

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

**TCVN 9855-3:2013
ISO 11138-3:2006**

**TIỆT KHUẨN SẢN PHẨM CHĂM SÓC SỨC KHỎE -
CHẤT CHỈ THỊ SINH HỌC - PHẦN 3: CHẤT CHỈ THỊ SINH
HỌC CHO QUÁ TRÌNH TIỆT KHUẨN BẰNG NHIỆT ẨM**

*Sterilization of health care products - Biological indicators -
Part 4: Biological indicators for moist heat sterilization processes*

HÀ NỘI - 2013

Mục lục

	Trang
Lời nói đầu	4
Lời giới thiệu.....	5
1 Phạm vi áp dụng.....	7
2 Tài liệu viện dẫn	7
3 Thuật ngữ và định nghĩa.....	7
4 Yêu cầu chung.....	8
5 Vi sinh vật thử nghiệm	8
6 Dịch treo.....	8
7 Chất mang và bao gói ban đầu.....	8
8 Chất mang đã cấy và các chất chỉ thị sinh học	8
9 Mật độ và sức đề kháng	9
Phụ lục A (quy định) - Phương pháp xác định sức đề kháng với tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm.....	10
Phụ lục B (quy định) - Tính giá trị z và hệ số tương quan, r^2	11
Thư mục tài liệu tham khảo	14

Lời nói đầu

TCVN 9855-3:2013 hoàn toàn tương đương với ISO 11138-3:2006;

TCVN 9855-3:2013 do Viện Trang thiết bị và Công trình y tế biên soạn, Bộ Y tế đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Bộ TCVN 9855:2013 *Tiệt khuẩn sản phẩm chăm sóc sức khỏe - Chất chỉ thị sinh học* gồm các tiêu chuẩn sau:

- TCVN 9855-1:2013 (ISO 11138-1:2006) - Phần 1: Yêu cầu chung.
- TCVN 9855-2:2013 (ISO 11138-2:2006) - Phần 2: Chất chỉ thị sinh học cho quá trình tiệt khuẩn bằng etylen oxit.
- TCVN 9855-3:2013 (ISO 11138-3:2006) - Phần 3: Chất chỉ thị sinh học cho quá trình tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm.
- TCVN 9855-4:2013 (ISO 11138-4:2006) - Phần 4: Chất chỉ thị sinh học cho quá trình tiệt khuẩn bằng nhiệt khô.
- TCVN 9855-5:2013 (ISO 11138-5:2006) - Phần 5: Chất chỉ thị sinh học cho quá trình tiệt khuẩn bằng hơi nước nhiệt độ thấp và quá trình tiệt khuẩn bằng formaldehyd.

Lời giới thiệu

TCVN 9855-3 (ISO 11138-3) đưa ra các yêu cầu chung đối với việc sản xuất, ghi nhãn, phương pháp thử và các yêu cầu tính năng đối với các hoạt động sản xuất chất chỉ thị sinh học bao gồm cả các chất mang và dịch treo dùng để đánh giá và giám sát quá trình tiệt khuẩn. Tiêu chuẩn này đưa ra các yêu cầu cụ thể đối với các chất chỉ thị sinh học dành cho các quá trình tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm.

Mục đích của việc đưa ra các yêu cầu trong bộ TCVN 9855 (ISO 11138) là để cung cấp các yêu cầu chung và yêu cầu cụ thể cho từng phương pháp thử nghiệm. Bộ tiêu chuẩn này thể hiện thực trạng kỹ thuật mới nhất theo các chuyên gia đại diện cho các nhà sản xuất, người sử dụng và các cơ quan quản lý liên quan đến việc soạn thảo tiêu chuẩn này. Tiêu chuẩn này không nhằm mục đích quảng cáo cho việc sử dụng các chất chỉ thị sinh học trong các trường hợp không được khuyến cáo sử dụng, mà nhằm cung cấp các yêu cầu chung cho việc sản xuất các chất chỉ thị sinh học đã được sử dụng cho đến nay.

Các tiêu chuẩn hiện có đưa ra các yêu cầu về xác nhận và kiểm soát quá trình tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm (xem ISO 17665).

CHÚ THÍCH Một số quốc gia hoặc khu vực có thể ban hành các tiêu chuẩn khác bao gồm các yêu cầu về tiệt khuẩn hoặc các chất chỉ thị sinh học.

Lời khuyên về việc lựa chọn, sử dụng và diễn giải kết quả khi sử dụng các chất chỉ thị sinh học được nêu trong TCVN 8583 (ISO 14161).

Tiệt khuẩn sản phẩm chăm sóc sức khỏe – Chất chỉ thị sinh học

Phần 3: Chất chỉ thị sinh học cho quá trình tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm

Sterilization of health care products – Biological indicators –

Part 3: Biological indicators for moist heat sterilization processes

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định các yêu cầu cụ thể để thử nghiệm vi sinh vật, dịch treo, chất mang dùng để cấy, chất chỉ thị sinh học và các phương pháp thử nghiệm được sử dụng để đánh giá tính năng của các quá trình tiệt khuẩn sử dụng nhiệt ẩm như là chất tiệt khuẩn.

Nhiệt ẩm như tác nhân tiệt khuẩn được định nghĩa trong tiêu chuẩn này là hơi bão hoà khô. Trong khi hỗn hợp khí - hơi nước có thể được dùng trong các quá trình tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm, các phương pháp và yêu cầu hoạt động thuộc tiêu chuẩn này có thể không được áp dụng cho các chất chỉ thị sinh học sử dụng trong các quá trình này.

CHÚ THÍCH 1 Yêu cầu về đánh giá xác nhận và kiểm soát các quá trình tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm được nêu trong ISO 17665.

CHÚ THÍCH 2 Các quốc gia và khu vực có thể cung cấp các yêu cầu về an toàn tại nơi làm việc.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau đây là cần thiết để áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 9355-1:2013 (ISO 11138-1:2006), *Tiệt khuẩn các sản phẩm chăm sóc sức khỏe – Chất chỉ thị sinh học – Phần 1: Yêu cầu chung*

ISO 18472, *Sterilization of healthcare products - Biological and chemical indicators - Test equipment (Tiệt khuẩn các sản phẩm chăm sóc sức khỏe - Chất chỉ thị sinh học và hoá học – Thiết bị thử)*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này, áp dụng các thuật ngữ và định nghĩa nêu trong TCVN 9355-1 (ISO 11138-1).

4 Yêu cầu chung

Áp dụng yêu cầu của TCVN 9855-1 (ISO 11138-1).

5 Vi sinh vật thử nghiệm

5.1 Các vi sinh vật thử nghiệm phải là các bào tử của *Geobacillus stearothermophilus* hoặc các chủng vi khuẩn khác có tính năng tương đương đã được chứng minh theo yêu cầu của tiêu chuẩn này.

CHÚ THÍCH 1 *Bacillus stearothermophilus* đã được phân loại lại là *Geobacillus stearothermophilus*.

CHÚ THÍCH 2 *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 (NCTC 10007, DSM 22 và CIP 52.81), ATCC 12980 (tương đương với NRRL B-4419) cho thấy là phù hợp.

5.2 Nếu vi sinh vật được sử dụng trong phép thử không phải là *Geobacillus stearothermophilus* hoặc *Bacillus subtilis* ATCC 35021 (5230), sự phù hợp về sức đề kháng của vi sinh vật phải được xác định.

CHÚ THÍCH Đối với các quá trình tiệt khuẩn dưới 121°C, có thể sử dụng các vi sinh vật như *Bacillus subtilis* ATCC 35021 (5230), đặc biệt trong tiệt khuẩn các chất lỏng nhạy cảm với nhiệt độ.

6 Dịch treo

Áp dụng yêu cầu của TCVN 9855-1 (ISO 11138-1).

7 Chất mang và bao gói ban đầu

7.1 Tính phù hợp của chất mang và vật liệu bao gói ban đầu cho chất chỉ thị sinh học dùng trong quá trình tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm cần tuân theo các yêu cầu của TCVN 9855-1:2013 (ISO 11138-1:2006), Điều 5.2 và Phụ lục B.

7.2 Điều kiện tiếp xúc để thiết lập sự phù hợp phải là:

- a) Nhiệt độ tiếp xúc tối thiểu: $\geq 5^{\circ}\text{C}$ trên mức nhiệt độ tối đa đưa ra bởi nhà sản xuất.
- b) Chất tiệt khuẩn: hơi bão hoà khô; nếu chất chỉ thị sinh học sử dụng trong quá trình nhiệt ẩm không dùng hơi bão hoà khô, ví dụ, hỗn hợp khí/hơi nước, hỗn hợp khí hơi nước phù hợp cần được sử dụng và ghi nhận như một ngoại lệ của tiêu chuẩn này;
- c) Nhiệt độ tiếp xúc tối đa: theo khuyến cáo của nhà sản xuất; nếu nhà sản xuất không công bố, phải sử dụng nhiệt độ 140 °C;
- d) Thời gian tiếp xúc tối thiểu: ≥ 30 min.

CHÚ THÍCH Các điều kiện này được lựa chọn đại diện cho thử thách thực tế đối với chất mang trong khi vẫn nằm trong giới hạn thực tiễn của quá trình tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm.

8 Chất mang đã cấy và các chất chỉ thị sinh học

Áp dụng yêu cầu của TCVN 9855-1 (ISO 11138-1).

9 Mật độ và sức đề kháng

9.1 Đặc trưng sức đề kháng do nhà sản xuất công bố phải tuân theo TCVN 9855-1:2013 (ISO 11138-1:2006), Điều 6.4.

9.2 Số lượng có khả năng sống phải được công bố với số gia $\leq 0,1 \times 10^n$ trên mỗi đơn vị (ví dụ mỗi ml dịch treo, mỗi chất mang đã cấy, hoặc mỗi chất chỉ thị sinh học).

9.3 Đối với chất mang đã cấy hoặc các chất chỉ thị sinh học, số lượng có khả năng sống phải $\geq 1,0 \times 10^5$.

9.4 Sức đề kháng được biểu thị bằng giá trị D theo phút ở nhiệt độ 121 °C. Giá trị D của mỗi lô chất chỉ thị sinh học hoặc chất mang đã cấy phải được công bố theo phút đến một chữ số thập phân ở nhiệt độ 121 °C.

9.5 Dịch treo, chất mang đã cấy hoặc chất chỉ thị sinh học chứa các bào tử *Geobacillus stearothermophilus* phải có giá trị $D_{121} \geq 1,5$ min khi được thử nghiệm theo các điều kiện nêu trong Phụ lục A. Các vi sinh vật khác phải có giá trị D hỗ trợ cho ứng dụng. Giá trị z của vi sinh vật trong dịch treo, trên chất mang đã cấy hoặc trong chất chỉ thị sinh học cần được xác định ở không dưới ba mức nhiệt độ, trong phạm vi 110 °C đến 130 °C. Các số liệu này phải được sử dụng để tính toán giá trị z , giá trị này phải ≥ 6 °C (xem Phụ lục B).

9.6 Sức đề kháng của một chất chỉ thị sinh học có thể cũng được chỉ rõ bằng thuật ngữ giá trị F_{BIO} (xem TCVN 9855-1:2013 (ISO 11138-1:2006), Điều 3.7).

Đặc trưng sức đề kháng quy định trong tiêu chuẩn này và bất kỳ phần nào của TCVN 9855 (ISO 11138) áp dụng cho các điều kiện thử nghiệm cụ thể trong các tiêu chuẩn.

9.7 Giá trị D được xác định theo các phương pháp nêu trong các Phụ lục C và D của TCVN 9855-1:2013 (ISO 11138-1:2006).

9.8 Việc xác định giá trị D và các đặc trưng đáp ứng tồn tại - tiêu diệt cần sử dụng thiết bị đo các tổ hợp đối chứng áp dụng các thông số quá trình sử dụng thiết bị đo các tổ hợp đối chứng (xem Phụ lục A)

9.9 Cửa sổ tồn tại - tiêu diệt có thể được tính toán bằng công thức trong TCVN 9855-1:2013 (ISO 11138-1:2006), Phụ lục E.

CHÚ THÍCH Thông tin này có thể có giá trị đối với người sử dụng khi so sánh các lô khác nhau của cùng một nhà sản xuất.

VÍ DỤ

Sử dụng các công thức trong TCVN 9855-1:2013 (ISO 11138-1:2006), Phụ lục E với các yêu cầu về mật độ tối thiểu và giá trị D tối thiểu quy định trong tiêu chuẩn này, đặc trưng đáp ứng tồn tại - tiêu diệt là:

- ở nhiệt độ 121 °C: thời gian tồn tại $\geq 4,5$ min và thời gian tiêu diệt $\leq 13,5$ min;

Phụ lục A

(quy định)

Phương pháp xác định sức đề kháng với tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm

A.1 Tổng quan

Phương pháp này cần sử dụng một máy thử nghiệm gọi là thiết bị đo các tổ hợp đối chứng. Các quy định kỹ thuật cho các thông số quá trình của thiết bị đo các tổ hợp đối chứng đối với các quá trình tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm được trình bày trong tiêu chuẩn ISO 18742.

Các yêu cầu cụ thể liên quan đến phương pháp thử được trình bày trong Điều A.2.

A.2 Phương pháp

A.2.1 Cho mẫu thử vào các khay chứa mẫu thử phù hợp.

A.2.2 Làm nóng trước buồng chứa thiết bị đo các tổ hợp đối chứng tới nhiệt độ vận hành yêu cầu, ví dụ: $121\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

A.2.3 Đặt các khay chứa mẫu thử vào trong buồng chứa, đóng buồng chứa và bắt đầu chu kỳ xử lý.

A.2.4 Tiến hành vận hành theo thứ tự sau:

- Bước 1: Hút chân không buồng chứa đến điểm cài đặt là $4,5\text{ kPa} \pm 1\text{ kPa}$ trong vòng 2 min.
- Bước 2: Cho hơi nước vào buồng chứa để đạt được nhiệt độ và áp suất theo yêu cầu trong vòng 10 s. Đối với mẫu có thời gian tiếp xúc bằng 0 min, không cho hơi nước vào.
- Bước 3: Duy trì các điều kiện này trong khoảng thời gian tiếp xúc theo yêu cầu.
- Bước 4: Ở cuối giai đoạn tiếp xúc, hút chân không buồng cho tới khi đạt áp suất 10 kPa hoặc thấp hơn trong vòng 1 min. Thời gian cần thiết để đạt nhiệt độ dưới $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ phải ít hơn 5 s. Sau đó cho không khí lọc vào cho tới khi đạt áp suất của phòng.
- Bước 5: Khi kết thúc quá trình trên, lấy các mẫu ra khỏi buồng và làm mát nhanh. Chuyển các mẫu vào môi trường nuôi cấy rồi ủ. (xem TCVN 9855-1:2013 (ISO 11138-1:2006, Điều 7)).

A.2.5 Nên ghi chép lại giai đoạn chuyển mẫu, khoảng thời gian tương tự phải áp dụng cho tất cả các phép thử.

A.3 Xác định sức đề kháng

Đặc trưng sức đề kháng phải được xác định theo các phương pháp nêu trong Phụ lục C, D và E của TCVN 9855-1:2013 (ISO 11138-1:2006).

Phụ lục B

(quy định)

Tính giá trị z và hệ số tương quan, r^2

B.1 Sử dụng tất cả các số liệu từ Phụ lục C hoặc D của TCVN 9855-1:2013 (ISO 11138-1:2006), vẽ đồ thị \log_{10} của giá trị D theo nhiệt độ tiếp xúc tính bằng độ Celsius. Giá trị z bằng nghịch đảo âm của độ dốc đồ thị đường thẳng phù hợp nhất, xác định bằng phân tích hồi quy.

CHÚ THÍCH Xem Điều 9.5 về các yêu cầu liên quan đến việc tính giá trị z và hệ số tương quan, r^2 .

B.2 Độ dốc của biểu đồ đường thẳng phù hợp nhất được tính toán theo công thức sau:

$$m = \frac{(nG) - (AB)}{(nC) - (A^2)}$$

Trong đó

m là độ dốc của đồ thị tuyến tính phù hợp nhất;

n là số cặp giá trị D/nhiệt độ;

$$G = \sum [t(\log_{10} y)]$$

$$A = \sum (t)$$

$$B = \sum (\log_{10} y)$$

$$C = \sum (t^2)$$

Các số liệu cần thiết để tính toán được trình bày trong Bảng B.1

Bảng B.1 — Ví dụ các số liệu được thu thập cho phân tích hồi quy

Giá trị D (min) = y	Thời gian tiếp xúc (°C)=t	$\log_{10}y$	t^2	$t(\log_{10}y)$	$(\log_{10}y)^2$
y_1	t_1	$\log_{10}y_1$	$(t_1)^2$	$t_1(\log_{10}y_1)$	$(\log_{10}y_1)^2$
y_2	t_2	$\log_{10}y_2$	$(t_2)^2$	$t_2(\log_{10}y_2)$	$(\log_{10}y_2)^2$
y_3	t_3	$\log_{10}y_3$	$(t_3)^2$	$t_3(\log_{10}y_3)$	$(\log_{10}y_3)^2$
y_n	t_n	$\log_{10}y_n$	$(t_n)^2$	$t_n(\log_{10}y_n)$	$(\log_{10}y_n)^2$
	$A = \sum_{i=1}^{i=n} t_i$	$B = \sum_{i=1}^{i=n} \log_{10} y_i$	$C = \sum_{i=1}^{i=n} (t_i)^2$	$G = \sum_{i=1}^{i=n} [t_i (\log_{10} y_i)]$	$E = \sum_{i=1}^{i=n} (\log_{10} y_i)^2$
Biến số quy định	A	B	C	G	E

B.3 Bảng B.2 trình bày các ví dụ tính toán độ dốc của đồ thị tuyến tính phù hợp nhất.

Bảng B.2 — Các ví dụ về tính toán độ dốc

Giá trị D (phút) = y	Thời gian tiếp xúc (°C)=t	$\log_{10}y$	t^2	$t(\log_{10}y)$	$(\log_{10}y)^2$
$y_1=2,0$	$t_1=121$	$\log_{10}y_1=0,301\ 0$	$(t_1)^2=146\ 41$	$t_1(\log_{10}y_1)=36,421\ 0$	$(\log_{10}y_1)^2=0,090\ 6$
$y_2=1,1$	$t_2=124$	$\log_{10}y_2=0,041\ 4$	$(t_2)^2=153\ 76$	$t_2(\log_{10}y_2)=5,133\ 6$	$(\log_{10}y_2)^2=0,001\ 7$
$y_3=0,4$	$t_3=129$	$\log_{10}y_3=0,397\ 9$	$(t_3)^2=166\ 41$	$t_3(\log_{10}y_3)=51,329\ 1$	$(\log_{10}y_3)^2=0,158\ 3$
	$A = \sum_{i=1}^{i=3} t_i$	$B = \sum_{i=1}^{i=3} \log_{10} y_i$	$C = \sum_{i=1}^{i=3} (t_i)^2$	$G = \sum_{i=1}^{i=3} [t_i (\log_{10} y_i)]$	$E = \sum_{i=1}^{i=3} (\log_{10} y_i)^2$
Biến số quy định	$A=374$	$B=-0,055\ 5$	$C=46\ 658$	$G=-9,744\ 5$	$E=0,250\ 6$

$$m = \frac{(nG) - (AB)}{(nC) - (A^2)}$$

$$m = \frac{[(3)(-9,7745)] - [(374)(-0,0555)]}{[(3)(46658)] - (374^2)}$$

$$m = \frac{(-29,3235) - (-20,7570)}{(139974) - (139876)} = \frac{-8,5665}{98} = -0,0874$$

B.4 Giá trị z bằng nghịch đảo âm của độ dốc và được tính toán theo công thức sau:

$$\text{giá trị } z = -1 \frac{1}{m}$$

Áp dụng công thức tính độ dốc trên, kết quả giá trị z tính được là:

$$z = -1 \left(\frac{1}{-0,0874} \right) = 11,4416^\circ C \text{ làm tròn đến một chữ số thập phân}$$

$$z = 11,4^\circ C$$

B.5 Hệ số tương quan, r^2 , cho sự tuyến tính của đồ thị giá trị z được tính toán theo công thức sau:

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

Trong đó tất cả các biến được xác định như trong phần B.2 và $E = \sum (\log_{10} y)^2$

B.6 Các ví dụ tính hệ số tương quan tuyến tính của biểu đồ giá trị z như sau:

Sử dụng các giá trị trong bảng B.2,

$$r^2 = \frac{[(-9,7745) - [(374)(-0,0555/3)]]^2}{[(46658) - (374^2/3)][(0,2506) - (0,0555^2/3)]}$$

$$r^2 = \frac{[(-9,7745) - [(-6,9190)]]^2}{[(46658) - (46625,3333)][(0,2506) - (0,0010)]} = \frac{(-2,8555)^2}{(32,6667)(0,2496)} = \frac{8,1539}{8,1536} = 1,0000$$

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 8583:2010 (ISO 14161:2009), *Tiệt khuẩn sản phẩm chăm sóc sức khỏe – Chất thử thị sinh học – Hướng dẫn lựa chọn, sử dụng và trình bày kết quả*
- [2] ISO 17665-1, *Sterilization of health care products — Moist heat — Part 1: Requirements for the development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices (Tiệt khuẩn sản phẩm chăm sóc sức khỏe - Ẩm nhiệt độ cao - Phần 1: Yêu cầu đối với việc triển khai, đánh giá xác nhận và kiểm soát thường quy quá trình tiệt khuẩn thiết bị y tế).*
-