

基于动态代谢监测的无菌检查培养系统优化研究—以泰林多联培养箱缩短药典周期为核心

从文豪 叶浩城 胡亚凤

浙江泰林医学工程有限公司 浙江 杭州 311400

摘要:本研究着重聚焦于泰林生物TECHLEAD®AST-300全自动无菌检查培养系统的技术优化,借助动态代谢监测机制,成功将传统的14天无菌检查周期缩短至7天。该系统以微生物呼吸所产生的CO₂浓度变化为依据,结合三温区培养环境以及AI生长曲线预测算法,能够在早期实现对药典标准菌株的有效检出。并通过了相关药典等效性验证,为短效期药品的无菌快速检测提供了技术范例。

关键词:动态代谢监测; 无菌检查; 药典周期压缩; 泰林AST-300; 关键代谢节点; 细胞治疗产品

引言

根据传统无菌检查法的技术局限与行业需求,现行药典所采用的无菌检查法,主要依据培养基浑浊度观察进行判定,存在检测周期较长(14天)、对不引起浑浊的微生物污染检出率较低(假阴性风险为15%~30%)等问题,尤其是在前沿治疗药物领域,面临着更为严峻的挑战。随着全球细胞治疗市场规模年均增长率超过25%,开发快速无菌检查技术的需求极为迫切。

1.1 泰林系统的技术创新与核心价值

泰林生物ASTS系列作为“十三五”国家重大科技专项成果,通过对微生物呼吸代谢的动态监测,有效缩短了检测周期。其技术涵盖呼吸代谢-CO₂显色检测、三温区协同培养以及智能算法预警等方面。本研究以AST-300为平台,对动态代谢监测算法以及多温区培养策略进行优化,构建了“关键代谢节点截断放行”模型。

参数类别	技术指标	传统方法对比
培养室配置	三培养室独立控温(20-40℃)	单温区静态培养
阳性判读时间	最快8小时	≥ 14天
检出限	≤ 5cfu	≥ 10cfu
适用培养基	FTM/SCDM(符合药典)	同左
数据完整性	符合FDA21CFR PART11	人工记录

2 技术原理与动态代谢监测机制

2.1 呼吸作用-CO₂显色反应原理

泰林系统的核心基于微生物的有氧呼吸代谢过程。微生物在生长过程中会产生CO₂,系统培养容器顶部的pH敏感型荧光感应器在遇CO₂后会发生反应,导致荧光染料分子结构改变,进而使激发/发射光谱发生偏移。AST-300相机对感应器图像进行扫描,并计算显色指数(CSI),当CSI超过阈值(15%)时,触发阳性预警。

2.2 动态代谢监测与智能算法架构

系统通过三层次算法模型实现对代谢的动态监测。代谢轨迹重建层

基于时间序列的CSI数据拟合生长曲线,采用改进型Gompertz模型:

生长阶段识别层运用LSTM神经网络对曲线特征进行分析,将其划分为四个代谢关键期,即生长迟滞期(CSI增幅<1%/h)、指数生长期(CSI增幅5%~30%/h)、稳定期(CSI波动<0.5%/h)以及衰亡期(CSI下降>2%/h)。阳性判决策略

层若指数生长期持续超过2小时且CSI累计增幅>20%,则判定为阳性,并结合温度波动数据(±0.3℃)以及环境粒子计数对误报进行校正。图1展示了泰林系统动态代谢监测流程:CO₂显色→图像采集→CSI计算→生长曲线拟合→AI判读。

3 多联培养系统缩短周期实验验证

3.1 静态与动态培养对比实验

为验证动态监测对药典周期的压缩效果,设计了双

注:文中泰林AST-300系统参数源自企业公开资料,实验数据来自作者团队在药品生产质量管理规范(GMP)环境下的验证研究。

盲对照试验。样本制备过程为：在FTM培养基中接种6类药典标准菌株，污染水平为1-100CFU。培养条件方面，对照组采用静态培养（30-35℃恒温，人工逐日观察），

实验组采用AST-300三温区动态培养（30℃/37℃/25℃循环，CSI自动监测）。评价指标包括阳性检出时间、假阴性率以及微生物复苏曲线

菌株类型	静态培养检出时间 (h)	动态培养检出时间 (h)	周期缩短率	假阴性率下降
金黄色葡萄球菌	24.5 ± 3.2	10.3 ± 1.8	58%	12%→2%
枯草芽孢杆菌	48.7 ± 5.1	18.6 ± 2.4	62%	25%→5%
白念珠菌	72.0 ± 6.5	28.5 ± 3.7	60%	18%→4%
黑曲霉	96.3 ± 8.2	42.7 ± 4.9	56%	30%→8%

斜率。实验结果证实，动态监测使慢生长微生物的检出时间缩短了60%，假阴性率降低了 ≥ 20%。其优势表现为：温度循环策略有助于促进芽孢萌发；代谢趋势预判能够在指数生长期初期触发预警；高灵敏度传感可覆盖低污染水平样本^[1]。

3.2 关键代谢节点识别与截断模型

节点类型	判定条件	可放行样本类型	验证通过率
节点A	$\mu > 0.25h^{-1}$ 维持1h	溶液型注射剂	98.7%
节点B	$d^2(CSI)/dt^2 = 0$	冻干粉针剂	99.2%
节点C	$\Delta CSI < 0.5\%/h$ 维持3h	细胞治疗产品	99.5%

在CAR-T细胞制剂验证中显示：采用节点A时，阳性样本在12小时内可全部检出，阴性样本培养周期缩短至7天，误判率低于0.5%。

4 系统优化策略与药典周期压缩路径

4.1 代谢轨迹建模与算法升级

针对慢生长微生物，本研究采用三阶段优化策略以提升监测灵敏度：通过多模态数据融合构建多维生长特征向量；运用迁移学习增强模型泛化能力，使模型预测迟滞期终点平均误差降低；利用非线性动力学补偿建立方程以校正环境干扰。计算公式为 $cal = CSIObs \times [1 + 0.02(T - 37) - 0.005\Delta P]$ ，其中T为实际温度， ΔP 为培养间气压变化。

4.2 多温区协同培养优化

AST-300三温区结构为动态温度策略提供了硬件基础。针对药典规定的三类微生物设计温度切换协议：方案A（细菌优先）在0-6小时设定为37℃以促进细菌增殖，6小时后设定为25℃以诱导真菌萌发；方案B（真菌优先）在0-12小时设定为25℃以激活真菌孢子，12小时后设定为37℃以加速细菌代谢；方案C（芽孢激活）在0-3小时设定为40℃进行热激，3-9小时设定为30℃使其恢复，9小时后设定为37℃进行培养。在疫苗原液无菌检查中，方案C使枯草芽孢杆菌检出时间从26小时缩短至14小时，灵敏度提升35%。用户可对三温区协同培养操作界面的温度切换时间点和持续时间进行自定义设置。

基于超过20万条代谢曲线的大数据，系统构建了三类关键截断节点以替代传统14天固定周期：

- 节点A可用于细菌类污染判定；
- 节点B可用于霉菌/酵母菌判定；
- 节点C表明微生物停止增殖，此时可终止培养。

4.3 算法-硬件协同的快速放行体系

基于优化策略构建“动态监测-多温区培养-智能截断”的闭环放行系统：在第0-12小时启动方案A温度协议，每15分钟采集CSI数据；在第12小时，LSTM模型输出迟滞期结束概率，若概率大于85%则标记为潜在阳性；在第24小时，结合节点A/B判定规则，阳性样本触发报警；在第7天，阴性样本达到节点C条件，系统自动生成放行报告。该体系通过NMPA草案验证，在12家细胞治疗企业应用后，放行时间从14天降至7天，产能提升40%。

5 细胞治疗产品案例验证与合规化路径

5.1 CAR-T制剂快速放行验证

在某CAR-T细胞制剂生产企业开展方法学等效性验证：样本为冻存CAR-T细胞悬液；污染菌株为表皮葡萄球菌。传统组按照USP < 71 > 进行14天培养，泰林组采用AST-300动态监测（温度方案A）且以节点A截断放行。

结果表明，在30批样本中，传统组检出3批阳性，泰林组分别在8.5小时、9.2小时、10.1小时预警阳性，阴性样本均在7天内放行，符合率达100%。

5.2 法规衔接与验证框架

为满足全球监管要求，建立三级验证框架：在实验室阶段，按照USP < 1223 > 验证准确性、精密性、特异性，加标回收率为98.2%—102.5%，检测限表皮葡萄球菌

小于等于3CFU；在生产模拟阶段，在GMP环境模拟低浓度污染验证，检出率为100%，假阳性率低于0.5%；在持

续验证阶段，安装环境监测模块，当粒子数超标时自动延长培养时间至10天^[2]。

法规体系	符合条款	验证要求	泰林达标情况
美国药典 (USP)	< 1223 > 替代方法验证	检出限 ≤ 10CFU	≤ 5CFU
欧洲药典 (EP)	5.1.6 微生物质量控制替代方法	等效性 $p > 0.05$	$p = 0.32$
中国药典	< 9201 > 替代方法	数据完整性符合ALCOA+	符合FDA21CFRPART11
FDA	21 CFRPART11	电子签名/审计追踪	全功能支持

6 讨论：技术优势与产业化挑战

6.1 缩短药典周期的效率突破

本研究证实泰林AST-300通过动态代谢监测技术实现三项效率突破：周期压缩超过50%，细胞治疗产品可实现“当周生产、当周放行”；人工观察时间减少90%，培养箱占用率下降60%；阳性样本可在24小时内识别，便于企业快速启动偏差调查。

6.2 技术局限与推广壁垒

系统虽取得显著成果，但仍面临挑战：对真菌敏感性不足，在低污染水平下，黑曲霉需延长培养至5天；存在高粘度样本限制，CAR-T细胞悬液中的DMSO可能干扰CO₂扩散，需优化前处理；存在法规滞后障碍，部分药品监管机构依旧要求进行为期14天的备份培养。此培养方式会增加企业的合规成本；未来需着重攻克CRISPR-Cas核酸快速检测技术与代谢检测联用技术，在8小时内完成活的非可培养（VBNC）微生物检测，以消除对培养周期的依赖。

7 结论与展望

本研究对泰林AST-300全自动无菌检查培养系统的动

态代谢监测算法与多温区培养策略进行了优化，动态监测可使符合药典标准的菌株阳性检出时间缩短至8-12小时，慢生长微生物的检出灵敏度提高40%，假阴性率降至低于1%；所建立的节点A/B/C截断模型可使细胞治疗产品的无菌放行周期从14天缩短至7天，多温区协同培养协议针对不同微生物优化了温度切换时序，使枯草芽孢杆菌的检出时间进一步缩短至14小时。随着欧洲药品管理局（EMA）于2025年1月强制要求无菌生产线配备快速微生物检测系统，本研究为制药企业提供了合规且经济的解决方案^[3]。

参考文献

- [1]泰林生物.全自动无菌检查培养系统技术手册[Z]. 2022.
- [2]洪晓丹,等.药品无菌快速检测技术研究进展[J].药物资讯,2020,9(6):233-237.
- [3]国家药典委员会.中国药典2020版[S].北京:中国医药科技出版社,2020.