



中华人民共和国国家标准

GB 18281.3—2015/ISO 11138-3:2006
代替 GB 18281.3—2000

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

Sterilization of health care products—Biological indicators—
Part 3: Biological indicators for moist heat sterilization processes

(ISO 11138-3:2006, IDT)

2015-12-10 发布

2017-01-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

目 次

前言 I

引言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 通则 1

5 试验微生物 1

6 菌悬液 2

7 载体和初级包装 2

8 染菌载体和生物指示物 2

9 接种数量与抗力 2

附录 A（规范性附录） 湿热灭菌抗力的测定 3

附录 B（规范性附录） z 值和相关系数 γ^2 的计算 4

参考文献..... 6

前 言

GB 18281 的本部分的全部技术内容为强制性。

GB 18281《医疗保健产品灭菌 生物指示物》分为以下五个部分：

- 第 1 部分：通则；
- 第 2 部分：环氧乙烷灭菌用生物指示物；
- 第 3 部分：湿热灭菌用生物指示物；
- 第 4 部分：干热灭菌用生物指示物；
- 第 5 部分：低温蒸汽甲醛灭菌用生物指示物。

本部分是 GB 18281 的第 3 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分代替 GB 18281.3—2000《医疗保健产品灭菌 生物指示物 第 2 部分：湿热灭菌用生物指示物》，与 GB 18281.3—2000 相比，主要技术变化如下：

- 试验微生物嗜热脂肪芽孢杆菌(*Bacillus strarothermophilus*)更名为嗜热脂肪地芽孢杆菌(*Geobacillus stearothermophilus*)，增加了枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) ATCC 35021(5230)；
- 更改了最高暴露温度、121 °C 时 *D* 值精确度；
- 给出了 *z* 值和相关系数 γ^2 的详细计算方法。

本部分使用翻译法等同采用 ISO 11138-3:2006《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》。

与本部分中规范性引用的国际文件有一致性对应关系的我国文件如下：

- GB 18281.1—2015 医疗保健品灭菌 生物指示物 第 1 部分：通则(ISO 11138-1:2006, IDT)；
- GB/T 24628—2009 医疗保健产品的灭菌 生物与化学指示物测试设备(ISO 18472:2006, IDT)。

本部分做了下列编辑性修改：

- 按照 GB/T 1.1 的要求进行了一些编辑上的修改；
- 删除了国际标准的前言。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发行机构不承担识别这些专利的责任。

本部分由国家食品药品监督管理总局提出。

本部分由全国医用消毒技术与设备标准化技术委员会(SAC/TC 200)归口。

本部分起草单位：山东新华医疗器械股份有限公司、国家食品药品监督管理局广州医疗器械质量监督检验中心。

本部分主要起草人：王洪敏、苗晓琳、黄秀莲。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB 18281.3—2000。

引 言

GB 18281.1 规定了生物指示物的生产、标签、试验方法和性能要求,这些指示物包含预期用于灭菌过程的确认和常规控制的染菌载体和悬液。本部分给出了用于湿热灭菌过程中的生物指示物的专用要求。

GB 18281 提供了通用要求和试验方法。代表目前先进水平的系列国家标准是由专业的制造商、使用者和监管部门共同制定的。本部分制定的目的不是推进生物指示物的使用,而是为目前使用的生物指示物提供规范。

标准中提供了用于确认和控制灭菌过程的通用要求(见 ISO 17665-1)。

对生物指示物的选择、使用和检验结果判断见 ISO 14161。

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

1 范围

GB 18281 的本部分规定了拟在评价使用湿热作为灭菌介质时的湿热灭菌过程中的试验微生物、悬液、染菌载体、生物指示物的要求和试验方法。

本部分所规定的生物指示物适用于使用干饱和蒸汽的湿热灭菌过程,不适用于使用空气混合物蒸汽的湿热灭菌过程。

注1:关于湿热灭菌确认与常规控制参见 ISO 17665-1。

注2:工作场所的安全参照国家的相关规定。

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。

ISO 11138-1:2006 医疗保健产品灭菌 生物指示物 第1部分:通则(Sterilization of health care products—Biological indicators—Part 1:General requirements)

ISO 18472 医疗保健产品的灭菌 生物与化学指示物 测试设备(Sterilization of health care products—Biological and chemical indicators—Test equipment)

3 术语和定义

ISO 11138-1 界定的术语和定义适用于本文件。

4 通则

ISO 11138-1 的要求适用于本部分。

5 试验微生物

5.1 本部分所列试验过程应使用的试验菌为嗜热脂肪地芽孢杆菌(*Geobacillus stearothermophilus*)的芽孢或其他已被证明符合本部分要求的同等性能的菌种。

注1:嗜热脂肪芽孢杆菌(*Bacillus strarothermophilus*)现已更名为嗜热脂肪地芽孢杆菌(*G.stearothermophilus*)。

注2:嗜热脂肪地芽孢杆菌(*G.stearothermophilus*) ATCC 7953(NCTC 10007、DSM 22 和 CIP 52.81)和 ATCC 12980(同 NRRL B-4419)均已被证实可以满足试验的要求。

5.2 在使用除嗜热脂肪地芽孢杆菌(*G.stearothermophilus*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) ATCC 35021(5230)以外的菌种进行试验时,应先对其进行抗力测定。

注:在低于 121 °C 的情况下,可以使用枯草芽孢杆菌(*B.subtillis*) ATCC 35021(5230)等菌种,尤其是对热敏液体进行的灭菌过程。

6 菌悬液

ISO 11138-1 的要求适用于本部分。

7 载体和初级包装

7.1 载体和初级包装的专用要求应符合 ISO 11138-1:2006 中 5.2 和附录 B 的要求。

7.2 暴露条件的确定应遵循以下程序：

- a) 最低暴露温度：应高于生产商规定的最大暴露温度 5 °C 或以上。
- b) 灭菌因子：干饱和蒸汽。在未使用干饱和蒸汽的湿热灭菌过程中，例如使用空气/蒸汽混合物时，应选择适宜条件并作为本部分的例外加以注明。
- c) 最高暴露温度：应遵照生产商规定。如生产商未作规定，应采用 140 °C。
- d) 暴露时间： ≥ 30 min。

注：只要载体处于蒸汽灭菌工艺的实效范围之内，这些被选条件就代表了对载体的实际检验。

8 染菌载体和生物指示物

ISO 11138-1 的要求适用于本部分。

9 接种数量与抗力

9.1 生产商应根据 ISO 11138-1:2006 中 4.3 的规定，标明生物指示物的各项抗力参数。

9.2 活菌数应以每个单位（如每毫升菌悬液、每个染菌载体或每个生物指示物）中微生物的增量值 $\leq 0.1 \times 10^n$ 的形式来表述。

9.3 染菌载体和生物指示物的总活菌数应不少于 1.0×10^5 。

9.4 抗力值应以 121 °C 时的 D 值表示，单位为分（min）。每批次的生物指示物或染菌载体的 D_{121} 值应以分（min）为单位，精确度为 0.1 min。

9.5 在根据附录 A 进行试验时，用于检验的菌悬液、染菌载体或生物指示物所使用的嗜热脂肪地芽孢杆菌 (*G. stearothermophilus*) 芽孢的 D_{121} 值应 ≥ 1.5 min。在确定其他菌种的 D 值时应根据灭菌的实际需要。菌悬液、染菌载体和生物指示物上试验微生物的 z 值，必须在 110 °C ~ 130 °C 范围内至少 3 种温度下进行测定。这些数据应用于计算 z 值， z 值必须不低于 6 °C (z 值应根据附录 B 进行计算)。

9.6 生物指示物的抗力也可以用 F_{BIO} 值表示（见 ISO 11138-1:2006 中 3.7）。

本部分及 GB 18281 的其他部分中所述的抗力特征在标准规定的测试条件下确定。

9.7 D 值的测定方法见 ISO 11138-1:2006 中的附录 C 和附录 D。

9.8 可通过存活曲线法获得生物指示物上试验微生物总数的 D 值（见附录 A）。

9.9 计算存活-杀灭曲线可参照 ISO 11138-1:2006 的附录 E 中的公式。

注：对同一制造商不同批次产品进行比较，可以为使用者提供更有价值的信息。

示例：使用 ISO 11138-1:2006 中附录 E 提供的公式，以最小活菌数和最小 D 值计算可得：

——温度为 121 °C 时：存活时间 ≥ 4.5 min，杀灭时间 ≤ 13.5 min。

附 录 A
(规范性附录)
湿热灭菌抗力的测定

A.1 概述

本部分所述方法需要特定的设备:抗力仪。湿热灭菌用抗力仪的特定参数参见 ISO 18472。
有关测试方法的具体要求见 A.2。

A.2 方法

A.2.1 将测试样本置于合适的载样器材上。

A.2.2 让测定器预热到所需温度,如:121 °C ± 0.5 °C。

A.2.3 把固定好的载样器材和样品放入室内,关闭反应室,并启动操作程序的循环过程。

A.2.4 按以下程序进行操作:

第一步:反应室抽真空,2 min 内达到 4.5 kPa ± 1 kPa。

第二步:向室内通入蒸汽,使温度和压强在 10 s 内达到规定值。暴露时间为 0 min 时,应无蒸汽通入。

第三步:在规定的暴露时间内维持该条件。

第四步:在暴露阶段结束时,应在 1 min 之内将室内的压力减到 10 kPa 以下。温度必须在 5 s 内降到 100 °C 以下。通入经过滤的空气直至达到外界大气压。

第五步:该周期结束后,迅速从反应室取出载样器材和样品,并迅速冷却。将样品转移到生长培养基并培养(见 ISO 11138-1:2006 中的第 7 章)。

A.2.5 样品的转移过程应作书面记录,所有的测试需使用相同的时间周期。

A.3 抗力的测定

应按照 ISO 11138-1:2006 中附录 C、附录 D 和附录 E 规定的方法测定抗力。

附录 B
(规范性附录)

z 值和相关系数 r^2 的计算

B.1 根据 ISO 11138-1:2006 中附录 C 或附录 D 里提供的方法获得数据,通过 $\lg D$ 值对暴露温度作图可求得 z 值,单位为摄氏度($^{\circ}\text{C}$)。在使用线性回归分析法时, z 值等于“最佳拟合曲线”斜率的负倒数。

注: z 值与相关系数 r^2 的计算方法参见 9.5。

B.2 通过式(B.1)计算最佳拟合曲线的斜率:

$$m = \frac{nG - AB}{nC - A^2} \dots\dots\dots (\text{B.1})$$

式中:

m ——最佳拟合曲线的斜率;

n —— D 值/温度的对数值;

G —— $\sum(t \lg y)$;

A —— $\sum t$;

B —— $\sum \lg y$;

C —— $\sum t^2$ 。

计算所需数据见表 B.1。

表 B.1 示例:使用线性回归分析法计算数据

D 值(y) min	暴露温度(t) $^{\circ}\text{C}$	$\lg y$	t^2	$t \lg y$	$(\lg y)^2$
y_1	t_1	$\lg y_1$	t_1^2	$t_1 \lg y_1$	$(\lg y_1)^2$
y_2	t_2	$\lg y_2$	t_2^2	$t_2 \lg y_2$	$(\lg y_2)^2$
y_3	t_3	$\lg y_3$	t_3^2	$t_3 \lg y_3$	$(\lg y_3)^2$
y_n	t_n	$\lg y_n$	t_n^2	$t_n \lg y_n$	$(\lg y_n)^2$
	$A = \sum_{i=1}^{i=n} t_i$	$B = \sum_{i=1}^{i=n} \lg y_i$	$C = \sum_{i=1}^{i=n} t_i^2$	$G = \sum_{i=1}^{i=n} (t_i \lg y_i)$	$E = \sum_{i=1}^{i=n} (\lg y_i)^2$
赋值变量	A	B	C	G	E

B.3 表 B.2 给出了具体的计算示例。

表 B.2 斜率的计算示例

D 值(y) min	暴露温度(t) $^{\circ}\text{C}$	$\lg y$	t^2	$t \lg y$	$(\lg y)^2$
$y_1=2.0$	$t_1=121$	$\lg y_1=0.301\ 0$	$t_1^2=14\ 641$	$t_1 \lg y_1=36.421\ 0$	$(\lg y_1)^2=0.090\ 6$
$y_2=1.1$	$t_2=124$	$\lg y_2=0.041\ 4$	$t_2^2=15\ 376$	$t_2 \lg y_2=5.133\ 6$	$(\lg y_2)^2=0.001\ 7$
$y_3=0.4$	$t_3=129$	$\lg y_3=-0.397\ 9$	$t_3^2=16\ 641$	$t_3 \lg y_3=-51.329\ 1$	$(\lg y_3)^2=0.158\ 3$
	$A = \sum_{i=1}^{i=3} t_i$	$B = \sum_{i=1}^{i=3} \lg y_i$	$C = \sum_{i=1}^{i=3} t_i^2$	$G = \sum_{i=1}^{i=3} (t_i \lg y_i)$	$E = \sum_{i=1}^{i=3} (\lg y_i)^2$
赋值变量	$A=374$	$B=-0.055\ 5$	$C=46\ 658$	$G=-9.774\ 5$	$E=0.250\ 6$

$$\begin{aligned}
 m &= \frac{nG - AB}{nC - A^2} \\
 &= \frac{3 \times (-9.774\ 5) - 374 \times (-0.055\ 5)}{3 \times (466\ 58) - 374^2} \\
 &= \frac{-29.323\ 5 - (-20.757\ 0)}{139\ 974 - 139\ 876} \\
 &= \frac{-8.566\ 5}{98} \\
 &= -0.087\ 4
 \end{aligned}$$

B.4 z 值为上述斜率的负对数,可用下列公式求得:

$$z = -\left(\frac{1}{m}\right)$$

使用上式计算斜率,得到 z 值:

$$z = -\left(\frac{1}{-0.087\ 4}\right) = 11.441\ 6\ ^\circ\text{C}$$

保留一位小数,得到 $z = 11.4\ ^\circ\text{C}$ 。

B.5 相关系数 γ^2 可使用下列公式计算:

$$\gamma^2 = \frac{\{(G) - [(A)(B/n)]\}^2}{[(C) - (A^2/n)][(E) - (B^2/n)]}$$

式中所有变量均同 B.2, $E = \sum (\lg y)^2$ 。

B.6 下面是计算 z 值相关系数的实例,使用 B.2 相同数据:

$$\begin{aligned}
 \gamma^2 &= \frac{[-9.774\ 5 - 374 \times (-0.055\ 5/3)]^2}{(466\ 58 - 374^2/3) \times [0.250\ 6 - (-0.055\ 5^2/3)]} \\
 &= \frac{[-9.774\ 5 - (-6.919\ 0)]^2}{(466\ 58 - 46\ 625.333) \times (0.250\ 6 - 0.001\ 0)} \\
 &= \frac{(-2.855\ 5)^2}{32.667 \times 0.249\ 6} \\
 &= \frac{8.153\ 9}{8.151\ 36} \\
 &= 1.000\ 0
 \end{aligned}$$

参 考 文 献

- [1] ISO 14161 Sterilization of health care products—Biological indicators—Guidance for the selection, use and interpretation of results
- [2] ISO 17665-1 Sterilization of health care products—Moist heat—Part 1: Requirements for the development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices
-