ICS 11.040.20
CCS C.31

# 中华人民共和国国家标准

GB/T 14233.3—20XX

# 医用输液、输血、注射器具检验方法 第3部分：微生物学试验方法

Test methods for infusion, transfusion, injection equipment for medical use—Part 3: Microbiological test methods

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

（工作组讨论稿）

20XX－XX－XX 发布　　20XX－XX－XX 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会　发布

# 目　　次

前　　言 ..... II
引　　言 ..... III
1 范围 ..... 1
2 规范性引用文件 ..... 1
3 术语和定义 ..... 1
4 无菌检查 ..... 2
5 细菌内毒素试验 ..... 4
6 生物负载测定 ..... 6
7 无菌试验 ..... 9
附　录　A　（资料性）　无菌检查方法示例 ..... 12
附　录　B　（资料性）　生物负载测定方法示例 ..... 14
附　录　C　（资料性）　无菌试验方法示例 ..... 16

# 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/T 14233《医用输液、输血、注射器具检验方法》的第3部分。GB/T 14233已经发布了以下部分：

——第1部分：化学分析方法；

——第2部分：生物学试验方法。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件由全国医用输液器具标准化技术委员会（SAC/TC 106）归口。

本文件起草单位：山东省医疗器械和药品包装检验研究院、

本文件主要起草人：

# 引　言

在输液、输血和注射器具产品上进行的微生物学试验一般包括：

——对无菌成品进行的无菌检查；

——对无菌成品进行的内毒素检查；

——GB/T 19973.1 给出的灭菌过程定义、确认和维护中进行的生物负载测定；

——GB/T 19973.2 给出的灭菌过程定义、确认和维护中进行的无菌试验。

本文件涵盖上述四方面内容。为便于区分，本文件用“无菌试验”和“无菌检查”分别表示两种试验类型。

本文件给出的“无菌检查”适用于经受常规灭菌剂量或无菌加工的产品，是在参考药典方法的基础上并根据输液、输血和注射器具的具体性状制定的，不同输液、输血、注射器具产品可依据本文件制定无菌试验方法，同时修改和取代GB/T 14233.2-2005中的“无菌试验”。无菌检查时若供试品不符合规定，表明供试品在该检验条件下发现微生物污染，该结论可以证实供试品代表的总体有存活微生物。该试验常用于监督抽检。

无菌检查时若供试品符合规定，仅表明供试品在该检验条件下未发现微生物污染，即“未检出”。国家对无菌医疗器械产品规定的无菌保证水平为$10^{-6}$，需要对数百万件产品进行无菌试验，无菌检查是破坏试验，显然如此高的抽样量无法实现，故无菌检查无法用于证实供试品代表的总体满足$10^{-6}$的无菌保证水平，不推荐用于产品放行。YY/T 0615系列标准是输液、输血和注射器具制造商证实其产品满足无菌保证水平的基本要求和依据，证实满足YY/T 0615系列标准的要求，即表明产品无菌。

本文件给出的“生物负载测定”适用于未经灭菌的产品，是GB/T 19973.1在输液、输血和注射器具上的具体应用，不同输液、输血、注射器具产品可依据本文件制定生物负载测定方法。生物负载是指产品和/或包装上或其中存活微生物的总和，包含微生物数量、特征和特性的范畴。本文件给出的生物负载测定特指灭菌前医疗器械产品上微生物数量的试验方法。

本文件给出的“无菌试验”适用于经受低于常规灭菌剂量的产品，是GB/T 19973.2在输液、输血和注射器具的具体应用，不同输液、输血、注射器具产品可依据本文件制定无菌试验方法。该试验用于证实经受一定灭菌条件后的所有供试品中有存活微生物的供试品数量 ，从而预测达到预定的无菌保证水平所需灭菌剂量。

# 医用输液、输血、注射器具检验方法
# 第3部分：微生物学试验方法

## 1 范围

本文件规定了医用输液、输血、注射器具成品无菌检查、内毒素检查以及产品灭菌过程定义、确认和维护中进行的生物负载测定和无菌试验。性状类似的其他类型医疗器械产品可参照本文件进行。

本文件适用于医用输液、输血、注射器具。

## 2 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。

中华人民共和国药典 2020年版 四部

GB 18280.2 医疗保健产品灭菌 辐射 第2部分：建立灭菌剂量

GB/T19973.1 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

GB/T19973.2 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

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1 产品

过程的结果。本部分的产品是指输液、输血、注射器具。——是否去掉

### 3.2 管路类产品

具有内部通路的产品，如输液器。该类产品一般要求内部通路无菌。

### 3.3 容器类产品

具有内部腔体的产品，如血袋。该类产品一般要求内部腔体无菌。

### 3.4 实体类产品

不具内部液体通路或腔体的产品。

### 3.5 无菌检查

产品暴露于灭菌过程后，在产品上完成的国家药典中规定的技术操作。

### 3.6 无菌试验

为确定单元产品或其部分上有或没有活微生物而进行的试验,作为开发、确认或重新鉴定的一部分而完成的技术操作。

### 3.7 直接接种法

无菌试验/无菌检查方法之一，系将产品直接浸没于培养基中进行培养。

### 3.8 薄膜过滤法

无菌试验/无菌检查方法之一，系将液体产品直接进行薄膜过滤，对滤膜进行培养。

### 3.9 培养基灌装法

无菌试验/无菌检查方法之一，系将培养基灌装入产品中进行培养。

### 3.10 培养基洗脱法

无菌试验/无菌检查方法之一，系用培养基对产品上可能存在的微生物进行洗脱，对培养基进行培养。

### 3.11 生物负载测定

测定产品和（或）无菌屏障系统表面或内部存活微生物的总数的试验方法。

### 3.12 冲洗法

生物负载测定方法之一，系让冲洗液通过产品内腔制备供试液。

### 3.13 振摇法

生物负载测定方法之一，系将产品浸入装有冲洗液的适当容器中进行振摇制备供试液。

### 3.14 回收率

用某一特定技术从产品上采集和/或培养微生物能力的测量。

### 3.15 生物负载纠正系数

用以补偿无法从产品和/或微生物培养中完全采集的数值。

### 3.16 生物负载估计

通过将生物负载纠正系数应用于生物负载计数而建立的值。

## 4 无菌检查

### 4.1 材料与仪器

#### 4.1.1 培养基

符合《中国药典》1101无菌检查法规定的培养基。

按照《中国药典》1101无菌检查法进行培养基适用性检查。

4.1.2 菌株

应符合《中国药典》1101无菌检查法规定的质控菌株。

4.1.3 培养容器

薄膜过滤器、试管、三角瓶等。

4.1.4 仪器

天平、压力蒸汽灭菌器、洁净工作台、培养箱、生物安全柜、薄膜过滤装置等。

4.2 试验环境

应符合《中国药典》1101无菌检查法的规定。

4.3 方法设计

4.3.1 检验数量

应符合《中国药典》无菌检查法中表2的规定。

4.3.2 检验量

应选择整件产品（不含包装）进行每种培养基的检查。

若产品性状不允许，应至少选择产品所有组成材料按比例的代表性部分或者整件产品最难灭菌的部分进行试验。

4.3.3 供试品处理及接种培养基

4.3.3.1 总则

视产品具体性状，按照如下方式进行供试品处理及接种培养基。

对于结构组成复杂的产品，可对其拆解并按照如下方式分别进行供试品处理及接种培养基。

4.3.3.2 管路类产品

优先选择培养基洗脱法进行试验，应充分冲洗内部通路；若存在管路不易冲洗或管路过滤器截留微生物等情况，可选择直接接种法进行试验，宜将产品剪碎或拆散处理，应保证培养基充分接触内部通路。

4.3.3.3 容器类产品

对于空的容器类产品，优先选择培养基灌装法进行试验，应使培养基充满内部腔体并将容器进行密封；若存在产品材质影响结果观察或不易密封等情况，可选择培养基洗脱法进行试验，应充分冲洗内部腔体；若存在不易冲洗的情况，在产品性状允许的前提下可选择直接接种法进行试验，宜将产品剪碎或拆散处理，应保证培养基充分接触内部腔体。

对于内装液体的容器类产品，对内装液体进行试验，采用薄膜过滤法进行试验。

4.3.3.4 实体类产品

优先选择直接接种法进行试验，必要时可将产品剪碎或拆散处理后分装入多个培养基容器进行试验，应保证培养基充分接触产品。若产品性状以及实验室条件等不允许，也可采用培养基洗脱法进行试验。

#### 4.3.4 培养及观察

按照《中国药典》1101无菌检查法进行培养及观察。

#### 4.3.5 结果判定

按照《中国药典》1101无菌检查法进行结果判定。

#### 4.3.6 阳性对照试验

按照《中国药典》1101无菌检查法进行阳性对照试验。对于含广谱抗菌成分的产品，选择金黄色葡萄球菌CMCC（B）26 003作为阳性对照菌株。阳性对照应生长良好。

#### 4.3.7 阴性对照试验

对于培养基灌装法、培养基洗脱法以及直接接种法，采用同批次培养基作为阴性对照；对于薄膜过滤法，采用《中国药典》1101无菌检查法中规定的稀释液、冲洗液同法操作作为阴性对照。阴性对照不得有菌生长。

### 4.4 方法适用性试验

参照《中国药典》1101无菌检查法进行方法适用性试验。

### 4.5 方法回收率确认试验

对于培养基洗脱法，除进行方法适用性试验外，参照6.5对方法的回收率进行确认，确认结果应予以记录并保存。

**注：**无菌检查方法设计、方法适用性试验及方法回收率确认举例见附录A。

### 4.6 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

a) 供试品名称、批号、型号；
b) 检验数量；
c) 检验量；
d) 供试品处理及接种培养基方法；
e) 观察结果；
f) 结果判定。

## 5 细菌内毒素试验

### 5.1 材料与仪器

#### 5.1.1 试剂

细菌内毒素国家标准品、细菌内毒素工作标准品、鲎试剂、细菌内毒素检查用水。

注：细菌内毒素检查用水应符合灭菌注射用水标准，其内毒素含量小于0.015EU/mL，且对内毒素试验无干扰作用。

#### 5.1.2 仪器

超净工作台、恒温振荡培养箱、恒温水浴箱、电热干燥箱、旋涡混合器等。

### 5.2 试验环境

应符合《中国药典》1143细菌内毒素检查法的规定。

### 5.3 方法设计

#### 5.3.1 检验数量

同一批号至少3个单位供试品。

#### 5.3.2 检验量

应选择整件产品（不含包装）进行试验。

若产品性状不允许，应至少选择产品所有组成材料按比例的代表性部分或者整件产品最容易污染细菌内毒素的部分进行试验。

#### 5.3.3 供试液制备

##### 5.3.3.1 总则

以细菌内毒素检查用水为浸提介质，根据产品技术要求中规定的细菌内毒素限值确定浸提介质最大体积，推荐与心血管系统和淋巴系统接触的产品细菌内毒素限量每件不超过20 EU,与脑脊液接触的产品细菌内毒素限量每件不超过2.15 EU，浸提介质最大体积计算公式：

$$V=L/\lambda \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：

$V$——浸提介质最大体积，mL；

$L$——产品细菌内毒素限值，EU/件；

$\lambda$——所用鲎试剂灵敏度标示值，EU/mL。

视产品具体性状，按照如下方式进行供试液的制备。

对于结构组成复杂的产品，可对其拆解并按照如下方式分别进行供试液的制备。

##### 5.3.3.2 管路类产品和容器类产品

优先采用细菌内毒素检查用水浸泡器具内腔的方法进行试验，若存在管路或容器不易浸泡等情况，宜将产品剪碎或拆散处理，应保证细菌内毒素检查用水充分接触内部通路，在（37±1）℃恒温振荡培养箱中浸提不少于1h。

对于内装液体的容器类产品，直接将内装液体作为供试液。

##### 5.3.3.3 实体类产品

将产品置无热原玻璃器皿内，加入细菌内毒素检查用水振摇数次，在（37±1）℃恒温振荡培养箱中浸泡不少于1h。

#### 5.3.4 试验过程和结果判定

按照《中国药典》1143细菌内毒素检查法进行试验和结果判定。

### 5.4 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

a) 供试品名称；
b) 生产批号；
c) 供试液制备方法；
d) 细菌内毒素限量；
e) 结果判定。

## 6 生物负载测定

### 6.1 材料与仪器

#### 6.1.1 培养基

应符合《中国药典》1105非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法规定的胰酪大豆胨琼脂培养基（TSA）。

按照《中国药典》1105非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法进行培养基适用性检查。

#### 6.1.2 菌株

应符合《中国药典》1105 非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法规定的质控菌株。

萎缩芽孢杆菌ATCC9372芽孢。

#### 6.1.3 冲洗液、稀释液

应符合《中国药典》1105 非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法规定的稀释液。

#### 6.1.4 仪器

天平、压力蒸汽灭菌器、洁净工作台、培养箱、生物安全柜、微生物过滤装置等。

### 6.2 试验环境

应符合《中国药典》1105非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法的规定。

### 6.3 方法设计

#### 6.3.1 检验数量

随机选取同批次3～10个产品。

#### 6.3.2 检验量

应选择整件产品（不含包装）进行试验。

若产品性状不允许，应至少选择产品所有组成材料按比例的代表性部分进行试验。

#### 6.3.3 供试液制备

##### 6.3.3.1 总则

视产品具体性状，按照如下方式进行供试液制备。如果下列供试液制备方法不适用，可参照GB/T 19973.1选择其他适宜方法。

对于结构组成复杂的产品，可对其拆解并按照如下方式分别进行供试液制备。必要时，冲洗液中可加入表面活性剂（如吐温-80）以提高回收率。

##### 6.3.3.2 管路类产品

优先选择冲洗法进行供试液制备，让冲洗液冲洗内部通路，需规定冲洗液体积、接触时间、冲洗流量。

##### 6.3.3.3 容器类产品

对于空的容器类产品，优先选择冲洗法进行供试液制备，让冲洗液冲洗内部腔体，需规定冲洗液体积、接触时间、振摇频率。

对于内装液体的容器类产品，直接将内装液体作为供试液。

##### 6.3.3.4 实体类产品

优先选择振摇法（手工或机械方式）进行供试液制备，将产品浸入装有冲洗液的适当容器中进行振摇，需规定冲洗液体积、接触时间、振摇频率。

#### 6.3.4 移至培养基

取供试液，采用标称孔径0.45μm，直径为50mm的分析滤膜进行薄膜过滤；供试液薄膜过滤前，先将少量冲洗液过滤以润湿滤膜。

供试液薄膜过滤后，用100mL冲洗液冲洗滤膜。取出滤膜，菌面朝上贴于TSA平板上。

#### 6.3.5 微生物培养

将TSA平板在（30～35）℃培养（3～5）天。

#### 6.3.6 微生物计数

菌落蔓延生长的平板不宜计数。每张滤膜上的菌落数应不超过100cfu。若滤膜上无菌落生长，记为＜1cfu。

#### 6.3.7 菌数报告

以每件试样为单位报告计数结果。

#### 6.3.8 阴性对照试验

采用冲洗液代替供试液作为阴性对照。阴性对照不得应有菌生长。

### 6.4 方法适用性试验

参照《中国药典》1105非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法进行供试品计数方法适用性试验。

### 6.5 方法回收率确认试验

#### 6.5.1 制备人工污染试样

选取同批次（3～10）个产品，用制造商推荐的灭菌方式进行灭菌，备用。

制备每0.1 mL中含有约100 cfu萎缩芽孢杆菌芽孢的接种悬液，精确测定0.1mL接种悬液中的芽孢数（Z）。

向每个试样接种0.1mL芽孢悬液，涂布均匀并使其干燥。

#### 6.5.2 供试液制备

按6.3.3进行操作。

#### 6.5.3 移至培养基

按6.3.4进行操作。

#### 6.5.4 微生物培养

将TSA平板在（30～35）℃培养（24～48）h。

#### 6.5.5 微生物计数

按照6.3.6操作。

#### 6.5.6 回收率计算

按式（2）计算回收率。

$$R = \frac{X}{Z} \times 100\% \cdots\cdots (2)$$

式中：

$R$——回收率；

$X$——所有试样平均菌数，单位为菌落形成单位（cfu）；

$Z$——接种芽孢数，单位为菌落形成单位（cfu）。

#### 6.5.7 纠正系数计算

按式（3）计算修正系数。

$$f = \frac{1}{R} \cdots\cdots (3)$$

式中：

$f$——修正系数；

$R$——回收率。

### 6.6 生物负载估计值计算

6.6.1 按式（4）计算每件试样的生物负载估计值。

$$M_i = f \times Y_i \cdots\cdots (4)$$

式中：

$M_i$——第$i$个试样生物负载估计值，单位为菌落形成单位（cfu）；

$f$——修正系数；

$Y_i$—— 第$i$个试样菌数，单位为菌落形成单位（cfu）。

注：生物负载测定方法设计、方法适用性试验及方法回收率确认举例见附录B。

6.6.2 所有试样生物负载估计值的均值即为该产品平均生物负载估计值。

## 6.7 试验报告

a) 供试品名称、批号、型号；
b) 检验数量；
c) 样品份额；
d) 修正系数；
e) 每个试样的生物负载估计值；
f) 平均生物负载估计值。

# 7 无菌试验

## 7.1 材料与仪器

### 7.1.1 培养基

应符合《中国药典》1101无菌检查法规定的胰酪大豆胨液体培养基（TSB）。

参照《中国药典》1101无菌检查法进行培养基适用性检查。

注：采用所有质控菌株进行培养基适用性检查，培养温度为（30±2）℃。

### 7.1.2 菌株

应符合《中国药典》1101无菌检查法规定的质控菌株。

### 7.1.3 培养容器

薄膜过滤器、试管、三角瓶等。

### 7.1.4 仪器

天平、压力蒸汽灭菌器、洁净工作台、培养箱、生物安全柜、薄膜过滤设备等。

## 7.2 试验环境

应符合《中国药典》1101无菌检查法的规定。

## 7.3 方法设计

### 7.3.1 检验数量

应符合GB 18280.2的规定。

### 7.3.2 样品份额（SIP）

应选择整件产品（不含包装）进行培养基的检查。

若产品性状不允许，应至少选择产品所有组成材料按比例的代表性部分进行试验。

#### 7.3.3 供试品处理及接种培养基

##### 7.3.3.1 总则

视产品具体性状，按照如下方式进行供试品处理及接种培养基。

对于结构组成复杂的产品，可对其拆解并按照如下方式分别进行供试品处理及接种培养基。

##### 7.3.3.2 管路类产品

优先选择培养基洗脱法进行试验，应充分冲洗内部通路；若存在管路不易冲洗或管路过滤器截留微生物等情况，可选择直接接种法进行试验，宜将产品剪碎或拆散处理，应保证培养基充分接触内部通路。

##### 7.3.3.3 容器类产品

对于空的容器类产品，优先选择培养基灌装法进行试验，应使培养基充满内部腔体并将容器进行密封；若存在产品材质影响结果观察或不易密封等情况，可选择培养基洗脱法进行试验，应充分冲洗内部腔体；若存在不易冲洗的情况，在产品性状允许的前提下可选择直接接种法进行试验，宜将产品剪碎或拆散处理，应保证培养基充分接触内部腔体。

对于内装液体的容器类产品，对内装液体进行试验，采用薄膜过滤法进行试验。

##### 7.3.3.4 实体类产品

优先选择直接接种法进行试验，必要时可将产品剪碎或拆散处理后分装入多个培养基容器进行试验，应保证培养基充分接触产品。若产品性状以及实验室条件等不允许，也可采用培养基洗脱法进行试验。

#### 7.3.4 培养及观察

参照《中国药典》1101无菌检查法进行，培养温度为（30±2）℃。

#### 7.3.5 结果判断

按照GB 18280.2进行结果判断。

### 7.4 方法适用性试验

参照《中国药典》1101无菌检查法进行方法适用性试验。

### 7.5 方法回收率确认试验

对于培养基洗脱法，除进行方法适用性试验外，参照6.5对方法的回收率进行确认，确认结果应予以记录并保存。

**注：**无菌试验方法设计、方法适用性试验及方法回收率确认举例见附录C。

### 7.6 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

a) 样品名称、批号、型号；

b) 灭菌日期；

c） 灭菌方法
d） 灭菌剂量
e） 检验数量；
f） 样品份额；
g） 供试品处理及接种培养基方法；
h） 观察结果；
i） 记录阳性数量
j） 结果判定。

# 附 录 A
（资料性）
无菌检查方法示例

## A.1 适用产品

A.1.1 直接接种法：注射针、输液针、穿刺针、留置针等。

A.1.2 薄膜过滤法：带血小板保存袋的塑料血袋（液袋）等。

A.1.3 培养基灌装法：血袋等。

A.1.4 培养基洗脱法：无菌注射器、输血器、一次性使用血浆管路等。

## A.2 方法设计举例

见表A.1。

## A.3 方法适用性试验举例

见表A.1。

## A.4 方法回收率确认试验举例

见表A.1。

表A.1 无菌检查方法举例

| | | 产品举例 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 输液器 | 血袋 | 无菌注射器 | | 注射针 | 血袋（液袋） |
| | | | | （＞5mL） | （≤5mL） | | |
| 方法设计 | 检验数量 | 4.3.1 | 4.3.1 | 4.3.1 | 4.3.1 | 4.3.1 | 4.3.1 |
| | 检验量 | 整件产品 | 整件产品 | 整件产品 | 整件产品 | 整件产品 | 内部液体 |
| | 供试品处理及接种培养基 | 培养基洗脱法：用约 50mL 培养基以（40～60）滴/min 的流量流经内部通路，将培养基收集于无菌容器中进行培养。 | 培养基灌装法：向产品中注入适量的培养基，使培养基充满内部腔体，将其密闭后进行培养。 | 培养基洗脱法：抽取培养基至公称容量，浸泡 30min，将推杆拉至最大体积，振摇 1min，将培养基注入无菌容器中进行培养。 | 直接接种法：将产品套筒和推杆（具活塞）分离，浸没于培养基中进行培养。 | 直接接种法：将产品浸没于培养基中进行培养。 | 薄膜过滤法：对内装液体采用薄膜过滤法进行试验，然后对滤膜进行培养 |
| | 培养及观察 | 4.3.4 | 4.3.4 | 4.3.4 | 4.3.4 | 4.3.4 | 4.3.4 |
| | 结果判断 | 4.3.5 | 4.3.5 | 4.3.5 | 4.3.5 | 4.3.5 | 4.3.5 |
| | 阳性对照试验 | 选择金黄色葡萄球菌 CMCC（B）26 003 作为阳性对照菌株。 | 选择金黄色葡萄球菌 CMCC（B）26 003 作为阳性对照菌株。 | 选择金黄色葡萄球菌 CMCC（B）26 003 作为阳性对照菌株。 | 选择金黄色葡萄球菌 CMCC（B）26 003 作为阳性对照菌株。 | 选择金黄色葡萄球菌 CMCC（B）26 003 作为阳性对照 | 选择金黄色葡萄球菌 CMCC（B）26 003 作为阳性对照菌株。 |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | 菌株。 | |
| | 阴性对照试验 | 4.3.7 | 4.3.7 | 4.3.7 | 4.3.7 | 4.3.7 | 4.3.7 |
| 方法适用性试验 | 试验组 | 取 6 套按无菌试验方法制得的样品（3 套硫乙酵酸盐流体培养基样品，3 套胰酪大豆胨液体培养基样品），向硫乙酵酸盐流体培养基样品中分别接入小于 100cfu 的金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、生孢梭菌，向胰酪大豆胨液体培养基样品中分别接入小于 100cfu 的枯芽孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉。置规定的温度培养，培养时间不得超过 5 天。 | | | | | |
| | 对照组 | 取硫乙酵酸盐流体培养基 3 管，分别接入小于 100cfu 的金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、生孢梭菌各 1 管，取胰酪大豆胨液体培养基 3 管，分别接入小于 100cfu 的枯芽孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉各 1 管。置规定的温度培养，培养时间不得超过 5 天。 | | | | | |
| | 结果判断 | 与对照组相比，试验组应生长良好。 | | | | | |
| 回收率确认试验 | | 参见 GB/T 19973.1 | / | 参见 GB/T 19973.1 | / | / | 参见 GB/T 19973.1 |

# 附 录 B
（资料性）
生物负载测定方法示例

## B.1 适用产品

B.1.1 冲洗法：血袋、注射器、输液器、输血器等。

B.1.2 振摇法：注射针、输液针、穿刺针、留置针等。

## B.2 方法设计举例

见表B.1。

## B.3 方法适用性试验举例

见表B.1。

## B.4 回收率确认试验举例

见表B.1。

**表B.1 生物负载测定方法举例**

| | | 产品举例 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 输液器 | 血袋 | 注射器 | | 注射针 |
| | | | | （＞5mL） | （≤5mL） | |
| 方法设计 | 检验数量 | 6.3.1 | 6.3.1 | 6.3.1 | 6.3.1 | 6.3.1 |
| | 检验量 | 整件产品 | 整件产品 | 整件产品 | 整件产品 | 整件产品 |
| | 供试液制备 | 冲洗法：<br>用约50mL冲洗液以（40～60）滴/min的流量流经内部通路，将冲洗液收集于无菌容器中即为供试液。 | 冲洗法：<br>将冲洗液注入内部腔体至公称容量，浸泡30min，振摇1min，收集冲洗液即为供试液。 | 冲洗法：<br>抽取冲洗液至公称容量，浸泡30min，将推杆拉至最大体积，振摇1min，收集冲洗液即为供试液。 | 振摇法：<br>将产品套筒和推杆（具活塞）分离，浸没于300mL冲洗液中，浸泡30min，振摇1min，收集冲洗液即为供试液。 | 振摇法：<br>将产品浸没于100mL冲洗液中，浸泡30min，振摇1min，收集冲洗液即为供试液。 |
| | 移至培养基 | 6.3.4 | 6.3.4 | 6.3.4 | 6.3.4 | 6.3.4 |
| | 微生物培养 | 6.3.5 | 6.3.5 | 6.3.5 | 6.3.5 | 6.3.5 |
| | 微生物计数 | 6.3.6 | 6.3.6 | 6.3.6 | 6.3.6 | 6.3.6 |
| | 菌数报告 | 6.3.7 | 6.3.7 | 6.3.7 | 6.3.7 | 6.3.7 |
| | 阴性对照试验 | 6.3.8 | 6.3.8 | 6.3.8 | 6.3.8 | 6.3.8 |
| 方法适 | 试验组 | 取供试液，加入不大于100cfu的试验菌液，混匀，按照6.3.4～6.3.8操作。 | | | | |
| | 供试品对照组 | 取供试液，以冲洗液代替菌液，同试验组操作。 | | | | |

| | | |
|---|---|---|
| 用性试验 | 菌液对照组 | 取冲洗液代替供试液，同试验组操作。 |
| | 结果判断 | 试验组菌落数减去供试品对照组菌落数的值应大于菌液对照组菌落数值的 50%。 |
| 回收率确认试验 | | 参见 GB/T 19973.1 |

# 附 录 C
（资料性）
无菌试验方法示例

## C.1 适用产品

C.1.1 直接浸入法：注射针、输液针、穿刺针、留置针等。

C.1.2 培养基灌装法：血袋等。

C.1.3 薄膜过滤法：带血小板保存袋的塑料血袋（液袋）等。

C.1.4 培养基洗脱法：注射器、输血器、一次性使用血浆管路等。

## C.2 方法设计举例

见表C.1。

## C.3 方法适用性试验举例

见表C.1。

## C.4 方法回收率确认试验举例

见表C.1。

表C.1 无菌试验方法举例

| | | 产品举例 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 输液器 | 血袋 | 注射器 | | 注射针 | 血袋（液袋） |
| | | | | （＞5mL） | （≤5mL） | | |
| 方法设计 | 检验数量 | 7.3.1 | 7.3.1 | 7.3.1 | 7.3.1 | 7.3.1 | 7.3.1 |
| | 检验量 | 整件产品 | 整件产品 | 整件产品 | 整件产品 | 整件产品 | 内部液体 |
| | 供试品处理及接种培养基 | 培养基洗脱法：用约50mL培养基以（40～60）滴/min的流量流经内部通路，将培养基收集于无菌容器中进行培养。 | 培养基灌装法：向产品中注入适量的培养基，使培养基充满内部腔体，将其密闭后进行培养。 | 培养基洗脱法：抽取培养基至公称容量，浸泡30min，将推杆拉至最大体积，振摇1min，将培养基注入无菌容器中进行培养。 | 直接接种法：将产品套筒和推杆(具活塞)分离，浸没于培养基中进行培养。 | 直接接种法：将产品浸没于培养基中进行培养。 | 薄膜过滤法：对内装液体采用薄膜过滤法进行试验，然后对滤膜进行培养 |
| | 培养及观察 | 7.3.4 | 7.3.4 | 7.3.4 | 7.3.4 | 7.3.4 | 7.3.4 |
| | 结果判断 | 7.3.5 | 7.3.5 | 7.3.5 | 7.3.5 | 7.3.5 | 7.3.5 |
| 方法适用 | 试验组 | 取6套按无菌试验方法制得的样品，向培养基样品中分别接入小于100cfu的金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、生孢梭菌、枯芽孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉。置（30±2）℃培养，培养时间不得超过5天。 | | | | | |
| | 对照组 | 取培养基6管，分别接入小于100cfu的金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、生孢梭菌、枯芽孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉各1管。置（30±2）℃培养，培养时间不得超过5天。 | | | | | |

| | | |
|---|---|---|
| 性试验 | 结果判断 | 与对照组相比，试验组应生长良好。 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 回收率确认试验 | 参见 GB/T 19973.1 | / | 参见 GB/T 19973.1 | / | / | 参见 GB/T 19973.1 |