

兽药微生物限度检测方法的验证与标准化流程构建

林桃桃

山西省检验检测中心（山西省标准计量技术研究院） 山西 太原 030027

摘要：微生物限度检测乃兽药质量管控核心，关乎动物用药、畜产品及公共卫生安全。当下我国兽药微生物限度检测存在方法适配差、验证体系缺、流程不统一等问题，影响结果准确可靠。本文基于相关理论，明确核心指标、方法及影响因素，构建含原则依据、内容指标、实验设计的完整验证体系，设计全环节标准化流程与关键环节质量控制措施，新增趋势分析，提出智能化、快速化方向，为检测规范化提供支撑，推动兽药行业高质量发展，保障畜牧业安全。

关键词：兽药；微生物限度检测；方法验证；标准化流程；质量控制

引言：畜牧业规模化、集约化发展下，兽药在动物疫病防控与养殖效益提升中作用关键。但兽药微生物污染问题渐显，不仅降低药效，还可能使动物染病，经食物链危害人类健康，引发公共卫生隐患。微生物限度检测是控制兽药微生物污染、保障质量的关键，其方法可靠性与流程标准化极为重要。目前，我国该检测存在短板，如方法缺乏系统验证、操作不规范、结果差异大，难以满足监管与管控需求，构建体系、设计流程、分析趋势意义重大。

1 兽药微生物限度检测的理论基础

1.1 微生物限度检测的核心指标

兽药微生物限度检测的核心指标，是衡量其微生物污染程度、保障安全的关键参数，涵盖微生物总数、控制菌限度、特定微生物检出三项内容。微生物总数指每克或每毫升兽药中全部微生物菌落数，以菌落形成单位（CFU）表示，能反映兽药受微生物污染的整体状况，不同类型兽药有明确的微生物总数限量国家标准。控制菌限度是兽药中允许存在的特定有害微生物的最大数量，像大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌等具致病性或致病潜力的微生物，其检出情况与数量直接关乎兽药安全。特定微生物检出主要针对有特殊风险的兽药品种，依据用途、生产工艺和潜在污染风险确定检测种类，以此确保兽药使用中不会因特定微生物污染而引发安全问题，各项指标设定契合兽药质量控制与使用安全需求。

1.2 常用检测方法与技术原理

兽药微生物限度检测常用方法可分为传统培养法与现代快速检测法两大类，不同方法的技术原理、适

用场景存在差异，可根据兽药类型、检测需求灵活选择。传统培养法是最基础、应用最广泛的检测方法，核心原理是利用微生物的营养需求与代谢特性，将兽药样品接种至特定培养基，在适宜温度、湿度条件下培养一定时间，通过菌落形态、数量及生化反应，实现微生物总数计数与控制菌鉴别，该方法操作简便、成本较低，适用于常规检测，但检测周期较长，通常需要 2-7 天。现代快速检测法主要包括免疫检测法、核酸检测法、微生物传感器法等，免疫检测法基于抗原-抗体特异性结合原理，快速检出特定有害微生物；核酸检测法通过扩增微生物特异性基因片段，实现微量微生物的精准检测；微生物传感器法则利用微生物代谢产物与传感器的相互作用，快速转化为电信号，实现微生物数量的快速测定，此类方法检测周期短、灵敏度高，适用于快速筛查与痕量检测。

1.3 检测结果的影响因素

兽药微生物限度检测结果的准确性受多种因素影响，贯穿检测全过程，主要可分为样品处理、实验环境、培养条件及操作规范四大类。样品处理环节，样品的取样代表性、稀释比例、均质程度直接影响检测结果，取样不均、稀释不当会导致微生物分布不均，出现计数偏差；样品前处理过程中，灭活剂、中和剂的使用不当，可能抑制微生物生长或导致微生物死亡，影响检测准确性。实验环境方面，检测实验室的洁净度、温湿度控制不达标，空气中的杂菌易污染样品与培养基，导致检测结果偏高^[1]。培养条件中，培养基的质量、培养温度、培养时间及氧气条件，会影响微生物的生长繁殖，培养时间不足会导致菌落计数偏低。另外，检测

人员的操作规范性,如接种手法、菌落计数标准不一致等,也会造成检测结果的重复性差,影响检测数据的可靠性。

2 兽药微生物限度检测方法的验证体系构建

2.1 验证原则与依据

兽药微生物限度检测方法的验证需遵循科学性、合理性、适用性及规范性四大核心原则,确保验证结果能够真实反映检测方法的可靠性与准确性。科学性原则要求验证实验设计合理、逻辑严谨,检测数据可重复、可追溯,能够通过实验数据证明检测方法的有效性;合理性原则要求验证内容、验证指标贴合兽药类型与检测需求,避免过度验证或验证不足;适用性原则要求验证后的检测方法能够适配目标兽药的检测,满足微生物限度控制要求;规范性原则要求验证全过程严格遵循国家、行业相关标准及规范,确保验证流程、操作方法统一规范。验证依据主要包括《兽药微生物限度检查法验证指导原则》等国家规范,同时结合兽药生产工艺、微生物污染风险及产品质量标准,明确验证要求,确保验证工作有章可循、有据可依。

2.2 验证内容与指标

兽药微生物限度检测方法的验证内容涵盖适用性验证、准确性验证、精密度验证、灵敏度验证及耐用性验证五大核心方面,每个验证内容对应明确的验证指标,全面评价检测方法的可靠性。适用性验证是核心内容,指标包括微生物回收率,通过向兽药样品中加入已知数量的标准微生物,计算回收率,判断检测方法是否会抑制微生物生长,确保能够准确检出样品中的微生物。准确性验证指标为检测结果与标准值的偏差,通过检测标准样品,对比检测结果与标准值的一致性,评价方法的准确性。精密度验证指标包括重复性与中间精密度,重复性通过同一检测人员、同一实验条件下多次检测的结果偏差评价,中间精密度通过不同检测人员、不同实验时间、不同设备的检测结果偏差评价。灵敏度验证指标为最低检出限,明确检测方法能够检出的微生物最低数量;耐用性验证通过改变培养温度、培养基批次、样品稀释比例等参数,评价检测方法的稳定性。

2.3 验证实验设计

验证实验设计需结合验证内容与指标,遵循随机、对照、重复的实验原则,确保实验数据的科学性与可靠性,实验设计主要包括样品准备、对照实验设置、实验重复次数及数据处理四部分。样品准备环节,选取代表性兽药样品,根据兽药性状(固体、液体、半

固体),按照标准化方法进行取样、稀释、均质,确保样品中微生物均匀分布;同时准备空白样品(不含目标微生物)与加标样品(空白样品中加入已知浓度的标准微生物),用于回收率计算与干扰实验。对照实验设置包括阳性对照、阴性对照与空白对照,阳性对照验证培养基与实验条件的有效性,阴性对照排除杂菌污染,空白对照排除实验试剂的干扰^[2]。实验重复次数需满足验证要求,每个样品至少设置3个平行样,重复检测3次,确保数据的重复性。数据处理环节,采用统计学方法计算回收率、偏差、相对标准偏差等指标,判断检测方法是否符合验证标准,若未达标,需优化检测方法并重新验证。

3 兽药微生物限度检测标准化流程设计

3.1 标准化流程框架

兽药微生物限度检测标准化流程框架贯穿检测全过程,明确各环节的操作要求与先后顺序,确保检测工作规范、有序开展,主要分为样品接收与处置、样品前处理、微生物培养、菌落计数与鉴别、结果判定与报告、实验后处理六大环节。样品接收与处置环节,明确样品接收标准、登记要求,检查样品完整性、保质期,对样品进行编号、储存,确保样品不被污染、微生物活性不受影响。样品前处理环节,根据兽药类型制定标准化操作流程,明确取样量、稀释比例、均质条件、中和剂使用等方法,确保样品处理统一规范。微生物培养环节,明确培养基选择、接种方法、培养温度、培养时间等参数,按照标准化要求进行培养,避免培养条件差异影响检测结果。菌落计数与鉴别环节,制定统一的菌落计数标准与控制菌鉴别方法,明确计数范围与鉴别指标,确保计数与鉴别准确。结果判定与报告环节,对照国家标准与兽药质量标准,判定检测结果是否合格,规范检测报告的编制与审核流程。实验后处理环节,明确实验废弃物、样品、培养基的无害化处理方法,避免环境污染与微生物扩散。

3.2 关键环节质量控制

标准化流程的关键环节质量控制是确保检测结果准确可靠的核心,针对样品前处理、培养基管理、实验环境控制、操作规范四大关键环节,制定针对性的质量控制措施。样品前处理环节,严格控制取样代表性,采用随机取样法,确保取样覆盖不同批次、不同部位;规范稀释与均质操作,控制稀释倍数的准确性,均质时间与转速统一,避免微生物损伤或分布不均;对前处理所用试剂进行质量检验,确保试剂纯度符合要求,中和剂能够有效灭活样品中的抑菌成分。培养基管理环节,建立

培养基采购、储存、配制、灭菌、使用的全流程质量控制,采购符合标准的培养基,储存于适宜条件下,配制过程严格遵循配方要求,灭菌后进行无菌检查,确保培养基无杂菌、营养成分完好。实验环境控制环节,检测实验室需达到相应洁净度等级,定期进行环境监测与消毒,控制温湿度在适宜范围;实验设备定期校准、维护,确保设备运行正常^[3]。操作规范环节,检测人员需经专业培训考核合格后方可上岗,严格按照标准化流程操作,做好实验记录,确保操作可追溯。

3.3 标准化文件编制

标准化文件编制是实现兽药微生物限度检测标准化的重要载体,明确检测全过程的操作规范、质量要求与管理流程,形成完善的文件体系,主要包括操作规程、质量手册、记录表格三大类。操作规程是核心文件,针对不同兽药类型、不同检测方法,编制专项操作规程,明确各环节的操作步骤、参数设置、注意事项等,如《固体兽药微生物限度检测操作规程》《液体兽药快速检测操作规程》,确保检测人员有章可循。质量手册主要规定检测实验室的质量方针、质量目标、组织机构、岗位职责及质量控制体系,明确各部门、各岗位的工作要求,规范实验室管理。记录表格用于记录检测全过程的数据与信息,包括样品接收记录、样品处理记录、培养记录、计数记录、验证记录、检测报告等,记录表格需规范统一,明确填写要求,确保检测数据可追溯、可核查。同时,建立标准化文件的修订、审核、归档流程,根据国家规范更新与实际检测需求,及时修订文件,确保文件的适用性与规范性。

4 兽药微生物限度检测的未来发展趋势

4.1 检测技术智能化与快速化发展

未来,兽药微生物限度检测技术将向智能化、快速化方向深度转型,逐步弥补传统检测方法的短板。传统培养法检测周期长、操作繁琐,难以满足大批量样品快速检测需求,新型智能化检测设备将广泛应用,如全自动微生物计数仪、智能菌落分析系统等,可实现样品接种、培养、计数、数据处理的全自动化,减少人为操作误差,大幅提升检测效率^[4]。快速检测技术将不断优化,核酸检测法、免疫检测法的灵敏度与特异性将进一步提升,检测周期缩短至数小时甚至数十分钟,结合微流控芯片技术,可实现现场快速筛查,适配养殖场、基

层检测机构的实操需求,推动检测工作从“事后检测”向“事前预防、事中管控”转变。

4.2 验证与标准化体系精细化、一体化发展

随着兽药行业的不断发展,微生物限度检测方法的验证与标准化体系将向精细化、一体化方向完善。验证体系将结合兽药品种、生产工艺的差异化,制定针对性验证方案,避免统一化验证导致的适配性不足问题,同时引入大数据、人工智能技术,对验证数据进行系统化分析,优化验证指标与实验设计,提升验证效率与准确性。标准化体系将实现全链条一体化管控,整合检测流程、质量控制、文件管理、人员培训等环节,形成统一的行业标准,减少不同实验室的检测差异。另外,验证与标准化体系将与兽药生产、储存、销售全流程联动,实现微生物污染风险的全周期管控,同时加强国际标准对接,推动我国兽药检测水平与国际接轨,助力兽药行业国际化发展。

结束语

兽药微生物限度检测是保障兽药质量、动物用药安全及公共卫生安全的关键手段,方法验证与标准化流程构建是规范检测行为、提升检测质量的核心举措。随着检测技术的不断升级与行业规范的逐步完善,兽药微生物限度检测工作将更加规范、高效、精准。未来,需持续推动检测技术创新与标准化体系优化,加强技术推广与人才培养,实现检测工作与兽药行业发展同频同步,为畜牧业高质量发展、公共卫生安全保障提供坚实的技术支撑。

参考文献

- [1] 李方东,张瑞婷,程赞,等.基于精准识别的农兽药残留快速检测技术研究进展[J].食品科学,2025,46(6):330-343.
- [2] 程文序,宋晓东,丁浩晗,等.基于机器学习与联邦学习的原奶兽药残留快速检测模型构建[J].食品科学技术学报,2025,43(5):193-206.
- [3] 格桑卓嘎.藏兽药研究现状及发展前景[J].家畜生态学报,2025,46(5):120-124.
- [4] 叶妮,王亦琳,陈超超,等.我国限制使用的兽药在食品动物中的残留概况[J].中国兽药杂志,2024,58(1):29-36.