

药品微生物限度检查中常见污染菌鉴定及溯源分析

王鸿玉

大同市综合检验检测中心 山西 大同 037000

摘要: 药品微生物限度检查中, 污染菌鉴定与溯源分析至关重要。本文阐述常见污染菌类型, 包括细菌、真菌及其他微生物, 分析其特性与危害。对比传统与现代鉴定技术适配性, 构建溯源分析体系, 明确核心原则、路径方法及保障措施。通过提取污染菌特征、排查污染节点、验证传播路径、确认源头, 结合多维度保障, 为药品微生物污染防控提供科学依据, 保障药品质量安全。

关键词: 药品微生物限度检查; 污染菌鉴定; 溯源分析

引言: 药品质量关乎公众健康与安全, 微生物污染是影响药品质量的关键因素之一。在药品微生物限度检查中, 准确鉴定污染菌种类并开展溯源分析, 是有效防控污染、保障药品安全的重要环节。不同类型微生物污染特性各异, 鉴定技术也各有优劣。构建科学合理的溯源分析体系, 明确核心原则与路径方法, 并采取有效保障措施, 对提升药品微生物污染防控水平, 确保药品质量稳定可靠具有重要意义。

1 药品微生物污染的常见类型

1.1 细菌 (如革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌)

细菌是药品微生物污染中最常见的类型, 其中革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌占比最高。革兰氏阳性菌细胞壁含大量肽聚糖, 染色后呈紫色, 常见种类包括金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、链球菌等。金黄色葡萄球菌可产生肠毒素和凝固酶, 污染药品后不仅导致变质, 还可能引发皮肤感染、败血症等严重不良反应; 枯草芽孢杆菌具有极强的抗逆性, 其芽孢能耐受高温、干燥等极端环境, 易在药品生产的干燥环节残留。革兰氏阴性菌细胞壁含脂多糖, 染色后呈红色, 常见有大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、沙门氏菌等^[1]。大肠埃希菌作为肠道正常菌群, 其出现通常提示药品受到粪便污染, 可能携带耐药基因; 铜绿假单胞菌对多种抗生素耐药, 污染眼用制剂、注射剂等无菌药品后, 会引发角膜炎、泌尿系统感染等疾病, 对免疫功能低下人群危害极大。这些细菌可通过原料、生产设备、操作人员等多种途径污染药品, 需针对性采取防控措施。

1.2 真菌 (如霉菌、酵母菌)

真菌污染在药品中较为常见, 主要包括霉菌和酵母菌两大类, 二者在形态结构和污染特性上存在明显差异。霉菌属于多细胞真菌, 能产生菌丝和孢子, 孢子可通过空气传播, 常见种类有青霉菌、曲霉菌、根霉菌等。青

霉菌污染药品后会产生青霉素等代谢产物, 虽部分可用于制药, 但对青霉素过敏人群可能引发过敏性休克; 曲霉菌中的黄曲霉菌能产生黄曲霉素, 具有强致癌性, 污染中药材、固体口服制剂等药品后, 会通过消化道进入人体积累, 损害肝脏等器官。酵母菌多为单细胞真菌, 呈圆形或椭圆形, 以出芽方式繁殖, 常见有白色念珠菌、酿酒酵母菌等。白色念珠菌为条件致病菌, 正常情况下存在于人体黏膜, 污染无菌药品后会导致念珠菌血症、肺炎等感染性疾病, 尤其威胁住院患者安全; 酿酒酵母菌虽对健康人群危害较小, 但会使药品出现发酵变质, 导致有效成分分解、口感改变。

1.3 其他微生物 (如支原体、内毒素等)

除细菌和真菌外, 支原体、内毒素等微生物及相关产物也会造成药品污染, 且具有隐蔽性强、危害特殊等特点。支原体是一类无细胞壁的原核微生物, 体积微小, 可通过常规滤菌器, 常见污染菌种包括肺炎支原体、解脲支原体等。由于缺乏细胞壁, 青霉素类抗生素对其无效, 污染生物制品如疫苗、单抗药物后, 会在细胞培养过程中增殖, 影响药品质量和安全性, 且不易被传统微生物检测方法发现。内毒素主要是革兰氏阴性菌细胞壁脱落的脂多糖成分, 即使细菌死亡, 其释放的内毒素仍具有生物活性。内毒素污染注射剂、血液制品等药品后, 进入人体会引发发热原反应, 表现为发热、寒战、血压下降等, 严重时导致休克甚至死亡。此外, 立克次体、衣原体等原核微生物也可能污染药品, 立克次体需寄生在活细胞内, 污染细胞培养来源的药品时会随制品进入人体, 引发斑疹伤寒等疾病; 衣原体污染眼部制剂后, 可能导致衣原体结膜炎等感染性疾病。这类污染需采用专用检测技术如萤试剂法、核酸检测法等进行筛查防控^[2]。

2 药品污染菌常用鉴定技术对比与适配性分析

2.1 传统鉴定技术

传统鉴定技术是药品污染菌鉴定基础方法, 基于微生物形态学、生理生化反应鉴别, 核心有形态观察、培养特性分析和生化反应鉴定。形态观察借助光学显微镜, 如革兰氏染色区分菌类, 观察霉菌孢子囊鉴别种类; 培养特性分析将污染菌接种专用培养基, 依菌落特征判断菌种, 如金黄色葡萄球菌在营养琼脂上的菌落特征; 生化反应鉴定利用微生物代谢酶特异性, 通过多种试验判断菌种, 如大肠埃希菌发酵乳糖的特性。该技术操作简便、成本低、设备要求不高, 适合基层机构, 但鉴定周期长, 需3-7天, 对形态相似、生化反应不典型微生物难准确鉴别, 无法满足快速鉴定需求。

2.2 现代分子生物学与蛋白组学鉴定技术

现代分子生物学与蛋白组学鉴定技术基于微生物的遗传物质和蛋白质特征进行鉴别, 具有准确性高、速度快等优势, 已广泛应用于药品污染菌鉴定。分子生物学技术核心包括聚合酶链式反应技术、基因测序技术和核酸杂交技术。聚合酶链式反应技术通过特异性引物扩增目标基因片段, 结合凝胶电泳判断是否存在特定菌种, 实时荧光聚合酶链式反应还可实现定量分析; 基因测序技术通过测定16S rRNA基因、26S rRNA基因等保守序列, 与数据库比对实现菌种精准鉴定, 甚至可区分亚种和菌株。蛋白组学技术主要包括基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术, 通过检测微生物的蛋白质指纹图谱, 与标准图谱库比对实现快速鉴定。这类技术优势显著, 鉴定周期短, 最快4-6小时可出结果, 准确性高, 能鉴别传统技术难以区分的近缘种, 且可实现高通量检测, 同时分析多个样本。

2.3 技术适配性对比

药品污染菌鉴定技术适配性需综合判断。检测需求上, 应急污染事件现代技术适配性高, 能快速锁定菌种; 常规抽检传统生化鉴定技术适配良好。场景条件方面, 基层机构传统技术因操作简便、成本低适配性优; 省级及以上机构现代技术适配性更高^[3]。样本类型上, 复杂基质样本现代基因测序技术适配性强; 纯培养菌株样本传统生化反应适配性良好。成本角度, 大规模常规检测传统技术适配性高; 特殊菌种精准鉴定或科研需求现代技术适配性更优。

3 药品污染菌溯源分析体系构建

3.1 溯源分析核心原则

药品污染菌溯源分析体系构建需遵循四项核心原则, 确保溯源过程科学规范、结果可靠。一是系统性原则, 溯源需覆盖药品生产全链条, 包括原料采购、生产加工、包装储存、运输销售等各个环节, 全面排查可能的污染

节点, 避免遗漏关键因素, 同时整合检测数据、生产记录、环境监测数据等多源信息, 形成完整溯源链条。二是科学性原则, 溯源需采用经过验证的检测技术和分析方法, 如基因测序技术需选用标准保守基因片段, 污染节点排查需基于微生物传播规律, 确保溯源逻辑严密、数据准确, 避免主观臆断。三是时效性原则, 药品污染发生后需快速启动溯源, 及时锁定污染源头, 防止污染范围扩大, 这就要求溯源体系具备快速响应机制, 检测技术和数据共享通道高效畅通, 缩短溯源周期。四是实用性原则, 溯源体系需结合药品生产实际情况设计, 操作流程简洁可行, 避免过于复杂的步骤影响执行效率, 同时溯源结果需能直接指导污染防控措施制定, 为生产工艺优化、环境整改提供明确依据, 确保溯源价值有效发挥。四项原则相互关联, 共同保障溯源分析的准确性和有效性。

3.2 溯源分析核心路径与方法

3.2.1 污染菌特征提取

污染菌特征提取是溯源分析基础, 通过获取特异性特征为后续溯源提供依据, 分表型和基因型特征提取。表型特征提取用传统培养和生化鉴定法, 培养特征依不同培养基上菌落形态、生长速度等确定, 如颜色、边缘光滑度; 生化特征通过糖发酵、酶活性检测确定, 如氧化酶、触酶反应结果, 可初步区分菌种。基因型特征提取用现代分子生物学技术, 基因测序获取16SrRNA等序列分析同源性; 脉冲场凝胶电泳技术酶切细菌染色体DNA得指纹图谱区分菌株; 耐药、毒力基因检测获取遗传标记。提取时要保证样本纯度, 用梯度稀释等方法分离单菌落, 做好质量控制, 用标准菌株验证方法, 确保结果稳定可靠, 为排查污染节点提供精准依据。

3.2.2 污染节点排查

污染节点排查基于污染菌特征, 结合药品生产流程, 围绕人、机、料、法、环展开。人员排查操作人员手部、衣物微生物携带情况, 关注未规范消毒、穿戴者; 设备排查生产设备清洁消毒效果, 检测易积污部位残留微生物, 检查运行参数; 原料排查初始微生物含量, 追溯供应商报告; 方法排查生产工艺合理性, 如灭菌参数、无菌操作流程; 环境排查车间空气、地面墙面微生物含量及设施微生物指标, 分析传播载体。排查结合生产记录, 关注异常操作、设备故障等, 锁定可疑污染节点^[4]。

3.2.4 传播路径验证

传播路径验证在排查基础上, 通过实验模拟和数据佐证确认传播过程, 确保溯源逻辑闭环。先做微生物追踪实验, 在可疑节点与受污染药品间设检测点, 检测微

生物特征判断是否形成传播链。再结合流程模拟传播场景，如原料运输、设备清洁不彻底致污染，人工接种观察存活传播情况。分析环境因素影响，结合监测数据佐证。调取视频监控等排查异常情况。验证时排除其他可能，多次重复实验确保路径唯一可靠，避免误判。

3.2.5 源头确认

源头确认是溯源分析的核心目标，在传播路径验证基础上，通过多维度证据整合，最终锁定污染菌的准确来源。首先对比污染菌与可疑源头微生物的特征一致性，采用全基因组测序技术分析二者的基因同源性，同源性达到99%以上可作为关键证据；同时对比表型特征，如菌落形态、生化反应结果、耐药谱等，确保特征完全匹配。其次收集溯源过程中的各类证据，包括原料检测报告、设备清洁记录、环境监测数据、传播路径验证实验结果等，形成完整证据链，证明可疑源头的微生物可通过已验证的传播路径污染药品。然后排查可疑源头的污染原因，如原料供应商的生产环境不达标、设备维护不当导致的污染、操作人员违规操作等，确认源头存在明确的污染隐患。最后组织专家评审，对溯源证据链、检测方法、分析逻辑等进行审核，排除证据漏洞和逻辑矛盾，确保源头确认结果准确无误。源头确认后需形成溯源报告，明确污染源头、污染原因及传播路径，为后续整改措施制定提供明确依据。

3.3 溯源分析保障措施

药品污染菌溯源分析体系的有效运行需完善的保障措施支撑，从制度、技术、人员、数据四个维度构建保障体系。制度保障方面，建立健全溯源管理制度，明确各部门职责，如生产部门负责提供生产记录，质检部门负责微生物检测，研发部门负责技术支持，制定溯源流程规范，明确溯源启动条件、操作步骤和结果审核标准，建立溯源结果反馈机制，确保溯源发现的问题及时整改。技术保障方面，配备先进的检测设备，如基因测序仪、基

质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪、脉冲场凝胶电泳仪等，满足不同层次的检测需求；建立微生物特征数据库，收录常见污染菌的表型和基因型数据，为快速比对提供支撑；定期开展技术验证和方法优化，确保检测技术的准确性和可靠性^[5]。人员保障方面，组建专业溯源团队，成员涵盖微生物检测、生产工艺、数据分析等领域，定期开展培训，提升团队的溯源分析能力和操作技能；建立人员考核机制，确保团队成员严格执行溯源流程。数据保障方面，建立溯源数据管理系统，整合生产、检测、环境等多源数据，实现数据实时共享和追溯；加强数据安全管控，防止数据泄露和篡改，确保数据的完整性和真实性。

结束语

药品微生物限度检查中的污染菌鉴定与溯源分析是一项复杂且系统的工作。通过全面了解常见污染菌类型，合理选用鉴定技术，构建完善的溯源分析体系，并从制度、技术、人员、数据等多方面提供保障，能够准确锁定污染源头，明确传播路径，为制定针对性的防控措施提供有力支撑。未来，随着技术的不断进步，将进一步提升药品微生物污染防控能力，保障公众用药安全。

参考文献

- [1]黄韵璇,朱晓燕,高颖,等.药品微生物检验环境菌库建立实践[J].中国药业,2025,34(12):76-80.
- [2]刘若曦,闫丽丽,王波.药品微生物限度检查中的污染及追溯[J].药学服务与研究,2020,20(6):433-436.
- [3]母丹.浅析药品微生物限度检查法的若干影响因素[J].科学咨询,2021(49):13-15.
- [4]任仲丽.浅析药品微生物限度检查和食品微生物检验的差异[J].中国标准化,2022,(14):131-133, 140.
- [5]李笑蕾,张军.浅析药品微生物限度检查与食品微生物检验的借鉴[J].中国药品标准,2021,22(1):56-60.