

XXXX

药品企业生产车间洁净环境沉降菌的鉴定分析

甘永琦¹, 阮斌², 零文超¹, 农浚¹, 朱斌^{1*}

(1. 广西壮族自治区食品药品检验所, 南宁 530021; 2. 广西壮族自治区药品监督管理局, 南宁 530029)

摘要 目的: 采集鉴定药品企业生产车间的沉降菌, 以了解药品生产环境微生物的污染程度和潜在风险。方法: 采用 MALDI-TOF-MS 和 16Sr RNA 基因测序方法, 对分离到的微生物进行鉴定分析。结果: 共采集鉴定沉降微生物 1396 株, 分为 89 个属 271 个种, 主要以革兰阳性菌为主, 其中比重较高的为葡萄球菌属、芽孢杆菌属、微球菌属和库克氏菌属。同一区域间分离到的同一种菌(如藤黄微球菌或溶血葡萄球菌)具有高度同源性, 它们之间存在交叉污染的可能。结论: 逐步构建药品生产企业微生物污染信息库, 了解跟踪企业微生物污染重点环节并进行风险控制, 加强对生产车间洁净区的环境控制和管理。
关键词: 洁净环境; 沉降菌; 葡萄球菌属; 微球菌属; 同源性分析

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(XXXX)XX-0001-08
doi: 10.16155/j.0254-1793.XXXX.XX.01

Identification and analysis of sedimentary bacteria of clean environment of production workshop in pharmaceutical manufacturers

GAN Yong-qi¹, RUAN Bin², LING Wen-chao¹, NONG Jun¹, ZHU Bin^{1*}

(1. Guangxi Institute for Food and Drug Control, Nanning 530021, China; 2. Guangxi Medical Products Administration, Nanning 530029, China)

Abstract Objective: To collect and identify sedimentary bacteria in production workshop of pharmaceutical manufacturers in order to find out the pollution degree and potential risk of microorganism in the pharmaceutical production environment. **Methods:** MALDI-TOF-MS and 16Sr RNA gene sequencing were used to identify and analyze the isolated microorganisms. **Results:** A total of 1396 strains of sedimentary microorganisms were collected and identified with the distribution of 89 genera and 271 species, and mainly Gram-positive bacteria. *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Micrococcus* and *Kocuria* were the dominated microorganisms. There was high homology between the same species of bacteria, such as *Micrococcus luteus* or *Staphylococcus haemolyticus*, isolated from the same region, demonstrating the possibility of cross contamination. **Conclusion:** It is important to build microbial pollution information database in pharmaceutical manufacturers gradually, to understand and

* 通信作者 Tel: 18154580302; E-mail: zhubin1226@sina.com
第一作者 Tel: (0771)5827958; E-mail: jackygan_413@163.com

track the key links of microbial pollution in manufacturers for the risk control, to strengthen environmental control and management of clean area in production workshop.

Keywords: clean environment; sedimentary bacteria; *Staphylococcus*; *Micrococcus*; homology analysis

为了进一步规范药品生产质量管理,我国于2010年修订了《药品生产质量管理规范》(GMP),对药品生产中洁净室的控制提出了更高要求。在GMP附录1中明确规定,生产企业应当对微生物数进行动态监测,评估无菌生产的微生物状况。《中华人民共和国药典》2015年版的颁布实施,为药品洁净实验室微生物监测和控制提供了指导原则,建议对受控环境收集到的微生物进行适当水平的鉴定,有助于预期常见菌群,有助于评估清洁或消毒规程、方法、清洁或消毒剂及微生物监测方法的有效性,并有助于污染源的调查。定期开展药品企业的生产车间洁净室日常状态下的沉降菌检测,鉴定污染菌并分析其来源,便于掌握洁净车间使用管理的真实状态,为药品生产提供环境保障,为药品生产企业完善微生物监控体系提供依据。

1 实验方法

1.1 环境沉降菌的采集

本单位及7个区域所完成了对区内包括NN市、LZ市、CZ市、GL市、WZ市、QZ市、BH市、YL市、GG市、BS市、HC市等37家已通过《药品生产质量管理规范》(2010年版修订)的药品生产企业,共417间洁净室(区)环境进行检测。涉及90个生产车间,覆盖

注射剂(包括小容量注射剂、大输液、滴眼液)、口服固体制剂(包括片剂、胶囊剂、颗粒剂、散剂、茶剂等)、口服液体制剂(包括糖浆剂、口服溶液剂、酒剂等)、外用制剂(包括酊剂、洗剂、搽剂、栓剂、软膏剂、凝胶剂等)、原料、中药前处理和提取车间等类型。根据《医药工业洁净室(区)沉降菌的测试方法》(GB/T 16294-2010)以及《药品生产质量管理规范》及其附录(2010年版修订)的有关规定,对药品企业生产车间关键监控点采集沉降菌,收集到的微生物经2次以上胰酪胨大豆琼脂平板(TSA,来源于北京三药科技开发公司,批号1309162)分离纯化,在36.0°C培养24 h后备用。

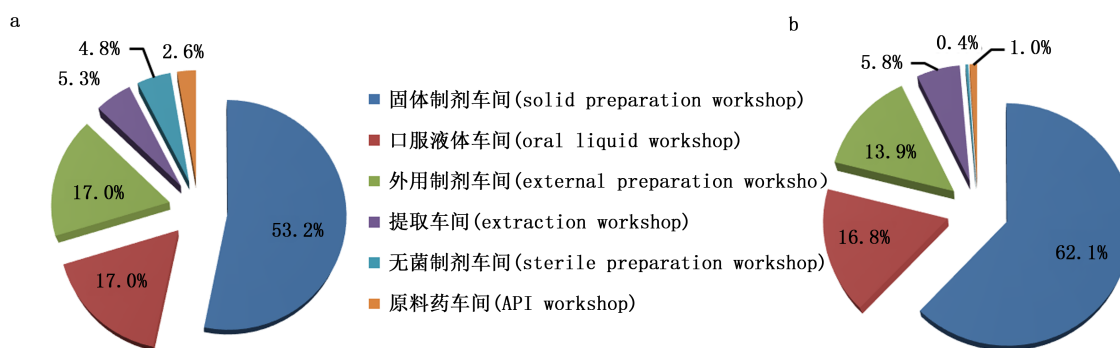
1.2 环境微生物的鉴定

采用MALDI-TOF-MS^[1]和16S rRNA基因测序方法^[2],将收集的微生物菌株进行鉴定和分析。

2 实验结果

2.1 检测统计

根据产品生产类型,将生产车间洁净区划分为固体制剂车间、口服液体车间、外用制剂车间、提取车间、无菌制剂车间、原料药车间。其中,固体制剂车间洁净室(53.2%)、口服液体车间洁净室(17.0%)、外用制剂车间洁净室(17.0%),所占比例较大。见图1。



a. 洁净室(区)数量(number of clean rooms (areas)) b. 检出菌数量(number of bacteria detected)

图1 各生产车间洁净室及检出菌数量分布图

Fig. 1 The quantity distribution of clean room and detection bacteria in each production workshop

2.2 沉降菌分析

2.2.1 总体分析 在417间洁净区检测中,277间采

集到沉降菌(包括细菌和真菌),分离鉴定细菌和酵母菌共计1396株,分别归属于89个属,271个种。检出

的沉降菌中,主要以革兰阳性菌为主,检出较多的菌属分别为不动杆菌属(*Acinetobacter*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、短状杆菌属(*Brachy bacterium*)、棒状杆菌属(*Corynebacterium*)、莫拉氏菌属(*Moraxella*)、库克氏菌属(*Kocuria*)、微杆菌属(*Microbacterium*)、微球菌属(*Micrococcus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)等,其中占比较大的为葡萄球菌属(30.95%)、芽孢杆菌属(11.25%)、微球菌属(10.96%)、库克氏菌属(6.88%),见图2;检出较多的菌种分别为蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、沼泽库克菌(*Kocuria palustris*)、藤黄微球菌(*Micrococcus lute-*

us)、奥斯陆莫拉菌(*Moraxella_sg_Moraxella osloensis*)、污沟罗氏菌(*Rothia amarae*)、孔氏葡萄球菌(*Staphylococcus cohnii*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、溶血葡萄球菌(*Staphylococcus haemolyticus*)、人葡萄球菌(*Staphylococcus hominis*)、沃氏葡萄球菌(*Staphylococcus warneri*),其中占比较大的为藤黄微球菌(10.53%)、孔氏葡萄球菌(7.45%)、溶血葡萄球菌(5.37%)、沃氏葡萄球菌(4.37%)、表皮葡萄球菌(4.37%),见图3。在采集到沉降菌的277间洁净室中,125间有霉菌污染。

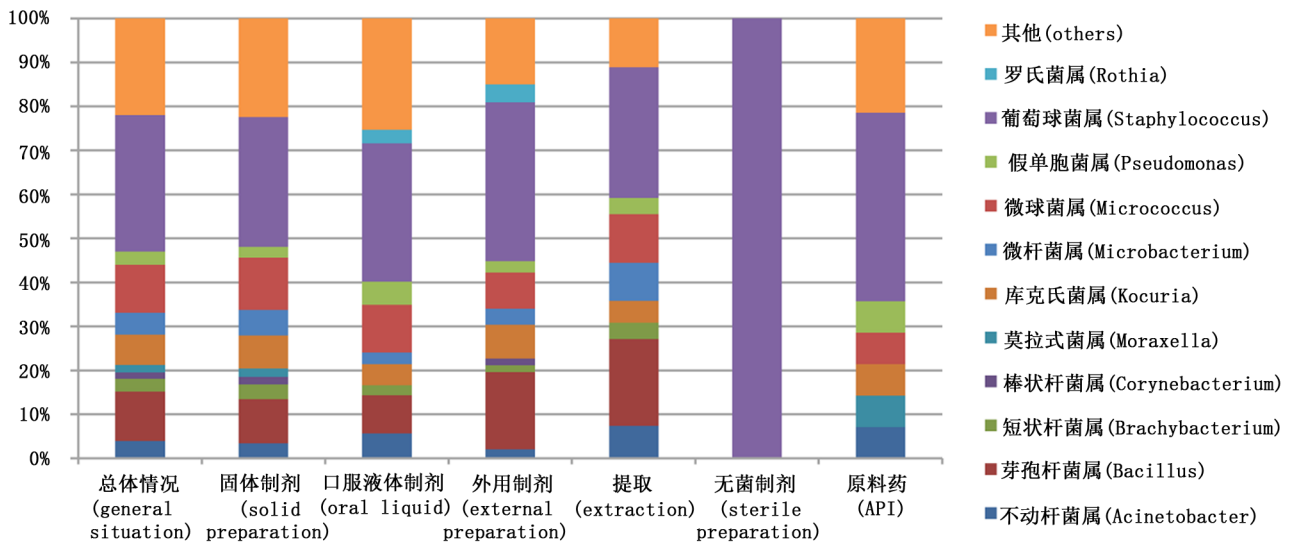


图2 各车间沉降菌中检出的菌属分布

Fig. 2 Distribution of genera of bacteria detected in each workshop

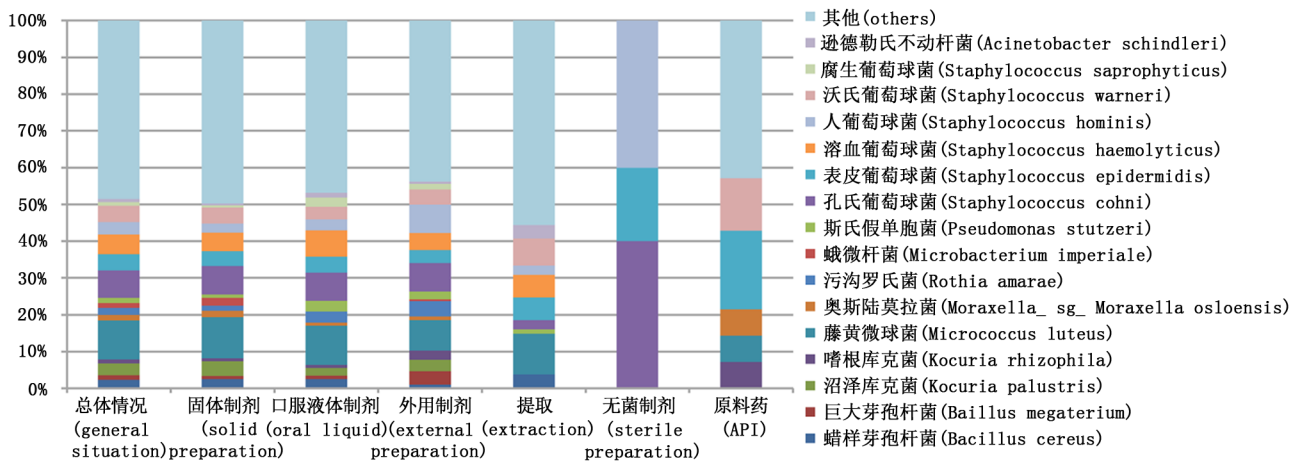


图3 各车间沉降菌中检出的菌种分布

Fig. 3 Distribution of species of bacteria detected in each workshop

2.2.2 无菌制剂车间沉降菌分析 在无菌制剂车间的洁净区采集到的沉降菌中,分离鉴定细菌5株,分别归属于1个属,3个种,即葡萄球菌属中的人葡萄球菌、表皮葡萄球菌、孔氏葡萄球菌,见图4。

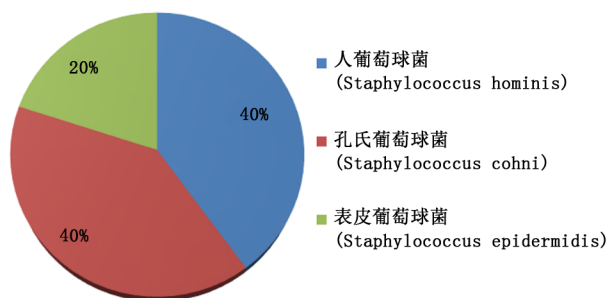


图4 无菌制剂车间中检出的沉降菌

Fig. 4 Bacteria detected in sterile preparation workshop

2.2.3 沉降菌不合格洁净室情况分析 3家药品生产企业的4间洁净区沉降菌项目不合格,共同检出的菌属有芽孢杆菌属、库克氏菌属、葡萄球菌属,其中以葡萄球菌属污染为主,见表1。

2.2.4 病原微生物分析 根据《人间传染的病原微生物

物名录》(2006年)的细菌分类名录,分析各药品生产企业洁净区沉降菌检测中采集到的致病菌情况。经分离鉴定,检出有包括不动杆菌属、芽孢杆菌属、棒状杆菌属、肠杆菌属(*Enterobacter*)、克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)、变形杆菌属(*Proteus*)、普罗维登斯菌属(*Providencia*)、葡萄球菌属的14种病原微生物,主要涉及GXHBY、GXNZ、GXCZT、GXQZ、YLFT、QCRY、GXHB、NNDZ等28家药品生产企业。检出率较高的为蜡样芽孢杆菌和表皮葡萄球菌,在灌装(或灌装)间、制粒间、分装间、混合间、填充间、包装间和压片间等均有检出,见表2。

2.2.5 沉降菌的同源性分析 取在此次洁净区沉降菌检测中采集鉴定的、不同来源的藤黄微球菌(*Micrococcus luteus*)和溶血葡萄球菌(*Staphylococcus haemolyticus*),用MEGA 6.0软件进行16S rRNA基因序列聚类分析,构建微生物同源性分析图(见图5-6)。结果显示,同一生产企业不同洁净区间或同一地域不同生产企业间采集到的微生物具有较高的同源性,亲缘关系较近。

表1 沉降菌不合格洁净区检出情况

Tab. 1 Detection of sedimentary bacteria in unqualified clean area

生产企业 (manufacturer)	洁净区/等级 (clean area/ cleanliness level)	沉降菌 \bar{X} (cfu·皿 ⁻¹) (sedimentary bacteria \bar{X}) (cfu·dish ⁻¹)	检出菌 (detection bacteria)
GXHB	胶囊填充间 (capsule filling room)/D	300	蜡样芽孢杆菌(<i>Bacillus cereus</i>)、藤黄微球菌(<i>Micrococcus luteus</i>)、玫瑰色库克菌(<i>Kocuria roseus</i>)、罗西法尔芽孢杆菌(<i>Bacillus luciferensis</i>)、沼泽库克菌(<i>Kocuria palustris</i>)、融酪大球菌(<i>Macrococcus caseolyticus</i>)、孔氏葡萄球菌(<i>Staphylococcus cohnii</i>)、枯草芽孢杆菌(<i>Bacillus subtilis</i>)
	沸腾制粒间 (boiling granulation room)/D	125	蛾微杆菌(<i>Microbacterium imperiale</i>)、人葡萄球菌(<i>Staphylococcus hominis</i>)、海迪茨氏菌(<i>Dietzia maris</i>)、蜡样芽孢杆菌(<i>Bacillus cereus</i>)、弯曲芽孢杆菌(<i>Bacillus flexus</i>)、藤黄微球菌(<i>Micrococcus luteus</i>)、海生库克菌(<i>Kocuria marina</i>)、斯氏假单胞菌(<i>Pseudomonas stutzeri</i>)、婴儿芽孢杆菌(<i>Bacillus infantis</i>)、海泥短小杆菌(<i>Curtobacterium oceanosedimentum</i>)、融酪大球菌(<i>Macrococcus caseolyticus</i>)、枯草芽孢杆菌(<i>Bacillus subtilis</i>)
GXNZ	压片室(tablets compression room)/D	185	藤黄微球菌(<i>Micrococcus luteus</i>)、溶血葡萄球菌(<i>Staphylococcus haemolyticus</i>)、苏云金芽孢杆菌(<i>Bacillus thuringiensis</i>)、乳酪短杆菌(<i>Brevibacterium casei</i>)、孔氏葡萄球菌(<i>Staphylococcus cohnii</i>)、鲍曼不动杆菌(<i>Acinetobacter baumannii</i>)、粘金黄杆菌(<i>Chryseobacterium gleum</i>)、斯氏皮肤球菌(<i>Kytococcus schroeteri</i>)、阿尔莱特葡萄球菌(<i>Staphylococcus arlettae</i>)、融酪大球菌(<i>Macrococcus caseolyticus</i>)、沼泽库克菌(<i>Kocuria palustris</i>)
NNDZ	中药灭菌后室(Chinese herbal sterilization posterior room)/D	136	气生微杆菌(<i>Microbacterium aerolatum</i>)、蜡样芽孢杆菌(<i>Bacillus cereus</i>)、表皮葡萄球菌(<i>Staphylococcus epidermidis</i>)、人纤维单胞菌(<i>Cellulomonas hominis</i>)、环状芽孢杆菌(<i>Bacillus circulans</i>)、根瘤土壤杆菌(<i>Agrobacterium tumefaciens</i>)、微黄库克菌(<i>Kocuria subflava</i>)、霉菌(Mould)

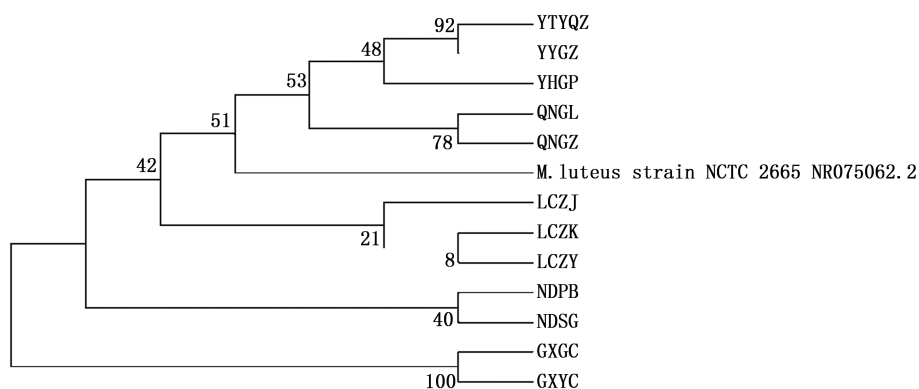
表2 各药品生产企业洁净区检出的致病菌

Tab. 2 Pathogenic bacteria detected in clean areas of pharmaceutical manufacturers

致病菌 (pathogenic bacteria)	药品生产企业 (pharmaceutical manufacturer)	生产车间/洁净区 (production workshop/clean area)
鲁非不动杆菌 (<i>Acinetobacter lwoffii</i>)	GXHB、NNBH、NNHX	①固体制剂车间(solid preparation workshop)/制粒间(granulation room)、混合制粒间(mixed granulation room), ②原料药车间(API workshop)/包装间(packaging room)
鲍氏不动杆菌 (<i>Acinetobacter baumannii</i>)	GXHB、GXNZ、YLFT、 GXYKD、PLYIY、GXQZ	①固体制剂车间(solid preparation workshop)/压片间(tablets compression room)、总混间(blending room)、包衣操作间(coating operation room)、制浆间(pulping room)、喷雾配液间(spray dispensing room), ②口服液体车间(oral liquid workshop)/糖浆剂灌装间(syrup filling room)、配液间(dispensing room)、口服液灌装间(oral liquid filling and sealing room)
蜡样芽孢杆菌 (<i>Bacillus cereus</i>)	GXNZ、YLFT、GXHB、YLZY、 GXCZT、NNKN、GXCH、NNDZ、 GXQZ、GXHTB、GXDLD、GXTN	①固体制剂车间(solid preparation workshop)/制粒间(granulation room)、包衣操作间(coating operation room)、沸腾制粒间(boiling granulation room)、颗粒分装间(particle separation room)、胶囊填充间(capsule filling room)、粉碎间(crushing room)、片剂分装间(tablet subpackage room)、制粒干燥间(granulation drying room)、压片间(tablets compression room)、铝塑包装间(aluminum plastic packaging room)、配浆间(coating mixture preparing room), ②口服液体车间(oral liquid workshop)/气闸-拆外包(air brake-unpacking)、灌装间(filling and sealing room)、气闸-煮糖室(air brake-sugar boiling room), ③外用制剂车间(external preparation workshop)/灌装间(filling room)、洁净走道(clean corridor), ④提取车间(extraction workshop)/灭菌后室(post sterilization room)、中间站(intermediate station)
极小棒杆菌 (<i>Corynebacterium minutissimum</i>)	GXJHT	提取车间(extraction workshop)/粉碎间(crushing room)
阿氏肠杆菌 (<i>Enterobacter asburiae</i>)	GXHBY	口服液体车间(oral liquid workshop)/分装间(subpackage room)、配液间(dispensing room)
阴沟肠杆菌 (<i>Enterobacter cloacae</i>)	GXHBY	①固体制剂车间(solid preparation workshop)/制粒间(granulation room), ②口服液体车间(oral liquid workshop)/分装间(subpackage room)
霍氏肠杆菌 (<i>Enterobacter hormaechei</i>)	GXCZT	固体制剂车间(solid preparation workshop)/颗粒分装间(particle separation room)
路德维希肠杆菌 (<i>Enterobacter ludwigii</i>)	GXHBY	固体制剂车间(solid preparation workshop)/总混间(blending room)
粉尘肠杆菌 (<i>Enterobacter pulveris</i>)	YLFT	口服液体车间(oral liquid workshop)/糖浆剂灌装间(syrup filling room)、配液间(dispensing room)
肺炎克雷伯菌 (<i>Klebsiella pneumonia</i>)	GXHBY、GXNZ、GXCZT	固体制剂车间(solid preparation workshop)/制粒间(granulation room)、高效包衣间(high efficiency coating room)
奇异变形杆菌 (<i>Proteus mirabilis</i>)	GXCZT、QCRY	固体制剂车间(solid preparation workshop)/高效包衣间(high efficiency coating room)、颗粒混合制粒间(particle blending and granulation room)
雷极普罗维登斯菌 (<i>Providencia rettgeri</i>)	QCRY	口服液体车间(oral liquid workshop)/配液间(dispensing room)
金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	GXHB、GXCZT、NNDZ、GXBK	①固体制剂车间(solid preparation workshop)/片剂分装间(tablet subpackage room)、颗粒分装间(particle separation room)、制粒干燥间(granulation drying room), ②外用制剂车间(external preparation workshop)/灌装间(filling room)、称量备料间(weighing and preparation room)

表2 (续)

致病菌 (pathogenic bacteria)	药品生产企业 (pharmaceutical manufacturer)	生产车间/洁净区 (production workshop/clean area)
表皮葡萄球菌(<i>Staphylococcus epidermidis</i>)	GXBRT、GXBK、GXCH、 GXCZT、DHYG、GXDL、 GXHB、NNBH、NNDZ、NNHX、 GXQZ、QCRY、GXSBT、GXSM、 WZSJ、GXYKD、LYFT、LYZY、 GLGXW、GLHNW、NNKN、 PLYY、GXTN	①固体制剂车间(solid preparation workshop)/铝塑包装间(aluminum plastic packaging room)、颗粒分装间(particle separation room)、制粒总混间(granulation final blending room)、压片间(tablets compression room)、胶囊填充间(capsule filling room)、高效包衣间(high efficiency coating room)、制粒干燥间(granulation drying room)、收粉间(powder collection room)、混合制粒间(mixed granulation room)、糖衣包衣间(sugar coating room)、配料间(weighing room)、煮浆间(siruping room)、袋分间(bagging room)、颗粒暂存间(particle temporary storage room)、内包间(immediate package room)、称量间(weighing room)、炼蜜间(honey refining room)、片剂制粒间(tablet granulation room), ②口服液体车间(oral liquid workshop)/配料间(weighing room)、储藏室(storeroom)、灌装间(filling room)、灌封间(filling and sealing room)、配液间(dispensing room), ③外用制剂车间(external preparation workshop)/灌封间(filling and sealing room)、配液间(dispensing room)、灌装间(filling room)、灌轧间(filling and rolling room)、配制间(preparation room), ④提取车间(extraction workshop)/收膏间(paste preparation room)、真空干燥间(vacuum drying room)、灭菌后室(post sterilization room)、中药粉碎间(Chinese herbal crushing room), ⑤原料药车间(API workshop)/包装间(packaging room)、包材暂存间(packaging material temporary storage room), ⑥无菌制剂车间(sterile preparation workshop)/灌封室灌封A区(potting room potting area A)



注(note):①GXTN: YTYQZ-口服液体-气闸(煮糖室); YLZY: YYGZ-固体制剂-中间站02-320, YHGP-固体制剂-片剂分装间(YTYQZ- oral liquid workshop- air brake (sugar boiling room)); YLZY: YYGZ- solid preparation workshop- intermediate station 02-320, YHGP- solid preparation workshop- tablet subpackage room);②GXNZ: QNGL-固体制剂-铝塑分装间, QNGZ-固体制剂-中间体存放间(QNGL- solid preparation workshop- aluminum plastic packaging room, QNGZ- solid preparation workshop- intermediate storage room);③GXZT: LCZJ-固体制剂-胶囊填充室, LCZK-固体制剂-颗粒分装室, LCZY-固体制剂-压片一室(LCZJ-solid preparation workshop- capsule filling room, LCZK- solid preparation workshop- particle separation room, LCZY- solid preparation workshop- tablets compression room 1);④DHYG: NDPB-固体制剂-泡罩包装室, NDSG-提取车间-收膏室(NDPB- solid preparation workshop- blister packaging room, NDSG- extraction workshop- paste preparation room);⑤GLGXW: GXGC-固体制剂-称量间, GXYC-口服液体-称量间(GXGC- solid preparation workshop- weighing room, GXYC- oral liquid workshop- weighing room)

图5 藤黄微球菌 16S rRNA 基因序列同源性分析树状图

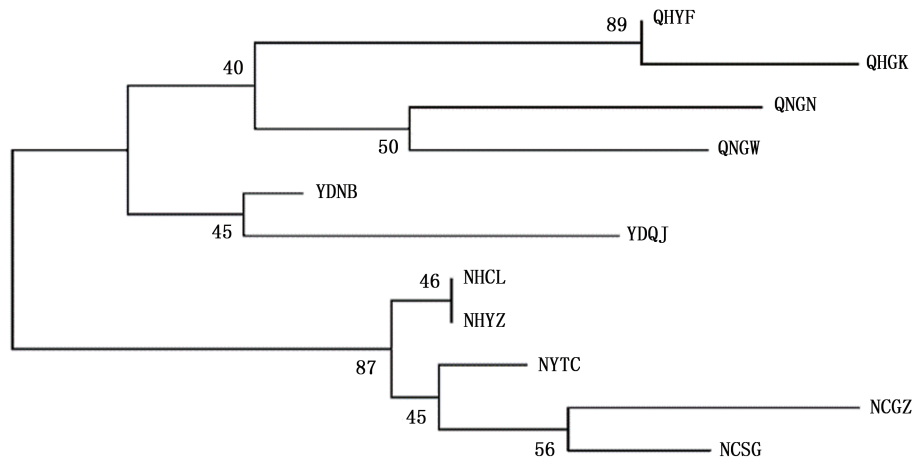
Fig. 5 Dendrogram of homology analysis of 16S rRNA gene sequence of *Micrococcus luteus*

3 讨论

3.1 微生物污染源分析

从整体来看,检出的沉降菌以葡萄球菌属、芽孢杆菌属、微球菌属和库克氏菌属等为主。孔氏葡萄球菌、表皮葡萄球菌、溶血葡萄球菌、人葡萄球菌、沃氏

葡萄球菌为污染较多的葡萄球菌属,而藤黄微球菌是污染较多的微球菌属,这些菌通常附植于人的皮肤、口腔及上呼吸道黏膜。通过对不同洁净区检出较多的藤黄微球菌和溶血葡萄球菌进行 16S rRNA 基因序列聚类分析发现,同一区域间的微生物存在交叉污染



注(note):①GXHBY:QHYF-口服液体-分装间,QHGK-固体制剂-颗粒分装间;GXNZ:QNGN-固体制剂-压片间,QNGW-固体制剂-中间体存放间(QHYF-oral liquid workshop-subpackage room,QHGK-solid preparation workshop-particle separation room;GXNZ:QNGN-solid preparation workshop-tablets compression room,QNGW-solid preparation workshop-intermediate storage room);②GXDL:YDNB-外用制剂-内包材暂存,YDQJ-外用制剂-气闸室(YDNB-external preparation workshop-internal packaging material storage room,YDQJ-external preparation workshop-airlock room);③GXHTB:NHCL-口服液体-称量室,NHYZ-提取车间-药粉周转间;GXCH:NCGZ-提取车间-干燥间,NCSG-提取车间-收膏间;GXYKD:NYTC-固体制剂-填充间(NHCL-oral liquid workshop-weighing room,NHYZ-extraction workshop-powder turnover room;GXCH:NCGZ-extraction workshop-drying room,NCSG-extraction workshop-paste preparation room;GXYKD:NYTC-solid preparation workshop-filling room)

图6 溶血葡萄球菌 16S rRNA 基因序列同源性分析树状图

Fig. 6 Dendrogram of homology analysis of 16S rRNA gene sequence of *Staphylococcus haemolyticus*

的可能。在洁净区中检出上述菌,尤其在无菌制剂车间中检出,说明从事药品生产人员缺乏无菌操作意识,带入人性污染。芽孢杆菌属^[3]是土壤和植物微生物生态优势种群之一,可产生内生孢子,具有较强的抵抗外界环境压力的能力,能够抵抗所生存的环境中由于干燥、热和紫外线辐射所造成的伤害,维持自身能力不受影响,洁净区中检出该类菌主要是由于原料、辅料或包装材料等灭菌不彻底引入的污染。库克氏菌属为放线菌门的革兰氏阳性菌属,以沼泽库克菌和嗜根库克菌检出较多。有文献报道^[4]这两种菌为香蒲根面的污染菌,香蒲通常作为编织品和造纸的原料,在洁净区中检出该类菌,很可能是由于原料、辅料等的外包装材料灭菌不彻底带入的污染。

在部分药品生产企业洁净区中还检出包括不动杆菌属^[5]、芽孢杆菌属^[6]、棒状杆菌属^[7]、肠杆菌属^[8]、克雷伯氏菌属^[9]、变形杆菌属^[10]、普罗维登斯菌属^[11]、葡萄球菌属^[12]的14种条件致病菌,这些菌是《人间传染的病原微生物名录》(2006年)的细菌分类名录中收录的病原菌,均为条件致病菌,当机体抵抗力降低时易引起机体感染,也是引起医院内感染的重要机会致病菌。如不动杆菌属可引起呼吸道感染、败血症、脑膜炎、心内膜炎、伤口及皮肤感染、泌尿生殖道感染

等,重症者可导致死亡。上述致病菌不仅给从业人员带来危害,而且还对生产药品带来一定的风险。

因此,各药品生产企业应根据《药品生产质量管理规范》及其附录(2010年版修订)的要求进一步加大从业人员的培训力度,不断提高相关人员的无菌操作意识,严格按照无菌操作进行更衣、清洁和消毒工作,同时还需加强环境和外源物品表面灭菌消毒的管理和监控。

3.2 微生物污染控制

在部分生产关键区域,如灌装(或灌封)间、制粒间、分装间、混合间、填充间和压片间等均检出较多的污染菌,也是沉降菌不合格的主要区域。在每次生产前后应加强对上述区域的工作台面、设备、地面、地漏的清洁消毒,特别是2个区域连接部分的隔离效果和消毒保障。企业应严格控制人员更衣和清洁程序,重点关注人员手套、衣服和帽子等的表面微生物,规范进入核心操作区域工作人员的无菌操作步骤,增加消毒灭菌频率并有计划地更换消毒剂。针对无菌药品的从业人员,尤其是质量管理人员和直接从事生产操作的人员应加强无菌生产和风险管理的理念,为药品的安全生产提供必要保障。

2.3 制药企业风险管理

应逐步构建药品生产企业微生物污染信息库,了解跟踪企业微生物污染重点环节,进行风险控制。此次检测中部分企业洁净区存在较高的污染风险水平:①微生物污染严重,沉降菌项目不合格,多间洁净区检出条件致病菌;②防虫设施不完善,洁净区内有蚂蚁;③微生物污染较多,多间洁净区沉降菌接近限量值,并检出条件致病菌;④部分洁净区微生物污染较多,大颗粒悬浮粒子接近限量值,并检出条件致病菌。存在上述情况的企业应加强对生产车间洁净区的环境控制及管理,定期对微生物污染情况进行风险评估,加强人员管控,完善质量体系。

参考文献

- [1] 甘永琦, 农浚, 樊兰艳, 等. 中药饮片耐热菌微生物类群的分析[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(1): 2274
GAN YQ, NONG J, FAN LY, *et al.* Analysis of microbial community of heat resistant microorganisms in Chinese herbal pieces [J]. *China J Chin Mater Med*, 2018, 43(1): 2274
- [2] 甘永琦, 农浚, 朱荣, 等. 复方桔梗麻黄碱糖浆(Ⅱ)的微生物污染状况分析及抑菌剂效力考察[J]. 中国药学杂志, 2018, 53(11) 925
GAN YQ, NONG J, ZHU R, *et al.* Analysis of microbial contamination and investigation on bacteriostatic efficacy of compound balloonflowers and ephedrine syrup(Ⅱ) [J]. *Chin Pharm J*, 2018, 53(11) 925
- [3] BERG G, GRUBE M, SCHLOTTER M, *et al.* The plant microbiome and its importance for plant and human health [J]. *Front Microbiol*, 2014, 5: 491
- [4] KOVACS G, PRADELLA S P, STACKEBRANDT E, *et al.* *Kocuria palustris* sp. nov. and *Kocuria rhizophila* sp. nov. isolated from the rhizoplane of the narrow-leaved cattail (*Typha angustifolia*) [J]. *Intern J System Bacteriol*, 1999, 49 Pt 1(1):167
- [5] 王传鹏, 黄辉萍, 叶丽娟, 等. 泛耐药鲍氏不动杆菌医院感染危险因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(10): 1456
WANG CP, HUANG HP, YE LJ, *et al.* Risk factors for pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* nosocomial infection [J]. *Chin J Nosocomiol*, 2019, 29(10): 1456
- [6] 宋衍燕, 郝民, 王海滨, 等. 北京朝阳164株蜡样芽胞杆菌耐药性及腹泻毒力基因分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29(14): 1706
SONG YY, HAO M, WANG HB, *et al.* Drug resistance and diarrhea virulence genes analysis of 164 strains of *Bacillus cereus* in Chaoyang, Beijing [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2019, 29(14): 1706
- [7] 王彦方, 俞颂平, 施天严, 等. 感染性眼病患者感染病原菌分布与耐药性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28(6): 906
WANG YF, YU SP, SHI TY, *et al.* Distribution and drug resistance of pathogens causing infections in patients with infectious ophthalmopathy [J]. *Chin J Nosocomiol*, 2018, 28(6): 906
- [8] 刘真真, 贾楠, 李笃军, 等. 新生儿重症监护室分离的碳青霉烯类耐药阴沟肠杆菌的分子流行病学[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(18): 2855
LIU ZZ, JIA N, LI DJ, *et al.* Molecular epidemiological characteristics of carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* isolated from neonatal intensive care unit [J]. *Chin J Nosocomiol*, 2019, 29(18): 2855
- [9] OGAWA W, LI D W, YU P, *et al.* Multidrug resistance in *Klebsiella pneumoniae* MGH78578 and cloning of genes responsible for the resistance [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(8):1505
- [10] 霍哲, 白书媛, 高波, 等. 一起检出副溶血性弧菌与奇异变形杆菌食物中毒事件的分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2014(22): 3254
HUO Z, BAI SY, GAO B, *et al.* A study on the food poisoning isolated *Vibrio parahaemolyticus* and *Proteus mirabilis* [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2014(22):3254
- [11] O'HARA CM, BRENNER FW, MILLER JM. classification, identification, and clinical significance, of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella* [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2000, 13(4):534
- [12] 陈庆宁, 王小川, 杜鹏, 等. 皮肤病患者感染病原菌分布与耐药性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, v.26(03):161
CHEN QN, WANG XC, DU P, *et al.* Bacterial distribution and drug resistance of infectious pathogens in patients with skin disorders [J]. *Chin J Nosocomiol*, 2016, v.26(03):161

(本文于2019年10月17日收到)