

# BI一定要培養7天嗎？

生物指示劑 (Biological Indicator, BI) 經過滅菌週期後，須將孢子培養在特定時間、溫度下，並觀測生長培養基中是否長菌，以驗證滅菌過程的無菌性。在 ISO 11138-1以及 USP <55> 中皆規範了 BI 培養時間為7天；在1986年美國 FDA 首先發布了BI 培養時間少於7天的指南，縮短 BI 培養時間 (Reduced Incubation Time, RIT) 意味著能讓使用者更快得知BI培養結果，進而可以加速後續的作業流程，而經過多年的測試，在2021年 ISO 11138-8規範了 RIT 驗證的方法，這幾乎和 FDA 指南相同 (表一)。RIT 驗證的目的是為了確認經過亞致死滅菌過程的受損孢子的生長時間。根據 FDA 和 ISO 的 RIT 驗證方法，製造商先以專用滅菌器 (Biological Indicator Evaluator Resistometer, BIER) 將3個不同批次、每批次至少100支BI暴露在亞致死滅菌條件下，並培養7天。RIT檢測呈陽性的BI數量 (分子) 和在第7天檢測呈陽性的BI數量 (分母) 的比例至少大於97%，而且每批的陽性 BI 總數須占 BI 總數比例30-80% (FDA) 或30-95% (ISO)。

	FDA <sup>3</sup>	ISO 11138-8 <sup>1</sup>
Year originally published	1986	2021
Minimum number of BIs required	100 units from each of 3 BI lots	100 units from each of 3 BI lots
Modalities	Not addressed	Moist Heat and Ethylene Oxide only
Required test vessel	No requirement but "It is preferable to run BIs in a device load"	Resistometer meeting ISO 18472 <sup>3</sup> requirements or "a sterilizer process where all parameters are specified, controlled, and repeatable"
Required % positive fraction negative results	30-80%	30-95%
Minimum correlation between RIT and day 7 results	≥ 97%	≥ 97%

表一 FDA和ISO的RIT驗證方法比較表

以 Mesa Labs 自含式生物指示劑 (Self-Contained Biological Indicators, SCBI) EZTest Steam BI 為例，RIT 為24小時。依據Mesa Labs 技術報告的 RIT 驗證數據 (表二)，可以得知在 RIT 24小時檢測呈陽性的BI數量 (分子) 和在第7天檢測呈陽性的 BI數量 (分母) 的比例，這6個批次皆大於97%，代表 EZTest Steam BI 的 RIT 為24小時是有效的。

**Table 1: Results of the Reduced Incubation Time Study at 121° C**

Biological Indicator Lot Number	# Positive 24 Hours	# Positive 7 Days	Percent Positive <sup>(1)</sup>
S-234	54	54	100%
S-246	72	73	98.6%
S-269	67	67	100%
S-278	45	46	97.8%
S-296	64	64	100%
S-302	57	57	100%

<sup>(1)</sup>Acceptable protocol results require greater than 97% of the base number of biological indicators to test positive. This % is calculated by using the number of positive biological indicators on day 7 as the base number (denominator data) and using the number of positive biological indicators at 24 hours as the numerator.

表二 EZTest Steam BI RIT 驗證數據

隨著 ISO 11138-8規範的發布，國際上開發和認可用於驗證生物指示劑 RIT 的測試方法已經建立，但目前 ISO 僅適用於濕熱和環氧乙烷滅菌過程，意味著已成功透過 FDA 方法驗證的其他滅菌方式 (例如乾熱)，BI 製造商將繼續根據 FDA 方法驗證這些 BI，並可能以根據 ISO 驗證方法收集的數據來補充其聲明，畢竟這兩種方法幾乎相同。現在可以依據法規和驗證方法縮短BI 的培養時間，但 FDA Center for Device and Radiological Health (CDRH) 建議藥廠或製造商仍須將 BI 培養7天。