

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)17-0084-07
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.17.014



药品包装材料微生物检查方法研究与应用*

马鹏飞¹, 余凡², 赵敏³, 郑清尹¹, 李林樾¹, 杨静¹

(1. 陕西省食品药品检验研究院, 陕西 西安 710065; 2. 杨凌示范区药品检验监测评价中心, 陕西 杨凌 712100;
3. 西安万隆制药股份有限公司, 陕西 杨凌 712100)

摘要:目的 提高药品包装材料(简称药包材)微生物检查的准确性和可靠性,为药包材微生物检查方法的适用性试验提供参考。方法 基于药包材的形制及容量不同,依据2025年版《中国药典(四部)》通则4401,系统设计无菌与微生物限度检查挑战试验,考察检验量、振摇时间、冲洗液种类及冲洗量等关键因素对微生物回收的影响。结果 在试验参数范围内,各条件下的方法适用性均符合要求;检验量、振摇时间、冲洗液种类及冲洗量等因素对药包材微生物回收结果均无显著影响($RSD < 10\%$),表明其参数选择有一定弹性空间。结论 该研究提升了药包材微生物检查方法的可操作性,为2025年版《中国药典(四部)》通则4401的实施提供了科学依据与技术支撑。
关键词:药品包装材料;无菌检查法;微生物限度检查法;方法适用性

Research and Application of the Microbial Testing Method for Pharmaceutical Packaging Materials

Ma Pengfei¹, She Fan², Zhao Min³, Zheng Qingyin¹, Li Linyue¹, Yang Jing¹

(1. Shaanxi Institute for Food and Drug Control, Xi'an, Shaanxi 710065, China; 2. Yangling Demonstration Area Drug Testing and Evaluation Center, Yangling, Shaanxi 712100, China; 3. Xi'an Wanlong Pharmaceutical Co., Ltd., Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Objective To improve the accuracy and reliability of microbial testing for pharmaceutical packaging materials, and to provide a reference for the suitability testing of microbial testing methods for pharmaceutical packaging materials. **Methods** Based on the different forms and capacities of pharmaceutical packaging materials, a systematic challenge test for sterility and microbial limit testing was designed in accordance with the General Rule 4401 of the *Chinese Pharmacopoeia* (Volume IV, 2025 Edition) to investigate the impact of key factors such as test sample volume, shaking time, types of rinsing solution, and rinsing volume on microbial recovery rates. **Results** Within the experimental parameter range, the applicability of the method under all testing conditions met the requirements. Factors such as test sample volume, shaking time, types of rinsing solution, and rinsing volume had no significant impact on the microbial recovery results of pharmaceutical packaging materials ($RSD < 10\%$), indicating a certain degree of flexibility in parameter selection. **Conclusion** This study enhances the operability of the microbiological testing method for pharmaceutical packaging materials, providing a scientific basis and technical support for the implementation of the General Rule 4401 of the *Chinese Pharmacopoeia* (Volume IV, 2025 Edition).

Key words: pharmaceutical packaging materials; sterility test method; microbial limit testing method; method applicability

药品包装材料(简称药包材)是直接接触药品的包装材料和容器,是药品的重要组成部分^[1],其功能性、安全性、相容性是药品包装的基本要求^[2-3]。药包材直接关系到药品在储存、运输及使用全周期内的质量稳定^[4],一旦污染,将引起药品变质、成分降解,甚至会导致患者出现感染、过敏等反应,尤其对无菌制剂及易受微生物影响的药品至关重要^[5-6]。建立科学、精准的微生物检验方法与标准,是药包材质量控制体系的重要环节^[1],也是药品质量监管向源头延伸的必然举措^[7]。国家药品监督管理局药品审评中心(CDE)也在相关指导原则中强化了包装系统的适用性及安全性评价,明确将药包材微生物检查纳入药品质量研究范畴^[8-9]。药包材在形制、材质及生产工艺上的多样性使得微生物

附着状态与提取效率差异显著^[7,10]。建立科学、合理的药包材微生物检测方法,需遵循微生物检查方法适用性要求,并系统探讨检验量、振摇时间、冲洗液种类及冲洗量等关键参数对微生物回收的影响^[7,11],确保能有效检出样品中可能存在的微生物。本研究中根据2025年版《中国药典(四部)》通则4401 药包材无菌和微生物限度检查法^{[12]527-528},结合通则1101^{[12]227-231}、1105^{[12]231-236}、1106^{[12]236-241}的相关要求,系统性地设计和开展了药包材微生物检查方法的适用性试验。现报道如下。

1 仪器、试药、菌株与样品

1.1 仪器

HTY-ASL01型集菌仪(杭州泰林生物技术设备有

*基金项目:陕西省科学技术厅重点研发计划项目[2025SF-YBXM-286]。

第一作者:马鹏飞,硕士研究生,副主任药师,研究方向为药品、食品及化妆品微生物检验与控制,(电子信箱)xampf@163.com。

限公司);HFsafe-1200LC型生物安全柜(上海力申科学仪器有限公司);IPP260型霉菌培养箱(德国Memmert公司,设置温度为23℃);LRH-250F型生化培养箱(上海一恒科学仪器有限公司,设置温度为33℃);涡旋振荡仪(德国IKA公司);SX-500型蒸汽灭菌器(日本TOMY公司);SHA-C型水浴恒温振荡器(天津鑫博得仪器有限公司);PY220型无菌试验用集菌过滤器(批号为2025071702),FC752型微生物限度试验用集菌器(批号为2025090102),均购自浙江泰林生物技术股份有限公司。

1.2 试药

硫乙醇酸盐流体培养基(FTM,批号为20251016),胰酪大豆胨液体培养基(TSB,批号为20251008),胰酪大豆胨琼脂培养基(TSA,批号为20250731),沙氏葡萄糖琼脂培养基(SDA,批号为20250210),沙氏葡萄糖液体培养基(SDB,批号为20240410),0.1%无菌蛋白胨水溶液(批号为20250826),pH 7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液(批号为20250215),均购自青岛高科园海博生物技术有限公司;氯化钠(国药集团化学试剂有限公司,批号为20240818)。以上培养基及试剂均按2025年版《中国药典(四部)》要求配制并灭菌,培养基适用性检查均符合2025年版《中国药典(四部)》微生物限度检查法相关规定^{[12]527-528}。

1.3 菌株

金黄色葡萄球菌[CMCC(B)26 003],铜绿假单胞菌[CMCC(B)10 104],生孢梭菌[CMCC(B)64 941],枯草芽孢杆菌[CMCC(B)63 501],白色念珠菌[CMCC(F)98 001],黑曲霉[CMCC(F)98 003],均购自中国医学细菌保藏管理中心,工作菌株为第3代。将金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌分别接种于TSB中,

生孢梭菌接种于FTM中,30~35℃培养18~24 h;将白色念珠菌接种于SDB中,20~25℃培养2~3 d;上述培养物用0.9%无菌氯化钠溶液制成适宜浓度的菌悬液。将黑曲霉接种于SDB中,20~25℃培养5~7 d,加入5 mL含0.05%聚山梨酯80的0.9%无菌氯化钠溶液,洗脱孢子,用含0.05%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。菌悬液制备后,若在室温下放置,应在2 h内使用;若在2~8℃保存,应在24 h内使用^[10]。低浓度菌悬液为5~10 cfu/mL,高浓度菌悬液为50~100 cfu/mL。

1.4 样品

选用的试验样品依据用药途径及污染微生物对人的危害程度分为高风险(外用液体瓶、滴眼剂瓶等)、中风险(口服液体瓶等)、低风险(口服固体瓶等)。从不同药包材生产企业采购了不同规格、不同材质、不同用途的样品。样品信息见表1。

1.5 人工污染样品制备

取序号为8和9的样品,分别准备100 cm²的样品3片(试验前经灭菌处理)。参照余凡等^[13]报道的4种方法检测片材类药包材微生物对比试验模式,将样品置经灭菌处理的牛皮纸上,再置生物安全柜操作台上,依次接种1 mL高浓度金黄色葡萄球菌悬液,用一次性接种环将菌悬液均匀涂抹在药用膜上,自然晾干。弃第1片人工污染样品,其余2片分别采用擦拭法或荡洗法进行微生物采样,同法制备铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉的人工污染样品;黑曲霉和白色念珠菌各平行制备2份,其中1份用于霉菌酵母菌试验。

2 方法与结果

2.1 试验方法

薄膜过滤法:按样品的无菌操作取样,荡洗,合并

表1 试验样品信息

Tab. 1 Information of test samples

风险等级	序号	样品名称	规格	批号
高风险	1	外用液体药用高密度聚乙烯瓶(A型)批次1	60 mL	Y250424
	2	外用液体药用高密度聚乙烯瓶(A型)批次2	60 mL	Y250517
	3	滴眼剂瓶	10 mL	250215
	4	预灌封注射器	10 mL	250921
中风险	5	口服液体药用聚酯瓶	120 mL	251105
	6	口服液体药用高密度聚乙烯瓶(A型)	120 mL	Y241101
低风险	7	双向拉伸聚丙烯/真空镀铝流延聚丙烯膜	20 m×150 mm×0.055 mm	F20251114-12
	8	药品包装用铝箔	20 m×280 mm×0.024 mm	L20251119-22
	9	聚酯/铝/聚乙烯药用复合膜	20 m×834 mm×0.075 mm	F20251114-05
	10	双向拉伸聚丙烯/真空镀铝流延聚丙烯复合膜	20 m×140 mm×0.005 mm	Y202510015
	11	聚酯/铝/聚乙烯药用复合膜	20 m×140 mm×0.075 mm	Y202510010
	12	双向拉伸聚丙烯/低密度聚乙烯药用复合膜	20 m×310 mm×0.050 mm	Y202510014

冲洗液,全量薄膜过滤,过滤后不冲洗;无菌试验在最后一次过滤中分别加入规定浓度的金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、生孢梭菌的菌悬液于FTM管中(30~35℃培养5d),枯草芽孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉于TSB管中(20~25℃培养5d),对照管不加样品;微生物限度检查法试验在最后一次过滤中分别加入规定浓度的金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉的菌悬液,其中白色念珠菌和黑曲霉菌各平行制备2份;取出滤膜,接种金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉的滤膜菌面朝上贴于TSA,30~35℃培养3d;接种白色念珠菌、黑曲霉的滤膜菌面朝上贴于SDA,20~25℃培养5d;同法进行阴性对照试验;每日观察、记录。

直接接种法:按样品的无菌操作取样,浸入装有相应FTM或TSB的无菌容器内,充分振摇,使样品完全浸没于培养液中,分别加入规定浓度的金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、生孢梭菌的菌悬液于FTM无菌容器中(30~35℃培养5d),枯草芽孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉于TSB无菌容器中(20~25℃培养5d);同法进行阴性对照试验,对照管不加样品;每日观察、记录。

2.2 微生物挑战试验

不同接种菌量的无菌试验:取序号为1和2的样品,置0.1%无菌蛋白胨水溶液中,按2.1项下直接接种法分别加入1.3项下低浓度菌悬液与高浓度菌悬液进行试验。不同接种菌量回收试验结果见表2。可见,不同样品的试验结果相同,表明不同浓度的接种菌量对试验结果无明显影响。高、低浓度菌悬液试验结果证实了采用薄膜过滤法进行无菌试验的可靠性。

表2 不同接种菌量回收试验结果

Tab. 2 Results of the recovery test of different inoculum sizes			
试验菌种	培养基	低浓度菌悬液	高浓度菌悬液
金黄色葡萄球菌	FTM	1 d 内生长	1 d 内生长
铜绿假单胞菌	FTM	1 d 内生长	1 d 内生长
生孢梭菌	FTM	1 d 内生长	1 d 内生长
枯草芽孢杆菌	SDA	2 d 内生长	2 d 内生长
白色念珠菌	SDA	3 d 内生长	3 d 内生长
黑曲霉	SDA	3 d 内生长	3 d 内生长

注:样品试验管与对照管培养结果一致,阴性对照均无生长。

Note: The culture results of the sample test tube and the control tube are consistent, and there is no growth in the negative control.

人工污染样品的微生物限度试验:取1.5项下人工污染样品,采用擦拭法、荡洗法进行试验。1)擦拭法。取无菌棉签,用0.9%无菌氯化钠溶液稍沾湿,用1支棉签在药用膜表面擦拭5次,换另1支棉签再擦拭5次,以此方法共用10支棉签擦拭100 cm²,每支棉签擦拭完

毕后立即剪断,将棉签头部投入盛有30 mL 0.9%无菌氯化钠溶液的锥形瓶中,待全部擦拭棉签投入瓶中后,迅速振摇1 min,静置10 min,即得供试品溶液。2)荡洗法。用无菌剪刀将药用膜剪成适宜的小块,直接投入盛有30 mL 0.9%无菌氯化钠溶液的锥形瓶中,迅速振摇1 min,吸取全部溶液,即得供试品溶液。取上述供试品溶液进行薄膜过滤并培养。以上试验重复3次,结果见表3。可见,不同采样方法中,擦拭法对微生物有一定滞留吸附作用,荡洗法干扰较小。擦拭法因人员操作、擦拭过程等存在差异,菌落数回收较低,试验重复性较差;荡洗法相对误差较小,菌落数回收及重复性均略高于擦拭法。上述结果表明,荡洗法更适用于药包材的微生物检测,这与余凡等^[13]报道的4种方法检测片材类药包材微生物计数的回收结果一致。

表3 不同采样方法微生物回收试验结果

Tab. 3 Results of microbial recovery tests using different sampling methods							
试验菌种	采样方法	铝箔计数(cfu)			复合膜计数(cfu)		
		1	2	3	1	2	3
金黄色葡萄球菌	擦拭法	45	38	42	40	39	43
	荡洗法	60	72	69	75	68	77
铜绿假单胞菌	擦拭法	39	37	40	38	36	39
	荡洗法	77	73	80	73	70	68
枯草芽孢杆菌	擦拭法	22	25	32	35	37	29
	荡洗法	69	67	60	70	67	66
白色念珠菌	擦拭法	40	45	42	42	44	47
	荡洗法	80	75	73	80	77	73
黑曲霉	擦拭法	46	44	43	48	42	39
	荡洗法	77	68	67	78	74	70
白色念珠菌*	擦拭法	44	47	41	41	49	43
	荡洗法	80	75	73	77	69	66
黑曲霉*	擦拭法	39	42	43	37	36	38
	荡洗法	70	77	75	76	78	74

注:*为霉菌和酵母菌总回收结果。表5和表6同。

Note: * refers to the total recovery results of mold and yeast (for Tab. 3 and Tab. 5 - 6).

2.3 微生物检查法适用性试验

2.3.1 无菌检查法适用性试验

薄膜过滤法:1)按2.1项下无菌操作要求进行试验和培养,其中,试验管取外用液体药用高密度聚乙烯瓶(批次1)的供试品(瓶及盖)120套,无菌操作。每20瓶用1 200 mL pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液冲洗瓶身及盖内外,合并冲洗液,作为供试液,全量薄膜过滤,不冲洗,最后1次过滤中加入1 mL高浓度金黄色葡萄球菌菌悬液,滤完后灌注100 mL FTM,作为试验管;取等量缓冲液,全量过滤,不冲洗,同试验管方法接种菌

悬液,并加入 100 mL FTM,作为对照管;取等量缓冲液,过滤,不接种菌悬液,同法培养,作为阴性对照管;其余试验菌同法操作。同法用 0.1% 无菌蛋白胨水溶液替换 pH 7.0 无菌氯化钠 - 蛋白胨缓冲液进行试验。同法用 800 mL 替换 1 200 mL 进行试验。2)按 2.1 项下无菌操作要求进行试验和培养,其中,试验管取外用液体药用高密度聚乙烯瓶 60 套(批次 2)进行试验。每 10 瓶置含 500 mL 0.1% 无菌蛋白胨水溶液的无菌取样袋中,充分冲洗供试品的内外表面,制成供试液,全量薄膜过滤,不冲洗,最后 1 次过滤液中加入 1 mL 高浓度金黄色葡萄球菌悬液,滤完后灌注 100 mL FTM,作为试验管;取等量缓冲液,全量过滤,不冲洗,同试验管方法接种菌悬液,并加入 100 mL FTM,作为对照管;取等量缓冲液,过滤,不接种菌悬液,同法培养,作为阴性对照管;其余试验菌同法操作。同法用 pH 7.0 无菌氯化钠 - 蛋白胨缓冲液替换 0.1% 无菌蛋白胨水溶液进行试验。同法用 1 200 mL 替换 500 mL 进行试验。结果见表 4。

表 4 无菌检查法适用性试验结果(试验管/对照管)

Tab. 4 Results of the applicability test of the sterility test method (test tube / control tube)

试验样品	培养天 数(d)	金黄色葡萄球菌	铜绿假单胞菌	生孢梭菌	枯草芽孢杆菌	白色念珠菌	黑曲霉
聚乙烯瓶 (批次 1)	1	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-
	2	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	+/+
	3	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
	4	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
	5	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
聚乙烯瓶 (批次 2)	1	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-
	2	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
	3	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
	4	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
	5	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
滴眼剂瓶	1	-/-	-/-	+/+	-/-	-/-	-/-
	2	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	+/+
	3	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
	4	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
	5	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
预灌封注射器	1	-/-	-/-	+/+	-/-	-/-	-/-
	2	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-
	3	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
	4	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
	5	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+

注: + 为生长, - 为未生长。

Note: + refers to growth, while - refers to non growth.

直接接种法:1)按 2.1 项下无菌操作要求进行试验和培养,其中,试验管取滴眼剂瓶、盖及塞 120 套,无菌

操作,每 20 套浸入 400 mL FTM 的无菌容器内,充分振摇至浸没,加入 1 mL 高浓度金黄色葡萄球菌悬液;对照管不加样品,同试验管方法进行试验。其余试验菌同法操作。同法用 200 mL 替换 400 mL 进行试验。2)按 2.1 项下无菌操作要求进行试验和培养,其中,试验管取预灌封注射器 120 套,无菌操作,每 20 套拆散注射器并浸没至 400 mL FTM 无菌容器内,充分振摇至浸没,加入 1 mL 高浓度金黄色葡萄球菌悬液;对照管不加样品,同试验管方法进行试验。其余试验菌同法操作。同法用 200 mL 替换 400 mL 进行试验。结果见表 4。

结果分析:以上试验结果显示,不同冲洗液及冲洗量条件下,试验管与对照管生长情况基本一致,故应根据药包材的容量、形制选择适量冲洗液进行全量过滤;检验量按 2025 年版《中国药典(四部)》通则 4401^[12]527-528 及医疗器械相关检验要求确定,且与常规微生物限度检查相比,增大样本量有助于提高检出率。对于体积较小的无菌注射器类药包材建议采用直接接种法,操作简便,其结果与黄结等^[14]和李闻涛等^[15]报道的结果一致;对于体积较大的外用液体药用高密度聚乙烯瓶类药包材宜采用薄膜过滤法。无菌药包材属高风险产品,应针对不同药包材选择适宜的无菌检查方法。

2.3.2 微生物限度检查法适用性试验

不同检验量:试验组取 5 号供试瓶及盖 35 套,无菌操作,每 5 套瓶为 1 组,每瓶加入 60 mL pH 7.0 无菌氯化钠 - 蛋白胨缓冲液,旋紧瓶盖,充分振摇 1 min,合并缓冲液,作为供试液,按 2.1 项下方法进行试验,加入 1.3 项下高浓度菌悬液,过滤,培养;对照组取与试验组相同的供试瓶及盖 35 套,不加试验菌,其余同试验组方法操作;菌悬液对照组取同试验组等量缓冲液,过滤,并接种等量菌悬液;其余试验菌同法操作,记为试验 1。另取 112 套同规格 6 号供试瓶及盖,每种试验菌各取 8 套瓶及盖,同法操作,记为试验 2。

不同振摇时间:试验组取 6 号供试瓶及盖 6 套,每瓶装 60 mL pH 7.0 无菌氯化钠 - 蛋白胨缓冲液,振摇 1 min,混合冲洗液,薄膜过滤,每膜过滤 50 mL,不冲洗;对照组等其余操作同“不同检验量”项下,同条件培养,记为试验 3;同法分别设定 3,5 min 振摇进行试验,分别记为试验 4、试验 5。

不同冲洗量:取 6 号供试瓶及盖 6 套,每瓶冲洗量分别按瓶容量的 66.67%(80 mL)、100.00%(120 mL)进行冲洗,其余操作同“不同检验量”项下;同条件培养,分别记为试验 6、试验 7。

不同冲洗液:取 6 号供试瓶及盖 6 套,分别用 0.9% 无菌氯化钠溶液、0.1% 无菌蛋白胨水溶液按“不同检

验量”项下方法进行试验。同条件培养,分别记为试验8、试验9。

片材类:试验组取 700 cm²供试品,每 100 cm²剪碎,加入 100 mL pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液中,振摇 1 min,合并缓冲液,作为供试液,按 2.1 项下方法进行试验,加入 1.3 项下高浓度菌悬液,过滤,培养;对照组取 700 cm²供试品,不加菌悬液,其余操作同试验组;菌悬液对照组取同试验组等量缓冲液,过滤,并接种菌悬液。取 7~12 号样品进行试验,结果分别记为试验 10 至试验 15。

试验结果:微生物限度检查法适用性试验结果见表 5。可见,复合膜、瓶类药包材采用不同振摇时间、不同冲洗量、不同冲洗液等不同条件进行试验,其对微生物限度检查法适用性试验结果几乎无影响。15 次试验结果的数值在 0.800~1.254 范围内,符合 2025 年版《中国药典(四部)》规定的试验组菌落数减去对照组菌落数的值与菌悬液对照组菌落数的比值在 0.5~2.0 范围内^[12]⁵²⁷⁻⁵²⁸,菌株回收相对稳定,且其平均值基本趋近于 1,表明药包材无明显的抑菌性或抑菌性可忽略不计。

2.3.3 试验结果分析

无菌试验结果仅关注微生物是否生长,不涉及试验回收情况,由试验结果可见,无菌药用瓶、注射器等高风险制剂所需药包材基本无抑菌性,可基于其体积与操作可行性选择适宜的方法进行适用性试验。

微生物限度检查试验结果的平均值趋近于 1,表明该药包材无明显抑菌性。在不同的振摇时间、冲洗量、冲洗液条件下,试验结果未见显著差异,各组数据的标准偏差较小,RSD 为 6.03%~9.71%,低于《美国药典》(USP)规定的 15%^[16],表明试验条件波动对整体试验结果的影响有限,数据集浓度高,重复性与测量精密度均良好。详见表 6。本研究中部分试验回收结果出现低至 0.8 或略高于 1.2 的情况,可能与人员操作、菌悬液分布不均、取样误差等有关。

3 讨论

药包材是保障药品质量稳定性与安全性的第一道屏障,其微生物检查需要可靠的微生物检查方法适用性试验作为支撑^[17]。但药包材微生物检查在取样规则、取样数量、供试液制备等方面存在差异,导致检出率

表 5 微生物限度检查法适用性试验结果

Tab. 5 Results of the applicability test of the microbial limit test method

条件 变量	金黄色 葡萄球菌	铜绿假 单胞菌	枯草芽 孢杆菌	白色 念珠菌	黑曲霉	白色 念珠菌*	黑曲霉*	条件 变量	金黄色 葡萄球菌	铜绿假 单胞菌	枯草芽 孢杆菌	白色 念珠菌	黑曲霉	白色 念珠菌*	黑曲霉*
试验 1	0.940 2	0.902 1	1.034 8	0.995 7	0.880 0	1.046 5	1.000 0	试验 9	0.929 8	1.073 2	1.188 7	1.021 7	1.088 2	1.011 8	0.820 5
	0.926 8	0.982 1	1.062 5	0.904 1	1.087 5	1.174 6	0.988 5		0.925 0	1.020 0	0.893 9	0.985 8	0.971 9	0.986 5	0.925 0
	1.060 0	0.978 6	1.040 0	0.933 3	0.928 6	0.958 3	1.040 0		1.012 0	0.809 5	1.012 0	0.986 5	1.017 2	1.016 2	0.978 2
试验 2	0.911 8	0.884 6	0.920 0	0.916 7	0.808 5	0.891 2	0.850 0	试验 10	0.892 9	0.911 8	0.895 5	0.984 6	1.021 8	0.986 5	0.894 8
	0.984 6	0.858 6	0.984 1	0.936 1	0.900 0	0.871 8	0.926 9		0.897 1	0.928 6	0.861 1	0.896 6	0.873 6	0.892 3	0.926 8
	0.950 0	0.918 2	1.000 0	0.951 9	0.904 8	0.933 3	0.857 1		0.872 7	0.818 2	0.939 8	0.903 9	0.884 3	0.884 6	0.830 2
试验 3	0.852 9	0.884 6	0.906 7	0.975 0	0.883 7	0.854 2	0.850 0	试验 11	0.823 7	0.831 2	0.800 0	0.808 8	0.834 7	0.818 2	0.925 9
	0.923 1	0.931 0	0.913 0	0.908 5	0.875 0	0.923 1	0.903 9		0.840 6	0.885 7	0.833 3	0.896 6	0.886 8	0.953 9	0.926 8
	0.900 0	0.903 0	0.939 4	0.988 9	0.928 6	1.055 6	0.957 1		0.927 3	0.840 9	0.951 8	0.826 9	0.921 6	0.884 6	0.943 4
试验 4	0.862 3	0.902 4	1.010 6	0.920 0	1.111 1	0.812 5	1.087 0	试验 12	0.960 6	0.844 2	0.800 0	0.808 8	0.918 4	0.963 6	0.870 4
	1.080 0	1.077 6	0.800 0	0.986 9	0.898 0	0.946 8	0.888 9		0.840 6	0.838 6	0.958 3	0.844 8	0.830 2	0.923 1	0.878 1
	0.940 0	0.989 4	1.028 3	1.000 0	1.035 7	1.083 3	1.120 0		0.927 3	0.931 8	0.939 8	0.961 5	0.980 4	0.869 2	0.886 8
试验 5	1.112 3	0.979 4	0.909 1	0.926 3	0.869 6	0.985 1	1.151 5	试验 13	0.907 9	0.961 0	0.933 3	0.926 5	0.918 4	0.927 3	0.907 4
	0.957 8	0.986 7	1.014 5	0.956 7	0.958 6	1.062 5	0.964 3		0.902 8	0.893 9	0.886 8	0.980 4	0.820 6	0.897 4	0.948 7
	1.020 0	0.981 3	1.017 0	0.985 4	0.892 9	0.944 4	1.040 0		0.888 9	0.912 3	0.870 4	0.896 6	0.829 8	0.891 9	0.833 3
试验 6	0.913 8	0.953 9	0.917 5	1.067 8	1.225 0	1.016 7	1.066 7	试验 14	0.855 3	0.898 3	0.934 4	0.854 6	0.909 1	0.837 2	0.904 8
	1.014 1	0.944 4	0.924 2	0.987 5	0.862 1	1.014 3	0.963 0		0.930 6	0.878 8	0.886 8	0.980 4	0.926 8	0.948 7	0.897 4
	0.957 8	0.981 5	0.962 1	0.962 5	0.896 6	0.971 4	1.074 1		0.920 6	0.924 5	0.872 7	0.888 9	0.853 7	0.918 9	0.818 2
试验 7	0.955 8	0.996 3	1.074 1	0.975 1	0.934 8	0.894 7	1.022 2	试验 15	0.907 9	0.915 3	0.934 4	0.909 1	0.848 5	0.907 0	0.904 8
	0.920 0	0.946 9	0.986 3	0.945 2	0.935 5	0.903 6	0.941 2		0.902 8	0.893 9	0.905 7	0.941 2	0.926 8	0.923 1	0.923 1
	0.880 0	0.985 3	1.013 7	0.882 4	0.967 7	0.975 9	1.029 4		0.920 6	0.859 7	0.927 3	0.913 8	0.886 4	0.918 9	0.852 9
试验 8	0.975 0	0.998 3	1.225 0	1.004 8	0.896 6	0.933 3	0.960 0	$\bar{X}$	0.842 1	0.915 3	0.967 2	0.890 9	0.909 1	0.883 7	0.928 6
	0.956 5	0.875 0	0.911 1	0.920 0	1.166 7	1.254 0	1.111 1		0.929 4	0.925 1	0.950 8	0.936 4	0.931 2	0.950 0	0.944 9

表6 微生物限度检查法适用性试验结果分析

Tab. 6 Results of the applicability test of the microbial limit test method

试验菌种	平均值	标准偏差(SD)	RSD(%)	最小值	最大值
金黄色葡萄球菌	0.929 4	0.062 0	6.68	0.823 7	1.112 3
铜绿假单胞菌	0.925 1	0.062 6	6.76	0.809 5	1.077 6
枯草芽孢杆菌	0.950 8	0.087 4	9.19	0.800 0	1.225 0
白色念珠菌	0.936 4	0.056 4	6.03	0.808 8	1.067 8
黑曲霉	0.931 2	0.090 5	9.71	0.808 5	1.225 0
白色念珠菌*	0.950 0	0.085 9	9.04	0.812 5	1.254 0
黑曲霉*	0.944 9	0.084 3	8.92	0.818 2	1.151 5

低、重复性差、结果难以量化^[6-7]。本研究中系统考察了无菌试验及微生物限度试验关键参数对微生物检查方法适用性试验结果的影响,但由于样本量有限且药包材形制复杂^[16,18],仍需大量试验进一步验证。

无菌试验选用高、低浓度菌悬液等参数及微生物限度的不同试验条件进行试验,结果基本证实参数在合理范围内波动,不影响方法的适用性,这与方良艳等^[11]及郑小玲等^[16]的研究结论一致。但微生物限度检查试验显示,荡洗法相对擦拭法的回收更高,与朱莲花等^[19]的研究结果一致。在振摇时间方面,设置了1,3,5 min 3个梯度,结果1 min即可满足微生物洗脱需求,延长振摇时间并未显著提升回收量,这与方良艳等^[11]报道的片材类药包材振摇时间不少于5 min有差异。分析原因,可能与本研究中选用的塑料瓶壁、薄膜光滑和微生物附着力较弱有关,提示药包材微生物附着性与振摇时间的设定应结合药包材表面特性进行差异化选择。许凯等^[10]在解析2025年版《中国药典(四部)》药包材通用要求时指出,药包材的材质多样性是微生物检查方法标准化的最大挑战,建议建立“材质-方法”匹配数据库。

国际人用药品注册技术协调会(ICH)Q9《质量风险管理》强调,质量控制策略应与产品风险相匹配,避免“一刀切”式的过度检验或风险失控的检验不足^[20-21]。本研究中根据用药途径将药包材分为高、中、低风险3类^[1,7],应针对不同风险等级进行差异化检查^[17]。对于高风险药包材,必须执行准确可靠的方法适用性试验^[22];中风险药包材可在充分评估的前提下适度简化,对于连续多批次微生物负荷低于警戒限的,风险评估后可适当降低检查频次^[7],但需维持全量过滤,以确保代表性,符合ICH Q6A提出的有科学证据证明不支持微生物生长的,可减少检查频次或不设微生物检查要求^[23];低风险药包材的微生物检查在关注过程控制的前提下可考虑豁免^[7,24]。多年来,陕西省食品药品检验研究院年均完成100余批药包材微生物检查,结果均为阴性,持续性阴性结果支持豁免的必要性。

综上所述,药包材微生物检查法适用性试验的核心在于识别风险及材料形制^[1,25]。本研究中通过风险分级、方法标准化与适度豁免,可在保证药品安全的前提下提升风险识别效率^[20],推动药包材质量控制向科学化、精准化方向发展。

参考文献

[1] 陈蕾,俞辉,王彦,等. 2025年版《中国药典》药包材标准体系概述[J]. 中国药品标准,2025,26(1):67-76.

[2] 王丹丹,金宏,蔡荣,等. 中国国家药包材标准体系的沿革与启示[J]. 医药导报,2023,42(8):1123-1129.

[3] 肖新月. 药品包装材料[M]. 北京:科学出版社,2023:1.

[4] 刘向萍,蒋周芹,朱珠,等. 药包材管理的问题分析和应对措施[J]. 现代药物与临床,2025,40(7):1820-1824.

[5] Skowron N, Bujak T, Niedzielska M, et al. Microbiological contamination of medicinal products [J]. Pharmaceuticals, 2025,18(7):946.

[6] 战宏利,马仕洪,戴翠,等. 口服液体药用塑料瓶微生物污染状况分析及试验方法改进[J]. 药物分析杂志,2014,34(6):1100-1105.

[7] 谢兰桂,孙会敏,项新华,等. 我国药品包装材料检测能力验证标准化体系的构建[J]. 中国药学杂志,2025,60(16):1759-1766.

[8] 孙会敏,张伟,邹健. 国家药包材标准[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:1-2.

[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)9621 药包材通用要求指导原则[M]. 北京:中国医药科技出版社,2025:803-803.

[10] 许凯,常亮,刘燕,等. 2025年版《中国药典》药包材通用要求指导原则解析[J]. 医药导报,2025,44(11):1457-1463.

[11] 方良艳,王知坚,李珏,等. 片材类药包材微生物限度检查方法适用性研究[J]. 中国药品标准,2019,20(5):432-436.

[12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2025.

[13] 余凡,周瑞,焦明欢,等. 4种方法检测片材类药包材微生物计数回收率对比研究[J]. 药物分析杂志,2024,44(6):1040-1045.

[14] 黄结,王涛. 两种方法对导管医疗器具无菌检查的比较[J]. 中国药事,2015,29(11):1189-1191.

[15] 李闻涛,毛毅,绳芬,等. 一次性使用无菌阴道扩张器无菌检查方法适用性研究[J]. 中国卫生检验杂志,2018,28(12):1523-1525.

[16] 郑小玲,梁法勇,田卓,等. 外用液体药用高密度聚乙烯瓶无菌检查法的研究[J]. 中国现代应用药学,2021,38(6):730-733.

[17] 周亚菊,徐俊,杨美成. 新形势下药包材质量控制现状及监管对策思考[J]. 中国现代应用药学,2025,42(7):1188-1194.

[18] 黄韵璇,朱晓燕,高颖,等. 药品微生物检验环境菌库建立实践[J]. 中国药业,2025,34(12):76-80.

[19] 朱莲花,李珏,王知坚. 棉签擦拭法及洗涤振荡法对药包