

9202 非无菌兽药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**）及非无菌兽药微生物限度标准（**通则1107**），特制定本指导原则。

非无菌兽药中污染的某些微生物可能导致药物活性降低，甚至使兽药丧失疗效，从而对**患病**动物健康造成潜在的危害。因此，在兽药生产、贮藏和流通各个环节中，兽药生产企业应严格遵循GMP的**指导原则要求**，以降低**产品兽药**受微生物污染程度。非无菌**产品兽药**微生物计数法、控制菌检查法及**非无菌**兽药微生物限度标准可用于判断非无菌**制剂兽药**及原料、辅料等是否符合兽药典的规定，也可用于指导**制剂、非无菌兽药**及原料、辅料等的微生物**检验**质量标准的制定，及指导生产过程中产品微生物质量的监控。本指导原则将对微生物限度**标准和检查方法**和**标准**中的特定内容及应用做进一步的说明。

~~1.非无菌兽药微生物限度检查中，受控的洁净环境是指不低于GMP现行版要求的D级洁净环境。~~

12.非无菌兽药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**所被**检样品及其用量时，除应证明该试剂对**所被**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**验证方法适用性**试验菌株，**而还应当**包括产品中可能污染的微生物。

23.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**使用损失或**损伤供试品中**污染的微生物的方法**。如**滤纸吸附、离心沉淀等供试品溶液前处理方法**。当使用自然沉淀法获得上清液作为供试品溶液时，需考察沉降时间对微生物回收的影响，必要时可在方法中**明确自然沉降时间**。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。

34.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，**以保证兽药微生物检验用培养基的质量**。对照培养基一般由中国兽医药品监察所研制及分发，如需自行选择对照培养基，应进行充分的风险评估，**确保其符合检查方法的要求及检验结果的一致性**。

45.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 **供试品中**需氧菌总数不得过 10^3 cfu，那么最高稀释级是1：10³。

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，**那么则**应选择回收**情况率**最接近要求的方法进行供试品的检测。如某种**产品兽药**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%，**那么则**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。对于采用最高稀释级计数的微生物计数方法，建议通过增加接种量（试验平皿数）来降低检验误差，提高计数方法的准确度。

56.控制菌检查法没有规定进一步确证疑似**致病菌目标菌**的方法。若供试品检出疑似**致病菌目标菌**，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《伯杰氏细菌鉴定手册》方法可参考微生物鉴定指导原则（指导原则9204）进行。

6.当供试品微生物计数及控制菌检查不符合规定或检出其他不可接受微生物时，应启动微生物数据偏差（MDD）调查，一般包括实验室调查和生产调查两部分。实验室调查可参考兽药微生物实验室质量管理指导原则（指导原则9203）的要求，包括样品、人员、耗材（包括培养基、菌种、试剂及稀释液等）、实验环境、设备设施、检验方法和操作等方面，以确定检验结果是否有效。如确定检验结果有效，生产单位应开展全面调查，包括人员、环境、设备设施、生产工艺过程、物料等方面，以确定污染的来源和超标发生的根本原因，并制定有效的纠正和预防措施。考虑到MDD调查的时限性，可在实验室调查完成之前启动生产调查。

7. 兽药微生物检查过程中，如果兽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，那么则应选择经过验证的方法适用性试验确认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。

8.用于手术、**严重**烧伤及严重创伤的局部给药制剂应符合无菌检查法（**通则1101**）要求。对用于创伤程度难以判断的局部给药制剂，若没有证据证明兽药不存在安全性风险，那么该兽药应符合无菌检查法要求。

9. 非无菌兽药微生物限度标准（**通则1107**）中，药用原料、辅料仅规定检查需氧菌总数、霉菌和酵母菌总数，**对控制菌未做统一规定要求**。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**对控制菌及其他**具有潜在危害的**致病菌不可接受微生物**进行控制。

10.非无菌兽药原辅料微生物限度的控制应基于风险评估。风险评估需综合考虑非无菌化学原辅料的性质（包括起始物料、溶剂、试剂、催化剂等）、生产工艺、生产环境、设备清洁状态、人员素质、最差生产条件、历史数据及趋势等因素。在风险评估的基础上，做出微生物是否能在原辅料中生长或存活、原辅料生产及处理步骤是否会减少微生物的初步判定，从而确定微生物限度检查策略（定期抽检或逐批检查或不考虑进行检查）及相应的微生物限度标准。具体可参考非无菌兽药原辅料微生物限度检查决策树（图1），制定其微生物限度控制策略。

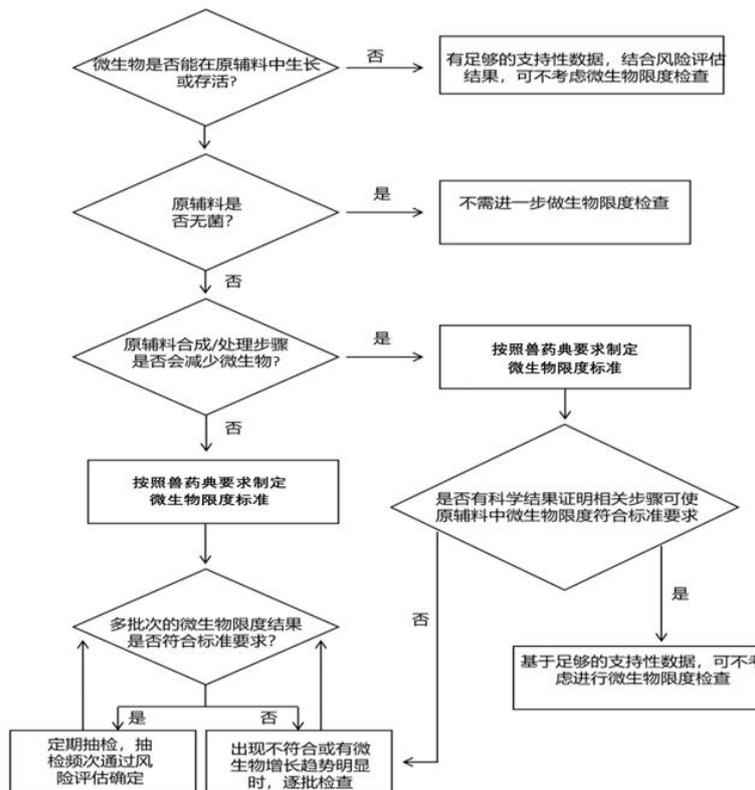


图 1 非无菌兽药原辅料微生物限度检查决策树

1011. 对于《中国兽药典》2015年版制剂通则（通则 0100）检查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（如部分化学兽药的内服片剂、胶囊剂、颗粒剂等），应对其被微生物污染的风险进行评估。风险评估需综合考虑制剂特点、组成成份、生产工艺、生产环境、设备清洁状态、人员素质、最差生产条件、历史数据及趋势等因素。在风险评估的基础上，根据制剂中是否含有抑菌剂或兽药本身是否具有抗微生物能力，是否为固体制剂及该固体制剂是否具有抑制微生物生长的特性等，确定微生物限度检查策略（定期抽检或逐批检查或不考虑进行检查）及相应的微生物限度标准。具体可参考非无菌兽药制剂微生物限度检查决策树（图 2），制定其微生物限度控制策略。对于只有原则性要求的制剂，经过评估，在保证产品对患病动物安全的前提下，通过回顾性验证或在线验证积累的微生物污染数据积累数据表明每批均符合微生物限度标准的要求，那么则可不进行批逐批检验，但必须保证每批最终产品均符合微生物限度标准规定。对于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的固体制剂，应在品种项下列出微生物限度检查项及微生物限度标准，如生化类制剂。

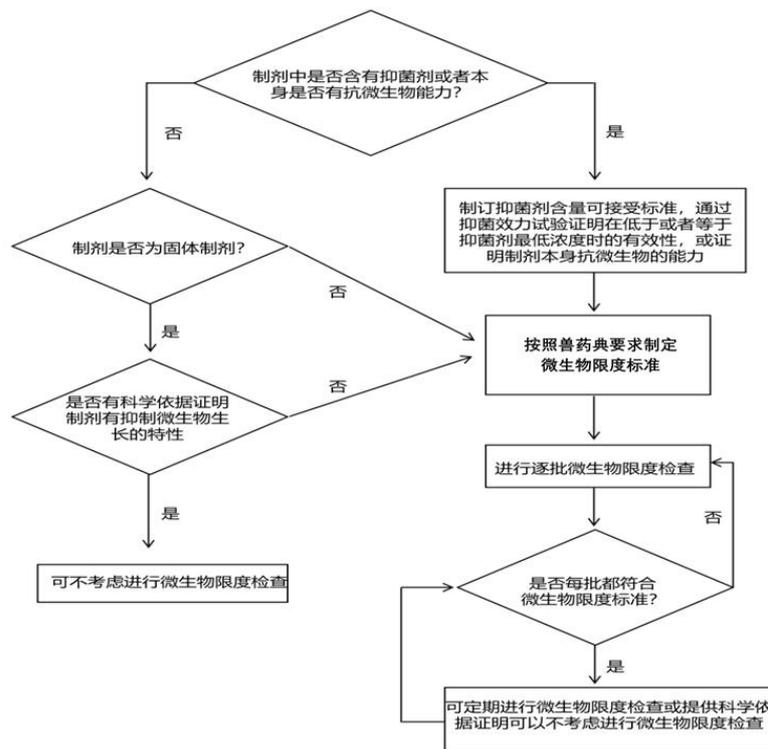


图 2 非无菌兽药制剂微生物限度检查决策树

11.12. 制定兽药的微生物限度标准时，除依据“非无菌兽药微生物限度标准（通则 1107）”外，还应综合考虑原辅料来源、性质、生产工艺条件、给药途径及微生物污染对患病动物的潜在危险等因素，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（如：以每罐或每瓶）规定限度标准。必要时，某些兽药为保证其疗效、稳定性及避免对患病动物的潜在危害性，应制定更严格的微生物限度标准，并在品种项下规定。