

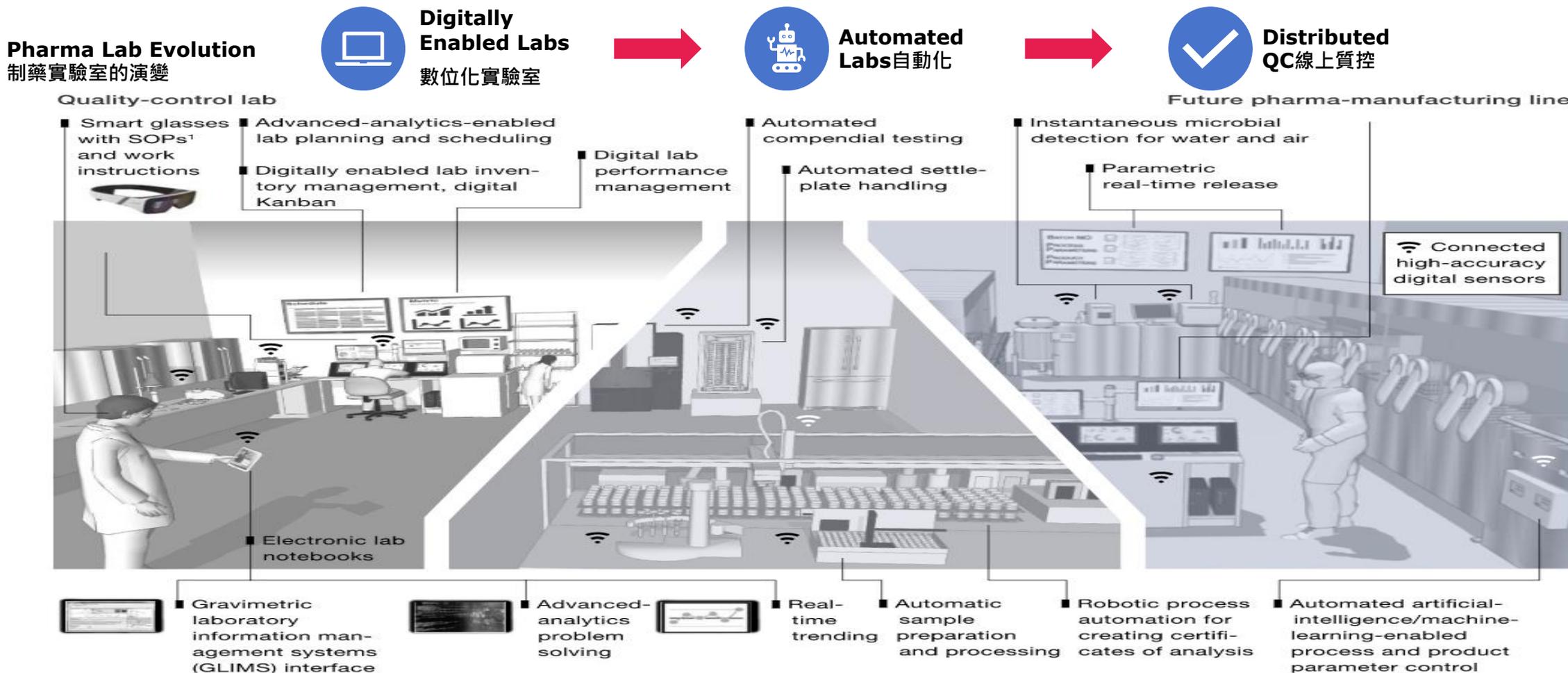


完整的解決方案（從經典到替代方法）
確保高質量的無菌檢測結果

Speaker: 繆若禮 (Marco)

Pharmaceutical QC Development Trend (制藥品質控制發展趨勢)

數位化和自動化將通過引入新的工作方式來改變實驗室和車間的品質控制工作

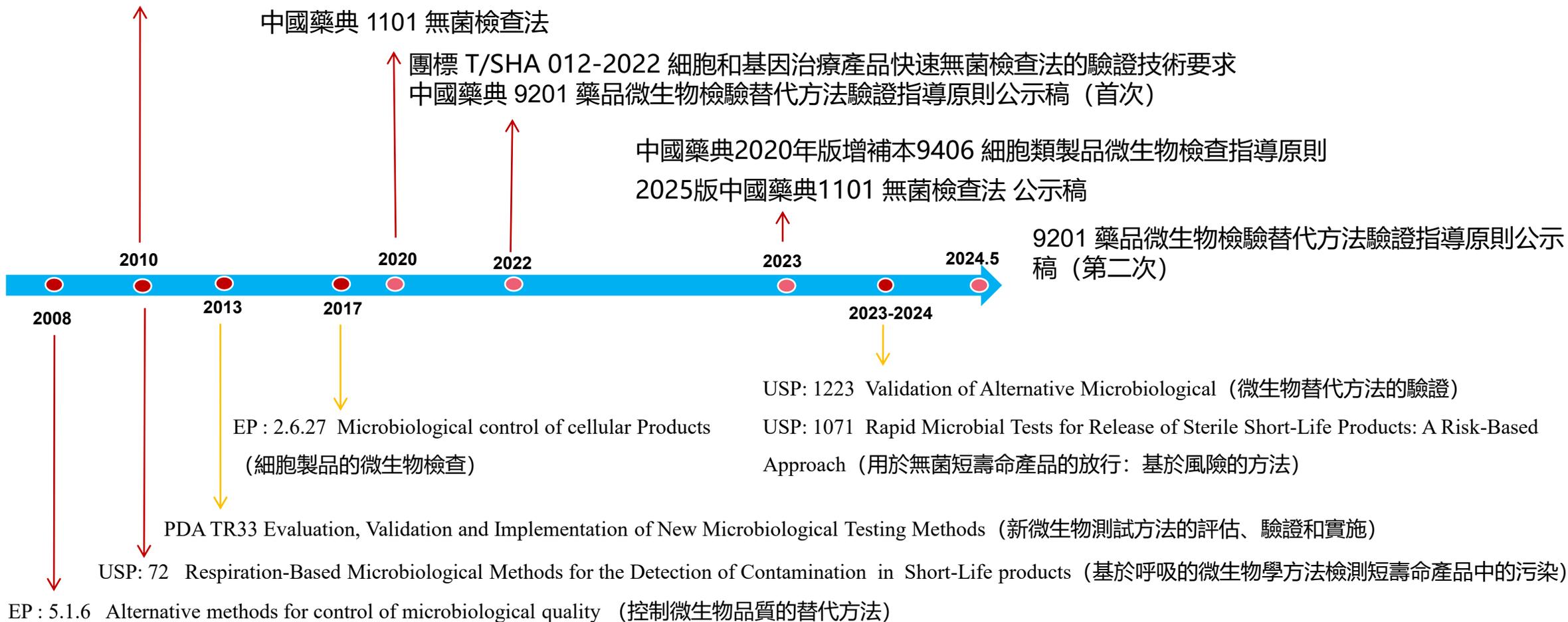


Source: <https://www.mckinsey.com/industries/pharmaceuticals-and-medical-products/our-insights/digitization-automation-and-online-testing-the-future-of-pharma-quality-control>

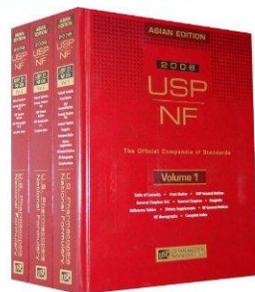
法規進展有利於RMM的推進

中國大陸

藥品生產品質管理規範



歐美



目錄

- A. 無菌檢測回顧
 - B. 法規要求
 - C. 檢測微生物生長信號
- (全自動無菌檢查培養系統)



A

無菌檢測回顧回顧與法規要求



1. 什麼是無菌測試?
 - 法規要求
 - 直接接種/膜過濾
2. 無菌測試
 - 驗證方法：方法適用性測試
 - 常規無菌測試：膜過濾
 - 培養基品質控制

什麼是無菌測試

實用定義：

- 在指定的培養基中測試時，沒有活的和活躍繁殖的微生物
- 基於培養基濁度，表明發生了微生物生長
- 這是一個定性（通過或失敗）的測試。
- 表示一組數據，有助於決定產品批次是否符合所述聲明。
- 不作為唯一的產品放行測試



After 14 days, result is read to detect turbidity

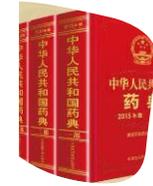


無菌檢查的法規依據

- USP美国药典
- EU欧洲药典
- JP日本药局方



方法融合



ChP 中國藥典

2025

- TGA 澳大利亚治疗用品管理条例
- PIC/S 药品检验药品检验合作公约
- FDA 食品及药物管理局
- EMEA欧洲药品管理局
- PDA注射药物管理局
- AAMI医疗仪器促进协会
- ISO国际标准化组织
- WHO世界卫生组织

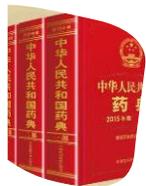
無菌檢查法

兩種方法：

- 膜過濾
 - (開放-) 漏斗法
 - 封閉概念法
- 直接接種法



“The technique of membrane filtration is used whenever the nature of the product permits (EP/USP)”



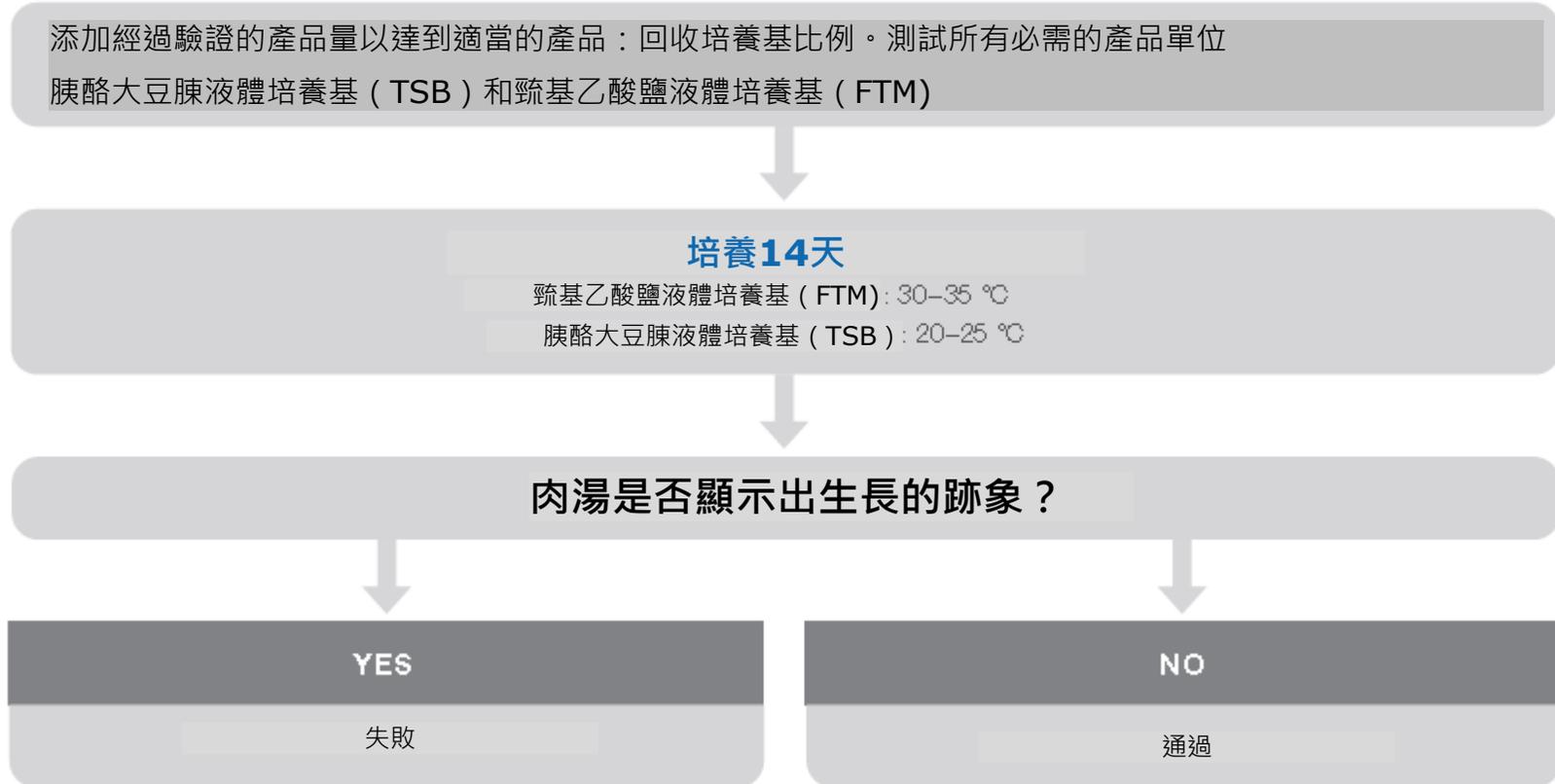
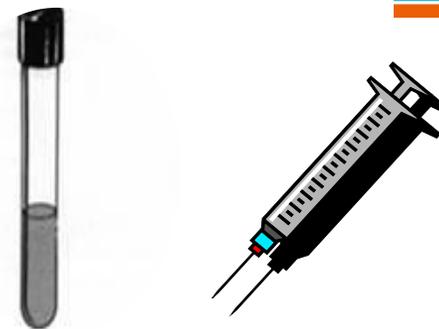
➤ 中國藥典2020版 4部 通則1101 無菌檢查法：

無菌檢查法包括薄膜過濾法和直接接種法。只要供試品性質允許，應採用薄膜過濾法。。

直接接種法

一般程式

- 無菌地將樣品直接轉移到培養基中
- 適用於無法用薄膜過濾法進行無菌檢查的供試品（如醫療器械）
- 樣品體積小於培養基體積的10%
- 如果產品具有抗菌活性：
 - 中和B&F效應後進行測試
 - 中和物質/稀釋



傳統無菌檢查法



直接接種法



抽取部分樣品



阴性 阳性

接種至試管培養

檢出率低
高風險

薄膜過濾法



無菌檢測系統全量過濾樣品



培養器培養

檢出率近
100%

薄膜過濾法：（開放-）漏斗法



轉移、過濾和沖洗



剪切過濾膜



把已切好的兩半片濾膜分別轉移到不同的肉湯中



培養14天

開放膜轉移=



假陽性風險

薄膜過濾法： 封閉式薄膜過濾器



供試品過濾

無菌檢查用的濾膜孔徑應不大於0.45µm，直徑約為50mm。根據供試品及其溶劑的特性選擇濾膜材質。使用時，應保證濾膜在過濾前後的完整性。

預潤濕步驟：“水溶性供試液過濾前應先將少量的沖洗液過濾，以潤濕濾膜.....”

沖洗步驟：“供試液經薄膜過濾後，若需要用沖洗液沖洗濾膜，每張濾膜每次沖洗量一般為100ml，且總沖洗量不得超過1000ml，以避免濾膜上的微生物受損傷。”

膜過濾器中加入液體培養基：

專性厭氧菌 兼性厭氧/微需氧菌 需氧菌 黴菌酵母菌 (真菌)

“硫乙醇酸鹽流體培養基主要用於厭氧菌的培養，也可用於需氧菌的培養..... 除另有規定外，硫乙醇酸鹽流體培養基置30~35°C培養。”

FTM



“胰酪大豆胨液體培養基用於真菌和需氧菌的培養..... 胰酪大豆胨液體培養基置20~25° C 培養。”

TSB



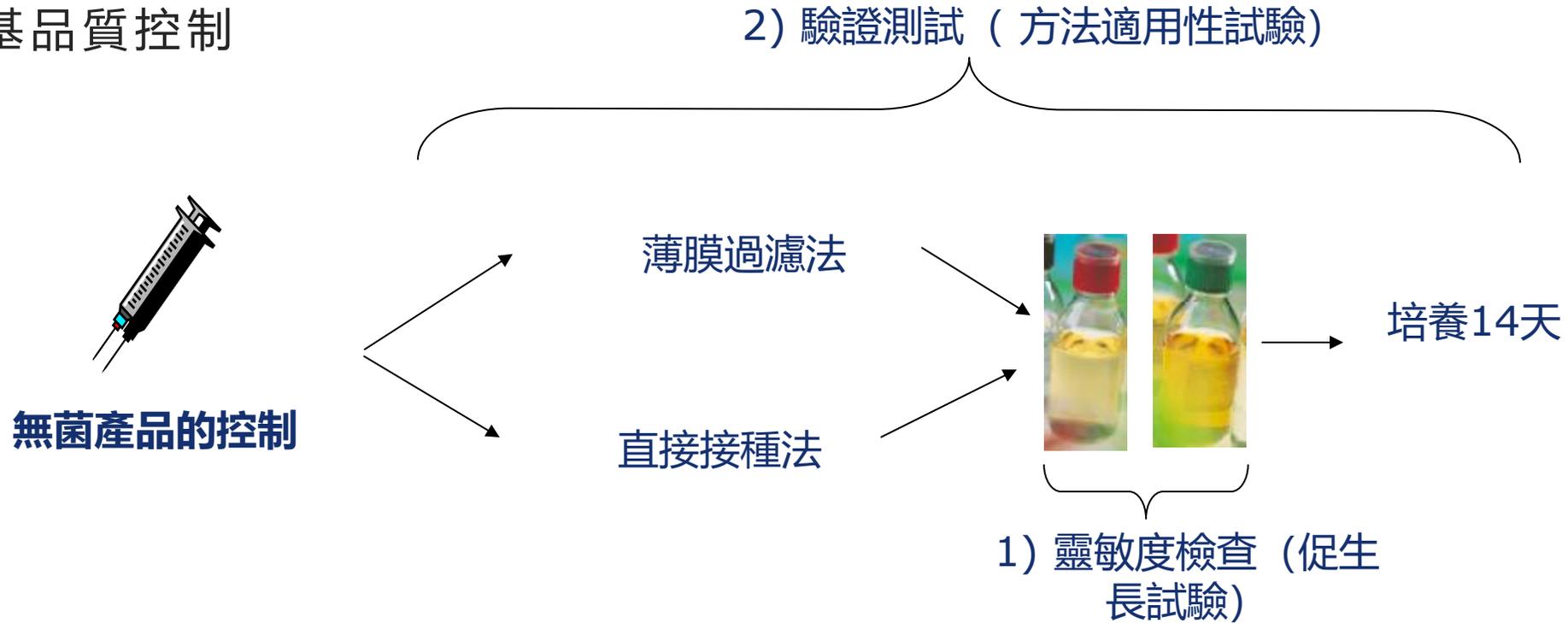
培養不少於14天
“應定期觀察並記錄是否有菌生長”

封閉式薄膜過濾器



無菌測試程式摘要

- 驗證方法：方法適用性測試
- 常規無菌測試：膜過濾
- 培養基品質控制



- 為了控制一個無菌產品：
- 1. 控制使用的培養基（靈敏度檢查）：TSB 和 FTM
- 2. 驗證測試（方法適用性試驗）：進行人工污染以證明方法適合於產品的無菌檢查
- 3. 最後常規使用該以驗證的無菌檢查法控制無菌產品

驗證測試 (方法適用性試驗)



EP 2.6.1 and USP <71>

目的:

“進行產品無菌檢查時，應進行方法適用性試驗，以確認所採用的方法適合於該產品的無菌檢查。若檢驗程式或產品發生變化可能影響檢驗結果時，應重新進行方法適用性試驗。”

流程:

以平行試驗(帶產品與不帶產品)，以人工污染促生長方法對比結果

薄膜過濾法:

“採用薄膜過濾法過濾，沖洗，在最後一次的沖洗液中加入不大於**100CFU**的試驗菌，過濾。加培養基至濾筒內”

直接接種法:

“分別接入不大於**100cfu**的.....

管。其中**1**管按供試品的無菌檢查要求，接入每支培養基規定的供試品接種量，另**1**管作為對照，置規定的溫度培養”

⇒ 測試菌株

(單獨測試)

Clostridium sporogenes (ATCC 11437)

Pseudomonas aeruginosa (ATCC 9027)

Staphylococcus aureus (ATCC 6538)

Bacillus subtilis (ATCC 6633)

Aspergillus brasiliensis (ATCC 16404)

Candida albicans (ATCC 10231)

FTM

TSB

培養 ≤ 5天
TSB at 20 – 25°C and FTM at 30-35°C

與對照管比較，如含供試品各容器中的試驗菌均生長良好，.....，照此檢查方法和檢查條件進行供試品的無菌檢查

新產品或產品發生變化可能影響檢驗結果時，應重新進行方法適用性試驗

方法適用性試驗：結果判斷？

1st 案例

不帶供試品的肉湯

帶供試品的肉湯

均生長良好

無菌測試方法通過驗證

2nd 案例

不帶供試品的肉湯

帶供試品的肉湯

生長良好

生長微弱、緩慢或不生張

無菌測試方法驗證不通過

“說明供試品的該檢驗量在該檢驗條件下有抑菌作用，應採用....等方法，消除供試品的抑菌作用，並重新進行方法適用性試驗”

培養基品質控制: 靈敏度檢查 (促生長試驗)

目的:

Objectives:

EP 2.6.1 and USP <71>: 'Test each batch of ready-prepared medium and each batch of medium prepared either from dehydrated medium or from ingredients.'

“無菌檢查用的硫乙醇酸鹽流體培養基和胰酪大豆朊液體 培養基等應符合培養基的無菌性檢查及靈敏度檢查的要求。

本檢查可在供試品的無菌檢查前或與供試品的無菌檢查同時進行。”

⇒ 流程: EP/USP

每批TSB分別接種菌株
≤100cfu各1支, 另1支
不接種作為空白對照



Bacillus subtilis (ATCC 6633)
Aspergillus brasiliensis (ATCC 16404)
Candida albicans (ATCC 10231)

TSB



20-25°C

培養條件: 細菌≤3天, 真菌≤5天
@20-25°C

每批FTM分別接種菌株
≤100cfu各1支, 另1支
不接種作為空白對照



Clostridium sporogenes (ATCC 19404)
Pseudomonas aeruginosa (ATCC 9027)
Staphylococcus aureus (ATCC 6538)

FTM



30-35°C

培養條件: 細菌≤3天, 真菌≤5天
@30-35°C

空白對照管應無菌生長, 若加菌的培養基管
均生長良好, 判該培養基的靈敏度檢查符合規定

供試品的無菌檢查：薄膜過濾法

目的：

EP 2.6.1 and USP <71>:

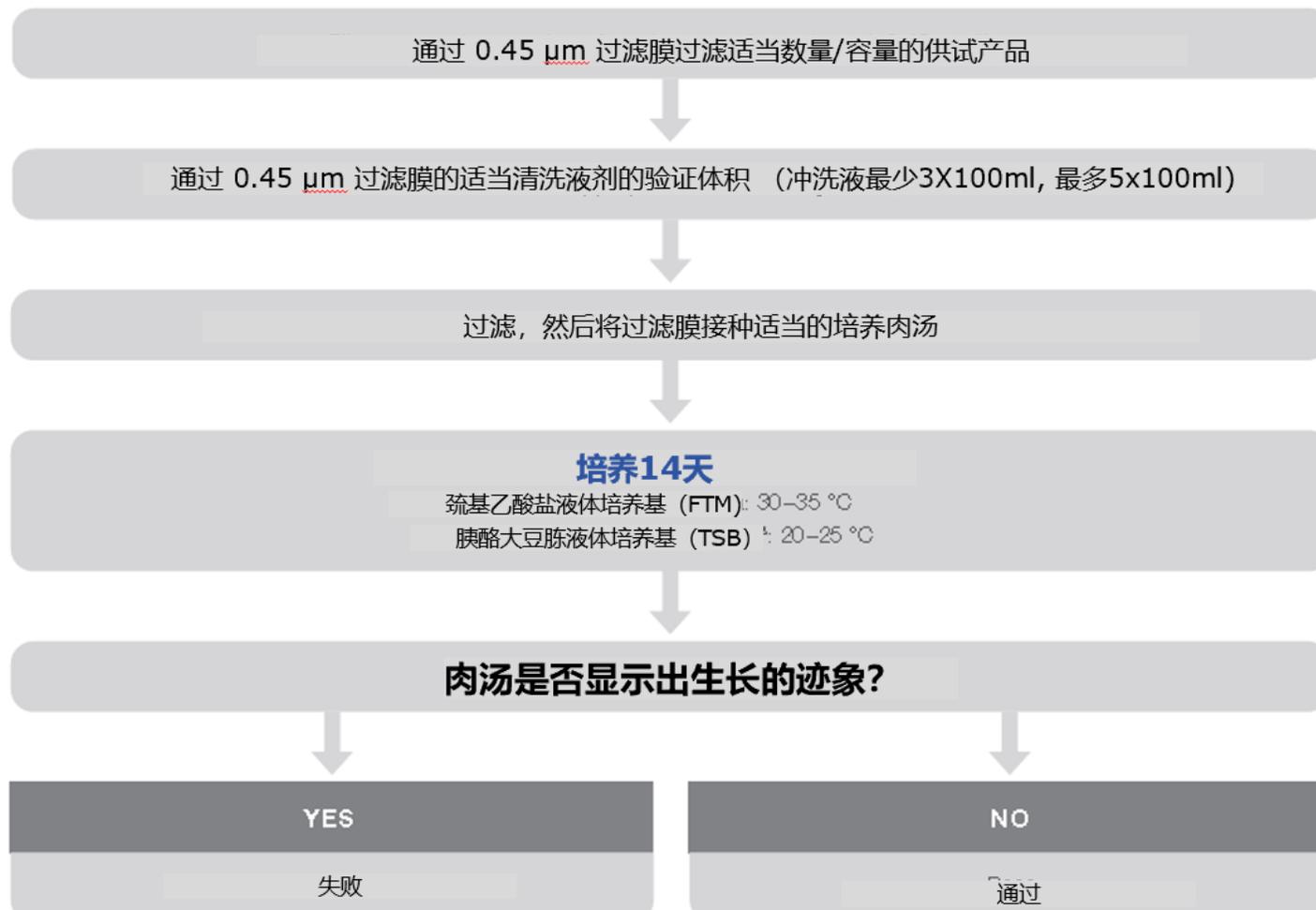
“無菌檢查法系用於檢查藥典要求無菌的藥品、生物製品、醫療器械、原料、輔料及其他品種是否無菌的一種方法。若供試品符合無菌檢查法的規定，僅表明了供試品在該檢驗條件下未發現微生物污染”

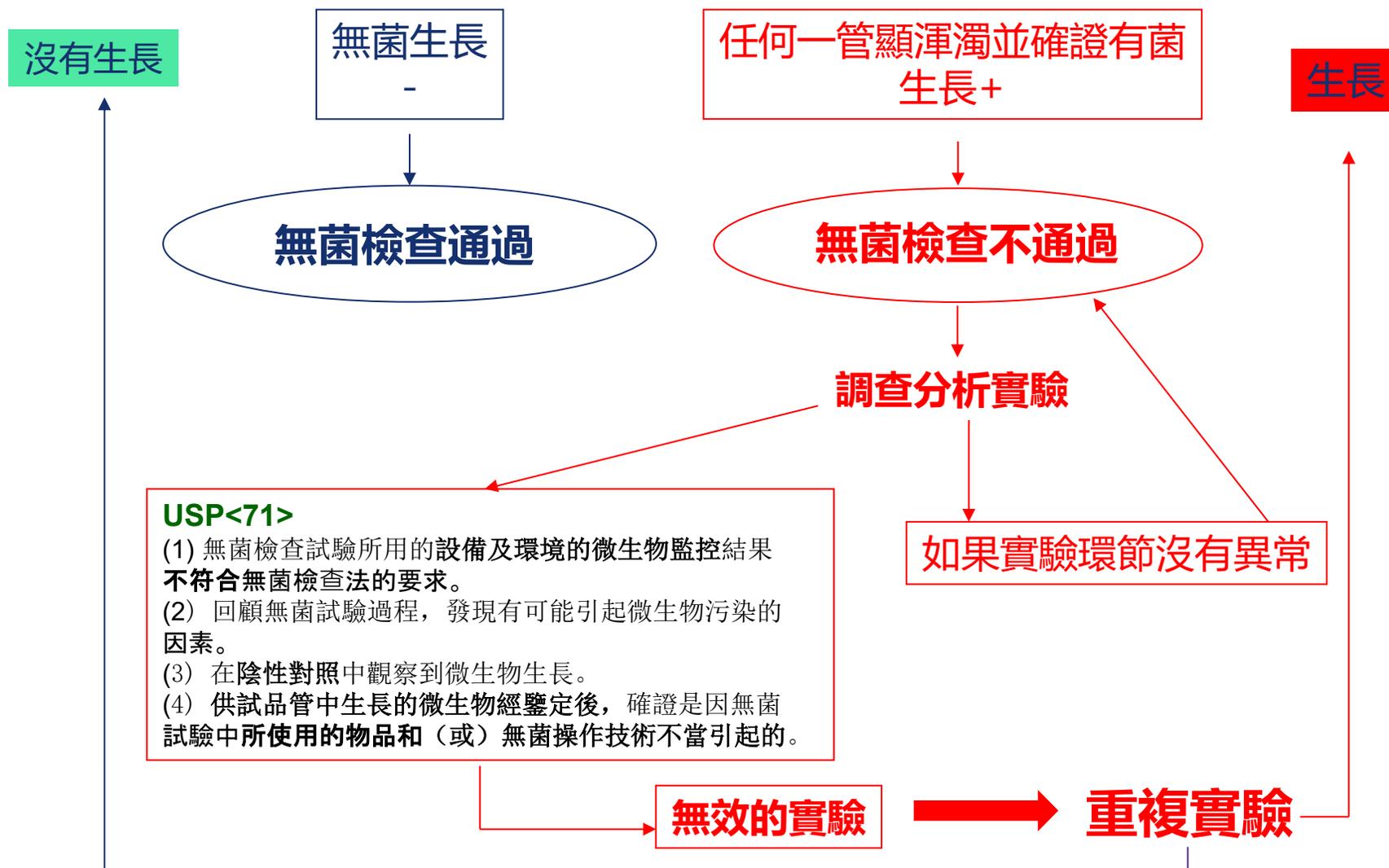
觀察和解釋結果

無菌檢查：膜過濾和直接接種：

在培養期的不同時間以及結束時，檢查培養基以尋找微生物生長的宏觀證據。如果所測試的材料使培養基變得混濁.....在培養開始後14天，將培養基的部分（每部分不少於1毫升）轉移到相同培養基的新容器中，然後將原始容器和轉移容器再培養不少於4天。

流程:





USP <71>: Sterility Tests :

“The test for sterility is carried out under aseptic conditions. In order to achieve such conditions, the test environment has to be adapted to the way in which the sterility test is performed. The precautions taken to avoid contamination are such that they do not affect any microorganisms that are to be revealed in the test.”

“無菌檢查應在無菌條件下進行，試驗環境必須達到無菌檢查的要求，檢驗全過程應嚴格遵守無菌操作，防止微生物污染，防止污染的措施不得影響供試品中微生物的檢出。”

USP <1208>: “Sterility testing - Validation of isolator systems”

“Isolators—devices that create controlled environments in which to conduct Pharmacopeial sterility tests—have been used since the mid-1980s. An isolator is supplied with air through a HEPA or better air filter and is able to be reproducibly decontaminated.”

“隔離器 — 在進行藥典無菌測試——已經自 1980 年代中期以來使用。向隔振器供應空氣通過 HEPA 或更好的空氣過濾器，並且能夠複製可靠去汙。



無菌檢查隔離系統分類

無菌檢查隔離系統：分類
Sterile isolation systems:
classification

- 硬艙體或軟艙體
Hard or soft cabins
- 層流型或紊流型
Laminar or turbulent
- 單面或雙面
Single or double face



單面硬艙層流無菌檢查隔離器
Single Hard cabins Laminar isolator



單面軟艙體無菌檢查隔離器
Single Soft cabins turbulent isolator



雙面硬艙層流無菌檢查隔離器
Double Hard cabins Laminar isolator



單面硬艙紊流無菌檢查隔離器
Single Hard cabins turbulent isolator

無菌檢查隔離系統：參考法規

| 關鍵參數 (Key parameters) | 參考法規 (Guidance) | 主要內容 (content) |
|-------------------------------------|---|---|
| 粒子 Total particles | GMP A grade | 0.5um≤3520 particles/m ³ 5um≤20 particles/m ³ |
| 浮游菌 Viable particle | GMP annex1 | 浮游菌，沉降菌，接觸菌應無生長。 Air sample, settle plates, contact plates and glove print should no growth. |
| 高效測試 HEPA test | ISO14644-3(2019); EN 13091:1999; EN 1822-1 | 高效洩漏率小於0.01%。 Leakage below 0.01%. |
| 洩漏率 leakage | PDA Technical Report No.34 | 制藥用隔離器，滅菌前需進行腔體洩漏測試，洩漏率≤0.5%。 Short duration test prior to decontaminate, criteria ≤0.5%, used for pharmaceutical field. |
| 壓差維持 Pressure difference | FDA Current Good Manufacturing Practice(2004); USP <1116> ;EU-GMP | 相鄰腔室壓差≥10Pa，隔離系統相對於背景環境保持20-50Pa正壓。 Adjacent room DP≥10Pa。 Against background DP from 20-50Pa and keep positive pressure. |
| 互鎖和報警 Interlock and alarm | PIC/S annex1 (2022) | 互鎖和報警需要滿足CCS策略設計。 Interlock and alarm designed for CCS strategy. |
| 風速及氣流模型 Airflow and flow pattern | GMP Annex1; ISO 14644-3(2019) | 單向流氣流需要檢測風速滿足0.36-0.54m/s，並且有可視化視頻記錄。 Unidirection flow suggestion range of 0.36-0.54m/s and take a visualization video. |
| 手套測試 Glove integrity | PIC/S annex1 (2022) | 至少需要在批次開始和結束階段進行手套測試。 The mini glove test frequency should at the begin and end of batch. |
| 訪問安全 Access security control | FDA part 11 | 電子記錄和電子簽名。 Electronic records, electronic signature. |

無菌檢查隔離系統關鍵功能設計

關鍵系統設計 (Key system design)

氣動系統
(Pneumatic system)

控制系統
(Control system)

通風系統
(Air system)

滅菌系統
(Sterilization system)

監控系統
(Monitoring system)

無菌檢查系統
(Sterility test system)

控制 (Control)

控制系統
(Control system)

執行 (execution)

氣動系統
(pneumatic system)

通風系統
(Air system)

功能(function)

滅菌系統
(Sterilization system)

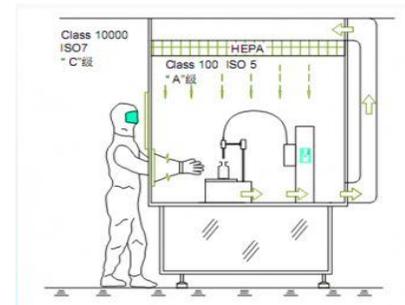
監控系統
(monitoring system)

手套測試系統
(Glove testing system)

無菌檢查系統
(Sterility test system)



隔離器(isolator)



工作(Working)

無菌檢查隔離系統應用-基本操作流程

放置物料



VHP滅菌



無菌檢查



打開艙門取出樣品



無菌檢測系統

無菌檢測系統是一種用於薄膜過濾法無菌檢查的專用裝置，該系統由集菌儀與集菌培養器組成。

原理：利用薄膜過濾法將檢品中的微生物截留在濾膜上，再灌裝培養基進行培養，通過觀察微生物生長跡象，判斷無菌檢查結果。

應用：主要用於注射用無菌製劑的無菌檢測，包括抗生素類及含有抑菌成份的藥品、大輸液、水針劑、滅菌醫療器具、無菌注射用水等。

- + 其他輔助配件如：振盪儀、安瓿瓶開啟器、回收管、回收管支架、培養器支架等。
- + 特定的產品檢測可能還需配合其他儀器，如氣霧劑收集儀。



集菌培養器

無菌檢查專用的薄膜過濾器。

性能特點

- + 採用**超聲波焊接工藝**，焊接平整牢固，達到**最佳密閉性能和超高耐壓能力**
- + 特種複合材料製造的高彈性泵管，**張力持久，耐磨抗壓**，能保證最大檢驗量過濾順利完成
- + 引進**歐洲CE標準環氧乙烷滅菌器及國際標準輻照滅菌**，可靠的滅菌驗證，確保無菌性能
- + 通過細菌挑戰實驗，微生物恢復生長及無菌測試，**確保無菌檢測結果真實可靠**



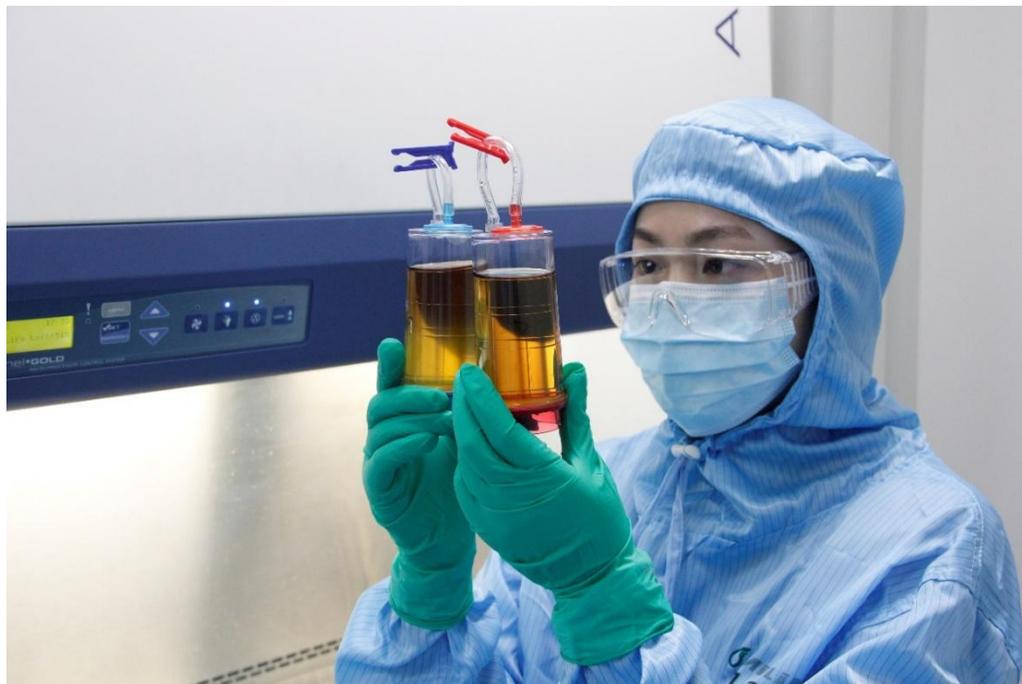
B

世界各地對快速微生物檢測方法的推進

1. 替代方法的驗證
2. 監管認可與法規更新



主要問題



● 培養基的局限性

- 培養條件（溫度、時間）為折中方案，30%無菌檢查失敗發生在第7-14天。
- 疫苗等生物製品易引起培養基渾濁，需轉種判讀。

● 主觀判讀風險

- 依賴人工觀察渾濁、菌膜、沉澱，缺乏客觀標準。

● 時效性問題

- 14天培養週期無法滿足短效期產品（如放射性藥物、細胞療法）的放行需求。

短效期產品



● EP Chapter 2.6.27 "Microbial Examination of cell-based Preparations"

- 本章專門涉及根據 EP 第 2.6.1 章不能進行無菌檢查的細胞製劑或產品
- “It may be carried out manually or using an automated system” (“它可以手動或使用自動化系統進行”)



● USP chapter <1071> Rapid Microbiological Methods for Detecting Contamination in Short-Life Products - A Risk-Based Approach” – Revised

- 更新示例技術以符合USP微生物學專家委員會的評估：ATP生物發光、核酸擴增、呼吸信號法和固相細胞計數。

替代方法驗證

● 目的

- 這些檔提供了關於選擇和實施檢測方法的指導，以作為藥典微生物方法的替代方案。
- 證明該方法是等效的，並且可以作為標準法典方法的替代使用



<1223> VALIDATION OF ALTERNATIVE MICROBIOLOGICAL METHODS

- 用於RMM的各種微生物驗證參數。
- 確定哪些標準適用於不同技術，基於測試類型



07/2017:50106
corrected 10.0



5.1.6. ALTERNATIVE METHODS FOR
CONTROL OF MICROBIOLOGICAL
QUALITY

- 一些可用的 RMM 概述以及它們如何用於藥品和工藝的微生物控制
- 有關如何選擇和驗證適當方法的指南

替代方法驗證 (有關方法分類與參數)



〈1223〉 VALIDATION OF ALTERNATIVE MICROBIOLOGICAL METHODS

Table 1. Validation Parameters by Type of Microbiological Test

| VALIDATION PARAMETER | QUALITATIVE TESTS | QUANTITATIVE TESTS |
|-----------------------------|-------------------|--------------------|
| Accuracy | No | Yes |
| Precision | No | Yes |
| Specificity | Yes | Yes |
| Limit of Detection | Yes | Yes |
| Limit of Quantification | No | Yes |
| Linearity | No | Yes |
| Operational (dynamic) range | No | Yes |
| Robustness | Yes | Yes |
| Repeatability | Yes | Yes |
| Ruggedness | Yes | Yes |
| Equivalency | Yes | Yes |

專屬性 (Specificity)



〈1223〉 VALIDATION OF ALTERNATIVE MICROBIOLOGICAL METHODS

- “defined as its ability to detect a range of challenge microorganisms specific to the technology. “Range of microorganisms” may be defined as a limited number of microorganisms representing risk to patient or product, microorganisms found in the manufacturing environment and product failures, microorganisms that are appropriate for measuring the effectiveness of the alternative method, and microorganisms that are representative in terms of morphological and physiological attributes appropriate for the method and the product”
- 其定義為檢測特定於該技術的一系列挑戰性微生物的能力。“微生物範圍”可以定義為代表對患者或產品風險的有限數量的微生物、存在於生產環境和產品故障中的微生物、適合於測量替代方法有效性的微生物，以及在形態和生理特徵方面適合該方法和產品的代表性微生物。

檢測限 (Limit of Detection, LOD)



<1223> VALIDATION OF ALTERNATIVE MICROBIOLOGICAL METHODS

- “defined as lowest number of microorganisms in a defined volume of sample that can be detected, but not necessarily quantified, under the stated experimental conditions. This should be conducted with the quality control organisms cited in Antimicrobial Effectiveness Testing <51>, Microbiological Examination of Nonsterile Products: Microbial Enumeration Tests <61>, Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms <62>, Mycoplasma Tests <63>, and Sterility Tests <71> as appropriate to the alternative method.”
- 被定義為在規定實驗條件下，可以檢測到但不一定能量化的特定體積樣品中微生物的最低數量。應使用抗微生物有效性測試<51>、非無菌產品的微生物檢查：微生物計數測試<61>、非無菌產品的微生物檢查：特定微生物的測試<62>、支原體測試<63>和滅菌測試<71>中引用的品質控制生物體，進行適當的替代方法。
- 驗證方法是在樣品中接種較低濃度的試驗菌（每單位不超過5CFU）進行檢驗，LOD值為1CFU或3CFU，接種量以藥典方法50%樣品可檢出為宜，按照泊松分佈基於生長的無菌檢查理論。
- 同一種試驗菌使用卡方或MPN 來評價差異。

耐用性 (Robustness)



〈1223〉 VALIDATION OF ALTERNATIVE MICROBIOLOGICAL METHODS

- “A capacity of the method to remain unaffected by small but deliberate variations in method parameters, e.g., reagent volume, incubation time, or ambient temperature providing an indication of its reliability during normal usage. A measure of robustness is not a comparison between the compendial and alternate methods; rather, it is a necessary component of validation of the alternate method so that the user understands the limits of the operating parameters of the method. The user may rely on data supplied by test method manufacturer.”
- 該方法的能力能夠在方法參數的小但故意變化（例如試劑體積、孵育時間或環境溫度）下不受影響，從而提供其在正常使用期間可靠性的一種指示。穩健性的衡量不是標準方法與替代方法之間的比較；相反，這是一種驗證替代方法的必要組成部分，以使用戶瞭解該方法操作參數的限制。用戶可以依賴測試方法製造商提供的數據。

重現性 (Ruggedness)



〈1223〉 VALIDATION OF ALTERNATIVE MICROBIOLOGICAL METHODS

- “The degree of precision of test results obtained by the analysis of the same samples under a variety of typical test conditions such as different analysts (for example, three), instruments, and reagent lots (the method for demonstration may follow instrument or materials supplier recommendations, or it could be based solely on data supplied by test method manufacturer).”
- 通過在各種典型測試條件下對相同樣本進行分析所獲得的測試結果的精確度，例如不同的分析人員（例如三名）、儀器和試劑批次（演示方法可以遵循儀器或材料供應商的建議，也可以僅基於測試方法製造商提供的數據）。



EUROPEAN
COMMISSION

GMP 附件 1：作為污染控制戰略一部分的快速/替代方法

- **2.1.i** Facility, equipment and process should be appropriately designed, qualified and/or validated and where applicable, subjected to ongoing verification according to the relevant sections of the Good Manufacturing Practices (GMP) guidelines. **The use of appropriate technologies** (e.g. Restricted Access Barriers Systems (RABS), isolators, robotic systems, **rapid/alternative methods and continuous monitoring systems**) **should be considered to increase the protection of the product** from potential extraneous sources of endotoxin/pyrogen, particulate and microbial contamination such as personnel, materials and the surrounding environment, **and assist in the rapid detection of potential contaminants in the environment and the product.**
- 2.1.i 設施、設備和工藝應經過適當設計、鑒定和/或驗證，並在適用的情況下，根據《良好生產規範》（GMP）指南的相關部分進行持續驗證。**應考慮使用適當的技術**（例如限制進入屏障系統（RABS）、隔離器、機器人系統、**快速/替代方法和連續監測系統**），**以增強對產品免受潛在外來內毒素/熱原、顆粒和微生物污染源（如人員、材料和周圍環境）的保護，並協助快速檢測環境和產品中的潛在污染物。**



GMP 附件 1：作為污染控制戰略一部分的快速/替代方法

- **9.28 The adoption of suitable alternative monitoring systems such as rapid methods should be considered by manufacturers in order to expedite the detection of microbiological contamination issues and to reduce the risk to product.** These rapid and automated microbial monitoring methods may be adopted after validation has demonstrated their equivalency or superiority to the established methods.
- **10.10 Environmental monitoring data and trend data generated for classified areas should be reviewed as part of product batch certification/release. A written procedure should be available that describes the actions to be taken when data from environmental monitoring are found out of trend or exceeding the established limits. For products with short shelf life, the environmental data for the time of manufacture may not be available; in these cases, the compliance should include a review of the most recent available data. Manufacturers of these products should consider the use of rapid/alternative methods.**
- **9.28 製造商應考慮採用合適的替代監測系統（如快速方法），以加快檢測微生物污染問題並降低產品風險。** 這些快速、自動化的微生物監測方法在驗證證明其與現有方法等效或優於現有方法後，可予以採用。
- **10.10 分類區域產生的環境監測數據和趨勢數據應作為產品批次認證/放行的一部分進行審查。應提供書面程式，描述當發現環境監測數據偏離趨勢或超過既定限度時應採取的行動。對於保質期較短的產品，可能無法獲得製造時的環境數據；在這種情況下，合規性應包括對最新可用數據的審查。這些產品的製造商應考慮使用快速/替代方法。**

EP 2.6.27 Microbiological examination of cell-based preparations

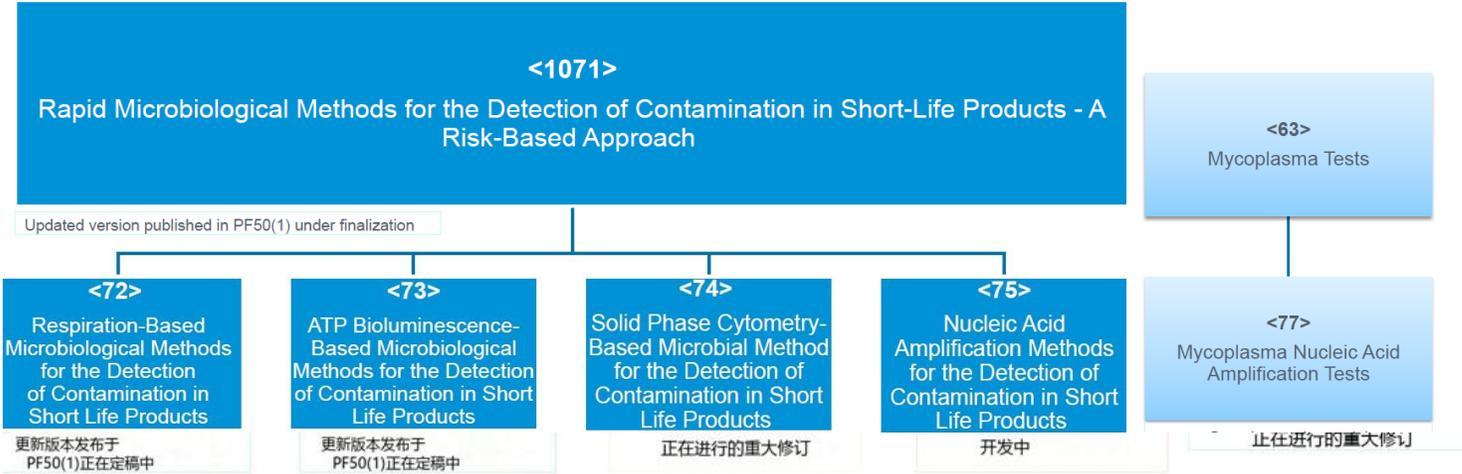
- 可採用以下的微生物檢驗方法：-
 - 基於生長的自動化檢查法
 - 預培養加 “EP 5.1.6微生物品質控制的替代方法” 的聯合檢測
 - 直接採用 “EP 5.1.6微生物品質控制的替代方法” 檢測
 - 基於通則 “EP 2.6.1 無菌檢查” 的無菌檢查法

Tab. 4 Possible temperature settings in automated culturing systems used alone or in combination with manual testing

| | 需氧培养 Aerobic incubation | 厌氧培养 Anaerobic incubation |
|-----------------|---|--------------------------------------|
| 选择 1 (Option 1) | 20 ~ 25 °C 自动培养系统 (automated system), 如需要 (If necessary) 30 ~ 35 °C 自动培养系统 (automated system) | 30 ~ 35 °C 自动培养系统 (automated system) |
| 选择 2 (Option 2) | 35 ~ 37 °C 自动培养系统 (automated system); * 如有相关, 附加低温培养 (人工法) [Where relevant, additional incubation at a lower temperature (manual method)] | 35 ~ 37 °C 自动培养系统 (automated system) |
| 选择 3 (Option 3) | 30 ~ 32 °C 自动培养系统 (automated system) | 30 ~ 32 °C 自动培养系统 (automated system) |
| 选择 4 (Option 4) | 30 ~ 32 °C 自动培养系统 (automated system) | 35 ~ 37 °C 自动培养系统 (automated system) |

注: * 如有相关, 附加培养温度为 20 ~ 30 °C。可采用商品化微生物培养基培养, 或自动化系统的需氧培养罐或 TSB (Where relevant, incubate in addition at a temperature between 20 °C and 30 °C. Incubation can be performed using commercially available microbiological media, either aerobic bottles intended for automated systems or casein soya bean digest broth)。

法規與監管認可 美國藥典更新



• 傳統方法不適用於壽命短、供應有限、需求緊急的產品

- 先進治療藥物 (ATMP)
- 複方無菌製劑
- 核醫學產品

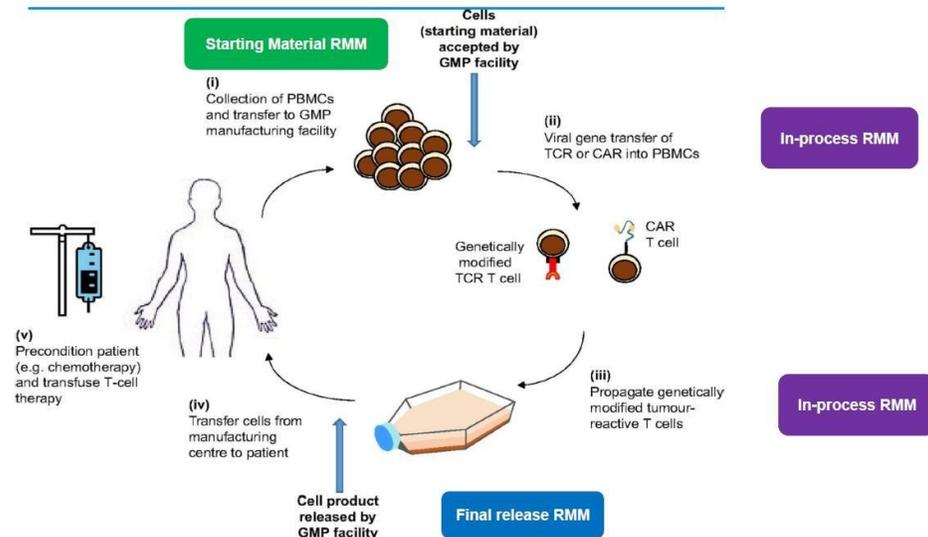
• 快速微生物方法提供:

- 減少測試時間
- 減少樣品量要求
- 可能的自動化
- 提高靈敏度和準確性

• 技術的選擇應基於風險

• 應用 <72> 和 <73> 驗證時
工作量可能會減少

Use of RMM in Ex Vivo Cell Therapies





檢測微生物生長信號(全自動無菌檢查培養系統)



1. 傳統藥品無菌檢查現狀與挑戰
2. 全自動無菌檢查培養系統儀器介紹
3. 無菌快檢系統——功能與特點
4. 驗證數據
5. 傳統方法 vs 無菌快檢系統
6. 應用案例

傳統藥品無菌檢查現狀

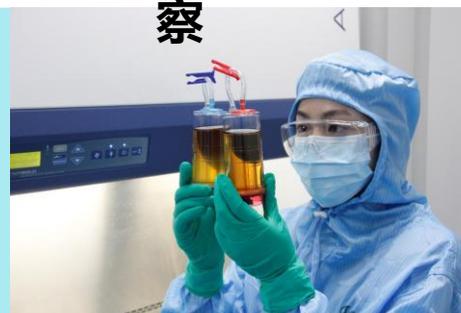
● 操作



● 培養



● 觀察



● 記錄

无...的适用性检查记录

培养基: 1. 硫乙醇酸盐液体培养基 检验日期: _____
 2. 改良马丁培养基 批号: _____ 完成日期: _____

以上均为符合药典规定的干热培养基, 由北京三药科技开发公司生产, 中国药品生物制品检定所监制。

一、培养基的无菌性检查

培养基: 硫乙醇酸盐液体培养基 _____℃ 改良马丁培养基 _____℃

| 培养基名称 | 管数 | 培养时间(天) | | | | | | | | | | | | | | 备注 |
|-------|----|---------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | |
| 1 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 8 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 9 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 11 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 13 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 14 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 结论 | | | | | | | | | | | | | | | | |

注: "+"为生长, "-"为不生长

手工操作

- 過於依賴於個人經驗
- 過程繁瑣
- 重現性差

判讀方式

- 目視觀察
- 易受干擾
- 容易遺漏與出錯

數據產生

- 手工記錄
- 追溯性差
- 數據量少
- 難以發現變化趨勢

傳統無菌檢查存在挑戰——判讀易受干擾

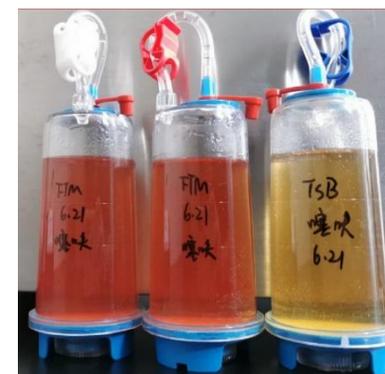
● 濁度檢品



➤ 氫氧化鋁佐劑



➤ 乳劑檢品



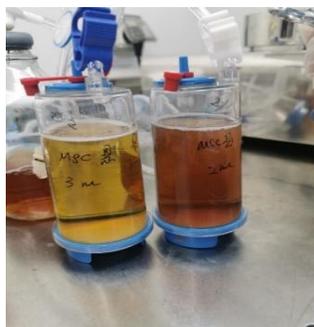
➤ 油劑檢品

傳統無菌檢查存在挑戰——判讀易受干擾

● 其他易誤判檢品



➤ 易著色檢品



➤ 細胞懸液檢品



➤ 不溶雜質檢品



➤ 沉在底部

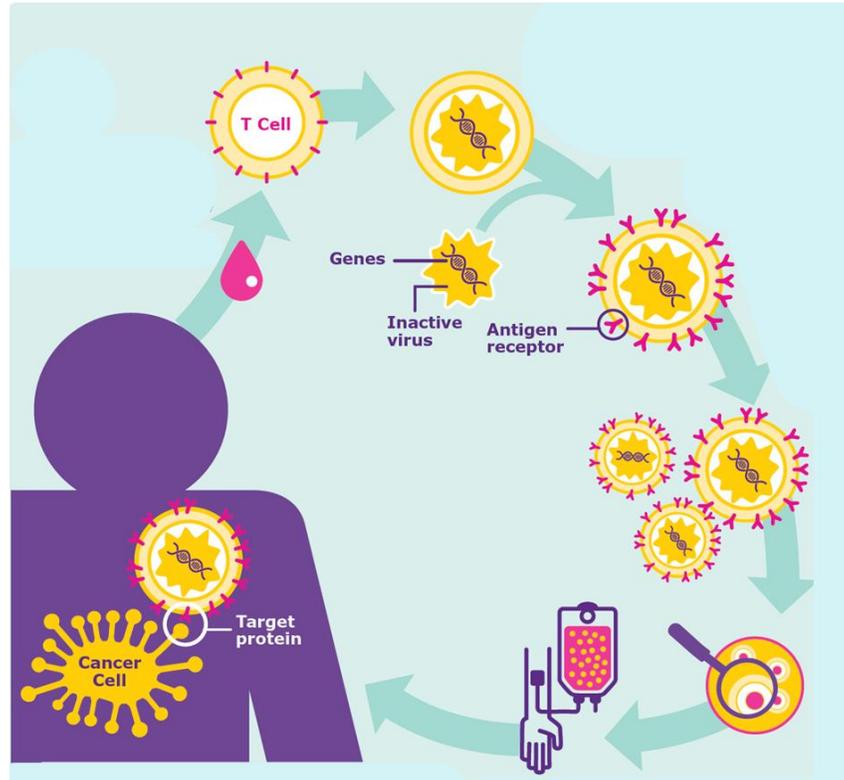


➤ 生在膜上

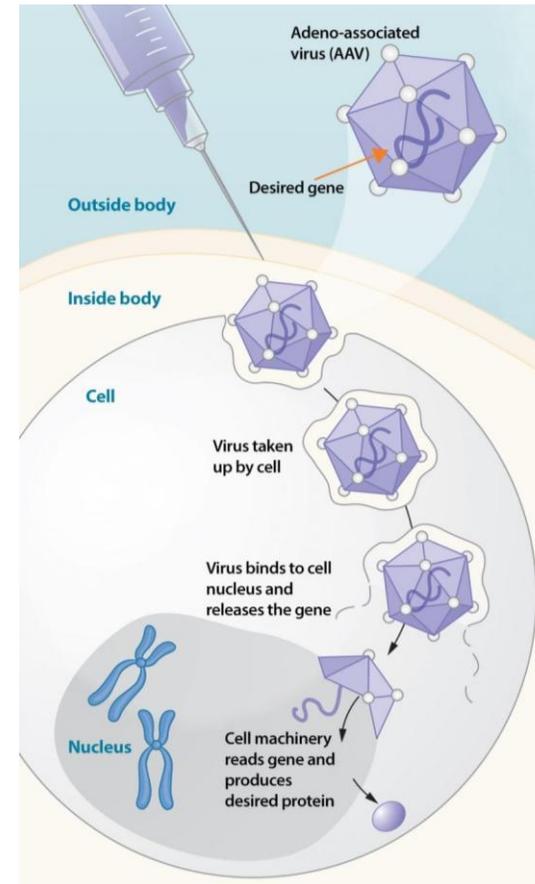
傳統無菌檢查存在挑戰——短貨架期產品放行

細胞基因治療產品（CGT）品質控制與傳統藥物有幾個顯著不同：

- 細胞和基因治療產品存在工藝差異大、產量少、效期短、無法終端滅菌、臨床需求緊迫等特殊性的，現有的藥典方法難以適用。



CAR-T 療法圖



病毒基因治療概述

USP: 1071 Rapid Microbial Tests for Release of Sterile Short-Life Products: A Risk-Based approach “无菌短保质期产品放行的快速微生物检测： 基於風險的方法”



推薦方法（呼吸信號法）

呼吸信號法是基於檢測**微生物生長信號**的儀器方法，採用商品化全自動微生物培養系統，通過儀器即時監測微生物生長代謝產生的二氧化碳引起的培養瓶內反應底物的**顯色**或**螢光變化**信號，或培養瓶**頂空壓力**變化信號，**結合目視觀察**，判定供試品中有無微生物生長。

Add the following:

▲ 〈72〉 RESPIRATION-BASED RAPID MICROBIAL METHODS FOR THE RELEASE OF SHORT SHELF LIFE PRODUCTS

INTRODUCTION

Growth-based methods derived from *Sterility Tests* 〈71〉 with detection signals other than visible signs of microbial growth or precipitation within the media (i.e., turbidity, pellicle formation, or floccular growth) have been widely used to test blood cultures, gene- and cell-therapy products, and vaccines. The instrumentation used in these respiratory methods was derived from blood culture in clinical settings and relied on the use of colorimetric sensors, fluorometric sensors, changes in headspace composition or pressure.

The primary advantages of these growth-based methodologies are 1) the broad equivalency to the compendial method with a low limit of detection (nominally 1 colony-forming unit [cfu]) and 2) the progressive monitoring of the media for early detection of microbial growth. Further benefits include the direct inoculation of cultures without interference from product-related turbidity and the automated data analysis, acquisition, reporting, and archiving. Disadvantages include the inability to detect microorganisms that do not grow under the culture conditions utilized and limitations due to sample size, which are also limitations of the sterility test in 〈71〉. Like all growth-based methods, the incubation times are longer than those for non-growth-based modern methods but considerably shorter than the 〈71〉 requirement of at least 14 days.

USP: 72 基於呼吸的微生物學方法檢測短壽命產品中的污染

全自動無菌檢查培養系統

01

3室雙溫區處理300個檢品
(直接接種法)



02

3室雙溫區處理180個檢品
(直接接種/膜過濾法)



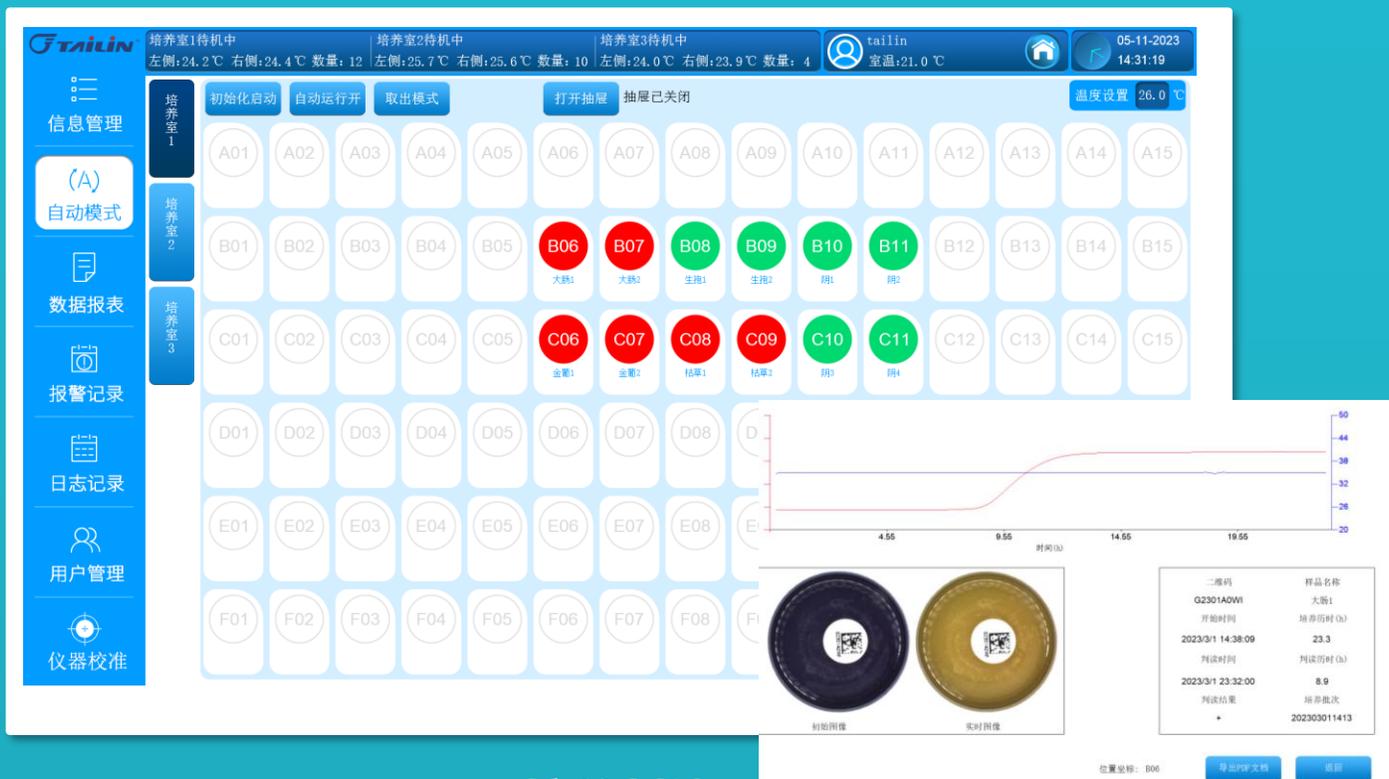
03

2室雙溫區處理80個檢品
(直接接種法)



全自動無菌檢查培養系統

● 結果觀察



➤ 培養判讀



➤ 培養瓶顏色圖片

配套耗材

● 無菌檢查培養瓶-直接接種法



無菌檢查培養瓶

| 规格型号 | | CSTM-01 | CSTM-02 | CSTM-03 | CSTM-04 |
|---------|----------|---------|---------|---------|---------|
| 是否含吸附树脂 | | | | ● | ● |
| 适用范围 | 需氧微生物培养 | ● | | ● | |
| | 厌氧微生物培养 | | ● | | ● |
| | 含抗生素供试品 | | | ● | ● |
| | 不含抗生素供试品 | ● | ● | | |

無菌檢查培養瓶規格型號

配套耗材

● 無菌檢查培養瓶-培養效果



無菌檢查培養瓶



無菌檢查培養瓶



藍色 → 黃色

變色過程



FTM陰 大腸 生孢 金葡 銅綠 TSB陰 枯草 白念 黑曲



FTM陰 大腸 生孢 金葡 銅綠 TSB陰 枯草 白念 黑曲



FTM陰 大腸 生孢 金葡 銅綠 TSB陰 枯草 白念 黑曲

5天的培養效果

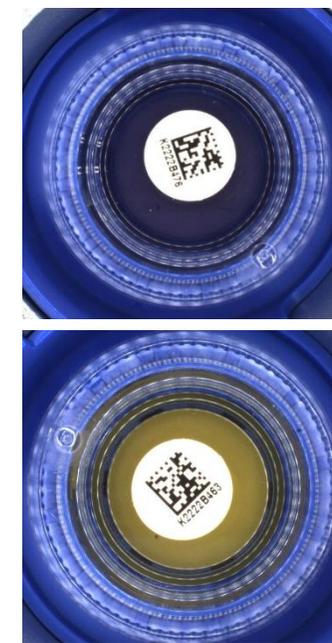
配套耗材

● 薄膜過濾器-薄膜過濾法

- 國際**首創**之濾杯顯色感應器技術，解決現有無菌快檢技術樣品接種量小、適用範圍窄的問題。
- 樣品溶解、稀釋、過濾富集、濾膜沖洗等前處理過程與藥典方法相一致。



微生物生長感應器



指示劑

配套耗材

● 薄膜過濾器-培養效果



薄膜過濾器



檢測感應器



藍色 → 黃色

變色過程



FTM陰 大腸 生孢 金葡 銅綠 TSB陰 枯草 白念 黑曲



FTM陰 大腸 生孢 金葡 銅綠 TSB陰 枯草 白念 黑曲

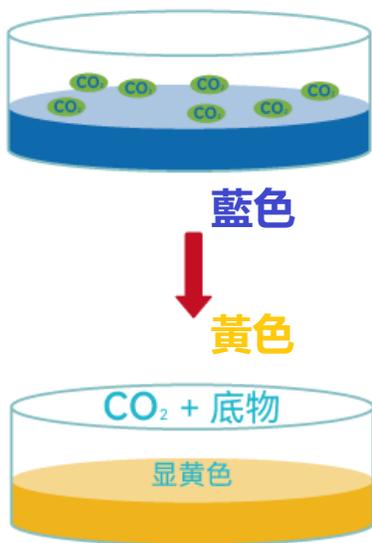


FTM陰 大腸 生孢 金葡 銅綠 TSB陰 枯草 白念 黑曲

5天的培養效果

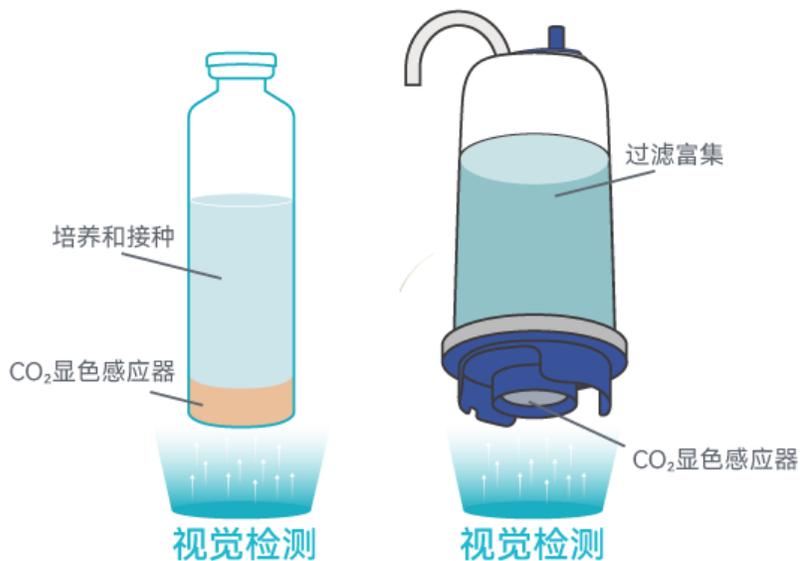
全自動無菌檢查培養系統——原理介紹

● 底物顯色技術



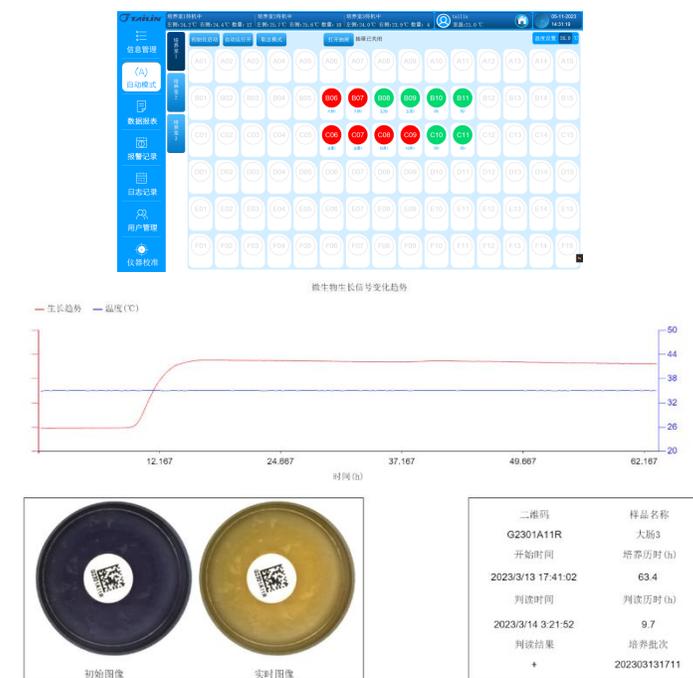
生物感應器原理

活體微生物生長產生CO₂，結合感應器底物，發生顏色變化，顏色變化不可逆



计算机视觉检测系统原理

- 干擾少
- 靈敏度高

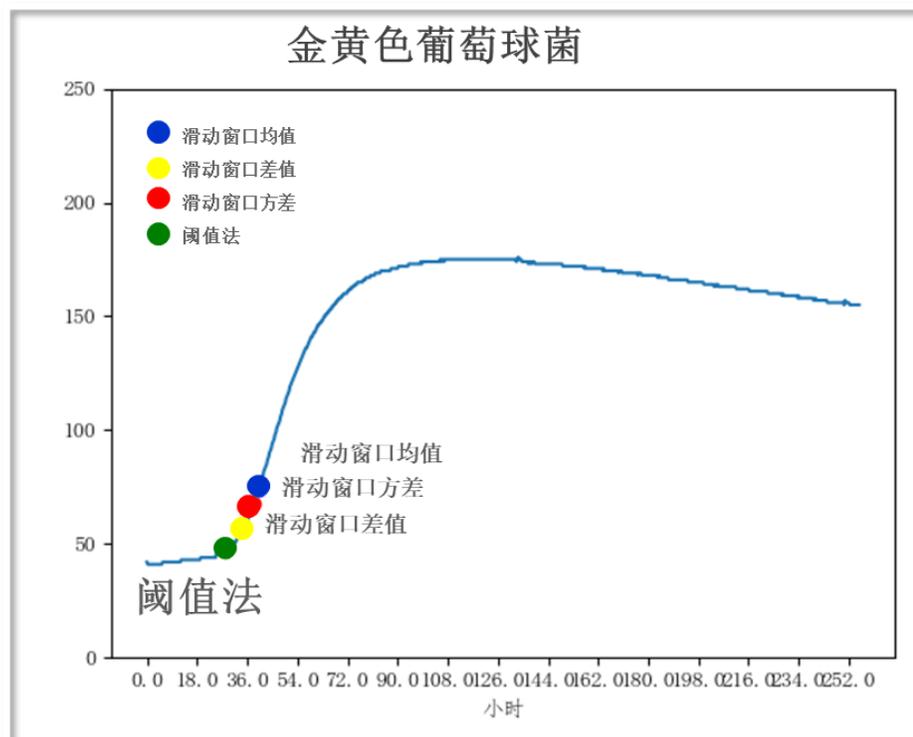


顏色變化對應微生物生長信號

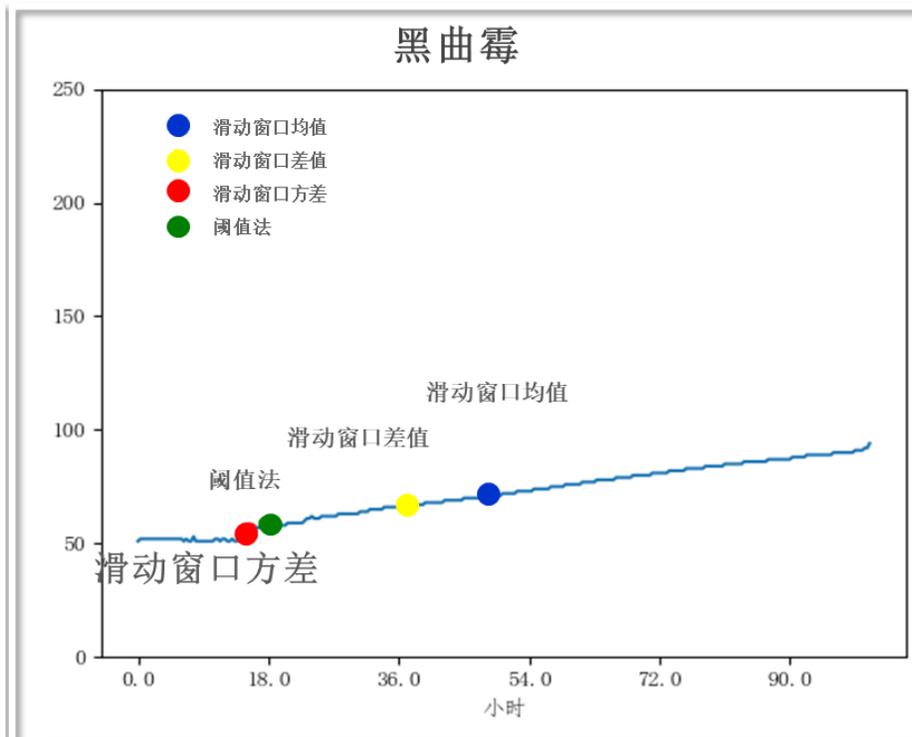
AST無菌快檢系統——功能與特點

● 智能演算法，自動判讀

Staphylococcus aureus ATCC 6538



Aspergillus brasiliensis ATCC 16404



- 序列分析判讀演算法：一種自主研發的改進版CUSUM演算法，在利用累加和序列分析曲線變化趨勢的同時，通過自適應迭代參數估計法擬合曲線分佈參數，做到適配任意菌種生長曲線，結合大量實驗數據得到的最優參數下，實現快速、精準的自動化結果判讀。

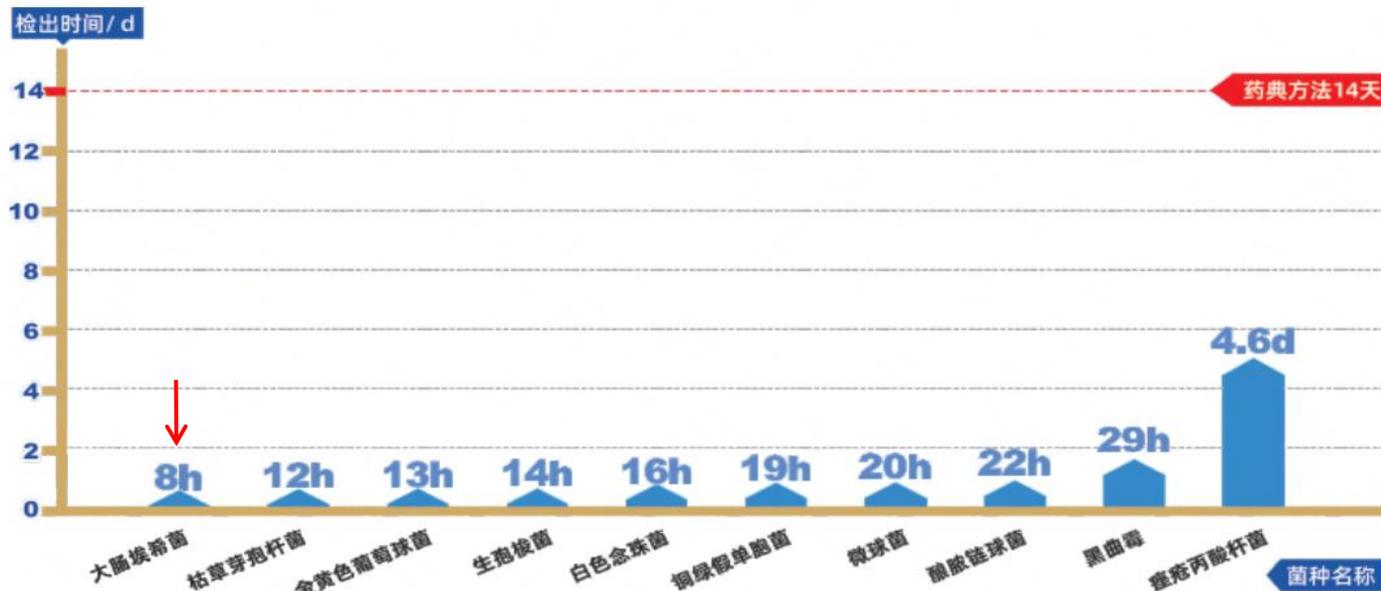
無菌快檢系統——功能與特點



● 動態連續監測，快速得到結果

最快**8個小時**★即可獲得陽性判讀結果

(傳統無菌檢查≥14天)



| 試驗菌種 | 試驗菌液的製備 |
|---------------------|---|
| 黑麴黴/A.niger | 沙氏葡萄糖瓊脂斜面培養基或馬鈴薯葡萄糖瓊脂培養基, 20~25°C, 5~7天 |
| 巴西麴黴/A.brasiliensis | |
| 釀膿鏈球菌/S.pyogenes | 胰酪大豆胨液體培養基, 30~35°C, 2~3天 |
| 微球菌/Micrococcus | 胰酪大豆胨液體培養基, 30~35°C, 3~4天 |
| 痤瘡丙酸桿菌/P. acnes | 硫乙醇酸鹽液體培養基, 30~35°C, 6~7天 |

| 試驗菌種 | 試驗菌液的製備 |
|----------------------------|-----------------------------------|
| 金黃色葡萄球菌/S.aureus | 胰酪大豆胨 液體/瓊脂 培養基, 30~35°C, 18~24小時 |
| 銅綠假單胞桿菌/ P. areoginosa | |
| 枯草芽孢桿菌/ B.cereus | |
| 大腸埃希菌/ E.coli | 硫乙醇酸鹽液體培養基, 30~35°C, 18~24小時 |
| 生孢梭菌/C. sporia | |
| 白色假絲酵母菌 (白色念珠菌)/C.albicans | 沙氏葡萄糖 液體/瓊脂培養基, 20~25°C, 2~3天 |

➤ 團標 T/SHA 012-2022 細胞和基因治療產品快速無菌檢查法的驗證技術要求

無菌快檢系統——功能與特點



- 滿足GMP電腦系統驗證要求



無菌快檢系統——功能與特點



- 多溫區設置，滿足廣譜培養條件



每個培養室可分別設置30~37°C
高溫培養和20~25°C低溫培養。

★ 黃枝孢菌、聚多黴黴、擴展青黴等低溫微生物有效檢出。

無菌快檢系統——功能與特點

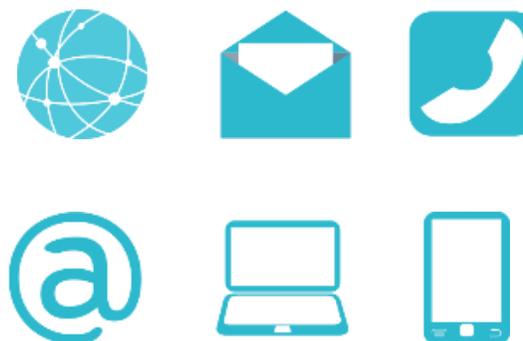


● 遠程通知報警



業務通知和報警通知：

支持短信、電話、郵件等形式的移動
端移動端即時資訊通知即時資訊通知



無菌快檢系統——介面展示

● 帳戶與許可權



登錄畫面

| | 名称 | 密码 | 组 | 自动退出登录 | |
|----|---------------|-------|---------------------|-------------|--|
| 1 | Administrator | ***** | Administrator-Group | 在未活动 15 分钟后 | |
| 2 | Tail | ***** | Administrator-Group | 在未活动 15 分钟后 | |
| 3 | meng | ***** | Administrator-Group | 在未活动 15 分钟后 | |
| 4 | Cong | ***** | Technician | 在未活动 15 分钟后 | |
| 5 | ShiRui | ***** | Operator | 在未活动 15 分钟后 | |
| 6 | Tailin | ***** | Super | 否 | |
| 7 | Zhufi | ***** | Administrator-Group | 否 | |
| 8 | | | | | |
| 9 | | | | | |
| 10 | | | | | |
| 11 | | | | | |
| 12 | | | | | |
| 13 | | | | | |
| 14 | | | | | |
| 15 | | | | | |
| 16 | | | | | |
| 17 | | | | | |
| 18 | | | | | |
| 19 | | | | | |
| 20 | | | | | |

就绪 tailin Super 13:43:32

组列表 编辑 添加 删除 更改密码

用戶管理

無菌快檢系統——介面展示

● 自動模式介面

TAILIN 培养室1摇床运行中等待下一轮采集 | 培养室2待机中 | 培养室3待机中
 左侧: 35.0 °C 右侧: 35.0 °C 数量: 12 | 左侧: 19.5 °C 右侧: 19.2 °C 数量: 0 | 左侧: 18.3 °C 右侧: 18.3 °C 数量: 0 | tailin 室温: 17.6 °C | 03-02-2023 11:30:01

初始化启动 | 自动运行 | 打开抽屉 | 抽屉已关闭 | 温度设置 35.0 °C

| 培养室 | A01 | A02 | A03 | A04 | A05 | A06 | A07 | A08 | A09 | A10 | A11 | A12 | A13 | A14 | A15 |
|-------|-----|-----|-----|-----|-----|------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|-----|-----|-----|-----|
| 培养室 1 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 培养室 2 | B01 | B02 | B03 | B04 | B05 | B06 大肠1 | B07 大肠2 | B08 生孢1 | B09 生孢2 | B10 阴1 | B11 阴2 | B12 | B13 | B14 | B15 |
| 培养室 3 | C01 | C02 | C03 | C04 | C05 | C06 金葡1 | C07 金葡2 | C08 枯草1 | C09 枯草2 | C10 阴3 | C11 阴4 | C12 | C13 | C14 | C15 |
| | D01 | D02 | D03 | D04 | D05 | D06 | D07 | D08 | D09 | D10 | D11 | D12 | D13 | D14 | D15 |
| | E01 | E02 | E03 | E04 | E05 | E06 | E07 | E08 | E09 | E10 | E11 | E12 | E13 | E14 | E15 |
| | F01 | F02 | F03 | F04 | F05 | F06 | F07 | F08 | F09 | F10 | F11 | F12 | F13 | F14 | F15 |

信息管理
 (A) 自动模式
 数据报表
 报警记录
 日志记录
 用户管理
 仪器校准

激活 Windows 转到“设置”以激活 Windows.

無菌快檢系統——介面展示

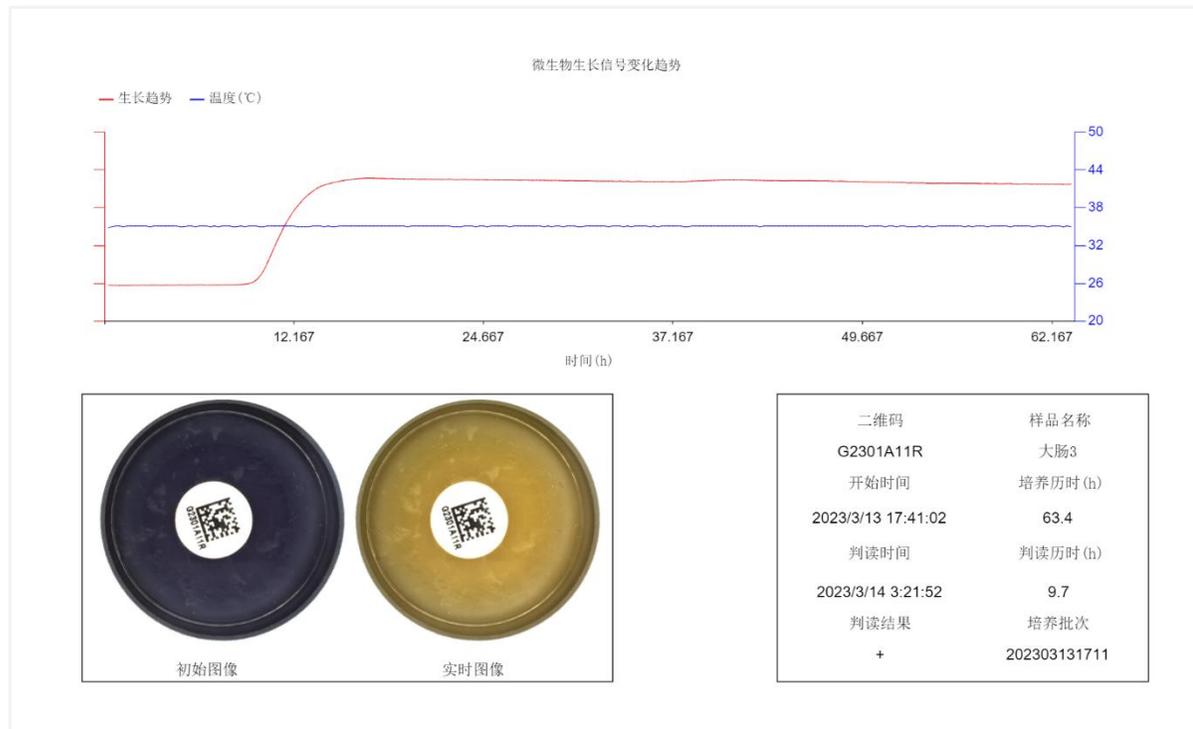
● 審計追蹤

| Date Time (Local time zone) | Category ID | Target Name | Modification ID | Application User |
|-----------------------------|----------------------|------------------------------------|-----------------|-----------------------------------|
| 202 2023/3/29 14:24:36 | Alarm (RT) | 查看培养基3温度报表 | Insert | tailin |
| 203 2023/3/29 14:23:43 | Alarm (RT) | 查看培养基2温度报表 | Insert | tailin |
| 204 2023/3/29 14:18:52 | Alarm (RT) | 培养基2打开抽屉 | Insert | tailin |
| 205 2023/3/29 14:18:12 | Alarm (RT) | 培养基2打开抽屉 | Insert | tailin |
| 206 2023/3/29 14:17:16 | Alarm (RT) | 培养基3开启自动运行 | Insert | tailin |
| 207 2023/3/29 14:17:16 | Alarm (RT) | 培养基3自动运行开启 | Insert | tailin |
| 208 2023/3/29 14:15:59 | Alarm (RT) | 培养基3初始化启动 | Insert | tailin |
| 209 2023/3/29 14:15:58 | Alarm (RT) | 培养基3初始化启动 | Insert | tailin |
| 210 2023/3/29 14:11:18 | Alarm (RT) | CR3_Para.TempSet: tailin 新=45 旧=22 | Insert | tailin |
| 211 2023/3/29 14:11:17 | Electronic Signature | 培养基3自动模式.pd[输入/输出域4]01612 | Insert | [ID:1003] \SUPER - [ID:15] TAILIN |
| 212 2023/3/29 14:11:07 | Electronic Signature | 培养基3自动模式.pd[输入/输出域4]01612 | Insert | [ID:1002] \OPERATOR - [ID:0] |
| 213 2023/3/29 14:10:20 | Alarm (RT) | 培养基2自动运行关闭 | Insert | tailin |
| 214 2023/3/29 14:09:35 | Alarm (RT) | 查看培养基3温度报表 | Insert | tailin |
| 215 2023/3/29 14:09:34 | Alarm (RT) | 查看培养基2温度报表 | Insert | tailin |
| 216 2023/3/29 14:09:33 | Alarm (RT) | 查看培养基3温度报表 | Insert | tailin |
| 217 2023/3/29 14:06:59 | Alarm (RT) | 查看培养基2温度报表 | Insert | tailin |
| 218 2023/3/29 13:53:48 | User Admin (RT) | User Login | Execute | tailin |
| 219 2023/3/29 13:34:44 | User Admin (RT) | Automatic Logout | Execute | tailin |
| 220 2023/3/29 13:19:42 | Alarm (RT) | 培养基2开启自动运行 | Insert | tailin |
| 221 2023/3/29 13:19:42 | Alarm (RT) | 培养基2自动运行开启 | Insert | tailin |
| 222 2023/3/29 13:19:20 | Alarm (RT) | 培养基2初始化启动 | Insert | tailin |
| 223 2023/3/29 13:19:18 | Alarm (RT) | 培养基2初始化启动 | Insert | tailin |
| 224 2023/3/29 13:19:08 | Alarm (RT) | CR2_Para.TempSet: tailin 新=42 旧=22 | Insert | tailin |
| 225 2023/3/29 13:19:07 | Electronic Signature | 培养基2自动模式.pd[输入/输出域4]01462 | Insert | [ID:1003] \SUPER - [ID:15] TAILIN |
| 226 2023/3/29 13:18:50 | Alarm (RT) | 培养基2打开抽屉 | Insert | tailin |
| 227 2023/3/29 13:18:47 | Alarm (RT) | 培养基2自动运行关闭 | Insert | tailin |
| 228 2023/3/29 13:18:32 | User Admin (RT) | User Login | Execute | tailin |
| 229 2023/3/29 12:05:18 | User Admin (RT) | Automatic Logout | Execute | tailin |
| 230 2023/3/29 11:50:15 | Alarm (RT) | 进入系统 | Insert | tailin |
| 231 2023/3/29 11:50:13 | User Admin (RT) | User Login | Execute | tailin |
| 232 2023/3/29 11:49:46 | User Admin (RT) | User Login | Execute | tailin |
| 233 2023/3/29 11:26:00 | User Admin (RT) | Automatic Logout | Execute | tailin |
| 234 2023/3/29 11:10:53 | Alarm (RT) | 进入系统 | Insert | tailin |
| 235 2023/3/29 11:10:53 | User Admin (RT) | User Login | Execute | tailin |
| 236 2023/3/29 11:01:51 | User Admin (RT) | User Login | Execute | tailin |
| 237 2023/3/29 11:00:24 | User Admin (RT) | Automatic Logout | Execute | tailin |
| 238 2023/3/29 10:31:33 | Alarm (RT) | 进入系统 | Insert | tailin |
| 239 2023/3/29 10:31:32 | User Admin (RT) | User Login | Execute | tailin |
| 240 2023/3/29 10:31:32 | User Admin (RT) | User Logout | Execute | shirui |
| 241 2023/3/29 10:28:42 | User Admin (RT) | User Login | Execute | shirui |
| 242 2023/3/29 10:28:17 | User Admin (RT) | Automatic Logout | Execute | shirui |
| 243 2023/3/29 10:25:15 | Alarm (RT) | 进入系统 | Insert | shirui |
| 244 2023/3/29 10:25:15 | Alarm (RT) | 用户登录成功 | Insert | shirui |
| 245 2023/3/29 10:25:15 | User Admin (RT) | User Login | Execute | shirui |

活動記錄

無菌快檢系統——介面展示

● 報告



圖文報表



溫度報表

- 系統支持生成相關的報告，報告內容包含足夠的資訊（如樣品名稱；批號；用戶名；報告生成時間；過程數據；趨勢圖；報警；審計追蹤等）

智能相機校準



三種顏色校準瓶

放入指定校準孔位



TECHLEAD AST-300

培养室1相机校准 | 培养室2相机校准 | 培养室3相机校准

标准瓶: 绿色, 蓝色, 黄色

出厂標準值: 23.75, 32.89, 154.83

實測校準值: 28.91, 39.83, 196.53

所測值偏差: 0.00, 0.00, 0.00

合格判定: 0.03%, 0.78%, 0.51%

合格

校準介面

泰林医疗器械 设备编号: AST-300

| 全自动无菌检查培养系统AST-300校准报告 | | | | | | | | | | | |
|------------------------|---------------------|--------|--------|-------|--------|--------|----------|---------|----------|-----|--------|
| 开始时间 | 2023-04-04 15:56:07 | | | | | | | | | | |
| 结束时间 | 2023-04-04 16:44:28 | | | | | | | | | | |
| 时间 | 标准瓶1 | 标准瓶2 | 标准瓶3 | 标准瓶1 | 标准瓶2 | 标准瓶3 | 初始值偏差(%) | 线性偏差(%) | 中校值偏差(%) | 结果 | 操作人 |
| 2023-04-04 15:56:07 | 95.10 | 172.38 | 196.53 | 55.02 | 172.67 | 197.12 | 0.15 | 0.47 | 0.11 | 合格 | tailin |
| 2023-04-04 15:59:36 | 95.10 | 172.38 | 196.53 | 54.18 | 175.37 | 196.79 | 1.67 | 0.83 | 1.70 | 合格 | tailin |
| 2023-04-04 16:03:22 | 95.10 | 172.38 | 196.53 | 54.94 | 173.88 | 197.42 | 0.29 | 0.74 | 0.46 | 合格 | tailin |
| 2023-04-04 16:09:04 | 95.10 | 172.38 | 196.53 | 53.94 | 173.98 | 196.35 | 4.10 | 1.47 | 1.24 | 合格 | tailin |
| 2023-04-04 16:12:35 | 95.10 | 172.38 | 196.53 | 54.24 | 174.64 | 196.66 | 1.56 | 0.70 | 1.33 | 合格 | tailin |
| 2023-04-04 16:16:20 | 95.10 | 172.38 | 196.53 | 53.30 | 173.07 | 198.51 | 3.27 | 2.67 | 0.37 | 合格 | tailin |
| 2023-04-04 16:18:54 | 95.10 | 172.38 | 196.53 | 53.30 | 173.07 | 198.51 | 3.27 | 2.67 | 0.37 | 合格 | tailin |
| 2023-04-04 16:26:52 | 95.10 | 172.38 | 196.53 | 28.91 | 39.83 | 196.15 | 47.53 | 18.25 | 76.23 | 不合格 | tailin |
| 2023-04-04 16:30:22 | 28.91 | 39.83 | 196.53 | 28.98 | 40.06 | 195.68 | 0.10 | 1.68 | 1.12 | 合格 | tailin |
| 2023-04-04 16:32:45 | 28.91 | 39.83 | 196.53 | 28.22 | 39.95 | 196.27 | 2.39 | 0.29 | 2.00 | 合格 | tailin |
| 2023-04-04 16:34:50 | 28.91 | 39.83 | 196.53 | 29.67 | 39.80 | 196.53 | 2.63 | 0.46 | 1.83 | 合格 | tailin |
| 2023-04-04 16:37:00 | 28.91 | 39.83 | 196.53 | 28.49 | 39.59 | 197.91 | 1.45 | 1.07 | 0.16 | 合格 | tailin |
| 2023-04-04 16:40:31 | 28.91 | 39.83 | 196.53 | 28.22 | 40.80 | 195.18 | 2.39 | 0.39 | 4.36 | 合格 | tailin |
| 2023-04-04 16:44:28 | 28.91 | 39.83 | 196.53 | 28.92 | 39.72 | 197.85 | 0.03 | 0.78 | 0.51 | 合格 | tailin |

校準報告

21CFR Part 11符合性

| | |
|--|--|
|   | 文件标题/Document Title 电子记录和电子签名 21CFR Part 11 符合性报告 Electronic Records & Electronic Signature 21CFR Part 11 Compliance Report |
| | 系统名称/System name 全自动无菌检查培养系统/Automatic Sterility Test Culture System |
| | 型号/Type AST-300 |
| 文件编号/版本/Doc. No./Version: _____ 页码/Page: 1 / 37 | |
| <p>电子记录和电子签名</p> <p>21CFR Part 11 符合性报告</p> <p>Electronic Records & Electronic Signature</p> <p>21CFR Part 11 Compliance Report</p>  <p>6.ER&ES 21CFR Part 11</p> | |

無菌檢查判讀自動化技術應用

全自動無菌檢查培養系統

TECHLEAD ASTS



- 國際**首創**之濾杯顯色感應器技術，解決現有無菌快檢技術樣品接種量小、適用範圍窄的問題。
- 樣品溶解、稀釋、過濾富集、濾膜沖洗等前處理過程與藥典方法相一致。

無菌檢查培養系統不同型號區別

| 類別 | 產品 | | |
|-----------|--|--|--|
| 適用無菌檢查法 | 直接接種法 | 薄膜過濾法/兩種都可 | 直接接種法 |
| 適用範圍 | 檢品批量較多的CGT藥物、放射性等短效期藥物，疫苗、血清等生物製品 | 適用膜過濾法的樣品，例如抗生素、大容量注射劑、能引起濁度干擾的疫苗佐劑、油劑、乳劑等檢品 | 檢品批量相對較小的CGT、放射性等短效器藥物，疫苗等產品品 |
| 培養室數量及總容量 | 3室雙溫區，300個 | 3室雙溫區，180個 | 2室雙溫區，80個 |
| 溫度控制 | 獨立控溫，溫度範圍20-45°C | | |
| 適用耗材 | 培養瓶  | 培養器  | 培養瓶  |
| 判讀方式 | 自動 | 自動/支持人工觀察 | 自動 |

全自動無菌檢查培養系統驗證



專屬性



檢出限



重現性



耐用性

驗證參數



藥典平行實驗 (等效性確認)



適用性

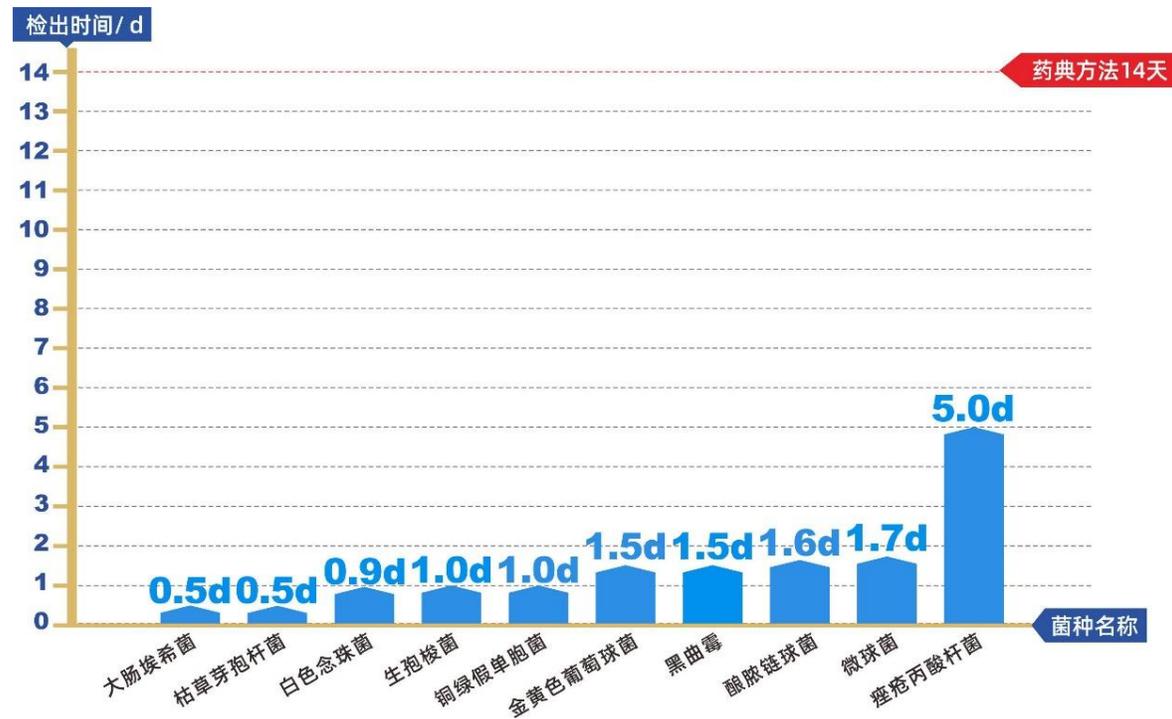
全自動無菌檢查培養系統驗證

● 驗證結果-專屬性

專屬性

| | 上機測試 | 藥典方法 |
|--------|------|------|
| 藥典質控菌株 | 100% | 100% |
| 環境菌株 | 100% | 100% |

➤ 判讀數據



全自動無菌檢查培養系統驗證

● 驗證結果-檢出限

| | 檢出限 | 上機測試 | 藥典方法 |
|--------|---------------------------|-------------|-------------|
| 藥典質控菌株 | $\leq 5\text{cfu}$ | 100% | 100% |
| 環境菌株 | $\leq 5\text{cfu}$ | 100% | 100% |
| 總體要求 | 計數平均結果 $\leq 5\text{cfu}$ | \geq 藥典方法 | $\geq 50\%$ |

全自動無菌檢查培養系統驗證

● 驗證結果-重現性/耐用性

| 重現性實驗統計表 | | |
|----------|--------|------|
| 控制參數 | 變數 | 結果 |
| 操作人員 | 操作員1 | PASS |
| | 操作員2 | PASS |
| | 操作員3 | PASS |
| 培養瓶批號 | 211001 | PASS |
| | 211002 | PASS |
| | 211003 | PASS |

| 耐用性實驗統計表 | | |
|----------|--------|------|
| 控制參數 | 變數 | 結果 |
| 溫度 | +2°C | PASS |
| | -2°C | PASS |
| 接種量 | +1ml | PASS |
| | -0.5ml | PASS |

生物疫苗製品

- 具有生物活性，無法進行終端滅菌
- 生產環境嚴格，產量大，需及時發現污染，降低成本
- 生產工藝複雜多樣性化，需要更精準的生產過程品質控制
- 疫苗佐劑類輔料引起濁度干擾，需自動化檢測技術降低肉眼誤判風險
- 連續化、自動化的生產工藝，需匹配更快的無菌檢測技術



應用案例(全自動無菌檢查培養系統180MF)



適用於薄膜過濾法的全自動無菌檢查培養系統

全自动无菌快检系统验证报告



1) 方法適用性試驗

流程:

以平行試驗(帶產品與不帶產品)
以人工污染促生長方法對比結果

薄膜過濾法:

“採用薄膜過濾法過濾，沖洗，在最後一次的沖洗液中加入不大於100CFU的試驗菌，過濾。加培養基至濾筒內”

菌落计数结果 (cfu)

| 菌名 | 金黄色葡萄球菌 | 大肠埃希菌 | 生孢梭菌 | 枯草芽孢杆菌 | 白色念珠菌 | 黑曲霉 |
|----|---------|-------|------|--------|-------|-----|
| 1 | 39 | 49 | 44 | 48 | 44 | 71 |
| 2 | 36 | 26 | 51 | 33 | 57 | 74 |
| 平均 | 38 | 38 | 48 | 40 | 50 | 72 |

樣品：醋酸曲安奈德注射液

⇒ 测试菌株
(单独测试)

生孢梭菌 (CMCC(B) 64 941)
金黄色葡萄球菌 (CMCC(B) 26 003)
大肠埃希氏菌 (CMCC(B) 44 102)
枯草芽孢杆菌 (CMCC (B) 63 501)
白色念珠菌 (CMCC(F) 98 001)
黑曲霉 (CMCC(F) 98 003)

FTM

TSB

培养 ≤ 5天

TSB at 20 - 25°C and FTM at 30-35°C

与对照管比较，如含供试品各容器中的试验菌均生长良好，……，照此检查方法和检查条件进行供试品的无菌检查

新产品或产品发生变化可能影响检验结果时，应重新进行方法适用性试验

不带供试品的肉汤

带供试品的肉汤

均生长良好

无菌测试方法通过验证

醋酸曲安奈德注射液无菌检查适用性试验结果

| 菌名/ 时间 (天) | 硫乙醇酸盐流体培养基 | | | 胰酪大豆胨液体培养基 | | |
|------------------|------------|-------|------|------------|-------|-----|
| | 金黄色葡萄球菌 | 大肠埃希菌 | 生孢梭菌 | 枯草芽孢杆菌 | 白色念珠菌 | 黑曲霉 |
| 1 | + | + | + | - | - | - |
| 2 | + | + | + | + | + | - |
| 3 | + | + | + | + | + | + |
| 4 | + | + | + | + | + | + |
| 5 | + | + | + | + | + | + |

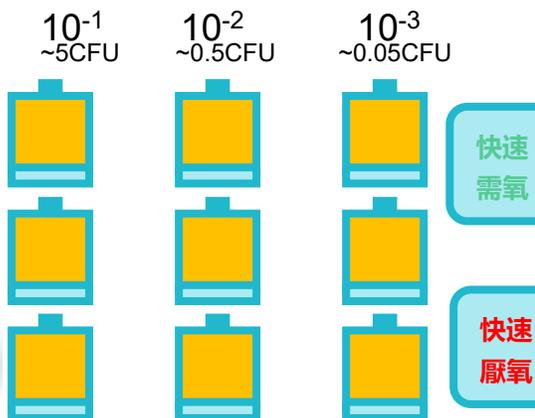
(5) 结论

在每膜接种 1 ml 供试品，冲洗 200 ml/膜的无菌检验条件下，各试验菌生长情况与对照管比较，均生长良好，在检测限验证试验中采用该无菌检查方法。

全自动无菌快检系统验证报告

快檢組 (AST-180MF)
每個加標3組

藥典組 (ChP1101)
每個加標3組



微生物检测限参数验证

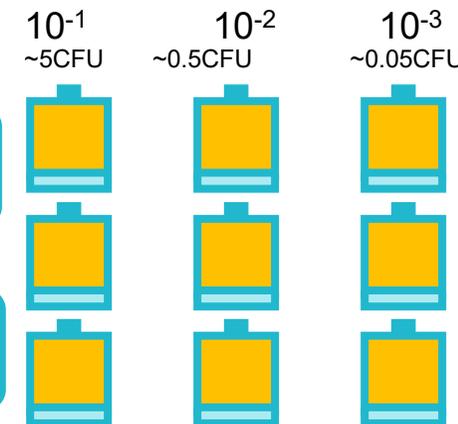
#樣品: 醋酸曲安奈德注射液

枯草芽孢桿菌 (CMCC (B) 63 501)
白色念珠菌 (CMCC(F) 98 001)
黑麴黴 (CMCC(F) 98 003)

TSB

生孢梭菌 (CMCC(B) 64 941)
金黄色葡萄球菌 (CMCC(B) 26 003)
銅綠假單胞菌 (CMCC(B) 10 104)

FTM



2、对上述快检组和药典组检测限实验中阳性结果分别查询 FDA 网站 MPN 表进行最大可能数 (MPN) 与 95%置信区间统计

| 组别 | 快检组 | | | MPN | 95%置信区间 | | 药典组 | | | MPN | 95%置信区间 | |
|---------|-----|------------------|------------------|-----|------------------|-----|------|------------------|------------------|-----|------------------|-----|
| | 稀释级 | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | | 10 ⁻³ | low | high | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | | 10 ⁻³ | low |
| 金黄色葡萄球菌 | 9 | 2 | 1 | 41 | 18 | 95 | 9 | 2 | 0 | 34 | 15 | 78 |
| 大肠埃希菌 | 9 | 0 | 0 | 23 | 10 | 52 | 9 | 2 | 0 | 34 | 15 | 78 |
| 生孢梭菌 | 9 | 4 | 0 | 55 | 23 | 130 | 9 | 2 | 1 | 41 | 18 | 95 |
| 枯草芽孢杆菌 | 9 | 1 | 0 | 28 | 12 | 63 | 9 | 1 | 0 | 28 | 12 | 63 |
| 白色念珠菌 | 5 | 1 | 1 | 10 | 4.6 | 21 | 5 | 3 | 1 | 13 | 6.7 | 26 |
| 黑曲霉 | 9 | 3 | 0 | 43 | 18 | 100 | 9 | 2 | 0 | 34 | 15 | 78 |

#已通過方法適用性試驗

全自动无菌检查 培养系统验证数据

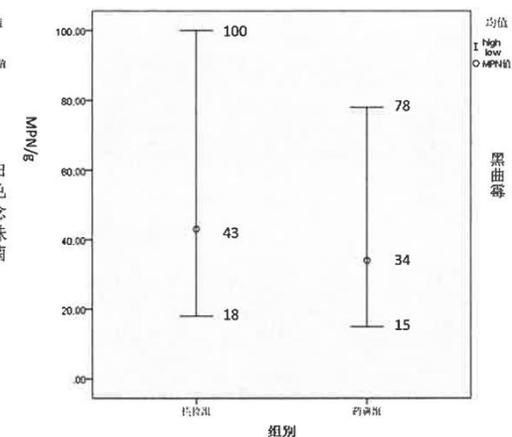
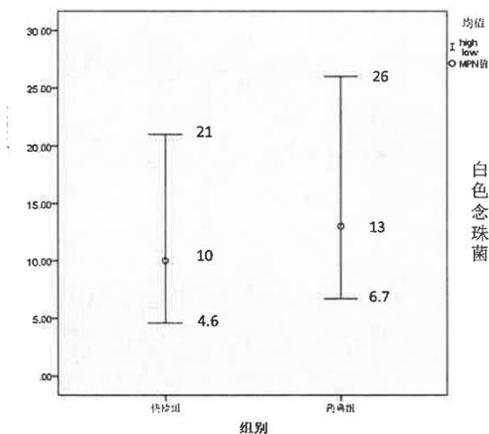
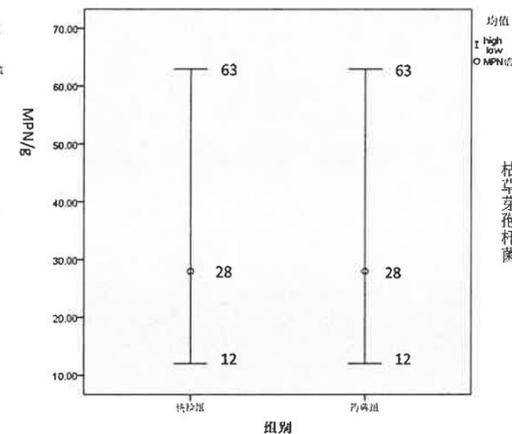
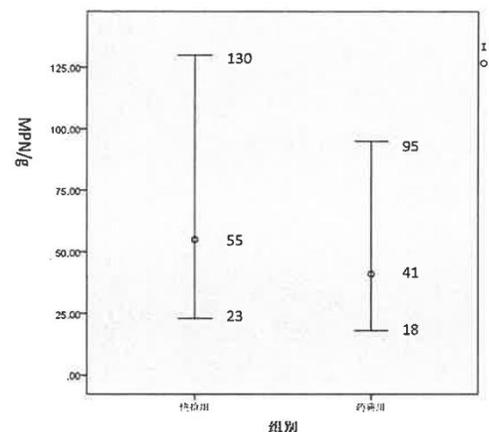
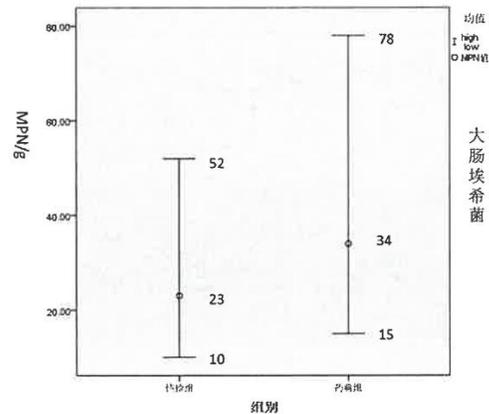
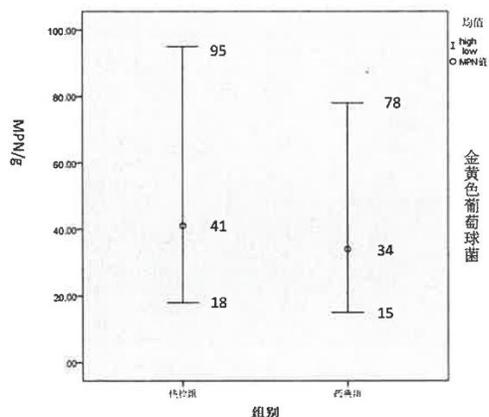
全自动无菌快检系统验证报告

微生物检测限参数验证



3、对上述每株试验菌在快检组和药典组中的各检测限最大可能数（MPN）和 95%置

信区间用图标表述



五、试验结论

试验结果表明，针对醋酸曲安奈德注射液，采用基于呼吸法的无菌快速检验方法与中国药典方法的最可能数置信区间重叠，两种方法的检测限不存在显著差异。该无菌快速检验方法的原理是基于微生物生长过程中释放的呼吸因子进行感应，从而判定培养管中微生物的存在与否。这一方法在应用于醋酸曲安奈德注射液等难溶性、混悬型药物的无菌检查时，展现出了显著的优势，能够有效弥补传统药典无菌检查方法中因药物特性导致无法直接通过目视判定微生物污染的不足。

應用案例

放射性藥品

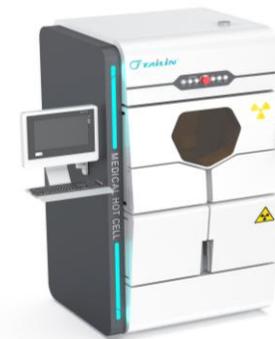
- 使用傳統的膜過濾技術檢測癌症藥物非常困難，因為藥物很容易吸附在膜上並且不容易去除
- 因此，許多此類藥品都通過直接接種進行測試
- 放射性藥物的無菌檢測存在一些問題
- 在產品放行之前通常無法獲得無菌測試結果
- 如果物質具有高度放射性，並且需要進行無菌測試，則通常需要對無菌測試進行修改。



應用案例(放射性藥品全自動無菌檢測工作站) ：自動無菌檢查操作系統



一次性檢品容量為15瓶的自動無菌檢查操作系統



• 样品与耗材在线数量检测

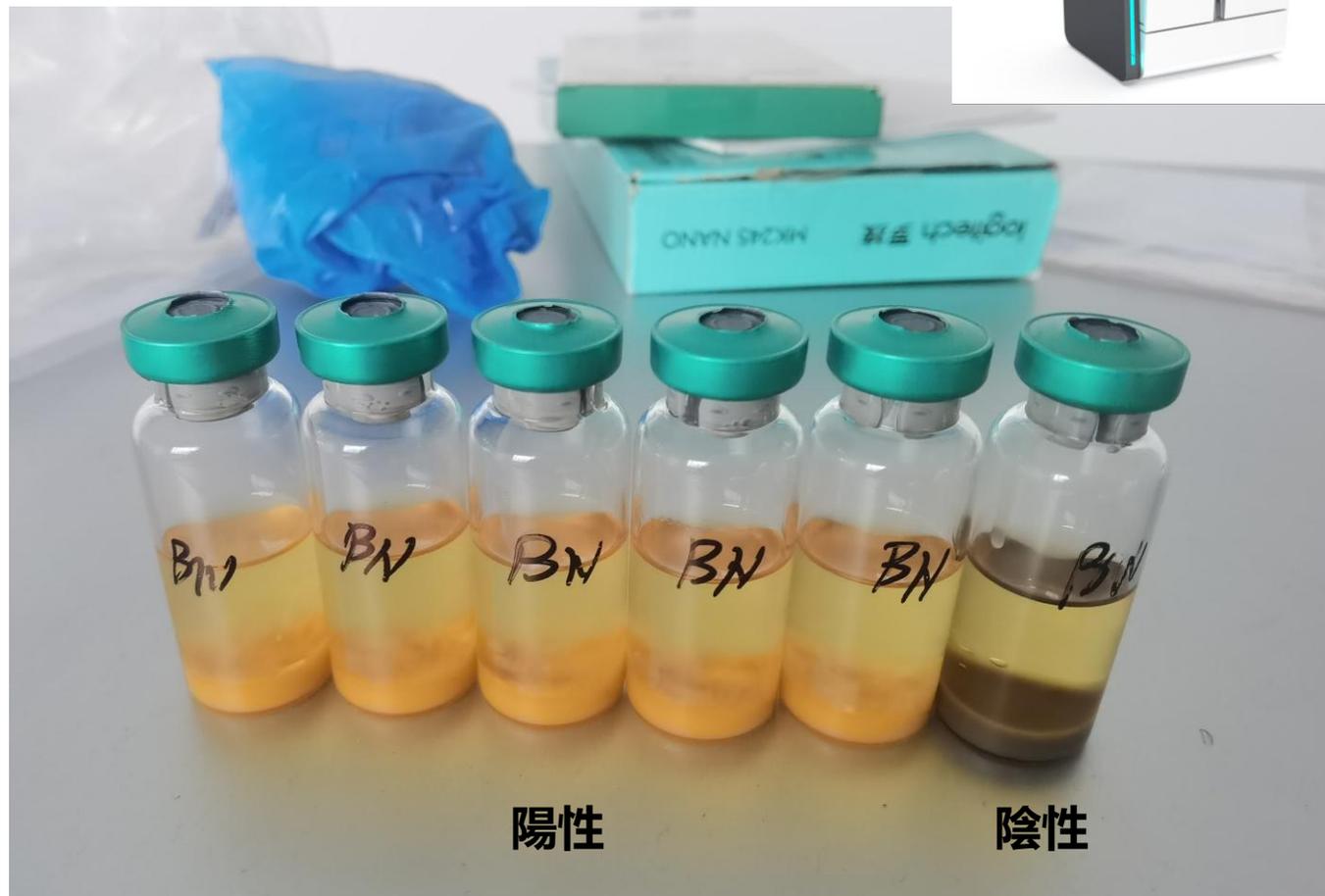
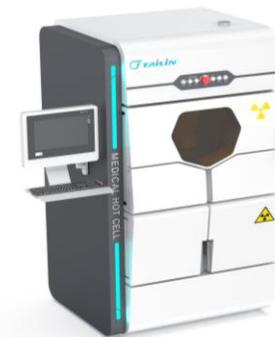
• 样品扫描转移至灭菌支架

• 隔离器系统开启灭菌排残

• 注射器采集定量样品溶液

• 培养瓶自动开盖并接入样品

應用案例(放射性藥品全自動無菌檢測工作站) 基於呼吸法無菌快檢技術的自動培養判讀系統



實物圖片

20-45°C獨立控溫，容量120個（參考）

泰林數智實驗室解決方案

業務定位：泰林系列數位化智能實驗室產品為制藥、環保、食品、醫療衛生、疾控等行業提供微生物及限度檢測產品與服務

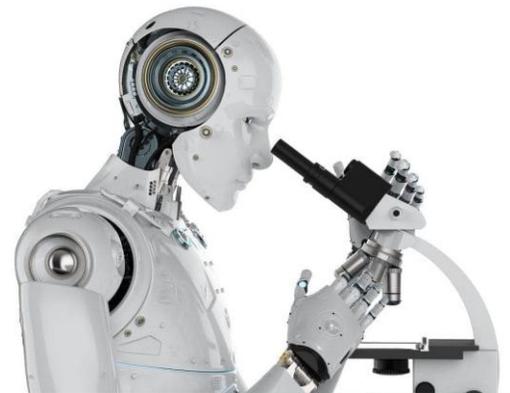
核心產品：微生物檢測與控制系統



泰林生物數智實驗室產品

結論:

- 隨著我們邁向工業 4.0，基於自動化和數字化技術的RMM正越來越多地被納入工業微生物學工作流程。
- 目標是確保產品安全、驗證過程性能、提高批次成功率並加快 QC 評估，同時減少人工錯誤、干預、可變性和資源需求
- 致病大流行帶來的疫苗和藥物開發速度空前加快，給品質控制職能帶來了額外的壓力
- 最終目標是線上和即時進行生產測試。鑒於其巨大的潛在優勢，預計近期將在自動化和支持快速產品發佈的數位化工作流程方面進行更多投資。



歡迎交流與討論

