

附件:

1101 无菌检查法

无菌检查法系用于检查药典要求无菌的药品、~~生物制品~~、医疗器械、原料、辅料及其他品种是否无菌的一种方法。若供试品符合无菌检查法的规定，仅表明了供试品在该检验条件下未发现微生物污染。

无菌检查应在无菌条件下进行，试验环境必须达到无菌检查的要求，检验全过程应严格遵守无菌操作，防止微生物污染，防止污染的措施不得影响供试品中微生物的检出。单向流空气区、工作台面及受控环境应定期~~按医药工业洁净室（区）悬浮粒子、浮游菌和沉降菌的测试方法的现行国家标准进行洁净度~~确认。隔离系统应定期按相关的要求进行验证，其内部环境的洁净度须符合无菌检查的要求。日常检验需对试验环境进行监测~~与控制~~。

培养基

硫乙醇酸盐流体培养基主要用于厌氧菌的培养，也可用于需氧菌培养；胰酪大豆胨液体培养基用于真菌和需氧菌的培养。

培养基的制备及培养条件

培养基可按以下处方制备，亦可使用按该处方生产的符合规定的脱水培养基或商品化的预制培养基。配制后应采用验证合格的灭菌程序灭菌。制备好的培养基若不即时使用，应置于无菌密闭容器中，在 2~25℃~~避光~~的环境下保存，并在经验证的保存期内使用。

1. 硫乙醇酸盐流体培养基

胰酪胨	15.0 g
酵母浸出粉	5.0 g
葡萄糖/无水葡萄糖	5.5 g/5.0 g
L-胱氨酸	0.5 g
硫乙醇酸钠(或硫乙醇酸)	0.5 g (0.3 ml)
氯化钠	2.5 g
新配制的 0.1% 刃天青溶液	1.0 ml

28 琼脂 0.75 g

29 水 1000 ml

30 除葡萄糖和刃天青溶液外，取上述成分混合，微温溶解，调节 pH 为弱碱性，
31 煮沸，滤清，加入葡萄糖和刃天青溶液，摇匀，调节 pH，使灭菌后在 25℃ 的 pH 值
32 为 7.1 ± 0.2 。分装至适宜的容器中，其装量与容器高度的比例应符合培养结束后培养
33 基氧化层（粉红色）不超过培养基深度的 1/2。灭菌。在供试品接种前，培养基氧化
34 层的高度不得超过培养基深度的 1/3，否则，须经 100℃ 水浴或流通蒸汽加热至粉红
35 色消失（不超过 20 分钟），迅速冷却，只限加热一次，并防止被污染。

36 除另有规定外，硫乙醇酸盐流体培养基置 30~35℃ 培养。对于含有汞类防腐剂，
37 且无法采用薄膜过滤法处理的供试品，可选用其他经验证的培养体系进行无菌检查。

38 2. 胰酪大豆胨液体培养基

39 胰酪胨 17.0 g

40 大豆木瓜蛋白酶水解物 3.0 g

41 葡萄糖/无水葡萄糖 2.5 g/2.3 g

42 氯化钠 5.0 g

43 磷酸氢二钾 2.5 g

44 水 1000 ml

45 除葡萄糖外，取上述成分，混合，微温溶解，滤过，调节 pH 使灭菌后在 25℃
46 的 pH 值为 7.3 ± 0.2 ，加入葡萄糖，分装，灭菌。

47 胰酪大豆胨液体培养基置 20~25℃ 培养。

48 3. 中和或灭活用培养基

49 按上述硫乙醇酸盐流体培养基或胰酪大豆胨液体培养基的处方及制法，在培养
50 基灭菌前或使用前加入适宜的中和剂、灭活剂或表面活性剂，其用量同方法适用性
51 试验。

52 4. 0.5%葡萄糖肉汤培养基（用于硫酸链霉素等抗生素的无菌检查）

53 胨 10.0 g

54 牛肉浸出粉 3.0 g

55 葡萄糖 5.0 g

56 氯化钠 5.0 g

57 水 1000 ml

58 除葡萄糖外，取上述成分混合，微温溶解，调节 pH 为弱碱性，煮沸，加入葡萄
59 糖溶解后，摇匀，滤清，调节 pH 使灭菌后在 25℃的 pH 值为 7.2 ± 0.2 ，分装，灭菌。

60 5. 胰酪大豆胨琼脂培养基

61 胰酪胨 15.0 g

62 大豆木瓜蛋白酶水解物 5.0 g

63 氯化钠 5.0 g

64 琼脂 15.0 g

65 水 1000 ml

66 除琼脂外，取上述成分，混合，微温溶解，调节 pH 使灭菌后在 25℃的 pH 值
67 为 7.3 ± 0.2 ，加入琼脂，加热溶化后，摇匀，分装，灭菌。

68 6. 沙氏葡萄糖液体培养基

69 动物组织胃蛋白酶水解物和胰酪胨等量混合物 10.0 g

70 葡萄糖 20.0g

71 水 1000 mL

72 除葡萄糖外，取上述成分，混合，微温溶解，调节 pH 使灭菌后在 25℃的 pH 值
73 为 5.6 ± 0.2 ，加入葡萄糖，摇匀，分装，灭菌。

74 7. 沙氏葡萄糖琼脂培养基

75 动物组织胃蛋白酶水解物和胰酪胨等量混合物 10.0g

76 葡萄糖 40.0 g

77 琼脂 15.0 g

78 水 1000 mL

79 除葡萄糖、琼脂外，取上述成分，混合，微温溶解，调节 pH 使灭菌后在 25℃的
80 pH 值为 5.6 ± 0.2 ，加入琼脂，加热溶化后，再加入葡萄糖，摇匀，分装，灭菌。

81 8. 马铃薯葡萄糖琼脂培养基（PDA）

82 马铃薯(去皮) 200 g

83 葡萄糖 20.0 g

84 琼脂 14.0 g

85 水 1000 mL

86 取马铃薯，切成小块，加水 1000 mL，煮沸 20-30 分钟，用 6-8 层纱布过滤，取
87 滤液补水至 1000 ml，调节 pH 使灭菌后在 25℃的 pH 值为 5.6±0.2，加入琼脂，加热
88 溶化后，再加入葡萄糖，摇匀，分装，灭菌。

89 培养基的适用性检查

90 每批无菌检查用的硫乙醇酸盐流体培养基和胰酪大豆胨液体培养基等应符合培
91 养基的无菌性检查及灵敏度检查的要求。本检查可在供试品的无菌检查前或与供试
92 品的无菌检查同时进行。

93 **无菌性检查** 每批~~培养基一般~~随机取~~不少于 5 支（瓶）~~部分培养基，置各培养
94 基规定的温度培养 14 天，应无菌生长。

95 灵敏度检查

96 **菌种** 培养基灵敏度检查所用的菌株传代次数不得超过 5 代（从菌种保存中心
97 获得的干燥菌种为第 0 代），并采用适宜的菌种保藏技术进行保存和确认，以保证
98 试验菌株的生物学特性。

99 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)〔CMCC(B)26003〕

100 铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)〔CMCC(B) 10104〕

101 枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)〔CMCC(B)63501〕

102 生孢梭菌(*Clostridium sporogenes*)〔CMCC(B) 64941〕

103 白色念珠菌(*Candida albicans*)〔CMCC(F) 98001〕

104 黑曲霉(*Aspergillus niger*)〔CMCC(F) 98003〕

105 **菌液制备** 接种金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌的新鲜培养物
106 至胰酪大豆胨液体培养基中或胰酪大豆胨琼脂培养基上，接种生孢梭菌的新鲜培养
107 物至硫乙醇酸盐流体培养基中，30~35℃培养 18~24 小时；接种白色念珠菌的新鲜
108 培养物至沙氏葡萄糖液体培养基中或沙氏葡萄糖琼脂培养基上，20~25℃培养 2~3
109 天，上述培养物用 pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液或 0.9%无菌氯化钠溶液制成适
110 宜浓度菌悬液。接种黑曲霉至沙氏葡萄糖琼脂斜面培养基或马铃薯葡萄糖琼脂培养
111 基上，20~25℃培养 5~7 天或直到获得丰富的孢子，加入适量含 0.05% (ml/ml)

112 聚山梨酯 80 的 pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液或含 0.05% (ml/ml) 聚山梨酯 80
113 的 0.9% 无菌氯化钠溶液, 将孢子洗脱。然后, 采用适宜的方法吸出孢子悬液至无菌
114 试管内, 用含 0.05% (ml/ml) 聚山梨酯 80 的 pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液或含
115 0.05% (ml/ml) 聚山梨酯 80 的 0.9% 无菌氯化钠溶液制成适宜浓度的孢子悬液。

116 菌悬液若在室温下放置, 一般应在 2 小时内使用; 若保存在 2~8℃ 可在 24 小
117 小时内使用。黑曲霉孢子悬液可保存在 2~8℃, 在验证过的贮存期内使用。

118 **培养基接种** 取适宜装量的硫乙醇酸盐流体培养基 7 支, 分别接种不大于 100
119 cfu 的金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、生孢梭菌各 2 支, 另 1 支不接种作为空白对
120 照; 取适宜装量的胰酪大豆胨液体培养基 7 支, 分别接种不大于 100 cfu 的枯草芽
121 孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉各 2 支, 另 1 支不接种作为空白对照。接种细菌的培
122 养管培养时间不超过 3 天, 接种真菌的培养管培养时间不得超过 5 天。

123 **结果判定** 空白对照管应无菌生长, 若加菌的培养基管均生长良好, 判该培养
124 基的灵敏度检查符合规定。

125

126 稀释液、冲洗液及其制备方法

127 稀释液、冲洗液配制后应采用验证合格的灭菌程序灭菌。

128 **1. 0.1% 无菌蛋白胨水溶液** 取蛋白胨 1.0 g, 加水 1000 ml, 微温溶解, 必要时
129 滤过使澄清, 调节 pH 值至 7.1 ± 0.2 , 分装, 灭菌。

130 **2. pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液** 取磷酸二氢钾 3.56 g, 无水磷酸氢二钠
131 5.77 g, 氯化钠 4.30 g, 蛋白胨 1.00 g, 加水 1000 ml, 微温溶解, 必要时滤过使澄
132 清, 分装, 灭菌。

133 根据供试品的特性, 可选用其他经验证的适宜溶液作为稀释液或冲洗液(如 0.9%
134 无菌氯化钠溶液)。

135 如需要, 可在上述稀释液或冲洗液的灭菌前或灭菌后加入表面活性剂或中和剂
136 等。

137

方法适用性试验

138 进行产品无菌检查时，应进行方法适用性试验，以确认所采用的方法适合于该
139 产品的无菌检查。若检验程序或产品发生变化可能影响检验结果时，应重新进行方
140 法适用性试验。

141 方法适用性试验按“供试品的无菌检查”的规定及下列要求进行操作。对每一试验
142 菌应逐一进行方法确认。

143 **菌种及菌液制备** ~~金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、生孢梭菌、白色念珠菌、~~
144 ~~黑曲霉~~的菌株及菌液制备同培养基灵敏度检查。对大肠埃希菌敏感的抗生素类产品
145 宜选用大肠埃希菌 (*Escherichia coli*) [CMCC(B) 44102] 代替铜绿假单胞菌，~~的~~菌液
146 制备同金黄色葡萄球菌。

147 **薄膜过滤法** 按供试品的无菌检查要求，取每种培养基规定接种的供试品总量，
148 采用薄膜过滤法过滤，冲洗，在最后一轮的冲洗液中加入不大于 100 cfu 的试验菌，
149 过滤。加培养基至滤筒内，接种金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌/大肠埃希菌、生孢
150 梭菌的滤筒内加硫乙醇酸盐流体培养基；接种枯草芽孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉
151 的滤筒内加胰酪大豆胨液体培养基。另取一装有同体积培养基的容器，加入等量试
152 验菌，作为对照。置规定温度培养，培养时间不得超过 5 天。

153 **直接接种法** 取符合直接接种法培养基用量要求的硫乙醇酸盐流体培养基 6
154 管，分别接入不大于 100 cfu 的金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌/大肠埃希菌、生孢
155 梭菌各 2 管；取符合直接接种法培养基用量要求的胰酪大豆胨液体培养基 6 管，分
156 别接入不大于 100 cfu 的枯草芽孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉各 2 管。其中 1 管按供
157 试品的无菌检查要求，接入每支培养基规定的供试品接种量，另 1 管作为对照，置
158 规定的温度培养，培养时间不得超过 5 天。

159 **结果判断** 与对照管比较，如含供试品各容器中的试验菌均生长良好，则说明
160 供试品的该检验量在该检验条件下无抑菌作用或其抑菌作用可以忽略不计，照此检
161 查方法和检查条件进行供试品的无菌检查。如含供试品的任一容器中的试验菌生长
162 微弱、缓慢或不生长，则说明供试品的该检验量在该检验条件下有抑菌作用，应采
163 用增加冲洗量、增加培养基的用量、使用中和剂或灭活剂、更换滤膜品种等方法，
164 消除供试品的抑菌作用，并重新进行方法适用性试验。

165 方法适用性试验也可与供试品的无菌检查同时进行。

166

167

供试品的无菌检查

168 无菌检查法包括薄膜过滤法和直接接种法。只要供试品性质允许，应采用薄膜
169 过滤法，包括水溶性液体供试品、醇类和油性供试品，或可在水或油性溶剂中溶解
170 的供试品等。供试品无菌检查所采用的检查方法和检验条件应与方法适用性试验确
171 认的方法相同。

172 无菌试验过程中，若需使用表面活性剂、灭活剂、中和剂、~~或溶剂~~等试剂，应
173 证明其有效性，且对微生物无毒性。

174 实验室应基于质量风险管理的要求，根据产品特性、方法适用性试验结果、人
175 员技能与经验、数据可靠性、污染控制措施和实验室质量控制水平等因素，综合评
176 估确定日常检验过程中阳性对照试验的必要性和频次、要求。阳性对照试验方法同
177 供试品检查，加菌量不大于 100 cfu。阳性对照管培养不超过 5 天，应生长良好。

178 **检验数量** 检验数量是指一次试验所用供试品最小包装容器的数量，成品每亚
179 批均应进行无菌检查。除另有规定外，出厂产品按表 1 规定；上市产品监督检验按
180 表 2 规定。~~表 1、表 2 中最少检验数量不包括阳性对照试验的供试品用量。~~

181 **检验量** 是指供试品每个最小包装接种至每份培养基的最小量。除另有规定外，
182 供试品检验量按表 3 规定。若每支（瓶）供试品的装量按规定足够接种两种培养基，
183 则应分别接种硫乙醇酸盐流体培养基和胰酪大豆胨液体培养基。采用薄膜过滤法时，
184 只要供试品特性允许，应将所有容器内的内容物全部过滤。

185 ~~阳性对照 应根据供试品特性选择阳性对照菌：无抑菌作用及抗革兰阳性菌为~~
186 ~~主的供试品，以金黄色葡萄球菌为对照菌；抗革兰阴性菌为主的供试品，以大肠埃~~
187 ~~希菌为对照菌；抗厌氧菌的供试品，以生孢梭菌为对照菌；抗真菌的供试品，以白~~
188 ~~色念珠菌为对照菌。阳性对照试验的菌液制备同方法适用性试验，加菌量不大于~~
189 ~~100cfu，供试品用量同供试品无菌检查时每份培养基接种的样品量。阳性对照管培~~
190 ~~养不超过 5 天，应生长良好。~~

191 **阴性对照** 供试品无菌检查时，应取相应溶剂和稀释液、冲洗液同法操作，作
192 为阴性对照。阴性对照不得有菌生长。

193 **供试品处理及接种培养基**

194 操作时，用适宜的方法对供试品容器表面进行彻底消毒，如果供试品容器内有一
195 定的真空度，可用适宜的无菌器材（如带有除菌过滤器的针头）向容器内导入无
196 菌空气，再按无菌操作启开容器取出内容物。

197 除另有规定外，按下列方法进行供试品处理及接种培养基。

198 1. 薄膜过滤法

199 ~~薄膜过滤法一般应采用封闭式薄膜过滤器，~~根据供试品及其溶剂的特性选择滤
200 膜材质，应充分考虑供试品的亲水性、疏水性及其他产品特性（如：抗生素）的影
201 响。无菌检查用的滤膜孔径应不大于 0.45 μm。滤膜直径约为 50 mm，若使用其他尺
202 寸的滤膜，应对稀释液和冲洗液体积进行调整，并重新验证。使用时，应保证滤膜
203 在过滤前后的完整性及过滤系统的无菌性。为发挥滤膜的最大过滤效率，应注意保
204 持供试品溶液及冲洗液覆盖整个滤膜表面。

205 ~~水溶性供试液过滤前，一般应先将少量的冲洗液过滤，以润湿滤膜。油类供试~~
206 ~~品，其滤膜和过滤器在使用前应充分干燥。为发挥滤膜的最大过滤效率，应注意保~~
207 ~~持供试品溶液及冲洗液覆盖整个滤膜表面。供试液经薄膜过滤后，若需要用冲洗液~~
208 ~~冲洗滤膜，每张滤膜每次冲洗量一般为 100 ml，总冲洗量一般不超过 500 ml，最高~~
209 ~~不得超过 1000 ml，以避免滤膜上的微生物受损伤。~~

210 **水溶性液体供试品** 取规定量，直接过滤，或混合至含不少于 100 ml 适宜稀释
211 液的无菌容器中，混匀，立即过滤。适用时，水溶性供试液过滤前先将少量的冲洗
212 液过滤，以润湿滤膜。如供试品具有抑菌作用，须用冲洗液冲洗滤膜，冲洗次数一
213 般不少于三次，所用的冲洗量、冲洗方法同方法适用性试验。但即使方法适用性试
214 验证实该方法未能完全消除抑菌性，每张滤膜冲洗一般也不得超过 5 次，每次冲洗
215 量为 100 ml。~~除生物制品外，一般样品~~冲洗后，1 份滤器加入 ~~100 ml~~ 硫乙醇酸盐流
216 体培养基，1 份滤器加入 ~~100 ml~~ 胰酪大豆胨液体培养基。所用培养基的体积与方法
217 适用性相同。~~生物制品样品冲洗后，2 份滤器加入 100ml 硫乙醇酸盐流体培养基，1~~
218 ~~份滤器加入 100ml 胰酪大豆胨液体培养基。~~

219 **水溶性固体和半固体供试品** 取规定量，加适宜的稀释液溶解，如：或按标签
220 说明复溶使用供试品所附溶剂、注射用水、0.9% 无菌氯化钠溶液或 0.1% 无菌蛋白胨
221 水溶液，然后照水溶性液体供试品项下的方法操作。

222 **非水溶性供试品** 取规定量，直接过滤。或混合溶于适量含聚山梨酯 80 或其他
223 适宜乳化剂的稀释液中，充分混合，立即过滤。用含 0.1%~1%聚山梨酯 80 的冲洗
224 液冲洗滤膜至少 3 次。加入含或不含聚山梨酯 80 的培养基。接种培养基照水溶性液
225 体供试品项下的方法操作。油类供试品，其滤膜和过滤器在使用前应充分干燥。

226 **可溶于十四烷酸异丙酯的膏剂和黏性油剂供试品** 取规定量，混合至适量的无
227 菌十四烷酸异丙酯^①中，剧烈振摇，使供试品充分溶解，如果需要可适当加热，加热
228 温度一般不超过 40℃，最高不得超过 44℃，趁热迅速过滤。对仍然无法过滤的供试
229 品，于含有适量的无菌十四烷酸异丙酯中的供试液中加入不少于 100 ml 的适宜稀释
230 液，充分振摇萃取，静置，取下层水相作为供试液过滤。过滤后滤膜冲洗及接种培
231 养基照非水溶性供试品项下的方法操作。

232

233 **注：①无菌十四烷酸异丙酯的制备** 可采用薄膜过滤法过滤除菌，选用孔径为 0.22 μm 的适宜
234 滤膜，或其他适宜的灭菌方法。

235

236 **无菌气雾剂供试品** 取规定量，采用专用设备将供试品转移至封闭式薄膜过滤
237 器中。或将各容器置-20℃或其他适宜温度冷冻约 1 小时，取出，迅速消毒供试品
238 开启部位或阀门。正置容器，用无菌钢锥或针样设备以无菌操作迅速在与容器阀门
239 结构相匹配的适宜位置钻一小孔，不同容器钻孔大小和深度应保持基本一致，钻孔
240 后应无明显抛射剂抛出，轻轻转动容器，使抛射剂缓缓释出，释放抛射剂后再无菌
241 开启容器，并将供试液转移至无菌容器中混合，必要时用冲洗液冲洗容器内壁。供
242 试品亦可采用其它适宜的方法取出。然后照水溶性液体供试品或非水溶性供试品项
243 下的方法操作。

244 **装有药物的注射器供试品** 取规定量，将注射器中的内容物（若需要可吸入稀
245 释液或标签所示的溶剂溶解）直接过滤，或混合至含适宜稀释液的无菌容器中，然
246 后照水溶性液体或非水溶性供试品项下方法操作。同时应采用适宜的方法对包装中
247 所配带的针头等要求无菌的部件进行无菌检查。

248 **具有导管的医疗器械(输血、输液袋等)供试品** 除另有规定外，取规定量，每个
249 最小包装用适量的（通常 50~100 ml）冲洗液分别冲洗内壁，收集冲洗液于无菌容

250 器中，然后照水溶性液体供试品项下方法操作。同时应采用适宜的方法对包装中所
251 配带的针头等要求无菌的部件进行无菌检查。

252 2. 直接接种法

253 直接接种法适用于无法用薄膜过滤法进行无菌检查的供试品，即取规定量供试
254 品分别等量接种至硫乙醇酸盐流体培养基和胰酪大豆胨液体培养基中。~~除生物制品~~
255 ~~外，一般样品~~无菌检查时两种培养基接种的瓶或支数相等；~~生物制品无菌检查时硫~~
256 ~~乙醇酸盐流体培养基和胰酪大豆胨液体培养基接种的瓶或支数为2:1~~。除另有规定
257 外，每个容器中培养基的用量应符合接种的供试品体积不得大于培养基体积的10%，
258 ~~同时，硫乙醇酸盐流体培养基每管装量不少于15ml，胰酪大豆胨液体培养基每管装~~
259 ~~量不少于10ml~~。

260 当需要检测大体积样品时，基于其后续稀释作用而制备的浓缩培养基更为适用。
261 适用时，浓缩培养基可直接加入产品所在容器中。供试品检查时，培养基的用量和
262 高度同方法适用性试验。

263 ~~混悬液等非澄清~~水溶性液体供试品 取规定量，等量接种至各管培养基中。经
264 方法适用性试验确认，可在培养基中添加适宜浓度的乳化剂，如1%聚山梨酯80等。

265 **固体供试品** ~~取规定量，直接等量接种至各管培养基中，或加入适宜的溶剂溶~~
266 ~~解，或按标签说明复溶，取规定量等量接种至各管培养基中。~~

267 ~~非水溶性供试品~~取规定量，混合，加入适量的聚山梨酯80或其它适宜的乳化
268 剂及稀释剂使其乳化，等量接种至各管培养基中。或直接等量接种至含聚山梨酯80
269 或其它适宜乳化剂各管培养基中。

270 **敷料供试品** 取规定数量，以无菌操作拆开每个包装，于不同部位剪取约100
271 mg或1cm×3cm的供试品，等量接种于各管足以浸没供试品的适量培养基中。

272 **肠线、缝合线等供试品** 肠线、缝合线及其它一次性使用的医用材料按规定量
273 取最小包装，无菌拆开包装，等量接种于各管足以浸没供试品的适量培养基中。

274 **灭菌医用器械供试品** 除另有规定外，取规定量，必要时应将其拆散或切成小
275 碎段，等量接种于各管足以浸没供试品的适量培养基中。

276 **放射性药品** 取供试品1瓶(支)，等量接种于装量为7.5ml的硫乙醇酸盐流体
277 培养基和胰酪大豆胨液体培养基中。每管接种量为0.2ml。

278 培养及观察

279 将上述接种供试品后的培养基容器分别按各培养基规定的温度培养不少于 14
280 天；~~接种生物制品的硫乙醇酸盐流体培养基的容器应分成两等份，一份置 30~35℃~~
281 ~~培养，一份置 20~25℃培养。~~在培养非水溶性液体供试品过程中，每日轻摇培养物，
282 但当硫乙醇酸盐流体培养基用于检测厌氧微生物时，应尽量减少摇晃或混合，以保
283 持厌氧条件。

285 结果观察与判断

286 培养期间应定期观察并记录是否有菌生长。如在加入供试品后或在培养过程中，
287 培养基出现浑浊，培养 14 天后，不能从外观上判断有无微生物生长，可取该培养液
288 不少于 1 ml 转种至同种新鲜培养基中，将原始培养物和新接种的培养基继续培养不
289 少于 4 天，观察接种的同种新鲜培养基是否再出现浑浊；或取培养液涂片，染色，
290 镜检，判断是否有菌。

291 结果判断

292 若供试品管均澄清，或虽显浑浊但经确证无菌生长，判供试品符合规定；若供
293 试品管中任何一管显浑浊并确证有菌生长，判供试品不符合规定，除非能充分证明
294 试验结果无效，即生长的微生物非供试品所含。只有符合下列至少一个条件时方可
295 认为试验无效：

296 (1) 无菌检查试验所用的设备及环境的微生物监控结果不符合无菌检查法的要
297 求。

298 (2) 回顾无菌试验过程，发现有可能引起微生物污染的因素。

299 (3) 在阴性对照中观察到微生物生长。

300 (4) 供试品管中生长的微生物经鉴定后，确证是因无菌试验中所使用的物品和
301 (或) 无菌操作技术不当引起的。

302 试验若经评估确认无效后，应重试。重试时，重新取同量供试品，依法检查，
303 若无菌生长，判供试品符合规定；若有菌生长，判供试品不符合规定。

305 表 1. 批出厂产品及生物制品的原液和半成品最少检验数量

供试品	批产量 N (个)	接种每种培养基的最少检验数量
注射剂	≤ 100	10%或 4 个 (取较多者)
	$100 < N \leq 500$	10 个
	> 500	2%或 20 个 (取较少者)
大体积注射剂 (>100 ml)		20 个 (生物制品)
		2%或 10 个 (取较少者)
		20 个 (生物制品)
冻干血液制品		
> 5 ml	每柜冻干 ≤ 200	5 个
	每柜冻干 > 200	10 个
≤ 5 ml	≤ 100	5 个
	$100 < N \leq 500$	10 个
	> 500	20 个
眼用及其他非注射产品		
	≤ 200	5%或 2 个 (取较多者)
	> 200	10 个
单剂量包装的产品，按注射剂供试品要求确定最小检验数量		
桶装无菌固体原料		
	≤ 4	每个容器
	$4 < N \leq 50$	20%或 4 个容器 (取较多者)
	> 50	2%或 10 个容器 (取较多者)
抗生素固体原料药 (≥ 5 g)		6 个容器
生物制品原液或半成品		每个容器 (每个容器制品的)

		取样量为总量的0.1%或不少于10 ml，每开瓶一次，应如上法抽验)
体外用诊断制品半成品		每批(抽验量应不少于3 ml)
医疗器械	≤ 100 $100 < N \leq 500$ > 500	10%或4件(取较多者) 10件 2%或20件(取较少者)

306 注：1.若供试品批产量未知，应按该类别的最大批产量确定检验数量。
307 2.若供试品每个容器内的装量不够接种两种培养基，那么表中的最少检验数量应增
308 加相应倍数。

309

310

表 2. 上市抽验样品的最少检验数量

供试品	供试品最少检验数量(瓶或支)
液体制剂	10
固体制剂	10
血液制品 $V < 50 \text{ ml}$	6
$V \geq 50 \text{ ml}$	2
医疗器械	10

311 注：1. 若供试品每个容器内的装量不够接种两种培养基，那么表中的最少检验数量
312 应增加相应倍数。

313 2. 抗生素粉针剂($\geq 5 \text{ g}$)及抗生素原料药($\geq 5 \text{ g}$)的最少检验数量为6瓶(或
314 支)。桶装固体原料的最少检验数量为4个包装。

315

316

表 3. 供试品的最少检验量

供试品	供试品装量	每支供试品接入每种培养基的最少量
液体制剂	$V < 1 \text{ ml}$ $1 \text{ ml} \leq V \leq 40 \text{ ml}$ $40 \text{ ml} < V \leq 100 \text{ ml}$ $V > 100 \text{ ml}$	全量 半量，但不得少于 1 ml 20 ml 10%，但不少于 20 ml
<u>抗生素液体制剂</u>		<u>1 ml</u>
<u>需混悬或乳化的不溶性制剂、乳膏剂和软膏剂</u>		<u>取每支供试品，总量合计不少于 200 mg</u>
固体制剂	$M < 50 \text{ mg}$ $50 \text{ mg} \leq M < 300 \text{ mg}$ $300 \text{ mg} \leq M \leq 5 \text{ g}$ $M > 5 \text{ g}$	全量 半量，但不得少于 50 mg 150 mg 500 mg 半量（生物制品）
生物制品的原液及半成品		半量
医疗器械	外科用敷料棉花及纱布 缝合线、一次性医用材料 带导管的一次性医疗器械（如输液袋） 其它医疗器械	取 100 mg 或 1 cm×3 cm 整个材料 ^① 二分之一内表面积 整个器具 ^① （切碎或拆散开）

317

318 注：①如果医疗器械体积过大，培养基用量可在 2000 ml 以上，将其完全浸没。

起草单位：上海市食品药品检验研究院 联系电话：13512104684

复核单位：广东省药品检验所

1101 无菌检查法修订说明

一、制修订的目的意义

以《中国药典》2025年版编制大纲为指导，在《中国药典》2020年版四部通则1101 无菌检查法要求的基础上，继续理顺和明确无菌检查法的关键性技术要求。坚持立足中国国情的同时，积极借鉴国际经验，主动开展国际药典标准协调，稳妥推进 ICH Q4B 附录 8 等相关指导原则在中国的转化与实施。

二、制修订的总体思路

本次修订充分参考、吸收国内外药品标准和制药行业的反馈意见，在增进交流、促进协作的基础上，针对《中国药典》2020年版四部通则1101与ICH协调案Q4B附录8的主要差异，在执行通行标准和保留个性要求间达到平衡，以促进我国制药行业整体技术水平的提升，减少因标准差异带来的贸易阻滞，降低全社会用药成本。

三、需说明的问题

本次修订的主要内容说明如下：

（一）完善方法适用性试验中的菌种选择

本次修改了方法适用性菌株，将大肠埃希菌调整为铜绿假单胞菌，原则上与ICH协调案保持一致。同时，增加如下表述：“对大肠埃希菌敏感的抗生素类产品宜选用大肠埃希菌（*Escherichia coli*）〔CMCC（B）44 102〕代替铜绿假单胞菌，菌液制备同金黄色葡萄球菌”。

（二）调整阳性对照试验要求

本次修订删除了“阳性对照”项下的内容，与ICH协调案一致。同步调整了全文中与阳性对照试验相关的表述，如：供试品检验数量等。增加以下表述：“实验室应基于质量风险管理的要求，根据产品特性、方法适用性试验结果、人员技能与经验、数据可靠性、污染控制措施和实验室质量控制水平等因素，综合评估确定日常检验过程中阳性对照试验的必要性和频次、要求。阳性对照试验方法同供试品检查，加

菌量不大于 100 cfu。阳性对照管培养不超过 5 天，应生长良好”，以帮助使用者正确认识检验全过程控制的重要性。

（三）取消生物制品特殊培养条件的强制要求

本次修订取消了无菌检查法中生物制品硫乙醇酸盐流体培养基置于 20-25℃ 培养的强制性要求，同步修改与该要求相关的表述。企业应根据产品特性，如：在生产、储存和流通中长期处于低温环境，或包装容器为厌氧环境等因素，基于质量风险管理的要求，综合考虑和判断是否继续维持硫乙醇酸盐流体培养基于 20-25℃ 培养的需求。

（四）调整薄膜过滤法表述及膜冲洗量的要求

本次修订删除了“薄膜过滤法一般应采用封闭式薄膜过滤器”的表述。删除“最高不得超过 1000ml”的过渡要求，调整为“但即使方法适用性试验证实该方法未能完全消除抑菌性，每张滤膜冲洗一般也不得超过 5 次，每次冲洗量为 100 ml”。

（五）补充完善了无菌检查法中表 1 和表 3 的规定

本次修订完善了表 1 中对单剂量包装的产品最少检验数量的规定，应“按注射剂供试品要求确定最小检验数量”。同时，增加了表 1 注释“若供试品批产量未知，应按该类别的最大批产量确定检验数量”。此外，明确了表 3 中“抗生素液体制剂”和“需混悬或乳化的不溶性制剂、乳膏剂和软膏剂”的最少检验量的要求。

（六）其他要求及文字表述的调整

修改无菌检查法定义、无菌检查环境确认与监控的表述和培养基相关要求，明确培养基适用性检查要求，调整供试品检验方法的表述，修订培养、结果观察和判断的表述等。