

## 附件：1106 非无菌产品微生物限度检查：控制菌检查法公示稿（第二次）

## 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**致病菌不可接受微生物**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)

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

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

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

38 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  
39 在 24 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  
40 在 2~8℃, 在验证过的贮存期内使用。

#### 41 阴性对照

42 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  
43 无菌生长。如阴性对照有菌生长, 应进行**偏差**调查。

#### 44 培养基适用性检查

45 **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  
46 培养基均应进行培养基的适用性检查。

47 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  
48 示特性的检查。各培养基的检查项目及所用的菌株见表 1。

49 **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)  
50 于被检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  
51 规定的最短培养时间下培养, 与对照培养基管比较, 被检培养基管试验菌应  
52 生长良好。

53 **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  
54 菌 (表 1) 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  
55 温度及不大于规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  
56 的菌落大小、形态特征应一致。

57 **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  
58 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小于规定的最长  
59 培养时间下培养，试验菌应不得生长。

60 **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）  
61 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  
62 大于规定的最短培养时间范围内培养，被检培养基上试验菌生长的菌落大  
63 小、形态特征、指示剂反应情况等应与对照培养基一致。

64 **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	大肠埃希菌、铜绿 假单胞菌
	紫红胆盐葡萄糖琼脂 培养基	抑制能力 促生长能力+指 示特性	金黄色葡萄球菌 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	大肠埃希菌
	麦康凯琼脂培养基	抑制能力 促生长能力+指 示特性	金黄色葡萄球菌 大肠埃希菌
沙门菌	RV 沙门菌增菌液体培 养基	促生长能力	乙型副伤寒沙门菌
	木糖赖氨酸脱氧胆酸 盐琼脂培养基	抑制能力 促生长能力+指 示特性	金黄色葡萄球菌 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	铜绿假单胞菌
		抑制能力	大肠埃希菌
金黄色葡 萄球菌	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 抑制能力	白色念珠菌 大肠埃希菌

#### 65 控制菌检查方法适用性试验

66 **供试液制备** 按下列“供试品检查”中的规定制备供试液。

67 **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  
68 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  
69 胞菌为试验菌。

70 **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  
71 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，  
72 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  
73 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  
74 培养，应能检出所加试验菌相应的反应特征。

75 **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  
76 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  
77 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  
78 灭活”〕，并重新进行方法适用性试验。

79 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  
80 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  
81 试品的检查。

#### 82 供试品检查

83 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。

84 **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  
 85 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  
 86 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  
 87 频次、要求。阳性对照试验方法同供试品的控制菌检查，对照菌的加量应  
 88 不大于 100cfu。阳性对照试验应检出相应的控制菌。

89 **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  
 90 照试验应无菌生长。如果阴性对照有菌生长，应进行**偏差**调查。

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

92 **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  
 93 照“非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法（通则 1105）”制成 1：10  
 94 供试液，混匀，在 20~25℃培养，培养时间应使供试品中的细菌充分恢复但  
 95 不增殖（约 2 小时，不大于 5 小时）。

#### 96 **定性试验**

97 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  
 98 积（经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~  
 99 48 小时后，划线接种于紫红胆盐葡萄糖琼脂培养基平板上，30~35℃培养 18~  
 100 24 小时。如果平板上无菌落生长，判供试品未检出耐胆盐革兰阴性菌。

#### 101 **定量试验**

102 **选择和分离培养** 取相当于 0.1g、0.01g 0.001g（或 0.1ml、0.01ml、  
 103 0.001ml）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  
 104 试验确定）肠道菌增菌液体培养基中，30~35℃培养 24~48 小时。上述每一  
 105 培养物分别划线接种于紫红胆盐葡萄糖琼脂培养基平板上，30~35℃培养  
 106 18~24 小时。

107 **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  
 108 养管为阳性，否则为阴性。根据各培养管检查结果，从表 2 查 1g 或 1ml 供试  
 109 品中含有耐胆盐革兰阴性菌的可能菌数。

110 **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
------------	--------------

0.1g 或 0.1ml	0.01g 或 0.01ml	0.001g 或 0.001ml	试品中可能的菌数 (cfu)
+	+	+	$N > 10^3$
+	+	-	$10^2 < N < 10^3$
+	-	-	$10 < N < 10^2$
-	-	-	$N < 10$

111 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  
112 葡萄糖琼脂平板上无菌落生长。

113 (2) 若供试品量减少 10 倍（如 0.01g 或 0.01ml，0.001g 或 0.001ml，  
114 0.0001g 或 0.0001ml），则每 1g（或 1ml）供试品中可能的菌数（N）应相应  
115 增加 10 倍。

### 116 大肠埃希菌 (*Escherichia coli*)

117 **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：  
118 微生物计数法（通则 1105）”制成 1:10 供试液。取相当于 1g 或、1ml、1  
119 贴或 10cm<sup>2</sup> 供试品的供试液，接种至适宜体积（经方法适用性试验确定）的胰  
120 酪大豆胨液体培养基中，混匀，30~35℃培养 18~24 小时。

121 **选择和分离培养** 取上述培养物 1ml 接种至 100ml 麦康凯液体培养基中，  
122 42~44℃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  
123 基平板上，30~35℃培养 18~72 小时。

124 **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  
125 及适宜的鉴定试验，确证是否为大肠埃希菌；若麦康凯琼脂培养基平板上没  
126 有菌落生长，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  
127 菌。

### 128 沙门菌 (*Salmonella*)

129 **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  
130 体积（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℃  
131 培养 18~24 小时。

132 **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  
133 培养基中，30~35℃培养 18~24 小时。取少量 RV 沙门菌增菌液体培养物划



134 线接种于木糖赖氨酸脱氧胆酸盐琼脂培养基平板上，30~35℃培养 18~48 小  
135 时。

136 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  
137 红色或无色、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  
138 糖铁琼脂培养基高层斜面上进行斜面和高层穿刺接种，培养 18~24 小时，或  
139 采用其他适宜方法进一步鉴定。

140 **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，  
141 且三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  
142 黄色或黑色，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  
143 上没有菌落生长，或虽有菌落生长但鉴定结果为阴性，或三糖铁琼脂培养基  
144 的斜面未见红色、底层未见黄色、或斜面黄色、底层未见黄色或黑色上述形  
145 态特征，判供试品未检出沙门菌。

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

147 **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：  
148 微生物计数法（通则 1105）”制成 1: 10 供试液。取相当于 1g 或、1ml、1  
149 贴或 10cm<sup>2</sup> 供试品的供试液，接种至适宜体积（经方法适用性试验确定）的胰  
150 酪大豆胨液体培养基中，混匀，30~35℃培养 18~24 小时。

151 **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  
152 养基平板上，30~35℃培养 18~72 小时。

153 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  
154 鉴定。

155 **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  
156 的菌落涂于滤纸片上，滴加新配制的 1%二盐酸 N, N 二甲基对苯二胺试液，在  
157 30 秒内若培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。

158 **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  
159 化酶试验阳性，应进一步进行适宜的鉴定试验，确证是否为铜绿假单胞菌。  
160 如果平板上没有菌落生长，或虽有菌落生长但鉴定结果为阴性，或氧化酶试  
161 验阴性，判供试品未检出铜绿假单胞菌。

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

163 **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：  
164 微生物计数法（通则 1105）”制成 1：10 供试液。取相当于 1g 或、1ml、1  
165 贴或 10cm<sup>2</sup> 供试品的供试液，接种至适宜体积（经方法适用性试验确定）的胰  
166 酪大豆胨液体培养基中，混匀，30～35℃培养 18～24 小时。

167 **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  
168 板上，30～35℃培养 18～72 小时。

169 **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  
170 环的黄色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  
171 是否为金黄色葡萄球菌；若平板上没有与上述形态特征相符或疑似的菌落生  
172 长，或虽有相符或疑似的菌落生长但鉴定结果为阴性，判供试品未检出金黄  
173 色葡萄球菌。

#### 174 **梭菌 (*Clostridia*)**

175 **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  
176 生物计数法（通则 1105）”制成 1：10 供试液。取相当于 1g 或、1ml、1 贴  
177 或 10cm<sup>2</sup> 供试品的供试液 2 份，其中 1 份置 80℃保温 10 分钟后迅速冷却。

178 **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  
179 法适用性试验确定）的梭菌增菌培养基中，置厌氧条件下 30～35℃培养 48  
180 小时。取上述每一培养物少量，分别涂抹接种于哥伦比亚琼脂培养基平板上，  
181 置厌氧条件下 30～35℃培养 48～72 小时。

182 **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  
183 氧化氢试液，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。

184 **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)，  
185 且过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；  
186 如果哥伦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  
187 落生长但鉴定结果为阴性，或过氧化氢酶反应阳性，判供试品未检出梭菌。

#### 188 **白色念珠菌 (*Candida albicans*)**

189 **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：  
190 微生物计数法（通则 1105）”制成 1：10 供试液。取相当于 1g 或、1ml、1  
191 贴或 10cm<sup>2</sup> 供试品的供试液，接种至适宜体积（经方法适用性试验确定）的沙



192 氏葡萄糖液体培养基中，混匀，30~35℃培养3~5天。

193 **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，  
194 30~35℃培养24~48小时。

195 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  
196 色，表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  
197 硬或有皱褶。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  
198 时（必要时延长至72小时），或采用其他适宜方法进一步鉴定。

199 **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  
200 在念珠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  
201 定试验，确证是否为白色念珠菌；若沙氏葡萄糖琼脂培养基平板上没有菌落  
202 生长，或虽有菌落生长但鉴定结果为阴性，或疑似菌在念珠菌显色培养基平  
203 板上生长的菌落呈阴性反应，判供试品未检出白色念珠菌。

#### 204 稀释液

205 稀释液配制后，应采用验证合格的灭菌程序灭菌。

206 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。

207 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  
208 磷酸盐缓冲液 照缓冲液(通则8004)配制后，过滤，分装，灭菌。

209 3. pH7.2 无菌磷酸盐缓冲液 取磷酸二氢钾 34g，加水 500ml 使溶解，  
210 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，  
211 即为储备液，在 2~8℃ 保存。将水与储备液按 800:1 (ml/ml) 混合，灭菌。

212 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。

213 ~~34.~~ 0.9% 无菌氯化钠溶液 取氯化钠 9.0g，加水使溶解成 1000ml，过  
214 滤，分装，灭菌。

#### 215 培养基及其制备方法

216 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  
217 养基或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。

218 1. 胰酪大豆胨液体培养基(TSB)、胰酪大豆胨琼脂培养基(TSA)、沙  
219 氏葡萄糖液体培养基(SDB)

220 照无菌检查法(通则1101)制备。

221        **2. 沙氏葡萄糖琼脂培养基 (SDA)**

222        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  
223 培养基, 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。

224        **3. 马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA)**

225        照无菌检查法 (通则 1101) 制备。

226        **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		

227        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、  
228 玫瑰红钠, 摇匀, 分装, 灭菌。

229        **5. 硫乙醇酸盐流体培养基**

230        照无菌检查法 (通则 1101) 制备。

231        **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		

232        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  
233 25℃ 的 pH 值为  $7.2 \pm 0.2$ , 加入葡萄糖、亮绿, 加热至 100℃ 30 分钟, 立即冷  
234 却。

235        **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		

236        除葡萄糖、中性红、结晶紫、琼脂外, 取上述成分, 混合, 微温溶解,

237 调节 pH 使加热后在 25℃ 的 pH 值为  $7.4 \pm 0.2$ 。加入葡萄糖、中性红、结晶紫、  
238 琼脂，加热煮沸（不能在高压灭菌器中加热）

### 239 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		

240 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  
241 在 25℃ 的 pH 值为  $7.3 \pm 0.2$ ，加入乳糖、溴甲酚紫，分装，灭菌。

### 242 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		

243 除乳糖、中性红、结晶紫、琼脂外，取上述成分，混合，微温溶解，调  
244 节 pH 使灭菌后在 25℃ 的 pH 值为  $7.1 \pm 0.2$ ，加入乳糖、中性红、结晶紫、琼  
245 脂，加热煮沸 1 分钟，并不断振摇，分装，灭菌。

### 246 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		

247 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  
248 pH 值为  $5.2 \pm 0.2$ 。加入孔雀绿，分装，灭菌，灭菌温度不能超过 115℃。

### 249 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

250 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  
251 热后在 25℃ 的 pH 值为  $7.4 \pm 0.2$ ，加入三种糖、酚红、琼脂，加热至沸腾，  
252 冷至 50℃ 倾注平皿（不能在高压灭菌器中加热）。

### 253 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		

254 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，  
255 调节 pH 使灭菌后再 25℃ 的 pH 值为  $7.3 \pm 0.1$ ，加入琼脂，加热融化后，再加  
256 入其余各成分，摇匀，分装，灭菌，制成高底层（2~3cm）短斜面。

### 257 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		

258 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  
259 pH 值为  $7.4 \pm 0.2$ ，加入琼脂，加热煮沸 1 分钟，分装，灭菌。

### 260 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

261 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  
262 菌后在 25℃ 的 pH 值为  $7.4 \pm 0.2$ ，加热并振摇，加入甘露醇、酚红、琼脂，

263 煮沸1分钟，分装，灭菌。

264 **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

265 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  
266 要，调节pH使灭菌后在25℃的pH值为 $6.8 \pm 0.2$ 。加入葡萄糖，混匀，分装，  
267 灭菌。

268 **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

269 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，  
270 调节pH使灭菌后在25℃的pH值为 $7.3 \pm 0.2$ ，加入琼脂，加热溶化，分装，  
271 灭菌。如有必要，灭菌后，冷至45~50℃加入相当于20mg庆大霉素的无菌硫  
272 酸庆大霉素，混匀，倾注平皿。

273 **17. 念珠菌显色培养基**

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

274 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  
275 pH值为 $6.3 \pm 0.2$ 。滤过，加入琼脂，加热煮沸，不断搅拌至琼脂完全溶解，  
276 倾注平皿。



## 1106 非无菌产品微生物限度检查：控制菌检查法

### 第二次公示稿修订说明

根据 2023 年 9 月 1106 非无菌产品微生物限度检查：控制菌检查法首次公示稿的反馈意见和建议，国家药典委员会微生物专业委员会进行了研讨，在第一次公示稿的基础上修订了部分内容，主要为：

1. 将“供试品检出控制菌或其他致病菌时”修订为“供试品检出控制菌或其他不可接受微生物时”。
2. 菌液制备中“沙门菌”名称修订为“乙型副伤寒沙门菌”。
3. 将溴化十六烷基三甲胺琼脂配方中，灭菌后在 25℃ 的 pH 修订为 7.2 ± 0.2。