

9203 兽药微生物实验室质量管理指导原则

兽药微生物实验室质量管理指导原则用于指导兽药微生物检验实验室的质量控制。**涉及生物安全的操作，应符合相应国家、行业、地方的标准和规定等。**

兽药微生物的检验结果受很多因素的影响，如样品中微生物可能分布不均匀、微生物检验方法的误差较大等。因此，在兽药微生物检验中，为保证检验结果的可靠性，必须使用经验证的检测方法并严格按照兽药微生物实验室质量管理指导原则要求进行检验。**必要时，微生物实验室应开展微生物检测的测量不确定度评定；也应按质量风险管理要求开展风险评估，为微生物可能导致的质量问题提供有效信息与分析。**

兽药微生物实验室质量管理指导原则包括以下几个方面：人员、培养基、**外部服务与供应试剂**、菌种、**设施和环境条件**环境、设备、样品、检验方法、污染废弃物处理、检测结果**有效性的保证****质量保证和检测过程质量控制**、实验记录**与数据**、结果的判断**和**检测报告、文件等。

一、人员

微生物实验室应设置质量负责人、技术管理者、检验人员、生物安全责任人、生物安全监督员、菌种管理员及相关设备和材料管理员等岗位，可通过一人多岗设置。

从事兽药微生物试验工作的人员应具备微生物学或相近专业的教育背景。

检验人员必须熟悉相关检测方法、程序、检测目的和结果评价。微生物实验室的管理者**的其**专业技能和经验水平应与他们的职责范围相符，如：管理技能、实验室安全、试验安排、预算、实验研究、实验结果的评估和数据偏差的调查、技术报告书写等。

实验人员**上岗前**应依据所在岗位和职责接受相应的培训，在确认**被培训人员他们**可以承担某一试验前，**其他**不能独立从事该项微生物试验。**培训内容包括应保证所有人员在上岗前接受**胜任工作所必需的设备操作、微生物检验技术等方面的培训，如无菌操作、培养基制备、消毒、灭菌、**倾注平板**、菌落计数、菌种的转种、传代和保藏、**洁净区域的微生物监测**、微生物检查方法**和及**鉴定基本技术等，经考核合格后方可上岗。

实验人员应经过实验室生物安全方面的培训，**熟悉生物安全操作知识和消毒灭菌知识**，保证自身安全，防止微生物在实验室内部污染。

实验室应**确定实验人员持续培训的需求**，制定**所有级别实验人员**的继续教育计划，保证知识与技能不断**地**更新。

~~检验人员必须熟悉相关检测方法、程序、检测目的和结果评价。微生物实验室的管理者其专业技能和经验水平应与他们的职责范围相符，如：管理技能、实验室安全、试验安排、预算、实验研究、实验结果的评估和数据偏差的调查、技术报告书写等。~~

实验室应**确定人员具备承担相应实验室活动的能力，以评估偏离影响程度的能力**。可通过参加内部质量控制、能力验证或**实验室间比对等方式使用标准菌株等方法**客观评估检验人员的能力，**并授权从事相应的实验室活动**，必要时对其进行再培训并重新评估。当使用一种非经常使用的**及新的方法**或技术时，有必要在检测前确认微生物检测人员的操作技能。

所有人员的培训、考核内容和结果均应记录归档。

二、培养基

培养基是微生物试验的基础，直接影响微生物试验结果。适宜的培养基制备方法、贮藏条件和质量控制试验是提供优质培养基的保证。

~~1. 培养基的制备~~

微生物实验室使用的培养基可按**培养基**处方配制，也可使用按处方生产的符合规定的脱水培养基，~~或~~**或直接采用商品化的预制培养基。**

商品化的脱水培养基或预制培养基应设立接收标准，并进行符合性验收，包括品名、批号、数量、生产单位、外观性状（瓶盖密封度、内容物有无结块霉变等）、处方和使用说明、有效期、贮藏条件、生产商提供的质控报告、有效期确定的资料和/或其他相关材料（如配方变更）。

（一）培养基的配制

在制备培养基时，应选择质量符合要求的脱水培养基或按单独配方组分进行配制。**不应使用结块、颜色发生变化或其他物理性状明显改变的脱水培养基。**

脱水培养基或单独配方组分应在适当的条件下贮藏，如低温、干燥和避光，所有的容器应密封，尤其是盛放脱水培养基的容器。

为保证培养基质量的稳定可靠并符合要求，配制时，脱水培养基应按使用说明的要求操作，自制培养基应按配方准确配制，各脱水培养基或各配方组分称量应达到相应的精确度。配制培养基最常用的溶剂是纯化水。应记录各称量物的重量和水的使用量。

~~脱水培养基应附有处方和使用说明，配制时应按使用说明上的要求操作以确保培养基的质量符合要求，不得使用结块或颜色发生改变的脱水培养基。~~

~~脱水培养基或单独配方组分应在适当的条件下贮藏，如低温、干燥和避光，所有的容器应密封，尤其是盛放脱水培养基的容器。商品化的成品培养基除了应附有处方和使用说明外，还应注明有效期、贮藏条件、适用性检查试验的质控菌和用途。~~

~~为保证培养基质量的稳定可靠，各脱水培养基或各配方组分应准确称量，并要求有一定的精确度。配制培养基最常用的溶剂是纯化水。应记录各称量物的重量和水的使用量。~~

配制培养基所用容器不得影响培养基质量，一般为玻璃容器。培养基配制所用的容器和配套器具应洁净，可用纯化水冲洗玻璃器皿以消除清洁剂和外来物质的残留。对热敏感的培养基，如糖发酵培养基其分装容器一般应预先进行灭菌，以保证培养基的无菌性。

配制时，脱水培养基应完全溶解混匀于水中，再行分装与灭菌。~~配制时~~若需要加热助溶，应注意不要过度加热，以避免培养基颜色变深。如需要添加其他组分时，加入后应充分混匀。

（二）培养基的灭菌

培养基灭菌应**采用经验证的灭菌程序灭菌**~~按照生产商提供或使用者验证的参数进行~~。商品化的**预制成品**培养基必须附有所用灭菌方法的资料。培养基灭菌一般采用湿热灭菌技术，特殊培养基可采用薄膜过滤除菌**等技术**。

培养基若采用不适当的加热和灭菌条件，有可能引起颜色变化、透明度降低、琼脂凝固

力或pH值的改变。因此，培养基应采用**经验证的**灭菌程序灭菌，培养基灭菌方法和条件，**可通过适用性检查试验、无菌性试验和促生长试验**进行验证。此外，对高压灭菌器的蒸气循环系统也要加以验证，以保证在一定装载方式下的正常热分布。温度缓慢上升的高压灭菌器可能导致培养基的过热，过度灭菌可能会破坏绝大多数的细菌和真菌培养基促生长的质量。灭菌器中培养基的容积和装载方式也将影响加热的速度。**此外还应关注灭菌后培养基体积的变化。因此，应根据灭菌培养基的特性，进行全面的灭菌程序验证。**

应确定每批培养基灭菌后的pH值（冷却至**室温25℃左右**测定）。若培养基处方中未列出pH值的范围，除非经验证表明培养基的pH值允许的变化范围很宽，否则，pH值的范围不能超过规定值±0.2，**如需灭菌后进行调整，应使用灭菌或除菌的溶液。**

制成平板或分装于试管的培养基应进行下列检查：容器和盖子不得破裂，装量应相同，尽量避免形成气泡，固体培养基表面不得产生裂缝或涟漪，在冷藏温度下不得形成结晶，不得污染微生物等。应检查和记录批数量、有效期及培养基的无菌检查。

（三）培养基的贮藏

自配的培养基应标记名称、批号、配制日期、制备人等信息，并在已验证的条件下贮藏。商品化的**预制成品**培养基**标签上应标有名称、批号、生产日期、失效期及培养基的有关特性，生产商和使用者**应根据培养基使用说明书上的要求进行贮藏，所采用的贮藏和运输条件应使**预制成品**培养基最低限度**地**失去水分并提供机械保护。

培养基灭菌后不得贮藏 in 高压灭菌器中，琼脂培养基不得在0℃或0℃以下存放，因为冷冻可能破坏凝胶特性。培养基保存应防止水分流失，**必要时避光保存避免阳光照射**。琼脂平板最好现配现用，如置冰箱保存，**一般不超过1周，且**应密闭包装，**若延长保存期限，**保存期需经验证确定。

固体培养基灭菌后的再融化只允许1次，以避免因过度受热造成培养基质量下降或微生物污染。培养基的再融化一般采用水浴或流通蒸气加热，若采用其他溶解方法，应对其进行评估，确认该溶解方法不影响培养基质量。融化的培养基应置于45～50℃的环境中，不得超过8小时。使用过的培养基（包括失效的培养基）应按照国家污染废物处理相关规定进行。

（四）培养基的质量控制试验

实验室应**制定**对试验用培养基的**建立**质量控制程序，**以**确保所用培养基质量符合相关检查的需要。

实验室配制或商品化的**预制成品**培养基的质量依赖于其制备过程，采用不适宜方法制备的培养基将影响微生物的生长或复苏，从而影响试验结果的可靠性。

所有配制好的培养基均应进行质量控制试验。实验室配制的培养基的常规监控项目是pH、适用性检查试验，定期的稳定性检查，以确定有效期。培养基在有效期内应依据适用性检查试验确定培养基质量是否符合要求。有效期的长短将取决于在一定存放条件下（包括容器特性及密封性）的培养基其组成成分的稳定性。

除兽药典**通则附录**另有规定外，在实验室中，**应采用已验证的配制和灭菌程序制备培养基；每批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符合培养基适用性检查的要求。若采用已验证的配制和灭菌程序制备培养基且过程受控，那么同一批脱水**

~~培养基的适用性检查试验可只进行1次。如果培养基的制备过程未经验证，那么每一批培养基均要进行适用性检查试验，试验用的菌种可根据培养基的用途从相关通则附录中进行选择，也可增加从生产环境及产品中常见的污染菌株。~~

培养基的质量控制试验若不符合规定，应寻找不合格的原因，以防止问题重复出现。任何不符合要求的培养基均不能使用。

固体培养基灭菌后的再融化只允许1次，以避免因过度受热造成培养基质量下降或微生物污染。培养基的再融化一般采用水浴或流通蒸气加热，若采用其他融化方法，应对其进行评估，确认该融化方法不影响培养基质量。融化的培养基应置于45~50℃的环境中，不得超过8小时。使用过的培养基（包括失效的培养基）应按照国家污染废物处理相关规定进行。

制成平板或分装于试管的培养基应进行下列检查：容器和盖子不得破裂，装量应相同，尽量避免形成气泡，固体培养基表面不得产生裂缝或涟漪，在冷藏温度下不得形成结晶，不得污染微生物等。

用于环境监控的培养基须特别防护，以防止外来污染物的影响及避免出现假阳性结果。~~最好要双层包装和终端灭菌，如果不能采用终端灭菌的培养基，那么在使用前应进行100%的预培养以防止外来的污染物带到环境中及避免出现假阳性结果。~~

实实验室应有文件规定微生物试验用培养基、原材料及补充添加物的采购、验收、贮藏、制备、灭菌、质量检查与使用的全过程，并对培养基的验收、制备、灭菌、贮藏（包括灭菌后）、质量控制试验和使用情况等进行记录；包括培养基名称、副造商、批号，表观特性、配制日期和配制人的标识、称量、配制及分装的体积、pH值、灭菌设备及程序等，按处方配制的培养基记录还应包括成分名称及用量。

三、外部服务与供应品试剂

外部服务包括校准、检测、培训、能力验证提供、设施和设备维修维护服务等；供应品包括试剂、消耗材料等。实验室应保证影响实验室活动的外部服务和供应品的适宜性，并保存相关活动的记录。

采购文件中应包括对外部服务和供应品性能或质量的技术要求。应优先选择已经获得供应品认证和/或质量管理体系认证的供应商提供的供应品，也可以通过调查或实地考察的方式进行合格供应商的评价，证明供应商的管理能力和技术能力。实验室应制定文件，验证所有环节包括试剂和软件等是否符合预期性能；尤其应对影响结果质量的重要供应品进行技术验收。如供应品中的试剂微生物实验室应有试剂接收、检查和贮藏的程序文件，以确保所用试剂质量符合相关检查要求。实验用关键试剂，在使用和贮藏过程中，应对每批试剂的适用性进行验证确认。实验室应对试剂进行管理控制，保存和记录相关资料。实验室配制的所有试剂、试液及溶液应贴好标签，标明名称、制备依据、适用性、浓度、贮藏条件、制备日期、有效期及制备人等信息。

~~实验用关键试剂，在开启和贮藏过程中，应对每批试剂的适用性进行验证。实验室应对试剂进行管理控制，保存和记录相关资料。~~

~~实验室应标明所有试剂、试液及溶液的名称、制备依据、适用性、浓度、效价、贮藏条~~

~~件、制备日期、有效期及制备人。~~

四、菌种

试验过程中，生物样本可能是最敏感的，因为它们的生活和特性依赖于合适的试验操作和贮藏条件。实验室菌种的处理和保藏的程序应标准化，使尽可能减少菌种污染和生长特性的改变。按统一操作程序制备的菌株是微生物试验结果一致性的重要保证。

兽药微生物检验用的试验菌应**为有明确来源的来自认可的国内或国外菌种保藏机构**的标准菌株，或使用与标准菌株所有相关特性等效的可以溯源的商业派生菌株。

标准菌株**应来自认可的国内或国外菌种保藏机构**，其复苏、复壮或培养物的制备应按供应商提供的说明或按已验证的方法进行。从国内或国外菌种保藏机构获得的标准菌株经**过复苏**并在适宜的培养基中生长后，即为标准储备菌株。标准储备菌株应进行纯度和特性确认。标准储备菌株保存时，可将培养物等份悬浮于抗冷冻的培养基中，并分装于小瓶中，建议采用低温冷冻干燥、液氮贮存、超低温冷冻（低于-30℃）等方法保存。低于-70℃或低温冷冻干燥方法可以延长菌种保存时间。标准储备菌株可用于制备每月或每周1次转种的工作菌株。冷冻菌种一旦解冻转种制备工作菌株后，不得重新冷冻和再次使用。

工作菌株的传代次数应严格控制，不得超过5代（从菌种保藏机构获得的标准菌株为第0代），以防止过度的传代增加菌种变异的风险。1代是指将活的培养物接种到微生物生长的新鲜培养基中培养，任何形式的转种均被认为是传代1次。必要时，实验室应对工作菌株的特性和纯度进行确认。

工作菌株不可替代标准菌株，标准菌株的商业衍生物仅可用作工作菌株。标准菌株如果经**过**确认试验证明已**经**老化、退化、变异、污染等或该菌株已无使用需要时，应及时灭菌销毁。

菌种必须定期转种传代，并做纯度、特性等实验室所需关键指标的确认，实验室应必须建立菌种管理（从标准菌株到工作菌株）的文件和记录，内容包括菌株的申购、进出、收集、贮藏、确认、转种、使用及销毁等全过程。和保存其所有菌种的进出、收集、贮藏、确认试验以及销毁的记录，应有菌种管理的程序文件（从标准菌株到工作菌株），该程序包括：标准菌种的申购记录；从标准菌株到工作菌株操作及记录；菌种必须定期转种传代，并做纯度、特性等实验室所需关键指标的确认，并记录；每支菌种都应注明其名称、标准号、接种日期、传代数，并记录；菌种生长的培养基和培养条件、菌种保藏的位置和条件等信息；其他需要的程序。

五、设施和环境条件**环境**

微生物实验室应具有进行微生物检测所需的适宜、充分的设施条件，**试验实验**环境应保证不影响检验结果的准确性。**微生物实验室应专用，并与生产、办公等其他区域分开。工作区域与办公区域应分开。**

~~微生物实验室应专用，并与其他领域分开尤其是生产领域。~~

（一）实验室的布局和运行

微生物实验室的布局与设计应充分考虑到试验设备安装、良好微生物实验室操作规范和

实验室安全的要求，以能获得可靠的检测结果为重要依据，且符合所开展微生物检测活动生物安全等级的需要。实验室布局设计的基本原则是既要最大可能防止微生物的污染，又要防止检验过程对人员和环境造成危害，同时还应考虑活动区域的合理规划及区分，避免混乱和污染，以提高微生物实验室操作的可靠性。

微生物实验室的设计和建筑材料应考虑其适用性，以利清洁、消毒、灭菌并减少污染的风险。洁净区域或无菌室应配备独立的空气机组或空气净化系统，以满足相应的检验要求，包括温度和湿度的控制，压力、照度和噪声等应符合工作要求。空气过滤系统应定期维护和更换，并保存相关记录。微生物实验室应划分成相应的洁净区域和生物安全控制活菌操作区域，同时应根据实验目的，在时间或空间上有效分隔不相容的试验实验活动，将交叉污染的风险降低到最低。生物安全控制区域活菌操作区应该配备满足要求的生物安全柜，以避免有危害性的生物因子对实验人员和实验环境造成的危害。霉菌试验要有适当的措施防止孢子污染环境。对人或环境有危害的样品应采取相应的隔离防护措施。一般情况下，兽药微生物检验的实验室应有符合无菌检查法（通则附录1101）及非无菌产品微生物限度检查、和微生物计数法限度检查（通则附录1105）和控制菌检查法（通则附录1106）要求的、用于具有开展无菌检查、微生物限度检查及无菌采样等检测活动的、独立设置的洁净室（区）或隔离系统，并配备相应的阳性菌实验室、培养室、试验结果观察区、培养基及试验实验用具准备（包括灭菌）区、样品接收和贮藏室（区）、标准菌株贮藏室（区）、污染物处理区和文档处理区等辅助区域，微生物基因扩增检测实验室原则上应设分隔开的工作区域以防止污染，包括（但不限于）试剂配制与贮存区、核酸提取区、核酸扩增区和扩增产物分析区，同时，应对上述区域明确标识。

微生物试验实验的各项工作应在专属的区域进行，以降低交叉污染、假阳性结果和假阴性结果出现的风险。无菌检查应在隔离系统或B级背景下的A级单向流洁净区域或D级背景下的隔离系统中进行，微生物限度检查应在不低于D级背景下生物安全柜或的下的B级单向流空气洁净区域内进行。A级和B级区域的空气供给应通过终端高效空气过滤器（HEPA）。

一些样品若需要证明微生物的生长或进一步分析培养物的特性，如再培养、染色、微生物鉴定或其他确定试验均应在生物安全控制区域实验室的活菌操作区进行。任何出现微生物生长的培养物不得在实验室洁净无菌区域内打开。对染菌的样品及培养物应有效隔离，以减少假阳性结果的出现。病原微生物的分离鉴定工作应在相应级别的二级生物安全实验室进行。

实验室应制定对进出洁净区域的人和物的建立控制程序和标准操作规程，对可能影响检验结果的工作（如洁净度验证及监测、消毒、清洁、维护等）或涉及生物安全的设施和环境条件的技术要求，能够有效地控制、监测并记录。微生物实验室使用权限应限于经授权的工作人员，实验人员应了解洁净区域的正确进出的程序，包括更衣流程；该洁净区域的预期用途、使用时的限制及限制原因；适当的洁净级别。

（二）环境监测

微生物实验室应按相关国家标准制定完整的洁净室（区）和隔离系统的验证和环境监测标准操作规程，环境监测项目和监测频率及对超标结果的处理应有书面程序。监测项目应涵盖到位，包括对空气悬浮粒子、浮游菌、沉降菌、表面微生物及物理参数（温度、相对湿度、

换气次数、**空气流速**~~气流速度~~、压差、噪声等）有效地控制和监测。环境监测按兽药洁净实验室微生物监测和控制指导原则（**指导原则**~~附录~~9205）进行。

（三）清洁、消毒和卫生

微生物实验室应有制定清洁、消毒和卫生的标准操作规程，规程中应涉及环境监测结果。

实验室在使用前和使用后应进行消毒，并定期监测消毒效果，要有足够洗手和手消毒设施。**实验室**应有对有害微生物发生污染的处理规程。

所用的消毒剂种类应满足洁净实验室相关要求并定期更换。理想的消毒剂既能杀死广泛的微生物、对人体无毒害、不会腐蚀或污染设备，又应有清洁剂的作用、性能稳定、作用快、残留少、价格合理。**必要时对**所用消毒剂和清洁剂的微生物污染状况应进行监测，并在**确认**~~规定~~的有效期内使用，A级和B级洁净区**应当**使用无菌的或经无菌处理的消毒剂和清洁剂。

六、设备

微生物实验室应配备与检验能力和工作量相适应的仪器设备，其类型、测量范围和准确度等级应满足检验所采用标准的要求。设备的安装和布局应便于操作，易于维护、清洁和校准，并保持清洁和良好的工作状态。用于试验的每台仪器、设备应该有唯一标识。

仪器设备应有合格证书，实验室在仪器设备完成相应的检定、校准、验证、确认其性能，并形成相应的操作、维护和保养的标准操作规程后方可正式使用，仪器设备使用和日常监控要有记录。

（一）设备的维护

为保证仪器设备处于良好工作状态，应定期对其进行维护和性能验证，并保存相关记录。仪器设备若脱离实验室或被检修，恢复使用前应**重新确认其**~~对其检查或校准，以保证~~性能符合要求。

重要的仪器设备，如培养箱、冰箱等，应由专人负责进行维护和保管，保证其运行状态正常和受控，同时应有相应的备用设备以保证试验菌株和微生物培养的连续性；~~特殊设备~~**如**高压灭菌器、隔离器、生物安全柜等**设备**实验人员应经培训**并确认其能力**后**持证**上岗。对于培养箱、冰箱、高压灭菌锅等影响**试验**准确性的关键设备应在其运行过程中对关键参数（如温度、压力）进行连续观测和记录，有条件的情况下尽量使用自动记录装置。如果发生偏差，应评估对以前的检测结果造成的影响并采取必要的纠正措施。

对于一些容易污染微生物的仪器设备，如水浴锅、培养箱、冰箱和生物安全柜等应定期进行清洁和消毒。

对试验**需**用的无菌器具应实施正确的清洗、灭菌措施，并形成相应的标准操作规程，无菌器具应有明确标识并与非无菌器具加以区别。

实验室的某些设备（例如培养箱、高压灭菌器**和玻璃器皿**等）应专用，除非有特定预防措施，以防止交叉污染。

（二）校准、性能验证和使用监测

微生物实验室所用的仪器应根据日常使用的情况进行定期的校准，并记录。校准的周期

和校验的内容根据仪器的类型和设备在实验室产生的数据重要性不同而不同。仪器上应有标签说明校准日期、~~维修日期~~和~~再重新~~校准日期。

1. **温度测量装置** 温度不但对实验结果有直接的影响，~~而且~~还对仪器设备的正常运转和正确操作起关键**作用因素**。相关的温度测量装置，如培养箱和高压灭菌器中的温度计、热电偶和铂电阻温度计，应具有可靠的质量并进行校准，以确保所需的精确度。~~温度设备的校准应遵循国家标准或国际标准。~~

温度测量装置可以用来监控冰箱、超低温冰箱、培养箱、水浴锅等设备的温度，应在使用前验证此类装置的性能。

2. **灭菌设备** 灭菌设备的灭菌效果应满足使用要求，应使用多种传感器（如温度、压力等）监控灭菌过程，对实际应用的灭菌条件和装载状态需定期进行性能验证。经过维修或工艺变化等可能对灭菌效果产生影响时，应重新验证。应定期使用生物指示剂检查灭菌设备的效果并记录，指示剂应放在不易达到灭菌的部位。日常监控可采用物理或化学方式进行。

压力容器操作人员的操作证书应符合特种设备相关标准或法规要求。

~~2. 称量设备~~

~~天平和标准砝码应定期进行校准，天平使用过程应采用标准砝码进行校准。每次使用完后应及时清洁，必要时用非腐蚀消毒剂进行消毒。~~

~~3. 容量测定设备~~

~~微生物实验室对容量测定设备如自动分配仪、移液枪、移液管等应进行检定，以确保仪器准确度。对于已经校准或检定证明符合使用要求的玻璃器具可以不进行检定。标有各种使用体积的仪器需要对使用时的体积进行精密度的检查，并且还要测定其重现性。~~

~~对于一次性使用的容量设备，实验室应该从公认的和具有相关质量保证系统的公司购买。对仪器适用性进行初次验证后，要对其精密度随时进行检查。必要时应该对每批定容设备进行适用性检查。~~

3. ~~4.~~ **生物安全柜、层流超净工作台、高效过滤器** 应由有**专业技能资质**的人员进行生物安全柜、层流超净工作台及高效过滤器的安装与更换，~~应要~~**按照**确认的方法进行现场生物和物理的检测，并定期进行再验证。

实验室生物安全柜和层流超净工作台的通风应符合微生物风险级别及符合安全要求。**其他设备的安装不应影响生物安全柜等安全隔离装置的气流。**应定期对生物安全柜、层流超净工作台进行监测，以确保其性能符合相关要求~~，如生物安全柜维护检验时可包括下降气流、流入气流、气流模式和高效过滤器等性能指标。~~实验室应保存检查记录和性能测试结果。

4. ~~5.~~ **其他设备** 悬浮粒子计数器、浮游菌采样器应定期进行校准；pH计、~~天平~~**传导计**和其他类似仪器的性能应定期或在每次使用前确认；若湿度对**试验**结果有影响，湿度计应按国家标准或国际标准进行校准；当所测定的时间对检测结果有影响时，应使用校准过的计时仪或定时器；使用离心机时，应评估离心机每分钟的转数，若离心是关键因素，离心机应该进行校准。

七、样品

1. 样品采集 试验样品的采集，根据取样测试的目的不同，应分别基于随机原则和风险原则，由经过培训的人员在受控条件下进行，并防止污染，如需无菌抽样，采用无菌操作技术，并在无菌条件的特定区域进行。抽样环境应监测并记录，同时还需记录采样时间。应遵循随机抽样的原则，并在受控条件下进行抽样，如有可能，抽样应在具有无菌条件的特定抽样区域中进行。抽样时，须采用无菌操作技术进行取样，防止样品受到微生物的污染而导致假阳性的结果。抽样的任何消毒过程（如抽样点的消毒）不能影响样品中微生物的检出。

所抽样品应有清晰标识，避免样品混淆和误用。标识应包括抽样的容器应贴有唯一性的标识，注明样品名称、批号、抽样日期、采样容器、抽样人等信息，使标识安全可见并可追溯。抽样应由经过培训的人员使用无菌设备在无菌条件下进行无菌操作。抽样环境状况应监测并记录，同时还需记录采样时间。

2. 样品储存和运输 待检样品应在合适的条件下贮藏并保证其完整性，尽量减少污染的微生物发生变化。样品在运输过程中，应保持原有（规定）的储存条件或采取必要的措施（如冷藏或冷冻）。应明确规定和记录样品的贮藏和运输条件。

3. 样品的确认和处理 实验室应有被检样品的传递、接收、储存和识别管理程序。

实验室在收到样品后应根据有关规定尽快对样品进行检查，并记录被检样品所有相关信息，如接收日期及时间、接收时样品的状况、采样信息操作的特征（包括采样日期和采样条件等）、贮藏条件。

如果样品存在数量不足、包装破损、标签缺失、温度不适等，实验室应在决定是否检测或拒绝接受样品之前与相关人员沟通。样品的包装和标签有可能被严重污染，因此，搬运和贮存样品时应小心以避免污染的扩散，容器外部的消毒应不影响样品的完整性。样品的任何异常状况在检验报告中应有说明。

选择具有代表性的样品，根据有关的国家标准或国际标准，或者使用经验证的实验方法，尽快进行检验。

实验室应按照书面管理程序对样品进行保留和处置。如果实验用的是已知被污染的样品，应经过无害化处理。该在丢弃前进行灭菌。

八、检验方法

1. 检验方法选择 兽药微生物检验时，应根据检验目的选择适宜的方法进行样品检验。

2. 检验方法的确认验证 兽药典方法或其他相关标准中规定的方法是经过验证的，在引入检测之前，实验室应证实能够正确地运用这些方法。当进行样品检验时所采用的方法，应进行方法适用性确认。当发布机构修订了标准方法，实验室应评估修订内容，除文字修订外，还应在所需的程度上重新进行方法确认。

如果检验方法不是兽药典或标准中规定的方法，使用前应进行替代方法的验证，确认其应用效果优于或等同于兽药典方法。替代方法的验证按兽药微生物检验替代方法验证指导原则（附录9201）进行。

实验室对所用商业检测系统如试剂盒等应保留确认数据，这些确认数据可由制造者提供或由第三方机构评估，必要时，实验室应对商业检测系统进行确认。

3. 检验方法的验证 如果检验方法不是标准中规定的方法，使用前应进行方法的验证，

对无参考方法的验证可采用自然污染或人工污染等方式，评估预先设定的指标；对有参考方法的验证可采用待验证方法与参考方法比较的方式，如替代方法的验证按兽药微生物检验替代方法验证指导原则（指导原则9201）进行。

九、污染废弃物处理

实验室应有妥善处理废弃样品、过期(或失效)培养基和有害废弃物的设施和制度，旨在减少检查环境和材料的污染。污染废弃物管理应符合国家和地方法规的要求，并应交由当地环保部门资质认定的单位进行最终处置，由专人负责并书面记录和存档。~~的最终处理必须符合国家环境和健康安全规定。~~

兽药微生物实验室还应制定针对所操作微生物危害的安全应急预案，规范生物安全事故发生时的操作流程和方法，避免和减少紧急事件对人员、设备和工作的伤害和影响，~~类似于带菌培养物溢出的意外事件制定处理规程。~~如：~~活的培养物洒出必须就地处理，不得使培养物污染扩散，~~实验室还应配备消毒剂、化学和生物学的溢出处理盒等相关装备。

十、检测结果有效性的保证的质量保证和检测过程的质量控制

1. 内部质量控制 ~~为保证实验室在每个工作日检测结果的连贯性和与检测标准的一致性，实验室应制定对所承担的工作进行连续评估的程序。~~为评估实验室检测结果的持续有效，实验室应制订质量控制程序和计划，对内部质量控制活动的实施内容、方式、责任人员及结果评价依据做出明确的规定。质量控制计划应尽可能覆盖实验室的所有检测人员和检测项目。

对于兽药微生物检测项目，实验室可定期使用标准样品（如需氧菌总数标准样品等）、质控样品或用标准菌株人工污染的样品等开展内部质量控制，并根据工作量、人员水平、能力验证结果、外部评审等情况明确规定质控频次。

在实施人员比对、设备比对和方法比对时，要选取均匀性和稳定性符合要求的样品进行。

~~实验室应定期对实验环境的洁净度、培养基的适用性、灭菌方法、菌株纯度和活性（包括性能）、试剂的质量等进行监控并详细记录。~~

~~实验室应定期对检测人员进行技术考核。可以通过加标试样的使用、平行实验和参加能力验证等方法使每个检测人员所检测项目的可变性处于控制之下，以保证检验结果的一致性。~~

~~实验室应对重要的检验设备如自动化检验仪器等进行比对。~~

2. 外部质量评估 实验室应参加与检测范围相关的国家能力验证或实验室之间的比对试验来评估检测能力水平，通过参加外部质量评估来评定检测结果的偏差。

实验室应对评估结果进行分析，适时改进。

十一、实验记录和数据

试验结果的可靠性依赖于试验严格按照标准操作规程进行，而标准操作规程应指出如何进行正确的试验操作。实验记录和数据应是真实、准确、完整和可追溯的。实验记录应包含所有关键的实验细节，确保可重复该试验活动。以便确认数据的完整性。

实验室原始记录至少应包括以下内容：试验日期、检品名称、检验人员姓名、标准

操作规程编号或方法、~~试~~实验结果、偏差（存在时）、~~试~~实验参数（如环境、所使用的设备、菌种、培养基和批号以及培养温度等）、~~主管/~~复核人签名等。

实验记录上还应显示~~出~~检验标准的选择，如果使用的是兽药典标准，必须保证是现行有效的标准。

试验所用的每一个关键的~~试~~实验设备均应有记录，设备日志或表格应设计合理，以满足试验记录的追踪性，设备温度（水浴、培养箱、灭菌器）必须记录，且具有追溯性。

实验记录可以是纸质的，也可以是电子的，或纸质和电子记录并存。实验记录的修改应可追溯到前一个版本，并能保存原始及修改后的数据和文档，包括修改日期，修改内容和修改人员。~~实验记录写错时，用单线划掉并签字。原来的数据不能抹去或被覆盖。~~

开展微生物试验时可选择适宜的方式保障微生物数据可靠性：如高分辨率拍照形成数字化图像的电子数据，微生物关键结果的观察宜采用第二人复核的方式确认。

归档的数据应确保安全，电子数据应定期备份，其备份及恢复流程必须经过验证。纸质数据应便于查阅。数据的保存期限应满足相应规范要求，并建立数据销毁规程，数据的销毁应经过审批。~~所有实验室记录应以文件形式保存并防止意外遗失，记录应存放在特定的地方并有登记。~~

十二、结果的判断和检测报告

由于微生物试验的特殊性，在~~实验~~结果分析时，对结果应进行充分和全面的评价，所有影响结果观察的微生物条件和因素应~~完全~~考虑，包括与规定的限度或标准有很大偏差的结果；微生物在原料、辅料或试验环境中存活的可能性；及微生物的生长特性等。特别要了解~~实验~~结果与标准的差别是否有统计学意义。若发现~~实验~~结果不符合兽药典各品种项下要求或另外建立的质量标准，应进行原因调查。引起微生物污染结果不符合标准的原因主要有两个：试验操作错误或产生无效结果的试验~~环境~~条件；产品本身的微生物污染总数超过规定的限度或检出控制菌。

检验过程出现与微生物相关的不合规范的数据，均属于微生物数据偏差(microbial data deviation, MDD)。对实验室偏差数据的调查，有利于持续提高实验室数据的可靠性。MDD调查主要分为两个阶段，第一阶段仅限于实验室内调查，焦点集中于试验是否有效；第二阶段是开展全面调查，确定异常结果的根本原因。一般先从微生物实验室开始进行偏差调查，根据调查的需要逐步延伸到其他相关部门；由于微生物调查的时限性，其他相关部门的调查也可以在微生物实验室调查完成前开始。

~~异常结果出现时，应进行偏差调查。~~实验室偏差调查时应考虑实验室环境、抽样区的防护条件、样品在该检验条件下以往检验的情况、样品本身具有使微生物存活或繁殖的特性等情况。此外，回顾试验过程~~也可评价该~~~~试~~实验结果的可靠性及~~试~~实验过程是否恰当。如果试验操作被确认是引起~~实验~~结果不符合的原因，~~那么则~~应制定纠正和预防措施，按照正确的操作方案进行~~试~~实验，在这种情况下，对试验过程及试验操作应~~进行有效控制。~~~~特别认真地~~~~进行监控。~~

样品检验应有重试的程序，如果依据分析调查结果发现试验有错误而判~~试~~实验结果无效，应进行重试。~~那么这种情况必须记录。实验室也必须认可复试程序，~~如果需要，可按相关规

定重新抽样，但抽样方法不能影响不符合规定结果的分析调查。**上述情况应保留相关记录。**

微生物实验室检测报告应该符合检测方法的要求。实验室应准确、清晰、明确和客观地报告每一项或每一份检测的结果。

检测报告的信息应该完整、**可靠**。

十三、文件

文件应当充分表明试验是在实验室**内**按可控的**程序检查法**进行的，一般包括以下方面：人员培训与资格确认；设备验收、验证、检定（或校准**期间核查**）、**期间核查**和维修；设备使用中的运行状态（设备的关键参数）；培养基制备、贮藏和质量控制；**洁净室管理**；菌种**和生物安全**管理；检验规程中的关键步骤；数据记录与结果计算的确认；质量责任人对试验报告的评估；数据偏离的调查。

所有程序和支持文件，应保持现行有效并易于人员取阅。涉及生物安全的操作现场应防止文件被污染，可采取必要的消毒、去除污染等控制措施。