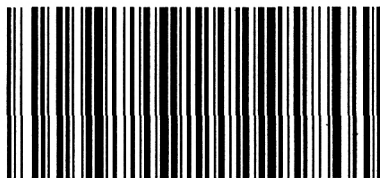
*

开本 880×1230 1/16 印张 1.25 字数 26 千字
2009 年 11 月第一版 2009 年 11 月第一次印刷

*

书号: 155066 · 2-19981 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)68533533



YY 0719.3—2009