

实用药品检验检测技术指南丛书

实用药品微生物检验检测 技术指南

主编 胡昌勤 杜平华 许华玉



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

实用药品检验检测技术指南丛书

实用药品微生物检验检测 技术指南

主 编 胡昌勤 杜平华 许华玉

主 审 张 伟 王 平 钱忠直

副主编 郑 璐 王之光

编 者 (按姓氏笔画排序)

于维森 王之光 王友兰 卢京光 朱世真
刘玉珍 许华玉 孙 娜 孙小庆 杜平华
杨美琴 郑 璐 胡昌勤 秦 岩 钱文静

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

实用药品微生物检验检测技术指南 / 胡昌勤, 杜平华, 许华玉主编. —北京: 人民卫生出版社, 2015

ISBN 978-7-117-20534-4

I. ①实… II. ①胡… ②杜… ③许… III. ①药品检定 - 微生物检定 - 检验方法 - 指南 IV. ①R927.1-62

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 063117 号

人卫社官网	www.pmph.com	出版物查询, 在线购书
人卫医学网	www.ipmph.com	医学考试辅导, 医学数据库服务, 医学教育资源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

实用药品微生物检验检测技术指南

主 编: 胡昌勤 杜平华 许华玉

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷: 北京盛通印刷股份有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 14

字 数: 341 千字

版 次: 2015 年 4 月第 1 版 2015 年 4 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-20534-4/R · 20535

定 价: 78.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

编委会名单

主任委员

桑国卫 十一届全国人大常委会副委员长、中国工程院院士、资深研究员,第八、九届国家药典委员会执委,第十届全国国家药典委员会名誉主任委员、执委

副主任委员

李波 中国食品药品检定研究院党委书记兼副院长、研究员,第八、九、十届全国国家药典委员会委员

王军志 中国食品药品检定研究院副院长、研究员,第八、九、十届全国国家药典委员会委员

金少鸿 中国食品药品检定研究院原化学药品检定首席专家,第八、九届全国国家药典委员会执委,第七、十届全国国家药典委员会委员

王之光 中华全国工商业联合会医药业商会秘书长、研究员

赵贵英 中国医药质量管理协会副会长兼秘书长、研究员

刘玉珍 中华全国工商业联合会医药业商会技术总监、主任药师、国家 GMP 检查员(第四批)

委员(按姓氏笔画排序)

马双成 中国食品药品检定研究院中药民族药检定所所长、研究员,第九、十届全国国家药典委员会委员

石上梅 国家药典委员会中药标准处处长、主任药师

宁保明 中国食品药品检定研究院化学药品室副主任、副研究员

朱镇生 无锡市医药质量管理协会会长

刘午霞 江苏省食品药品监督检验研究院中药室原副主任、主任药师,第七、八届全国国家药典委员会委员

张启明 中国食品药品检定研究院化学室原主任、主任药师,第八、九、十届全国国家药典委员会委员

- 陈桂良 上海市食品药品检验所副所长、研究员,第九、十届国家药典委员会委员
杜平华 青岛市药品检验所微生物室原主任、主任药师,第八、九届国家药典委员会委员
张小茜 北京市药品检验所中药室原主任、主任药师,第九、十届国家药典委员会委员
张文虎 中国医药质量管理协会副秘书长、研究员
林瑞超 北京中医药大学中药学院院长、研究员,中国食品药品检定研究院原中药检定首席专家,第八、九、十届国家药典委员会委员
金红宇 中国食品药品检定研究院天然药物室副主任、主任药师
郑 健 中国食品药品检定研究院民族药室副主任、研究员
郑 璐 国家中医药管理局中药质量控制重点研究室主任、教授级高工
周富荣 北京市药品检验所中药室原主任、主任药师,第七、八、九届国家药典委员会委员
胡昌勤 中国食品药品检定研究院化学药品检定首席专家、抗生素室主任兼微生物检测室主任、研究员,第八、九、十届国家药典委员会委员
韩 鹏 国家药典委员会业务综合处副处长
鲁 静 中国食品药品检定研究院中药民族药检定所原副所长、主任药师,第八、九、十届国家药典委员会委员

主审单位 国家药典委员会

- 张 伟 国家药典委员会秘书长、主任药师,第八届国家药典委员会委员,第九、十届国家药典委员会执委
王 平 国家药典委员会原副秘书长、国家食品药品监督管理总局食品安全监管一司副司长、主任药师,第八、九、十届国家药典委员会执委
钱忠直 国家药典委员会首席科学家、二级教授,第八、九、十届国家药典委员会委员、美国药典委员会委员

主编单位 中华全国工商业联合会医药业商会

序

药品检验是评价药品质量、保障人民用药安全有效的重要手段。无论是企业内部的质量检测实验室,还是药品监督管理部门依法设置的药品检验机构,其检验报告书都承载着科研成果、产品质量的重要信息,是企业实施药品质量评价的可靠依据,是国家药品监管部门行政执法的技术支撑文件,同时也反映着检验机构技术力量、检测水平的高低。药品检验实验室管理科学化、标准化、规范化,提高药品检验人员的技术水平和操作技能,提供试验数据真实、可靠、结果准确的检验报告,是保障公众用药安全的重要前提。

目前,全国有 1319 家无菌药品生产企业,3708 家非无菌药品生产企业,药品批发企业 13 000 家,从事药品检验的机构,包括科研单位、各级药品检验机构,拥有药品检验技术人员至少 10 万人。随着我国经济、社会的不断发展,政府对公众饮食用药安全的重视程度越来越高,公众对健康相关产品的需求不断增强,药品质量安全成为社会关注的焦点,药品检验机构承担着越来越重要的社会责任。在这种形势下,药品检验人员迫切希望编写一套以《中国药典》为体例,指导科研单位、医药行业药品检验人员使用的药品检验、检测技术指南。为此,中华全国工商业联合会医药业商会牵头组织,以中国食品药品检定研究院的专家为主体、部分省(市)食品药品检验所的专家参加,共同编写了《实用药品检验检测技术指南丛书》。笔者确信,该丛书的出版有望成为指导专业技术人员、药品检验人员正确执行国家药品标准、检验方法,开展药品检验的权威性工具书;成为国家药品标准、《中国药典》、《中国生物制品操作规程》、《药品快速检测技术研究与应用》的重要补充;成为从事药品研究、检验的科研工作者,基层药品检验所、药品生产及经营部门、医院制剂室检验人员必备的工具书和药品检验大全,亦可对新药研发创新发挥指导作用。



二〇一三年八月十八日

丛书编写说明

药品是用于防病、治病的特殊商品。为保证药品质量,必须制定药品管理的依据,即药品质量标准。国务院药品监管部门颁布的《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)和药品标准为国家药品标准。《中国药典》是国家为保证药品安全有效依法制定的药品法典,是药品研制、生产、经营、使用及监管等各环节必须严格遵守、具有强制性的技术准则和法定依据,是国家药品标准体系的核心和药品监管部门正确执法的技术支撑。药品检验是控制药品质量的重要手段,药品是否符合法定的药品标准,需要通过药品检验检测的手段来判定。

编写一套可供药检人员正确使用国家药品标准、准确掌握《中国药典》的检验技术和操作方法,从而为出具检验数据准确、结论可靠的检验报告提供保证,内容丰富、注重实操的《实用药品检验检测技术指南丛书》,即为丛书全体编委的初衷。

本丛书主要根据《中国药典》的体例编写,分《实用中药药品检验检测技术指南》、《实用化学药品检验检测技术指南》、《实用生物制品检验检测技术指南》等分册。分册以《中国药典》现行版正文品种和制剂通则项下的检验方法为主体,对标准相关的基础知识,性状、鉴别、检查、含量测定等项目的技术要求、使用原理、操作规程、注意事项、计算公式、方法验证的指导原则逐项解析;以大量检验实例和图文阐述实验操作技能。因微生物检验涉及中药、化药、生物制品的检验部分,故《实用药品微生物检验检测技术指南》独立分册编写。中药分册、微生物分册的编写恰介于《中国药典》2010年版实施和2015年版即将颁布的交替阶段,因此书稿在2010年版《中国药典》的基础上,充分参照2015年版《中国药典》的更新内容做了大幅调整和修改,力求相关内容与新版药典一致。本丛书力争做到方法叙述完整、准确,具较强的科学性、实用性和可操作性,可作为从事药品科研、生产、检验、管理人员的重要参考书和常备工具书,亦可供大专院校师生教学参考使用。

目前,《实用中药药品检验检测技术指南》、《实用药品微生物检验检测技术指南》两本分册已经完成,将于2015年4月出版,与广大读者见面。《实用化学药品检验检测技术指南》、《实用生物制品检验检测技术指南》将随之编写出版。

为确保本书的权威性,聘请中国工程院院士桑国卫作为编委会主任,国家药典委员会作为主审单位(张伟秘书长牵头,王平原副秘书长、钱忠直首席专家组成审核组)。编写人员由

中国食品药品检定研究院、部分省(市)食品药品检验所及多年从事药检工作的资深专家团队组成,主要编写人员 80% 为国家药典委员会委员。

本丛书在编写过程中得到桑国卫院士的高度关注和指导,并为之作序;国家药典委员会予以审定,对本书的总体编写原则进行指导和技术把关;在此,一并表示真诚的感谢!

同时,向为本书付出辛勤劳动的编写人员表示诚挚的谢意!

丛书编委会

2015年3月

前 言

尽管药品生产都是在高洁净度环境中进行的,但是原材料的输入、操作人员携带的尘埃和微生物是洁净环境最大的污染源。被微生物污染的药品,不仅其有效成分会因被破坏而失效,且污染微生物还可能产生毒素。药品微生物限度是控制药品质量的重要指标之一,通过对污染微生物的控制,保证药品在各个生产环节不被微生物污染,从而保证药品质量。为保证从事药品微生物研究、生产、检验等技术人员,全面了解微生物的基本知识、检测方法、原理、操作技能,准确掌握《中国药典》微生物检测方法、技术要求,我们编写了《实用药品微生物检验检测技术指南》。

本书系《实用药品检验检测技术指南丛书》分册之一,该分册共分五篇二十二章。第一篇药品微生物基础知识,结合大量图片阐释了细菌、真菌等微生物的生物学性状;第二篇药品微生物实验室管理规范,全面介绍了微生物实验室的规范化管理、质量控制,以及环境监测与检测方法;第三篇微生物学基本操作技术,囊括了无菌技术、微生物操作技术、消毒与灭菌、培养基及其制备方法、菌种保藏、常用仪器设备等内容;第四篇药品微生物检查,具体介绍了微生物限度检查,需氧菌总数、霉菌及酵母菌总数的测定,以及其他相关检查检验方法;第五篇药品无菌检查,介绍了药品无菌的概念及相关技术。

该分册的编写恰介于《中国药典》2010年版实施和2015年版即将颁布的交替阶段,因此全书在2010年版《中国药典》的基础上,参照2015年版《中国药典》的更新内容做了大幅调整和修改,力求相关内容与新版药典一致。

本分册以中国食品药品检定研究院为主体,组织全国药检系统的专家,荟萃其几十年宝贵的工作经验,通力配合,励精图治编撰而成。中国食品药品检定研究院马仕洪博士对本书进行了校对。同时,本书还参阅了大量的文献专著。在此,一并表示衷心的感谢!

由于编写人员来自各地,在内容、编排等方面,仍难免有不足之处,恳请广大读者批评指正!

编 者

2015年3月

目 录

第一篇 药品微生物基础知识

第一章 细菌的生物学特性	2
第一节 细菌的形态	2
一、球菌	3
二、杆菌	3
三、弧菌	3
四、螺杆菌	3
第二节 细菌的基本结构	3
一、细胞壁	3
二、细胞膜	4
三、细胞质	4
四、核质	4
第三节 细菌的特殊结构	4
一、荚膜	4
二、鞭毛	4
三、菌毛	5
四、芽孢	5
第四节 细菌的生长与培养	6
一、生长繁殖的条件	6
二、生长方式与速度	7
第五节 细菌的分类和命名	8
一、细菌的分类原则	8
二、细菌的命名法	8
第二章 真菌的生物学特性	9
第一节 真菌的形态与结构	9
一、真菌的形态	9
二、真菌的结构	12
第二节 真菌的培养条件与生长特征	13

一、真菌的培养条件	13
二、真菌的繁殖方式	14
三、真菌的菌落特征	14
四、真菌的抵抗力与变异性	15
第三节 酵母菌的形态特征	15
一、酵母菌的个体形态	15
二、酵母菌菌落特征	15
第四节 放线菌的形态特征	16
一、放线菌的菌落形态	16
二、放线菌的菌落特征	17
第三章 微生物的显微镜观察	18
第一节 显微镜的使用	18
一、普通光学显微镜	18
二、体视显微镜	20
三、测微计的使用	20
第二节 显微镜活体检查法	21
一、细菌的活体观察	21
二、霉菌的活体观察	21
三、酵母菌的活体观察	22
第三节 微生物的染色镜检法	22
一、染色与染料	23
二、常用染色法	23

第二篇 药品微生物实验室管理规范

第四章 药品微生物实验室的规范化管理	30
第一节 实验室人员的培训	30
一、微生物实验工作人员的培训	30
二、微生物实验室管理人员的培训	30
第二节 微生物实验室设施规划和运行	30
一、微生物实验室的规划	31
二、微生物实验室的运行	31
三、微生物实验室的环境监测	31
四、清洁和消毒	31
五、污染废弃物处理	31
第三节 设备管理	32
一、管理制度	32
二、仪器设备的维护	32
第四节 试剂管理	32

一、管理制度	33
二、应用范围	33
三、使用要求	33
四、采购接收和标识	34
五、贮存和使用	34
六、试剂使用效期的管理	34
七、报废	35
第五节 实验室档案和实验记录	35
一、档案的规范化管理	35
二、实验记录的保存	35
第五章 微生物实验室的质量控制	36
第一节 培养基的制备和质量控制	36
一、培养基的制备	36
二、培养基的灭菌	36
三、培养基的贮藏	37
四、培养基的质量控制	38
第二节 菌种的保藏和管理	38
一、菌种的保藏	38
二、菌种的管理	39
第三节 结果的判断	39
一、影响实验结果的因素	39
二、实验结果分析与评价	39
第六章 微生物实验室环境监测与检测方法	41
第一节 微生物实验室的布局	41
一、环境	41
二、无菌室	41
三、无菌检查用隔离系统	42
第二节 洁净区(室)的检测标准	43
一、洁净区(室)检测标准的制定	43
二、空气洁净度有关参考标准	43
三、2010年版GMP洁净区(室)的检测标准	45
第三节 洁净区(室)的检测方法	47
一、悬浮粒子(尘埃粒子)检测方法	47
二、浮游菌测试方法	49
三、沉降菌测试方法	50
四、换气次数的测定	51
五、温湿度、照度和噪声、静压差的测定	52

第三篇 微生物学基本操作技术

第七章 无菌技术	54
第一节 无菌环境和设施	54
一、无菌环境	54
二、无菌设施	54
第二节 无菌器材	55
一、灭菌器材	55
二、消毒器材	55
第三节 无菌操作	55
一、实验前准备	55
二、检验操作过程	56
第八章 微生物操作技术	57
第一节 接种技术	57
一、斜面培养基接种法	57
二、半固体培养基接种法	58
三、液体培养基接种法	58
四、平板培养基接种法	58
第二节 分离技术	58
一、划线分离法	58
二、涂布分离法	59
三、倾注分离法	59
第三节 培养方法	59
一、需氧培养法	60
二、厌氧培养法	60
三、微需氧培养法	61
四、二氧化碳培养法	62
第九章 消毒与灭菌	63
第一节 相关概念	63
一、消毒	63
二、灭菌	63
三、无菌	63
四、抑菌	64
五、防腐	64
第二节 物理消毒灭菌法	64
一、热力灭菌法	64
二、气体灭菌	66
三、辐射灭菌法	67

四、过滤除菌法	68
五、超声波杀菌法	70
第三节 化学消毒灭菌法	70
一、常用消毒剂的种类	70
二、影响消毒灭菌效果的因素	72
第四节 灭菌验证	72
一、验证内容及评价指标	72
二、灭菌方法验证	73
第十章 培养基及其制备方法	78
第一节 培养基的主要成分及其作用	78
一、水分	78
二、碳源	78
三、氮源	79
四、无机盐类	79
五、生长因子	79
六、凝固剂	80
七、抑菌剂	80
八、指示剂	80
第二节 培养基的分类	80
一、按物理状态分类	80
二、按用途分类	80
三、按成分分类	81
第三节 培养基的制备方法及注意事项	81
一、培养基的制备	81
二、干燥培养基简介	82
三、配制培养基的质量控制	82
第四节 常用培养基的配制	83
一、无菌检查用培养基	83
二、微生物限度检查用培养基	84
三、控制菌检查用培养基	85
第十一章 菌种保藏	96
第一节 菌种保藏机构与管理	96
一、菌种保藏机构	96
二、菌种保藏管理	98
第二节 菌种保藏方法	98
一、菌种保藏原则	98
二、常用菌种保藏方法	99
第三节 菌种保藏质量控制	102
一、定期检查	102

二、控制菌种衰退的措施.....	102
三、菌种的复壮.....	103
第四节 冻干菌种保藏及使用.....	103
一、复活.....	104
二、复壮.....	104
三、菌种确认.....	104
四、繁殖.....	104
第十二章 微生物实验室常用仪器设备.....	105
第一节 常用仪器.....	105
一、显微镜.....	105
二、电子天平.....	105
三、紫外分析仪.....	106
四、全封闭式细菌集菌仪.....	106
五、半封闭式细菌集菌仪.....	107
六、匀浆仪.....	107
七、离心机.....	108
八、培养箱.....	108
九、电热恒温水浴箱.....	109
十、电热恒温干燥箱.....	109
十一、冰箱.....	110
十二、高压蒸汽灭菌器.....	111
第二节 常用玻璃器皿.....	111
一、常用玻璃容器.....	111
二、其他常用玻璃器皿.....	112
三、玻璃器皿的清洁法.....	113
四、洗涤液的配制.....	113

第四篇 药品微生物检查

第十三章 非无菌药品微生物限度检查.....	116
第一节 概述.....	116
一、药品微生物限度标准.....	116
二、药品微生物检验的范围.....	116
第二节 检验量与抽样量.....	117
一、检验量.....	117
二、抽样量.....	117
三、2015年版《中国药典》的相关规定.....	118
第三节 2015年版《中国药典》非无菌药品微生物限度标准.....	118
一、制订原则.....	118

二、应用范围	118
三、非无菌药品微生物限度标准	118
四、其他说明	120
第十四章 药品微生物限度检查方法验证	122
第一节 药品微生物检验方法验证的基本要求	122
一、验证实验设计的基本要求	122
二、验证实验用菌株的基本要求	123
第二节 微生物限度检查法的验证	123
一、细菌、霉菌及酵母菌数测定方法的验证	123
二、控制菌检查方法的验证	125
第十五章 供试液的制备	127
第一节 供试液制备的基本要求与常用方法	127
一、基本要求	127
二、常用方法	127
第二节 常用供试液的制备	128
一、一般供试品的供试液制备方法	128
二、特殊供试品的供试液制备方法	128
第十六章 需氧菌总数测定	129
第一节 平板菌落计数法	129
一、设施、设备、仪器及用具	129
二、稀释剂、培养基	130
三、检验程序	131
四、注意事项	133
五、菌数报告规则	133
六、结果判断	134
第二节 其他测定方法	134
一、薄膜过滤法	134
二、试管稀释法	135
三、平板涂布法	137
第十七章 霉菌数及酵母菌总数测定	138
第一节 概述	138
一、受污染药品中常见的霉菌、酵母菌	138
二、霉菌、酵母菌的培养特性	138
第二节 平板菌落计数法	139
一、设备、仪器、玻璃器皿	139
二、培养基与稀释剂	139
三、检验方法	139
四、培养与计数	139
五、报告规则与结果判断	139

六、注意事项	139
第十八章 控制菌检查法	141
第一节 培养基的适用性检查	141
一、菌种及菌液制备	141
二、适用性检查	142
第二节 大肠菌群检查法	143
一、生物学特征	143
二、仪器、设备及用具	143
三、培养基、试液	143
四、大肠菌群检验程序	143
五、结果判断	144
六、注意事项	145
第三节 大肠埃希菌检查法	145
一、生物学特征	145
二、培养特性	145
三、抗原结构	146
四、抵抗力	146
五、致病力	146
六、检查方法	146
七、大肠埃希菌检验程序	147
八、结果判断	150
九、注意事项	150
第四节 沙门菌检查法	151
一、生物学特征	151
二、仪器、设备及用具	152
三、培养基、试液	152
四、沙门菌检验程序	152
五、结果判断	155
六、注意事项	155
第五节 金黄色葡萄球菌检查法	156
一、生物学特征	156
二、仪器、设备及用具	156
三、培养基、试液	156
四、金黄色葡萄球菌检验程序	157
五、结果判断	158
六、注意事项	158
第六节 铜绿假单胞菌检查法	159
一、生物学特征	159
二、仪器、设备及用具	159