ICS 13.040.35
C 70

中华人民共和国国家标准

GB/T 25916.1—2010/ISO 14698-1:2003

洁净室及相关受控环境 生物污染控制 第1部分:一般原理和方法

Cleanrooms and associated controlled environments—Biocontamination Control—Part 1:General principles and methods

(ISO 14698-1:2003,IDT)

2011-01-14 发布　　2011-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会　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　生物污染控制原理 …… 4
5　制定正规体系 …… 4
6　结果的表述、分析、报告 …… 8
7　正规体系的验证 …… 8
8　培训 …… 9
9　文件 …… 9
附录A（资料性附录）　空气生物污染测定指南 …… 10
附录B（资料性附录）　空气采样器确认指南 …… 13
附录C（资料性附录）　表面生物污染测定指南 …… 16
附录D（资料性附录）　纺织品生物污染测定指南 …… 18
附录E（资料性附录）　洗涤工序确认指南 …… 20
附录F（资料性附录）　液体生物污染测定指南 …… 23
附录G（资料性附录）　培训指南 …… 24
参考文献 …… 27

前　言

GB/T 25916《洁净室及相关受控环境　生物污染控制》分为以下两个部分：

——第1部分：一般原理和方法；

——第2部分：生物污染数据的评估与分析。

本部分是GB/T 25916的第1部分。

本部分按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本部分使用翻译法等同采用ISO 14698-1:2003《洁净室及相关受控环境　生物污染控制　第1部分：一般原理和方法》。

本部分由全国洁净室及相关受控环境标准化技术委员会(SAC/TC 319)提出并归口。

本部分负责起草单位：江苏苏净科技有限公司、中国电子系统工程第二建设有限公司、中电投工程研究检测评定中心。

本部分参加起草单位：中国计量科学研究院、国家生物防护装备工程技术研究中心、苏净集团苏州安泰空气技术有限公司、中国石化集团上海工程有限公司、上海德威净化设备工程有限公司、湖南出入境检验检疫局技术中心、北京比赛福生物安全技术有限公司、北京北方天宇建筑装饰有限公司。

本部分主要起草人：姜伟康、车凤翔、祁建城、施红平、汪洪军、徐火炬、邢金城、赵阿萌、宁敏捷、王力、朱金国、金真、邴绍同、陈江浩、王大千。

引　言

GB/T 25916 的本部分介绍的原理目的在促进适当的卫生规范。有许多标准涉及创建洁净受控环境的重要因素，本部分是其中之一

现代社会中，卫生在很多领域日趋重要。在这些领域中，卫生学方法或生物污染控制方法正在用于或将要用于制造安全、稳定的产品。卫生敏感产品的国际贸易日益增多，而同时，抗生素药物的使用正在不断减少甚至被禁止，因此更增加了对生物污染控制的需求。

本部分是第一个通用的 ISO 生物污染控制标准。但是，在洁净室及相关受控环境的设计、技术要求、运行和控制方面，除了洁净度外，还应考虑许多其他因素。

有关管理机构可能会在某些情况下规定补充性的政策或限制，在这种情况下，可对标准检测方法按相关规定进行适当调整。

洁净室及相关受控环境
生物污染控制
第1部分:一般原理和方法

1 范围

GB/T 25916的本部分给出了采用洁净室技术控制生物污染时,对生物污染进行评价与控制的综合计划的原理和基本方法。本部分规定了监测风险区的统一的方法,规定了与风险程度相应的控制措施。低风险区域的生物污染控制也可借鉴本部分的规定。

本部分并未给出具体应用要求。本部分未提及消防和安全方面的问题,此类问题应遵守相关法规以及国家或地方的文件要求。

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 25915.4—2010 洁净室及相关受控环境 第4部分:设计、建造、启动(ISO 14644-4:2001 IDT)

GB/T 25916.2—2010 洁净室及相关受控环境 生物污染控制 第2部分:生物污染数据的评估与分析(ISO 14698-2:2003,IDT)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 一般术语

3.1.1

干预值 action level

用户在受控环境中设定的微生物量值。在超过该值时,需立即进行干预,包括查明原因及纠正行动。

3.1.2

预警值 alert level

用户在受控环境中设定的微生物量值,对可能偏离正常的状况给出早期报警,超过此值时应加强对工艺的关注。

3.1.3

生物气溶胶 bioaerosol

悬浮在气态环境中的生物微粒。

3.1.4

生物污染 biocontamination

活粒子对物料、装置、人员、表面、液体、气体或空气的污染。

3.1.5

洁净室 cleanroom

空气悬浮粒子浓度受控的房间，其建造和使用方式使房间内进入的、产生的、滞留的粒子最少，房间内温度、湿度、压力等其他相关参数按要求受控。

[GB/T 25915.1—2010，定义 2.1.1][2]

3.1.6

接触器 contact device

专门设计的、装有适当无菌培养基、其表面易于与被测表面接触以采样的装置。

3.1.7

接触盘 contact plate

以刚性盘为容器的接触器。

3.1.8

控制点 control point

受控环境中的点，在该点实施控制以防止危害的发生，或是将其消除或降至允许程度。

3.1.9

受控环境 controlled environment

以规定方法对污染源进行控制的特定区域。

3.1.10

纠正行动 corrective action

当监测结果表明预警值或干预值已被超过时，需要采取的行动。

3.1.11

正规体系 formal system

带有既定书面规程的生物污染控制体系。

3.1.12

危害 hazard

潜在的有害源。

[ISO/IEC Guide 51:1999，3.5][3]

3.1.13

撞击采样器 impact sampler

令空气或气体撞击固体表面以采集其所携粒子的装置。

3.1.14

冲击采样器 impingement sampler

令空气或气体冲击液面并进入液体，以采集其所携粒子的装置。

3.1.15

鉴定 qualification

证实一个对象（作业、工艺、产品、组织或其任何组合）是否能够满足规定要求的过程。

3.1.16

风险 risk

危害发生的可能性及其严重性。

3.1.17

风险区 risk zone

人员、产品或材料极易受污染的界定空间。

3.1.18

落菌盘 settle plate

具有一定尺寸并放置有适当无菌培养基的容器(如培养皿),将其敞开放置,在某规定时间内以收集空气中沉降的活粒子。

3.1.19

拭子 swab

对被采集微生物无抑制作用的无菌无毒、带适当尺寸基底物的小棒。

3.1.20

目标值 target level

用户按自己的目的为日常运行目标设定的值。

3.1.21

确认 validation

提供客观证据认定特定的预期用途或应用要求已得到满足。

[GB/T 19000—2008,定义 3.8.5][1]

3.1.22

验证 verification

提供客观证据认定,规定要求已得到满足。

[GB/T 19000—2008,定义 3.8.4][1]

注:对正规体系进行验证,可用监测和检查的方法,可用规程和检测,包括随机采样和分析。

3.1.23

活粒子 viable particle

携带一个或多个活微生物,或其本身就是活微生物的粒子。

3.1.24

活单元 viable unit

VU

计为一个单元的一个或多个活粒子。

注:将琼脂上的菌落计为活单元时,一般称之为菌落单元(CFU)。一个 CFU 可含一个或多个活单元。

3.2 占用状态

3.2.1

空态 as-built

设施已建成并运行,但没有生产设备、材料和人员的状态。

[GB/T 25915.1—2010,定义 2.4.1][2]

3.2.2

静态 at-rest

设施已建成,生产设备已安装好并按需方与供方议定的条件运行,但没有人员的状态。

[GB/T 25915.1—2010,定义 2.4.2][2]

3.2.3

动态 operational

设施按规定方式运行,规定数量的人员按议定方式工作的状态。

[GB/T 25915.1—2010,定义 2.4.3][2]

4 生物污染控制原理

4.1 洁净室及相关环境中应制定并实施生物污染控制的“正规体系”。该正规体系用以评估并控制微生物对工艺和产品的影响。

为此目的，有一些认可的风险评估方法可供使用[4],[5] “危害分析与关键控制点”(HACCP)[6],[7],[8],[9]就是一个常用的风险评估体系。此外，还可以使用“故障树分析”(FTA)[10]，“故障模式与影响分析”(FMEA)[11]，以及其他经过确认的等效方法。

这类方法可用于各种类型的危害分析，而本部分仅涉及微生物危害。

4.2 所选定的微生物危害评价与控制体系应包含下述要素：

a) 明确对工艺或产品的潜在危害；评价这些危害发生的可能性，明确防范和控制危害的措施；

b) 确定风险区，确定每个区内为消除或降低危害发生的可能性而可以控制的点、规程、运行步骤以及环境条件；

c) 设定确保有效的控制限值；

d) 制定监测与观测计划；

e) 制定纠正行动方案，即，当监测结果表明某个特定点、规程、运行步骤、环境条件未受控时需采取的纠正行动；

f) 制定用以验证所选正规体系行之有效的规程，其中可包括补充检测和规程；

g) 制定培训规程；

h) 建立并保留相关文档。

5 制定正规体系

5.1 一般要求

用户负责制定、启动、实施可及时发现不利情况的生物污染控制正规体系的文档。该正规体系应适合现场应用、适合于特定设施、特定条件，并成为质量管理体系的必要组成部分。质量管理体系中应包含针对所选正规体系的培训方案。

此外，应仔细设计并实施监测计划(见5.3)，注意将采样活动本身污染产品和风险区的可能性降至最低。

应根据相关指南、法规(若存在)及所选正规体系对风险区进行分级。也可以根据空气和表面生物污染的程度来分级，例如分为低危、中危、高危、特危几个级别。

注：本部分并未详细讨论4.2a)和b)所罗列的正规体系的前两部分。如何识别、评价和控制危害的相关内容可在其他资料中查到[12]

5.2 预警值、干预值、目标值

洁净室或受控环境的用户应设定微生物预警值和干预值。这些设定值应适合于应用现场，适用于风险区的等级，并且使用现有技术可以实现。某些特定应用领域可能只设微生物目标值，不设预警值和干预值。

在初始启动期间和按正规体系确定的间隔期内，应对生物污染数据进行审核，以便建立或确认用于规定预警值和干预值的基准数据。在设定有预警值、干预值、目标值的实际应用场合，预警值和干预值可与目标值相关联。应审核预警值和干预值，并根据情况进行适当调整。

5.3 生物污染监测

5.3.1 概述

应按采样计划，使用恰当的采样方法和计数方法，探查并监测风险区的生物污染。

构成危害的生物污染源包括：空气、表面、纺织品、液体(见附录 A、附录 C、附录 D、附录 F)等。

在建造与调试新设施时，以及在相应的空态条件下的微生物采样，可给出基准数据。风险区的监测可在空态和静态下进行，例行监测也应按所选正规体系的规定在动态条件下进行。

5.3.2 采样

5.3.2.1 概述

根据实际情况的复杂性和多样性选择恰当的采样方法和相关采样规程。根据书面规程和仪器制造商的说明，选择相应的采样器和操作方法实施采样。

5.3.2.2 采样器

根据监测区域的情况选择采样器。选择具体场合所用采样器时应考虑下述因素：

a) 被采活粒子的类型；
b) 该活粒子对采样方法的敏感性；
c) 活粒子的预期浓度；
d) 固有微生物菌群；
e) 风险区的可达性；
f) 检测低浓度生物污染的能力；
g) 进行采样的风险区的环境条件；
h) 采样时间和持续时间；
i) 采样方法、采样介质的材料和特性；
j) 采样器对所监测工艺或环境的影响；
k) 采样准确度和采样效率；
l) 培养方法，活粒子检验和评估方法；
m) 所需信息的类型(例如，是定性还是定量)；
n) 适用时，萃取液或洗脱液的效率。

5.3.2.3 采样计划

应按照所选正规体系的规定，制定采样计划并形成文件。书面采样计划对生物污染数据的准确评价与分析是必需的。

采样应在动态条件下、当被测系统微生物浓度最大时进行，例如，换班之前或活动量最大时。在静态条件下的采样也可以给出有关设施的设计和性能方面的有用信息。

采样计划应由下述部分组成：

a) 为提供基准点或基准数据按所选正规体系构架进行的初始采样；
b) 按所定正规体系进行的例行采样。

5.3.2.4 采样计划的制定

为保护人员、环境、工艺、产品，采样计划应考虑风险区所需的洁净程度以及相关活动所需的生物污染控制水平，在采样计划中考虑的事项例举如下：

a) 选择采样点位置，考虑到风险区的位置和功能；

b) 样本数量(有限容量的或小容量的样本可能无法提供有代表性的结果,而某些场合,大量样本可弥补小容量样本的不足);
c) 采样频繁度;
d) 采样方法,是定性还是定量采样;
e) 一个样本的量,或一个样本应覆盖的面积;
f) 稀释剂、洗脱液、中和剂等;
g) 特定条件下可能影响培养结果的因素;
h) 风险区内产生生物污染的作业、人员、设备的影响,诸如:
   1) 压缩气体;
   2) 室内空气;
   3) 生产设备;
   4) 监测和测量仪器;
   5) 存储容器;
   6) 区内人员数量;
   7) 人员未加防护的表面;
   8) 个人服饰;
   9) 防护服;
   10) 墙、顶棚;
   11) 地面;
   12) 门;
   13) 工作台;
   14) 椅子;
   15) 来自其他来源的空气。

5.3.2.5 采样频繁度

采样频度应根据所选正规体系设定。必要时,在下列情况下予以确认或修改:
a) 连续超过预警值或干预值时;
b) 较长时间不工作之后;
c) 风险区探查到传染性病原体时;
d) 通风系统重大维护之后;
e) 影响洁净室环境的工艺变动之后;
f) 记录到异常结果之后;
g) 清洁或消毒方法变更之后;
h) 可能造成生物污染的意外事故之后。

5.3.2.6 采样点

采样点按照所定正规体系来确定,并将其纳入采样计划。
同一个采样点可多次采样。各采样点的采样次数可以不同。
采样应在文件所规定的微生物控制点进行。

5.3.2.7 样本标识

每个样本的标识应包含下述信息或提供追溯下述信息的代码:
a) 采集点;

b) 采集日期和时间；
c) 采样者；
d) 采样时进行的工作；
e) 培养基类型；
f) 偏离采样计划之处。

5.3.3 确认

将所选监测系统纳入 GB/T 25916.2—2010 和 GB/T 25915.4—2010 的附录 C 规定的洁净室及受控环境的鉴定和确认内容。

注：对微生物监测方法的确认见 GB/T 25916.2—2010

5.4 样本处理

样本的采集、运输、处理应不影响所采有机体的存活力及数量。需要考虑的因素有：
a) 运输与储存的条件和时间；
b) 中和剂的使用；
c) 渗透调节剂的使用。
采集样本的方式及存放的样本容器，应既不增加也不抑制生物污染物。

5.5 样本培养

5.5.1 概述

根据预期的微生物种类、采样环境、采样方法以及使用的设备，选择培养基和培养条件(例如：温度、培养时间、氧分压、相对湿度)。

5.5.2 培养基

除非另有规定，应选用无选择性的培养基。为消除或减少采样点可能残留的抗菌性，可在培养基中加入适当的添加剂。

对于在洁净室或相关环境内使用的培养基，其容器的外表面要保持相应的洁净程度。

注：可能需要 2 层或 3 层包装以保持洁净度。

对培养基应有合适的质量控制方法[13],[14]

5.5.3 培养

应尽量按对预期进入洁净环境的那些微生物种类有利的生长条件，选择培养基合适的培养温度和培养时间。

细菌的整个培养期为 2 天～5 天，真菌 5 天～7 天，一般是可以的，特别是在活单元(VU)数量低时。厌氧菌、耐热菌、微需氧菌、营养缺陷菌或营养苛求菌、真菌，可能需要特定的环境条件及培养期。培养期间应以适当的时间间隔定期观察器皿。

5.6 采样数据的评估

5.6.1 概述

对生物污染数据进行评估，是为有效地纠正行动提供足够的信息。GB/T 25916.2—2010 给出了有关生物污染数据评估的深入介绍。

注：可测量示踪剂间接监测微生物的污染，如测量三磷酸腺苷(ATP)。但应指出，检出的示踪剂与生物污染之间可能并不直接相关。而验证正规体系或确认监测系统时需要直接估算生物污染物。

5.6.2 计数

一般认为，如同其他的微生物计数一样，生物污染的估计也能受计数所用仪器和方法的影响。因此，对样本活粒子的计数只能使用经过确认的适用方法。

注 1：有关活粒子计数的信息见其他资料[15],[16]

注 2：GB/T 25916.2—2010 既不假定也不认为活粒子与非活粒子浓度之间存在任何不变的或偶然的数学关系。可根据需要分别设定各种浓度参数的控制水平。

5.6.3 鉴别

微生物监测无法对受控环境中发现的所有微生物种类进行鉴别并定量。因此，在结果的评估中应注明所选的鉴别等级。

注：鉴别等级是由所涉及区域的关键程度，所做探查能否确保更高的鉴别所决定。一般以细胞形态学、染色特性及其他特征进行粗略分级已足够。必要时，现有的实验室方法至少可鉴别至属这一级。通过鉴别所获取的信息，有助于评估清洁与消毒方法、确定污染源、选择适当的纠正行动。对关键区域菌株的鉴别通常先于非关键区域。

6 结果的表述、分析、报告

根据所用的方法，使用 SI 单位制[17]，用活单元(VU)或菌落(CFU)的数量表述结果。有关数据评估的内容见 GB/T 25916.2—2010。

为判定趋势，应延长对结果的观察时间，以有助于分析。依据对调查结果和检测结果的审核情况，确定异常结果的显著性，确定该条件下运行或加工产品的合格性。

检测报告应包括或提及下述内容：

a) 样本类型；
b) 所用方法，所用标准的编号及标题；
c) 所使用的采样器；
d) 采样位置；
e) 采样时正在进行的活动类型、占用状态；
f) 采样区人员数量；
g) 采样日期和时间；
h) 采样持续时间；
i) 样本检验时间；
j) 培养条件和培养时间；
k) 与规定检测方法的偏离之处及可能影响结果的因素；
l) 有了初始和最后读数后，对收集的样本进行检验所获得的检测结果；
m) 进行定量检测时，以 SI 单位制表示结果；
n) 若进行鉴别，对分离株进行说明；
o) 撰写检测报告机构的名称、检测完成日期；
p) 检测者的姓名和签字。

7 正规体系的验证

应定期检验生物污染的监测结果，以确认正规体系的执行符合规定的规程，并已达到规定的要求[见 4.2f)]。

注：此项考核可能要用到监测和审计方法，用到检测和规程，包括随机采样和统计学分析。为了确保正规体系功能正常，可能还要对所有工作步骤和设备进行系统性的验证。

若验证表明受控环境偏离规定限值，或受控环境的微生物状况发生变化，应采取纠正行动。必要时应修改正规体系。

8 培训

应制订一项培训计划(见附录G)。

9 文件

文件应含有：

——对正规体系的说明；

——风险评估报告；

——采样计划；

——若适用，干预值、预警值、目标值；

——检测及采样规程；

——检测报告；

——验证报告；

——培训记录。

附 录 A
（资料性附录）
空气生物污染测定指南

A.1 引言

本附录给出了需要或必须控制生物污染的场合测定空气生物污染的指南。测定工作需采集代表性样本，以探查需加以控制和监测的活粒子。

对空气生物污染的评估按本附录的基本原理进行。按基本原理要求，应用洁净室技术的场合要建立一套评估和控制生物污染的正规体系。

附录 B 给出了采样器的确认方法。

A.2 原理

按照采样计划，根据情况对处于空态、静态或正常运行的风险区，使用适当的仪器采集活粒子，测定并监测风险区空气的生物污染。

A.3 采样器

A.3.1 概述

空气悬浮活粒子的采样和计数方法多种多样[18]，根据所需采样目的决定具体的采样方法及采样器。因采样器的采集效率不同，应慎重选择合适的方法和设备。

采样器分为两类：

a) 被动式采样器，例如落菌盘。

b) 主动式采样器，例如撞击采样器、冲击采样器、滤膜采样器。

这些器具的制造商应提供装置的使用说明及其限制。附录 B 讨论了主动采样器的采样效率。

A.3.2 采样器的选择

采样率、采样持续时间及采样器的类型等，对所采集微生物的存活力有很大的影响。冲击采样器的采样量小、采样率低，且有可能打碎活粒子团块，因此可能不适合于空气悬浮活粒子的采样。

有多种多样的商用空气微生物采样系统，选型时至少应考虑下述各点：

a) 所采集活粒子的种类和大小；

b) 活粒子对采样方法的敏感性；

c) 活粒子的预期浓度；

d) 对高浓度和低浓度生物污染的检测能力；

e) 适用培养基（见 5.5.2）[19]；

f) 采样时间和采样持续时间；

g) 采样环境条件；

h) 采样仪器对单向流的干扰；

i) 采样器特性，诸如：

1) 空气悬浮活粒子浓度低时有适当的抽气量；
2) 适当的撞击速度或气流速度；
3) 采样正确度和采样效力；
4) 易于搬运(质量、尺寸)和操作(易使用，辅助设备，对真空泵、水、电等动力的需求)；
5) 易于清洁、消毒或灭菌；
6) 可能难免向被测生物污染增加活粒子。

采样器的排气不应污染采样环境，不应被采样器再次吸入。

A.3.3 被动式微生物采样器(沉降采样器)

落菌盘等被动式空气微生物采样器不能测量空气中活粒子的总数，而是测量活粒子在表面的沉降率。因此，落菌盘可用于定性或定量评估空气对产品的污染。只要确定单位时间落菌盘上的数量，再根据产品和落菌盘的暴露面积与暴露时间之间的关系，即可计算出产品可能遭受的污染[20],[21]

A.3.4 主动式微生物采样器

A.3.4.1 一般要求

为评估风险区空气微生物的特征，必使用主动式空气采样装置。有多种商用主动式采样器，每种各有其局限性。

根据采样原理，主要有两种类型的仪器适用于正常(低浓度)生物污染的风险区：撞击采样器和滤膜采样器。

A.3.4.2 撞击采样器和冲击采样器

用于活粒子检测的撞击采样器和冲击采样器有很多种，应选择具有下述特性的装置：

a) 空气撞击培养基的速度兼顾以下两方面：
   1) 速度高到足以捕获小至 1 μm 的活粒子；
   2) 速度低到不会对细菌或霉菌团块造成机械破碎或损伤，以保证活粒子的存活力。
b) 采样量大到足以检测到浓度很低的生物污染，同时又小到足以避免采集介质物理的或化学的劣化。

在高浓度生物污染区域，为获得分离的菌落，应选择合适的撞击方法和采样量，以保证结果有效。

采样器应满足下述最低要求：

——有足够采样流量，在合理时间内能采集 1 m^3 样本，又不致使采样介质过于干燥；

——空气对培养基的撞击速度合适。

A.3.4.3 滤膜采样器

滤膜采样器广泛用于空气采样。只要选择合适的气泵、滤膜和滤膜尺寸，几乎可在给定采样期内采集到所需的任何样本量。

设计与使用滤膜采样器时，应考虑下述因素：

a) 保证过滤时不会影响所采集微生物的存活力，例如不使之脱水；
b) 消除活粒子撞击滤膜速率的静电干扰；
c) 与 A.3.4.2 相同的约束条件，相同的抽气量，相同的空气撞击速度；
d) 确保滤膜夹能在不污染滤膜的情况下，与带有气量测量装置的真空源接通；
e) 确保滤膜在无菌条件下装入滤膜夹，过滤所需空气量后在无菌条件下取出，并可置于固态或液态培养基中。

A.4 结果表达

以每立方米活单元量表示活粒子的数量。

附 录 B
（资料性附录）
空气采样器确认指南

B.1 引言

本附录介绍了确定空气微生物采样器采集效率的方法。这项评估一般由制造商或第三方检测机构进行。

可从两个方面考虑微生物空气采样器的采集效率：物理效率和生物效率。物理效率是将各种粒径的粒子采集到样本中的能力。粒子是否为微生物或携带微生物，是否为无生命粒子，对物理效率无影响。生物效率是将携带微生物的粒子采集到样本中的能力。由于许多原因将造成生物效率低于物理效率：例如采样期间微生物的存活率及采集介质维持微生物生长的能力。本附录主要介绍检测物理效率的方法。

B.2 实验方法

B.2.1 测试柜

合适的测试柜约为宽 1 m、长 2 m、高 2 m，但也可使用任何小型密封空间。试验气溶胶在试验区内发生或从外送入试验区。试验区的送风需经 HEPA 过滤器过滤，并以适当的排气量维持试验区的负压。排风需经 HEPA 过滤器过滤。

测试柜内气流应为非单向流，其换气次数与一般的洁净室相当，即每小时 20 次～60 次。应注意送风方式与排风方式，以防止未经混合的空气在局部位置集中。在送排风量充分且维持柜内负压的同时，用旋桨或风扇使检测区内其余的位置循环起来，是一种有效的方法。

柜内需要配备粒子计数器及空气采样手段，用于检查气溶胶的混合情况和气溶胶浓度。

温、湿度应分别维持在(22±2)℃及(50±10)%。可以从柜外使用长手套或半身装操纵检测区内的仪器。

B.2.2 微生物检测菌种

B.2.2.1 物理效率检测用菌种

检测菌种应为枯草芽孢杆菌 NCTC 10073(=DSM 2277)，该菌种在采样条件下可良好存活。检测菌种应在符合其营养要求的培养基中制备，并用来配成洗净孢子悬浮液。

注：可以使用聚苯乙烯微粒及其他类型的非活粒子来测定空气采样器的物理效率[22]，与采用微生物粒子得出的结果相近。而某些采样器无法探测所有的非活粒子，但采用微生物时，可长成易于观察与鉴别的菌落。

B.2.2.2 检测生物效率的菌种

工作区空气中的很多微生物来自人的皮肤，其中主要为凝血酶阴性葡萄球菌。但有些房间也可查到大量来自工艺的微生物。若要进行生物试检，应以那些室内空气中的常见细菌来试验。可以使用表皮葡萄球菌(NCTC 11047，ATCC 14990)。但应指出，喷雾液、喷雾方法和喷雾条件的改变可能会导致生物效率的变化，使得生物方法不如物理方法可靠。

B.2.3 微生物粒子的发生

旋转陀螺或旋转盘气溶胶发生器可生成粒径受控的气溶胶[23]。微生物悬浮液被卷至高速旋转的盘或陀螺上，进而生成均匀的细微液滴。液滴大小随转速而变。液滴会迅速干燥，因液体中不溶物质的含量而生成各种粒径的干粒子。当已知液体的密度、表面张力、转盘的转速和直径，就可以利用公式计算出液滴的粒径。

液滴形成后，会因蒸发作用按其固体物质的含量而缩小至相应尺寸。在喷雾液中加入碘化钾可增加液滴的粒径和质量。利用以下公式可以计算干粒子的粒径；也可在测试柜内用滤膜进行空气采样，然后用显微镜测量。

球体半径(r)与体积(V)的关系如式(B.1)：

$$r=\left(\frac{3}{4}V\div\pi\right)^{\frac{1}{3}} \qquad \cdots\cdots(B.1)$$

干粒子的尺寸由液滴中固体物质的含量和孢子两者决定[如式(B.2)]：

$$\text{干粒子半径}=\left[\frac{3}{4}(V_p+V_s)\div\pi\right]^{\frac{1}{3}} \qquad \cdots\cdots(B.2)$$

式中：

V ——孢子体积(约 0.5 μm^3)；

V_p ——蒸发后粒子的体积，可以按式(B.3)计算：

$$V_p=\frac{\text{湿粒子体积}(m^3)\times\text{粒子内固体物质含量}(g/m^3)}{\text{溶液内固体物质的含量}(g/m^3)} \qquad \cdots\cdots(B.3)$$

确定了干粒子的半径，也就知道了直径。

粒子的空气动力学特性随密度变化。因此有必要按式(B.4)计算干粒子的当量粒径，即，假设干粒子密度均匀：

$$\text{当量粒径}=d(\rho)^{\frac{1}{2}} \qquad \cdots\cdots(B.4)$$

式中：

d ——干粒子的直径；

ρ ——所含固体物质的密度。

B.2.4 检测

在测试柜内近似于洁净室紊流状态的区域进行检测。将被试采样器与一个带有 0.45 μm 孔径的滤膜采样器相邻放置。为保证粒子被采时已干燥，两只采样器都要与气溶胶发生器保持一段距离(约 1 m)。用粒子计数器检查被试采样器和滤膜夹处粒子的浓度，确认两者相同。滤膜采样器的采样量约为 5 L/min。滤膜的面应朝向一侧或朝下，不应朝上，以防止粒子因重力沉降在滤膜上。同时开启两只采样器。采样时间依携带微生物粒子在空气中的浓度而定，但几分钟足够。检测后，将滤膜置于含有酪素胨豆粉胨琼脂或经过确认的等效培养基中。两个样本在 37 ℃下培养 2 天后，统计菌落数。

将浓度不大于 $10^6\ mL^{-1}$～$10^7\ mL^{-1}$的洗净孢子悬浮液混入 80%的乙醇溶剂中，以保证大多数液滴中只含有个别孢子。所需气溶胶发生量根据测试柜的大小、送风量及排风量而定。气溶胶的浓度不应过低以致采样时间过长，也不应过高以致采样介质上菌落重叠。

为了喷雾时粒径处在一定范围内，应将含量不同的固体物散布在溶液中。利用 B.2.3 中的公式，可计算出所需固体物的含量。应准备 5 份溶液，生成当量粒径约为 0.8 μm～15 μm 范围的粒子。对每种粒径进行不少于 10 次的实验。

B.3 结果表述

有了等量空气下被试采样器和滤膜的检测数据，可用式(B.5)计算效率：

$$采样器效率(\%)=\frac{被试采样器的计数}{总计数(滤膜采样器计数)}\times 100 \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots(B.5)$$

将结果绘制成与粒径对应的效率图，图示各粒径的效率平均值和标准差。

附 录 C
（资料性附录）
表面生物污染测定指南

C.1 引言

本附录给出了测定表面生物污染的指南，用于需要或必须控制生物污染的场所，特别是风险区。本项测量包括采集代表性样本以检测存在的并需控制或监测的活粒子。这些方法可能无法给出活微生物的总数，但可给出在受控条件下相关的、可对比的结果。这些方法一般用于动态工况，条件适当时，也可用于空态或静态。

这种对空气悬浮生物污染评定的是按照本部分的基本原理进行的，它要求确立一正规体系用以评定和控制应用洁净室技术场所的生物污染。

C.2 原理

使用接触器或拭子，可以获得某表面某时间点的微生物数量。接触器以已知面积的固态营养介质与表面接触，培养后显现的菌落，可给出原有活单元的镜象“图”。用拭子擦拭某个表面，它抹去的微生物数量就可计算出来。

将已知面积的培养基表面暴露一定时间，然后培养，就得到微生物在表面的沉降量。所得菌落数给出的是单位面积单位时间段的沉降率。

C.3 采样器

C.3.1 接触采样器

可用接触盘或其他类似装置，这些装置内有合适的硬质或软质容器，容器内的营养介质与被采样表面接触，接触面积应≥20 cm^2。

均匀用力将整个营养介质压住表面几秒钟，不得移动。然后将该装置放回容器内，再清洁被采样表面，清除残留营养物。

C.3.2 拭子

也可以使用适当的擦拭法采集活单元。对接触装置触及不到的、不平或有凹陷的非吸收性大表面，用灭菌的湿拭子、海棉或抹布采样特别方便。

先用灭菌的清洗介质沾湿拭子。在慢慢转动拭子的同时，用同向密集的动作，擦过规定的采样区域；而后，用同一拭子沿垂直于前次的方向以同样方式擦拭。然后将拭子置于规定量的洗脱液中搅动。检验洗脱液中的活单元。采样后应清洁采样处的表面，清除残留的清洗介质。

C.3.3 落菌盘

落菌盘可对空气中沉降于表面的活粒子所造成的污染，进行定性和定量的评估。

落菌盘中盛有合适的培养基，可以在适当的场合，判定出给定时间从空气中沉降到表面并携带微生物粒子的数量。落菌盘应经培养。这种方法无法测定空气中微生物总量，测得的是采样期间降落于表面的微生物数量。

采用大直径培养皿(即直径 14 cm)并延长暴露时间,同时注意防止培养基脱水,可提高此方法的灵敏度[24]

C.4 结果表达

应以每 dm^2 活单元量表示表面活粒子的数量,或每小时每 dm^2 活单元量表示落菌盘检测到的活粒子数量(1 dm^2 = 100 cm^2)。

附 录 D
（资料性附录）
纺织品生物污染测定指南

D.1 引言

D.1.1 本附录给出了测定纺织品生物污染的指南，用于需要或必须控制生物污染的场合。

对纺织品生物污染的评价是按本部分的基本原理进行的。它要求制定一套评价和控制洁净室生物污染的正规体系。

此项评价包括采集代表性样本，探查并监测存在于纺织品上或从纺织品脱落的活粒子。

风险区中使用的纺织品应具有相应的洁净度，使其适合于作业需要，或适合于使用目的，或两者皆适。为了在风险区内降低纺织品对各种作业、产品、装置等造成不利影响的风险，应监测纺织品的生物污染。

D.1.2 选择风险区所用纺织品以及评价其生物污染时，应考虑下述因素：

a) 纺织品的类型和形式，诸如防护服装、抹布等；
b) 选用的布料；
c) 纺织品产生和散发粒子的特性；
d) 由于纺织品过滤性能差，使得屏障效果差；
e) 纺织品的清洁、灭活或灭菌；
f) 清除纺织品上粒子的效率；
g) 服装设计；
h) 纺织品的透气性、表面状况、耐磨性。

D.1.3 如发现纺织品生物污染过多，要用适当的方法找出可能的原因。常见的原因有：

a) 因纤维种类、织法等纺织品特性使粒子滞留欠佳；
b) 使用不当，例如服装更换次数太少；
c) 灭活不充分，清洁效果差，或两者兼有；
d) 纺织品洗涤周期不当，影响对风险区微生物的抑制；
e) 洗涤后再次被污染。

本附录不适用于判定活粒子对纺织品的穿透性。本附录未涉及某些应用场合对纺织品的灭菌、防尘等特殊要求，未涉及纺织品质量的直观检查或触摸判定。

D.2 原理

使用适当的采样装置，按照采样计划采集活粒子，以检测和监测风险区内纺织品的微生物污染。

D.3 接触采样装置

可以使用合适的接触装置（见附录C），包括适用于检测小型纺织品的装置，测量纺织品上的活粒子。若有可能，应将纺织品平铺在光滑平坦的硬质表面上，再使用接触盘。

若所用采样器内放置的是脱水培养基，可按制造商的说明添加适量液体。有时，也可以使用能够钝

化或中和洗脱液或消毒剂的溶液，或者兼可中和洗脱液和消毒剂的溶液。

注：若需在使用前对纺织品灭菌，灭菌确认工作的一项内容是，将纺织品的样本置于萃取液中，加以机械搅拌（如使用均浆器），析出其上的微生物。再将萃取液经滤膜过滤，即可测定纺织品的生物污染状况。

D.4 结果表示

应以每 dm^2 的活单元量表示采样纺织品的活粒子数量（1 dm^2 = 100 cm^2）。

附 录 E
（资料性附录）
洗涤工序确认指南

E.1 引言

本附录给出确认洗涤工序的方法的指南及所用技术，用于需要或必须控制生物污染的场合。

E.2 检测方法

E.2.1 原理

确认过程中所使用的样品件与受检工序所洗涤的纺织品属同一类型。用定量的已知微生物污染样品，然后使其经过待确认的洗涤工序，以检验该工序将细菌降至原水平的十万分之一，或将酵母菌和真菌孢子降低至原水平的万分之一量级的能力。

需要进行的对照：

a) 对照样 A：原微生物悬浮液中活单元的计数。对照样 A 用以证实初始微生物数量足以进行降低微生物数量级的测量；

b) 对照样 B：除不经洗涤工序外，对照样 B 与被试样品所经历的过程完全相同。对该对照样的活单元进行计数。对照样 B 是用来证实确认过程中微生物的成活力未发生变化；

c) 对照样 C：除经洗涤工序之后再用微生物悬浮液污染外，对照样 C 与被试样品经过包括洗涤工序在内的完全相同的过程。对该对照样的活单元进行计数。对照样 C 是用来证实活微生物的计数方法适合于工艺条件（时间、机械效应、温度、纺织品上残留的洗涤剂等）。

对于正式检测，要在蛋白质溶液中制备已知微生物的悬浮液并将已知量的悬浮液施于被试样品。被试样品作为模拟的正常负荷中的一部分经过洗涤工序。洗涤后，对被试样品上的微生物进行计数。测量微生物的减少程度，并与以上提到的降低数量级进行比较。

模拟正常洗涤所用的服装，应灭菌后才能再次使用，或予以销毁。

E.2.2 微生物

E.2.2.1 细菌

至少要使用下列菌种：

a) 希氏肠球菌 ATCC 10541；

b) 大肠杆菌 ATCC 10536。

E.2.2.2 真菌

如有真菌存在，则至少要使用下列真菌种：

a) 啤酒酵母 ATCC 9084；

b) 黑曲霉 ATCC 16404

E.2.2.3 细菌孢子

如有孢子存在，则至少要使用下列孢子菌种：

枯草芽孢杆菌 ATCC 6633。

E.2.3 微生物悬浮液

E.2.3.1 悬浮液介质

细菌应使用灭菌蛋白胨盐水作为悬浮液的介质。真菌另加体积分数 0.05%的聚山梨醇酯 80 或其他经过确认的化学品，细菌孢子应使用灭菌蒸馏水。

E.2.3.2 回收介质

可使用悬浮液介质，蒸馏水或在检测条件下能被过滤的任何溶液。如必须使用消毒剂中和媒介，可将其加入回收介质中。

E.2.3.3 蛋白质溶液

需制备下述水溶液：

——A 溶液：质量浓度 3%牛血清白蛋白(库恩组份 V)，如需要将其调至 pH＝6.8±0.2，用滤膜除菌；

——B 溶液：质量浓度 15%酵母菌萃取液，将其调至 pH＝7±0.2，用经过确认的步骤灭菌；

——C 溶液：将 A 溶液与 B 溶液按 100∶20 比例混合，所以每种蛋白质的质量浓度为 2.5%。

E.2.4 对照样和被试样品

这些小尺寸纺织品样品应能代表那些待确认洗涤工序所洗涤的纺织品，并且只能使用 1 次。样品的尺寸为 10 cm×5 cm，其中有 5 cm×5 cm 的污染面积，还有自由端，以便系在某件待洗涤的纺织品上。

用可透蒸汽的材料包裹样品，用经过确认的方法灭菌。

E.2.5 制备培养液

制备每毫升细菌细胞≥10^8 个，或每毫升真菌细胞或细菌孢子≥10^7 个的悬浮液。

E.2.6 规程

E.2.6.1 对照样检测

——对照样 A：用培养液适当稀释培养基后，对含菌量 30 VU/mL～300 VU/mL 的稀释悬浮液中的活单元(VU)进行 2 次计数。2 次计数的平均值记为 N。检查原悬浮液中细菌细胞浓度是否≥10^8 个 mL^{-1}，真菌细胞或细菌孢子是否≥10^7 个 mL^{-1}

——对照样 B：使用适当的稀释液，在两片对照样上滴 0.5 mL 含菌量 30 VU/mL～300 VU/mL 的悬浮液，在另两片对照样上滴 0.5 mL 含菌量 300 VU/mL～3 000 VU/mL 的悬浮液。除了不经洗涤工序外，这 4 片对照样与被试样品在检测全过程中经相同的处理和检测。返回实验室后，用琼脂营养基进行培养。受污染最重的两片对照样上活单元平均计数记为 N'_1，另外两片的平均计数记为 N'_2。

——对照样 C：在 1 片对照样上滴 0.5 mL 的蛋白质 C 溶液(见 E.2.3.3)。令此样片经历整个洗涤工序，然后浸入 100 mL 的回收介质中，搅拌 15 s～30 s，放入培养皿。然后将 1 mL 含菌量 30 VU/mL～300 VU/mL 的悬浮液滴在该对照样上，再将其用 10 mL 琼脂培养基覆盖，对其进行培养与计数。该计数记为 n_1。用过滤微生物的滤膜过滤前面所用的 100 mL 回收介质。滤膜经 3 次洗脱后，浸入 50 mL 的新回收介质中。在这 50 mL 回收介质中加入 1 mL 含菌量

30 VU/mL～300 VU/mL 的悬浮液，然后再过滤。用另外 50 mL 新回收介质清洗滤膜和过滤装置，然后再过滤，之后，将滤膜放到琼脂介质上进行培养。此计数记为 n_2。计算 $n=(n_1+n_2)/2$。

若 $N \cong N_2 \cong n$，则确认该检测的实验条件有效。

若 $N'_2 \leqslant 0.5N$，且 $N'_1 \leqslant 0.05N$，或 $n \leqslant 0.5N$，则检测的实验条件无效，不能进入下一步的正式检测。要重新制作对照样，例如，可在尚未经洗涤工序的对照样上加适当的化合物以中和残留的化学品。

E.2.6.2 正式检测

将 3 mL 的微生物悬浮液(E.2.5)与 2 mL 的蛋白质 C 溶液(E.2.3.3)在环境温度下混合 5 min。将 0.5 mL 该混合悬浮液滴到被试样品上。每种微生物需要 3 块样片。

在经洗涤工序后，尽快将对照样片带回实验室。将每块样片放入 100 mL 的回收介质中，搅拌 15 s～30 s，然后按下述步骤操作：

a) 取其中 0.1 mL，加入 9.9 mL 新回收介质中，并加以搅拌。用滤膜过滤这 10 mL 回收介质，再让 50 mL 新回收介质通过滤膜 3 遍，将滤膜放到琼脂营养基上培养；

b) 取其中 1 mL，经滤膜过滤，再用 50 mL 新回收介质通过滤膜 3 遍，将滤膜放到琼脂营养基上培养；

c) 用滤膜过滤剩下的 98.9 mL，再用 50 mL 新回收介质通过滤膜 3 遍，将滤膜放到琼脂营养基上培养；

d) 在无菌条件下将每块被试样品放入培养皿，用琼脂培养基覆盖并培养。

n'_1 为滤膜上测出的活单元数量，即 E.2.6.2a)、b)、c)计数的平均值；

n'_2 为 E.2.6.2d)中被试样品上的活单元的平均值。

因此，经洗涤工序后残留微生物的数量为 $R=n'_1+n_2$。

E.2.7 结果说明

计算对照样品上微生物数量 N 与 R 的比值，检验洗涤工序是否确实将细菌量至少降低至十万分之一，将酵母菌和细菌孢子量至少降低到万分之一

附 录 F
（资料性附录）
液体生物污染测定指南

F.1 引言

本附录是测定液体（水或其他液体）生物污染的指南，用于需要和必须控制生物污染的场合。此项评价要采集代表性的样本，探查那些现存的、需要加以控制或监测的活粒子。

对液体生物污染的评定是按本部分的一般原理进行的，它要求制定一套评价和控制洁净室生物污染的正规体系。除此之外，还要考虑下述因素：

a） 风险区内的微生物生态及相关参数；

b） 具体液体中活粒子的预期浓度；

c） 液体的状况；

d） 采样的准确度和采样效率。

F.2 原理

使用适当采样器，在风险区处于静态或日常正常运行时，按照采样计划采集风险区内液体的样本，探查并监测风险区内液体的微生物污染状况。可采用直接或间接测量法对活粒子进行定性和定量的检测。

F.3 规程

F.3.1 指南

液体生物污染的检测方法有多种，要根据液体特性和所需采样量选择具体方法。例如，倾注平板法、平板涂布法、滤膜过滤法及其他方法[25]

为便于采样应适当降低液体压力。应注意液体的状况和液体中活单元的预期浓度。

F.3.2 样本准备

根据液体的状况和生物污染程度，可对样本进行直接检验或经适当处理后再检验。

F.3.3 样本检验

应选择适合于采样液体特性的生物污染检测方法。

F.4 结果表示

应以每 mL（1 cm^3）的活单元表示活粒子数量。

附 录 G
（资料性附录）
培 训 指 南

G.1 引言

本附录给出了有关洁净室及相关受控环境中以生物污染控制为内容的人员培训指南。

按本部分所选定体系进行工作的所有人员，都需经过适当的、有组织的持续培训。此项培训是质量管理体系各个部分的基本支撑，是质量管理的关键。包括分包商在内的所有相关人员都要经过适当的培训，才能保证持久、可靠、可再现的效果。要特别注意对微生物监测和实验室分析人员的专业培训。

培训需制订实用的计划和培训教材，各种培训活动的文件和记录需要保留，还需要一套培训验证体系。既可在本单位内，也可由独立机构在单位外进行培训。

本附录仅指出生物污染控制领域一个培训考核周期中应有的最主要内容和要素，但并未提出资格评定、能力水平、能力鉴定或整个人员培训计划的标准。

G.2 标准培训计划的内容

G.2.1 概述

应按规程的相应要求准备培训文件，并在文件中对规程的每个步骤给予详细说明。应将每个步骤的内容再细分为多个组分，全面地说明在培训中这些步骤的内容和范围。

G.2.2 培训文件

培训文件中应考虑以下各个方面：

a) 培训使用的文件和参考资料目录；

b) 培训目标和所用方法的说明和定义；

c) 每个规程步骤的详细说明，以便于全面理解该具体步骤的实施要求；

d) 适用时，测量的结果；

e) 培训课程表，培训在内部的还是在他处举办；

f) 对培训效果的评估。

应对所选定的体系制定统一的培训手册，而不是对每个规程或内容各自制定单独的培训指南。文件的格式应当统一，重点是相关的规程，应避免繁琐的背景材料。

G.2.3 培训手册

应将与特定领域或特定设施相关的所有培训资料整理成一份培训手册。该手册应将规程细化为标准的、可清楚理解的独立步骤，以达到满意的效果。

培训手册一般应用于下述目的：

a) 新员工培训；

b) 采用新方法、新仪器、新采样器时；

c) 微生物与卫生管理规范，实验室安全；

d) 风险分析；

e) 采样计划和监测计划的变更；
f) 效果不够满意时的再培训；
g) 定期验证。

G.2.4 微生物和生物污染控制程序

工作于受控环境的所有人员以及负责环境控制项目管理和日常运行的人员(包括采样人员和实验室技术人员)的正式培训，应包括：

a) 微生物学基本原理；
b) 实用微生物学基础，卫生学基础，流行病学基础；
c) 员工无菌操作规范及预防措施；
d) 环境控制方法原理；
e) 微生物采样技术；
f) 微生物危害分析的基本原理；
g) 了解生物污染控制的目标值、预警值与干预值；
h) 趋势分析原理；
i) 实验室用各种方法的专门培训，微生物鉴别自动化辅助系统的专门培训；
j) 撰写清楚报告的介绍。

G.3 培训的验证

G.3.1 概述

验证是为证实确已举办培训，并有文档记录。对人员已按规定的体系受过培训的验证，是建立在规程基础上的。因此，规程实施细节是培训验证的重点。为了便于验证学员按操作规程完成本职工作的能力，建议采用一套系统的验证方法。

G.3.2 评定手段

有了培训验证方法，还有必要设计一套评定程式来验证培训效果。可对照实验室、或本部门、或监督机构、或培训机构制定的技能标准，评定员工的表现。可使用各种“考核手段”来评定学员的表现，例如：

a) 按照培训计划的目标进行评定；
b) 书面考试；
c) 评定对下述项目的应对：
   1) 关注领域的案例研究；
   2) 问题；
   3) 与规程有关的一些情况。
d) 回答与规程有关的口头提问；
e) 对已知样本和未知样本进行检测。

应在评定开始之前告诉所有参加者通过评定的标准。

G.3.3 文件

G.3.3.1 概述

培训结果的相关文件可采用各种格式。在培训验证文件中，员工记录及其格式的连贯性十分重要。

文件应符合法规要求，符合认证要求，符合标准要求；符合机构（雇主）的政策或部门的政策，或同时符合这两者；符合实验室部门服务工作和方针要求。

G.3.3.2 记录保存

应保存清楚的、并含有下述内容的书面记录：

a) 受训者姓名；

b) 培训负责人姓名；

c) 记录保存的地方及可查看记录的人员；

d) 记录何时作废；

e) 可在何时以何种方式查看记录。

参 考 文 献

[1] GB/T 19000—2008 质量管理体系 基础和术语(ISO 9000:2005,IDT)

[2] GB/T 25915.1—2010 洁净室及相关受控环境 第1部分:空气洁净度等级(ISO 14644-1:1999,IDT)

[3] ISO/IEC Guide 51 Safety aspects—Guidelines for their inclusion in standards

[4] ISO 14971 Medical devices—Application of risk management to medical devices

[5] COVELLO, V. T., MERKHOFER, M. W. (eds.). Risk assessment methods. Approaches for assessing health and environmental risks. New York Plenum Press, 1993

[6] PIERSON, M. D., CORLETT, D. A. (eds.). HACCP—Principles and applications. New York Van Nostrand Reinhold, 1992

[7] Hazard Analysis Critical control Point(HACCP) system and guidelines for its application. 1995 Codex Alimmentarius Commission. 97/13. Annex to Appendix Ⅱ. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Rome, Food and Agricultural Organization of the United Nations, 1995

[8] JAHNKE M. Use of the HACCP concept for the risk analysis of pharmaceutical manufacturing process. European Journal of Parenteral Sciences, 1997, 2(4): 113-117

[9] ISO 15161 Guidelines on the application of ISO 9001:2000 for the food and drink industry

[10] IEC 61025:1990 Fault tree analysis(FTA)

[11] IEC 60812:1985 Analysis techniques for system reliability—Procedure for failure mode and effects analysis(FMEA)

[12] WHYTE, W. Operating a cleanroom: Contamination control. From Chapter15, Cleanroom technology—The fundamentals of design, testing and operation. Chichester, U. L. John Wiley and Sons, 2001

[13] DIN 58949-9, Quality management in medical microbiology—Part 9: Requirements for use of control strains for testing culture media

[14] CORRY, J. E. L. (ed.). Quality assurance and quality control of microbiological culture media. Darmstadt, GIT Verlag, 1982

[15] ISOARD, P., CALOP, J., CONTAMIN, C. La contamination microbiologique des atmosphères closes. Origines: méthods d'études. Journal de Chirurgie(Paris), 119: 503-512

[16] ISO 7218 Microbiology of food and animal feeding stuffs—General rules for microbiological examinations

[17] ISO 31(all parts) Quantities and units

[18] HENNINGSON, E. W., AHLBERG, M. S. Evaluation of microbiological air samplers: a review. Journal of Aerosol Science, 1994, 25: 1459-1492

[19] MARTHI, B., LIGHTHART, B. Effects of betaine on enumeration of airborne bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 1990, 56: 1286-1289

[20] WHYTE W. In Support of settle plates. PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 1996 50: 201-204

[21] PITZURRA, M., PASQUARELLA, C., PITZURRA, O., SAVINO, A. La misura della contaminazione microbicadell aria: ufc/m3. e/o IMA Nota 2. Ann. lg., 1996, 8: 441-452

[22] MACHER, J. M., FIRST, M. W. Reuter centrifugal air sampler: Measurement of effective airflow rate and collection efficiency. Applied and Environmental Microbiology, 45: 1960-1962

[23] CLARK, R. P., GOFF, M. R. The potassium iodide method for determining protection factors in openfronted microbiological safety cabinets. Journal of Applied Microbiology, 1981, 51: 439-460

[24] WHYTE, W., NIVEN, L. Airborne bacteria sampling: the effect of dehydration and sampling time. Journal of Parenteral Science and Technology, 1986, 40: 182-187

[25] TAYLOR, R. H. M., ALLEN, J. M., GELDREICH E. E. A comparison of pour plate and spread plate methods. Journal of the American Water Works Association, 1983, 75: 35-37