|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 11.080.01 |
| CCS | C47 |

中华人民共和国国家标准

GB/T 18280.2—XXXX

代替 GB 18280.2-2015



医疗保健产品灭菌 辐射 第2部分：建立灭菌剂量

Sterilization of health care products—Radiation—Part 2: Establishing the sterilization dose

(ISO 11137-2:2013+Amd1:2022，IDT)

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

`

目次

[前言 II](#_Toc111641478)

[引言 III](#_Toc111641479)

[1 范围 1](#_Toc111641480)

[2 规范性引用文件 1](#_Toc111641481)

[3 术语和定义 1](#_Toc111641482)

[4 剂量设定、剂量证实和灭菌剂量审核中产品族的定义和保持 4](#_Toc111641483)

[5 建立灭菌剂量中产品的选择和实验 6](#_Toc111641484)

[6 剂量建立的方法 8](#_Toc111641485)

[7 方法1：利用生物负载信息设定剂量 9](#_Toc111641486)

[8 方法2： 使用从增量剂量实验中得到的阳性分数信息确定外推因子的剂量设定方法 19](#_Toc111641487)

[9 VDmax方法——选定的灭菌剂量的证实 26](#_Toc111641488)

[10 灭菌剂量审核 39](#_Toc111641489)

[11 实例 45](#_Toc111641490)

[参考文献 61](#_Toc111641491)

1. 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GB 18280《医疗保健产品灭菌 辐射》的第2部分。GB 18280标准由以下部分组成：

1. 第1部分：医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求；
2. 第2部分：建立灭菌剂量；
3. 第3部分：剂量测量指南。

本文件代替GB 18280.2-2015《医疗保健产品灭菌 辐照 第2部分：建立灭菌剂量》。与GB 18280.2-2015相比，主要技术变化如下：

1. 增加了“标准抗性分布”的定义（见3.1.10）；
2. 增加了“无菌检查”的定义（见3.1.14）；
3. 更改了用于描述验证剂量实验期间结果解释要求的语言（见7.2.6.2、7.3.7.2、9.2.6.3、9.3.7.3、9.4.6.3和9.5.7.3，2015年版的7.2.6.2、7.3.7.2、9.2.6.3、9.3.7.3、9.4.6.3和9.5.7.3）；
4. 增加了VDmax方法（见6.4和9.1）。

本文件等同采用ISO 11137-2:2013/Amd1:2022《医疗保健产品灭菌 辐射 第2部分：建立灭菌剂量（修正版1）》。

本文件由国家食品药品监督管理局提出。

本文件由全国消毒技术与设备标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

本文件于2015年12月首次发布。

1. 引言

GB 18280的本部分描述了根据GB 18280.1的8.2给出的两种途径中的任意一种建立灭菌剂量的方法。这些方法是：

1. 获得产品特有剂量的设定方法；
2. 对预先选定的25kGy或15kGy做剂量证实。

GB 18280的本部分描述的剂量设定方法的基础主要是Tallentire[19][20][21]首次提出的。之后，标准草案形成的剂量设定方法基础经过AAMI推荐的伽玛辐射灭菌实践[6][8]细化后得到发展[10][11]**。**

方法1和2及相关的剂量审核程序中使用的数据来源于自然状态下存在于产品上的微生物群体。方法基于微生物群体失活的概率模型。由于生物负载由不同微生物种组成，概率模型设定了每一种微生物的单独*D10*值。在模型中，当用给定的剂量辐射后，一件产品中有一个残存微生物的概率是由辐照前产品中微生物初始的数量和*D10*值决定的。方法包括用低于灭菌剂量辐射产品后，对产品做无菌试验。试验的结果用于预测达到预定的无菌保证水平所需要的剂量。

在实施剂量设定实验中，方法1和方法2也可以用于证实25kGy，10-6的无菌保证水平获得的灭菌剂量≤25kGy。Kowalski和Tallentire[16]提出了专门为证实25kGy而设计的方法基础，即VDmax方法。随后计算机的评估表明，基本原理具有良好的基础[15]，同时，现场试验证明了对于以不同方式制造和组装的各种医疗器械，VDmax方法在证实25kGy方面是有效的[18]。

使用VDmax方法证实25kGy作为灭菌剂量的标准程序发表在AAMI的技术报告医疗保健产品的灭菌—辐射灭菌—证实25kGy作为灭菌剂量—VDmax方法 [7]，本文阐述的方法主要以此为基础。VDmax方法建立在剂量设定方法1的基础上，因此，它具有方法1的高度保守性特性。与剂量设定方法类似，对接受的辐射剂量低于灭菌剂量的产品单元进行无菌测试。实验的结果用于证实25kGy能够达到10–6无菌保证水平。

为了将VDmax的使用与特定预选灭菌剂量的证实联系起来，后者以kGy为单位的数值，写在VDmax符号的上标中。因此，为了证实25kGy的灭菌剂量，该方法被指定为方法VDmax25。

方法VDmax15基于与方法VDmax25相同的原理。测试程序类似于方法VDmax25的结果，但方法VDmax15仅限于平均生物负载≤1.5的产品。检测的结果用于证实15kGy能够使产品达到10–6的无菌保正水平。

本部分也描述了依据GB 18280.1的第12章实施的灭菌剂量审核的方法。建立灭菌剂量之后，定期进行灭菌剂量审核，以保证灭菌剂量能够持续达到所需的无菌保证水平。

医疗保健产品灭菌 辐射 第2部分：建立灭菌剂量

* 1. 范围

本文件规定了用于满足无菌特殊要求的最小剂量的设定方法和证实25kGy或15kGy作为能达到10–6无菌保证水平(SAL)的灭菌剂量的方法，以及用于证明灭菌剂量持续有效性的灭菌剂量审核方法。

本文件定义了用于灭菌剂量建立和灭菌剂量审核的产品族。

* 1. 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。

GB 18280.1-xxxx 医疗保健产品灭菌 辐射 第1部分：医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求（ISO11137-1：2006/Amd1: 2013+Amd2：2018）

GB/T 19973.1 医疗器械的灭菌　微生物学方法 第1部分：产品上微生物总数的测定 (ISO 11737-1，IDT)

GB/T 19973.2 医疗器械的灭菌 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（ISO 11737-2, IDT）

ISO 13004：20- 医疗保健产品灭菌-辐射-证实选定的灭菌剂量：VDmax方法 （Sterilization of health care products — Radiation — Substantiation of selected sterilization dose: Method VDmaxSD）

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

术语与定义

批 batch

在确定制造周期中生产的，预期或假设具有相同特征和质量的一定产品的数量。

[来源：GB/T 19971-2015 定义2.1]

生物负载 bioburden

产品和（或）无菌屏障系统表面或内部存活微生物的总数。

[来源：GB/T19971-2015 定义2.2]

假阳性 false positive

试验结果被解释为产品或产品份额有微生物生长，而微生物生长是由于外来微生物的污染所致或混浊是由于产品或产品份额和试验用培养基互相影响的结果。

阳性分数 fraction positive

以无菌试验的阳性数作分子，以试验数作分母的商。

增量剂量 incremental dose

一系列用于辐照数件产品或其份额的剂量，在剂量设定方法中，用于获得或证实灭菌剂量。

无菌阴性试验 negative test of sterility

在无菌试验中，产品或产品份额的检测结果为未检测到微生物的生长。

包装系统 packaging system

无菌屏障系统和保护性包装的组合。

[来源：GB/T19971-2015 定义2.28]

无菌阳性试验 positive test of sterility

在无菌试验中，产品或产品份额的检测结果为检测到微生物的生长。

样品份额 sample item portion；SIP

医疗保健产品单元用于检测的部分。

标准抗力分布 standard distribution of resistances；SDR

微生物抗力的参照组和相应的发生概率。

无菌屏障系统 sterile barrier system

为了产品在使用时处于无菌状态而使用的防止微生物进入产品的最小包装。

无菌保证水平 sterility assurance level；SAL

灭菌后产品上存在单个活微生物的概率。

1. 术语SAL为一定数量值，通常为10-6或10-3。当采用这个数据来确定无菌时，SAL为10-6时虽然为低数值，但比SAL为10-3具有更高的无菌保证。

[来源：GB/T19971-2015 定义2.46]

灭菌剂量审核 sterilization dose audit

证实已建立的灭菌剂量的适合性的活动。

无菌检查 test of sterility

为确定单元产品或其部分上有或没有活微生物而进行的技术操作，是开发、确认或再鉴定的一部分。

[来源：GB/T19971-2015 定义2.54]

验证剂量 verification dose

在建立灭菌剂量中，能够达到预定SAL≥10-2的灭菌剂量。

*D*值 *D* value

*D10*值 *D10* value

在规定的条件下，灭活试验微生物总数的90%所需要的时间或剂量。

[来源：GB/T19971-2015 定义2.11]

1. 在GB18280的此部分中，*D*10值仅用于剂量，不用于时间。

首次阳性分数剂量 first fraction positive dose；ffp

用增量剂量系列辐射从给定的产品批中抽出的产品单元，经过辐射后20件产品单元中至少有一个无菌试验为阴性的最低剂量。

首次阳性分数剂量 First Fraction Positive dose；FFP

使20个无菌试验中19个为阳性的剂量，用3个ffp的中值减去*A*计算得到。

首次无阳性的剂量 First No Positive dose；FNP

对供试产品达到10-2SAL的估计剂量，用于计算*DS*。

VDmax15

对于给定的生物负载的最大验证剂量，使用15kGy可以达到10-6SAL。

VDmax25

对于给定的生物负载的最大验证剂量，使用25kGy可以达到10-6SAL。

符号

| 符号 | 含义 |
| --- | --- |
| *A* | 调整中值ffp向下到FFP的剂量。 |
| *CD*\* | 在方法2的验证剂量试验中，从100件产品单元的无菌试验中获得的阳性数。 |
| *d\** | 从给定的生产批中抽取产品单元，做增量剂量试验得出的剂量。 |
| *D*\* | 对供试产品达到10-2SAL的最初估计剂量。   1. 一般这个值是给定产品3个*d*\*值的中值。 |
| *D*\*\* | 对供试产品达到10-2SAL的最终估计剂量，这个剂量用于计算灭菌剂量。 |
| *DD*\* | 方法2的验证剂量试验中得到的最高剂量。 |
| *DS* | 经过*DD*\*辐射后，产品中存在的微生物的估计D10值。 |

* 1. 剂量设定、剂量证实和灭菌剂量审核中产品族的定义和保持
     1. 总则

建立灭菌剂量和实施灭菌剂量审核是过程定义（见GB 18280.1-xxxx）和过程有效性保持（见GB 18280.1-xxxx）的一部分活动。为了这些活动，将产品划分产品族，划分产品族主要根据产品上或产品内存在的微生物数量和类型（生物负载）。微生物的类型反映其对辐射的抗力。划分产品族时并不考虑产品的密度和产品在包装系统中的装载模式，因为这些因素并不影响生物负载。

在使用产品族建立灭菌剂量和灭菌剂量审核中，风险意识很重要，例如在生产过程中影响灭菌效果的意外变化的识别能力下降。而且，使用单一产品代表产品族可能不能发现产品族中其他成员发生的变化。应评估对产品族中其他成员的变化的发现能力降低的风险，并在灭菌过程开始前，应制定并实施维持产品族的计划。

1. 见YY/T 0316与风险管理相关的指南。
   * 1. 产品族的划分
        1. 划分产品族的标准应文件化。根据这些标准评估产品并考虑潜在的产品族成员间的相似性。应考虑影响生物负载的所有产品相关的变量，包括但不限于以下因素：
2. 原料的性质和来源，包括可能来自多个地点的原材料的影响（如有）；
3. 产品的构成；
4. 产品的设计和尺寸；
5. 生产过程；
6. 生产设备；
7. 生产环境；
8. 生产地址。

记录评估和考虑的结果（见GB 18280.1-xxxx中4.1.2）。

* + - 1. 只有在已证明产品相关的变化（见4.2.1）类似并受控时，该产品才能归于一件产品族中。
      2. 只有在产品生物负载的数量和种类相似时，才能归于一件产品族。
      3. 应证明并记录一件产品族中包含多个生产地点的产品（见见GB 18280.1-xxxx，4.1.2）。应考虑以下因素对生物负载的影响：

1. 不同地点之间的地理和（或）气候的差异；
2. 在生产过程或环境控制中的任何差异；
3. 原料和加工助剂的来源（例如：水）。
   * 1. 在验证剂量试验和灭菌剂量审核中对产品族中代表产品的设计
        1. 产品族的代表产品
           1. 产品上或产品内微生物的数量和种类是选择产品族代表产品的依据。
           2. 产品族可以由以下产品代表：
4. 主产品（见4.3.2）；或
5. 等同产品（见4.3.3）；或
6. 模拟产品（见4.3.4）。
   * + - 1. 依照4.3.1.2确定三种可能的代表产品中的任何一种作为代表产品的评审应是正式的、文件化的。在评审中，应考虑以下问题：
7. 构成生物负载的微生物数量；
8. 构成生物负载的微生物种类；
9. 微生物存在的环境；
10. 产品的尺寸；
11. 产品的组件数量；
12. 产品的复杂程度；
13. 生产过程中的自动化程度；
14. 生产环境。
    * + 1. 主产品

如果评估（见4.3.1.3）表明产品族的某件产品的生物挑战大于产品族的其他产品，这件产品可以被认定为主产品。有些情况，有数件产品可以被认定为主产品，在这种情况下，这些产品中的任何一个都可以被定为主产品，代表产品族，可以a)随机选择，b)根据形成的文件化程序，选择不同的产品作为主产品。

* + - 1. 等同产品

如果评估（见4.3.1.3）表明一件产品组需要同样的灭菌剂量，这一组产品将被视为等同产品。代表产品族的等同产品的选择，可以是a）随机选择，b）根据形成的文件化程序，选择产品族中的不同产品。选择等同产品代表产品族时，应考虑产品的生产量和可行性。

* + - 1. 模拟产品

在灭菌过程中，与产品族中的产品相比，当模拟产品具有等同或更大的生物挑战时，这个模拟产品可以作为这件产品族的代表产品。模拟产品的包装方式和包装使用的材料应与实际产品相同。

1. 模拟产品并不用于临床，仅用于建立和保持灭菌剂量。

模拟产品可以是：

* 1. 与实际产品有相似的材料和尺寸，经过相似加工过程，例如：经过完整生产过程的一件植入物的材料；或
  2. 产品族中产品组件的组合，通常不会组合使用，例如：含有复合滤器、夹子、活塞的一套软管，它们也是产品族中其他产品的组件。
     1. 产品族的保持
        1. 周期性评审

评审应在规定的频度内进行，以确保产品族和产品族的代表产品持续有效。产品和/或过程的评审可能影响到产品族的产品，评审的职责应分派给有能力的人。这样的评审至少每年做一次。评审的结果应根据GB 18280.1-xxxx中4.1.2进行记录。

* + - 1. 产品和/或生产过程的修改

对产品的修改，例如：原料（性质和来源）、产品设计或组分（包括尺寸）和/或生产过程的修改（例如：设备、环境和场所），都应进行正式的、文件化的变更控制系统评审。这种修改可能改变产品族划分的依据或选择产品族代表产品的依据。重大的变化需要重新划分新的产品族或选择不同的代表产品。

* + - 1. 记录

应保存产品族的记录（见GB 18280.1-xxxx中4.1.2）。

* + 1. 建立灭菌剂量和灭菌剂量审核失败对产品族的影响

一件产品族在建立灭菌剂量或完成灭菌剂量审核期间失败时，应考虑产品族中所有产品受到的影响，后续措施应适用于产品族中所有的产品。

* 1. 建立灭菌剂量中产品的选择和实验
     1. 产品性质
        1. 用于灭菌的产品应由以下组成：

1. 在其包装系统中的一个独立的医疗保健产品；
2. 包装系统中的一套组件，通过安装组成医疗保健产品，但需要与必要的附件联合使用；
3. 在一个包装系统中的数件同样的医疗保健产品；
4. 由多种相关联的医疗保健产品构成的成套器械。

完成灭菌剂量建立的产品单元应符合表1。

1. 建立灭菌剂量所需产品单元的特性

| 产品类型 | 生物负载评价、验证和/或增量剂量实验所需的产品单元 | 原理 |
| --- | --- | --- |
| 在其包装系统中的一个独立的医疗保健产品 | 单个医疗保健产品 | 独立用于临床实践的每一件医疗保健产品 |
| 包装系统中的一套组件 | 所有组件结合在一起的产品 | 所有组件组装成一件产品用于临床实践 |
| 在其包装系统中的数个同样的医疗保健产品 | 包装系统中取出的单个医疗保健产品 | 每一件医疗保健产品都独立用于临床实践；尽管与包装系统相关的总体SAL可能会更高，但在其包装系统中的单个医疗保健产品的SAL应满足选定的SAL。 |
| 由多种相关联的医疗保健产品构成的成套器械a | 构成成套器械的每种医疗保健产品 | 独立用于临床实践的每一件医疗保健产品 |
| 1. 5.1.1 b)所述产品特征见5.2中SIP的使用指南。 2. 5.1.1 d)所述产品特征见第4章中的产品族的使用。 | | |
| a 在建立灭菌剂量中，以需要最高灭菌剂量的医疗保健产品为依据选择灭菌剂量。 | | |

如果产品的某部分声称无菌，则只能根据该部分确定灭菌剂量。示例：如果产品有标签声明仅流体通道无菌，灭菌剂量仅根据流体通道生物负载测定和无菌试验结果确定。

* + 1. 样品份额(SIP)
       1. 对于平均生物负载≥1.0的产品，可行时，根据表1，需检测一件完整的产品(SIP=1.0)，如果使用完整的产品不可行时，可选用部分产品作为替代，选择的比例尽可能的大，尺寸要在实验室测试能够处理的范围内。
       2. 对于平均生物负载≤0.9的产品，根据表1，应检测一件完整的产品(SIP=1.0)。
       3. 如果生物负载均匀分布在产品上和/或产品内，SIP可以从产品的任何一部分选择。如果生物负载不均匀分布，组成SIP可以a)随机选择产品部分，这些部分可成比例地代表制成产品的每一种材料，或b)对灭菌过程最具挑战的产品部分。

SIP 可以根据长度、质量、体积和表面积计算（见表2中的例子）。

1. SIP 计算示例

| 产品SIP计算的基础 | 产品 |
| --- | --- |
| 长度 | 管子（直径一致的）  绷带卷 |
| 质量 | 粉末  工作服 |
| 体积 | 液体 |
| 表面积 | 手术单  管子（直径不一致的） |

* + - 1. SIP的制备和包装应在尽量减少生物负载变化的条件下进行，应在受控的环境条件下制备SIP，并且在可能的情况下，包装材料应与成品中使用的材料相同。
      2. 选用SIP的充分性应得到证明。SIP的生物负载应用以下试验证明：在20件未辐照的SIP样品中至少有17件在无菌试验中呈阳性，或在20件或更多的SIP样品中至少有85%的样品出现1个或以上的生物负载。如果这两个标准都不能满足，须用一个与之前不同的且满足上述其中一个标准的SIP。如果一件完整的产品用于测试(SIP=1.0)，则上述标准不适用。
      3. 在进行验证剂量试验时，用于无菌试验的SIP应与获得验证剂量时测定生物负载所用的SIP相一致。

1. 如果用于无菌试验的SIP与测定生物负载的SIP不同，那么在获得验证剂量和灭菌剂量时应谨慎。
   * 1. 取样方式
        1. 用于建立和审核灭菌剂量的产品须代表常规加工过程和条件。用于确定生物负载或无菌试验的每一件产品都应有独立的包装系统。
        2. 从生产中取样到执行验证剂量实验之间的时间间隔应反映完成最后一个生产步骤到产品灭菌之间的时间间隔。产品单元可取自生产过程中淘汰的产品，前提是它们与其他产品一样经过了相同的加工过程和条件。
     2. 微生物学实验
        1. 生物负载确定和无菌试验分别依照GB/T 19973.1和GB/T 19973.2。

当使用单一培养基做无菌试验时，推荐使用以下条件：大豆酪蛋白消化肉汤，培养温度(30±2)℃，培养周期14天。如有理由怀疑这个培养基和温度并不能支持现有微生物的生长时，可以使用其他适宜的培养基和培养条件。见参考文献[9] [12] [14]。

辐照前任何使生物负载有较大变化或影响辐射的处理都是不能被接受的（例如：改变微生物周围的化学环境，典型的是：氧分压）。在可行的情况下，完成验证剂量试验，产品应以其原来的形式和包装系统接受辐照。然而，为了减少进行无菌试验时出现假阳性的可能性，产品在辐照前可以拆分和再包装。重新包装产品的材料要能经受得起照射剂量和后续的处理，从而最大限度地减少污染。

* + - 1. 应对经过包装过程的产品进行生物负载测定。

1. 一般来说，在产品从包装系统中取出后，对其进行生物负载测定，并在测定中忽略包装系统即可。
   * 1. 辐照
        1. 建立灭菌剂量的产品应在按照GB 18280.1-xxxx进行了安装鉴定、运行鉴定和性能鉴定的辐照装置上进行辐照。
        2. 剂量测量和所使用辐射源应符合GB 18280.1-xxxx的要求。
        3. 对于验证剂量或增量剂量的试验，应进行充分地剂量分布以确定产品获得的最大剂量和最小剂量。
2. 见GB/T 18280.3中辐射灭菌剂量测量指南。
   1. 剂量建立的方法
      1. 如按照GB 18280.1-xxxx中8.2.2 a) 建立灭菌剂量（产品特有的灭菌剂量），使用以下方法中的一种：
3. 用于多批和单一生产批的方法1（见第7章）；
4. 方法2A和2B（见第8章）；或
5. 提供与上述a）或b）具有同等保证的方法，达到规定的无菌要求。
   * 1. 如果根据GB 18280.1-xxxx中8.2.2 b)建立25kGy的灭菌剂量，应使用以下方法中的其中一个进行证实：
6. VDmax25 方法(见9.2或9.3), 产品的平均生物负载≤1000；
7. 方法1（见第7章），推导出的灭菌剂量≤25kGy，且最大达到10-6的SAL；
8. 方法2（见第8章），推导出的灭菌剂量≤25kGy， 且达到10-6的SAL；
9. 提供与上述a）、b）或c）同等保证的方法，且最大达到10-6的SAL。
   * 1. 如果根据GB 18280.1-xxxx中8.2.2 b)建立15kGy的灭菌剂量，应使用以下方法中的其中一个进行证实：
10. VDmax15方法（见9.4或9.5），产品的平均生物负载≤1.5；
11. 方法1（见第7章），推导出的灭菌剂量≤15kGy，且最大达到10-6的SAL；
12. 方法2（见第8章），推导出的灭菌剂量≤15kGy，且达到10-6的SAL；或
13. 提供与上述a）、b）或c）同等保证的方法，且最大达到10-6的SAL。
    * 1. 如果建立17.5kGy、20kGy、22.5kGy、27.5kGy、30kGy、32.5kGy或35kGy的灭菌剂量，可以使用以下方法中的一个进行证实：
14. ISO 13004:20- 的VDmaxSD方法；
15. 方法1（见第7章），推导出的灭菌剂量小于或等于选定的灭菌剂量，且最大达到10-6的SAL；
16. 方法2（见第8章），推导出的灭菌剂量小于或等于选定的灭菌剂量，且达到10-6的SAL；或
17. 提供与上述a）、b）或c）同等保证的方法，且最大达到10-6的SAL。
    1. 方法1：利用生物负载信息设定剂量
       1. 原理

这种建立灭菌剂量的方法基于通过试验验证，即生物负载的辐射抗力小于或等于具有标准抗力分布（SDR）的微生物种群的抗力。

对SDR已制定合理化选择。SDR根据*D*10值和在所有微生物中出现的概率值规定微生物的抗力（见表3）。通过计算得出，随着具有SDR的平均生物负载水平的增加，分别要达到SAL10-2、10-3、10-4、10-5和10-6所需要的剂量。根据给定的平均生物负载计算出的剂量值见表5和表6。

GB 18280-2000的表1给出方法1的验证剂量和灭菌剂量，随着平均生物负载的增加剂量有规律的增加，剂量按照0.1kGy递增，生物负载值的增加没有规律，既有整数也有小数（例如：104；112.6；121.9；131.9等）。为了改进这个表，以便更加好用和解释，本部分的表5中的平均生物负载值表示为有规律增加的整数。选择生物负载值的增量值，使验证剂量增加约0.1kGy，验证剂量四舍五入到小数点后一位。表6中体现了平均生物负载的增加也是有规律的。

1. 方法1中使用的标准抗力分布（见参考文献[10]）

| *D*10  (kGy) | 1.0 | 1.5 | 2.0 | 2.5 | 2.8 | 3.1 | 3.4 | 3.7 | 4.0 | 4.2 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 概率  （%） | 65.487 | 22.493 | 6.302 | 3.179 | 1.213 | 0.786 | 0.350 | 0.111 | 0.072 | 0.007 |

在实践中，要对平均生物负载做确定。这个平均生物负载要达到SAL10-2所需要的剂量可以从表5或表6中读到。这个剂量被设定为验证剂量，是能够将具有SDR的微生物的数量减少到SAL 10–2的剂量。将100件产品用选定的验证剂量辐照，逐个对每一件做无菌试验。如试验结果是100件产品中的阳性数不多于两个，再次使用表5或表6，在此平均生物负载下找到达到所需的无菌保证水平的灭菌剂量。

允许两个阳性发生的原理是基于以下假设：平均约一个阳性发生的概率服从泊松分布。按照这个分布，0、1、2个阳性发生的概率为92%。见表4。

1. 根据泊松分布，平均约1个阳性发生的概率

| 阳性数量 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 概率（%） | 36.6 | 37.0 | 18.5 | 6.1 | 1.5 | 0.3 | 0.05 | 0.006 | 0.0007 |

* + 1. 平均生物负载≥1.0多生产批产品使用方法1的程序
       1. 总则

方法1有以下6个步骤。

1. 实例见11.1。
   * + 1. 步骤1：选择SAL和取得样品
          1. 记录预使用产品的SAL。
          2. 根据5.1、5.2和5.3，从3个独立的生产批中的每批产品中选择10件产品单元。
2. 当SIP＜1.0时，需要额外的产品验证SIP的充分性（见5.2.5）。
   * + 1. 步骤2：确定平均生物负载
          1. 决定在生物负载确定中是否使用修正因子。
3. 根据GB/T 19973.1，从生物负载技术的验证中获得的一个修正因子，来补偿未从产品上转移出的微生物。 使 用方法1确定剂量可以测定生物负载而不使用这个修正因子。不使用这个修正因子，生物负载可能被低估。未应用修正因子可能导致验证剂量试验失败的风险增加。
   * + - 1. 确定所选择的产品单元中每一件的生物负载并计算：
4. 三批产品中的每一批产品的平均生物负载（批平均生物负载）；
5. 选择的所有产品单元的平均生物负载（总平均生物负载）。
6. 生物负载一般通过确定单件产品单元得到，但当生物负载较低（例如＜10) 时，这种情况下允许将10件产品单元合并以确定批平均生物负载。这个方法并不适用于SIP ，因为SIP不可合并，而应该选择更大的SIP。
7. 当在生物负载确定中未观察到菌落时，有时表示低于检测限。在计算平均生物负载时，使用检测限作为生物负载值可能会导致估值过高。估值过高可能会影响验证剂量试验的有效性。
   * + - 1. 比较三个批平均生物负载与总平均生物负载，确定是否有任何一个批平均生物负载大于总平均生物负载的两倍或两倍以上。
       1. 步骤3：获得验证剂量

使用以下任一项作为平均生物负载，从表5中获得SAL10–2的剂量：

1. 如果一个批平均生物负载大于总平均生物负载的两倍或两倍以上，则取最高批平均生物负载；
2. 如果每一批平均生物负载都小于总平均生物负载的两倍，则取总平均生物负载。

如果表5中没有要查的平均生物负载，使用表中最接近的且大于平均生物负载的列表值。

将该剂量指定为验证剂量。

如果要在无菌测试中使用SIP，使用最高的SIP批平均生物负载或SIP总平均生物负载来获得验证剂量。

* + - 1. 步骤4：完成验证剂量实验
         1. 从单一生产批中选择100件产品单元，完成步骤4需要的100件产品单元可以选自步骤2中确定生物负载的批次之一，也可以选能够代表常规生产条件的第四批产品(见5.3)。
         2. 按照验证剂量辐照这些产品单元。

产品单元获得的最高剂量不得超过验证剂量的10%。

产品单元获得的最高与最低剂量的算术平均值不得小于验证剂量的90%。

测定实施剂量（见5.5）。

如果产品单元获得的最高剂量超过了验证剂量的10%，重复验证剂量试验。

如果产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值小于验证剂量的90%，可以重复验证剂量试验。如果该平均值小于验证剂量的90%，无菌试验的结果是可以接受的（见7.2.6.1），则验证剂量试验不必重复。

* + - * 1. 分别对辐照后的每件产品单元实施无菌试验（见5.4.1），并记录阳性试验数。
      1. 步骤5：结果的解释
         1. 如果100件产品单元的无菌试验中阳性数不多于2件，接受验证。
         2. 如果无菌试验中阳性数达到3件或以上，则不接受验证。

如果这些无菌试验的阳性结果是由于实施了不正确的生物负载确定、不正确的无菌试验或不正确的传递验证剂量，或特定的与生物负载相关的原因，则需实施纠正措施，使用另外100件产品单元重复验证剂量试验。如果由于纠正措施的结果，平均生物负载的估计值发生变化，则使用与变化后的平均生物负载相对应的验证剂量(7.2.4)。如果平均生物负载的估计值未发生变化，使用与未被接受的验证剂量实验中相同的验证剂量。根据7.2.6解释重复验证剂量实验的结果。

如果这些无菌试验的阳性结果不是由于实施了不正确的生物负载确定，不正确的无菌试验或不正确的传递验证剂量，或特定的与生物负载相关的原因，则这个剂量设定方法无效，应选择其他方法建立灭菌剂量（见第6章）。

* + - 1. 步骤6：建立灭菌剂量
         1. 如果使用的是完整的产品且验证被接受，从表5中查询步骤3中所使用的平均生物负载值所对应的列表值即是产品的灭菌剂量。或者，如果表5中未给出平均生物负载值，则以最接近的且大于平均生物负载的列表值查询，并读取达到所需SAL的剂量。
         2. 如果SIP＜1.0且验证被接受，则通过使用最高的SIP批平均生物负载或使用SIP总平均生物负载除以SIP的值（视情况而定），来计算整件产品的平均生物负载。从表5中查询整件产品的平均生物负载值所对应的列表值即是产品的灭菌剂量。或者，如果表5中未给出平均生物负载值，则以最接近的且大于平均生物负载的列表值查询，并读取达到所需SAL的剂量。

1. 已知标准抗力分布的微生物负载≥1.0达到给定SAL所需辐射剂量(kGy)

| 平均生物负载 | 无菌保证水平 | | | | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 10-2 | 10-3 | 10-4 | 10-5 | 10-6 |
| 1.0 | 3.0 | 5.2 | 8.0 | 11.0 | 14.2 |
| 1.5 | 3.3 | 5.7 | 8.5 | 11.5 | 14.8 |
| 2.0 | 3.6 | 6.0 | 8.8 | 11.9 | 15.2 |
| 2.5 | 3.8 | 6.3 | 9.1 | 12.2 | 15.6 |
| 3.0 | 4.0 | 6.5 | 9.4 | 12.5 | 15.8 |
| 3.5 | 4.1 | 6.7 | 9.6 | 12.7 | 16.1 |
| 4.0 | 4.3 | 6.8 | 9.7 | 12.9 | 16.2 |
| 4.5 | 4.4 | 7.0 | 9.9 | 13.1 | 16.4 |
| 5.0 | 4.5 | 7.1 | 10.0 | 13.2 | 16.6 |
| 5.5 | 4.6 | 7.2 | 10.2 | 13.4 | 16.7 |
| 6.0 | 4.7 | 7.3 | 10.3 | 13.5 | 16.9 |
| 6.5 | 4.8 | 7.4 | 10.4 | 13.6 | 17.0 |
| 7.0 | 4.8 | 7.5 | 10.5 | 13.7 | 17.1 |
| 7.5 | 4.9 | 7.6 | 10.6 | 13.8 | 17.2 |
| 8.0 | 5.0 | 7.7 | 10.7 | 13.9 | 17.3 |
| 8.5 | 5.1 | 7.8 | 10.8 | 14.0 | 17.4 |
| 9.0 | 5.1 | 7.8 | 10.8 | 14.1 | 17.5 |
| 9.5 | 5.2 | 7.9 | 10.9 | 14.1 | 17.6 |
| 10 | 5.2 | 8.0 | 11.0 | 14.2 | 17.6 |
| 11 | 5.3 | 8.1 | 11.1 | 14.3 | 17.8 |
| 12 | 5.4 | 8.2 | 11.2 | 14.5 | 17.9 |
| 13 | 5.5 | 8.3 | 11.3 | 14.6 | 18.0 |
| 14 | 5.6 | 8.4 | 11.4 | 14.7 | 18.1 |
| 15 | 5.7 | 8.5 | 11.5 | 14.8 | 18.2 |
| 16 | 5.8 | 8.5 | 11.6 | 14.9 | 18.3 |
| 17 | 5.8 | 8.6 | 11.7 | 15.0 | 18.4 |
| 19 | 5.9 | 8.8 | 11.9 | 15.1 | 18.6 |
| 20 | 6.0 | 8.8 | 11.9 | 15.2 | 18.7 |
| 22 | 6.1 | 9.0 | 12.1 | 15.4 | 18.8 |
| 24 | 6.2 | 9.1 | 12.2 | 15.5 | 19.0 |
| 26 | 6.3 | 9.2 | 12.3 | 15.6 | 19.1 |
| 28 | 6.4 | 9.3 | 12.4 | 15.7 | 19.2 |
| 30 | 6.5 | 9.4 | 12.5 | 15.8 | 19.3 |
| 32 | 6.6 | 9.4 | 12.6 | 15.9 | 19.4 |
| 34 | 6.6 | 9.5 | 12.7 | 16.0 | 19.5 |
| 36 | 6.7 | 9.6 | 12.8 | 16.1 | 19.6 |
| 38 | 6.8 | 9.7 | 12.8 | 16.2 | 19.7 |
| 40 | 6.8 | 9.7 | 12.9 | 16.2 | 19.8 |
| 42 | 6.9 | 9.8 | 13.0 | 16.3 | 19.8 |
| 44 | 6.9 | 9.9 | 13.0 | 16.4 | 19.9 |
| 46 | 7.0 | 9.9 | 13.1 | 16.5 | 20.0 |
| 48 | 7.0 | 10.0 | 13.2 | 16.5 | 20.0 |
| 50 | 7.1 | 10.0 | 13.2 | 16.6 | 20.1 |
| 55 | 7.2 | 10.2 | 13.4 | 16.7 | 20.3 |
| 60 | 7.3 | 10.3 | 13.5 | 16.9 | 20.4 |
| 65 | 7.4 | 10.4 | 13.6 | 17.0 | 20.5 |
| 70 | 7.5 | 10.5 | 13.7 | 17.1 | 20.6 |
| 75 | 7.6 | 10.6 | 13.8 | 17.2 | 20.7 |
| 80 | 7.7 | 10.7 | 13.9 | 17.3 | 20.8 |
| 85 | 7.7 | 10.8 | 14.0 | 17.4 | 20.9 |
| 90 | 7.8 | 10.8 | 14.1 | 17.5 | 21.0 |
| 95 | 7.9 | 10.9 | 14.1 | 17.5 | 21.1 |
| 100 | 8.0 | 11.0 | 14.2 | 17.6 | 21.2 |
| 110 | 8.1 | 11.1 | 14.3 | 17.8 | 21.3 |
| 120 | 8.2 | 11.2 | 14.5 | 17.9 | 21.5 |
| 130 | 8.3 | 11.3 | 14.6 | 18.0 | 21.6 |
| 140 | 8.4 | 11.4 | 14.7 | 18.1 | 21.7 |
| 150 | 8.5 | 11.5 | 14.8 | 18.2 | 21.8 |
| 160 | 8.5 | 11.6 | 14.9 | 18.3 | 21.9 |
| 170 | 8.6 | 11.7 | 15.0 | 18.4 | 22.0 |
| 180 | 8.7 | 11.8 | 15.1 | 18.5 | 22.1 |
| 190 | 8.8 | 11.9 | 15.1 | 18.6 | 22.2 |
| 200 | 8.8 | 11.9 | 15.2 | 18.7 | 22.3 |
| 220 | 9.0 | 12.1 | 15.4 | 18.8 | 22.4 |
| 240 | 9.1 | 12.2 | 15.5 | 19.0 | 22.6 |
| 260 | 9.2 | 12.3 | 15.6 | 19.1 | 22.7 |
| 280 | 9.3 | 12.4 | 15.7 | 19.2 | 22.8 |
| 300 | 9.4 | 12.5 | 15.8 | 19.3 | 22.9 |
| 325 | 9.5 | 12.6 | 15.9 | 19.4 | 23.1 |
| 350 | 9.6 | 12.7 | 16.0 | 19.5 | 23.2 |
| 375 | 9.7 | 12.8 | 16.2 | 19.7 | 23.3 |
| 400 | 9.7 | 12.9 | 16.2 | 19.8 | 23.4 |
| 425 | 9.8 | 13.0 | 16.3 | 19.8 | 23.5 |
| 450 | 9.9 | 13.1 | 16.4 | 19.9 | 23.6 |
| 475 | 10.0 | 13.1 | 16.5 | 20.0 | 23.7 |
| 500 | 10.0 | 13.2 | 16.6 | 20.1 | 23.7 |
| 525 | 10.1 | 13.3 | 16.7 | 20.2 | 23.8 |
| 550 | 10.2 | 13.4 | 16.7 | 20.3 | 23.9 |
| 575 | 10.2 | 13.4 | 16.8 | 20.3 | 24.0 |
| 600 | 10.3 | 13.5 | 16.9 | 20.4 | 24.0 |
| 650 | 10.4 | 13.6 | 17.0 | 20.5 | 24.2 |
| 700 | 10.5 | 13.7 | 17.1 | 20.6 | 24.3 |
| 750 | 10.6 | 13.8 | 17.2 | 20.7 | 24.4 |
| 800 | 10.7 | 13.9 | 17.3 | 20.8 | 24.5 |
| 850 | 10.8 | 14.0 | 17.4 | 20.9 | 24.6 |
| 900 | 10.8 | 14.1 | 17.5 | 21.0 | 24.7 |
| 950 | 10.9 | 14.1 | 17.5 | 21.1 | 24.8 |
| 1000 | 11.0 | 14.2 | 17.6 | 21.2 | 24.9 |
| 1050 | 11.0 | 14.3 | 17.7 | 21.3 | 24.9 |
| 1100 | 11.1 | 14.4 | 17.8 | 21.3 | 25.0 |
| 1150 | 11.2 | 14.4 | 17.8 | 21.4 | 25.1 |
| 1200 | 11.2 | 14.5 | 17.9 | 21.5 | 25.2 |
| 1250 | 11.3 | 14.5 | 18.0 | 21.5 | 25.2 |
| 1300 | 11.3 | 14.6 | 18.0 | 21.6 | 25.3 |
| 1350 | 11.4 | 14.6 | 18.1 | 21.7 | 25.3 |
| 1400 | 11.4 | 14.7 | 18.1 | 21.7 | 25.4 |
| 1450 | 11.5 | 14.8 | 18.2 | 21.8 | 25.5 |
| 1500 | 11.5 | 14.8 | 18.2 | 21.8 | 25.5 |
| 1550 | 11.6 | 14.9 | 18.3 | 21.9 | 25.6 |
| 1600 | 11.6 | 14.9 | 18.3 | 21.9 | 25.6 |
| 1650 | 11.7 | 14.9 | 18.4 | 22.0 | 25.7 |
| 1700 | 11.7 | 15.0 | 18.4 | 22.0 | 25.7 |
| 1750 | 11.7 | 15.0 | 18.5 | 22.1 | 25.8 |
| 1800 | 11.8 | 15.1 | 18.5 | 22.1 | 25.8 |
| 1850 | 11.8 | 15.1 | 18.6 | 22.2 | 25.9 |
| 1900 | 11.9 | 15.1 | 18.6 | 22.2 | 25.9 |
| 1950 | 11.9 | 15.2 | 18.6 | 22.2 | 25.9 |
| 2000 | 11.9 | 15.2 | 18.7 | 22.3 | 26.0 |
| 2100 | 12.0 | 15.3 | 18.8 | 22.4 | 26.1 |
| 2200 | 12.1 | 15.4 | 18.8 | 22.4 | 26.1 |
| 2300 | 12.1 | 15.4 | 18.9 | 22.5 | 26.2 |
| 2400 | 12.2 | 15.5 | 19.0 | 22.6 | 26.3 |
| 2500 | 12.2 | 15.6 | 19.0 | 22.6 | 26.4 |
| 2600 | 12.3 | 15.6 | 19.1 | 22.7 | 26.4 |
| 2700 | 12.3 | 15.7 | 19.1 | 22.8 | 26.5 |
| 2800 | 12.4 | 15.7 | 19.2 | 22.8 | 26.5 |
| 2900 | 12.4 | 15.8 | 19.3 | 22.9 | 26.6 |
| 3000 | 12.5 | 15.8 | 19.3 | 22.9 | 26.6 |
| 3200 | 12.6 | 15.9 | 19.4 | 23.0 | 26.8 |
| 3400 | 12.7 | 16.0 | 19.5 | 23.1 | 26.9 |
| 3600 | 12.8 | 16.1 | 19.6 | 23.2 | 26.9 |
| 3800 | 12.8 | 16.2 | 19.7 | 23.3 | 27.0 |
| 4000 | 12.9 | 16.3 | 19.8 | 23.4 | 27.1 |
| 4200 | 13.0 | 16.3 | 19.8 | 23.5 | 27.2 |
| 4400 | 13.0 | 16.4 | 19.9 | 23.5 | 27.3 |
| 4600 | 13.1 | 16.5 | 20.0 | 23.6 | 27.3 |
| 4800 | 13.2 | 16.5 | 20.0 | 23.7 | 27.4 |
| 5000 | 13.2 | 16.6 | 20.1 | 23.7 | 27.5 |
| 5300 | 13.3 | 16.7 | 20.2 | 23.8 | 27.6 |
| 5600 | 13.4 | 16.8 | 20.3 | 23.9 | 27.7 |
| 5900 | 13.5 | 16.8 | 20.4 | 24.0 | 27.8 |
| 6200 | 13.5 | 16.9 | 20.4 | 24.1 | 27.8 |
| 6500 | 13.6 | 17.0 | 20.5 | 24.2 | 27.9 |
| 6800 | 13.7 | 17.0 | 20.6 | 24.2 | 28.0 |
| 7100 | 13.7 | 17.1 | 20.7 | 24.3 | 28.1 |
| 7400 | 13.8 | 17.2 | 20.7 | 24.4 | 28.1 |
| 7700 | 13.8 | 17.2 | 20.8 | 24.4 | 28.2 |
| 8000 | 13.9 | 17.3 | 20.8 | 24.5 | 28.3 |
| 8500 | 14.0 | 17.4 | 20.9 | 24.6 | 28.4 |
| 9000 | 14.1 | 17.5 | 21.0 | 24.7 | 28.5 |
| 9500 | 14.1 | 17.6 | 21.1 | 24.8 | 28.5 |
| 10000 | 14.2 | 17.6 | 21.2 | 24.9 | 28.6 |
| 10500 | 14.3 | 17.7 | 21.3 | 24.9 | 28.7 |
| 11000 | 14.4 | 17.8 | 21.3 | 25.0 | 28.8 |
| 11500 | 14.4 | 17.8 | 21.4 | 25.1 | 28.9 |
| 12000 | 14.5 | 17.9 | 21.5 | 25.2 | 28.9 |
| 13000 | 14.6 | 18.0 | 21.6 | 25.3 | 29.1 |
| 14000 | 14.7 | 18.1 | 21.7 | 25.4 | 29.2 |
| 15000 | 14.8 | 18.2 | 21.8 | 25.5 | 29.3 |
| 16000 | 14.9 | 18.3 | 21.9 | 25.6 | 29.4 |
| 17000 | 15.0 | 18.4 | 22.0 | 25.7 | 29.5 |
| 18000 | 15.1 | 18.5 | 22.1 | 25.8 | 29.6 |
| 19000 | 15.1 | 18.6 | 22.2 | 25.9 | 29.7 |
| 20000 | 15.2 | 18.7 | 22.3 | 26.0 | 29.8 |
| 21000 | 15.3 | 18.8 | 22.4 | 26.1 | 29.9 |
| 22000 | 15.4 | 18.8 | 22.4 | 26.1 | 29.9 |
| 23000 | 15.4 | 18.9 | 22.5 | 26.2 | 30.0 |
| 24000 | 15.5 | 19.0 | 22.6 | 26.3 | 30.1 |
| 25000 | 15.6 | 19.0 | 22.6 | 26.4 | 30.1 |
| 26000 | 15.6 | 19.1 | 22.7 | 26.4 | 30.2 |
| 27000 | 15.7 | 19.1 | 22.8 | 26.5 | 30.3 |
| 28000 | 15.7 | 19.2 | 22.8 | 26.5 | 30.3 |
| 29000 | 15.8 | 19.3 | 22.9 | 26.6 | 30.4 |
| 30000 | 15.8 | 19.3 | 22.9 | 26.6 | 30.4 |
| 32000 | 15.9 | 19.4 | 23.0 | 26.8 | 30.6 |
| 34000 | 16.0 | 19.5 | 23.1 | 26.9 | 30.7 |
| 36000 | 16.1 | 19.6 | 23.2 | 26.9 | 30.8 |
| 38000 | 16.2 | 19.7 | 23.3 | 27.0 | 30.8 |
| 40000 | 16.3 | 19.8 | 23.4 | 27.1 | 30.9 |
| 42000 | 16.3 | 19.8 | 23.5 | 27.2 | 31.0 |
| 44000 | 16.4 | 19.9 | 23.5 | 27.3 | 31.1 |
| 46000 | 16.5 | 20.0 | 23.6 | 27.3 | 31.2 |
| 48000 | 16.5 | 20.0 | 23.7 | 27.4 | 31.2 |
| 50000 | 16.6 | 20.1 | 23.7 | 27.5 | 31.3 |
| 54000 | 16.7 | 20.2 | 23.9 | 27.6 | 31.4 |
| 58000 | 16.8 | 20.3 | 24.0 | 27.7 | 31.5 |
| 62000 | 16.9 | 20.4 | 24.1 | 27.8 | 31.7 |
| 66000 | 17.0 | 20.5 | 24.2 | 27.9 | 31.8 |
| 70000 | 17.1 | 20.6 | 24.3 | 28.0 | 31.9 |
| 75000 | 17.2 | 20.7 | 24.4 | 28.2 | 32.0 |
| 80000 | 17.3 | 20.8 | 24.5 | 28.3 | 32.1 |
| 85000 | 17.4 | 20.9 | 24.6 | 28.4 | 32.2 |
| 90000 | 17.5 | 21.0 | 24.7 | 28.5 | 32.3 |
| 95000 | 17.6 | 21.1 | 24.8 | 28.5 | 32.4 |
| 100000 | 17.6 | 21.2 | 24.9 | 28.6 | 32.5 |
| 110000 | 17.8 | 21.3 | 25.0 | 28.8 | 32.6 |
| 120000 | 17.9 | 21.5 | 25.2 | 28.9 | 32.8 |
| 130000 | 18.0 | 21.6 | 25.3 | 29.1 | 32.9 |
| 140000 | 18.1 | 21.7 | 25.4 | 29.2 | 33.0 |
| 150000 | 18.2 | 218 | 25.5 | 29.3 | 33.1 |
| 160000 | 18.3 | 21.9 | 25.6 | 29.4 | 33.3 |
| 170000 | 18.4 | 22.0 | 25.7 | 29.5 | 33.4 |
| 180000 | 18.5 | 22.1 | 25.8 | 29.6 | 33.4 |
| 190000 | 18.6 | 22.2 | 25.9 | 29.7 | 33.5 |
| 200000 | 18.7 | 22.3 | 26.0 | 29.8 | 33.6 |
| 220000 | 18.8 | 22.4 | 26.1 | 29.9 | 33.8 |
| 240000 | 19.0 | 22.6 | 26.3 | 30.1 | 33.9 |
| 260000 | 19.1 | 22.7 | 26.4 | 30.2 | 34.1 |
| 280000 | 19.2 | 22.8 | 26.5 | 30.3 | 34.2 |
| 300000 | 19.3 | 22.9 | 26.6 | 30.4 | 34.3 |
| 320000 | 19.4 | 23.0 | 26.8 | 30.6 | 34.4 |
| 340000 | 19.5 | 23.1 | 26.9 | 30.7 | 34.5 |
| 380000 | 19.7 | 23.3 | 27.0 | 30.8 | 34.7 |
| 400000 | 19.8 | 23.4 | 27.1 | 30.9 | 34.8 |
| 420000 | 19.8 | 23.5 | 27.2 | 31.0 | 34.9 |
| 440000 | 19.9 | 23.5 | 27.3 | 31.1 | 35.0 |
| 460000 | 20.0 | 23.6 | 27.3 | 31.2 | 35.0 |
| 480000 | 20.0 | 23.7 | 27.4 | 31.2 | 35.1 |
| 500000 | 20.1 | 23.7 | 27.5 | 31.3 | 35.2 |
| 540000 | 20.2 | 23.9 | 27.6 | 31.4 | 35.3 |
| 580000 | 20.3 | 24.0 | 27.7 | 31.5 | 35.4 |
| 620000 | 20.4 | 24.1 | 27.8 | 31.7 | 35.5 |
| 660000 | 20.5 | 24.2 | 27.9 | 31.8 | 35.6 |
| 700000 | 20.6 | 24.3 | 28.0 | 31.9 | 35.7 |
| 750000 | 20.7 | 24.4 | 28.2 | 32.0 | 35.9 |
| 800000 | 20.8 | 24.5 | 28.3 | 32.1 | 36.0 |
| 850000 | 20.9 | 24.6 | 28.4 | 32.2 | 36.1 |
| 900000 | 21.0 | 24.7 | 28.5 | 32.3 | 36.2 |
| 950000 | 21.1 | 24.8 | 28.5 | 32.4 | 36.3 |
| 1000000 | 21.2 | 24.9 | 28.6 | 32.5 | 36.3 |
| 1. 在表5中出现的高生物负载水平并不暗示其就是正常。 2. 表中的值用在剂量设定方法1的步骤3、4、6中。 | | | | | |

* + 1. 平均生物负载≥1.0单一生产批产品使用方法1的程序
       1. 原理

本方法是对7.2中给出多生产批产品使用方法1的一种改变。仅用于单一生产批的灭菌剂量的建立。这种方法是基于通过试验验证生物负载的辐射抗力小于或等于具有SDR的微生物种群的抗力。

* + - 1. 总则

方法1的这种应用有以下6个步骤。

* + - 1. 步骤1：选择SAL和取得样品
         1. 记录预使用产品的SAL。
         2. 根据5.1、5.2和5.3，从单一批中选择10件产品。

1. 当SIP＜1.0时，需要额外的产品验证SIP的充分性（见5.2.5）。
   * + 1. 步骤2：确定平均生物负载
          1. 决定在生物负载确定中是否使用修正因子。
2. 使用方法1建立剂量可以测定生物负载而不使用这个修正因子。不使用这个修正因子，生物负载可能被低估。未应用修正因子可能导致验证剂量试验失败的风险增加。
   * + - 1. 确定所选择的产品单元中每一件的生物负载，计算平均生物负载。
3. 生物负载一般通过确定单件产品单元得到，但当生物负载较低（例如＜10) 时，这种情况下允许将10件产品单元合并以确定批平均生物负载。这个方法并不适用于SIP ，因为SIP不可合并，而应该选择更大的SIP。
4. 当在生物负载确定中未观察到菌落时，有时表示低于检测限。在计算平均生物负载时，使用检测限作为生物负载值可能会导致估值过高。估值过高可能会影响验证剂量试验的有效性。
   * + 1. 步骤3：获得验证剂量

使用平均生物负载，从表5中获得SAL10–2的剂量：

如果表5中没有要查的平均生物负载，使用表中最接近的且大于平均生物负载的列表值。

将该剂量指定为验证剂量。

如果要在无菌测试中使用SIP，使用SIP的平均生物负载来获得验证剂量。

* + - 1. 步骤4：完成验证剂量实验
         1. 从单一生产批中选择100件产品单元。
         2. 按照验证剂量辐照这些产品单元。

产品单元获得的最高剂量不得超过验证剂量的10%。

产品单元获得的最高与最低剂量的算术平均值不得小于验证剂量的90%。

测定实施剂量（见5.5）。

如果产品单元获得的最高剂量超过了验证剂量的10%，重复验证剂量试验。

如果产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值小于验证剂量的90%，可以重复验证剂量试验。如果该平均值小于验证剂量的90%，无菌试验的结果是可以接受的（见7.3.7.1），则验证剂量试验不必重复。

* + - * 1. 分别对辐照后的每件产品单元实施无菌试验（见5.4.1），并记录阳性试验数。
      1. 步骤5：结果的解释
         1. 如果100件产品单元的无菌试验中阳性数不多于2件，接受验证。
         2. 如果无菌试验中阳性数达到3件或以上，则不接受验证。

如果这些无菌试验的阳性结果是由于实施了不正确的生物负载确定、不正确的无菌试验或不正确的传递验证剂量，或特定的与生物负载相关的原因，则需实施纠正措施，使用另外100件产品单元重复验证剂量试验。如果由于纠正措施的结果，平均生物负载的估计值发生变化，则使用与变化后的平均生物负载相对应的验证剂量(7.3.5)。如果平均生物负载的估计值未发生变化，使用与未被接受的验证剂量实验中相同的验证剂量。根据7.3.7解释重复验证剂量实验的结果。

如果这些无菌试验的阳性结果不是由于实施了不正确的生物负载确定，不正确的无菌试验或不正确的传递验证剂量，或特定的与生物负载相关的原因，则这个剂量设定方法无效，应选择其他方法建立灭菌剂量（见第6章）。

* + - 1. 步骤6：建立灭菌剂量
         1. 如果使用的是完整的产品且验证被接受，从表5中查询步骤3中所使用的平均生物负载值所对应的列表值即是产品的灭菌剂量。或者，如果表5中未给出平均生物负载值，则以最接近的且大于平均生物负载的列表值查询，并读取达到所需SAL的剂量。
         2. 如果SIP＜1.0且验证被接受，则通过使用SIP的平均生物负载除以SIP的值，来计算整件产品的平均生物负载。从表5中查询整件产品的平均生物负载值所对应的列表值即是产品的灭菌剂量。或者，如果表5中未给出平均生物负载值，则以最接近的且大于平均生物负载的列表值查询，并读取达到所需SAL的剂量。
    1. 平均生物负载在0.1-0.9之内的多个或单一生产批的产品使用方法1的程序

对于平均生物负载在0.1-0.9（含0.1和0.9）范围内的产品，使用方法1建立灭菌剂量的程序：多生产批见7.2，单一生产批见7.3，除了：

1. 根据表1在试验中使用完整的产品；
2. 在确定生物负载中使用修正因子；
3. 从表6获得SAL10-2的剂量（验证剂量）和所选定SAL的灭菌剂量。
4. 表6中的值用在剂量设定方法1中的步骤3、4和6。
5. 实例见11.1。
6. 具有标准抗力分布的平均生物负载为0.1-0.9，达到给定SAL所需要的辐射剂量（kGy）

| 平均生物  负载 | 无菌保证水平  SAL | | | | | 平均生物  负载 | 无菌保证水平  SAL | | | | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 10-2 | 10-3 | 10-4 | 10-5 | 10-6 | 10-2 | 10-3 | 10-4 | 10-5 | 10-6 |
| 0.10 | 1.3 | 3.0 | 5.2 | 8.0 | 11.0 | 0.45 | 2.3 | 4.4 | 7.0 | 9.9 | 13.1 |
| 0.15 | 1.5 | 3.3 | 5.7 | 8.5 | 11.5 | 0.50 | 2.4 | 4.5 | 7.1 | 10.0 | 13.2 |
| 0.20 | 1.7 | 3.6 | 6.0 | 8.8 | 11.9 | 0.60 | 2.5 | 4.7 | 7.3 | 10.3 | 13.5 |
| 0.25 | 1.9 | 3.8 | 6.3 | 9.1 | 12.2 | 0.70 | 2.7 | 4.8 | 7.5 | 10.5 | 13.7 |
| 0.30 | 2.0 | 4.0 | 6.5 | 9.4 | 12.5 | 0.80 | 2.8 | 5.0 | 7.7 | 10.7 | 13.9 |
| 0.35 | 2.1 | 4.1 | 6.7 | 9.6 | 12.7 | 0.90 | 2.9 | 5.1 | 7.8 | 10.8 | 14.1 |
| 0.40 | 2.2 | 4.3 | 6.8 | 9.7 | 12.9 |  |  |  |  |  |  |
| 1. 如平均生物负载在0.9-1.0之间，输入表5中平均生物负载为1.0的数据。 | | | | | | | | | | | |

* 1. 方法2： 使用从增量剂量实验中得到的阳性分数信息确定外推因子的剂量设定方法
     1. 原理

方法2基于存在于产品中的微生物的辐射抗力信息。这个方法是用一系列增量剂量辐照的产品的无菌试验结果估计剂量，用这个剂量辐照的100件产品中预计有1件可能是非无菌的（即：10-2SAL）。经过这个剂量辐照后残存的微生物比初始的生物负载有更均匀的D10值。为了确定灭菌剂量，从增量剂量实验估计出一个D10值，用这个估计值外推出低于10-2SAL的剂量值。

计算的灭菌剂量的有效性通常取决于超出预期的达到10-2SAL的剂量的外推有效性。 在对实验方案的广泛测试中，采用计算机模拟产品上微生物的灭活，通过试验建立的微生物群体的抗力分布证实了外推的有效性。上述原理的详细说明以及计算机模拟的结果都在参考文献中[11]。

下文描述了两个程序，即：方法2A和方法2B。方法2A是常用方法，方法2B用于生物负载一贯很低的产品。使用方法2B的条件规定在8.3.1.1中。

1. 方法2B要求使用整件产品（SIP=1.0），而对于方法2A，则可使用整件产品或产品的一部分（SIP＜1.0）。

在方法2中建立灭菌剂量不依靠生物负载确定结果。然而，生物负载确定作为产品常规监测的一部分(见GB 18280.1-2015的7.3和12.1)。

对于方法2A和2B，*A*、*DS*和灭菌剂量的计算是不同的；因此，确保公式的适用性是很必要的。

剂量计算数据应保留到小数点后一位，灭菌剂量可以四舍五入到小数点后一位（使用标准修约程序）。

1. 在以下程序和举例中，当表示从单一批产品中获得的结果时，符号为小写；当表示从所有三批产品中获得的结果时，符号为大写。
   * 1. 方法2A的程序
        1. 总则

使用方法2A有以下五个步骤。

1. 实例见11.2.2和11.2.3。
   * + 1. 步骤1：选择SAL和取得样品
          1. 记录预使用产品的SAL。
          2. 根据5.1、5.2和5.3，从3个独立生产批中每批选择280件产品单元。
2. 当SIP＜1.0时，需要额外的产品验证SIP的充分性（见5.2.5）。
   * + 1. 步骤2:完成增量剂量实验
          1. 总则

对3批产品的每一批，用一个剂量系列中的每一个剂量辐照20件产品单元，一个剂量系列至少有9个剂量，从2kGy开始，以2kGy的标称增量增加。

对于给定的增量剂量，产品单元的最高剂量不得超过标称增量剂量的10%或1.0kGy，以较大者为准。

对于给定的增量剂量，产品单元的最高和最低剂量的算术平均值不得小于标称增量剂量的90%，或标称增量剂量减去1.0kGy，以较小者为准。

确定每一个增量剂量(见5.5)。

如果对于给定的增量剂量，产品单元的最高剂量超过标称增量剂量的10%或1.0kGy（以较大者为准），则应以特定的增量剂量对另外20件产品单元进行辐照。

如果对于给定的增量剂量，产品单元的最高和最低剂量的算术平均值小于标称增量剂量的90%或标称增量剂量减去1.0kGy（以较小者为准），则应以特定的增量剂量对另外20件产品单元进行辐照。

分别对每个辐照后的产品单元进行无菌试验（见5.4.1），并记录每个增量剂量下发现的无菌试验的阳性数。

从该实验结果中获得下列数据：

1. *A* 和FFP(见8.2.3.2)；
2. *D\**(见 8.2.3.3)；
3. *CD\** 批 (见8.2.3.4)。
   * + - 1. *A* 和FFP

从3个生产批中的每一批的增量剂量系列中，确定20个无菌试验中至少有1个阴性的最低剂量。指定这个剂量为某批产品的ffp并找出3个ffp的中值。如果2批或者3批产品有同样的ffp，选择阳性数较高或最高的批的剂量为中值ffp。

用中值ffp的无菌试验阳性数，查表7，记录*A*值。

1. 在中值ffp时不同无菌试验阳性数对应的*A*值(方法2A)

| 中值ffp的无菌试验阳性数 | *A*（kGy） | 中值ffp的无菌试验阳性数 | *A*（kGy） |
| --- | --- | --- | --- |
| 19 | 0.00 | 9 | 0.79 |
| 18 | 0.13 | 8 | 0.87 |
| 17 | 0.22 | 7 | 0.95 |
| 16 | 0.31 | 6 | 1.05 |
| 15 | 0.38 | 5 | 1.15 |
| 14 | 0.45 | 4 | 1.28 |
| 13 | 0.52 | 3 | 1.43 |
| 12 | 0.58 | 2 | 1.65 |
| 11 | 0.65 | 1 | 2.00 |
| 10 | 0.72 |  |  |
| 1. 计算*A*值见公式(1)   ()  式中的n是无菌试验阴性数(见Davis et al., 1981【8】) | | | |

用公式（2）计算FFP

FFP=中值ffp–*A* ()

* + - * 1. *D*\*

对于3批产品中的每一批，用以下任意方法确定*d*\*

1. 找出所有无菌试验均阴性的两个连续剂量中较低的剂量，在随后的增量剂量实验系列中阳性不得多于1；或
2. 找出20个无菌试验中出现一个阳性的剂量，紧随前后的是所有试验均为阴性的增量剂量。

如果三批中的任何一批都不能满足8.2.3.3.1 a）或b）的标准，增量剂量实验无效。在这种情况下，在对实验方法做了调查并实施了纠正措施的前提下，可以重复增量剂量实验。

规定*D*\*如下：

1. 若最高批*d*\*超过中间批*d*\*＜5kGy,则中间批*d*\*就成为*D*\*；或
2. 若最高批*d*\*超过中间批*d*\*≥5kGy，则最高批*d*\*就成为*D*\*。
   * + - 1. *CD*\*批

找出*d*\*＝*D*\*的批次并将其标定为*CD*\*批。如果一个以上的批*d*\*等于*D*\*，则随机选定这些批中的任何一批为*CD*\*批。保留*CD*\*批的产品单元，用于方法2A的步骤3中。从3批中保留的产品应考虑到产品支持微生物生长的能力。如有必要，第4批产品可以作为*CD*\*批。

* + - 1. 步骤3：完成验证剂量实验
         1. 用*D*\*辐照*CD*\*批的100件产品单元。产品单元的最高剂量不得超过*D*\*的10%或1.0kGy，以较大者为准。产品单元的最高和最低剂量的算术平均值不得小于*D*\*的90%，或*D*\*减去1.0kGy，以较小者为准。测定实施剂量（见5.5），将最高剂量指定为*DD*\*。

1. 与剂量上限和下限相关的措施取决于*CD*\*的值（见8.2.4.2）。
   * + - 1. 分别对辐照后的每件产品单元实施无菌试验（见5.4.1），并记录阳性试验数。定义阳性数为*CD*\*。
2. *CD*\*用于确定FNP（见8.2.5）和*DS*（见8.2.6）。

如果*CD*\*=0，*DD*\*超过*D*\*的10%或1.0kGy，以较大者为准，则应重复验证剂量实验。

如果*CD*\*为1～15，且*DD*\*超过*D*\*的10%或1.0kGy，以较大者为准，则无需重复验证剂量试验。

1. 然而，重复验证剂量试验，可以获得低于最初发现的*DD*\*值，继而给出较低的FNP和*DS*值。
2. 1～15的*CD\**值与*DD\**提供了达到10-2SAL的剂量估计值。超过*D\**的10%或1.0kGy（以较大者为准），允许接受*DD\**。FNP和DS的结果将给出保守的*D\*\**值和灭菌剂量。

如果*CD\**＞15且为*DD\**的算术平均值，且产品单元的最低剂量小于*D\**的90%或小于*D\**减去1.0kGy，以较小的剂量为准，则可重复验证剂量试验。如果该平均值不小于*D\**的90%或不小于*D\**减去1.0kGy，以较小的剂量为准，则应调查出现15次以上无菌试验阳性的原因，采取纠正措施，并重新确定*D\**。

* + - 1. 步骤4：结果的解释

从本实验的结果获得FNP：

1. 如果 *CD*\*≤2, FNP = *DD*\*；
2. 如果 2＜*CD*\*＜10, FNP = *DD*\* + 2.0kGy；
3. 如果 9＜*CD*\*＜16, FNP = *DD*\* + 4.0kGy；或
4. 如果 *CD*\*＞15, 应分析原因，采取纠正措施，重新确定*D*\*。
   * + 1. 步骤5：建立灭菌剂量
          1. 依据FFP和FNP的不同，使用公式（3）或（4），由FFP和FNP值确定*DS*

当(FNP–FFP)＜10kGy，使用

*DS*=2+0.2(FNP–FFP) ()

1. 在使用公式（3）时，如果(FNP–FFP)＜0，设定(FNP–FFP)=0

当(FNP–FFP)≥10kGy，使用

*DS*=0.4(FNP–FFP) ()

* + - * 1. 用公式（5）建立*D*\*\*

*D*\*\*=*DD*\*+[log(*CD*\*)](*DS*) ()

1. 如果*CD*\*=0,设定[log(*CD*\*)]=0
   * + - 1. 用公式（6）计算灭菌剂量

灭菌剂量=*D*\*\*+[-log(SAL)-log(SIP)-2](*DS*) ()

式中：

*D*\*\* ——提供10-2SAL的最终估计剂量；

SAL ——产品预先选定的无菌保证水平；

SIP ——用于测定*D*\*\*和*DS*使用的产品份额（样品份额）；

*DS* ——杀灭90%经过*DD*\*辐照后存活下来的微生物的估计剂量。

剂量计算数据应保留到小数点后一位，灭菌剂量可以四舍五入到小数点后一位（使用标准修约程序）。

1. 当产品份额用于设定剂量时，公式（6）中的log(SIP)提供了一个合适的修正因子。
   * 1. 方法2B的程序
        1. 总则
           1. 在使用方法2B时，应满足3点要求：
2. 使用整件产品 (SIP=1.0)；
3. 用任何增量剂量辐照后，观察到的无菌试验的阳性数不得超过14个；
4. FNP不超过5.5kGy。
   * + - 1. 使用方法2B有以下五个步骤。
5. 实例见11.2.4。
   * + 1. 步骤1：选择SAL和取得样品
          1. 记录预使用产品的SAL。
          2. 依据5.1和5.3，从3个独立生产批中每批选择260件产品单元。
       2. 步骤 2：完成增量剂量实验
          1. 总则

对3批产品的每一批，用一个剂量系列中的每一个剂量辐照20件产品单元，一个剂量系列至少有8个剂量，从1kGy开始，以1kGy的标称增量增加。

对于1kGy的增量剂量，产品单元的最高剂量不得超过1.2kGy。对于其他的增量剂量，产品单元的最高剂量不得超过标称增量剂量的10%或0.5kGy，以较大者为准。

对于1kGy的增量剂量，产品单元的最高和最低剂量的算术平均值不得小于0.8kGy。对于其他的增量剂量，产品单元的最高和最低剂量的算术平均值不得小于标称增量剂量的90%，或标称增量剂量减去0.5kGy，以较小者为准。

确定每一个增量剂量(见5.5)。

如果对于1kGy的增量剂量，产品单元的最高剂量超过1.2kGy。对于其他的增量剂量，产品单元的最高剂量超过标称增量剂量的10%或0.5kGy（以较大者为准），则应以特定的增量剂量对另外20件产品单元进行辐照。

如果对于1kGy的增量剂量，产品单元的最高和最低剂量的算术平均值小于0.8kGy。对于其他的增量剂量，产品单元的最高和最低剂量的算术平均值小于标称增量剂量的90%或标称增量剂量减去0.5kGy（以较小者为准），则应以特定的增量剂量对另外20件产品单元进行辐照。

分别对每个辐照后的产品单元进行无菌试验（见5.4.1），并记录每个增量剂量下发现的无菌试验的阳性数。

从该实验结果中获得下列数据：

1. *A* 和FFP(见8.3.3.2)；
2. *D\**(见 8.3.3.3)；
3. *CD\** 批 (见8.3.3.4)。
   * + - 1. *A* 和 FFP

从3个生产批中的每一批的增量剂量系列中，确定20个无菌试验中至少有1个阴性的最低剂量。指定这个剂量为某批产品的ffp并找出3个ffp的中值。如果2批或者3批产品有同样的ffp，选择阳性数较高或最高的批的剂量为中值ffp。

用中值ffp的无菌试验阳性数，查表8，记录*A*值。

1. 在中值ffp时不同无菌试验阳性数对应的*A*值（方法2B）

| 中值ffp的无菌试验阳性数 | *A* （kGy） | 中值ffp的无菌试验阳性数 | *A* （kGy） |
| --- | --- | --- | --- |
| 14 | 0.22 | 7 | 0.48 |
| 13 | 0.26 | 6 | 0.52 |
| 12 | 0.29 | 5 | 0.58 |
| 11 | 0.32 | 4 | 0.64 |
| 10 | 0.36 | 3 | 0.72 |
| 9 | 0.40 | 2 | 0.82 |
| 8 | 0.44 | 1 | 1.00 |
| 1. 计算*A*值见公式(7)   ()  式中的n是无菌试验阴性数(见参考文献【10】) | | | |

由公式（2）计算FFP ，见8.2.3.2.3。

* + - * 1. *D*\*

对于3批产品中的每一批，用以下任意方法确定*d*\*：

1. 找出所有无菌试验均阴性的两个连续剂量中较低的剂量，在随后的增量剂量实验系列中阳性不得多于1；或
2. 找出20个无菌试验中出现一个阳性的剂量，紧随前后的是所有试验均为阴性的增量剂量。

如果三批中的任何一批都不能满足8.3.3.3.1 a）或b）的标准，增量剂量实验无效。在这种情况下，在对实验方法做了调查并实施了纠正措施的前提下，可以重复增量剂量实验。

规定 *D*\* 如下：

1. 若最高批*d*\*超过中间批*d*\*＜5kGy, 则中间批*d*\*就成为*D*\*； 或
2. 若最高批*d*\*超过中间批*d*\*≥5kGy，则最高批*d*\*就成为*D*\*。
   * + - 1. *CD*\*批

找出*d*\*＝*D*\*的批次并将其标定为*CD*\*批。如果一个以上的批*d*\*等于*D*\*，则随机选定这些批中的任何一批为*CD*\*批。保留*CD*\*批的产品单元，用于方法2B的步骤3中。从3批中保留的产品应考虑到产品支持微生物生长的能力。如有必要，第4批产品可以作为*CD*\*批。

* + - 1. 步骤3：完成验证剂量实验
         1. 用*D*\*辐照*CD*\*批的100件产品单元。产品单元的最高剂量不得超过*D*\*的10%或1.0kGy，以较大者为准。产品单元的最高和最低剂量的算术平均值不得小于*D*\*的90%，或*D*\*减去1.0kGy，以较小者为准。测定实施剂量（见5.5），将最高剂量指定为*DD*\*。

1. 与剂量上限和下限相关的措施取决于*CD*\*的值（见8.3.4.2）。
   * + - 1. 分别对辐照后的每件产品单元实施无菌试验（见5.4.1），并记录阳性试验数。定义阳性数为*CD*\*。
2. *CD*\*用于确定FNP（见8.3.5）和*DS*（见8.3.6）。

如果*CD*\*=0，*DD*\*超过*D*\*的10%或1.0kGy，以较大者为准，则应重复验证剂量实验。

如果*CD*\*为1～15，且*DD*\*超过*D*\*的10%或1.0kGy，以较大者为准，则无需重复验证剂量试验。

1. 然而，重复验证剂量试验，可以获得低于最初发现的*DD*\*值，继而给出较低的FNP和*DS*值。
2. 1～15的*CD\**值与*DD\**提供了达到10-2SAL的剂量估计值。超过*D\**的10%或1.0kGy（以较大者为准），允许接受*DD\**。FNP和DS的结果将给出保守的*D\*\**值和灭菌剂量。

如果*CD\**＞15且为*DD\**的算术平均值，且产品单元的最低剂量小于*D\**的90%或小于*D\**减去1.0kGy，以较小的剂量为准，则可重复验证剂量试验。如果该平均值不小于*D\**的90%或不小于*D\**减去1.0kGy，以较小的剂量为准，则应调查出现15次以上无菌试验阳性的原因，采取纠正措施，并重新确定*D\**。

* + - 1. 步骤 4：结果的解释

从本实验的结果获得FNP：

1. 如果 *CD\**≤2, FNP = *DD\**；
2. 如果2＜*CD\**＜10, FNP = *DD\** + 2.0kGy，
3. 如果9＜*CD\**＜16, FNP = *DD\**+ 4.0kGy或
4. 如果*CD\**＞15, 应分析原因，采取纠正措施，重新确定*D\**。
   * + 1. 步骤 5：建立灭菌剂量
          1. 使用公式（8），由FFP和FNP值确定*DS*

*DS*=1.6+0.2(FNP–FFP) (8)

1. 在使用公式（8）时，如果(FNP–FFP)＜0，设定(FNP–FFP)=0。
   * + - 1. 用公式（5）建立*D*\*\*（见8.2.6.2）。
         2. 用公式（9）计算灭菌剂量

灭菌剂量=*D*\*\*+[-log(SAL)-2](*DS*) (9)

式中：

*D*\*\* ——提供10-2SAL的最终估计剂量；

SAL ——产品预先选定的无菌保证水平；

*DS*——杀灭90%经过*DD*\*辐照后存活下来的微生物的估计剂量。

剂量计算数据应保留到小数点后一位，灭菌剂量可以四舍五入到小数点后一位（使用标准修约程序）。

* 1. VDmax方法——选定的灭菌剂量的证实
     1. 选定的剂量和原理

第9章提供了使用VDmax方法证实15kGy和25kGy灭菌剂量的原理和方法。ISO 13004:20-提供了使用VDmax方法证实17.5kGy、20kGy、22.5kGy、27.5kGy、30kGy、32.5kGy或35kGy灭菌剂量的原理和方法。

从操作上看，证实选定的灭菌剂量的方法类似于剂量设定方法1（见第7章），需要测定生物负载和完成验证剂量实验。

在实施证实中，灭菌前存在于产品中的生物负载的抗力低于微生物群体的最大辐射抗力是取得SAL10-6灭菌剂量的前提。以SAL10-1的剂量作为验证剂量辐照10件产品单元，完成验证剂量实验。与该SAL对应的剂量（最大验证剂量，VDmax）既体现了生物负载水平的特点又体现了与之相关的最大抗力特点。在建立特别生物负载水平和灭菌剂量的最大抗力中，适当考虑了SDR的各种抗力的组成部分（见表3），后者是方法1的基础。对达到SAL10-6有显著影响的高抗力的SDR的组成部分，用于定义本证实方法所依据的最大抗力。这样，SDR的保守性水平，以及方法1的保守性水平得以保持（见参考文献[15][16][17]）。

在实践中，需要确定平均生物负载。与这个生物负载相关的VDmax剂量可以从表中读出。验证剂量试验依据这个剂量实施。10件产品单元或份额暴露于VDmax剂量，并对每件产品单元分别进行无菌试验。如果10件产品单元的无菌试验中不超过一个阳性，预选择的灭菌剂量就被证实了。

GB 18280.2本部分给出的VDmax方法是用于选择灭菌剂量25kGy和15kGy的。25kGy的方法可用于平均生物负载≤1000的产品（见9.2或9.3和表9），15kGy的方法仅用于平均生物负载≤1.5的产品（见9.4或9.5和表10）。15kGy的VDmax方法提供了方法1之外的另一种用于低生物负载产品建立灭菌剂量的方法。为了区别VDmax方法的两种应用及其相关的验证剂量值，在术语VDmax中添加了上标25或15，例如：VDmax25和VDmax15。

1. 查看表9中的VDmax25中各种平均生物负载变化水平，可看到生物负载水平与VDmax值之间的变化关系，随着生物负载增加到80，VDmax值如预测逐渐增加。然而，在生物负载到达80时，VDmax25值最高，对于再高的生物负载，相应的VDmax下降。VDmax15值也出现了类似的先增加后减少的情况（见表10）。这既不是表中错误的结果，也不是VDmax值计算的结果。这是由于VDmax方法与方法1有同样的保守度的必然结果（见参考文献[17]）。
   * 1. 多个生产批使用VDmax25的程序
        1. 总则
           1. 这个方法仅用于平均生物负载≤1000的产品。
2. 所有三批的平均生物负载值（见9.2.3.2）应≤1000。
   * + - 1. 使用VDmax25，产品的平均生物负载≤0.9，根据表1，使用完整产品。而当平均生物负载>0.9时,可以使用SIP（见5.2.5）。
         2. 使用VDmax25有以下五个步骤。
3. 实例见11.3。
   * + 1. 步骤1：取得样品

依据5.1、5.2和5.3，从3个独立的产品批中的每一批选择10件产品单元。

1. 需要额外的产品来验证SIP＜1.0的充分性（见5.2.5）。
   * + 1. 步骤2：确定平均生物负载
          1. 在确定生物负载中使用修正因子（见GB/T 19973.1）。
          2. 确定所选择的产品单元中每一件的生物负载并计算：
2. 3批产品中每一批的平均生物负载（批平均生物负载）；
3. 选择的所有产品单元的平均生物负载（总平均生物负载）。
4. 生物负载一般通过确定单件产品单元得到，但当生物负载低（例如：＜10）时，允许将10件产品单元合并以确定批平均生物负载。本指南不适用于不应合并的SIP；相反，应选择更大的SIP（见5.2.5）。
5. 当在生物负载确定中未观察到菌落时，有时，这表示为低于检测限。在计算平均生物负载时，使用检测限作为生物负载值可能会导致过高估计。过高的估计可能会影响验证剂量实验的有效性。
   * + - 1. 比较3个批平均生物负载与总平均生物负载，确定是否有任何一个批平均生物负载大于总平均生物负载的两倍或两倍以上。
       1. 步骤3：获得VDmax25

使用以下任一项作为平均生物负载，从表9中获得SIP=1.0的VDmax25值：

1. 如果一个批平均生物负载大于总平均生物负载的两倍或两倍以上，则取最高批平均生物负载；
2. 如果每一批平均生物负载都小于总平均生物负载的两倍，则取总平均生物负载。

当SIP = 1.0，如果表9中没有要查的平均生物负载，使用表中最接近的且大于平均生物负载的列表值。

当SIP＜1.0，用SIP平均生物负载除以SIP得到完整产品(SIP = 1.0)的生物负载。如果表9中没有计算的平均生物负载，使用表中最接近的且大于平均生物负载的列表值，确定SIP=1.0的VDmax25值和相关的SIP剂量减少因子。

1. 平均生物负载≤0.9（见9.2.1.2）的产品不允许使用SIP＜1.0。

使用公式（10）计算SIP VDmax25 （见参考文献[17]）。

SIP VDmax25=(SIP = 1.0 VDmax25)+(SIP 剂量减少因子×log SIP) (10)

1. 平均生物负载≤1000的VDmax25和SIP剂量减少因子

| 平均生物负载 | SIP=1.0  VDmax25  (kGy) | SIP剂量  减少因子  (kGy) |
| --- | --- | --- |
| ≤0.1 | 0.0 | n/a a |
| 0.15 | 0.9 | n/a a |
| 0.20 | 1.4 | n/a a |
| 0.25 | 1.8 | n/a a |
| 0.30 | 2.2 | n/a a |
| 0.35 | 2.5 | n/a a |
| 0.40 | 2.7 | n/a a |
| 0.45 | 2.9 | n/a a |
| 0.50 | 3.1 | n/a a |
| 0.60 | 3.4 | n/a a |
| 0.70 | 3.6 | n/a a |
| 0.80 | 3.8 | n/a a |
| 0.90 | 4.0 | n/a a |
| 1.0 | 4.2 | 4.17 |
| 1.5 | 4.8 | 4.05 |
| 2.0 | 5.2 | 3.97 |
| 2.5 | 5.5 | 3.91 |
| 3.0 | 5.7 | 3.86 |
| 3.5 | 5.9 | 3.82 |
| 4.0 | 6.1 | 3.79 |
| 4.5 | 6.2 | 3.76 |
| 5.0 | 6.3 | 3.73 |
| 5.5 | 6.5 | 3.71 |
| 6.0 | 6.6 | 3.69 |
| 6.5 | 6.7 | 3.67 |
| 7.0 | 6.7 | 3.65 |
| 7.5 | 6.8 | 3.64 |
| 8.0 | 6.9 | 3.62 |
| 8.5 | 7.0 | 3.61 |
| 9.0 | 7.0 | 3.59 |
| 9.5 | 7.1 | 3.58 |
| 10 | 7.1 | 3.57 |
| 11 | 7.2 | 3.55 |
| 12 | 7.3 | 3.53 |
| 13 | 7.4 | 3.51 |
| 14 | 7.5 | 3.50 |
| 15 | 7.6 | 3.48 |
| 16 | 7.6 | 3.47 |
| 17 | 7.7 | 3.46 |
| 18 | 7.8 | 3.45 |
| 19 | 7.8 | 3.43 |
| 20 | 7.9 | 3.42 |
| 22 | 8.0 | 3.40 |
| 24 | 8.1 | 3.39 |
| 26 | 8.1 | 3.37 |
| 28 | 8.2 | 3.36 |
| 30 | 8.3 | 3.34 |
| 35 | 8.4 | 3.31 |
| 40 | 8.6 | 3.29 |
| 45 | 8.7 | 3.27 |
| 50 | 8.8 | 3.25 |
| 55 | 8.9 | 3.23 |
| 60 | 8.9 | 3.21 |
| 65 | 9.0 | 3.20 |
| 70 | 9.1 | 3.19 |
| 75 | 9.1 | 3.17 |
| 80 | 9.2 | 3.15 |
| 85 | 9.1 | 3.11 |
| 90 | 9.1 | 3.08 |
| 95 | 9.1 | 3.05 |
| 100 | 9.0 | 3.01 |
| 110 | 9.0 | 2.96 |
| 120 | 9.0 | 2.91 |
| 130 | 8.9 | 2.86 |
| 140 | 8.9 | 2.83 |
| 150 | 8.9 | 2.79 |
| 160 | 8.8 | 2.76 |
| 170 | 8.8 | 2.72 |
| 180 | 8.8 | 2.69 |
| 190 | 8.7 | 2.67 |
| 200 | 8.7 | 2.64 |
| 220 | 8.7 | 2.60 |
| 240 | 8.6 | 2.56 |
| 260 | 8.6 | 2.52 |
| 280 | 8.6 | 2.49 |
| 300 | 8.6 | 2.46 |
| 325 | 8.5 | 2.43 |
| 350 | 8.5 | 2.40 |
| 375 | 8.5 | 2.37 |
| 400 | 8.4 | 2.34 |
| 425 | 8.4 | 2.32 |
| 450 | 8.4 | 2.30 |
| 475 | 8.4 | 2.28 |
| 500 | 8.4 | 2.26 |
| 525 | 8.3 | 2.24 |
| 550 | 8.3 | 2.22 |
| 575 | 8.3 | 2.21 |
| 600 | 8.3 | 2.19 |
| 650 | 8.3 | 2.16 |
| 700 | 8.2 | 2.14 |
| 750 | 8.2 | 2.12 |
| 800 | 8.2 | 2.09 |
| 850 | 8.2 | 2.07 |
| 900 | 8.1 | 2.05 |
| 950 | 8.1 | 2.04 |
| 1000 | 8.1 | 2.02 |
| 1. 如果SIP=1.0 VDmax25=0.0kGy,则产品单元不需辐照。 | | |
| a不适用；平均生物负载≤0.9，使用整件产品(SIP=1.0)，因此SIP剂量减少因子未给出。 | | |

* + - 1. 步骤4：完成验证剂量实验
         1. 从单一生产批中选择10件产品单元。完成步骤4需要的10件产品单元可以选自步骤2中确定生物负载的批次之一，也可以选能够代表常规生产条件的第4批产品（见5.3）。
         2. 用从表9中得到的或用公式10计算出的VDmax25值，哪个适合就用哪个，辐照10件产品单元。

产品单元获得的最高剂量不得超过VDmax25值的10%。

产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值不得小于VDmax25值的90%。

测定实施剂量（见5.5）。

如果产品单元获得的最高剂量超过了VDmax25值的10%，重复验证剂量实验。

如果产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值小于VDmax25值的90%，可以重复验证剂量实验。如果该平均值小于VDmax25值的90%，无菌试验的结果是可以接受的（见9.2.6.1），则验证剂量实验不必重复。

* + - * 1. 分别对辐照后的每件产品单元实施无菌试验（见5.4.1），并记录阳性试验数。
      1. 步骤5：结果的解释
         1. 如果10件产品单元的无菌试验中阳性数不超过1件，接受验证，证实了25kGy可以作为灭菌剂量。
         2. 如果10件产品单元的无菌试验中有2件阳性，完成证实验证剂量实验（见9.2.7）。
         3. 如果10件产品单元的无菌试验中有3件及以上的阳性，灭菌剂量可能是不充分的，则不接受验证。

如果这些无菌试验的阳性结果是由于实施了不正确的生物负载确定、不正确的无菌试验或不正确的传递VDmax25值，或特定的与生物负载相关的原因，则需实施纠正措施,使用另外10件产品单元重复验证剂量实验。如果由于纠正措施的结果，平均生物负载的估计值发生变化，则使用与变化后的平均生物负载相对应的VDmax25值（9.2.4）。如果平均生物负载的估计值未发生变化，使用与未被接受的验证剂量实验中相同的VDmax25值。根据9.2.6解释重复验证剂量实验的结果。

如果这些无菌试验的阳性结果不是由于实施了不正确的生物负载确定、不正确的无菌试验或不正确的传递VDmax25值，或特定的与生物负载相关的原因，选择的25kGy灭菌剂量未得到证实，应选择其他方法建立灭菌剂量（见第6章）。

* + - 1. 证实验证剂量实验
         1. 总则

实施证实验证剂量实验（见9.2.6.2）有以下三个步骤：

* + - * 1. 步骤1：获得样品

从单一生产批中选择10件产品单元。这10件产品单元可以选自步骤2中确定生物负载的批次之一（见9.2.3），也可以选自步骤4中的第4批（见9.2.5），或任何一批能够代表常规生产条件的产品批（见5.3）。

* + - * 1. 步骤2：完成证实验证剂量实验

以9.2.4中确定的VDmax25辐照这些产品单元。

产品单元获得的最高剂量不得超过VDmax25值的10%。

产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值不得小于VDmax25值的90%。

测定实施剂量（见5.5）。

如果产品单元获得的最高剂量超过了VDmax25值的10%，重复证实验证剂量实验。

如果产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值小于VDmax25值的90%，可以重复证实验证剂量实验。如果该平均值小于VDmax25值的90%，无菌试验的结果是可以接受的（见9.2.7.4.1），则证实验证剂量实验不必重复。

分别对辐照后的每件产品单元实施无菌试验（见5.4.1），并记录阳性试验数。

* + - * 1. 步骤3：结果的解释

如果10件产品单元的无菌试验中没有阳性，原验证剂量试验和证实验证剂量试验的无菌试验阳性总数为2件，证实验证被接受，因此：证实了25kGy可以作为灭菌剂量。

如果无菌试验中有任何阳性出现，灭菌剂量可能是不充分的，则不接受证实验证。

如果这些无菌试验的阳性结果是由于实施了不正确的无菌试验或不正确的传递VDmax25值，或特定的与生物负载相关的原因，则需实施纠正措施,使用另外10件产品单元和最初使用的相同的VDmax25值重复证实验证剂量实验。根据9.2.7.4解释重复证实验证剂量实验的结果。

如果这些无菌试验的阳性结果不是由于实施了不正确的无菌试验或不正确的传递VDmax25值，或特定的与生物负载相关的原因，选择的25kGy灭菌剂量未得到证实，应选择其他方法建立灭菌剂量（见第6章）。

* + 1. 单一生产批使用VDmax25方法的程序
       1. 原理

这个方法是VDmax25方法的一种应用，仅用于预证实25kGy作为单一生产批的灭菌剂量。

* + - 1. 总则
         1. 这个方法仅用于平均生物负载≤1000的产品。
         2. 使用VDmax25，产品的平均生物负载≤0.9，根据表1，使用完整产品。而当平均生物负载>0.9时,可以使用SIP（见5.2.5）。
         3. 使用VDmax25有以下五个步骤。
      2. 步骤1：获得样品

依据5.1、5.2和5.3，从单一产品批中选择10件产品单元。

1. 需要额外的产品来验证SIP＜1.0的充分性（见5.2.5）。
   * + 1. 步骤2：确定平均生物负载
          1. 在确定生物负载中使用修正因子（见GB/T 19973.1）。
          2. 确定所选择的产品单元中每一件的生物负载并计算平均生物负载。
2. 生物负载一般通过确定单件产品单元得到，但当生物负载低（例如：＜10）时，允许将10件产品单元合并以确定平均生物负载。本指南不适用于不应合并的SIP；相反，应选择更大的SIP（见5.2.5）。
3. 当在生物负载确定中未观察到菌落时，有时，这表示为低于检测限。在计算平均生物负载时，使用检测限作为生物负载值可能会导致过高估计。过高的估计可能会影响验证剂量实验的有效性。
   * + 1. 步骤3：获得VDmax25

使用平均生物负载，从表9中获得SIP=1.0的VDmax25值：

当SIP = 1.0，如果表9中没有要查的平均生物负载，使用表中最接近的且大于平均生物负载的值。

当SIP＜1.0，用SIP平均生物负载除以SIP得到完整产品(SIP = 1.0)的生物负载。如果表9中没有计算的平均生物负载，使用表中最接近的且大于平均生物负载的列表值，确定SIP=1.0的VDmax25值和相关的SIP剂量减少因子。

1. 平均生物负载≤0.9（见9.3.2.2）的产品不允许使用SIP＜1.0。

使用公式（10）计算SIP VDmax25 （见9.2.4）。

* + - 1. 步骤4：完成验证剂量实验
         1. 从单一产品批中选择10件产品单元。
         2. 用从表9中得到的或用公式10计算出的VDmax25值，哪个适合就用哪个，辐照10件产品单元。

产品单元获得的最高剂量不得超过VDmax25值的10%。

产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值不得小于VDmax25值的90%。

测定实施剂量（见5.5）。

如果产品单元获得的最高剂量超过了VDmax25值的10%，重复验证剂量实验。

如果产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值小于VDmax25值的90%，可以重复验证剂量实验。如果该平均值小于VDmax25值的90%，无菌试验的结果是可以接受的（见9.3.7.1），则验证剂量实验不必重复。

* + - * 1. 分别对辐照后的每件产品单元实施无菌试验（见5.4.1），并记录阳性试验数。
      1. 步骤5：结果的解释
         1. 如果10件产品单元的无菌试验中阳性数不超过1件，接受验证，证实了25kGy可以作为灭菌剂量。
         2. 如果10件产品单元的无菌试验中有2件阳性，完成证实验证剂量实验（见9.3.8）。
         3. 如果10件产品单元的无菌试验中有3件及以上的阳性，灭菌剂量可能是不充分的，则不接受验证。

如果这些无菌试验的阳性结果是由于实施了不正确的生物负载确定、不正确的无菌试验或不正确的传递VDmax25值，或特定的与生物负载相关的原因，则需实施纠正措施，使用另外10件产品单元重复验证剂量实验。如果由于纠正措施的结果，平均生物负载的估计值发生变化，则使用与变化后的平均生物负载相对应的VDmax25值（9.3.5）。如果平均生物负载的估计值未发生变化，使用与未被接受的验证剂量实验中相同的VDmax25值。根据9.3.7解释重复验证剂量实验的结果。

如果这些无菌试验的阳性结果不是由于实施了不正确的生物负载确定、不正确的无菌试验或不正确的传递VDmax25值，或特定的与生物负载相关的原因，选择的25kGy灭菌剂量未得到证实，应选择其他方法建立灭菌剂量（见第6章）。

* + - 1. 证实验证剂量试验
         1. 总则

实施证实验证剂量实验（见9.3.7.2）有以下三个步骤：

* + - * 1. 步骤1：获得样品

从单一生产批中选择10件产品单元。对单一批次的储存，应考虑产品支持微生物生长的能力。

* + - * 1. 步骤2：完成证实验证剂量实验

以9.3.5中确定的VDmax25辐照这些产品单元。

产品单元获得的最高剂量不得超过VDmax25值的10%。

产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值不得小于VDmax25值的90%。

测定实施剂量（见5.5）。

如果产品单元获得的最高剂量超过了VDmax25值的10%，重复证实验证剂量实验。

如果产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值小于VDmax25值的90%，可以重复证实验证剂量实验。如果该平均值小于VDmax25值的90%，无菌试验的结果是可以接受的（见9.3.8.4.1），则证实验证剂量实验不必重复。

分别对辐照后的每件产品单元实施无菌试验（见5.4.1），并记录阳性试验数。

* + - * 1. 步骤3：结果的解释

如果10件产品单元的无菌试验中没有阳性，原验证剂量试验和证实验证剂量试验的无菌试验阳性总数为2件，证实验证被接受，因此：证实了25kGy可以作为灭菌剂量。

如果无菌试验中有任何阳性出现，灭菌剂量可能是不充分的，则不接受证实验证。

如果这些无菌试验的阳性结果是由于实施了不正确的无菌试验或不正确的传递VDmax25值，或特定的与生物负载相关的原因，则需实施纠正措施,使用另外10件产品单元和最初使用的相同的VDmax25值重复证实验证剂量实验。根据9.3.8.4解释重复证实验证剂量实验的结果。

如果这些无菌试验的阳性结果不是由于实施了不正确的无菌试验或不正确的传递VDmax25值，或特定的与生物负载相关的原因，选择的25kGy灭菌剂量未得到证实，应选择其他方法建立灭菌剂量（见第6章）。

* + 1. 多个生产批使用VDmax15方法的程序
       1. 总则
          1. 这种方法仅用于平均生物负载≤1.5的产品。

1. 所有三批的平均生物负载值（见9.4.3.2）应≤1.5。
   * + - 1. 根据表1，在应用VDmax15方法中使用完整的产品（SIP=1.0）。
         2. 使用VDmax15有以下五个步骤。
2. 实例见11.3。
   * + 1. 步骤1：取得样品

依据5.1和5.3，从3个独立的产品批中的每一批选择10件产品单元。

* + - 1. 步骤2：确定平均生物负载
         1. 在确定生物负载中使用修正因子（见GB/T 19973.1）。
         2. 确定所选择的产品单元中每一件的生物负载并计算：

1. 3批产品中每一批的平均生物负载（批平均生物负载）；
2. 选择的所有产品单元的平均生物负载（总平均生物负载）。
3. 生物负载一般通过确定单件产品单元得到，但当生物负载低（例如：＜1.5）时，允许将10件产品单元合并以确定批平均生物负载。
4. 当在生物负载确定中未观察到菌落时，有时，这表示为低于检测限。在计算平均生物负载时，使用检测限作为生物负载值可能会导致过高估计。过高的估计可能会影响验证剂量实验的有效性。
   * + - 1. 比较3个批平均生物负载与总平均生物负载，确定是否有任何一个批平均生物负载大于总平均生物负载的两倍或两倍以上。
       1. 步骤3：获得VDmax15

使用以下任一项作为平均生物负载，从表10中获得SIP=1.0的VDmax15值：

1. 如果一个或多个批平均生物负载大于总平均生物负载的两倍或两倍以上，则取最高批平均生物负载；
2. 如果每一批平均生物负载都小于总平均生物负载的两倍，则取总平均生物负载。

如果表10中没有要查的平均生物负载，使用表中最接近的且大于平均生物负载的列表值。

1. 平均生物负载≤1.5的VDmax**15**值

| 平均生物负载 | SIP=1.0  VDmax15  (kGy) | 平均生物负载 | SIP=1.0  VDmax15  (kGy) |
| --- | --- | --- | --- |
| ≤0.1 | 0.0 | 0.50 | 1.8 |
| 0.15 | 0.5 | 0.60 | 2.0 |
| 0.20 | 0.9 | 0.70 | 2.2 |
| 0.25 | 1.1 | 0.80 | 2.3 |
| 0.30 | 1.3 | 0.90 | 2.2 |
| 0.35 | 1.5 | 1.0 | 2.1 |
| 0.40 | 1.6 | 1.5 | 1.7 |
| 0.45 | 1.7 |  |  |
| 1. 如果SIP=1.0 VDmax15=0.0kGy，则产品单元不需辐照。 | | | |

* + - 1. 步骤4：完成验证剂量实验
         1. 从单一生产批中选择10件产品单元。完成步骤4需要的10件产品单元可以选自步骤2中确定生物负载的批次之一，也可以选能够代表常规生产条件的第4批产品（见5.3）。
         2. 用从表10中得到VDmax15值，辐照10件产品单元。

产品单元获得的最高剂量不得超过VDmax15值的10%或0.1kGy，以较大者为准。

产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值不得小于VDmax15值的90%。

测定实施剂量（见5.5）。

如果产品单元获得的最高剂量超过了VDmax15值的10%或0.1kGy，以较大者为准，重复验证剂量实验。

如果产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值小于VDmax15值的90%，可以重复验证剂量实验。如果该平均值小于VDmax15值的90%，无菌试验的结果是可以接受的（见9.4.6.1），则验证剂量实验不必重复。

* + - * 1. 分别对辐照后的每件产品单元实施无菌试验（见5.4.1），并记录阳性试验数。
      1. 步骤5：结果的解释
         1. 如果10件产品单元的无菌试验中阳性数不超过1件，接受验证，证实了15kGy可以作为灭菌剂量。
         2. 如果10件产品单元的无菌试验中有2件阳性，完成证实验证剂量实验（见9.4.7）。
         3. 如果10件产品单元的无菌试验中有3件及以上的阳性，灭菌剂量可能是不充分的，则不接受验证。

如果这些无菌试验的阳性结果是由于实施了不正确的生物负载确定、不正确的无菌试验或不正确的传递VDmax15值，或特定的与生物负载相关的原因，则需实施纠正措施,使用另外10件产品单元重复验证剂量实验。如果由于纠正措施的结果，平均生物负载的估计值发生变化，则使用与变化后的平均生物负载相对应的VDmax15值（9.4.4）。如果平均生物负载的估计值未发生变化，使用与未被接受的验证剂量实验中相同的VDmax15值。根据9.4.6解释重复验证剂量实验的结果。

如果这些无菌试验的阳性结果不是由于实施了不正确的生物负载确定、不正确的无菌试验或不正确的传递VDmax15值，或特定的与生物负载相关的原因，选择的15kGy灭菌剂量未得到证实，应选择其他方法建立灭菌剂量（见第6章）。

* + - 1. 证实验证剂量试验
         1. 总则

实施证实验证剂量实验（见9.4.6.2）有以下三个步骤：

* + - * 1. 步骤1：获得样品

从单一生产批中选择10件产品单元。这10件产品单元可以选自步骤2中确定生物负载的批次之一（见9.4.3），也可以选自步骤4中的第4批（见9.4.5），或任何一批能够代表常规生产条件的产品批（见5.3）。

* + - * 1. 步骤2：完成证实验证剂量实验

以9.4.4中确定的VDmax15辐照这些产品单元。

产品单元获得的最高剂量不得超过VDmax15值的10%或0.1kGy，以较大者为准。

产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值不得小于VDmax15值的90%。

测定实施剂量（见5.5）。

如果产品单元获得的最高剂量超过了VDmax15值的10%或0.1kGy，以较大者为准，重复证实验证剂量实验。

如果产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值小于VDmax15值的90%，可以重复证实验证剂量实验。如果该平均值小于VDmax15值的90%，无菌试验的结果是可以接受的（见9.4.7.4.1），则证实验证剂量实验不必重复。

分别对辐照后的每件产品单元实施无菌试验（见5.4.1），并记录阳性试验数。

* + - * 1. 步骤3：结果的解释

如果10件产品单元的无菌试验中没有阳性，原验证剂量试验和证实验证剂量试验的无菌 试验阳性总数为2件，证实验证被接受，因此：证实了15kGy可以作为灭菌剂量。

如果无菌试验中有任何阳性出现，灭菌剂量可能是不充分的，则不接受证实验证。

如果这些无菌试验的阳性结果是由于实施了不正确的无菌试验或不正确的传递VDmax15值，或特定的与生物负载相关的原因，则需实施纠正措施,使用另外10件产品单元和最初使用的相同的VDmax15值重复证实验证剂量实验。根据9.4.7.4解释重复证实验证剂量实验的结果。

如果这些无菌试验的阳性结果不是由于实施了不正确的无菌试验或不正确的传递VDmax15值，或特定的与生物负载相关的原因，选择的15kGy灭菌剂量未得到证实，应选择其他方法建立灭菌剂量（见第6章）。

* + 1. 单一生产批使用VDmax15方法的程序
       1. 原理

这个方法是VDmax15方法的一种应用，仅用于预证实15kGy作为单一生产批的灭菌剂量。

* + - 1. 总则
         1. 这个方法仅用于平均生物负载≤1.5的产品。
         2. 根据表1，在应用VDmax15方法中使用完整的产品（SIP=1.0）。
         3. 使用VDmax15有以下五个步骤。
      2. 步骤1：获得样品

依据5.1和5.3，从单一产品批中选择10件产品单元。

* + - 1. 步骤2：确定平均生物负载
         1. 在确定生物负载中使用修正因子（见GB/T 19973.1）。
         2. 确定所选择的产品单元中每一件的生物负载并计算平均生物负载。

1. 生物负载一般通过确定单件产品单元得到，但当生物负载低（例如：＜1.5）时，允许将10件产品单元合并以确定平均生物负载。
2. 当在生物负载确定中未观察到菌落时，有时，这表示为低于检测限。在计算平均生物负载时，使用检测限作为生物负载值可能会导致过高估计。过高的估计可能会影响验证剂量实验的有效性。
   * + 1. 步骤3：获得VDmax15

使用平均生物负载，从表10中获得SIP=1.0的VDmax15值：

如果表10中没有要查的平均生物负载，使用表中最接近的且大于平均生物负载的列表值。

* + - 1. 步骤4：完成验证剂量实验
         1. 从单一产品批中选择10件产品单元。
         2. 用从表10中得到的VDmax15值，辐照10件产品单元。

产品单元获得的最高剂量不得超过VDmax15值的10%或0.1kGy，以较大者为准。

产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值不得小于VDmax15值的90%。

测定实施剂量（见5.5）。

如果产品单元获得的最高剂量超过了VDmax15值的10%或0.1kGy，以较大者为准，重复验证剂量实验。

如果产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值小于VDmax15值的90%，可以重复验证剂量实验。如果该平均值小于VDmax15值的90%，无菌试验的结果是可以接受的（见9.5.7.1），则验证剂量实验不必重复。

* + - * 1. 分别对辐照后的每件产品单元实施无菌试验（见5.4.1），并记录阳性试验数。
      1. 步骤5：结果的解释
         1. 如果10件产品单元的无菌试验中阳性数不超过1件，接受验证，证实了15kGy可以作为灭菌剂量。
         2. 如果10件产品单元的无菌试验中有2件阳性，完成证实验证剂量实验（见9.5.8）。
         3. 如果10件产品单元的无菌试验中有3件及以上的阳性，灭菌剂量可能是不充分的，则不接受验证。

如果这些无菌试验的阳性结果是由于实施了不正确的生物负载确定、不正确的无菌试验或不正确的传递VDmax15值，或特定的与生物负载相关的原因，则需实施纠正措施,使用另外10件产品单元重复验证剂量实验。如果由于纠正措施的结果，平均生物负载的估计值发生变化，则使用与变化后的平均生物负载相对应的VDmax15值（9.5.5）。如果平均生物负载的估计值未发生变化，使用与未被接受的验证剂量实验中相同的VDmax15值。根据9.5.7解释重复验证剂量实验的结果。

如果这些无菌试验的阳性结果不是由于实施了不正确的生物负载确定、不正确的无菌试验或不正确的传递VDmax15值，或特定的与生物负载相关的原因，选择的15kGy灭菌剂量未得到证实，应选择其他方法建立灭菌剂量（见第6章）。

* + - 1. 证实验证剂量试验
         1. 总则

实施证实验证剂量实验（见9.5.7.2）有以下三个步骤：

* + - * 1. 步骤1：获得样品

从单一生产批中选择10件产品单元。对单一批次的储存，应考虑产品支持微生物生长的能力。

* + - * 1. 步骤2：完成证实验证剂量实验

以9.5.5中确定的VDmax15辐照这些产品单元。

产品单元获得的最高剂量不得超过VDmax15值的10%或0.1kGy，以较大者为准。

产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值不得小于VDmax15值的90%。

测定实施剂量（见5.5）。

如果产品单元获得的最高剂量超过了VDmax15值的10%或0.1kGy，以较大者为准，重复证实验证剂量实验。

如果产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值小于VDmax15值的90%，可以重复证实验证剂量实验。如果该平均值小于VDmax15值的90%，无菌试验的结果是可以接受的（见9.5.8.4.1），则证实验证剂量实验不必重复。

分别对辐照后的每件产品单元实施无菌试验（见5.4.1），并记录阳性试验数。

* + - * 1. 步骤3：结果的解释

如果10件产品单元的无菌试验中没有阳性，原验证剂量试验和证实验证剂量试验的无菌试验阳性总数为2件，证实验证被接受，因此：证实了15kGy可以作为灭菌剂量。

如果无菌试验中有任何阳性出现，灭菌剂量可能是不充分的，则不接受证实验证。

如果这些无菌试验的阳性结果是由于实施了不正确的无菌试验或不正确的传递VDmax15值，或特定的与生物负载相关的原因，则需实施纠正措施,使用另外10件产品单元和最初使用的相同的VDmax15值重复证实验证剂量实验。根据9.5.8.4解释重复证实验证剂量实验的结果。

如果这些无菌试验的阳性结果不是由于实施了不正确的无菌试验或不正确的传递VDmax15值，或特定的与生物负载相关的原因，选择的15kGy灭菌剂量未得到证实，应选择其他方法建立灭菌剂量（见第6章）。

* 1. 灭菌剂量审核
     1. 目的和频度

一旦建立了灭菌剂量，应定期进行灭菌剂量审核，以确认灭菌剂量的持续适宜性。灭菌剂量审核产生的所有措施应适用于产品族中的所有产品(见第4章)。

灭菌剂量审核的频度应符合GB 18280.1-xxxx中的12.1的规定。产品不生产时无需进行灭菌剂量审核。灭菌剂量审核与环境控制、生产控制以及生物负载确定的评审结合使用。如评审显示缺乏控制，应采取措施。

* + 1. 使用方法1、方法2A或方法2B建立的灭菌剂量的审核程序
       1. 总则
          1. 在用方法1、方法2A建立灭菌剂量的灭菌剂量审核中，使用的SIP应等同于原建立灭菌剂量时使用的SIP。

1. 方法2B要求使用整件产品[见8.3.1.1 a)]。
   * + - 1. 实施灭菌剂量审核有以下4个步骤：
2. 实例，见11.4和11.5。
   * + 1. 步骤1：获得样品

根据5.1, 5.2 （如果适用）和 5.3，从单一生产批中选择110件产品单元。

* + - 1. 步骤2：确定平均生物负载

确定10件产品单元中的每一件的生物负载并计算平均生物负载。如果在原建立灭菌剂量时使用了修正因子(见GB/T 19973.1),在灭菌剂量审核中使用最新验证的修正因子。

1. 生物负载一般通过确定单件产品单元得到，但当生物负载低（例如：＜10）时，允许将10件产品单元合并以确定批平均生物负载。本指南不适用于不应合并的SIP；相反，应选择更大的SIP（见5.2.5）。
2. 当在生物负载确定中未观察到菌落时，有时，这表示为低于检测限。在计算平均生物负载时，使用检测限作为生物负载值可能会导致过高估计。过高的估计可能会影响验证剂量实验的有效性。
3. 生物负载数据在灭菌剂量审核时并不用于获得验证剂量。这些数据用于过程监测与控制（例如：趋势分析，灭菌剂量审核失败的调查或降低灭菌剂量审核频度）。
   * + 1. 步骤3：完成验证剂量实验
          1. 以最近一次剂量设定试验中发现的验证剂量或*D\*\**剂量辐照100件产品单元，或在适用情况下，以最近一次灭菌剂量审核中获得的调整剂量 (见10.2.6.4)辐照100件产品单元。适用时，使用调整剂量直到灭菌剂量重新建立。

对方法1进行剂量审核时，产品单元获得的最高剂量不得超过验证剂量的10%。对方法2A或2B进行剂量审核时，产品单元获得的最高剂量不应超过*D\*\**的10%或1.0kGy，以较大者为准。

对方法1进行剂量审核时，产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值不应小于验证剂量的90%。对方法2A或2B进行剂量审核时，该平均剂量不应小于*D\*\**的90%或小于*D\*\**减去1.0kGy，以较小的剂量为准。

测定实施剂量（见5.5）。

如果对方法1进行剂量审核时, 产品单元获得的最高剂量超过验证剂量的10%, 或者在对方法2A或2B进行剂量审核时, 产品单元获得的最高剂量超过*D\*\**的10%或1.0kGy，以较大者为准，应重复验证剂量试验。

如果对方法1进行剂量审核时, 产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值小于验证剂量的90%,或对方法2A或2B进行剂量审核时, 该平均剂量小于*D\*\**的90%或小于*D\*\**减去1.0kGy,以较小的剂量为准, 可以重复验证剂量试验。如果重复验证剂量试验的条件适用，且无菌试验的结果是可接受的(见10.2.5.1)，则无需重复验证剂量试验。

* + - * 1. 使用原剂量设定实验中使用的培养基和培养条件，分别对辐照后的每件产品单元实施无菌试验（见5.4.1），并记录阳性试验数。
      1. 步骤4：结果的解释
         1. 如100件产品单元的无菌试验中阳性数不多于2件，接受灭菌剂量审核。
         2. 如果无菌试验中阳性数达到3件或以上，则不接受灭菌剂量审核，灭菌剂量可能是不充分的。

如果这些无菌试验的阳性结果是由于实施了不正确的无菌试验、不正确的验证剂量或*D\*\**，或特定的与生物负载相关的原因，则需实施纠正措施，并在可行的情况下，使用另外100件产品单元和未被接受的灭菌剂量审核中相同的验证剂量或*D\*\**，重复验证剂量试验。根据10.2.5解释重复验证剂量实验的结果。

如果这些无菌试验的阳性结果不是由于实施了不正确的无菌试验、不正确的验证剂量或*D\*\**，或特定的与生物负载相关的原因，则应适用于以下规定：

1. 如果100件无菌试验出现3件或4件阳性，立即增加灭菌剂量（见10.2.6）。使用另外100件产品单元和未被接受的灭菌剂量审核中相同的验证剂量或*D\*\**，重复验证剂量试验。按照10.2.5.3 解释重复验证剂量实验的结果。
2. 如果无菌试验出现5到15件阳性，立即增加灭菌剂量（见10.2.6）并尽快使用原剂量设定方法或其他剂量设定方法重新建立灭菌剂量（见10.4）。继续使用增加的灭菌剂量，直到灭菌剂量重新建立完成。
3. 如果无菌试验出现15件以上阳性，停止按照先前建立的灭菌剂量进行灭菌（见10.4）。在使用另一种方法重新建立灭菌剂量之前，不得增加灭菌剂量，也不得恢复灭菌（见第6章）。
   * + - 1. 按照10.2.5.2 a) 执行的重复验证剂量实验的结果，解释如下：
4. 如果100件无菌试验中阳性结果不超过2件，并且对环境控制和生产控制的审查表明没有超出既定范围的值，并且生物负载测定的结果表明没有超出规定的生物负载限值，则恢复使用之前建立的灭菌剂量。如果值超出范围，调查并纠正原因，恢复使用之前建立的灭菌剂量。
5. 如果无菌试验出现3件或4件阳性，立即使用原剂量设定方法或其他剂量设定方法重新建立灭菌剂量（见10.4）。继续使用增加的灭菌剂量，直到灭菌剂量重新建立完成（见第6章）。
6. 如果无菌试验出现5到15件阳性，立即使用另一种方法（见第6章）重新建立灭菌剂量（见10.4）。使用重复验证剂量实验的结果增加灭菌剂量，并继续使用增加的灭菌剂量，直到灭菌剂量重新建立完成。
7. 如果无菌试验阳性数超过15件，立即停止灭菌，并使用另一种方法（见第6章）重新建立灭菌剂量（见10.4）。在重新建立灭菌剂量完成之前不得恢复灭菌。
   * + 1. 方法1、方法2A或方法2B中增加灭菌剂量
          1. 总则

方法1、方法2A或方法2B中增加灭菌剂量的方法基于Herring，1999[13]提出的方法。它使用了灭菌剂量审核失败的信息和方法2的基本原理，以及对产品微生物种群中抗力最强的微生物的保守估计。

* + - * 1. 步骤1：分析灭菌剂量审核失败的数据

1. 确定灭菌剂量审核的最高剂量，把这个值定为“最大审核剂量”。
2. 记录灭菌剂量审核（见10.2.5.2和10.2.5.3）中无菌试验的阳性数，把这个值定为“审核的阳性数”。
   * + - 1. 步骤2：确定外推因子E
3. 根据审核的阳性数，使用公式（11）或（12）确定*E*值，

如审核的阳性数是3到9，包括9，使用公式（11）

*E* = “最大审核剂量” + 2kGy (11)

如审核阳性数是10到15，包括15，使用公式（12）

*E* = “最大审核剂量” + 4kGy (12)

1. 根据(E–1)值，用（13）或（14）计算外推因子。

如(*E*–1)≤9，用公式（13）

外推因子=2+0.2(*E* – 1) (13)

如(*E*–1)＞9，用公式（14）

外推因子=0.4(*E*–1) (14)

如使用公式（13）或（14）计算出的值大于4.2kGy ，设定外推因子=4.2kGy。

* + - * 1. 步骤3：计算调整剂量（达到SAL10-2的剂量）

使用公式（15）计算调整剂量。

调整剂量=最大审核剂量+[log (审核的阳性数)](外推因子) (15)

* + - * 1. 步骤4：计算增加灭菌剂量

对方法1和方法2A，用公式（16）计算增加灭菌剂量。

增加灭菌剂量=调整剂量+[–log(SAL)–log(SIP)-2](外推因子) (16)

对于方法2B，用公式（17）计算增加灭菌剂量。

增加灭菌剂量=调整剂量+[–log(SAL)-2](外推因子) (17)

* + 1. 使用VDmax15方法或VDmax25方法证实灭菌剂量的审核程序
       1. 总则
          1. VDmax15方法或VDmax25方法的灭菌剂量审核使用的SIP与原证实灭菌剂量的 SIP 相同。

1. VDmax15 方法要求使用整件产品单元（见 9.4.1.2 和 9.5.2.2）。
   * + - 1. 灭菌剂量审核有以下4个步骤：
2. 实例，见11.6。
   * + 1. 步骤1：获得样品

根据5.1, 5.2（如适用） 和 5.3，从单一生产批中选择20件产品单元。

* + - 1. 步骤2：确定平均生物负载
         1. 应用从生物负载测定方法的最新验证中得到的修正因子。
         2. 确定10件产品单元中的每一件的生物负载并计算平均生物负载。

1. 生物负载一般通过确定单件产品单元得到，但当生物负载低（例如：方法 VDmax25 < 10，方法 VDmax15 < 1.5）时，在这种情况下，允许将10件产品单元合并以确定平均生物负载。本指南不适用于不应合并的SIP；相反，应选择更大的SIP（见5.2.5）。
2. 当在生物负载确定中未观察到菌落时，有时，这表示为低于检测限。在计算平均生物负载时，使用检测限作为生物负载值可能会导致过高估计。过高的估计可能会影响验证剂量实验的有效性。
3. 生物负载数据在灭菌剂量审核时并不用于获得验证剂量。这些数据用于过程监测与控制（例如：趋势分析，灭菌剂量审核失败的调查或降低灭菌剂量审核频度）。
   * + 1. 步骤3：完成验证剂量实验
          1. 用原证实实验中获得的VDmax15或VDmax25辐照10件产品单元，以适用为准。

产品单元获得的最高剂量不得超过VDmax25的10%或VDmax15的10%或0.1kGy，以较大者为准。

产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值不应小于VDmax25或VDmax15的90%。

测定实施剂量（见5.5）。

如果产品单元获得的最高剂量超过VDmax25的10%或VDmax15的10%或0.1kGy，以较大者为准，应重复验证剂量实验。

如果产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值小于VDmax25或VDmax15的90%，则可以重复验证剂量实验。如果该平均剂量小于VDmax25或VDmax15的90%，且无菌试验的结果是可接受的（见10.3.5.1），则无需重复验证剂量实验。

* + - * 1. 使用原剂量证实实验中使用的培养基和培养条件，分别对辐照后的每件产品单元实施无菌试验（见5.4.1），并记录阳性试验数。
      1. 步骤4：结果的解释
         1. 如果10件产品单元的无菌试验中阳性数不多于1件，则接受灭菌剂量审核。
         2. 如果无菌试验有2件阳性，进行灭菌剂量审核的证实（见10.3.6）。
         3. 如果无菌试验中阳性数达到3件或以上，则不接受灭菌剂量审核，灭菌剂量可能是不充分的。

如果这些无菌试验的阳性结果是由于实施了不正确的无菌试验、不正确的VDmax25 或 VDmax15，或特定的与生物负载相关的原因，则需实施纠正措施，并在可行的情况下，尽快使用另外10件产品单元和未被接受的灭菌剂量审核中相同的VDmax25 或 VDmax15，重复验证剂量实验。按照 10.3.5 解释重复验证剂量实验的结果。

如果这些无菌试验的阳性结果不是由于实施了不正确的无菌试验、不正确的VDmax25 或 VDmax15，或特定的与生物负载相关的原因，则应适用以下规定：

1. 如果无菌试验有 3 到 6件阳性，立即增加灭菌剂量（见10.3.7），并尽快使用另一种方法（见第 6 章）重新建立灭菌剂量（见10.4）。继续使用增加的灭菌剂量，直到灭菌剂量重新建立完成。
2. 如果无菌试验中有7件或以上的阳性，停止按照先前建立的灭菌剂量进行灭菌（见10.4），在使用另一种方法重新建立灭菌剂量之前，不得增加灭菌剂量，也不得恢复灭菌（见第6章）。
   * + 1. 灭菌剂量审核的证实
          1. 总则

VDmax15方法或VDmax25方法的灭菌剂量审核的证实使用的SIP与原证实灭菌剂量的 SIP 相同。

1. VDmax15方法要求使用整件产品单元（见9.4.1.2和9.5.2.2）。

灭菌剂量审核的证实有以下3个步骤：

步骤1：获得样品

根据5.1、5.2（如适用）和5.3，从单一生产批中选择10件产品单元。用于证实灭菌剂量审核的这10件产品单元既可以从原灭菌剂量审核中用于验证剂量实验的批次（见10.3.2）中选择，也可以在代表正常生产条件下生产的第二批中选择（见5.3）。

* + - * 1. 步骤2：完成证实验证剂量实验

用原证实实验中获得的VDmax15或VDmax25辐照10件产品单元，以适用为准。

产品单元获得的最高剂量不得超过VDmax25的10%或VDmax15的10%或0.1kGy，以较大者为准。

产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值不应小于VDmax25或VDmax15的90%。

测定实施剂量（见5.5）。

如果产品单元获得的最高剂量超过VDmax25的10%或VDmax15的10%或0.1kGy，以较大者为准，应重复证实验证剂量实验。

如果产品单元获得的最高和最低剂量的算术平均值小于VDmax25或VDmax15的90%，则可以重复证实验证剂量实验。如果该平均剂量小于VDmax25或VDmax15的90%，且无菌试验的结果是可接受的（见10.3.6.4），则无需重复证实验证剂量实验。

使用原剂量证实实验中使用的培养基和培养条件，分别对辐照后的每件产品单元实施无菌试验（见5.4.1），并记录阳性试验数。

* + - * 1. 步骤3：结果的解释

按照 10.3.5.2 的规定，对证实验证剂量审核的结果，做出如下解释：

1. 如果10件产品单元的无菌试验没有阳性结果，验证剂量实验和证实验证剂量实验的无菌试验阳性数总计2件，接受灭菌剂量审核。
2. 如果证实验证剂量实验的无菌试验中有1到4件阳性，立即增加灭菌剂量（见10.3.7）。使用另一种方法（见第6章）重新建立灭菌剂量（见10.4），继续使用增加的灭菌剂量，直至灭菌剂量重新建立完成。
3. 如果证实验证剂量实验的无菌试验中有5件或以上阳性，停止按照先前建立的灭菌剂量进行灭菌（见10.4），在使用另一种方法重新建立灭菌剂量之前，不得增加灭菌剂量，也不得恢复灭菌（见第6章）。

如果无菌试验中出现的1件或多件阳性结果是由于实施了不正确的无菌试验、不正确的VDmax25 或 VDmax15，或特定的与生物负载相关的原因，实施纠正措施，并使用另外10件产品单元和原灭菌剂量证实中相同的VDmax25 或 VDmax15，重复灭菌剂量审核的证实（见10.3.6.3）。根据上述a)至c)解释结果。

* + - 1. VDmax25方法 或VDmax15方法中增加灭菌剂量
         1. VDmax25方法

根据10.3.3确定平均生物负载，从表11中获得其对应的剂量增加值。如平均生物负载在表11中没有给出，使用表中最接近的且大于平均生物负载的列表值获得剂量增加值。用公式18中的后一个值计算增加的灭菌剂量。

增加的灭菌剂量（kGy）=25 kGy +剂量增加值 (18)

1. 平均生物负载≤1000时VDmax25 方法的剂量增加值

| 平均生物负载 | 剂量增加值  (kGy) | 平均生物负载 | 剂量增加值  (kGy) | 平均生物负载 | 剂量增加值  (kGy) | 平均生物负载 | 剂量增加值  (kGy) |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| ≤0.1 | 5.0 | 6.5 | 3.7 | 40 | 3.3 | 240 | 3.3 |
| 0.15 | 4.8 | 7.0 | 3.7 | 45 | 3.3 | 260 | 3.3 |
| 0.20 | 4.7 | 7.5 | 3.6 | 50 | 3.2 | 280 | 3.3 |
| 0.25 | 4.6 | 8.0 | 3.6 | 55 | 3.2 | 300 | 3.3 |
| 0.30 | 4.6 | 8.5 | 3.6 | 60 | 3.2 | 325 | 3.3 |
| 0.35 | 4.5 | 9.0 | 3.6 | 65 | 3.2 | 350 | 3.3 |
| 0.40 | 4.5 | 9.5 | 3.6 | 70 | 3.2 | 375 | 3.3 |
| 0.45 | 4.4 | 10 | 3.6 | 75 | 3.2 | 400 | 3.3 |
| 0.50 | 4.4 | 11 | 3.6 | 80 | 3.2 | 425 | 3.3 |
| 0.60 | 4.3 | 12 | 3.5 | 85 | 3.2 | 450 | 3.3 |
| 0.70 | 4.3 | 13 | 3.5 | 90 | 3.2 | 475 | 3.3 |
| 0.80 | 4.2 | 14 | 3.5 | 95 | 3.2 | 500 | 3.3 |
| 0.90 | 4.2 | 15 | 3.5 | 100 | 3.2 | 525 | 3.3 |
| 1.0 | 4.2 | 16 | 3.5 | 110 | 3.2 | 550 | 3.3 |
| 1.5 | 4.0 | 17 | 3.5 | 120 | 3.2 | 575 | 3.3 |
| 2.0 | 4.0 | 18 | 3.4 | 130 | 3.2 | 600 | 3.3 |
| 2.5 | 3.9 | 19 | 3.4 | 140 | 3.2 | 650 | 3.4 |
| 3.0 | 3.9 | 20 | 3.4 | 150 | 3.2 | 700 | 3.4 |
| 3.5 | 3.8 | 22 | 3.4 | 160 | 3.2 | 750 | 3.4 |
| 4.0 | 3.8 | 24 | 3.4 | 170 | 3.2 | 800 | 3.4 |
| 4.5 | 3.8 | 26 | 3.4 | 180 | 3.2 | 850 | 3.4 |
| 5.0 | 3.7 | 28 | 3.4 | 190 | 3.3 | 900 | 3.4 |
| 5.5 | 3.7 | 30 | 3.3 | 200 | 3.3 | 950 | 3.4 |
| 6.0 | 3.7 | 35 | 3.3 | 220 | 3.3 | 1000 | 3.4 |

* + - * 1. VDmax15方法

根据10.3.3确定平均生物负载，从表12中获得其对应的剂量增加值。如果平均生物负载在表12中没有给出，使用表中最接近的且大于平均生物负载的列表值获得剂量增加值。使用公式（19）中的后一个值计算增加的灭菌剂量。

增加的灭菌剂量（kGy）=15kGy +剂量增加值 (19)

1. 当平均生物负载≤1.5时VDmax15方法的增加剂量

| 平均生物负载 | 剂量增加值(kGy) | 平均生物负载 | 剂量增加值(kGy) |
| --- | --- | --- | --- |
| ≤0.1 | 3.0 | 0.50 | 2.6 |
| 0.15 | 2.9 | 0.60 | 2.6 |
| 0.20 | 2.8 | 0.70 | 2.6 |
| 0.25 | 2.8 | 0.80 | 2.6 |
| 0.30 | 2.7 | 0.90 | 2.6 |
| 0.35 | 2.7 | 1.0 | 2.6 |
| 0.40 | 2.7 | 1.5 | 2.7 |
| 0.45 | 2.7 |  |  |

* + 1. 灭菌剂量审核失败

由于灭菌剂量审核失败，导致需要重新建立灭菌剂量，应调查失败原因，并采取纠正和/或纠正措施（见 GB 18280.1-xxxx 4.4）。作为调查的一部分，应考虑用失败的灭菌剂量审核对应的灭菌剂量处理产品，对先前处理的产品批次能否达到规定SAL的影响，并对其适用性进行风险评估。该调查和后续行动应被记录（见GB 18280.1-xxxx 4.1.2）。

1. 在重新建立灭菌剂量之前，可能无法确定对达到该SAL的影响。
   1. 实例
      1. 方法1的实例

方法1有3个实例。第一个实例是使用完整产品（SIP=1.0）进行验证实验（见表13）并且选择SAL为10-3。第二个举例选择SAL为10-6,由于产品太大试验不易实施，所以使用样品份额（SIP＜1.0）（见表14）。第三个举例选择SAL为10-6，使用生物负载小于1.0的整件产品（SIP=1.0）进行验证实验（见表15）。

1. 确定灭菌剂量（方法1，SIP=1.0）

| 项目 | 值 | 说明 |
| --- | --- | --- |
| 步骤1 | | |
| SAL | 10-3 | 选定SAL为10-3的实例。 |
| SIP | 1.0 | 在生物负载确定和验证试验中选完整的产品为样品。 |
| 步骤2 | | |
| 平均生物负载 | 382 | 三批供试产品生物负载的批平均分别为108、80和382。  -生物负载的总平均为190。  -最高批平均生物负载为382。  最高批平均生物负载382是总平均生物负载的两倍多；因此，382被用作确定验证剂量。 |
| a由于平均生物负载382在表5中未列出，因此使用了最接近的且较大的列表值400。 | | |
| 步骤3 | | |
| 验证剂量 | 9.7kGy | 平均生物负载382在表5中没有列出，因此使用了最接近的且较大的列表值400。 |
| 步骤4 | | |
| 验证剂量实验 | 9.4kGy至10.4kGy | 验证剂量实验中产品单元获得的剂量范围为9.4kGy至10.4kGy。 |
| 步骤5 | | |
| 结果的解释 | 1件阳性 | 产品单元获得的最高剂量小于计算的上限（10.7kGy），最高和最低剂量的算术平均值9.9kGy大于验证剂量的90%（9.7kGy的90%是 8.7kGy)。  剂量在计算限值内，并且无菌试验的结果可接受（即：≤2件阳性），因此，接受验证。 |
| 步骤6 | | |
| SAL10-3的灭菌剂量 | 12.9kGy | 从表5a中得到最高批平均生物负载382, SAL10-3的灭菌剂量是12.9kGy。 |
| a 计算的平均生物负载并没有列在表5中，使用了表中列出的最接近的且较大的生物负载400。 | | |

1. 确定灭菌剂量（方法1，SIP＜1.0）

| 项目 | 值 | 说明 |
| --- | --- | --- |
| 步骤1 | | |
| SAL | 10-6 | 选定SAL为10-6的实例。 |
| SIP | 0.05 | 由于产品太大不易于实施无菌试验，所以选择了1/20的份额做剂量设定。 |
| 步骤2 | | |
| 平均生物负载 | 59 | 三批供试SIP生物负载的批平均分别为50、62和65，85%的产品单元的生物负载计数≥2cfu/SIP，证明了SIP的充分性。  -SIP的生物负载的总平均为59。  -SIP的最高批平均生物负载为65。  SIP的最高批平均生物负载为65，不到总平均的两倍，因此，59被用作确定验证剂量。 |
| 步骤3 | | |
| 验证剂量 | 7.3kGy | 平均生物负载59在表5中没有列出，用表中列出的最接近的且较大的生物负载60用于获得验证剂量。 |
| 步骤4 | | |
| 验证剂量实验 | 6.5kGy至7.7kGy | 验证剂量实验中产品单元获得的剂量范围为6.5kGy至7.7kGy。 |
| 步骤5 | | |
| 结果的解释 | 2件阳性 | 产品单元获得的最高剂量小于计算的上限（8.0kGy），最高和最低剂量的算术平均值7.1kGy大于验证剂量的90%（7.3kGy的90%是6.6kGy）。剂量在计算限值内，并且无菌试验的结果可接受（即：≤2件阳性），因此，接受验证。 |
| 步骤6 | | |
| 完整产品的平均生物负载 | 1180 | 完整产品的平均生物负载计算：59/0.05=1180。 |
| SAL-6的灭菌剂量 | 25.2kGy | 从表5a中得到完整产品平均生物负载1180, SAL10-6的灭菌剂量是25.2kGy。 |
| a 计算的平均生物负载1180并没有列在表5中，使用了表中列出的最接近的且较大的生物负载1200。 | | |

1. 确定灭菌剂量（方法1，SIP=1.0，生物负载＜1.0）

| 项目 | 值 | 说明 |
| --- | --- | --- |
| 步骤1 | | |
| SAL | 10-6 | 选定SAL为10-6的实例。 |
| SIP | 1.0 | 生物负载值＜1.0，在生物负载测定和验证试验中选完整的产品为样品。 |
| 步骤2 | | |
| 平均生物负载 | 0.63 | 三批供试产品生物负载的批平均分别为0.6、0.6和0.7。  -生物负载的总平均为0.63。  -最高批平均生物负载为0.7。  最高批平均生物负载为0.7，不到总平均生物负载的两倍，因此，0.63被用作确定验证剂量。 |
| 步骤3 | | |
| 验证剂量 | 2.7kGy | 平均生物负载0.63在表6中没有列出，用表中列出的最接近的且较大的生物负载0.70获得验证剂量。 |
| 步骤4 | | |
| 验证剂量实验 | 2.0kGy至2.6kGy | 验证剂量实验中产品单元接受的剂量范围为2.0kGy至2.6kGy。 |
| 步骤5 | | |
| 结果的解释 | 2件阳性 | 产品单元获得的最高剂量小于计算的上限（3.0kGy），最高和最低剂量的算术平均值2.3kGy小于验证剂量的90%（2.7kGy的90%为2.4kGy）。  虽然该平均值小于计算的下限，但无菌试验的结果可接受（即≤2件阳性），因此，接受验证。 |
| 步骤6 | | |
| SAL10-6的灭菌剂量 | 13.7kGy | 从表6a中得到平均生物负载0.63, SAL10-6的灭菌剂量是13.7kGy。 |
| a 计算的平均生物负载0.63并没有列在表6中，使用了表中列出的最接近的且较大的生物负载0.70。 | | |

* + 1. 方法2的实例
       1. 总则

方法2A给出了的两个实例，一个是使用完整产品（SIP=1.0）进行试验，在表16、17、18、19和20中给出，第二个是使用样品份额（SIP＜1.0）进行试验的产品，在表21、22、23、24和25中给出。方法2B的给出了一个实例，要求使用完整产品，在表26、27、28、29和30中给出。

在以下实例中，从单一生产批的产品中获得的结果，符号用小写表示。从三批产品中获得的结果，符号用大写表示。

* + - 1. 方法2A（SIP=1.0）的实例
         1. 步骤1：选择SAL和获得样品

选择SAL为10-6，剂量设定中使用完整的产品（SIP=1.0），从三批产品中的每一批随机抽取280件产品单元。

增量剂量实验产品的分配见表16。

1. 各种增量剂量辐照的样本数

| 批次序号 | 增量剂量(kGy) | | | | | | | | | 步骤3的  试样数 | 样本总数 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 |
| 1 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 100 | 280 |
| 2 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 100 | 280 |
| 3 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 100 | 280 |

* + - * 1. 步骤2：完成增量剂量实验

表17提供增量剂量系列的数据实例，而表18为从此系列中得出的值。

1. 增量剂量实验的典型数据（20件产品单元无菌试验的阳性数）

| 批次  序号 |  | 靶剂量(kGy) | | | | | | | | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 |
| 1 | 最高剂量(kGy) | 2.2 | 5.0 | 5.3 | 9.0 | 9.2 | 11.6 | 15.0 | 16.2 | 19.3 |
| 阳性数 | 20 | 5 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 最高剂量(kGy) | 2.6 | 3.2 | 6.6 | 8.0 | 9.7 | 13.0 | 13.8 | 15.8 | 17.9 |
| 阳性数 | 11 | 7 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 最高剂量(kGy) | 2.3 | 4.2 | 5.9 | 7.5 | 10.7 | 11.4 | 13.7 | 17.5 | 17.1 |
| 阳性数 | 18 | 7 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1. 对于每个增量剂量，最高和最低剂量的算术平均值大于规定的下限。 | | | | | | | | | | |

1. 步骤2的计算

| 项目 | 值 | 说明 |
| --- | --- | --- |
| 批次1的ffp  批次2的ffp  批次3的ffp | 5.0kGy  2.6kGy  2.3kGy | 一个批次的ffp是指第一个使20个单元产品至少有一个为阴性的首次增量剂量。 |
| *A* | 0.65kGy | 找出在中值ffp时无菌试样阳性数，并用表7确定*A*。  例如，在中值ffp（2.6kGy）的阳性数是11，因此，*A* 是0.65kGy。 |
| FFP | 1.95kGy | FFP为三个批次的ffp中值减*A*。  例如，FFP=2.6kGy-0.65kGy=1.95kGy。 |
| 批次1的*d*\*  批次2的*d*\*  批次3的*d*\* | 9.0kGy  6.6kGy  10.7kGy | 每批次的*d*\*是a)或b)的剂量，其中：  a)是两次连续递增剂量中的较低剂量，在该剂量下不会出现阳性结果，随后不会再出现一件以上的阳性结果；  b)是发生一件阳性结果的首次增量剂量，其前面的一个剂量且仅一个剂量对应的无菌试验没有阳性结果，随后均为阴性结果。 |
| *D*\* | 9.0 kGy | *D*\*是三批*d*\*的中值，除非任一批次的*d*\*超过中值*d*\*为5.0kGy或更大。若观察到异常，*D*\*为批次*d*\*的最大值。 |
| *CD*\* | 批次1 | *CD*\*批是*d*\*等于*D*\*的那个批次，若有多于一个*d*\*等于*D*\*，则随机选一个作为*CD*\*批。 |

* + - * 1. 步骤3：完成验证剂量实验

步骤3实验值列于表19中。

1. 步骤3的计算

| 项目 | 值 | 说明 |
| --- | --- | --- |
| *D*\* | 9.0kGy | 来自步骤2。 |
| 验证剂量实验 | 7.0kGy至8.0kGy | 验证剂量实验中产品单元接受的剂量范围为7.0kGy至8.0kGy。 |
| *DD*\* | 8.0 kGy | *DD*\* 是验证剂量实验中获得的最高剂量。  关于剂量的上限和下限取决于*CD*\*（见 8.2.4）。  例如：  *DD*\*不超过上限（10.0kGy）。  *DD*\*的算术平均值和产品的最低剂量（7.5kGy）小于下限（8.0kGy）。  注：在这种情况下，如果 *CD*\*>15，验证剂量实验可以重复。 |
| *CD*\* | 2 | *CD*\*是在验证剂量实验中发现的无菌试验阳性数。  例如：  观察无菌试验发现两个阳性，这个阳性数可接受。 |
| FNP | 8.0kGy | 例如：  *CD*\*为2，因此FNP=DD\*，DD\*=8.0kGy。 |

* + - * 1. 步骤4和步骤5：结果的解释和建立灭菌剂量

用于建立灭菌剂量的计算见表20。

1. 步骤4建立灭菌剂量的计算

| 项目 | 值 | 说明 |
| --- | --- | --- |
| *CD*\* | 2 | 来自步骤3实验。 |
| *DD*\* | 8.0kGy | 来自步骤3实验。 |
| FNP | 8.0kGy | 来自步骤3实验。 |
| FFP | 1.95kGy | 来自步骤2实验。 |
| FNP-FFP | 6.05kGy | 例如：  FNP-FFP=8.0kGy-1.95kGy=6.05kGy  FNP-FFP＜0, 则设（FNP-FFP）=0 |
| *DS* | 3.21kGy | 当FNP-FFP＜10时，*DS*=2+0.2（FNP-FFP）[公式(3)]  例如：  *DS*=2kGy+0.2(6.05kGy)  =3.21kGy |
| *D*\*\* | 9.0kGy | *D*\*\* =*DD*\*+[log（*CD*\*）]（*DS*）[公式(5)]   1. 若*CD*\*=0，则设 [log（*CD*\*）]=0   例如：  *D*\*\*=8.0kGy+[log（2）] ×（3.21kGy）  =8.0kGy+（0.3010）（3.21kGy）  =8.97kGy  =9.0kGy |
| SAL | 10-6 | 由步骤1决定。 |
| SIP | 1.0 | 由步骤1决定。 |
| SAL10-6的灭菌剂量 | 21.8kGy | 灭菌剂量= *D*\*\*+[-log（SAL）-log (SIP)-2](*DS*) [公式(6)]  例如：  灭菌剂量=9.0kGy+（6-0-2）×（3.21kGy）  =9.0kGy+4×(3.21kGy)  =21.8kGy |

* + - 1. 方法2A（SIP＜1.0）的实例
         1. 步骤1：选择SAL和获得样品

产品选择SAL为10-3，由于产品太大试验不易实施，所以剂量设定中使用样品份额（SIP＜1.0），从三批产品中的每一批随机抽取280件产品单元。

增量剂量实验的产品分配见表21。

1. 各种增量剂量辐照的样本数

| 批次  序号 | 靶增量剂量(kGy) | | | | | | | | | | 步骤3的  试样数 | 样本总数 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 |
| 1 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 100 | 300 |
| 2 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 100 | 300 |
| 3 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 100 | 300 |
| 1. 需要额外的产品来验证SIP＜1.0的充分性。见5.2.5。 | | | | | | | | | | | | |

* + - * 1. 步骤2：完成增量剂量实验

表22提供增量剂量系列的数据实例，而表23为从此系列中得出的值。

1. 增量剂量实验的典型数据（20件产品单元无菌试验的阳性数）

| 批次  序号 |  | 靶剂量(kGy) | | | | | | | | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 |
| 1 | 最高剂量(kGy) | 1.8 | 3.7 | 6.3 | 7.8 | 10.9 | 12.8 | 14.2 | 15.2 | 18.0 |
| 阳性数 | 17 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 最高剂量(kGy) | 1.5 | 3.9 | 5.7 | 8.5 | 9.9 | 11.3 | 14.5 | 17.3 | 18.4 |
| 阳性数 | 20 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 最高剂量(kGy) | 2.5 | 3.5 | 6.1 | 7.3 | 10.2 | 12.4 | 12.7 | 14.8 | 17.7 |
| 阳性数 | 9 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1. 从三批的每一批中取出20个未辐照的SIP，分别进行无菌试验；每批至少观察到17个阳性。 2. 对于每个增量剂量，最高和最低剂量的算术平均值大于规定的下限。 | | | | | | | | | | |

1. 步骤2的计算

| 项目 | 值 | 说明 |
| --- | --- | --- |
| 批次1的ffp  批次2的ffp  批次3的ffp | 1.8kGy  3.9kGy  2.5kGy | 一个批次的ffp是指第一个使20个单元产品至少有一个为阴性的首次增量剂量。 |
| *A* | 0.79kGy | 找出在中值ffp时无菌试样阳性数，并用表7确定*A*。  例如，中值ffp(2.5 kGy)阳性数为9，因此，*A*是0.79kGy。 |
| FFP | 1.71kGy | FFP为三个批次的ffp中值减*A*。  例如：  FFP=2.5kGy-0.79kGy=1.71kGy |
| 批次1的*d*\*  批次2的*d*\*  批次3的*d*\* | 6.3kGy  5.7kGy  6.1kGy | 每批次的*d*\*是a)或b)的剂量，其中：  a)是两次连续递增剂量中的较低剂量，在该剂量下不会出现阳性结果，随后不会再出现一件以上的阳性结果；  b)是发生一件阳性结果的首次增量剂量，其前面的一个剂量且仅一个剂量对应的无菌试验没有阳性结果，随后均为阴性结果。 |
| *D*\* | 6.1kGy | *D*\*是三批*d*\*的中值，除非任一批次的*d*\*超过中值*d*\*为5.0kGy或更大。若观察到异常，*D*\*为批次*d*\*的最大值。 |
| *CD*\*批 | 批次3 | *CD*\*批是*d*\*等于*D*\*的那个批次，若有多于一个*d*\*等于*D*\*，则随机选一个作为*CD*\*批。 |

* + - * 1. 步骤3：完成验证剂量实验

步骤3实验值列于表24中。

1. 步骤3的计算

| 项目 | 值 | 说明 |
| --- | --- | --- |
| *D*\* | 6.1kGy | 来自步骤2实验。 |
| 验证剂量实验 | 5.1kGy至  5.5kGy | 验证剂量实验中产品单元接受的剂量范围为5.1kGy至5.5kGy。 |
| *DD*\* | 5.5kGy | *DD*\* 是验证剂量实验中获得的最高剂量。  关于剂量的上限和下限取决于 *CD*\*（见 8.2.4）。  例如：  *DD*\* 不超过上限（7.1kGy）。  *DD*\* 的算术平均值和产品的最低剂量（5.3kGy）不小于下限（5.1kGy）。 |
| *CD*\* | 2 | *CD*\*是在验证剂量实验中发现的无菌试验阳性数。  例如：  观察无菌试验发现两个阳性，这个阳性数可接受。 |
| FNP | 5.5kGy | 例如：  *CD*\*为2，因此FNP=*DD*\*，*DD*\*=5.5 kGy。 |

* + - * 1. 步骤4和步骤5：结果的解释和建立灭菌剂量

建立灭菌剂量的计算见表25。

1. 步骤5建立灭菌剂量的计算

| 项目 | 值 | 说明 |
| --- | --- | --- |
| *CD*\* | 2 | 来自步骤2。 |
| *DD*\* | 5.5kGy | 来自步骤3。 |
| FNP | 5.5kGy | 来自步骤4。 |
| FFP | 1.71kGy | 来自步骤2。 |
| FNP-FFP | 3.79kGy | 例如：  FNP-FFP=5.5kGy-1.71kGy=3.79kGy  若FNP-FFP＜0, 则设（FNP-FFP）=0 |
| *DS* | 2.76kGy | 当FNP-FFP＜10时，*DS*=2+0.2（FNP-FFP）[公式（3）]  例如：  *DS* =2kGy+0.2（3.79kGy）=2.76kGy |
| *D*\*\* | 6.3kGy | *D*\*\* = *DD*\*+[log(*CD*\* )](*DS*) [公式（5）]   1. 若*CD*\*=0，则设[log(*CD*\* )]=0   例如：  *D*\*\*=5.5kGy+（log2）×(2.76kGy)  =5.5kGy+(0.3010)×(2.76kGy)  =6.33kGy=6.3kGy |
| SAL | 10-3 | 由步骤1决定。 |
| SIP | 0.05 | 由步骤1决定。 |
| 10-3SAL的灭菌剂量 | 12.7kGy | 灭菌剂量=*D*\*\*+[-log(SAL)-log(SIP)-2](*DS*) [公式（6）]  例如：  灭菌剂量=6.3kGy+（3+1.301-2）×（2.76kGy）  =6.3kGy+（2.301）×（2.76kGy）  =12.65kGy=12.7kGy |

* + - 1. 方法2B的实例
         1. 步骤1：选择SAL和获得样品

产品选择SAL为10-6，对于方法2B，剂量设定中使用完整的产品（SIP=1.0）,在第一步中，从三批产品中的每一批随机抽取260件产品单元。

增量剂量实验的产品分配见表26。

1. 各种增量剂量辐照的样本数

| 批次  序号 | 靶增量剂量(kGy) | | | | | | | | 步骤3的试样数 | 样本总数 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| 1 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 100 | 260 |
| 2 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 100 | 260 |
| 3 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 100 | 260 |

* + - * 1. 步骤2：完成增量剂量实验

表27提供增量剂量系列的数据实例，而表28为从此系列中得出的值。

1. 增量剂量数据

| 批次  序号 |  | 靶剂量(kGy) | | | | | | | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| 1 | 最高剂量(kGy) | 1.2 | 2.4 | 3.3 | 4.4 | 4.6 | 6.4 | 6.3 | 7.8 |
| 阳性数 | 13 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 最高剂量(kGy) | 1.1 | 1.5 | 2.6 | 3.8 | 5.2 | 5.9 | 7.2 | 8.3 |
| 阳性数 | 8 | 7 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 最高剂量(kGy) | 1.0 | 2.2 | 2.6 | 3.7 | 5.2 | 6.1 | 7.7 | 8.8 |
| 阳性数 | 12 | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1. 在任何增量剂量下，无菌试验阳性数不得超过14件。 2. 对于每个增量剂量，最高和最低剂量的算术平均值大于规定的下限。 | | | | | | | | | |

1. 步骤2的计算

| 项目 | 值 | 说明 |
| --- | --- | --- |
| 批次1的ffp  批次2的ffp  批次3的ffp | 1.2kGy  1.1kGy  1.0kGy | 一个批次的ffp是指第一个使20个单元产品至少有一个为阴性的首次增量剂量。 |
| *A* | 0.44kGy | 找出在中值ffp时无菌试样阳性数，并用表8确定*A*。  例如，中值ffp(1.1kGy)阳性数为8，因此，*A*是0.44kGy。 |
| FFP | 0.66kGy | FFP为三个批次的ffp中值减*A*。  例如：  FFP=1.10 kGy-0.44kGy=0.66kGy |
| 批次1的d\*  批次2的d\*  批次3的d\* | 3.3kGy  3.8kGy  3.7kGy | 每批次的*d*\*是a)或b)的剂量，其中：  a)是两次连续递增剂量中的较低剂量，在该剂量下不会出现阳性结果，随后不会再出现一件以上的阳性结果；  b)是发生一件阳性结果的首次增量剂量，其前面的一个剂量且仅一个剂量对应的无菌试验没有阳性结果，随后均为阴性结果。 |
| *D*\* | 3.7kGy | *D*\*为三批*d*\*的中值。 |
| *CD*\*批 | 批次3 | *CD*\*是*d*\*等于*D*\*的批次。 |

* + - * 1. 步骤3：完成验证剂量实验

步骤3的实验值列于表29中。

1. 步骤3的计算

| 项目 | 值 | 说明 |
| --- | --- | --- |
| *D*\* | 3.7kGy | 来自步骤2实验。 |
| 验证剂量实验 | 2.6kGy至  3.4kGy | 验证剂量实验中产品单元接受的剂量范围为2.6kGy至3.4kGy。 |
| *DD*\* | 3.4kGy | *DD*\* 是验证剂量实验中获得的最高剂量。  关于剂量的上限和下限取决于*CD*\*（见 8.3.4）。  例如：  *DD*\*不超过上限（4.7kGy）。  *DD*\* 的算术平均值和产品的最低剂量（3.0kGy）不小于下限（2.7kGy）。 |
| *CD*\* | 3 | *CD*\*是在验证剂量实验中发现的无菌试验阳性数。 |
| FNP | 5.4kGy | 例如：  *CD*\*是3，因此，  FNP =*DD*\*+2kGy  =3.4kGy+2kGy  =5.4kGy   1. FNP不超过5.5kGy。 |

* + - * 1. 步骤4和步骤5：结果的解释和建立灭菌剂量

建立灭菌剂量的计算见表30。

1. 步骤5建立灭菌剂量的计算

| 项目 | 值 | 说明 |
| --- | --- | --- |
| *CD*\* | 3 | 来自步骤2。 |
| *DD*\* | 3.4kGy | 来自步骤3。 |
| FNP | 5.4kGy | 来自步骤4。 |
| FFP | 0.66kGy | 来自步骤2。 |
| FNP－FFP | 4.74kGy | 例如：  FNP－FFP=5.4kGy－0.66kGy  =4.74kGy   1. 如果（FNP-FFP）＜ 0，设（FNP-FFP）= 0 |
| *DS* | 2.55kGy | *DS* =1.6kGy+0.2[FNP-FFP][公式(8)]  例如：  *DS*=1.6kGy+0.2(4.74kGy)  =2.55kGy |
| *D*\*\* | 4.6kGy | *D*\*\*=*DD*\*+[log(*CD*\*)](*DS*)[公式(5)]  若*CD*\*=0，则设[log(*CD*\*)]=0。  例如：  *D*\*\*=3.4kGy+（log3）×(2.55kGy)  =3.4kGy+(0.4771) ×(2.55kGy)  =4.62kGy  =4.6kGy |
| SAL | 10-6 | 由步骤1决定。 |
| SIP | 1.0 | 步骤1要求。 |
| 10-6SAL的灭菌剂量 | 14.8kGy | 灭菌剂量=*D*\*\*+[-log(SAL)-2](*DS*)[公式(9)]  例如：  灭菌剂量= 4.6kGy+(6-2)×(2.55kGy)  = 4.6kGy+4×(2.55kGy)  = 14.8kGy |

* + 1. VDmax方法的实例

表31给出了VDmax25方法的工作实例。实例中，由于产品单元太大而无法进行剂量证实实验，因此使用样品份额（SIP＜1.0）。表32给出了VDmax15方法的工作实例，该方法要求使用整件产品（SIP=1.0）进行实验。

1. VDmax25方法证实（SIP＜1.0）

| 项目 | 值 | 说明 |
| --- | --- | --- |
| 步骤1 | | |
| SAL | 10-6 | 该方法证实25kGy作为灭菌剂量，达到最大10-6的SAL。 |
| SIP | 0.5 | 样品太大，无法进行无菌试验，选择样品的一半进行测试。 |
| 样本数 | 40 | 三批产品中的每一批抽取10件用于生物负载确定，另外10件用于验证剂量实验。 |
| 步骤2 | | |
| 平均生物负载 | 118 | 三批次的样品份额的平均生物负载结果为50,62和65。  每批次完整产品的平均生物负载计算如下：  50/0.5 = 100  62/0.5 = 124  65/0.5 = 130  总平均生物负载为118。  最高批平均生物负载为130。  最高批平均生物负载130小于总平均生物负载118的两倍。  因此，选用总平均生物负载118用来确定SIP=1.0时的VDmax25方法的验证剂量。 |
| 步骤3 | | |
| SIP验证剂量 | 8.1kGy | 使用表9获得SIP=1.0时 VDmax25的验证剂量和SIP剂量减少因子。  表中未列出生物负载118，使用最接近的且较大的生物负载120。  计算SIP=0.5的VDmax25剂量的公式：  SIP VDmax25=(SIP=1.0 VDmax25)+(SIP剂量减少因子×log SIP)[公式（10）]  SIP VDmax25=9.0kGy+(2.91kGy×log0.5)=8.1kGy |
| 步骤4 | | |
| 验证剂量实验 | 7.1kGy至  8.7kGy | 验证剂量实验中产品单元接受的剂量范围为7.1kGy至8.7kGy。 |
| 步骤5 | | |
| 结果解释 | 0 阳性 | 产品单元获得的最高剂量小于计算上限（8.9kGy），最高和最低剂量的算术平均值是7.9kGy，不小于验证剂量的90%（8.1kGy的90%是7.3kGy）。  剂量在计算限值内，并且无菌试验的结果可以接受（小于或等于一件阳性）； 因此，验证被接受，25kGy被证实为灭菌剂量。 |

1. VDmax15证实（SIP=1.0）

| 项目 | 值 | 说明 |
| --- | --- | --- |
| 步骤1 | | |
| SAL | 10-6 | 该方法证实15kGy作为灭菌剂量，达到最大10-6的SAL。 |
| SIP | 1.0 | 试验选用整件样品。 |
| 样本数 | 40 | 三批产品中的每一批抽取10件用于生物负载确定，另外10件用于验证剂量实验。 |
| 步骤2 | | |
| 平均生物负载 | 0.73 | 三个独立批次检测生物负载的平均值分别是0.8、0.7、0.7。  SIP的总平均生物负载为0.73。  最高批平均生物负载为0.8。  最高批平均生物负载0.8小于总平均生物负载0.73的两倍。  所以使用总平均生物负载0.73来获得SIP=1.0时VDmax15的验证剂量。 |
| 步骤3 | | |
| 验证剂量 | 2.3kGy | 使用表10获得验证剂量。表中未列出生物负载0.73，使用最接近的且较大的生物负载0.8。 |
| 步骤4 | | |
| 验证剂量实验 | 2.1kGy至  2.5kGy | 验证剂量实验中产品单元接受的剂量范围为2.1kGy至2.5kGy。 |
| 步骤5 | | |
| 结果解释 | 0 阳性 | 产品单元获得的最高剂量没有超过计算上限（2.5kGy），最高和最低剂量的算术平均值是2.3kGy，不小于验证剂量的90%（2.3kGy的90%是2.1kGy）。  剂量在计算限值内，并且无菌试验的结果可以接受（小于或等于一件阳性）； 因此，验证被接受，15kGy被证实为灭菌剂量。 |

* + 1. 用方法1进行剂量建立的灭菌剂量审核的实例，结果需要增加灭菌剂量。

无论是SIP=1.0，还是SIP＜1.0，方法1的灭菌剂量审核程序都是相同的。

下面的实例是表13实例的延续，这里产品灭菌剂量建立最终选定SAL为10-3，原剂量设定试验的步骤2中，取最高批平均生物负载为382；步骤3中获得的验证剂量为9.7kGy；步骤6中灭菌剂量建立为12.9kGy。

表33是灭菌剂量建立后执行第一次灭菌剂量审核的实例。

1. 需要增加灭菌剂量的灭菌剂量审核（使用方法1建立灭菌剂量）

| 项目 | 值 | 说明 |
| --- | --- | --- |
| 步骤1 | | |
| 审核阳性数 | 4 | 在灭菌剂量审核中得到的无菌试验阳性数。无菌试验出现2件以上的阳性，所以灭菌剂量需要立即增加。 |
| 最大审核剂量 | 9.5kGy | 最大审核剂量不超过原验证剂量的10%。 |
| 步骤2 | | |
| *E* | 11.5kGy | *E*=最大审核剂量+2kGy[公式(11)]  例如：  *E*=9.5kGy+2kGy=11.5kGy |
| (*E*－1) | 10.5kGy | 例如：  11.5kGy–1.0kGy=10.5kGy  (E－1)＞9 |
| 外推因子 | 4.2kGy | 当(*E*－1)＞9时，用公式(14)计算外推因子：  外推因子=0.4(*E*–1)[公式(14)]  外推因子=0.4(10.5kGy)=4.2kGy |
| 步骤3 | | |
| 调整剂量 | 12.0kGy | 调整剂量=最大审核剂量+[log(审核的阳性数)](外推因子) [公式(15)]  例如：  调整剂量=9.5kGy+(log4)(4.2kGy)=12.0kGy |
| 步骤4 | | |
| 增加灭菌剂量 | 16.2kGy | 增加灭菌剂量=调整剂量+[–log(SAL)–log(SIP)–2](外推因子) [公式(16)]  例如：  该产品选定的SAL为10-3。整件产品被用于原验证剂量实验和灭菌剂量审核。  增加灭菌剂量=12.0kGy+[–log(10-3)–log(1)–2](4.2kGy)=16.2kGy |

* + 1. 用方法2A进行剂量建立的灭菌剂量审核的实例，结果需要增加灭菌剂量。

方法2A(SIP=1.0)、方法2A(SIP＜1.0)和方法2B的灭菌剂量审核程序是相同的。

表34中提供的实例是11.2.2中实例的延续，对于最初使用方法2A建立灭菌剂量为21.8kGy的产品。在原剂量设定试验中使用整件样品(SIP=1.0)；在步骤1中选择SAL为10-6，步骤5中获得的*D*\*\*是9.0kGy。

1. 需要增加灭菌剂量的灭菌剂量审核（使用方法2A建立灭菌剂量）

| 项目 | 值 | 说明 |
| --- | --- | --- |
| 步骤1 | | |
| 审核阳性数 | 7 | 在灭菌剂量审核中得到的无菌试验阳性数。无菌试验出现2件以上的阳性，所以灭菌剂量需要立即增加。 |
| 最大审核剂量 | 8.9kGy | 最大审核剂量不超过*D*\*\*的10%。 |
| 步骤2 | | |
| *E* | 10.9kGy | *E*=最大审核剂量+2.0kGy [公式(11)]  *E*=8.9kGy+2.0kGy=10.9kGy |
| （*E*－1） | 9.9kGy | 10.9kGy–1.0kGy=9.9kGy |
| 外推因子 | 4.0kGy | 当(E－1)＞9时，用公式(14)计算外推因子  外推因子=0.4(E–1)[公式(14)]  例如：  外推因子=0.4(9.9kGy)=4.0kGy |
| 步骤3 | | |
| 调整剂量 | 12.3kGy | 调整剂量=最大审核剂量+[log (审核的阳性数)](外推因子) [公式(15)]  例如：  调整剂量=8.9kGy+(log7)(4.0kGy)=12.3kGy |
| 步骤4 | | |
| 增加灭菌剂量 | 28.3kGy | 增加灭菌剂量=调整剂量+[–log(SAL)–log(SIP)–2](外推因子) [公式(16)]  例如：  该产品选定的SAL为10-6。整件产品被用于原验证剂量实验和灭菌剂量审核。  增加灭菌剂量=12.3kGy+[–log(10-6)–log(1)–2](4.0kGy)=28.3kGy |

* + 1. 用VDmax25方法进行剂量证实的灭菌剂量审核的实例

无论是SIP=1.0，还是SIP＜1.0，VDmax25方法的灭菌剂量审核程序是相同的。表35是灭菌剂量证实后执行第一次灭菌剂量审核的实例。

1. VDmax25剂量审核（审核不接受和增量灭菌剂量）

| 项目 | 值 | 内容 |
| --- | --- | --- |
| 灭菌剂量审核 | | |
| 步骤1 | | |
| 样本数 | 20 | 从单一生产批中获得20件产品单元。 |
| 步骤2 | | |
| SIP | 0.5 | 使用SIP=0.5实施25kGy的原证实。 |
| SIP平均生物负载 | 354 | 测试10件SIP的平均生物负载为354。 |
| 平均生物负载 | 708 | 整件产品的平均生物负载计算如下：354/0.5=708 |
| 步骤3 | | |
| 验证剂量实验 | 7.1kGy至  8.7kGy | 25kGy的原证实是在8.1kGy的验证剂量下进行。用该剂量辐照10件SIP。  SIP的剂量范围为7.1kGy至8.7kGy。 |
| 步骤4 | | |
| 结果的解释 | 2 件阳性 | SIP的最高剂量小于计算的上限（8.9kGy），最高和最低剂量的算术平均值7.9kGy不小于验证剂量的90%（8.1kGy的90%是7.3kGy）。剂量在计算限值内，但无菌试验出现两件阳性需要进行灭菌剂量审核的证实。 |
| 灭菌剂量审核的证实 | | |
| 步骤1 | | |
| 样本数 | 10 | 从单一生产批中获得额外的10件产品单元。 |
| 步骤2 | | |
| 证实验证剂量实验 | 7.1kGy至  8.5kGy | 灭菌剂量审核的证实中的验证剂量与原验证剂量相同。用该剂量辐照10件SIP。SIP的剂量范围为7.1kGy至8.5kGy。 |
| 步骤3 | | |
| 结果的解释 | 1件阳性 | SIP的最高剂量小于计算的上限（8.9 kGy），最高和最低剂量的算术平均值是7.8kGy，不小于验证剂量的90%（8.1kGy的90%是7.3kGy）。剂量在计算限值内，但灭菌剂量审核的证实中无菌试验出现了一件阳性，需要立即增加灭菌剂量并使用另一方法重新建立灭菌剂量。 |
| 剂量增加 | | |
| 平均生物负载 | 708 | 整件产品的平均生物负载用来获得增加灭菌剂量。 |
| 增加值 | 3.4kGy | 平均生物负载和表11用来确定剂量增加值。表中未列出生物负载708，使用最接近的且较大的列表值750。 |
| 增加灭菌剂量 | 28.4kGy | 增加灭菌剂量（kGy）=25kGy+剂量增加值 [公式(18)]  例如：  增加灭菌剂量（kGy）=25kGy+3.4kGy=28.4kGy |

参考文献

[1] GB 18280-2000，医疗保健产品灭菌 确认和常规控制要求 辐射灭菌（ISO 11137:1995, IDT）

[2] GB/T 18280.3－××××，医疗保健产品灭菌 辐射 第3部分：剂量测量导则（ISO 11137-3:2006, IDT）

[3] GB/T 19971-2015 医疗保健产品灭菌 术语（ISO/TS 11139:2006, IDT）

[4] YY/T 0287 医疗器械 质量管理体系　用于法规的要求

[5] YY/T 0316 医疗器械　风险管理对医疗器械的应用

[6] Recommended Practice A.A.M.I. RS:1984, Process control guidelines for gamma radiation. Sterilization of medical devices. AAMI, Arlington, VA, 1984

[7] AAMI TIR 27:2001, Sterilization of health care products — Radiation sterilization —Substantiation of 25 kGy as a sterilization dose — Method VDmax, Arlington, VA

[8] ANSI/AAMI ST32, Guideline for Gamma Radiation Sterilization. Arlington, VA, 1991

[9] NHB 5340.1A, October 1968, Standard Procedures for the Microbiological Examination of Space Hardware, National Aeronautics and Space Administration, Washington, DC 20546

[10] Davis K.W., Strawderman W.E., Masefield J., Whitby J.L.DS gamma radiation dose setting and auditing strategies for sterilizing medical devices. In: Sterilization of medical products, (Gaughran E.R.L., & Morrissey R.F.eds.). Multiscience Publications Ltd, Montreal, Vol. 2, 1981, pp. 34–102

[11] Davis K.W., Strawderman W.E., Whitby J.L. The rationale and computer evaluation of a gamma sterilization dose determination method for medical devices using a substerilization incremental dose sterility test protocol. J. Appl. Bact. 1984, 57 pp. 31–50

[12] Favero M. Microbiologic Assay of Space Hardware. Environ. Biol. Med. 1971, 1 pp. 27–36

[13] Herring C. Dose audit failures and dose augmentation. Radiat. Phys. Chem. 1999, 54 pp. 77–81

[14] Herring C., Brandsberg J., Oxborrow G., Puleo J. Comparison of media for detection of fungi on spacecraft. Appl. Microbiol. 1974, 27 (3) pp. 566–569

[15] Kowalski J., Aoshuang Y., Tallentire A. Radiation sterilization — Evaluation of a new method for substantiation of 25 kGy. Radiat. Phys. Chem. 2000, 58 pp. 77–86

[16] Kowalski J., & Tallentire A. Substantiation of 25 kGy as a sterilization dose: A rational approach to establishing verification dose. Radiat. Phys. Chem. 1999, 54 pp. 55–64

[17] Kowalski J., & Tallentire A. Aspects of putting into practice VDmax. Radiat. Phys. Chem. 2003, 67 pp. 137–141

[18] Kowalski J. etal. Field evaluations of the VDmax approach for substantiation of a 25kGy sterilization dose and its application to other preselected doses. Radiat. Phys. Chem. 2002, 64 pp. 411–416

[19] Tallentire A. Aspects of microbiological control of radiation sterilization. J. Rad. Ster. 1973, 1 pp. 85–103

[20] Tallentire A., Dwyer J., Ley F.J. Microbiological control of sterilized products. Evaluation of model relating frequency of contaminated items with increasing radiation treatment. J. Appl. Bact. 1971, 34 pp. 521–34

[21] Tallentire A., & Khan A.A.The sub-process dose in defining the degree of sterility assurance. In: Gaughran, E.R.L and Goudie, A.J. (eds.), Sterilization by ionizing radiation, Vol. 2. Montreal: Multiscience Publications Ltd., 1978, pp. 65-80