

**Стерилизация медицинской продукции**  
**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИНДИКАТОРЫ**

**Часть 1**  
**Технические требования**

Издание официальное

БЗ 12—99/647

ГОССТАНДАРТ РОССИИ  
Москва

## **ГОСТ Р ИСО 11138-1—2000**

**1 ПОДГОТОВЛЕН** Ассоциацией инженеров по контролю микрозагрязнений (АСИНКОМ), Московской медицинской академией им. И.М. Сеченова и Испытательным лабораторным центром Московского городского центра дезинфекции

**ВНЕСЕН** Техническим комитетом по стандартизации ТК 383 «Стерилизация медицинской продукции» Госстандарта России

**2 ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ** Постановлением Госстандарта России от 10 августа 2000 г. № 205-ст

**3 Настоящий стандарт** содержит аутентичный текст международного стандарта ИСО 11138-1—94 «Стерилизация медицинской продукции. Биологические индикаторы. Часть 1: Общие требования»

**4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ**

© ИПК Издательство стандартов, 2000

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Госстандарта России

II

## Содержание

1 Область применения . . . . .	1
2 Нормативные ссылки . . . . .	1
3 Определения . . . . .	1
4 Общие требования к продукции, производству и маркировке . . . . .	2
5 Определение резистентности . . . . .	6
Приложение А Определение числа живых тест-микроорганизмов . . . . .	7
Приложение В Метод кривой выживания . . . . .	7
Приложение С Фракционный негативный анализ (метод MPN для последовательного определения величины D с использованием ограниченного метода Спирмана-Карбера) . . . . .	8
Приложение D Расчет величины D с использованием ограниченного метода Спирмана-Карбера . . . . .	8
Приложение E Характеристики выживания—гибели . . . . .	10
Приложение F Определение ингибирования роста материалами носителей и первичных упаковок во время стерилизации . . . . .	10

## Введение

Биологические индикаторы используются для оценки эффективности процесса стерилизации медицинской продукции и других целей. К медицинской продукции относят лекарственные средства и медицинские изделия.

Применение биологических индикаторов определено изготовителем и указано в маркировке. Использование несоответствующих индикаторов может привести к ошибочным результатам.

Биологические индикаторы должны всегда использоваться в комбинации с физическим и/или химическим контролем эффективности процесса стерилизации. Если колебания физико-химических показателей процесса стерилизации выходят за допустимые пределы, процесс стерилизации всегда должен рассматриваться как неудовлетворительный независимо от результатов контроля с помощью биологических индикаторов.

Эффективность биологических индикаторов может зависеть от условий хранения до момента их применения, методов применения или действий после завершения процесса. Поэтому необходимо выполнять рекомендации изготовителя в отношении хранения и применения. Биологические индикаторы должны быть переданы для лабораторного контроля как можно скорее после их использования в процессе стерилизации. Не допускается использовать биологические индикаторы после истечения срока годности, указанного изготовителем.

Оценка эффективности процессов стерилизации с помощью биологических индикаторов должна выполняться персоналом, подготовленным соответствующим образом.

**к ГОСТ Р ИСО 11138—1—2000 Стерилизация медицинской продукции. Биологические индикаторы. Часть 1. Технические требования**

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Наименование стандарта	<b>Технические требования</b> Technical requirements <i>См. ИУС № 11—2000</i>	<b>Общие требования</b> General requirements
С. 39. Код 11.080. Для ГОСТ 11138—1—2000	Технические требования General	Общие требования General requirements

(ИУС № 4 2001 г.)

## ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Стерилизация медицинской продукции

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИНДИКАТОРЫ

## Часть 1

Технические требования

Sterilization of health care products. Biological indicators. Part 1. Technical requirements

Дата введения 2001—07—01

## 1 Область применения

1.1 Настоящий стандарт устанавливает общие требования к производству, маркировке и работе оборудования при изготовлении биологических индикаторов и суспензий, применяемых для валидации и контроля процессов стерилизации.

**Примечание** — Конкретные требования к биологическим индикаторам для определенных видов стерилизации — по ГОСТ Р ИСО 11138-2 и ГОСТ Р ИСО 11138-3.

Стандарт не содержит требований к продукции, непосредственно инокулированной микроорганизмами, методикам культивирования жизнеспособных микроорганизмов, а также к биологическим индикаторам, в которых используют более одного вида или штамма микроорганизмов, инокулированных в носителе.

## 2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р ИСО 9002—96 Системы качества. Модель обеспечения качества при производстве, монтаже и обслуживании

ГОСТ Р ИСО 11138-3—2000 Стерилизация медицинской продукции. Биологические индикаторы. Биологические индикаторы для стерилизации влажным теплом

ГОСТ Р ИСО 11138-2—2000 Стерилизация медицинской продукции. Биологические индикаторы. Биологические индикаторы для стерилизации окисью этилена

## 3 Определения

В настоящем стандарте применяют термины с соответствующими определениями:

3.1 **биологический индикатор — БИ (biological indicator — BI)**: Готовый к применению инокулированный носитель в первичной упаковке, обеспечивающий определенную резистентность (устойчивость) к конкретному режиму стерилизации.

3.2 **носитель (carrier)**: Удерживающий материал, на который нанесены тест-микроорганизмы.

3.3 **первичная упаковка (primary pack)**: Система, предохраняющая инокулированный носитель от повреждения и контаминации, но не препятствующая проникновению стерилизующего агента (агентов).

3.4 **вторичная упаковка (secondary pack)**: Упаковочная тара, в которую помещены биологические индикаторы для транспортирования и хранения.

3.5 **инокулированный носитель (inoculated carrier)**: Носитель, на который нанесено определенное количество тест-микроорганизмов.

3.6 **тест-микроорганизм (test organism)**: Микроорганизм, используемый для изготовления инокулированных носителей.

Издание официальное

1

3.7 **число живых тест-микроорганизмов (viable test organism count):** Число живых тест-микроорганизмов в единице объема суспензии или на инокулированном носителе, определяемое по росту дискретных колоний при определенных условиях культивирования.

3.8 **инактивация (inactivation):** Потеря тест-микроорганизмами способности к росту, прорастанию и/или размножению при определенных условиях культивирования.

3.9 **условия культивирования (culture conditions):** Указанная изготовителем комбинация условий для обеспечения роста, прорастания и/или размножения тест-микроорганизмов, включающая питательную среду, продолжительность и температуру инкубации.

3.10 **признанная коллекция культур (recognized culture collection):** Международная коллекция, находящаяся под юрисдикцией Будапештского договора о международном признании коллекций микроорганизмов для целей патентования и регулирования.

3.11 **величина (параметр) D; Величина десятикратного сокращения (D value):** Время выдержки или поглощенная доза излучения, необходимые для уменьшения популяции тест-микроорганизмов в 10 раз при определенных условиях обработки.

3.12 **кривая выживания (survivor curve):** Графическое представление зависимости процесса инактивации от времени выдержки (поглощенной дозы излучения) при определенных условиях.

3.13 **устройство для испытания процесса (process challenge device):** Устройство, моделирующее наилучшие условия воздействия стерилизующего агента (агентов) на объект среди стерилизуемых объектов.

#### Примечания

1 Устройство для испытания процесса должно быть построено таким образом, чтобы биологический индикатор можно было расположить в месте, наиболее труднодоступном для стерилизующего агента (агентов).

2 Конструкция устройства для испытания процесса стерилизации зависит от вида стерилизуемых объектов и процедуры стерилизации. Биологический индикатор не должен влиять на функционирование устройства.

3 В некоторых устройствах вместо биологического индикатора может быть использован инокулированный носитель.

3.14 **колониеобразующая единица — КОЕ (colony-forming unit — CFU):** Видимая колония микроорганизмов, выросшая из одной клетки или из группы клеток.

3.15 **автономный биологический индикатор (self-contained biological indicator):** Биологический индикатор, первичная упаковка которого содержит питательную среду, необходимую для выращивания тест-микроорганизмов.

3.16 **окно выживания-гибели (survival-kill window):** Интервал дозы излучения или времени выдержки в процессе стерилизации при определенных условиях, в течение которых осуществляется переход от прорастания всех биологических индикаторов (экспозиция выживания) к отсутствию прорастания всех биологических индикаторов (экспозиция гибели).

3.17 **номинальная популяция (nominal population):** Заданное число микроорганизмов.

**Примечание —** Обнаруженное число микроорганизмов будет отличаться от номинальной популяции микроорганизмов в зависимости от погрешности использованных методов инокуляции и методов обнаружения жизнеспособных клеток.

3.18 **резистометр (resistometer):** Оборудование, предназначенное для создания комбинации определенных физико-химических параметров процесса стерилизации с определенными допусками.

## 4 Общие требования к продукции, производству и маркировке

### 4.1 Производственный контроль и контроль качества

4.1.1 Все операции, предусмотренные настоящим стандартом, должны контролироваться в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 9002.

4.1.2 Необходимо предусматривать регистрацию компонентов производства.

Производственные компоненты должны включать все материалы и элементы, входящие в состав или находящиеся в прямом контакте с суспензией тест-микроорганизмов, инокулированным носителем или биологическим индикатором.

4.1.3 Конечный продукт, поставляемый изготовителем (суспензия, инокулированный носитель или биологический индикатор), не должен содержать тест-микроорганизмов других видов в количестве, способном ухудшить потребительские свойства продукции. Соблюдение этого требования при производстве обеспечивается валидацией производства, управлением, текущим контролем и записью производственных параметров.

### 4.2 Тест-микроорганизмы

4.2.1 Штаммы тест-микроорганизмов не должны требовать мер изоляции при работе с ними.

4.2.2 Тест-микроорганизмы должны принадлежать к определенному штамму, взятому из обя-

зательной коллекции культур, и однозначно идентифицироваться с эталонным номером этой коллекции культур.

4.2.3 Если штамм предназначенного для использования тест-микроорганизма не принадлежит к обязательной коллекции культур, изготовитель несет ответственность за отнесение конкретного штамма к обязательной коллекции.

4.2.4 Для каждой серии суспензии тест-микроорганизмов необходимо:

а) зарегистрировать происхождение инокулята отнесением его к соответствующей коллекции культур;

б) удостоверить его идентичность и чистоту.

Методы, используемые для поддержания культур тест-микроорганизмов, должны обеспечить предохранение от контаминации и вредных изменений их неотъемлемых качеств. Контрольные тесты являются специфическими для каждого штамма тест-микроорганизма и должны быть документированы и валидированы изготовителем.

#### 4.3 Суспензии тест-микроорганизмов

4.3.1 Питательная среда и условия инкубирования, используемые для суспензии тест-микроорганизмов, должны быть определены изготовителем. Эти условия должны обеспечивать последовательное воспроизводство суспензий тест-микроорганизмов в соответствии с требованиями настоящего стандарта, ГОСТ Р ИСО 11138-2 и ГОСТ Р ИСО 11138-3.

4.3.2 Методы подсчета микроорганизмов и последующей обработки должны обеспечить отсутствие остатков питательной среды в суспензии, используемой для инокуляции носителей. Указанные остатки могут быть помехой при работе с инокулированным носителем или биологическим индикатором.

Если изготовитель показал, что остатки питательной среды не оказывают вредного влияния на работу с инокулированным носителем или биологическим индикатором, указанное требование не учитывается.

4.3.3 Изготовители суспензий тест-микроорганизмов или биологических индикаторов должны письменно подтвердить, что биологические индикаторы и суспензия тест-микроорганизмов получены из культуры, взятой из коллекции культур.

4.3.4 Если суспензия тест-микроорганизмов предназначена для приготовления инокулированных носителей или инокулированного продукта, каждый контейнер, содержащий суспензию тест-микроорганизмов, должен сопровождаться информацией, содержащей:

- а) название тест-микроорганизма;
- б) название или аббревиатуру коллекции культуры, откуда был получен тест-микроорганизм, и ссылку на номер штамма;
- в) номинальный объем суспензии в миллилитрах (или в граммах, если тест-микроорганизмы представлены не в форме суспензии);
- г) единый код, по которому может быть восстановлена история изготовления;
- д) число жизнеспособных клеток в миллилитре суспензии;
- е) рекомендуемые условия хранения;
- ж) срок годности или срок хранения;
- з) название изготовителя, торговую марку, адрес и другие средства идентификации;
- и) инструкции по утилизации.

4.3.5 По требованию потребителя изготовитель обязан представить информацию о характеристиках резистентности и других характеристиках суспензии. Эти данные должны быть согласованы между покупателем и изготовителем.

4.3.6 Условия хранения суспензий тест-микроорганизмов и срок их годности должны быть указаны изготовителем. Эти условия должны контролироваться в период хранения. Они должны поддерживать суспензии тест-микроорганизмов в таком состоянии, чтобы они соответствовали требованиям настоящего стандарта, ГОСТ Р ИСО 11138-2 и ГОСТ Р ИСО 11138-3.

4.3.7 Должно быть установлено число жизнеспособных микроорганизмов в суспензии.

По требованию потребителя показатель прорастаемости тест-микроорганизмов определяют через процентное отношение числа жизнеспособных тест-микроорганизмов, обнаруженных с помощью микроскопии.

4.3.8 Изготовитель должен гарантировать транспортирование третьей стороне в контролируемых условиях, сравнимых с условиями хранения суспензий тест-микроорганизмов.

#### 4.4 Носитель, первичная упаковка и конструкция

4.4.1 Носитель и первичная упаковка не должны содержать загрязнений (физических, химических или микробиологических), которые могли бы ухудшить характеристики биологического индикатора.

4.4.2 Носитель и первичная упаковка не должны разрушаться в предусмотренном для них



процессе стерилизации, вследствие чего могли бы измениться характеристики инокулированного носителя.

Носитель должен выдерживать транспортирование в первичной и вторичной упаковках, а также обеспечивать работу с ним в месте использования без повреждений.

Конструкция носителя и/или первичной упаковки должна предусматривать:

- a) минимизацию потерь начальной концентрации тест-микроорганизмов во время транспортирования, обращения с ним и хранения в течение срока годности;
- b) соответствие устройству для испытания процесса стерилизации.

4.4.3 Соответствие требованиям 4.4.2 должно проверяться путем визуального контроля носителя и первичной упаковки, подвергшихся воздействию стерилизации при максимальных значениях и скоростях изменения физико-химических параметров процесса стерилизации.

**Примечание** — Пределы изменения этих свойств приведены в соответствующих частях ГОСТ Р ИСО 11138.

4.4.4 Во время и после процесса стерилизации носитель и первичная упаковка не должны поглощать или выделять никаких веществ в количествах, способных замедлить рост малого числа выживших тест-микроорганизмов в условиях выращивания при попадании этих веществ в среду выращивания.

Порядок выполнения тестов на проверку соответствия этим требованиям приведен в приложении F.

4.4.5 По требованию потребителя изготовитель обязан предоставить сведения о предельных размерах носителя.

#### 4.5 Инокулированные носители

4.5.1 При изготовлении одной партии носителей должен использоваться только один штамм тест-микроорганизмов.

4.5.2 Инокулированные носители готовят путем нанесения на них суспензии тест-микроорганизмов с последующим высушиванием в контролируемых условиях.

4.5.3 Условия, при которых осуществляется инокуляция, должны быть разработаны, валидированы и проконтролированы, чтобы гарантировать отсутствие в инокулированном носителе посторонних микроорганизмов, которые могут ухудшить характеристики продукции в соответствии с ГОСТ Р ИСО 11138-2 и ГОСТ Р ИСО 11138-3.

4.5.4 Каждый носитель должен содержать одно и то же количество клеток тест-микроорганизма.

4.5.5 Условия хранения инокулированных носителей и срок годности определяет изготовитель. Эти условия должны контролироваться в период хранения. Они должны соответствовать требованиям к инокулированным носителям, изложенным в ГОСТ Р ИСО 11138-2 и ГОСТ Р ИСО 11138-3.

4.5.6 При упаковывании инокулированных носителей с целью превращения их в биологические индикаторы упаковка не должна изменять номинальную популяцию и препятствовать проведению работ с конкретными носителями.

4.5.7 Каждую серию инокулированных носителей должна сопровождать информация, содержащая:

- a) название «инокулированные носители»;
- b) название тест-микроорганизма;
- c) руководство по применению, специальные данные, касающиеся питательной среды и условий, необходимых для роста тест-микроорганизмов после воздействия процесса стерилизации;
- d) название коллекции культур, откуда был взят тест-микроорганизм, и ссылка на номер штамма;
- e) число тест-микроорганизмов на одном инокулированном носителе;
- f) номер серии или специальный код, по которым может быть восстановлена история производства;
- g) характеристики резистентности инокулированных носителей к воздействию процесса стерилизации, которому они должны подвергаться, включая условия тестирования и методы определения указанных характеристик;
- h) число инокулированных носителей во вторичной упаковке;
- i) рекомендуемые условия хранения;
- j) срок годности инокулированных носителей;
- k) название изготовителя, торговая марка, адрес или другие средства идентификации;
- l) процесс стерилизации, для контроля которого предназначен инокулированный носитель;
- m) инструкции по утилизации и уничтожению.

#### 4.6 Биологические индикаторы

4.6.1 Биологические индикаторы должны быть изготовлены путем упаковки отдельных инокулированных носителей в первичную упаковку.

4.6.2 Первичная упаковка должна быть сконструирована, изготовлена и валидирована так, чтобы находящийся в ней биологический индикатор отвечал требованиям ГОСТ Р ИСО 11138-2 и ГОСТ Р ИСО 11138-3.

4.6.3 Первичная упаковка должна быть сконструирована, изготовлена и валидирована так, чтобы в период хранения и транспортирования в соответствии с инструкциями изготовителя биологический индикатор и инокулированный носитель были защищены от контаминации и потери инокулята из носителя.

4.6.4 Условия помещения в первичную упаковку должны быть четко определены, валидированы и проконтролированы, чтобы инокулированный носитель не содержал микроорганизмы, иные, чем тест-микроорганизмы, и которые могли бы неблагоприятно повлиять на характеристики продукта так, как это определено стандартами ГОСТ Р ИСО 11138-2 и ГОСТ Р ИСО 11138-3 соответственно.

4.6.5 Первичная упаковка должна быть валидирована в соответствии с ее назначением и соответствующим международным или национальным стандартом.

4.6.6 Каждая первичная упаковка для биологического индикатора должна иметь этикетку, содержащую следующую информацию:

- a) название тест-микроорганизма;
- b) номер серии биологического индикатора;
- c) срок годности биологического индикатора;
- d) указание на процесс стерилизации, которому соответствует биологический индикатор;
- e) название изготовителя, торговую марку, адрес и другие данные.

4.6.7 Биологические индикаторы должны быть упакованы во вторичную упаковку для транспортирования и хранения.

4.6.8 Вторичная упаковка должна быть снабжена этикеткой, содержащей следующую информацию:

- a) название «биологические индикаторы»;
- b) информацию, указанную в 4.6.6;
- c) название коллекции культур, откуда был взят тест-микроорганизм, и ссылку на номер штамма;
- d) число тест-микроорганизмов, находящихся в каждом биологическом индикаторе, как это определено для серии инокулированных носителей;
- e) количество биологических индикаторов во вторичной упаковке;
- f) рекомендуемые условия хранения;
- g) резистентность тест-микроорганизмов в инокулированном носителе, находящемся в первичной упаковке, включая условия тестирования и методы, используемые для определения указанных характеристик;
- h) руководство по применению, особенно данные, касающиеся питательной среды и условий, при которых выращиваются тест-микроорганизмы после воздействия факторов стерилизации;
- i) инструкции по утилизации и уничтожению.

Текст этикетки должен быть на русском языке.

4.6.9 Каждая вторичная упаковка должна быть снабжена копией сертификата для каждой серии биологического индикатора, который должен включать следующую информацию:

- a) информацию, указанную в 4.6.8;
- b) характеристики резистентности индикаторов к воздействию процесса стерилизации, для контроля которого предназначены инокулированные носители;
- c) ссылку на настоящий стандарт и другие соответствующие международные стандарты.

4.6.10 Каждая вторичная упаковка должна быть снабжена письменными инструкциями по работе с биологическими индикаторами и по определению числа выживших микроорганизмов, а также следующими требованиями:

- a) биологические индикаторы должны храниться при условиях, указанных изготовителем;
- b) биологические индикаторы данной серии не должны использоваться после истечения срока хранения;
- c) после выдержки в проверяемом цикле стерилизации биологические индикаторы должны быть изучены на наличие выживших микроорганизмов в течение времени, указанного изготовителем;
- d) при проверке индикаторов для оценки выживших тест-микроорганизмов должны использоваться методы и условия, предписанные изготовителем. Если применяются альтернативные методы, то они должны быть валидированы.

#### 4.7 Автономные биологические индикаторы

4.7.1 Автономные биологические индикаторы должны соответствовать всем требованиям настоящего стандарта.

4.7.2 Автономные биологические индикаторы должны быть достаточно прочными, чтобы переносить транспортирование во вторичной упаковке, а также обращение без повреждений в месте использования.

Конструкция автономного биологического индикатора должна обеспечивать:

- а) минимизацию потерь исходного инокулята тест-микроорганизма во время транспортирования и обращения с ним;
- б) возможность использования его совместно с устройством для испытания процесса стерилизации.

4.7.3 Во время и после завершения процесса стерилизации материалы, из которых изготовлен автономный биологический индикатор, не должны удерживать или выделять какие-либо вещества в таком количестве, которое может ингибировать рост малого количества выживших тест-микроорганизмов при заданных условиях культивирования (см. приложение F).

## 5 Определение резистентности

### 5.1 Требования к определению резистентности

5.1.1 Резистентность (устойчивость) каждой серии биологических индикаторов должна быть показана экспериментально, чтобы подтвердить соответствие требованиям ГОСТ Р ИСО 11138-2 и ГОСТ Р ИСО 11138-3.

5.1.2 Контроль резистентности (5.4 и 5.5) должен включать определение числа выживших тест-микроорганизмов и определение характеристик резистентности комбинацией двух или более следующих методов:

- а) определение величины  $D$  путем построения кривой выживаемости;
- б) определение величины  $D$  методом анализа частичного прорастания;
- в) расчет окна выживания—гибели с использованием рассчитанной величины  $D$  и проверка характеристик выживания—гибели.

5.1.3 Величины, определенные такими методами, должны находиться в пределах, указанных в ГОСТ Р ИСО 11138-2 и ГОСТ Р ИСО 11138-3 соответственно. По крайней мере две из этих величин должны быть приведены на этикетке вторичной упаковки и в сертификате, сопровождающем каждую серию инокулированных носителей (4.5.7).

**Примечание** — Соответствующие разделы ГОСТ Р ИСО 11138 могут потребовать дополнительных определений (например, величины  $z$  для стерилизации биологических индикаторов влажным теплом, как предусмотрено ГОСТ Р ИСО 11138-3).

### 5.2 Расчет окна выживания—гибели

Окно выживания—гибели может быть рассчитано с использованием одной из величин  $D$ , определенной согласно приложениям В и D по следующим формулам:

— Время (доза) выживания  $\geq D (\lg N - 2)$ ,

где  $N$  — число тест-микроорганизмов на одном носителе, указанное в маркировке.

Время (доза) гибели  $\leq D (\lg N + 4)$ .

### 5.3 Определение числа выживших тест-микроорганизмов

Порядок определения числа выживших тест-микроорганизмов приведен в приложении А.

### 5.4 Определение величины $D$

5.4.1 Данные для расчета величины  $D$  для биологических индикаторов должны быть получены в соответствии с приложением В (т.е. построением кривой выживания с использованием прямого подсчета тест-микроорганизмов) и/или приложением С (анализ частичного прорастания или метод наиболее вероятного числа).

5.4.2 Величина  $D$  рассчитывается в соответствии с приложением В и/или D.

5.4.3 Могут быть использованы другие методы, но при этом должна быть продемонстрирована их эквивалентность эталонному методу.

### 5.5 Определение характеристик выживания—гибели

Характеристики выживания—гибели определяются и проверяются в соответствии с приложением Е.

**ПРИЛОЖЕНИЕ А**  
(обязательное)

**Определение числа живых тест-микроорганизмов**

А.1 Инокулированные носители должны быть исследованы на наличие выживших тест-микроорганизмов в соответствии с А.2 — А.4 или альтернативным методом. При использовании альтернативного метода должно быть известно соотношение рекомендуемого и альтернативного методов.

А.2 Следует использовать не менее четырех проб из каждой партии, серии или экспозиции. Каждая проба должна быть помещена в вымывающую питательную среду соответствующего объема. Тест-микроорганизмы вымываются от инокулированных носителей с помощью принятой методики (например, встряхиванием со стеклянными бусами, перемешиванием в гомогенизаторе, ультразвуковом или другим соответствующим методом).

А.3 Суспензия должна разбавляться в соответствующей стерильной разбавляющей жидкости так, чтобы в дозах, предназначенных для посева в чашках, находилось от 30 до 300 колониеобразующих единиц (КОЕ). Указанные дозы стерильной жидкости должны быть либо перемешаны с расплавленным питательным агаром, либо посеяны в чашки с твердой питательной средой. Изготовители биологических индикаторов должны указать или обеспечить поставку соответствующей среды и/или привести полные данные для приготовления такой среды.

А.4 Помещенные в чашки пробы должны инкубироваться при температуре и в течение времени, установленных изготовителем.

**Примечания**

1 Обычно температура и время инкубации составляют от 55 до 60 °С не менее 48 ч для термофильных организмов и от 30 до 37 °С не менее 48 ч для мезофильных организмов.

2 Высыхание питательных сред при повышенных температурах инкубации может неблагоприятно влиять на рост.

А.5 После соответствующего периода инкубации должно быть подсчитано количество колониеобразующих единиц в чашках и по ним вычислено среднее количество выживших тест-микроорганизмов.

**ПРИЛОЖЕНИЕ В**  
(обязательное)

**Метод кривой выживания**

**Примечание** — Идеальная кривая выживания является линейной во всем диапазоне инактивации. На практике имеют место отклонения от этого идеала, однако линейность должна сохраняться в приемлемых пределах. Построение кривой выживания методом прямого подсчета позволяет представить резистентность популяции численностью более  $5 \times 10^1$ , в то время как метод MPN (приложение С) позволяет представить резистентность популяции численностью менее  $5 \times 10^0$ . Хорошая корреляция между величинами D, полученными этими двумя методами, позволяет утверждать, что серьезных отклонений от линейности кривой выживания не наблюдается.

В.1 Исследуемые пробы подлежат обработке при ступенчатом возрастании экспозиции (выдержки) в определенных условиях. Должен быть установлен диапазон изменения экспозиции. Каждая экспозиция или доза должны отличаться от предыдущей на постоянную величину.

**Примечание** — Требования к характеристикам аппаратуры приведены в ГОСТ Р ИСО 11138-2 и ГОСТ Р ИСО 11138-3.

В.2 Должны быть использованы не менее пяти экспозиций, которые должны включать:

- а) одну экспозицию, в которой проба не подвергается воздействию стерилизующего агента (стерилизующий агент может отсутствовать или может быть заменен на газ, не вызывающий летального действия);
- б) снижение популяции до 0,01 % исходного инокулята, по крайней мере, при одной экспозиции.

В.3 В каждой экспозиции должно быть использовано не менее четырех инокулированных носителей в каждом определении. При каждой экспозиции должно быть то же самое количество повторностей.

В.4 Отобранные пробы должны быть обработаны в течение 2 ч после завершения каждой экспозиции,

чтобы удалить тест-микрорганизмы из носителя. Определение числа выживших тест-микрорганизмов должно быть проведено в специальных условиях культивирования по методам, установленным изготовителем.

В.5 Пользуясь полученными данными, строится кривая зависимости логарифма выжившей популяции от времени в минутах или уровня дозы в линейном виде кривая регрессии, пользуясь методом наименьших квадратов. Точки с данными выживаемости менее 0,5 логарифма начальной популяции не должны включаться в регрессионный анализ. По отрицательному наклону линии регрессии рассчитывается величина  $D$  в минутах или в единицах поглощенной дозы.

В.6 Коэффициент регрессии линейности кривой выживания должен быть не менее 0,8.

## ПРИЛОЖЕНИЕ С (обязательное)

### Фракционный негативный анализ (метод MPN для последовательного определения величины $D$ с использованием ограниченного метода Спирмана-Карбера)

**Примечание** — Фракционные негативные данные применяются для определения влияния процесса стерилизации на характеристики резистентности тест-микрорганизмов с помощью метода наиболее вероятных величин — MPN (Most Probable Number).

С.1 Контролируемые пробы должны быть подвергнуты кратным экспозициям в определенных условиях воздействия всех переменных факторов процесса стерилизации, исключая продолжительность или уровень дозы воздействия, которые остаются постоянными. В каждой экспозиции должно быть не менее 20 повторностей. Каждый период экспозиции или уровень дозы должен отличаться от предыдущего на постоянный интервал. В каждой экспозиции должно использоваться одно и то же количество повторностей.

**Примечание** — Требования к работе испытательного оборудования приведены в ГОСТ Р ИСО 11138-2 и ГОСТ Р ИСО 11138-3.

С.2 После 2 ч экспозиции каждый инокулированный носитель в асептических условиях помещается в пробирку, содержащую адекватное количество соответствующей стерильной питательной среды. Объем среды должен быть одинаков для каждой повторности. Если питательная среда включена изготовителем в состав биологического индикатора, то изготовитель должен приложить инструкции по культивированию, а также выдать требования к питательной среде или указать на возможность ее приобретения и/или привести исчерпывающие данные для ее приготовления.

С.3 Инокулированные носители инкубируются при температуре, рекомендованной изготовителем. Культуры исследуются на рост тест-микрорганизмов по истечении времени инкубации, рекомендуемого изготовителем. Рост тест-микрорганизма может быть установлен по мутности питательного бульона, поверхностному росту на бульоне или осадению на дне пробирки в зависимости от характеристик тест-микрорганизма.

С.4 Результаты следует записывать в виде отношения инокулированных носителей с выжившими тест-микрорганизмами к общему числу инокулированных носителей, подвергнутых воздействию каждой сублетальной экспозиции.

## ПРИЛОЖЕНИЕ D (обязательное)

### Расчет величины $D$ с использованием ограниченного метода Спирмана-Карбера

#### D.1 Расчет величины $D$

**Примечание** — Ограниченный метод Спирмана-Карбера (Spearman-Kärber) требует, чтобы последовательные экспозиции отличались друг от друга на постоянный интервал  $d$  и в каждой экспозиции использовалось одно и то же число реплик (биологических индикаторов)  $n$ .

D.1.1 Чтобы охватить фракционно-негативную область, нужно выбрать интервал экспозиции или уровня доз ( $U_1, U_2, \dots, U_k$ ). Начальная экспозиция  $U_1$  выбирается так, чтобы стерилизующий эффект был равен нулю

или  $r = 0$ . Последняя экспозиция  $U_k$  выбирается такой, чтобы был обеспечен полный стерилизующий эффект или  $r = n$ . Тест считается действительным, если в экспозиции, предшествующей  $U_1$ , отсутствуют отрицательные (стерильные) единицы ( $r = 0$ ) и в экспозиции, следующей за  $U_k$ , присутствуют только отрицательные единицы ( $r = n$ ). При этом в двух промежуточных интервалах между  $U_1$  и  $U_k$  (где  $0 < r < n$ ) должны быть две значимые пробы. Затем рассчитывается средняя экспозиция до достижения стерильности или ограниченного показателя Спирмана-Карбера по формуле

$$U_{sk} = U_k - \frac{d}{2} \frac{d}{n} \times \sum_{i=1}^{k-1} r_i,$$

где  $U_{sk}$  — средняя экспозиция до достижения стерильности (оценка ограниченного показателя Спирмана-Карбера);

$U_k$  — первая экспозиция, в которой наблюдаются все стерильные реплики,  $r_k = n$ ;

$d$  — интервал времени или дозы между экспозициями;

$n$  — число реплик (биологических индикаторов) в каждой экспозиции;

$r_i$  — число стерильных реплик в каждой экспозиции;

$U_1$  — самая длительная экспозиция, в которой не наблюдаются отрицательные биологические индикаторы,  $r = 0$ ;

$U_{k-1}$  — экспозиция, предшествующая  $U_k$ ;

$\sum r_i$  — сумма стерильных реплик ( $r$ ) во всех экспозициях между  $U_1$  и  $U_{k-1}$ .

D.1.2 Величина  $D$  рассчитывается по формуле

$$D = \frac{U_{sk}}{\lg N_0 + 0,2507},$$

где  $U_{sk}$  — среднее значение экспозиции до достижения стерильности, полученное из предыдущей формулы;

$N_0$  — среднее число живых спор в расчете на один биологический индикатор, определенное по всему количеству живых спор.

**D.2 Расчет дисперсии  $U_{sk}$ , стандартного отклонения и доверительного интервала с помощью метода Спирмана-Карбера**

**Примечание** — Расчет по методу Спирмана-Карбера позволяет установить вариацию  $U_{sk}$  и, в свою очередь, рассчитать стандартное отклонение и доверительный интервал.

D.2.1 Дисперсия  $U_{sk}$ , т.е. ( $U_{sk}^2$ ) рассчитывается по формуле

$$(U_{sk}^2) = \frac{d^2}{n^2(n-1)} \times \sum_{i=1}^{k-1} r_i(n-r_i),$$

где  $d$  — интервал времени или дозы между экспозициями;

$n$  — число проб (реплик) в каждой экспозиции;

$r_i$  — число стерильных реплик в каждой экспозиции;

$\sum_{i=1}^{k-1} r_i(n-r_i)$  — сумма величин, полученная умножением  $r_i$  на  $(n-r_i)$  для каждой экспозиции и между  $U_1$  и  $U_{k-1}$ .

D.2.2 Стандартное отклонение  $U_{sk}(SD_{U_{sk}})$  рассчитывается по формуле

$$SD_{U_{sk}} = \sqrt{V_{U_{sk}}}.$$

D.2.3 Пользуясь верхним и нижним доверительными пределами  $U_{sk}$  (доверительные пределы для  $U_{sk}$  равны  $U_{sk} \pm 2SD_{U_{sk}}$ ;  $p = 0,95$ ), рассчитывается нижний и верхний доверительные пределы для  $D$ :

нижний доверительный предел  $U_{sk}$

$$D_{\text{н}} = \frac{U_{sk} - 2SD_{U_{sk}}}{\lg N_0 + 0,2507};$$

верхний доверительный предел  $U_{sk}$

$$D_{\text{в}} = \frac{U_{sk} + 2SD_{U_{sk}}}{\lg N_0 + 0,2507}.$$

ПРИЛОЖЕНИЕ Е  
(обязательное)

**Характеристики выживания—гибели**

**Примечание** — Контроль характеристик выживания—гибели с помощью большого числа биологических проб является дополнительным средством, гарантирующим постоянство характеристик всех единиц в каждой данной серии.

Е.1 Значения величины  $D$ , вычисленные либо из кривой выживания, либо путем использования метода фракционного негативного анализа (приложения В и D), должны использоваться для расчета времени (дозы) выживания и времени (дозы) гибели.

Е.2 Для получения надежных величин времени (дозы) выживания и времени (дозы) гибели следует использовать не менее 50 проб.

Е.3 Для характеристики времени (дозы) выживания и времени (дозы) гибели необходимо не менее 50 проб. Характеристика выживания — это фиксированная экспозиция времени (дозы), которой соответствует определенное количество выживших организмов в каждой единице пробы. Характеристика времени (дозы) гибели — это фиксированная экспозиция времени (дозы), которой соответствует полная гибель всех организмов в каждой единице пробы.

Е.4 Характеристики выживания — гибели должны определяться в резистомере биологических индикаторов. Периоды времени/дозы выживания — гибели определяются следующим образом:

Время (доза) выживания  $\geq D (\lg N_0 - 2)$ ,

где  $N_0$  — исходное количество организмов.

Время (доза) гибели  $\leq \lg (N_0 + 4)$ .

**Примечание** — Число проб, взятых для каждой экспозиции, будет зависеть как от производительности, так и от рабочих характеристик используемого резистомера биологических индикаторов. Иногда следует выполнить несколько предварительных экспозиций для времени/доз как для выживания, так и гибели, чтобы определить необходимое общее количество проб.

ПРИЛОЖЕНИЕ F  
(справочное)

**Определение ингибирования роста материалами носителей и первичных упаковок  
во время стерилизации**

**F.1 Материалы**

F.1.1 Суспензия тест-микроорганизмов одного штамма, приготовленная тем же способом, что и тест-микроорганизмы, предназначенные для инокуляции носителей. Суспензия должна состоять из микроорганизмов известной популяции, определенная по числу живых микроорганизмов, позволяющая выделить их в количестве от 10 до 100 единиц.

F.1.2 Резистомер должен соответствовать требованиям, определенным в последующих частях настоящего стандарта.

F.1.3 Питательная среда — как определено условиями культивирования.

F.1.4 Установка для инкубирования с контролем температуры — как определено условиями инкубирования.

**F.2 Метод определения**

F.2.1 Представительное количество из 12 неинокулированных носителей разделить на шесть групп по два носителя. Приготовить девять контейнеров с питательной средой (средой роста).

F.2.2 Упаковать каждый из двух носителей каждой из этих трех групп в материал, используемый для изготовления биологических индикаторов, и подвергнуть их стерилизации.

F.2.3 Установить рабочие условия в резистомере по ГОСТ Р ИСО 11138-2 и ГОСТ Р ИСО 11138-3.

F.2.4 После завершения процесса как можно быстрее, но не позднее чем через 120 мин, развернуть

носители и в асептических условиях перенести в питательную среду, не подвергая их при этом немедленной обработке. Записать время, необходимое для полной передачи.

**F.2.5** Поместить одну группу по два носителя в каждый из трех контейнеров с питательной средой, предварительно инкубированной при соответствующей температуре. Инкубировать питательную среду при установленной температуре в течение 2 ч, чтобы позволить ингибирующим веществам десорбироваться из носителей. Извлечь питательную среду из инкубатора и инокулировать ее таким количеством суспензии тест-микроорганизмов, которое содержит от 10 до 100 тест-микроорганизмов. Вернуть инокулированную питательную среду в инкубатор и инкубировать ее в течение времени, установленного изготовителем для регенерации биологических индикаторов при нормальных условиях их использования.

**F.2.6** Отрицательный контроль: поместить одну группу по два носителя, не подвергнутых стерилизации, в каждый из трех контейнеров с питательной средой, инкубированной в течение 2 ч, инокулировать их тест-микроорганизмами в количестве от 10 до 100 и инкубировать в течение периода времени, установленного изготовителем, и в тех же условиях, упомянутых выше.

**F.2.7** Положительный контроль: инкубировать три контейнера с питательной средой в течение 2 ч, инокулировать их тест-микроорганизмами в количестве от 10 до 100 единиц и инкубировать так же, как указано выше.

**F.2.8** После окончания установленного периода регенерации извлечь все девять контейнеров из инкубатора и исследовать их на наличие живых организмов в соответствии с инструкциями изготовителя.

**F.2.9** Записать результаты наличия и отсутствия роста тест-микроорганизмов.

### **F.3 Интерпретация результатов**

**F.3.1** Если отсутствие роста отмечается в одном или более позитивных контрольных образцах, испытание считается недействительным.

**Примечание** — Отсутствие роста в позитивном контроле может объясняться ошибкой контроля популяции тест-микроорганизмов или несоответствующими условиями регенерации (питательная среда, температура и т.д.).

**F.3.2** Если отсутствие роста наблюдается в одном или более отрицательных контрольных образцах, носитель не может считаться пригодным для изготовления инокулированных носителей или биологических индикаторов.

**Примечание** — Отсутствие роста в отрицательных контрольных образцах при наличии роста в положительных контрольных образцах может означать, что материал, из которого изготовлен носитель, сам является ингибитором роста тест-микроорганизмов.

**F.3.3** Если отсутствие роста наблюдается в одном или более испытаний носителей, подвергнутых стерилизации, носитель не может считаться пригодным для изготовления инокулированных носителей или биологических индикаторов.

**Примечание** — Отсутствие роста может объясняться высоким уровнем адсорбции/абсорбции стерилизующего агента или деградацией материала носителя во время процесса стерилизации.

### **F.4 Определение ингибирования роста, вызванного материалами упаковки**

Образцы материала первичной упаковки могут быть испытаны тем же способом, что и носитель (F.1 — F.3).

Образец части материала первичной упаковки должен быть достаточным для погружения в питательную среду объемом, равным удвоенному объему питательной среды, необходимой для нормального контакта с инокулированным носителем, или для автономных биологических индикаторов в объеме, эквивалентном для нормального контакта с питательной средой.



Ключевые слова: медицинская продукция, стерилизация, биологические индикаторы, спецификации, требования к изготовлению, маркировка, упаковка

Редактор *Р.С. Федорова*  
Технический редактор *В.И. Прусакова*  
Корректор *М.С. Першина*  
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Изд. лиц. № 02354 от 14.07.2000. Сдано в набор 26.10.2000. Подписано в печать 02.11.2000. Усл.печ.л. 1,86. Уч.-изд.л. 1,40.  
Тираж 204 экз. С 6130. Зак. 975.

ИПК Издательство стандартов, 107076, Москва, Колодезный пер., 14.  
Набрано в Издательстве на ПЭВМ  
Филиал ИПК Издательство стандартов — тип. "Московский печатник", 103062, Москва, Лялин пер., 6.  
Плр № 080102