

制药企业质量控制 药品微生物检验无菌操作技术要求

2025 - 07 - 10 发布

2025 - 10 - 10 实施

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 基本要求 1

5 实验准备 2

6 实验过程 2

7 实验记录 3

参考文献 4

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。

本文件由山西省药品监督管理局提出、组织实施和监督实施。

山西省市场监督管理局对本文件的组织实施情况进行监督检查。

本文件由山西省药品质量管理标准化技术委员会（SXS/TC32）归口。

本文件起草单位：山西省检验检测中心（山西省标准计量技术研究院）、山西锦烁生物医药科技有限公司。

本文件主要起草人：曲萍、刘玮、邢瑶瑶、武瑞杰、李琛、张璇、张倩、田小鹏、崔小芳、甘雨鑫、邓自新、王春芳、罗晋萍、杨国伟。

制药企业质量控制 药品微生物检验无菌操作技术要求

1 范围

本文件规定了药品微生物检验无菌操作在环境、仪器设备、人员、实验操作等方面的技术要求。
本文件适用于制药企业药品微生物检验。

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
药品生产质量管理规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

微生物检验

通过微生物的分离培养、生理生化反应、显微镜检查等方法对样品中的微生物进行检验。检验方法主要分为两种：定性试验和定量试验。定性试验是测定样品中是否存在活的微生物；定量试验是测定样品中存在活的微生物数量。

3.2

无菌操作

在操作过程中人为地排除一切不需要的微生物，是微生物学的基本技术。

4 基本要求

4.1 微生物检验应在符合《中华人民共和国药典》要求的环境中进行。微生物实验室的布局应充分考虑实验设备安装、良好微生物实验室操作规范和实验室安全的要求。

4.2 微生物实验室应包括洁净区和生物安全控制区，生物安全控制区应配备满足要求的生物安全柜。洁净区按照《中华人民共和国药典》要求进行日常监测和定期监测。洁净区的空气过滤系统应定期维护和更换，紫外线灯应根据紫外线强度检测结果或其使用寿命参数及时更换灯管，做好相关记录。

4.3 微生物实验室应制定相应的标准操作规程，包括洁净区管理，仪器设备管理、培养基管理、菌种管理、消毒灭菌程序、实验操作等，洁净区出入程序、洁净区自净时间、消毒灭菌程序、培养基贮藏条件等关键环节均应进行验证。

4.4 微生物实验室配置的仪器设备应能满足微生物检验工作的需要。关键仪器设备应定期进行检定校准；高压蒸汽灭菌器按国家有关规定管理并定期检验，阳性高压蒸汽灭菌器应独立配备；仪器设备脱离实验室或检修后，恢复使用前应重新确认其性能符合要求。

4.5 关键仪器设备的使用和日常监控应有记录，包含但不限于以下内容：

- 应对培养箱、冰箱、超低温冰箱、高压蒸汽灭菌器的关键参数(如温度、压力)进行连续观测；
- 应定期对超净工作台、生物安全柜进行监测；
- 无菌检查用隔离系统（以下统称隔离系统）在操作周期内应对设备运行状态和内部环境指标进行监测，确认其无菌维持能力；
- 每次无菌检查开始前及结束后，宜对隔离系统的舱体和手套/袖套的完整性进行检测，检测频率也可根据风险评估确定。

4.6 应定期对仪器设备进行维护和性能验证，并记录。容易污染微生物的仪器设备应定期清洁和消毒；超净工作台单次使用最高时长应经过验证；灭菌设备应定期使用生物指示剂检查灭菌效果，指示剂放在不易达到灭菌的部位。

4.7 从事微生物检验工作的人员（以下统称检验人员）应具备微生物学或相近专业知识的教育背景。检验人员应经过相关培训，培训内容包括实验技术、仪器操作、质量管理、生物安全和卫生等。

4.8 非简单压力容器操作人员应持有特种设备作业人员证书。

4.9 应对检验人员进行健康管理，并建立健康档案。检验人员上岗前应进行健康检查且以后每年至少进行一次健康检查。

4.10 微生物实验室仅限经批准的人员进入。任何进入洁净区的人员均应按照规定更衣，无菌衣的选材、式样及穿戴方式应符合《药品生产质量管理规范》的要求。进入洁净区时不应化妆和佩带饰物。

5 实验准备

5.1 开启洁净区空气净化系统、超净工作台风机和紫外线灯，进行自净，使环境达到相应洁净度。

5.2 采用经验证的灭菌程序对实验物品正确实施灭菌，且有明显灭菌标识。

5.3 如需无菌取样，应采用无菌操作技术在具有无菌条件的特定区域中进行。取样的任何消毒过程不应影响样品中微生物的检出。

5.4 如使用隔离系统，将样品和实验物品等预清洁后放入舱体内，开启灭菌程序。

6 实验过程

6.1 人和物应按照经过验证的程序进入洁净区，控制进入人数并尽量减少人员走动。

6.2 双手消毒后戴一次性无菌手套，在超净工作台中央无菌区域内进行操作。实验操作应注意以下要求：

- 保持工作台面整洁，必要物品可暂时放置，其他实验物品用完后及时移出，以利气体流通；
- 在酒精灯火焰旁的无菌区操作，动作轻缓，幅度宜小，避免不必要的动作；
- 用适宜方法对直接接触样品的包装表面进行消毒后打开包装；
- 加稀释液时，不应触碰样品瓶（袋）口；
- 进行 10 倍递增稀释时，刻度吸管移至下一级稀释管的内壁近液面处（勿接触液面），缓慢放出样液，更换新的刻度吸管进行吹打混匀（不应过于剧烈），也可置混匀器上混匀；
- 一支吸管只能吸取一种溶液，不应交叉使用；
- 加液时如吸管接触瓶口、瓶外壁，应立即弃用，更换另一支无菌吸管继续实验；
- 稀释液和培养基温度不应超过 45℃；固体培养基灭菌后只可再融化 1 次，融化后在 45℃～50℃ 保温时间不应超过 8 小时；

- 倾倒培养基时瓶口不应接触皿，每皿（直径 90mm）注入的培养基量以 15mL～20mL 为宜；
- 不应在打开容器的正上方操作；
- 开启任何一次性无菌耗材都应在超净工作台内完成，避免与任何物品触碰。

6.3 每次实验均应设置阴性对照。阳性菌操作应在生物安全控制区完成，不应与待检样品共用操作空间；染菌的吸管、玻片等器材应及时置于盛有消毒剂的消毒桶内消毒，待实验结束后进行高压蒸汽灭菌（121℃，30min）处理。

6.4 实验过程中应同时进行沉降菌在线监测。无菌检查结束后至实施消毒措施前，应对检验人员的双手 5 指手套、实验台面等关键控制点进行表面微生物测试。

6.5 实验结束，将实验物品带出洁净区，对工作台面和地面进行消毒，自净后关闭空气净化系统。

6.6 应排除任何可能导致微生物污染的活动。出现微生物生长的培养物不应在洁净区内打开，对染菌的样品及培养物应有效隔离。一些样品若需要证明微生物的生长或进一步分析培养物特性，应在生物安全控制区域进行。病原微生物的分离鉴定工作应在相应级别的生物安全实验室进行。

7 实验记录

7.1 实验记录应至少包括以下内容：

- 实验日期；
- 样品名称；
- 依据的质量标准或标准操作规程；
- 实验参数（如环境条件、关键仪器设备信息、培养基名称和批号、菌种信息、培养温度等）；
- 实验过程；
- 实验结果；
- 实验人员和复核人员的签名等。

7.2 实验记录的修改应能追溯至前一版本，保存原始及修改后的数据和文档，包括修改日期、修改内容和修改人员。

参 考 文 献

- [1] GB 19489-2008 实验室 生物安全通用要求
 - [2] TSG 21-2016 固定式压力容器安全技术监察规程（含第 1 号修改单）
 - [3] 《中华人民共和国药典》（2020 年版）四部
 - [4] 《药品生产质量管理规范》（2010 年修订）
-