

性项下的有关内容对准确度进行评价。

## 2. 精密度

微生物定量检验的精密度是指在检验范围内, 对同一个均匀的样品多次重复取样测定, 其检验结果的一致程度, 通常采用标准偏差或相对标准偏差来表示, 也可以采用其他适宜的方式。

精密度验证的方法是: 制备试验菌的菌悬液, 菌悬液的浓度应选择为能够准确读数的最高浓度, 然后系列稀释至较低浓度(如小于 10cfu/ml)。每个试验菌选择其中至少 5 个浓度的菌悬液进行检验。每一个浓度至少应进行 10 次重复检验, 以便能够采用统计分析方法得到标准偏差或相对标准偏差。一般情况下, 可以接受的相对标准偏差(RSD)应不大于 35%。不考虑特殊的检验结果, 替代方法的相对标准偏差(RSD)应不大于药典方法。例如, 药典菌落计数平皿法其可接受的相对标准偏差(RSD)与含菌浓度的关系见表 2。

表 2 不同含菌浓度下预期的相对标准偏差

cfu/皿	预期 RSD
<10	<35%
10~30	<25%
30~300	<15%

## 3. 专属性

微生物定量检验的专属性是指通过检测适宜的试验菌, 以证明检验方法与其设定目的相适应的能力。例如, 菌落计数平皿法其设定目的在于检出一定数量的微生物, 则其专属性验证应证明当样品中存在一定数量的试验菌时, 通过平皿法检验, 能够检出试验菌, 而样品的存在不会对结果造成影响。专属性验证时, 应能够设计出可能使替代方法出现假阳性的实验模型来挑战替代方法, 从而确认替代方法的适用性。当替代方法不依赖微生物生长出菌落或出现混浊就可以定量时(如不需要增菌或在 1~50cfu 范围内就可直接测定菌数的定量方法), 以上验证方式就显得更为重要。

## 4. 定量限

微生物定量检验的定量限是指样品中能被准确定量测定的微生物最低数量。由于无法得到含有已知微生物数量的实验样品, 因此, 在定量限验证时, 应选择在检验范围内至少 5 个菌浓度, 每个浓度重复取样测定不少于 5 次, 替代方法的定量限不得大于药典方法。需要注意的是, 由于细菌计数和菌落数服从泊松分布, 可能存在计数结果的误差, 因此替代方法的定量限仅需证实在相近的低限度下其灵敏度至少相当于药典方法。

定量限验证的方法是: 在检验范围的低限制备 5 份不同含菌浓度的菌悬液, 每份菌悬液分别用药典方法和替代方法进行不少于 5 次检验, 采用统计方法比较替代方法的检验结果与药典方法结果的差异, 从而评价替代方法的定量限。

## 5. 线性

微生物定量检验的线性是指在一定范围内, 检验结果与样品中微生物数量成比例关系的程度。线性验证时必须覆盖能够准确测定的所有浓度范围。每株试验菌应选择至少 5 个浓度, 每个浓度至少测定 5 次。根据以上实验数据, 以检验结果为因变量, 以样品中微生物的预期数量为自变量进行线性回归分析, 计算相关系数  $r$ 。当相关系数不能准确评估线性时, 只能确定简单大约的关系值。替代方法的相关系数不得低于 0.95。

## 6. 范围

微生物定量检验的范围是指能够达到一定的准确度、精密度和线性, 检验方法适用的高低限浓度或数量的区间。

## 7. 重现性

微生物定量检验的重现性是指相同的样品在正常的实验条件(如实验地点、实验人员、仪器、试剂的批次等)发生变化时, 所得检验结果的精密度。重现性可视为微生物检验方法在检验结果上抵抗操作和环境变化的能力。方法使用者应优先测定该验证参数。在样品中接种一定数量的试验菌(接种量应在定量限以上), 采用药典方法和替代方法, 分别由不同人员, 在不同时间, 使用不同的试剂(或仪器)进行检验, 对检验结果进行统计分析, 以相对标准偏差(RSD)来评价两种方法的重现性差异。验证过程中, 应关注样品的一致性。

## 8. 耐用性

微生物定量检验的耐用性是指当方法参数有小的刻意变化时, 检验结果不受影响的能力, 为方法正常使用时的可靠性提供依据。方法使用者应优先测定该验证参数。与药典方法比较, 若替代方法检验条件较为苛刻, 则应在方法中加以说明。替代方法与药典方法的耐用性比较不是必须的, 但应单独对替代方法的耐用性进行评价, 以便使用者了解方法的关键操作点。

# 9202 非无菌产品微生物限度 检查指导原则

为更好应用非无菌产品微生物限度检查: 微生物计数法(通则 1105)、非无菌产品微生物限度检查: 控制菌检查法(通则 1106)及非无菌药品微生物限度标准(通则 1107), 特制定本指导原则。

非无菌药品中污染的某些微生物可能导致药物活性降低, 甚至使药品丧失疗效, 从而对患者健康造成潜在的危害。因此, 在药品生产、贮藏和流通各个环节中, 药品生产企业应严格遵循 GMP 的指导原则, 以降低产品受微生物污染程度。非无菌产品微生物计数法、控制菌检查法及药品微生物限度标准可用于判断非无菌制剂及原料、辅料等是否符合药典的规定, 也可用于指导制剂、原料、辅料等微生物质量标准的制定, 及指导生产过程中间产品微生物质量的监

控。本指导原则将对微生物限度检查方法和标准中的特定内容及应用做进一步的说明。

1. 非无菌产品微生物限度检查过程中, 如使用表面活性剂、灭活剂及中和剂, 在确定其能否适用于所检样品及其用量时, 除应证明该试剂对所检样品的处理有效外, 还须确认该试剂不影响样品中可能污染的微生物的检出(即无毒性), 因此无毒性确认试验的菌株不能仅局限于验证试验菌株, 而应当包括产品中可能污染的微生物。

2. 供试液制备方法、抑菌成分的消除方法及需氧菌总数、霉菌和酵母菌总数计数方法应尽量选择微生物计数方法中操作简便、快速的方法, 同时, 所选用的方法应避免损伤供试品中污染的微生物。对于抑菌作用较强的供试品, 在供试品溶液性状允许的情况下, 应尽量选用薄膜过滤法进行试验。

3. 对照培养基系指按培养基处方特别制备、质量优良的培养基, 用于培养基适用性检查, 以保证药品微生物检验用培养基的质量。对照培养基由中国食品药品检定研究院研制及分发。

4. 进行微生物计数方法适用性试验时, 若因没有适宜的方法消除供试品中的抑菌作用而导致微生物回收的失败, 应采用能使微生物生长的更高稀释级供试液进行方法适用性试验。此时更高稀释级供试液的确认要从低往高的稀释级进行, 最高稀释级供试液的选择根据供试品应符合的微生物限度标准和菌数报告规则而确定, 如供试品应符合的微生物限度标准是 1g 需氧菌总数不得过  $10^3$  cfu, 那么最高稀释级是  $1: 10^3$ 。

若采用允许的最高稀释级供试液进行方法适用性试验还存在 1 株或多株试验菌的回收率达不到要求, 那么应选择回收情况最接近要求的方法进行供试品的检测。如某种产品对某试验菌有较强的抑菌性能, 采用薄膜过滤法的回收率为 40%, 而采用培养基稀释法的回收率为 30%, 那么应选择薄膜过滤法进行该供试品的检测。在此情况下, 生产单位或研制单位应根据原辅料的微生物质量、生产工艺及产品特性进行产品的风险评估, 以保证检验方法的可靠性, 从而保证产品质量。

5. 控制菌检查法没有规定进一步确证疑似致病菌的方法。若供试品检出疑似致病菌, 确证的方法应选择已被认可的菌种鉴定方法, 如细菌鉴定一般依据《伯杰氏系统细菌学手册》。

6. 药品微生物检查过程中, 如果药典规定的微生物计数方法不能对微生物在规定限度标准的水平上进行有效的计数, 那么应选择经过验证的、且检测限尽可能接近其微生物限度标准的方法对样品进行检测。

7. 用于手术、烧伤及严重创伤的局部给药制剂应符合无菌检查法要求。对用于创伤程度难以判断的局部给药制剂, 若没有证据证明药品不存在安全性风险, 那么该药品应符合无菌检查法要求。

8. 药品微生物限度标准中, 药用原料、辅料及中药提取物仅规定检查需氧菌总数、霉菌和酵母菌总数。因此, 在制定其微生物限度标准时, 应根据原辅料的微生物污染特性、用途、相应制剂的生产工艺及特性等因素, 还需控制具有潜在危害的致病菌。

9. 对于《中国药典》2015 年版制剂通则项下有微生物限度要求的制剂, 微生物限度为必检项目; 对于只有原则性要求的制剂(如部分化学药品的: 丸剂、口服片剂、胶囊剂、颗粒剂), 应对其被微生物污染的风险进行评估。在保证产品对患者安全的前提下, 通过回顾性验证或在线验证积累的微生物污染数据表明每批均符合微生物限度标准的要求, 那么可不进行批批检验, 但必须保证每批最终产品均符合微生物限度标准规定。上述固体制剂若因制剂本身及工艺的原因导致产品易受微生物污染, 应在品种项下列出微生物限度检查项及微生物限度标准。

10. 制定药品的微生物限度标准时, 除了依据“非无菌药品微生物限度标准(通则 1107)”外, 还应综合考虑原料来源、性质、生产工艺条件、给药途径及微生物污染对患者的潜在危险等因素, 提出合理安全的微生物限度标准, 如特殊品种以最小包装单位规定限度标准。必要时, 某些药品为保证其疗效、稳定性及避免对患者的潜在危害性, 应制定更严格的微生物限度标准, 并在品种项下规定。

## 9203 药品微生物实验室质量 管理指导原则

药品微生物实验室质量管理指导原则用于指导药品微生物检验实验室的质量控制。

药品微生物的检验结果受很多因素的影响, 如样品中微生物可能分布不均匀、微生物检验方法的误差较大等。因此, 在药品微生物检验中, 为保证检验结果的可靠性, 必须使用经验证的检测方法并严格按照药品微生物实验室质量管理指导原则要求进行检验。

药品微生物实验室质量管理指导原则包括以下几个方面: 人员、培养基、试剂、菌种、环境、设备、样品、检验方法、污染废弃物处理、检测结果质量保证和检测过程质量控制、实验记录、结果的判断和检测报告、文件等。

### 人 员

从事药品微生物试验工作的人员应具备微生物学或相近专业知识的教育背景。

实验人员应依据所在岗位和职责接受相应的培训, 在确认他们可以承担某一试验前, 他们不能独立从事该项微生物试验。应保证所有人员在上岗前接受胜任工作所必需的设备操作、微生物检验技术等方面的培训, 如无菌操作、培养基制备、消毒、灭菌、注平板、菌落计数、菌种的转种、传代和保藏、微生物检查方法和鉴定基本技术等, 经考核合格后