**《中国药典》每五年修订一次，2020版《中国药典》是第十一版药典，现在已经发布并将于2020年12月1日正式实施。针对2020版《中国药典》的更新，作为医疗器械企业关注的纯化水、无菌检查和微生物计数，我们对比了2015版和2020版《中国药典》中关于纯化水、无菌检查和微生物计数的项目供大家参考。**

**1.2015版和2020版《中国药典》中纯化水、注射用水、灭菌注射用水的对比**

2015版和2020版《中国药典》中对于纯化水、注射用水、灭菌注射用水的要求没有变化，企业可根据原有的质量管理体系文件规定继续执行。

**2.2015版和2020版《中国药典》中无菌检查和微生物计数法的对比.**

2015版和2020版《中国药典》中对于无菌检查和微生物计数法的主要变化详见后文附表，对于此次的变化我们将其分为：**【一般变更】**（企业需根据变化修改内部的检验文件）和**【重要变更】**（企业除了需根据变化修改内部的检验文件外，需更多的关注实际操作的变化），具体内容如下：

**a.①“医疗器具”改为“医疗器械”：**《中国药典》对于医疗器械的适用性；【一般变更】**②**  **“监控”改为“监测”：**除了对洁净环境进行日常监测外，无菌检查时还应对洁净工作台的沉降菌进行监测；【一般变更】

b.制备好的培养基“密闭容器”保存改为“无菌密闭容器”，保存时间由“一般可在一年内使用”改为“经验证的保存期内使用”：企业可根据保存需要对制备好的培养基的保存期进行验证，经验证后方能按验证的保存期对制备好的培养基进行保存使用；【重要变更】

**c. “1/5”改为“1/3”：**在供试品接种前，需检查硫乙醇酸盐流体培养基氧化层的高度，确保氧化层的高度不得超过培养基深度的1/3；【重要变更】

d.新增“马铃薯葡萄糖琼脂培养基”：用于黑曲霉的培养；【重要变更】

e.增加“和确认”：采购的菌种应采用适宜的菌种保藏技术进行保存，定期转种传代，并对其纯度、特性等进行确认，以保证试其生物学特性；【重要变更】

f.①白色念珠菌的新鲜培养物培养时间**“24〜48小时”改为“2〜3天”**：增加培养时间更利于白色念珠菌的生长，获取所需的菌种新鲜培养物；【重要变更】

②“每1ml含菌数小于100cfu（菌落形成单位）的菌悬液”改为“适宜浓度菌悬液”：企业可根据实际菌悬液的浓度进行操作，**不再强制要求1ml菌悬液的含菌数小于100cfu**；【一般变更】

③“20〜25℃培养5〜7天”改为“20〜25℃培养5〜7天或直到获得丰富的孢子”；“3〜5ml”改为“适量”：**不再强制要求黑曲霉洗脱液的容量和增加培养时间都为了确保最终能获取足够的黑曲霉孢子**；【重要变更】

④“0.9%无菌氯化钠溶液”改为“含0.05% (ml/ml)聚山梨酯80的0.9%无菌氯化钠溶液”：更利于黑曲霉孢子的洗脱；【重要变更】

⑤“每1ml含孢子数小于100cfu的孢子悬液”改为“适宜浓度的孢子悬液”：企业可根据实际孢子悬液的浓度进行操作，**不再强制要求1ml孢子悬液的含孢子数小于100cfu**；【一般变更】

g.①“每管装量为12ml”“每管装量为9ml”改为“适宜装量”：**不再强制要求培养基的每管装量**；【一般变更】②“小于100cfu”改为“不大于100cfu”：不再强制要求接种的菌种数量小于100cfu；【一般变更】③培养时间**“3天”“5天”改为“接种细菌的培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”**：企业可根据实际细菌和真菌的生长情况选择培养时间；【重要变更】

h. “滤清”改为“必要时滤过使澄清”：企业可根据需求选择是否需要滤过澄清；【一般变更】

i.**①“小于100cfu”改为“不大于100cfu”**：不再强制要求加入的试验菌数量小于100cfu；【一般变更】

j.②“加硫乙醇酸盐流体培养基或胰酪大豆胨液体培养基至滤筒内”改为“加培养基至滤筒内，接种金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、生孢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、黑曲霉的滤筒内加胰酪大豆胨液体培养基”：明确接种不同菌种对应的培养基，更利于企业实际操作；【一般变更】

k. “培养72小时”改为“培养不超过5天”：增加阳性对照菌的培养时间，确保某些生长较慢阳性菌的生长，更利于阳性对照结果的判断；【重要变更】l. “消毒液”改为“方法”：不再强制要求用消毒液对供试品容器表面进行消毒，企业可选择适用于实际的消毒方法对供试品容器表面进行消毒；【一般变更】

m.①增加“若使用其他尺寸的滤膜，应对稀释液和冲洗液体积进行调整，并重新验证”：企业可选择其他尺寸的滤膜，但需对稀释液和冲洗液体积进行调整，并重新进行方法验证；【一般变更】

② “总冲洗量不得超过1000ml”改为“总冲洗量一般不超过500ml，最高不得超过1000ml”：减少了每张滤膜的总冲洗量，但也考虑到产品的差异性，给定了最高冲洗量的限定；【重要变更】

n.①“温度不得超过44°C”改为“加热温度一般不超过40℃，最高不得超过44℃”：降低了溶于十四烷酸异丙酯的膏剂和黏性油剂供试品的加热温度，但也给定了最高加热温度的限定；【一般变更】

②增加“或其他适宜的灭菌方法”：除了薄膜过滤法过滤除菌，企业可选择其他灭菌方法制备十四烷酸异丙酯；【一般变更】

o.增加“采用专用设备将供试品转移至封闭式薄膜过滤器中”、“迅速消毒供试品开启部位或阀门，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结构相匹配的适宜位置钻一小孔，钻孔后应无明显抛射剂抛出，轻轻转动容器，使抛射剂缓缓释出”和“必要时用冲洗液冲洗容器内壁”：增加具体的操作细节，更利于企业实际操作；【一般变更】

p. “同时应采用适宜的方法进行包装中所配带的无菌针头的无菌检查”改为“同时应采用适宜的方法对包装中所配带的针头等要求无菌的部件进行无菌检查”：增加了供试品中其他的无菌部件的无菌检查要求；【一般变更】

q. “同时应采用直接接种法进行包装中所配带的针头的无菌检査”改为“同时应采用适宜的方法对包装中所配带的针头等要求无菌的部件进行无菌检查”：增加了供试品中其他的无菌部件的无菌检查要求，不再强制要求用直接接种法进行无菌部件的无菌检查；【一般变更】

r.①“培养14天”改为“培养不少于14天” “培养3天”改为“将原始培养物和新接种的培养基继续培养不少于4天”：根据药典要求，如在加入供试品后或在培养过程中，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，可取该培养液不少于1ml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少于4天，因此原始培养物的培养改为不少于14天更合适；【重要变更】

② “逐日观察”改为“定期观察”：不再强制要求逐日观察，企业可根据实际需求确定观察周期；【一般变更】

s.删除“阳性对照管应生长良好，阴性对照管不得有菌生长。否则，试验无效”，增加“在阴性对照中观察到微生物生长”：删除阳性对照管的生长情况，将“在阴性对照中观察到微生物生长”增加在试验无效的判定条件内。【一般变更】  
**附表：2015版和2020版《中国药典》中对于无菌检查和微生物计数法的主要变化**

（由于内容较多，以下只显示有变化的项目）

* **无菌检查**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **项目** | **2015版中国药典** | **2020版中国药典** | **对比说明** |
| **/** | 无菌检查法系用于检査药典要求无菌的药品、生物制品、**医疗器具**、原料、辅料及其他品种是否无的一种方法。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査的要求，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**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。日常检验还需对试验环境进行监**控**。 | 无菌检查法系用于检査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査的要求，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。**单向流空气区域**、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。日常检验还需对试验环境进行监**测**。 | 1.“医疗器具”改为“医疗器械”；  2.“环境”改为“受控环境”；  3.“监控”改为“监测”。 |
| **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**成品培养基**。配制后应采用验证合格的灭菌程序灭菌。**制备好的培养基应保存在2〜25°C、避光的环境，若保存于非密闭容器中，一般在3周内使用；若保存于密闭容器中，一般可在一年内使用。** | 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及时使用，应置于无菌密闭容器中，在2〜25°C、避光的环境下保存，并在经验证的保存期内使用。** | 1.“成品培养基”改为“商品化的预制培养基”；  2.制备好的培养基删除非密闭容器的保存条件；  3.制备好的培养基“密闭容器”保存改为“无菌密闭容器”，保存时间由“一般可在一年内使用”改为“经验证的保存期内使用”。 |
| **硫乙酵酸盐流体培养基** | 胰酪胨    15.0g             氯化钠     2.5g  酵母浸出粉     5.0g  新配制的0.1%刃天青溶液 1.0ml  无水葡萄糖     5.0g                    L-胱氨酸     0.5g  琼脂     0.75g  硫乙醇酸钠     0.5g  水    1000ml  (或硫乙醇酸）（0.3ml） | 胰酪胨    15.0g             氯化钠     2.5g  酵母浸出粉     5.0g  新配制的0.1%刃天青溶 1.0ml  **葡萄糖/**无水葡萄糖     **5.5g/**5.0g  L-胱氨酸    0.5g           琼脂     0.75g  硫乙醇酸钠     0.5g  水    1000ml  (或硫乙醇酸）（0.3ml） | 增加葡萄糖选项 |
| 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，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，培养基氧化层的高度不得超过培养基深度的**1/5**，否则，须经100℃水浴加热至粉红色消失（不超过20分钟），迅速冷却，只限加热一次，并防止被污染。      除另有规定外，硫乙醇酸盐流体培养基置30〜35℃培养。 | 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，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，培养基氧化层的高度不得超过培养基深度的**1/3**，否则，须经100℃水浴加热至粉红色消失（不超过20分钟），迅速冷却，只限加热一次，并防止被污染。      除另有规定外，硫乙醇酸盐流体培养基置30〜35℃培养。 | “1/5”改为“1/3” |
| **中和或灭活用培养基** | 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，在培养基灭菌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试验。 | 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试验。 | “灭菌”改为“灭菌前” |
| **马铃薯葡萄糖琼脂培养基** | / |  | 新增“马铃薯葡萄糖琼脂培养基” |
| **培养基的适用性检査** | 无菌性检查：      每批培养基随机取不少于5  支(瓶），置各培养基规定的温度培养14天，应无菌生长。 | 无菌性检查：      每批培养基**一般**随机取不少于5 支(瓶），置各培养基规定的温度培养14天，应无菌生长。 | 增加“一般” |
| 灵敏度检査-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。 | 灵敏度检査-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**，以保证试验菌株的生物学特性。 | 增加“和确认” |
| 灵敏度检査-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物至硫乙醇酸盐流体培养基中，30〜35°C培养18〜24小时；接种白色念珠菌的新鲜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°C培养**24〜48小时**，上述培养物用pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液或0.9%无菌氯化钠溶液制成**每1ml含菌数小于100cfu（菌落形成单位）的菌悬液**。接种黑曲霉的新鲜培养物至**沙氏葡萄糖琼脂斜面培养基**上，**20〜25℃培养5〜7 天**，加入**3〜5ml**含0.05%  (ml/ml)聚山梨酯80的pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液或**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试管内，用含0.05% (ml/ml)聚山梨醋80的pH7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液或**0.9%无菌氯化钠溶液**制成**每1ml含孢子数小于100cfu的孢子悬液**。      菌悬液若在室温下放置，应在2 小时内使用；若保存在2〜8°C可在24小时内使用。黑曲霉孢子悬液可保存在2〜8°C，在验证过的贮存期内使用。 | 灵敏度检査-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物至硫乙醇酸盐流体培养基中，30〜35°C培养18〜24小时；接种白色念珠菌的新鲜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°C培养**2〜3天**，上述培养物用pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液或0.9%无菌氯化钠溶液制成**适宜浓度菌悬液**。接种黑曲霉的新鲜培养物至**沙氏葡萄糖琼脂斜面培养基或马铃薯葡萄糖琼脂培养基**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)聚山梨酯80的pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液或**含0.05% (ml/ml)聚山梨酯80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试管内，用含0.05% (ml/ml)聚山梨醋80的pH7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液或**含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**。      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°C可在24小时内使用。黑曲霉孢子悬液可保存在2〜8°C，在验证过的贮存期内使用。 | 1.白色念珠菌的新鲜培养物培养时间“24〜48小时”改为“2〜3天”；  2.“每1ml含菌数小于100cfu（菌落形成单位）的菌悬液”改为“适宜浓度菌悬液”；  3.“沙氏葡萄糖琼脂斜面培养基”改为“沙氏葡萄糖琼脂斜面培养基或马铃薯葡萄糖琼脂培养基”；  4.“20〜25℃培养5〜7天”改为“20〜25℃培养5〜7 天或直到获得丰富的孢子”；  5.“3〜5ml”改为“适量”；  6.“0.9%无菌氯化钠溶液”改为“含0.05% (ml/ml)聚山梨酯80的0.9%无菌氯化钠溶液”；  7.“每1ml含孢子数小于100cfu的孢子悬液”改为“适宜浓度的孢子悬液”；  8.“应在2 小时内使用”改为“一般应在2 小时内使用”。 |
| 培养基接种：      取**每管装量为12ml**的硫乙醇酸盐流体培养基7支，分别接种**小于100cfu**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照，**培养3天**；取**每管装量为9ml**的胰酪大豆胨液体培养基7支，分别接种**小于l00cfu**的枯草芽孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉各2支，另1支不接种作为空白对照，**培养5天**。**逐日观察结果。** | 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100cfu**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100cfu**的枯草芽孢杆菌、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**。 | 1.“每管装量为12ml”“每管装量为9ml”改为“适宜装量”；  2.“小于100cfu”改为“不大于100 cfu”；  3.培养时间“3天”“5天”改为“接种细菌的培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”；  4.删除“逐日观察结果” |
| **稀释液、冲洗液及其制备方法** | 稀释液、冲洗液配制后应采用验证合格的灭菌程序灭菌。  1.0.1%无菌蛋白胨水溶液      取蛋白胨1.0g，加水1000ml，微温溶解，**滤清**，调节pH值至7.1±0.2，分装，灭菌。  2.pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液      取磷酸二氢钾3.56g，无水磷酸氢二钠5.77g，氯化钠4.30g，蛋白胨1.00g，加水1000ml，微温溶解，**滤清**，分装，灭菌。      根据供试品的特性，可选用其他经验证**过**的适宜**的**溶液作为稀释液、冲洗液（如0.9%无菌氯化钠溶液）。      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等。 | 稀释液、冲洗液配制后应采用验证合格的灭菌程序灭菌。  1.0.1%无菌蛋白胨水溶液      取蛋白胨1.0g，加水1000ml，微温溶解，**必要时滤过使澄清，**调节pH值至7.1±0.2，分装，灭菌。  2.pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液      取磷酸二氢钾3.56g，无水磷酸氢二钠5.77g，氯化钠4.30g，蛋白胨1.00g，加水1000ml，微温溶解，**必要时滤过使澄清，**分装，灭菌。      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%无菌氯化钠溶液）。      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等。 | 1.“滤清”改为“必要时滤过使澄清”；  2.删除“过”“的” |
| **方法适用性试验** | 薄膜过滤法：      取每种培养基规定接种的供试品总量**按**薄膜过滤法过滤，冲洗，在最后一次的冲洗液中加入**小于100cfu**的试验菌，过滤。**加硫乙醇酸盐流体培养基或胰酪大豆胨液体培养基至滤筒内**。另取一装有同体积培养基的容器，加入等量试验菌，作为对照。置规定温度培养，培养时间不得超过5天，**各试验菌同法操作**。 | 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，**采用**薄膜过滤法过滤，冲洗，在最后一次的冲洗液中加入**不大于100cfu**的试验菌，过滤。**加培养基至滤筒内，接种金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、生孢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，加入等量试验菌，作为对照。置规定温度培养，培养时间不得超过5天。 | 1.“小于100cfu”改为“不大于100 cfu”；  2.增加“按供试品的无菌检查要求”；  3.“加硫乙醇酸盐流体培养基或胰酪大豆胨液体培养基至滤筒内”改为“加培养基至滤筒内，接种金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、生孢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、黑曲霉的滤筒内加胰酪大豆胨液体培养基”；  4.删除“各试验菌同法操作”。 |
| 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管，分别接入**小于100cfu**的金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、生孢梭菌各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，分别接入**小于100cfu**的枯草芽孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉各2管。其中1管接入每支培养基规定的供试品接种量，另1管作为对照，置规定的温度培养，培养时间不得超过5天。 | 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管，分别接入**不大于100cfu**的金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、生孢梭菌各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，分别接入**不大于100cfu**的枯草芽孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉各2管。其中1管**按供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，置规定的温度培养，培养时间不得超过5天。 | 1.“小于100cfu”改为“不大于100 cfu”；  2.增加“按供试品的无菌检查要求”。 |
| **供试品的无菌检查** | 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（g或ml）。除另有规定外，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，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，只要供试品特性允许，**应将所有容器内的全部内容物过滤**。 | 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，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，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，只要供试品特性允许，**应将所有容器内的内容物全部过滤**。 | 1.删除“g或ml”；  2.“应将所有容器内的全部内容物过滤”改为“应将所有容器内的内容物全部过滤” |
| 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**小于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。**阳性对照管培养72小时内应生长良好。** | 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。**阳性对照管培养不超过5天，应生长良好。** | 1.“小于100cfu”改为“不大于100 cfu”；  2.“培养72小时”改为“培养不超过5天”。 |
| 供试品处理及接种培养基  操作时，用适宜的**消毒液**对供试品容器表面进行彻底消  毒，如果供试品容器内有一定的真空度，可用适宜的无菌器材(如带有除菌过滤器的针头）向容器内导人无菌空气，再按无菌操作启开容器取出内容物。       除另有规定外，按下列方法进行供试品处理及接种培  养基。 | 供试品处理及接种培养基  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）向容器内导人无菌空气，再按无菌操作启开容器取出内容物。       除另有规定外，按下列方法进行供试品处理及接种培  养基。 | “消毒液”改为“方法” |
| 1. 薄膜过滤法      薄膜过滤法一般应采用封闭式薄膜过滤器。无菌检査用的滤膜孔径应不大于0.45μm，直径约为50mm。根据供试品及其溶剂的特性选择滤膜材质。使用时，应保证滤膜在过滤前后的完整性。      水溶性供试液过滤前应先将少量的冲洗液过滤，以润湿滤膜。油类供试品，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，若需要用冲洗液冲洗滤膜，每张滤膜每次冲洗量一般为100ml，**且总冲洗量不得超过1000ml**，以避免滤膜上的微生物受损伤。 | 1. 薄膜过滤法      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膜材质。无菌检査用的滤膜孔径应不大于0.45μm。滤膜直径约为50mm，**若使用其他尺寸的滤膜，应对稀释液和冲洗液体积进行调整，并重新验证**。使用时，应保证滤膜在过滤前后的完整性。      水溶性供试液过滤前应先将少量的冲洗液过滤，以润湿滤膜。油类供试品，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，若需要用冲洗液冲洗滤膜，每张滤膜每次冲洗量一般为100ml，**总冲洗量一般不超过500ml，最高不得超过1000ml**，以避免滤膜上的微生物受损伤。 | 1.增加“若使用其他尺寸的滤膜，应对稀释液和冲洗液体积进行调整，并重新验证”；  2.“总冲洗量不得超过1000ml”改为“总冲洗量一般不超过500ml，最高不得超过1000ml”。 |
| **水溶液供试品**：      取规定量，直接过滤，或混合至含不少于100ml适宜稀释液的无菌容器中，混匀，立即过滤。如供试品具有抑菌作用，须用冲洗液冲洗滤膜，冲洗次数一般不少于三次，所用的冲洗量、冲洗方法同方法适用性试验。除生物制品外，一般样品冲洗后，1 份滤器中加入100ml硫乙醇酸盐流体培养基，1 份滤器中加入100ml胰酪大豆胨液体培养基。生物制品样品冲洗后，2 份滤器中加入100ml硫乙醇酸盐流体培养基，1份滤器中加入100ml胰酪大豆胨液体培养基。 | **水溶性液体供试品**：      取规定量，直接过滤，或混合至含不少于100ml适宜稀释液的无菌容器中，混匀，立即过滤。如供试品具有抑菌作用，须用冲洗液冲洗滤膜，冲洗次数一般不少于三次，所用的冲洗量、冲洗方法同方法适用性试验。除生物制品外，一般样品冲洗后，1 份滤器中加入100ml硫乙醇酸盐流体培养基，1 份滤器中加入100ml胰酪大豆胨液体培养基。生物制品样品冲洗后，2 份滤器中加入100ml硫乙醇酸盐流体培养基，1份滤器中加入100ml胰酪大豆胨液体培养基。 | “水溶液供试品”改为“水溶性液体供试品” |
| **水溶性固体供试品**：      取规定量，加适宜的稀释液溶解或按标签说明复溶，然后照**水溶液供试品**项下的方法操作。    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**水溶液供试品**项下的方法操作。 | **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或按标签说明复溶，然后照**水溶性液体供试品**项下的方法操作。    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**水溶性液体供试品**项下的方法操作。 | 1.“水溶性固体供试品”改为“水溶性固体和半固体供试品”；  2.“水溶液供试品”改为“水溶性液体供试品”。 |
| 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，混合至适量的无菌十四烷酸异丙酯中，剧烈振摇，使供试品充分溶解，如果需要可适当加热，但**温度不得超过44°C**，趁热迅速过滤。对仍然无法过滤的供试品，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100ml的**稀释液**，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养基照非水溶性制剂供试品项下的方法操作。  ①无菌十四烷酸异丙酯的制备  采用薄膜过滤法过滤除菌，选用孔径为0.22μm的适宜滤膜。 | 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，混合至适量的无菌十四烷酸异丙酯中，剧烈振摇，使供试品充分溶解，如果需要可适当加热，**加热温度一般不超过40℃，最高不得超过44°C**，趁热迅速过滤。对仍然无法过滤的供试品，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100ml的**适宜稀释液**，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养基照非水溶性制剂供试品项下的方法操作。  ①无菌十四烷酸异丙酯的制备  采用薄膜过滤法过滤除菌，选用孔径为0.22μm的适宜滤膜，**或其他适宜的灭菌方法。** | 1.“温度不得超过44°C”改为“加热温度一般不超过40℃，最高不得超过44℃”；  2.“稀释液”改为“适宜稀释液”；  增加“或其他适宜的灭菌方法”。 |
| **无菌气（喷）雾剂供试品**：      取规定量，将各容器置-20°C或其他适宜温度冷冻约1 小时，取出，以无菌操作迅速在容器上端钻一小孔，释放抛射剂后再无菌开启容器，并将供试品转移至无菌容器中混合，供试品亦可采用其他适宜的方法取出。然后照**水溶液或非水溶性制剂供试品**项下的方法操作。 | **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器中**。或将各容器置-20°C或其他适宜温度冷冻约1 小时，取出，**迅速消毒供试品开启部位或阀门，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结构相匹配的适宜位置钻一小孔，钻孔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。**供试品亦可采用其他适宜的方法取出。然后照**水溶性液体供试品或非水溶性供试品**项下的方法操作。 | 1.“无菌气（喷）雾剂供试品”改为“无菌气雾剂供试品”；  2.增加“采用专用设备将供试品转移至封闭式薄膜过滤器中”；  3.增加“迅速消毒供试品开启部位或阀门，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结构相匹配的适宜位置钻一小孔，钻孔后应无明显抛射剂抛出，轻轻转动容器，使抛射剂缓缓释出”；  4.增加“必要时用冲洗液冲洗容器内壁”；  5.“水溶液或非水溶性制剂供试品”改为“水溶性液体供试品或非水溶性供试品”。 |
| 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，然后照**水溶液**或非水溶性供试品项下方法操作。**同时应采用适宜的方法进行包装中所配带的无菌针头的无菌检查**。 | 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所配带的针头等要求无菌的部件进行无菌检查**。 | 1.“水溶液”改为“水溶性液体”；  2.“同时应采用适宜的方法进行包装中所配带的无菌针头的无菌检查”改为“同时应采用适宜的方法对包装中所配带的针头等要求无菌的部件进行无菌检查”。 |
| 具有导管的**医疗器具**（输血、输液袋等）供试品：      取规定量，每个最小包装用50〜100ml冲洗液分别冲洗内壁，收集冲洗液于无菌容器中，然后照**水溶液供试品**项下方法操作。**同时应采用直接接种法进行包装中所配带的针头的无菌检査**。 | 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，每个最小包装用**适量的**（通常50〜100ml）冲洗液分别冲洗内壁，收集冲洗液于无菌容器中，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配带的针头等要求无菌的部件进行无菌检查**。 | 1.“医疗器具”改为“医疗器械”；  2.增加“除另有规定外”；  3.增加“适量的”；  4.“水溶液供试品”改为“水溶性液体供试品”；  5.“同时应采用直接接种法进行包装中所配带的针头的无菌检査”改为“同时应采用适宜的方法对包装中所配带的针头等要求无菌的部件进行无菌检查”。 |
| 混悬液等非澄清**水溶液**供试品：      取规定量，等量接种至各管培养基中。    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解，或按标签说明复溶后，取规定量等量接种至各管培养基中。    非水溶性供试品：      取规定量，混合，加入适量的聚山梨酯80或其他适宜的乳化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或其他适宜乳化剂的各管培养基中。 | 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。    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解，或按标签说明复溶后，取规定量等量接种至各管培养基中。    非水溶性供试品：      取规定量，混合，加入适量的聚山梨酯80或其他适宜的乳化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或其他适宜乳化剂的各管培养基中。 | “水溶液供试品”改为“水溶性液体供试品” |
| 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100mg或lcm×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。    肠线、缝合线等供试品：      肠线、缝合线及其他一次性使用的医用材料按规定量取最小包装，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。    灭菌**医用器具**供试品：      取规定量，必要时应将其拆散或切成小碎段，等量接种于各管足以浸没供试品的适量培养基中。    放射性药品：      取供试品1 瓶（支），等量接种于装量为7.5ml的硫乙醇酸盐流体培养基和胰酪大豆胨液体培养基中。每管接种量为0.2ml。 | 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100mg或lcm×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。    肠线、缝合线等供试品：      肠线、缝合线及其他一次性使用的医用材料按规定量取最小包装，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。    灭菌**医疗器械**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碎段，等量接种于各管足以浸没供试品的适量培养基中。    放射性药品：      取供试品1 瓶（支），等量接种于装量为7.5ml的硫乙醇酸盐流体培养基和胰酪大豆胨液体培养基中。每管接种量为0.2ml。 | 1.“医用器具”改为“医疗器械”；  2.增加“除另有规定外”； |
| 培养及观察：      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14天**；接种生物制品供试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°C培养，一份置20〜25℃培养。培养期间应**逐日观察**并记录是否有菌生长。如在加入供试品后或在培养过程中，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**适量**转种至同种新鲜培养基中，**培养3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，镜检，判断是否有菌。 | 培养及观察：      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天**；接种生物制品供试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°C培养，一份置20〜25℃培养。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，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**不少于1ml**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，镜检，判断是否有菌。 | 1.“培养14天”改为“培养不少于14天”；  2.“逐日观察”改为“定期观察”；  3.“适量”改为“不少于1ml”；  4.“培养3天”改为“将原始培养物和新接种的培养基继续培养不少于4天”。 |
| 结果判断：      **阳性对照管应生长良好，阴性对照管不得有菌生长。否则，试验无效。**      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，除非能充分证明试验结果无效，即生长的微生物非供试品所含。**当符合下列至少一个条件时方可判试验结果无效**：  (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求。  (2)回顾无菌试验过程，发现有可能引起微生物污染的因素。  (3)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(或)无菌操作技术不当引起的。      试验若经确认无效，应重试。重试时，重新取同量供试品，依法检查，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。 | 结果判断：      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认为试验无效**：  (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求。  (2)回顾无菌试验过程，发现有可能引起微生物污染的因素。  **(3)在阴性对照中观察到微生物生长。**  (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(或)无菌操作技术不当引起的。      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，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。 | 1.删除“阳性对照管应生长良好，阴性对照管不得有菌生长。否则，试验无效”；  2.“当符合下列至少一个条件时方可判试验结果无效”改为“只有符合下列至少一个条件时方可认为试验无效”；  3.增加“在阴性对照中观察到微生物生长”；  4.“试验若经确认无效”改为“ 试验若经评估确认无效后”。 |
|  |  | “医疗器具”改为“医疗器械”。 |

* **微生物计数法**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **项目** | **2015版中国药典** | **2020版中国药典** | **对比说明** |
| **/** | 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，应按下述规定进行检验，包括样品的取样量和结果的判断等。除另有规定外，本法不适用于活菌制剂的检査。  微生物计数试验环境应符合微生物限度检查的要求。检验全过程必须严格遵守无菌操作，防止再污染，防止污染的措施不得影响供试品中微生物的检出。**单向流空气区域**、工作台面及环境应定期进行监测。 | 当本法用于检查非无菌制剂及其原、辅料等是否符合**规定**的微生物限度标准时，应按下述规定进行检验，包括样品的取样量和结果的判断等。除另有规定外，本法不适用于活菌制剂的检査。    微生物计数试验环境应符合微生物限度检查的要求。检验全过程必须严格遵守无菌操作，防止再污染，防止污染的措施不得影响供试品中微生物的检出。**洁净空气区域**、工作台面及环境应定期进行监测。 | 1.“相应”改为“规定”；  2.“单向流空气区域”给为“洁净空气区域”； |
| **计数培养基适用性检査** | 菌液制备：      按表1 规定程序培养各试验菌株。取金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌、白色念珠菌的新鲜培养物，用pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液或0.9%无菌氯化钠溶液制成适宜浓度的菌悬液；取黑曲霉的新鲜培养物加入**3〜5ml**含0.05%  (ml/ml)聚山梨酯80的pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液或**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试管内，用含0.05% (ml/ml)聚山梨酯80的pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液或**0.9%无菌氯化钠溶液**制成适宜浓度的黑曲霉孢子悬液。 | 菌液制备：      按表1 规定程序培养各试验菌株。取金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌、白色念珠菌的新鲜培养物，用pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液或0.9%无菌氯化钠溶液制成适宜浓度的菌悬液；取黑曲霉的新鲜培养物加入**适量**含0.05%  (ml/ml)聚山梨酯80的pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液或**含0.05% (ml/ml)聚山梨酯80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试管内，用含0.05% (ml/ml)聚山梨酯80的pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液或**含0.05%  (ml/ml)聚山梨酯80的0.9%无菌氯化钠溶液**制成适宜浓度的黑曲霉孢子悬液。 | 1.“3〜5ml”改为“适量”；  2.“0.9%无菌氯化钠溶液”改为“含0.05% (ml/ml)聚山梨酯80的0.9%无菌氯化钠溶液”。 |
| 微生物计数用的**成品培养基**、由脱水培养基或按处方配制的培养基均应进行培养基适用性检查。      按表1 规定，接种不大于100cfu的菌液至胰酪大豆胨液体培养基管或胰酪大豆胨琼脂培养基平板或沙氏葡萄糖琼脂培养基平板，置表1 规定条件下培养。每一试验菌株平行制备2管或2个**平皿**。同时，用相应的对照培养基替代被检培养基进行上述试验。 | 微生物计数用的**商品化的预制培养基**、由脱水培养基或按处方配制的培养基均应进行培养基适用性检查。      按表1 规定，接种不大于100cfu的菌液至胰酪大豆胨液体培养基管或胰酪大豆胨琼脂培养基平板或沙氏葡萄糖琼脂培养基平板，置表1 规定条件下培养。每一试验菌株平行制备2管或2个**平板**。同时，用相应的对照培养基替代被检培养基进行上述试验。 | 1.“成品培养基”改为“商品化的预制培养基”；  2.“平皿”改为“平板”。 |
| **计数方法适用性试验** | (2)水不溶性非油脂类供试品      取供试品，用pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液，或pH7.2 磷酸盐缓冲液，或胰酪大豆胨液体培养基制备成1:10供试液。分散力较差的供试品，可在稀释液中加入表面活性剂如0.1%的聚山梨酯80，使供试品分散均匀。若需要，调节供试液pH值至6〜8。必要时，用同一稀释液将供试液进一步10倍系列稀释。 | 水不溶性非油脂类供试品      取供试品，用pH7.0无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液，或pH7.2 磷酸盐缓冲液，或胰酪大豆胨液体培养基制备成1:10供试液。分散力较差的供试品，可在稀释液中加入表面活性剂如0.1%**（ml/ml）**的聚山梨酯80，使供试品分散均匀。若需要，调节供试液pH值至6〜8。必要时，用同一稀释液将供试液进一步10倍系列稀释。 | 增加“（ml/ml）”。 |
| **气雾剂、喷雾剂供试品**         取供试品，置-20°C或其他适宜温度冷冻约1小时，取出，迅速消毒供试品开启部位，用无菌钢锥在该部位钻一小孔，放至室温，并轻轻转动容器，使抛射剂缓缓全部释出。供试品亦可采用其他适宜的方法取出。用无菌注射器从每一容器中吸出药液于无菌容器中混合，然后取样检査。 | **气雾剂供试品**：          取供试品，置-20°C或其他适宜温度冷冻约1 小时，取出，**迅速消毒供试品开启部位或阀门，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结构相匹配的适宜位置钻一小孔，供试品各容器的钻孔大小和深度应尽量保持一致，拔出钢锥时应无明显抛射剂抛出，轻轻转动容器，使抛射剂缓缓释出。亦可采用专用设备释出抛射剂。**释放抛射剂后再无菌开启容器，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。**供试品亦可采用其他适宜的方法取出。然后取样检查。 | 1.“气雾剂、喷雾剂供试品”改为“气雾剂供试品”；  2.增加“迅速消毒供试品开启部位或阀门，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结构相匹配的适宜位置钻一小孔，供试品各容器的钻孔大小和深度应尽量保持一致，拔出钢锥时应无明显抛射剂抛出，轻轻转动容器，使抛射剂缓缓释出。亦可采用专用设备释出抛射剂”；  3.增加“必要时用冲洗液冲洗容器内壁”。 |
| **贴膏剂供试品**      取供试品，去掉防粘层，将粘贴面朝上放置在无菌玻璃或塑料器皿上，在粘贴面上覆盖一层适宜的无菌多孔材料（如无菌纱布），避免贴膏剂粘贴在一起。将处理后的贴膏剂放入盛有适宜体积并含有表面活性剂（如聚山梨酯80或卵磷脂）稀释液的容器中，振荡至少30分钟。必要时，用同一稀释液将供试液进一步10倍系列稀释。 | **贴剂、贴膏剂供试品**      取供试品，去掉防粘层，将粘贴面朝上放置在无菌玻璃或塑料器皿上，在粘贴面上覆盖一层适宜的无菌多孔材料（如无菌纱布），避免**供试品**粘贴在一起。将处理后的**供试品**放入盛有适宜体积并含有表面活性剂（如聚山梨酯80或卵磷脂）稀释液的容器中，振荡至少30分钟。必要时，用同一稀释液将供试液进一步10倍系列稀释。 | “贴膏剂供试品”改为“贴剂、贴膏剂供试品”。 |
| 接种和稀释      按下列要求进行供试液的接种和稀释，制备微生物回收试验用供试液。所加菌液的体积应不超过供试液体积的1%。为确认供试品中的微生物能被充分检出，首先应选择  最低稀释级的供试液进行计数方法适用性试验。 | 接种和稀释      按**表1规定**及下列要求进行供试液的接种和稀释，制备微生物回收试验用供试液。所加菌液的体积应不超过供试液体积的1%。为确认供试品中的微生物能被充分检出，首先应选择最低稀释级的供试液进行计数方法适用性试验。 | 增加“表1规定”。 |
| 抗菌活性的去除或灭活  中和剂或灭活剂（表2 )可用于消除干扰物的抑菌活性，最好在稀释液或培养基灭菌前加入。若使用中和剂或灭活剂，试验中应设中和剂或灭活剂对照组，即取相应量**稀释液**替代供试品同试验组操作，以确认其有效性和对微生物无毒性。中和剂或灭活剂对照组的菌落数与菌液对照组的菌落数的比值应在0.5〜2范围内。 | 抗菌活性的去除或灭活  中和剂或灭活剂（表2 )可用于消除干扰物的抑菌活性，最好在稀释液或培养基灭菌前加入。若使用中和剂或灭活剂，试验中应设中和剂或灭活剂对照组，即取相应量**含中和剂或灭活剂的稀释液**替代供试品同试验组操作，以确认其有效性和对微生物无毒性。中和剂或灭活剂对照组的菌落数与菌液对照组的菌落数的比值应在0.5〜2范围内。 | “稀释液”改为“含中和剂或灭活剂的稀释液” |
| 涂布法  取15〜20ml温度不超过45℃的胰酪大豆胨琼脂或沙氏葡萄糖琼脂培养基，注入直径90mm的无菌平皿，凝固，制成平板，采用适宜的方法使培养基表面干燥。若使用直径较大的平皿，培养基用量也应相应增加。每一平板表面接种上述照“供试液的制备” “接种和稀释” 和“抗菌活性的去除或灭活” 制备的供试液不少于0.1ml。按表1规定条件培养、计数。同法测定供试品对照组及菌液对照组菌数。计算各试验组的平均菌落数。 | 涂布法  取**适量（通常为15〜20ml）**温度不超过45℃的胰酪大豆胨琼脂或沙氏葡萄糖琼脂培养基，注入直径90mm的无菌平皿，凝固，制成平板，采用适宜的方法使培养基表面干燥。若使用直径较大的平皿，培养基用量也应相应增加。每一平板表面接种上述照“供试液的制备” “接种和稀释” 和“抗菌活性的去除或灭活” 制备的供试液不少于0.1ml。按表1规定条件培养、计数。同法测定供试品对照组及菌液对照组菌数。计算各试验组的平均菌落数。 | “15〜20ml”改为“适量（通常为15〜20ml）”； |
| (2)薄膜过滤法      薄膜过滤法所采用的滤膜孔径应不大于0.45μm，直径一般为50mm，若采用其他直径的滤膜，冲洗量应进行相应的调整。供试品及其溶剂应不影响滤膜材质对微生物的截留。滤器及滤膜使用前应采用适宜的方法灭菌。使用时，应保证滤膜在过滤前后的完整性。水溶性供试液过滤前先将少量的冲洗液过滤以润湿滤膜。油类供试品，其滤膜和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，若需要用冲洗液冲洗滤膜，每张滤膜每次冲洗量一般为100ml。**总冲洗量不得超过1000ml**，以避免滤膜上的微生物受损伤。 | (2)薄膜过滤法      薄膜过滤法所采用的滤膜孔径应不大于0.45μm，直径一般为50mm，若采用其他直径的滤膜，冲洗量应进行相应的调整。供试品及其溶剂应不影响滤膜材质对微生物的截留。滤器及滤膜使用前应采用适宜的方法灭菌。使用时，应保证滤膜在过滤前后的完整性。水溶性供试液过滤前先将少量的冲洗液过滤以润湿滤膜。油类供试品，其滤膜和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，若需要用冲洗液冲洗滤膜，每张滤膜每次冲洗量一般为100ml。**总冲洗量一般不超过500ml，最多不得超过1000ml，**以避免滤膜上的微生物受损伤。 | “总冲洗量不得超过1000ml”改为“总冲洗量一般不超过500ml，最多不得超过1000ml”。 |
| 接种管置30〜35°C培养3天，逐日观察各管微生物生长情况。如果由于供试品的原因使得结果难以判断，可将该  管培养物转种至胰酪大豆胨液体培养基或胰酪大豆胨琼脂培养基，在相同条件下培养1〜2天，观察是否有微生物生长。根据微生物生长的管数从表3查被测供试品每1g或每1ml中需氧菌总数的最可能数。 | 接种管置30〜35°C培养3天，逐日观察各管微生物生长情况。如果由于供试品的原因使得结果难以判断，可将该  管培养物转种至胰酪大豆胨液体培养基或胰酪大豆胨琼脂培养基，在相同条件下培养1〜2天，观察是否有微生物生长。根据微生物生长的管数从表3查被测供试品每1g或每1ml或**10cm2**中需氧菌总数的最可能数。 | 增加“10cm2” |
| **供试品检查** | 检验量      检验量即一次试验所用的供试品量(g、ml或cm2)  。      一般应随机抽取不少于2个最小包装的供试品，混合，取规定量供试品进行检验。      除另有规定外，一般供试品的检验量为10g或10ml；膜剂为100cm2；贵重药品、微量包装药品的检验量可以酌减。检验时，应从2 个以上最小包装单位中抽取供试品，大  蜜丸还不得少于4 丸，膜剂还不得少于4 片。 | 检验量      检验量即一次试验所用的供试品量(g、ml或cm2)  。      一般应随机抽取不少于2个最小包装的供试品，混合，取规定量供试品进行检验。      除另有规定外，一般供试品的检验量为10g或10ml；**膜剂、贴剂和贴膏剂为100cm2**；检验时，应从2 个以上最小包装单位中抽取供试品，大蜜丸还不得少于4 丸，**膜剂、贴剂和贴膏剂还不得少于4 片**。      贵重药品、微量包装药品的检验量可以酌减。**若供试品处方中每一剂量单位（如片剂、胶囊剂）活性物质含量小于或等于1mg，或每1g或1ml（指制剂）活性物质含量低于1mg时，检验量应不少于10个剂量单位或10g或10ml供试品；若样品量有限或批产量极小（如：小于1000ml或1000g）的活性物质供试品，除另有规定外，其检验量最少为批产量的1%，检验量最少时需要进行风险评估；若批产量少于200的供试品，检验量可减少至2个单位；批产量少于100的供试品，检验量可减少至1个单位。** | 1.“膜剂为100cm2”改为“膜剂、贴剂和贴膏剂为100cm2”；  2.“膜剂还不得少于4 片”改为“膜剂、贴剂和贴膏剂还不得少于4 片”；  3.增加“若供试品处方中每一剂量单位（如片剂、胶囊剂）活性物质含量小于或等于1mg，或每1g或1ml（指制剂）活性物质含量低于1mg时，检验量应不少于10个剂量单位或10g或10ml供试品；若样品量有限或批产量极小（如：小于1000ml或1000g）的活性物质供试品，除另有规定外，其检验量最少为批产量的1%，检验量最少时需要进行风险评估；若批产量少于200的供试品，检验量可减少至2个单位；批产量少于100的供试品，检验量可减少至1个单位。” |
| 3.  MPN 法      取规定量供试品，按方法适用性试验确认的方法进行供试液制备和供试品接种，所有试验管在30〜35℃培养3〜5天，如果需要确认是否有微生物生长，按方法适用性试验确定的方法进行。记录每一稀释级微生物生长的管数，从表3査每1g或1ml供试品中需氧菌总数的最可能数。 | 3.  MPN 法      取规定量供试品，按方法适用性试验确认的方法进行供试液制备和供试品接种，所有试验管在30〜35℃培养3〜5天，如果需要确认是否有微生物生长，按方法适用性试验确定的方法进行。记录每一稀释级微生物生长的管数，从表3査每1g或1ml**或10cm2**供试品中需氧菌总数的最可能数。 | 增加“或10cm2” |

除上述主要变化外，还有一些文字调整的变化，无论哪种变化，企业均需根据2020版《中国药典》的内容进行分析和学习，结合公司的实际情况将药典的要求落实在实际操作中，更改相应的检验文件，确保检验过程的正确性和检验结果的准确性。

