

**非无菌化学药品及原辅料微生物限度研究技术
指导原则
(试行)**

2023 年 2 月

目 录

一、概述	4
二、非无菌原辅料微生物限度研究	4
1、微生物控制策略的建立.....	4
2、检测方法的选择	7
3、限度的制定	8
4、原辅料生产过程中的微生物控制.....	8
三、非无菌化学药品微生物限度研究	8
1、微生物控制策略的建立.....	9
2、检测方法的选择	10
3、限度的制定	11
4、制剂生产过程中的微生物控制.....	12
5、制剂微生物控制的其他考量.....	14
四、微生物限度研究的其他关注点	15
1、微生物限度检查的取样量要求.....	15
2、方法适用性试验中产品具有抑菌性时的解决方案 .	15
3、微生物检验替代方法的认可.....	16

五、微生物限度申报资料要求	16
(一) 申报资料涵盖内容.....	16
1、微生物限度检测方法	16
2、方法适用性试验资料	17
3、微生物限度控制策略及制定依据.....	17
(二) 申报资料的其他关注点.....	17
1、关于放行标准及注册标准中的微生物限度要求...	17
2、稳定性考察期间的微生物限度研究.....	18
3、微生物限度检查的标准复核及样品检验.....	18
六、名词术语	19
七、参考文献	20

非无菌化学药品及原辅料微生物限度研究技术 指导原则 (试行)

一、概述

对于非无菌化学药品及原辅料，微生物限度是反映产品安全性和质量可控性的重要指标之一。为进一步加强质量风险管理在产品质量控制中的应用，提高非无菌化学药品及原辅料微生物限度标准制定的科学性及其合理性，明确申报资料中微生物限度研究及控制的相关要求，制定本指导原则。

本指导原则重点对非无菌化学药品及原辅料微生物限度研究中的控制策略、检测方法及限度的制定、生产过程控制及研究中的关注点进行了系统阐述，对微生物限度申报资料要求进行了明确。

本指导原则仅代表药品监管部门当前的观点和认识，随着科学研究的进展，本指导原则中的相关内容将不断完善与更新。

二、非无菌原辅料微生物限度研究

1、微生物控制策略的建立

原辅料微生物限度研究应基于风险评估，风险评估方法可以参考 ICH Q9《质量风险管理》推荐的风险评估和管理工具，

或者其他合理的方法。风险评估需综合考虑原辅料的性质、物料性质（包括起始物料、溶剂、试剂、催化剂等）、生产工艺、车间环境、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，参考 ICH Q6A 决策树#6（原料药和辅料的微生物限度检查）制定微生物控制策略。需要指出的是，药用辅料作为制剂的重要组成部分，其微生物控制对制剂具有重要影响，申报单位应引起足够的重视。

1.1 首先判断微生物能否在原辅料中生长或存活，若有足够的科学支持性数据表明微生物既不能生长也不能存活，结合风险评估结果可不考虑对微生物限度进行检测。反之，应进行研究和检查。

需要说明的是，某些情况下原辅料不支持微生物的生长和繁殖，但仍需要对微生物限度进行研究和控制。例如，一些水分活度低的原辅料不适宜微生物的生长和繁殖，但如果原辅料的初始生物负载较高，某些耐受性较强的微生物仍可能存活并引入到终产品中。

1.2 若微生物可在原辅料中生长或存活，需制定合理的微生物限度要求，同时还应考察原辅料的合成/处理相关步骤是否会减少微生物。

①若合成/处理相关步骤能够减少微生物，且有科学的研究

结果证明相关步骤可使原辅料中生物负载小于可接受标准（且未检出常见指示菌），基于足够的支持性数据，可不考虑进行微生物限度检查；若检测结果大于可接受标准（或检出常见指示菌），需将微生物限度订入注册标准（登记标准）或放行标准并逐批检测。

②若合成/处理相关步骤不能减少微生物，则应按照制定的微生物限度要求对样品实施检测。若多批次样品的微生物检测结果均小于可接受标准（且未检出常见指示菌），需将微生物限度进行定期抽样检测，抽样频率通过风险评估结果确定；若出现微生物限度检测结果大于可接受标准（或检出常见指示菌）的情况，或微生物增长趋势明显时，则需将微生物限度订入注册标准（登记标准）或放行标准并逐批检测。

③微生物限度逐批检测和定期检测的控制策略并不是一成不变的，如果产品采用逐批检测，在多批次微生物限度检测数据均符合要求的情况下，可根据风险评估结果调整为定期检测；如果产品采用定期检测，但个别批次产品出现微生物检测结果大于可接受标准（或检出常见指示菌）的情况，或微生物增长趋势明显时，应及时进行原因调查并将控制策略调整为逐批检测。申报单位应充分重视生产过程中微生物风险评估的结果，若出现物料工艺、人员设备、车间环境等因素的偏差，应根据偏差调

查结果确定是否需对控制策略进行调整。

控制策略的调整还应结合原辅料自身特点进行，并参照《已上市化学药品药学变更研究技术指导原则（试行）》相应要求进行申报。需要注意的是，对于无菌制剂中（如，注射剂和滴眼剂等）使用的非无菌原辅料，除非有足够的科学支持性数据表明微生物既不能生长也不能存活，否则应将微生物限度订入注册标准（登记标准）并逐批检测；对于部分水分活度较高的原辅料，建议微生物限度采用逐批检测的控制方式。

制定控制策略时，若微生物限度检查订入注册标准（登记标准），申报单位应提供三批及以上商业化生产规模批次的微生物限度检测数据；若微生物限度检查不订入注册标准（登记标准），申报单位应提供足够批次样品的微生物限度检测数据及详实的风险评估资料，以作为不将微生物限度订入注册标准（登记标准）或降低检测频次的合理依据，同时应保证每批产品的微生物限度均符合规定。

2、检测方法的选择

一般情况下，可参考中国药典相关要求制定原辅料微生物限度的检查方法。

在原辅料生产过程的质量控制或终产品放行过程中，当药典方法难以满足质量控制要求时，可根据风险评估结果，采用

经验证的替代方法进行质量控制，如，基于微生物生长信息的检验技术、直接测定被测介质中活微生物的检验技术、基于微生物细胞所含有特定组成成份的分析技术等。

3、限度的制定

在制定原辅料的微生物限度标准时，可综合考虑中国药典相关要求、原辅料的特点、生产工艺和制剂的预期用途等因素，制定包括需氧菌总数、霉菌和酵母菌总数、控制菌以及其它不可接受微生物等一项或多项的限度标准。

4、原辅料生产过程中的微生物控制

非无菌药品中的原料药和辅料是微生物污染的重要来源，特别是天然来源的、水分活度较高的、生产过程中使用水处理以及非洁净环境下处理的原辅料。对于此类原辅料，不仅要关注终产品微生物限度制定的科学性和合理性，还需要关注生产过程中生物负载的监测和控制，特别是可能会增加生物负载的生产步骤，例如中间体的储存时限和储存条件等。生产过程中生物负载的监测和控制有助于最终产品微生物限度控制策略的制定。同时生产中还应减少由水系统、设备仪器、生产环境、人员等因素引入的微生物污染风险。申报单位应根据风险评估结果来制定研发和生产中微生物控制措施的相关质量文件。

三、非无菌化学药品微生物限度研究

1、微生物控制策略的建立

非无菌化学药品微生物限度研究应基于风险评估，风险评估方法可以参考 ICH Q9《质量风险管理》推荐的风险评估和管理工具，或者其他合理的方法。风险评估需综合考虑产品特点、组成成份、生产工艺、车间环境、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，参考 ICH Q6A 决策树#8（非无菌制剂的微生物限度检查），制定产品的微生物限度控制策略。

1.1 当制剂中含有抑菌剂或制剂本身具有抗菌效力时，应进行如下研究：如含有抑菌剂，应制定抑菌剂浓度可接受范围，通过抑菌效力试验来证明低于或等于拟定的抑菌剂最低浓度时的有效性；或提供科学依据证明制剂本身具有抗菌效力。需制定合理的微生物限度可接受标准，并对微生物限度进行逐批检测。

①若每批微生物限度检测结果均符合可接受标准，可进行定期抽样检测，抽样频率通过风险评估结果确定，或提供科学依据证明可不考虑进行常规微生物检测。

需要说明的是，对于部分非无菌化学药品如口服溶液剂、栓剂等中国药典中明确需进行微生物限度检查的剂型，应结合中国药典相关要求将微生物限度订入注册标准逐批检测。

②若微生物限度检测结果大于可接受标准或微生物增长趋

势明显时，则需将微生物限度订入注册标准并逐批检测。

③若定期抽样检测样品出现微生物检测结果大于可接受标准或微生物增长趋势明显的情况，应及时进行原因调查并将控制策略调整为逐批检测。

1.2 如制剂中不含抑菌剂或制剂本身不具有抗菌效力，应判断制剂是否为固体制剂（如，口服固体制剂）。

①如制剂属于固体制剂，且具有足够的科学依据证明其具有抑制微生物生长的特性，可不考虑进行微生物限度检查。

②如制剂不属于固体制剂，或虽属于固体制剂但没有足够的科学依据证明其具有抑制微生物生长的特性，可参照 1.1①、②、③执行。

制定控制策略时，若微生物限度检查订入注册标准，申报单位应提供三批及以上商业化生产规模批次的微生物限度检测数据；若微生物限度检查仅订入放行标准（逐批检测/定期检测），申报单位应提供足够批次样品的微生物限度检测数据及详实的风险评估资料，以作为不将微生物限度订入注册标准或降低检测频次的合理依据，同时应保证每批产品的微生物限度均符合规定。

2、检测方法的选择

一般情况下，可参照中国药典相关要求制定非无菌化学药

品微生物限度检查方法（微生物计数及控制菌检查）。

在药品生产过程的质量控制或终产品放行过程中，当药典方法难以满足质量控制要求或实际需求时，可根据风险评估结果，采用经验证的替代方法进行质量控制，具体方法可参见非无菌原辅料“2、检测方法的选择”项下内容。

3、限度的制定

3.1 限度制定的一般原则

制定非无菌化学药品微生物限度标准时，可综合考虑中国药典相关要求、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者的潜在危险、目标患者人群等因素，提出合理安全的微生物限度标准。

对于特殊品种（如，小规格的吸入制剂）可在对上述因素评估的基础上，考虑以最小包装单位规定限度标准，并提供相应的风险评估资料。对药品成份中含有动物内脏提取物、未经提取的动植物来源成分及矿物质，或与上述产品共线生产时，应对沙门菌进行检测。必要时，某些药品（如，用于免疫功能低下患者的药品）为保证其疗效、稳定性及避免对患者的潜在危害性，应制定更严格的微生物限度标准。

境外上市药品申请进口时，应结合产品具体剂型并关注中国药典的要求，微生物限度标准原则上不低于中国药典的要求，

或根据风险评估结果制定合理的控制策略。

3.2 洋葱伯克霍尔德菌群的控制

洋葱伯克霍尔德菌群 (*Burkholderia cepacia* complex, Bcc) 是一类来源广泛、由 20 余个伯克霍尔德菌属的近缘种组成的革兰氏阴性条件致病菌，具有较强的耐药性。对于某些水性基质非无菌化学药品，Bcc 是不可接受微生物。对于吸入用途的非无菌制剂以及口服、黏膜、皮肤和鼻腔给药的水性基质非无菌制剂，应参照相关技术要求对洋葱伯克霍尔德菌群进行风险管理和控制研究，制定相应的控制策略，必要时将 Bcc 订入产品放行/注册标准（登记标准）。

对于其他不可接受微生物，可结合产品自身情况进行研究与控制。

4、制剂生产过程中的微生物控制

可从水分活度、生产工艺、中间产品存放时限和其他因素等多个方面关注制剂生产过程中的微生物控制。

4.1 水分活度

非固体剂型（例如溶液剂、混悬剂、洗剂、乳膏剂、软膏剂和凝胶剂等）比固体剂型具有更高的水分活度，支持微生物生长的风险更高。水分活度是非无菌药品的重要属性，需关注原辅料自身水分活度、吸湿特性、环境条件（温度、湿度）、贮存

条件、包装系统等对水分活度的影响。

对于固体制剂、非水性基质液体制剂，水分活度较低时，微生物不易生长和繁殖，但制剂初始生物负载仍可能在有效期内持续存在，因此，对原辅料进行合理的微生物控制较为重要。

4.2 生产工艺

某些工艺步骤可能在提高或降低生物负载方面有较大影响。应结合生产工艺的评估情况，对有微生物污染或生长繁殖风险的关键工艺步骤，如水分活度较高的工艺步骤（配液、制备包衣液等）或工艺时限较长的工艺步骤进行生物负载的研究。也可对能够降低生物负载的工艺步骤进行研究，通过研究证明微生物下降的程度（通常用下降对数值来表示），将有助于对工艺的理解和工艺参数的控制。

4.3 中间产品存放时限

应对中间产品（如，可能更有利于微生物生长和繁殖的水性基质中间产品）的包装形式、存放时限及环境条件进行充分研究。必要时，应制定中间产品生物负载的限度标准，以监控工艺中微生物数量和种类变化，保证其生物负载可控。

4.4 其他因素

生产过程中应减少由环境、设备、水系统、气体、清洁和消毒剂、人员等因素引入的微生物污染风险。

对溶液剂、凝胶剂等高水分活度的制剂，申报单位应加强对水系统（纯化水）的监测和控制，对 Bcc 等不可接受微生物进行生产过程管理，拟定合理的风险控制策略。

5、制剂微生物控制的其他考量

除生产过程中的评估因素外，还可考虑将组成成份、给药途径、适用人群纳入风险评估范围。

5.1 组成成份

药品生产所用的原辅料通常应符合中国药典非无菌药品微生物限度标准及药典通则<药用辅料>中的相应要求，并保证能够满足制剂的安全性和有效性。

原辅料是药品微生物污染的重要来源，应确保其生物负载或微生物限度控制在一定水平之内。应关注处方中具有更高的污染风险的天然来源成份（如，以动物、植物来源的天然组份，蛋白质类等）。处方、工艺中使用的水应进行微生物控制。

5.2 给药途径

应考虑制剂的给药途径，关注接触该制剂的身体部位（如，皮肤、呼吸道、胃肠道或泌尿道等），如上述部位有损伤则更易引起用药风险。

5.3 适用人群

应考虑制剂的适用人群，对于外伤、手术、疾病或慢性病等

所致的免疫缺陷患者，以及婴儿和老人等特殊人群，微生物导致的用药风险相对较大。

四、微生物限度研究的其他关注点

1、微生物限度检查的取样量要求

微生物限度检查的取样量要求应参照中国药典的相关要求。特殊检验量可结合产品批产量、原辅料来源、生产工艺、微生物限度检查历史数据、国内外药典通则中的对取样量的建议等进行综合评估，需保证取样的代表性，并满足检验及标准判断的需求，同时提供相关评估资料。

2、方法适用性试验中产品具有抑菌性时的解决方案

进行微生物计数方法适用性试验时，如产品具有抑菌性影响微生物回收率，可采用增加稀释液或培养基体积、加入适宜的中和剂或灭活剂、采用薄膜过滤法、上述几种方法的联合使用，来消除产品或干扰物的抑菌性。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。

在选择更高稀释级时，还应考虑能够符合限度标准检验误差、检验条件环境背景的影响等因素，有必要的情况下可以通过增加接种量（试验平皿数等）来降低检验误差。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，那么应选择回收情况最接近要求的方法进行供试品微生物限度的检测，并提供相应的风险评估资料。

3、微生物检验替代方法的认可

当替代方法应用于药品生产过程的质量控制时，其结果与药典方法相比某些参数如准确性等可能存在差异，但二者应有明确的相关性。在进行过程控制的微生物检验时，鼓励增加使用快速微生物检验方法与药典方法并行。经过验证和风险评估后，可替代药典方法。当替代方法应用于终产品放行时，其应优于或等同于药典方法。

五、微生物限度申报资料要求

（一）申报资料涵盖内容

申报资料中应包括微生物限度检测方法、方法适用性试验资料、微生物限度控制策略及制定依据。

1、微生物限度检测方法

应提供详细的微生物限度检测方法，包括：①取样量；②供试液制备方法；如使用的稀释液药典未收载，应注明配制和灭菌方法；③检验项目和具体试验方法。如使用平皿法还是薄膜过滤法，接种量是 1ml 还是 10ml；如果使用薄膜过滤法，应明确冲洗液的种类、用量和冲洗方式、滤膜的材质和面积等；④检验依据参照的药典；⑤结果判定方法及限度要求。

2、方法适用性试验资料

应对微生物计数法和控制菌检查法进行方法适用性试验。

方法适用性试验资料中应明确以下内容：①试验目的及试验依据；②试验用材料信息，包括产品信息、试验菌种、培养基、稀释液及试剂信息；③试验方法，包括供试液的制备方法、微生物计数方法适用性试验的具体操作、控制菌检查法适用性试验的具体操作；④试验结果，包括计数方法适用性中供试品对照组、菌液对照组生长菌落数，试验组生长菌落数、稀释剂对照组生长菌落数（如有）及回收率信息；控制菌检查中样品组、试验组、阴性对照的培养结果；如在试验过程中发现产品具有抑菌活性，应提供抑菌活性的去除或灭活方法及后续试验结果；若使用中和剂或灭活剂应确认其有效性及微生物无毒性；⑤试验结论，对试验结果进行总结，明确方法是否适用于产品的微生物限度检查。

3、微生物限度控制策略及制定依据

应提供非无菌原辅料/非无菌化学药品制定的微生物限度控制策略，并提供控制策略的制定依据如风险评估资料、方法的选择、限度的制定、生产过程中的过程控制等。

（二）申报资料的其他关注点

1、关于放行标准及注册标准中的微生物限度要求

应结合产品特性，拟定放行标准及注册标准中微生物限度控制要求。如产品在贮存期间微生物有增长风险（水分活度较高或含有天然来源的成份等），与注册标准相比，放行标准可考虑制定较严格的微生物限度标准，并关注产品有效期内微生物数量的变化。

对于制剂而言，如该剂型在中国药典剂型通则项下微生物限度属于必检项目，可将微生物限度在注册标准中单独列出，也可涵盖在“其他”项下；如微生物限度不属于必检项目，若申报单位经研究采用的控制策略为订入注册标准并逐批检验，则应将微生物限度在注册标准中单独列出。

2、稳定性考察期间的微生物限度研究

注册批次稳定性考察期间，应合理设置微生物限度考察时间点，在稳定性关键时间点和稳定性末期应进行微生物限度检查，充分评估产品在考察期间的微生物生长趋势。

3、微生物限度检查的标准复核及样品检验

微生物限度检查订入注册标准时，应对该项进行质量标准复核及样品检验。需要指出的是，经风险评估，微生物限度检查不订入注册标准时，申报单位应保证检测方法的可行性，必要时需进行质量标准复核及样品检验。

试验菌株选择建议执行中国药典《药品微生物实验室质量

管理指导原则》中的相关规定。申报单位需关注检测方法与菌株来源的匹配性。

六、名词术语

生物负载: 非无菌原辅料、中间产品以及药品中存活的微生物种类和数量。

微生物限度: 非无菌药品的质量属性之一, 为保证患者用药安全, 需要控制非无菌药品的污染微生物不得超过一定水平。

不可接受微生物: 除药典规定控制菌以外, 能够在药品中生存或繁殖, 可导致特定给药途径下用药患者感染或威胁患者健康, 或破坏该药品的性质及疗效的微生物。

常见指示菌: 药典中收录的控制菌及其他不可接受的微生物。

水分活度 (water activity, a_w): 相同温度下产品水蒸气压 (P) 与纯水蒸气压 (P_o) 的比值。在数值上等于封闭系统中由产品产生的相对湿度 (RH) 的 1/100。是产品中微生物可利用水的量度, 是影响微生物生长的关键因素之一。

可接受标准: 在微生物限度研究过程中, 基于分析结果拟定的可接受的数值限度、范围和其他合适的测定值。

注册标准、放行标准、登记标准: 本指导原则中, 注册标准为经国家药品监督管理局核准的药品质量标准, 放行标准为药

品质量放行时所使用的质量标准，登记标准为辅料生产企业在原辅包登记平台登记的质量标准。

七、参考文献

[1] 《中国药典》(2020年版)四部通则1105, 1106, 1107, 1121, 9201, 9202, 9203, 9204, 0251, 中国医药科技出版社, 2020.

[2] USP <60>, <61>, <62>, <1111>, <1112>, <1115>, <1223>, <1227>, 2022.

[3] EP10.8, <2.6.12>, <2.6.13>, <5.1.4>, 2022.

[4] ICH Steering Committee. Harmonised Tripartite Guideline Q6A: Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for new Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances, 1999.

[5] ICH Steering Committee. Harmonised Tripartite Guideline Q9: Quality Risk Management, 2021.

[6] FDA Guidance for Industry- Microbiological Quality Considerations in Non-sterile Drug Manufacturing (DRAFT GUIDANCE), 2021.

[7] PDA TR67, Exclusion of Objectionable Micoorganiems from Nonsterile Pharmaceuticals, Medical Devices, and Cosmetics, 2014.

[8] 国家药品监督管理局药品审评中心. 《化学药品创新药上市申请前会议药学共性问题及相关技术要求》, 2021.