

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2021.11.09

国内外兽用生物制品无菌检验方法的比较分析

刘 博, 魏 津, 马 欣, 王 甲, 李俊平, 罗玉峰*

(中国兽医药品监察所, 北京 100081)

[收稿日期] 2021-08-03 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2021) 11-0058-07 [中图分类号] S859.797

[摘 要] 为分析影响无菌检验结果的因素, 探寻无菌检验方法优化的思路, 对中国、欧盟国家、美国兽用生物制品无菌检验方法进行了全面比较。结果发现, 《中国兽药典》中, 兽用生物制品通用的无菌检验无论是从培养基种类、培养条件、培养基质量控制还是操作方法均与欧洲药典及美国《联邦法规》第九卷中方法存在差异, 对这些差异进行进一步比对验证, 可为我国兽用生物制品无菌检验的优化提供借鉴。

[关键词] 兽用生物制品; 无菌检验; 中国兽药典; 欧洲药典; 美国《联邦法规》第九卷

Analysis on Sterility Test of Veterinary Biologics among Chinese Veterinary Pharmacopoeia, European Pharmacopoeia and U. S. Code of Federal Regulations

LIU Bo, WEI Jin, MA Xin, WANG Jia, LI Jun-ping, LUO Yu-feng*

(China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China)

Corresponding author: LUO Yu-feng, E-mail: luoyufengmy@163.com

Abstract: In order to analyze factors influencing test results and to explore thoughts on sterility test optimization, a thorough comparison of sterility test was made among Chinese Veterinary Pharmacopoeia, European Pharmacopoeia and U. S. Code of Federal Regulations Title 9. The results showed that sterility test in Chinese Veterinary Pharmacopoeia was different from that abroad in culture media, cultural condition, media quality control and method. Comparison and verification of these differences could lay foundation for the optimization of sterility test.

Key words: veterinary biologics; sterility test; Chinese Veterinary Pharmacopoeia; European Pharmacopoeia; U. S. Code of Federal Regulations title 9

无菌检验是兽用生物制品质量控制的重要检验项目, 关系到兽用生物制品的安全性, 准确的检

验结果不仅能够客观公正地评价相关制品的质量, 还能够为生产企业提供技术参考, 为行业监管和行

基金项目: 中国兽医药品监察所“兽药行业工艺性重点专项”-常用细菌类活疫苗活菌计数等培养基质量控制方法研究(GY202010)

作者简介: 刘 博, 助理研究员, 硕士, 从事细菌类生物制品的检测工作。

通讯作者: 罗玉峰。E-mail: luoyufengmy@163.com

政决策提供坚强的依据^[1]。提高无菌检验敏感性,降低无菌检验操作难度,进一步优化现有无菌检验方法不仅可为行业内兽用生物制品生产企业提供便利,还可进一步保障兽药安全、促进养殖业发展。本文从无菌检验的依据、培养基及培养条件、培养基质量控制、无菌检验的具体方法几个方面,对国内外主流兽用生物制品无菌检验方法进行比较分析,以探讨影响无菌检验结果的因素,为无菌检验方法的优化提供参考。

1 无菌检验依据

中国兽用生物制品无菌检验依据现行《中国兽药典》2020 年版三部^[2];欧盟国家兽用生物制品无菌检验依据《欧洲药典》10.0 版^[3],且人药和兽药无菌检验遵循一致依据;美国兽用生物制品无菌检验依据《美国联邦法规》第九卷(9CFR)^[4],而人药无菌检验依据《美国药典》第 19 版,但是 9CFR 中明确规定,无菌检验培养基的质量控制需遵守《美国药典》相关规定。

2 无菌检验培养基及培养条件

2.1 培养基种类 现行《中国兽药典》《欧洲药典》及 9CFR 中无菌检验培养基相同之处在于均使用两种常规培养基,分别是硫乙醇酸盐流体培养基(TG)及胰酪大豆胨液体培养基(TSB)。其中,TG

培养基主要用于厌氧菌和需氧菌的检查,TSB 培养基主要用于真菌及需氧菌的检查。

2.2 培养基配方 现行《中国兽药典》《欧洲药典》及 9CFR 中无菌检验培养基的配方有所区别。《中国兽药典》TG 和 TSB 培养基配方唯一。《欧洲药典》中 TG 培养基有两种,一种与中国兽药典中所列 TG 培养基配方一致,另一种省略了琼脂和刃天青溶液。9CFR 中 TG 培养基有两种,一种与中国兽药典中所列 TG 培养基配方一致,另一种额外添加了 0.5% 牛肉膏。此外,《中国兽药典》另使用酪胨琼脂培养基(GA)用于需氧菌的检查,9CFR 中另使用脑心浸液琼脂用于真菌和需氧菌的检查。

2.3 培养条件 《中国兽药典》中规定,TG 及 GA 培养基的培养温度是 35 ~ 37 ℃ 及 23 ~ 25 ℃,TSB 培养基的培养温度是 23 ~ 25 ℃;欧洲药典规定 TG 培养基的培养温度是 30 ~ 35 ℃,TSB 培养基的培养温度是 20 ~ 25 ℃,对于含汞类防腐剂的兽用生物制品,用 TG 替代 TSB 置于 20 ~ 25 ℃ 培养;9CFR 规定 TG 培养基的培养温度是 30 ~ 35 ℃,TSB 培养基的培养温度是 30 ~ 35 ℃ 或者 20 ~ 25 ℃,对于含汞类防腐剂的兽用生物制品,用 TG 替代 TSB 置于 20 ~ 25 ℃ 培养。三种方法版本的无菌检验用培养基及培养温度见表 1。

表 1 无菌检验用培养基及培养温度

Tab 1 Culture media and culture temperature of sterility test

方法版本	培养温度					
	TG	TG(不含琼脂和刃天青)	TG(含 0.5% 牛肉膏)	TSB	GA	脑心浸液琼脂
中国兽药典	35 ~ 37 ℃ 及 23 ~ 25 ℃	/	/	23 ~ 25 ℃	35 ~ 37 ℃ 及 23 ~ 25 ℃	/
欧洲药典	30 ~ 35 ℃ 及/或 20 ~ 25 ℃	30 ~ 35 ℃ 及/或 20 ~ 25 ℃	/	20 ~ 25 ℃	/	/
9CFR	30 ~ 35 ℃ 及/或 20 ~ 25 ℃	/	30 ~ 35 ℃ 及/或 20 ~ 25 ℃	20 ~ 25 ℃ 及/ 或 30 ~ 35 ℃	/	30 ~ 35 ℃ 及 20 ~ 25 ℃

TG 为硫乙醇酸盐流体培养基;TSB 为胰酪大豆胨液体培养基;GA 为酪胨琼脂培养基;9CFR 为美国《联邦法规》第九卷

3 无菌检验培养基质量控制

国内外无菌检验培养基质量控制的要点均为无菌检验和微生物促生长能力。

3.1 无菌检验 《中国兽药典》要求将三种培养基均分别置于 35 ~ 37 ℃ 及 23 ~ 25 ℃ 培养 7 d,《欧洲药典》及 9CFR 要求将 TG 和 TSB 分别置于 30 ~ 35 ℃

及 23 ~ 25 ℃ 培养 14 d,未发现有菌生长后方可使用。对于抽检比例,《中国兽药典》规定每批培养基随机抽取 10 支(瓶),《欧洲药典》及 9CFR 仅要求抽取部分培养基进行无菌检验,具体数量未做要求。

3.2 微生物促生长能力 《欧洲药典》及 9CFR 使用 6 株质控菌种控制培养基质量,菌种代次不得超过 5 代;《中国兽药典》使用 5 株质控菌种,与《欧洲药典》及 9CFR 相比少一株枯草芽孢杆菌,质控菌种代次无具体要求。《欧洲药典》及 9CFR 具体规定如下:取不超过 100 CFU 的金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、生孢梭菌菌种悬液分别接种 TG 培养基,于 30 ~ 35 ℃ 培养不超过 3 d;取不超过 100 CFU

的白色念珠菌、巴西曲霉、枯草芽孢杆菌菌种悬液分别接种 TSB 培养基,于 20 ~ 25 ℃ 培养不超过 5 d;若有菌生长,则培养基微生物促生长能力符合要求。《中国兽药典》中规定,取不超过 50 CFU 的金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、生孢梭菌菌种悬液分别接种 TG 培养基,于 35 ~ 37 ℃ 培养 3 d;取不超过 50 CFU 的金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌菌种悬液分别接种 GA 培养基,于 35 ~ 37 ℃ 培养 3 d;取不超过 50 CFU 的白色念珠菌、巴西曲霉菌种悬液分别接种 TSB 培养基,于 23 ~ 25 ℃ 培养 5 d;若有菌生长,则培养基微生物促生长能力符合要求。质控菌种信息见表 2。

表 2 微生物促生长能力试验质控菌种表

Tab 2 Strains of the test micro – organisms suitable for use in the growth promotion test and the method suitability test				
菌种类别	菌种	中国兽药典	欧洲药典	9CFR
需氧菌	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	√	√	√
	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	/	√	√
	铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	√	√	√
厌氧菌	生孢梭菌 <i>Clostridium sporogenes</i>	√	√	√
真菌	白色念珠菌 <i>Candida albicans</i>	√	√	√
	巴西曲霉 <i>Aspergillus brasiliensis</i>	√	√	√

其他常规质量控制参数中,《欧洲药典》关于 TG 培养基装量有特殊要求。TG 培养基由于分为氧化层和厌氧层,要求储存于密闭无菌容器内,且培养基的上层表面积和深度之间需要遵循一定比例,保证在培养结束时,培养基氧化层在培养基高度的一半以内。《中国兽药典》与 9CFR 无上述要求。

4 无菌检验方法适用性检测

《欧洲药典》要求,对新制品进行无菌检验时或者检验方法有更改时,需进行方法适用性检测(与检品的无菌检验同时进行)。

4.1 膜过滤法适用性检测 在将待检样品转移至滤膜过滤后,在用于洗涤滤器的无菌稀释液中加入不超过 100 CFU 的质控菌种。

4.2 直接接种法适用性检测 在将待检样品接入

培养基后,在培养基内加入不超过 100 CFU 的质控菌种。两种方法适用性检测均需用表 2 中所列的 6 种菌种分别进行。将所有的样品在适宜温度培养不超过 5 d。如果待检样品管内质控菌种生长状态与阳性对照一致,则说明该样品在当前检验方法下无抗菌活性或者其抗菌活性已经被中和且符合要求,该方法可以直接应用;如果与阳性对照相比,待检样品管内质控菌种未见明显生长,则说明该样品的抗菌活性在当前方法下未被成功中和,当前方法需要进行修改并重新进行适用性检测。

5 无菌检验操作方法

《中国兽药典》和 9CFR 中,兽用生物制品无菌检验只有直接培养法,样品的最小抽检量和最小取样量均需遵循表 3 规定。

表 3 《中国兽药典》与 9CFR 样品最小抽检量及最小取样量

Tab 3 Minimum number of items to be tested and minimum quantity to be used for each medium in CVP and 9CFR				
样品种类	最小抽检量		最小取样量	
	中国兽药典	9CFR	中国兽药典	9CFR
细菌原液、病毒原液	2 mL	4 mL	0.2 mL	0.2 mL
配苗组织乳剂、稳定剂、半成品	2 mL	/	0.2 mL	/
细胞系、原代细胞、配苗用动物源材料	/	20 mL	/	1.0 mL
灭活菌液、毒液、类毒素	2 mL	/	0.2 mL	/
灭活苗成品	按瓶数百分之一抽样,不少于 5 瓶不多于 10 瓶	10 瓶	装量大于 1.0 mL 时取 1.0 mL,不足 1.0 mL 时取全部内容物	装量大于 2.0 mL 时取 1.0 mL,不足 2.0 mL 时则取一半内容物分别接种 TG 和 TSB
活苗成品	按瓶数百分之一抽样,不少于 5 瓶不多于 10 瓶	10 瓶	原装量大于 1.0 mL 时,恢复至原量,取 1.0 mL;原装量小于 1.0 mL 时,恢复至原量,取全部内容物	0.2 mL

《欧洲药典》中,无菌检验用到的方法分别为膜过滤法和直接培养法。对于具体方法的选择,《欧洲药典》规定如下:只要检品性质允许,在当前使用

方法下无抗菌活性,均使用膜过滤法^[5]。不论选择哪种方法,样品的最小抽检量和最小取样量均需遵循表 4 和表 5 规定。

表 4 《欧洲药典》样品最小抽检量

Tab 4 Minimum number of items to be tested in EP		
剂型	每批产品数量	最小抽检量
注射制剂	- 不超过 100 瓶	抽检 10% 但不少于 4 瓶
	- 超过 100 但不超过 500 瓶	10 瓶
	- 超过 500 瓶	抽检 2% 但不超过 20 瓶(装量大的制品只需抽取 10 瓶)
其他非注射制剂	- 不超过 200 瓶	5% 但不少于 2 瓶
	- 超过 200 瓶	10 瓶
	- 如果产品装量为 1 头份/羽份,按注射制剂进行抽检	
整包固体制品	- 不超过 4 瓶	全部
	- 超过 4 瓶但不超过 50 瓶	20% 但不少于 4 瓶
	- 超过 50 瓶	2% 但不少于 10 瓶

如果不清楚本批产品数量,则按照最大量进行抽检;如果单瓶苗的装量足够接种两种培养基,本表所列出的抽检数量即为无菌检验所需全部抽检数量

表 5 《欧洲药典》样品最小取样量

Tab 5 Minimum quantity to be used for each medium in EP		
样品类型	样品装量	最小取样量
液体	- 少于 1 mL	样品全部装量
	- 1 - 40 mL	样品装量的一半但不少于 1 mL
	- 超过 40 mL 不超过 100 mL	20 mL
	- 超过 100 mL	装量的 10% 但不少于 20 mL
固体	- 不足 50 mg	样品全部装量
	- 超过 50 mg 不足 300 mg	样品装量的一半但不少于 50 mg
	- 超过 300 mg 不足 5 g	150 mg
	- 超过 5 g	500 mg

5.1 膜过滤法 选择滤膜孔径不超过 0.45 μm 、截留微生物能力被验证过的、滤膜直径大小为 50 mm 的膜式过滤器。水溶性制品、油性制品以及稀醇制品选择硝酸纤维素滤膜;浓醇制品选择醋酸纤维素滤膜。如果改变滤膜直径,稀释液以及洗液的体积也需相应调整。过滤装置和滤膜须保证自身无菌,且样品在无菌条件下通过过滤装置过滤,膜需要在无菌条件下取出并且放置于培养基内,或者可直接在无菌条件下将培养基加入到过滤装置中并培养。

5.2 直接培养法 《中国兽药典》《欧洲药典》及 9CFR 中无菌检验均涉及直接培养法,但具体操作有所差别,此部分主要阐述各标准中培养法的差异。

5.2.1 《中国兽药典》直接培养法 样品按表 3 进行抽样后,半成品直接接种 TG、TSB、GA 小管培养 3~7 d 后判定结果。成品样品经过 50 mL TG 小瓶增菌 3 d,再移植至 TG、TSB、GA 小管继续培养 7 d 后判定结果。

5.2.2 《欧洲药典》直接培养法 按照表 4 及表 5 进行抽样,取适量的样品直接接种于培养基,除非有特殊规定,样品接种量不低于培养基体积的 10%。如果待检样品有抗菌活性,需用适宜中和剂中和其抗菌活性或者将样品接入足够量的培养基中以达到稀释的作用。如果样品的量大,则使用经过浓缩的、后续需稀释的培养基就更为合适。如果有必要,可以直接将浓缩的培养基加到样品的容器中。将接种样品后的培养基培养不少于 14 d。在培养期间观察培养基。油苗需每天轻轻摇晃,但是需要注意为了保证硫盐培养基的厌氧环境,摇晃培养基的频率和振幅需控制在最小。

5.2.3 9CFR 直接培养法 含 0.5% 牛肉膏的 TG 培养基、TSB 培养基用于含梭菌类毒素、菌苗、以及菌苗-类毒素制品的无菌检验;含或者不含 0.5% 牛肉膏的 TG 培养基、TSB 培养基用于其他灭活苗、细胞系、原代细胞及动物源材料的无菌检验。

病毒类活苗、原始毒种的无菌检验选用 TSB 培养基(检测细菌和真菌生长均用 TSB,培养温度上进行区分)。需要保证样品可能带有的抑菌或者抑

真菌活性被中和。

细菌类活苗、原始菌种的无菌检验选用 TG(检测细菌)和 TSB(检测真菌)培养基。冻干制品需按照瓶签注明的头份/羽份数用随样品携带的稀释液或者无菌纯水复溶。推荐每 1000 头份/羽份疫苗用 30 mL 水复溶。

除注射外其他给药方式的鸡胚源活疫苗,未检测或者按照常规活苗检验方法检测有菌生长时,选择每毫升含 500 Kinetic (Kersey) 单位青霉素的脑心浸液琼脂平皿进行检验。

6 讨论

6.1 无菌检验的依据 无外源细菌和真菌污染,是兽用生物制品安全应用的重要保障。无菌检验作为检测制品是否污染外源细菌和真菌的检验参数,存在于所有兽用生物制品的质量标准中(《中国兽药典》细菌类活苗中为纯粹检验)^[6]。无菌检验方法敏感性的高低,直接决定结果的准确性。中国和美国对于兽用生物制品的无菌检验均有单独的规定且区分于人用药品,而欧盟国家对于兽药和人药的无菌检验依据是一致的。考虑到检验成本、适用对象、产品工艺及剂型差别,适当的区分更有利于检验技术的推广和开展。

6.2 无菌检验培养基的质量控制 无菌检验培养基的质量直接影响无菌检验结果。培养基质量的关键在于微生物促生长能力,《中国兽药典》中检验方法与国外最大的区别在于用于 TSB 培养基质量控制的质控菌株只有白假丝酵母菌和巴西曲霉,少一株枯草芽孢杆菌。由于 TSB 培养基应用目的是检测需氧菌和真菌的生长,因此使用枯草芽孢杆菌作为检测 TSB 培养基促进需氧菌生长能力的质控菌株是有必要的。对于微生物促生长能力的检测限,国外为培养基需检出 100 CFU 的质控菌,而我国规定需能检出 50 个 CFU 的质控菌,从这个角度来说,我国对于培养基质量要求相对更高。自身无菌也是控制无菌检验培养基质量的重点,国内与国外方法在这方面的差别在于培养时长,《中国兽药典》中规定培养 7 d,国外方法要求 14 d。《美国药典》和《欧洲药典》分别于 2000 年和 1998 年将培养

基的无菌检验周期从 7 d 修改为 14 d, 原因在于考虑到 7 d 的周期可能无法检测到部分“生长缓慢”的微生物, 这为我国无菌检验培养基质量控制提供了参考。此外, 对于培养基的抽样比例也有所区别。《中国兽药典》规定每批次培养基随机抽取 10 支(瓶)进行检验, 《美国药典》和《欧洲药典》规定抽取部分培养基进行检验, 未明确具体抽检数量。

6.3 无菌检验培养基种类及培养条件的选择

《中国兽药典》对于无菌检验培养基的选择比较单一, 而《欧洲药典》和 9CFR 对于无菌检验培养基均做过适当调整, 使培养基可以更适合于当前样品的培养。《欧洲药典》和 9CFR 中 TG 及 TSB 培养基常规培养温度比《中国兽药典》中规定的温度略低, 基于无菌检验的目的主要是检测生产过程中可能污染的环境杂菌, 此类杂菌可适应 30 ~ 35 ℃ 以及 20 ~ 25 ℃ 的培养条件, 然而不同培养温度对方法敏感性的影响还有待研究。《中国兽药典》内无菌检验培养基装量恒定, 《欧洲药典》和 9CFR 内无菌检验培养基装量根据检品不同而不同。理论上来说, 充足的培养基更有利于潜在污染菌的生长。考虑到 TG 培养基的特性, 《欧洲药典》特地对其装量表面积和深度有所规定, 是为了保证检验结束时, 培养基内仍能保证需氧和厌氧两个环境, 对于潜在污染菌的检出是值得借鉴的规定。9CFR 中对于不同制品, 培养基和培养条件均有差别。比如对于病毒类活疫苗, 就不再选用 TG 培养基。这一点可能基于病毒活疫苗生产过程中培养基和培养方式, 不利于厌氧菌的生长, 且有利于营养苛求需氧菌的生长, 故选用 TSB 培养基在 30 ~ 35 ℃ 培养以检出样品中潜在污染菌。对方法的细化有利于提高无菌检验方法的敏感性和准确性。近年来在检验过程中发现, TSB 培养基无法检出组织源制品中污染营养苛求菌(如副猪嗜血杆菌、链球菌等), 导致制品出现“假阴性”结果; 或者因组织强毒污染导致无法客观评价被检疫苗的免疫效力。筛选出营养特性好的培养基用于特殊样品的检验非常值得深入研究。

6.4 无菌检验方法 对于具体无菌检验方法的选择, 除《欧洲药典》中列出且首选膜过滤法外, 《中

国兽药典》和 9CFR 对于兽用生物制品均选用直接培养法^[7]。直接培养法从仪器设备、操作难度、经济成本方面来说都是优于膜过滤法的选择, 推广简单上手容易, 更利于兽用生物制品生产企业对于技术的掌握。然而, 膜过滤法通过对样品中潜在污染菌的浓缩、培养, 从检验结果的准确性来说更胜一筹。而对无菌检验方法控制上, 9CFR 中要求检验时需添加质控菌作为阳性对照, 还需同时设置阴性对照。《欧洲药典》除增加阴阳性对照外, 在检验方法或者检验条件改变时还需进行方法适用性检测保证体系的适用性。对方法的控制可有力确保单次结果的准确性, 排除非样品原因导致的检验结果异常。

《中国兽药典》《欧洲药典》及 9CFR 中对供试品的抽检量各有规定, 与本批制品的生产量直接相关, 然而对于每一瓶样品的接种量却各有不同。《中国兽药典》和 9CFR 中, 样品的接种量是固定的, 与样品分类有关而与本身装量基本无关。《欧洲药典》里, 样品的接种量和样品装量直接相关, 且规定样品接种量不能少于培养基装量的 10%。更为细致的接种量的选择, 对于保障结果准确性, 减少漏检率是有意义的。

《中国兽药典》中对于成品的无菌检验均需按照接种 - 移植的步骤进行, 国外方法均为一步培养, 仅在观察过程中由于疫苗的性质导致结果不易判定时才需进一步移植。统一接种 - 移植的步骤可以稀释防腐剂或抗生素、减少培养基用量, 但是增加了操作程序且稀释了样品用量, 对于某些对营养要求高的菌类, 用 TG 小瓶培养 3 d 可能导致为数不多的菌死亡, 从而造成漏检。

6.5 小结 无菌检验最早于 1932 年出现在《英国药典》中, 作为样品安全性的重要指标, 几十年来世界各国对于其方法的优化和完善一直在进行^[8]。通过对《中国兽药典》《欧洲药典》和 9CFR 系统的比较发现, 我国兽用生物制品无菌检验方法仍然存在优化和探讨的空间。从培养基、培养条件、接种方式进行优化和验证, 结合国情制定更为完善的无菌检验方法, 对我国兽用生物制品的生产和管理具有重要意义。

(下转第 64 页)

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2021.11.10

湖北省蛋鸡养殖用药现状、存在问题与建议

吴晓翠, 曾 勇*, 金秀娥, 董文婷, 文静静, 周 青

(湖北省兽药监察所, 武汉 430070)

[收稿日期] 2021-04-28 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2021) 11-0064-06 [中图分类号] S851.66

[摘 要] 为了解湖北省蛋鸡养殖情况,更好地响应和推广兽药减量化行动,对湖北省 9 个地市内的蛋鸡养殖场基本信息和用药情况进行调研。结果表明:近几年本省蛋鸡养殖场在饲养管理和药物使用方面有一定进步,同时也存在缺乏科学的疫病防治体系、药物使用存在风险隐患等不足,会导致产品质量安全问题。本文分析了产生原因,并提出相关建议,以促进湖北省蛋鸡养殖的科学健康发展,提升本省畜禽产品质量安全水平。

[关键词] 蛋鸡;养殖;药物;质量安全;建议

Current Situation, Problems and Suggestions for the Use of Drugs of Laying Hens Breeding in Hubei Province

WU Xiao-cui, ZENG Yong*, JIN Xiu-e, DONG Wen-ting, WEN Jing-jing, ZHOU Qing

(Hubei Institute of Veterinary Drug Control, Wuhan 430070, China)

Corresponding author: ZENG Yong, E-mail: 413512678@qq.com

作者简介: 吴晓翠, 兽医师, 从事畜产品质量安全检测研究。

通讯作者: 曾 勇。E-mail: 413512678@qq.com

(上接 63 页)

参考文献:

- [1] Koski T A. United States Department of Agriculture; requirements for sterility testing veterinary biologics[J]. Dev Biol Stand, 1974, 23:169-173.
- [2] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典 2020 年版[S]. Committee of China Veterinary Pharmacopoeia. Veterinary Pharmacopoeia of People's Republic of China, 2020 edition[S].
- [3] The European Pharmacopoeia Commission. European Pharmacopoeia, 10.0 edition[S].
- [4] U.S. Code of Federal Regulations title 9 [S].
- [5] Russomanno R, Wollish E G. Method for sterility testing of oils [J]. J Pharm Sci, 1964, 53:1538-1539.
- [6] Daniell E, Bryans T, Darnell K, *et al.* Product sterility testing. . . To test or not to test? That is the question[J]. Biomed Instrum Technol, 2016, 50 Suppl 3: 35-43.
- [7] Christianson G G, Koski T A. A comparison of a disposable membrane filtration system with a direct inoculation system for the sterility testing of veterinary biologics[J]. J Biol Stand, 1983, 11 (2): 83-89.
- [8] Taylor A L. The British Pharmacopoeia, 1932[J]. Bristol Med Chir, 1932, 49(185): 241-245.

(编辑:李文平)