

附件：

1106 非无菌产品微生物限度检查：控制菌检查法

控制菌检查法系用于在规定的试验条件下，检查供试品中是否存在特定的微生物。

当本法用于检查非无菌制剂及其原、辅料等是否符合相应的微生物限度标准时，应按下列规定进行检验，包括样品取样量和结果判断等。

供试品检出控制菌或其他致病菌时，报告结果前应进行充分的调查和评估~~按一次检出结果为准，不再复试。~~

供试液制备及实验环境要求同“非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法（通则 1105）”。

如果供试品具有抗菌活性，应尽可能去除或中和。供试品检查时，若使用了中和剂或灭活剂，应确认有效性及对微生物无毒性。

供试液制备时如果使用了表面活性剂，应确认其对微生物无毒性以及与所使用中和剂或灭活剂的相容性。

培养基适用性检查和控制菌检查方法适用性试验

供试品控制菌检查中所使用的培养基应进行适用性检查。

供试品的控制菌检查方法应进行方法适用性试验，以确认所采用的方法适合于该产品的控制菌检查。

若检验程序或产品发生变化可能影响检验结果时，控制菌检查方法应重新进行适用性试验。

菌种及菌液制备

菌种 试验用菌株的传代次数不得超过 5 代（从菌种保藏中心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，以保证试验菌株的生物学特性。

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

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

大肠埃希菌（*Escherichia coli*）（CMCC（B）44102）

乙型副伤寒沙门菌（*Salmonella paratyphi* B）（CMCC（B）50094）

27 白色念珠菌 (*Candida albicans*) (CMCC (F) 98001)

28 生孢梭菌 (*Clostridium sporogenes*) (CMCC (B) 64941)

29 **菌液制备** 将金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、沙门菌分别接种
30 于胰酪大豆胨液体培养基中或胰酪大豆胨琼脂培养基上, 30~35℃培养 18~24 小
31 时; 将白色念珠菌接种于沙氏葡萄糖琼脂培养基上或沙氏葡萄糖液体培养基中, 20~
32 25℃培养 2~3 天; 将生孢梭菌接种于梭菌增菌培养基中置厌氧条件下 30~35℃培
33 养 24~48 小时或接种于硫乙醇酸盐流体培养基中 30~35℃培养 18~24 小时。上述
34 培养物用 pH7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液、[pH7.2 无菌磷酸盐缓冲液](#)或 0.9% 无菌氯
35 化钠溶液制成适宜浓度的菌悬液。

36 菌液制备后若在室温下放置, 应在 2 小时内使用; 若保存在 2~8℃, 可在 24
37 小时内使用。生孢梭菌孢子悬液可替代新鲜的菌悬液, 孢子悬液可保存在 2~8℃,
38 在验证过的贮存期内使用。

39 阴性对照

40 为确认试验条件是否符合要求, 应进行阴性对照试验, 阴性对照试验应无菌生
41 长。如阴性对照有菌生长, 应进行[偏差](#)调查。

42 培养基适用性检查

43 [每批](#)控制菌检查用的商品化预制培养基、由脱水培养基或按处方配制的培养基
44 均应进行培养基的适用性检查。

45 控制菌检查用培养基的适用性检查项目包括促生长能力、抑制能力及指示特性
46 的检查。各培养基的检查项目及所用的菌株见表 1。

47 **液体培养基促生长能力检查** 分别接种不大于 100cfu 的试验菌(表 1)于被检
48 培养基和对照培养基中, 在相应控制菌检查规定的培养温度及不大于规定的最短培
49 养时间下培养, 与对照培养基管比较, 被检培养基管试验菌应生长良好。

50 **固体培养基促生长能力检查** 用涂布法分别接种不大于 100cfu 的试验菌(表 1)
51 于被检培养基和对照培养基平板上, 在相应控制菌检查规定的培养温度及不大于规
52 定的最短培养时间下培养, 被检培养基与对照培养基上生长的菌落大小、形态特征
53 应一致。

54 **培养基抑制能力检查** 接种不少于 100cfu 的试验菌(表 1)于被检培养基和[对](#)

55 **照培养基**中，在相应控制菌检查规定的培养温度及不小于规定的最长培养时间下培
56 养，试验菌应不得生长。

57 **培养基指示特性检查** 用涂布法分别接种不大于 100cfu 的试验菌（表 1）于
58 被检培养基和对照培养基平板上，在相应控制菌检查规定的培养温度及**不大于规定**
59 **的最短**培养时间**下范围内**培养，被检培养基上试验菌生长的菌落大小、形态特征、
60 指示剂反应情况等应与对照培养基一致。

61 **表 1 控制菌检查用培养基的促生长能力、抑制能力和指示特性**

控制菌检 查	培养基	特性	试验菌株
耐胆盐革 兰阴性菌	肠道菌增菌液体培养 基	促生长能力 抑制能力	大肠埃希菌、铜绿 假单胞菌 金黄色葡萄球菌
	紫红胆盐葡萄糖琼脂 培养基	促生长能力+指 示特性	大肠埃希菌、铜绿 假单胞菌
大肠埃希 菌	麦康凯液体培养基	促生长能力 抑制能力	大肠埃希菌 金黄色葡萄球菌
	麦康凯琼脂培养基	促生长能力+指 示特性	大肠埃希菌
沙门菌	RV 沙门菌增菌液体培 养基	促生长能力 抑制能力	乙型副伤寒沙门菌 金黄色葡萄球菌
	木糖赖氨酸脱氧胆酸 盐琼脂培养基	促生长能力+指 示特性	乙型副伤寒沙门菌
	三糖铁琼脂培养基	指示 能力特性	乙型副伤寒沙门菌
铜绿假单 胞菌	溴化十六烷基三甲铵 琼脂培养基	促生长能力 抑制能力	铜绿假单胞菌 大肠埃希菌
	甘露醇氯化钠琼脂培 养基	促生长能力+指 示特性	金黄色葡萄球菌

		抑制能力	大肠埃希菌
梭菌	梭菌增菌培养基	促生长能力	生孢梭菌
	哥伦比亚琼脂培养基	促生长能力	生孢梭菌
白色念珠菌	沙氏葡萄糖液体培养基	促生长能力	白色念珠菌
	沙氏葡萄糖琼脂培养基	促生长能力+指示特性	白色念珠菌
	念珠菌显色培养基	促生长能力+指示能力特性	白色念珠菌
		抑制能力	大肠埃希菌

62 控制菌检查方法适用性试验

63 供试液制备 按下列“供试品检查”中的规定制备供试液。

64 试验菌 根据各品种项下微生物限度标准中规定检查的控制菌选择相应试验菌株，确认耐胆盐革兰阴性菌检查方法时，采用大肠埃希菌和铜绿假单胞菌为试验菌。

65 适用性试验 按控制菌检查法取规定量供试液及不大于 100cfu 的试验菌接入规定的培养基中；采用薄膜过滤法时，取规定量供试液，过滤，冲洗，在最后一次冲洗液中加入试验菌，过滤后，注入规定的培养基或取出滤膜接入规定的培养基中。依相应的控制菌检查方法，在规定的温度和最短时间下培养，应能检出所加试验菌相应的反应特征。

71 结果判断 上述试验若检出试验菌，按此供试液制备法和控制菌检查方法进行供试品检查；若未检出试验菌，应消除供试品的抑菌活性〔见非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法（通则 1105）中的“抗菌活性的去除或灭活”〕，并重新进行方法适用性试验。

75 如果经过试验确证供试品对试验菌的抗菌作用无法消除，可认为受抑制的微生物不易存在于该供试品中，选择抑菌成分消除相对彻底的方法进行供试品的检查。

77 供试品检查

78 供试品的控制菌检查应按经方法适用性试验确认的方法进行。

79 阳性对照试验 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

80 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
 81 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
 82 对照试验方法同供试品的控制菌检查，对照菌的加量应不大于 100cfu。阳性对照试
 83 验应检出相应的控制菌。

84 **阴性对照试验** 以稀释剂代替供试液照相应控制菌检查法检查，阴性对照试验
 85 应无菌生长。如果阴性对照有菌生长，应进行**偏差**调查。

86 **耐胆盐革兰阴性菌 (Bile-Tolerant Gram-Negative Bacteria)**

87 **供试液制备和预培养** 取供试品，用胰酪大豆胨液体培养基作为稀释剂照“非
 88 无菌产品微生物限度检查：微生物计数法（通则 1105）”制成 1: 10 供试液，混匀，
 89 在 20~25℃培养，培养时间应使供试品中的细菌充分恢复但不增殖（约 2 小时，不
 90 大于 5 小时）。

91 **定性试验**

92 除另有规定外，取相当于 1g 或 1ml 供试品的上述预培养物接种至适宜体积（经
 93 方法适用性试验确定）肠道菌增菌液体培养基中，30~35℃培养 24~48 小时后，划
 94 线接种于紫红胆盐葡萄糖琼脂培养基平板上，30~35℃培养 18~24 小时。如果平板
 95 上无菌落生长，判供试品未检出耐胆盐革兰阴性菌。

96 **定量试验**

97 **选择和分离培养** 取相当于 0.1g、0.01g 0.001g（或 0.1ml、0.01ml、0.001ml）
 98 供试品的预培养物或其稀释液分别接种至适宜体积（经方法适用性试验确定）肠道
 99 菌增菌液体培养基中，30~35℃培养 24~48 小时。上述每一培养物分别划线接种于
 100 紫红胆盐葡萄糖琼脂培养基平板上，30~35℃培养 18~24 小时。

101 **结果判断** 若紫红胆盐葡萄糖琼脂培养基平板上有菌落生长，则对应培养管为
 102 阳性，否则为阴性。根据各培养管检查结果，从表 2 查 1g 或 1ml 供试品中含有耐胆
 103 盐革兰阴性菌的可能菌数。

104 **表 2 耐胆盐革兰阴性菌的可能菌数 (N)**

各供试品量的检查结果			每 1g（或 1ml）供 试品中可能的菌数
0.1g 或 0.1ml	0.01g 或 0.01ml	0.001g 或 0.001ml	

			(cfu)
+	+	+	$N > 10^3$
+	+	-	$10^2 < N < 10^3$
+	-	-	$10 < N < 10^2$
-	-	-	$N < 10$

105 注：(1) +代表紫红胆盐葡萄糖琼脂平板上有菌落生长；-代表紫红胆盐葡萄糖
106 琼脂平板上无菌落生长。

107 (2) 若供试品量减少 10 倍（如 0.01g 或 0.01ml, 0.001g 或 0.001ml, 0.0001g
108 或 0.0001ml），则每 1g（或 1ml）供试品中可能的菌数（N）应相应增加 10 倍。

109 大肠埃希菌 (*Escherichia coli*)

110 **供试液制备和增菌培养** 取供试品，照“非无菌产品微生物限度检查：微生物
111 计数法（通则 1105）”制成 1: 10 供试液。取相当于 1g 或 1ml、1 贴或 10cm² 供
112 试品的供试液，接种至适宜体积（经方法适用性试验确定）的胰酪大豆胨液体培养
113 基中，混匀，30~35℃培养 18~24 小时。

114 **选择和分离培养** 取上述培养物 1m 接种至 100ml 麦康凯液体培养基中，42~
115 44℃培养 24~48 小时。取麦康凯液体培养物划线接种于麦康凯琼脂培养基平板上，
116 30~35℃培养 18~72 小时。

117 **结果判断** 若麦康凯琼脂培养基平板上有菌落生长，应进行分离、纯化及适宜
118 的鉴定试验，确证是否为大肠埃希菌；若麦康凯琼脂培养基平板上没有菌落生长，
119 或虽有菌落生长但鉴定结果为阴性，判供试品未检出大肠埃希菌。

120 沙门菌 (*Salmonella*)

121 **供试液制备和增菌培养** 取 10g 或 10ml 供试品直接或处理后接种至适宜体积
122 （经方法适用性试验确定）的胰酪大豆胨液体培养基中，混匀，30~35℃培养 18~
123 24 小时。

124 **选择和分离培养** 取上述培养物 0.1ml 接种至 10ml RV 沙门菌增菌液体培养基
125 中，30~35℃培养 18~24 小时。取少量 RV 沙门菌增菌液体培养物划线接种于木糖
126 赖氨酸脱氧胆酸盐琼脂培养基平板上，30~35℃培养 18~48 小时。

127 沙门菌在木糖赖氨酸脱氧胆酸盐琼脂培养基平板上生长良好，菌落为淡红色或

128 无色、透明或半透明、中心有或无黑色。用接种针挑选疑似菌落于三糖铁琼脂培养
129 基高层斜面上进行斜面和高层穿刺接种，培养 18~24 小时，或采用其他适宜方法进
130 一步鉴定。

131 **结果判断** 若木糖赖氨酸脱氧胆酸盐琼脂培养基平板上有疑似菌落生长，且三
132 糖铁琼脂培养基的斜面为红色、底层为黄色或黑色，或斜面黄色、底层黄色或黑色，
133 应进一步进行适宜的鉴定试验，确证是否为沙门菌。如果平板上没有菌落生长，或
134 虽有菌落生长但鉴定结果为阴性，或三糖铁琼脂培养基的斜面未见红色、底层未见
135 黄色；或斜面黄色、底层未见黄色或黑色上述形态特征，判供试品未检出沙门菌。

136 **铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)**

137 **供试液制备和增菌培养** 取供试品，照“非无菌产品微生物限度检查：微生物
138 计数法（通则 1105）”制成 1: 10 供试液。取相当于 1g 或 1ml、1 贴或 10cm² 供
139 试品的供试液，接种至适宜体积（经方法适用性试验确定）的胰酪大豆胨液体培养
140 基中，混匀，30~35℃ 培养 18~24 小时。

141 **选择和分离培养** 取上述培养物划线接种于溴化十六烷基三甲铵琼脂培养基
142 平板上，30~35℃ 培养 18~72 小时。

143 取上述平板上生长的菌落进行氧化酶试验，或采用其他适宜方法进一步鉴定。

144 **氧化酶试验** 将洁净滤纸片置于平皿内，用无菌玻棒取上述平板上生长的菌落
145 涂于滤纸片上，滴加新配制的 1% 二盐酸 N, N 二甲基对苯二胺试液，在 30 秒内若培
146 养物呈粉红色并逐渐变为紫红色为氧化酶试验阳性，否则为阴性。

147 **结果判断** 若溴化十六烷基三甲铵琼脂培养基平板上有菌落生长，且氧化酶试
148 验阳性，应进一步进行适宜的鉴定试验，确证是否为铜绿假单胞菌。如果平板上没有
149 有菌落生长，或虽有菌落生长但鉴定结果为阴性，或氧化酶试验阴性，判供试品未
150 检出铜绿假单胞菌。

151 **金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)**

152 **供试液制备和增菌培养** 取供试品，照“非无菌产品微生物限度检查：微生物
153 计数法（通则 1105）”制成 1: 10 供试液。取相当于 1g 或 1ml、1 贴或 10cm² 供
154 试品的供试液，接种至适宜体积（经方法适用性试验确定）的胰酪大豆胨液体培养
155 基中，混匀，30~35℃ 培养 18~24 小时。

156 **选择和分离培养** 取上述培养物划线接种于甘露醇氯化钠琼脂培养基平板上，
157 30~35℃培养 18~72 小时。

158 **结果判断** 若甘露醇氯化钠琼脂培养基平板上有黄色菌落或外周有黄色环的黄色
159 菌落或白色菌落生长，应进行分离、纯化及适宜的鉴定试验，确证是否为金黄色
160 葡萄球菌；若平板上没有与上述形态特征相符或疑似的菌落生长，或虽有相符或疑
161 似的菌落生长但鉴定结果为阴性，判供试品未检出金黄色葡萄球菌。

162 **梭菌 (*Clostridia*)**

163 **供试液制备和热处理** 取供试品，照“非无菌产品微生物限度检查：微生物计
164 数法（通则 1105）”制成 1: 10 供试液。取相当于 1g 或 1ml、1 贴或 10cm² 供试
165 品的供试液 2 份，其中 1 份置 80℃保温 10 分钟后迅速冷却。

166 **增菌、选择和分离培养** 将上述 2 份供试液分别接种至适宜体积（经方法适用
167 性试验确定）的梭菌增菌培养基中，置厌氧条件下 30~35℃培养 48 小时。取上述
168 每一培养物少量，分别涂抹接种于哥伦比亚琼脂培养基平板上，置厌氧条件下 30~
169 35℃培养 48~72 小时。

170 **过氧化氢酶试验** 取上述平板上生长的菌落，置洁净玻片上，滴加 3%过氧化氢
171 试液，若菌落表面有气泡产生，为过氧化氢酶试验阳性，否则为阴性。

172 **结果判断** 若哥伦比亚琼脂培养基平板上有厌氧杆菌生长(有或无芽孢)，且过
173 氧化氢酶反应阴性的，应进一步进行适宜的鉴定试验，确证是否为梭菌；如果哥伦
174 比亚琼脂培养基平板上没有厌氧杆菌生长，或虽有相符或疑似的菌落生长但鉴定结
175 果为阴性，或过氧化氢酶反应阳性，判供试品未检出梭菌。

176 **白色念珠菌 (*Candida albicans*)**

177 **供试液制备和增菌培养** 取供试品，照“非无菌产品微生物限度检查：微生物
178 计数法（通则 1105）”制成 1: 10 供试液。取相当于 1g 或 1ml、1 贴或 10cm² 供
179 试品的供试液，接种至适宜体积（经方法适用性试验确定）的沙氏葡萄糖液体培养
180 基中，混匀，30~35℃培养 3~5 天。

181 **选择和分离** 取上述预培养物划线接种于沙氏葡萄糖琼脂培养基平板上，30~
182 35℃培养 24~48 小时。

183 白色念珠菌在沙氏葡萄糖琼脂培养基上生长的菌落呈乳白色，偶见淡黄色，表

184 面光滑有浓酵母气味，培养时间稍久则菌落增大，颜色变深、质地变硬或有皱褶。
185 挑取疑似菌落接种至念珠菌显色培养基平板上，培养 24~48 小时（必要时延长至
186 72 小时），或采用其他适宜方法进一步鉴定。

187 **结果判断** 若沙氏葡萄糖琼脂培养基平板上有疑似菌落生长，且疑似菌在念珠
188 菌显色培养基平板上生长的菌落呈阳性反应，应进一步进行适宜的鉴定试验，确证
189 是否为白色念珠菌；若沙氏葡萄糖琼脂培养基平板上没有菌落生长，或虽有菌落生
190 长但鉴定结果为阴性，或疑似菌在念珠菌显色培养基平板上生长的菌落呈阴性反应，
191 判供试品未检出白色念珠菌。

192 稀释液

193 稀释液配制后，应采用验证合格的灭菌程序灭菌。

- 194 1. pH7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液 照无菌检查法（通则 1101）制备。
- 195 2. pH6.8 无菌磷酸盐缓冲液、~~pH7.2 无菌磷酸盐缓冲液~~、pH7.6 无菌磷酸盐
196 缓冲液 照缓冲液（通则 8004）配制后，过滤，分装，灭菌。
- 197 3. pH7.2 无菌磷酸盐缓冲液 取磷酸二氢钾 34g，加水 500ml 使溶解，用氢氧
198 化钠溶液调节 pH 值至 7.2 ± 0.2 ，加水稀释至 1000ml，分装，灭菌，即为储备液，
199 在 $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$ 保存。将水与储备液按 800:1 (ml/ml) 混合，灭菌。

200 如需要，可在上述稀释液灭菌前或灭菌后加入表面活性剂或中和剂等。

- 201 ~~34.~~ 0.9% 无菌氯化钠溶液 取氯化钠 9.0g，加水使溶解成 1000ml，过滤，分
202 装，灭菌。

203 培养基及其制备方法

204 培养基可按以下处方制备，也可使用按该处方生产的符合要求的脱水培养基或
205 其他经过验证的培养基。配制后，应按验证过的灭菌程序灭菌。

- 206 1. 胰酪大豆胨液体培养基（TSB）、胰酪大豆胨琼脂培养基（TSA）、沙氏葡
207 萄糖液体培养基（SDB）

208 照无菌检查法（通则 1101）制备。

- 209 2. 沙氏葡萄糖琼脂培养基（SDA）

210 照无菌检查法（通则 1101）制备。如使用含抗生素的沙氏葡萄糖琼脂培养基，
211 应确认培养基所加的抗生素量不影响供试品中霉菌和酵母菌的生长。

212 3. 马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA)

213 照无菌检查法 (通则 1101) 制备。

214 4. 玫瑰红钠琼脂培养基

胨	5.0g	玫瑰红钠	0.0133g
葡萄糖	10.0g	琼脂	14.0g
磷酸二氢钾	1.0g	水	1000ml
硫酸镁	0.5g		

215 除葡萄糖、玫瑰红钠外, 取上述成分, 混合, 微温溶解, 加入葡萄糖、玫瑰红
216 钠, 摇匀, 分装, 灭菌。

217 5. 硫乙醇酸盐流体培养基

218 照无菌检查法 (通则 1101) 制备。

219 6. 肠道菌增菌液体培养基

明胶胰酶水解物	10.0g	二水合磷酸氢二钠	8.0g
牛胆盐	20.0g	亮绿	15mg
葡萄糖	5.0g	水	1000ml
磷酸二氢钾	2.0g		

220 除葡萄糖、亮绿外, 取上述成分, 混合, 微温溶解, 调节 pH 使加热后在 25℃
221 的 pH 值为 7.2 ± 0.2 , 加入葡萄糖、亮绿, 加热至 100℃30 分钟, 立即冷却。

222 7. 紫红胆盐葡萄糖琼脂培养基

酵母浸出粉	3.0g	中性红	30mg
明胶胰酶水解物	7.0g	结晶紫	2mg
脱氧胆酸钠	1.5g	琼脂	15.0g
葡萄糖	10.0g	水	1000ml
氯化钠	5.0g		

223 除葡萄糖、中性红、结晶紫、琼脂外, 取上述成分, 混合, 微温溶解, 调节 pH
224 使加热后在 25℃的 pH 值为 7.4 ± 0.2 。加入葡萄糖、中性红、结晶紫、琼脂, 加热
225 煮沸 (不能在高压灭菌器中加热)

226 8. 麦康凯液体培养基

明胶胰酶水解物	20.0g	溴甲酚紫	10mg
乳糖	10.0g	水	1000ml
牛胆盐	5.0g		

227 除乳糖、溴甲酚紫外，取上述成分，混合，微温溶解，调节 pH 使灭菌后在 25℃
228 的 pH 值为 7.3 ± 0.2 ，加入乳糖、溴甲酚紫，分装，灭菌。

229 9. 麦康凯琼脂培养基

明胶胰酶水解物	17.0g	中性红	30mg
胨	3.0g	结晶紫	1mg
乳糖	10.0g	琼脂	13.5g
脱氧胆酸钠	1.5g	水	1000ml
氯化钠	5.0g		

230 除乳糖、中性红、结晶紫、琼脂外，取上述成分，混合，微温溶解，调节 pH 使
231 灭菌后在 25℃ 的 pH 值为 7.1 ± 0.2 ，加入乳糖、中性红、结晶紫、琼脂，加热煮沸
232 1 分钟，并不断振摇，分装，灭菌。

233 10. RV 沙门菌增菌液体培养基

大豆胨	4.5g	六水合氯化镁	29.0g
氯化钠	8.0g	孔雀绿	36mg
磷酸氢二钾	0.4g	水	1000ml
磷酸二氢钾	0.6g		

234 除孔雀绿外，取上述成分，混合，微温溶解，调节 pH 使灭菌后在 25℃ 的 pH 值
235 为 5.2 ± 0.2 。加入孔雀绿，分装，灭菌，灭菌温度不能超过 115℃。

236 11. 木糖赖氨酸脱氧胆酸盐琼脂培养基

酵母浸出粉	3.0g	氯化钠	5.0g
L-赖氨酸	5.0g	硫代硫酸钠	6.8g
木糖	3.5g	枸橼酸铁铵	0.8g
乳糖	7.5g	酚红	80mg
蔗糖	7.5g	琼脂	13.5g

脱氧胆酸钠	2.5g	水	1000ml
-------	------	---	--------

237 除三种糖、酚红、琼脂外，取上述成分，混合，微温溶解，调节 pH 使加热后在
238 25℃的 pH 值为 7.4 ± 0.2 ，加入三种糖、酚红、琼脂，加热至沸腾，冷至 50℃ 倾注
239 平皿（不能在高压灭菌器中加热）。

240 12. 三糖铁琼脂培养基 (TSI)

胨	20.0g	硫酸亚铁	0.2g
牛肉浸出粉	5.0g	硫代硫酸钠	0.2g
乳糖	10.0g	0.2% 酚磺酞指示液	12.5ml
蔗糖	10.0g	琼脂	12.0g
葡萄糖	1.0g	水	1000ml
氯化钠	5.0g		

241 除三种糖、0.2% 酚磺酞指示液、琼脂外，取上述成分，混合，微温溶解，调节
242 pH 使灭菌后再 25℃的 pH 值为 7.3 ± 0.1 ，加入琼脂，加热熔化后，再加入其余各成
243 分，摇匀，分装，灭菌，制成高底层（2~3cm）短斜面。

244 13. 溴化十六烷基三甲铵琼脂

明胶胰酶水解物	20.0g	溴化十六烷基三甲铵	0.3g
氯化镁	1.4g	琼脂	13.6g
硫酸钾	10.0g	水	1000ml
甘油	10ml		

245 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 值为
246 7.4 ± 0.2 ，加入琼脂，加热煮沸 1 分钟，分装，灭菌。

247 14. 甘露醇氯化钠琼脂培养基

胰酪胨	5.0g	氯化钠	75.0g
动物组织胃蛋白酶水解物	5.0g	酚红	25mg
牛肉浸出粉	1.0g	琼脂	15.0g
D-甘露醇	10.0g	水	1000ml

248 除甘露醇、酚红、琼脂外，取上述成分，混合，微温溶解，调节 pH 使灭菌后
249 在 25℃的 pH 值为 7.4 ± 0.2 ，加热并振摇，加入甘露醇、酚红、琼脂，煮沸 1 分钟，

250 分装，灭菌。

251 **15. 梭菌增菌培养基**

胨	10.0g	盐酸半胱氨酸	0.5g
牛肉浸出粉	10.0g	乙酸钠	3.0g
酵母浸出粉	3.0g	氯化钠	5.0g
可溶性淀粉	1.0g	琼脂	0.5g
葡萄糖	5.0g	水	1000ml

252 除葡萄糖外，取上述成分，混合，加热煮沸使溶解，并不断搅拌。如需要，调
253 节 pH 使灭菌后在 25℃ 的 pH 值为 6.8 ± 0.2 。加入葡萄糖，混匀，分装，灭菌。

254 **16. 哥伦比亚琼脂培养基**

胰酪胨	10.0g	玉米淀粉	1.0g
肉胃蛋白酶水解物	5.0g	氯化钠	5.0g
心胰酶水解物	3.0g	琼脂	10.0g~15.0g（依凝 固力）
酵母浸出粉	5.0g	水	1000ml

255 除琼脂外，取上述成分，混合，加热煮沸使溶解，并不断搅拌。如需要，调节
256 pH 使灭菌后在 25℃ 的 pH 值为 7.3 ± 0.2 ，加入琼脂，加热溶化，分装，灭菌。如有
257 必要，灭菌后，冷至 45~50℃ 加入相当于 20mg 庆大霉素的无菌硫酸庆大霉素，混
258 匀，倾注平皿。

259 **17. 念珠菌显色培养基**

胨	10.2g	琼脂	15g
氢醌素/氯霉素 色素	0.5g 22.0g	水	1000ml

260 除琼脂外，取上述成分，混合，微温溶解，调节 pH 使加热后在 25℃ 的 pH 值为
261 6.3 ± 0.2 。滤过，加入琼脂，加热煮沸，不断搅拌至琼脂完全溶解，倾注平皿。

1106 非无菌产品微生物限度检查：控制菌检查法修订说明

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1106非无菌产品微生物限度检查：控制菌检查法的基础上，继续理顺和明确控制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 4B 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年版与 ICH 协调案 Q4B 附录 4B 的主要差异，在执行共性标准和保留个性要求间达到平衡，尽可能实现控制菌检查法的协调一致，减少因标准差异带来的贸易阻滞。

三、需说明的问题

本次修订的主要内容说明如下：

（一）检出控制菌或其他致病菌时应先进行调查

考虑到结果判断的科学性，将“供试品检出控制菌或其他致病菌时，按一次检出结果为准，不再复试”调整为“供试品检出控制菌或其他致病菌时，报告结果前应进行充分的调查和评估”。后续将在非无菌产品微生物限度检查指导原则（指导原则 9202）中增加相关指导内容。

（二）调整阳性对照试验要求

本次修订在阳性对照试验部分增加表述“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”，以帮助使用者正确认识检验全过程控制的重要性。

（三）耐胆盐革兰阴性菌预培养时间调整

耐胆盐革兰阴性菌预培养时间调整为“约 2 小时，不大于 5 小时”，与 ICH 协调一致。

（四）沙门菌、金黄色葡萄球菌在选择性培养基上的形态特征调整

沙门菌在三糖铁琼脂培养基斜面上的形态特征调整为“斜面为红色、底层为黄色或黑色，或斜面黄色、底层黄色或黑色”；金黄色葡萄球菌在甘露醇氯化钠琼脂培养基平板上的形态特征调整为“外周有黄色环的黄色菌落或白色菌落”。

（五）pH7.2 无菌磷酸盐缓冲液配方调整

将 pH7.2 无菌磷酸盐缓冲液的配制方式调整为“取磷酸二氢钾 34g，加水 500ml 使溶解，用氢氧化钠溶液调节 pH 值至 7.2 ± 0.2 ，加水稀释至 1000ml，分装，灭菌，即为储备液，在 $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$ 保存。将水与储备液按 800:1 (ml/ml) 混合，灭菌”，并在菌液稀释部分增加 pH7.2 无菌磷酸盐缓冲液作为稀释液，与 ICH 协调一致。

（六）增加“10cm²”和“1贴”作为贴剂、贴膏剂的单位

在大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、梭菌、白色念珠菌检查中增加“10cm²”和“1贴”作为贴剂、贴膏剂的单位。

（七）培养基及其制备方法调整

在原文“也可使用按该处方生产的符合要求的脱水培养基”基础上增加“或其它经过验证的培养基”，以满足其它致病菌的检验需求。

（八）其它要求及文字表述的调整

将“偏差调查”修订为“调查”，明确培养基适用性检查要求，调整培养基抑制能力检查、指示特性检查要求，“指示能力”统一修订为“指示特性”。