

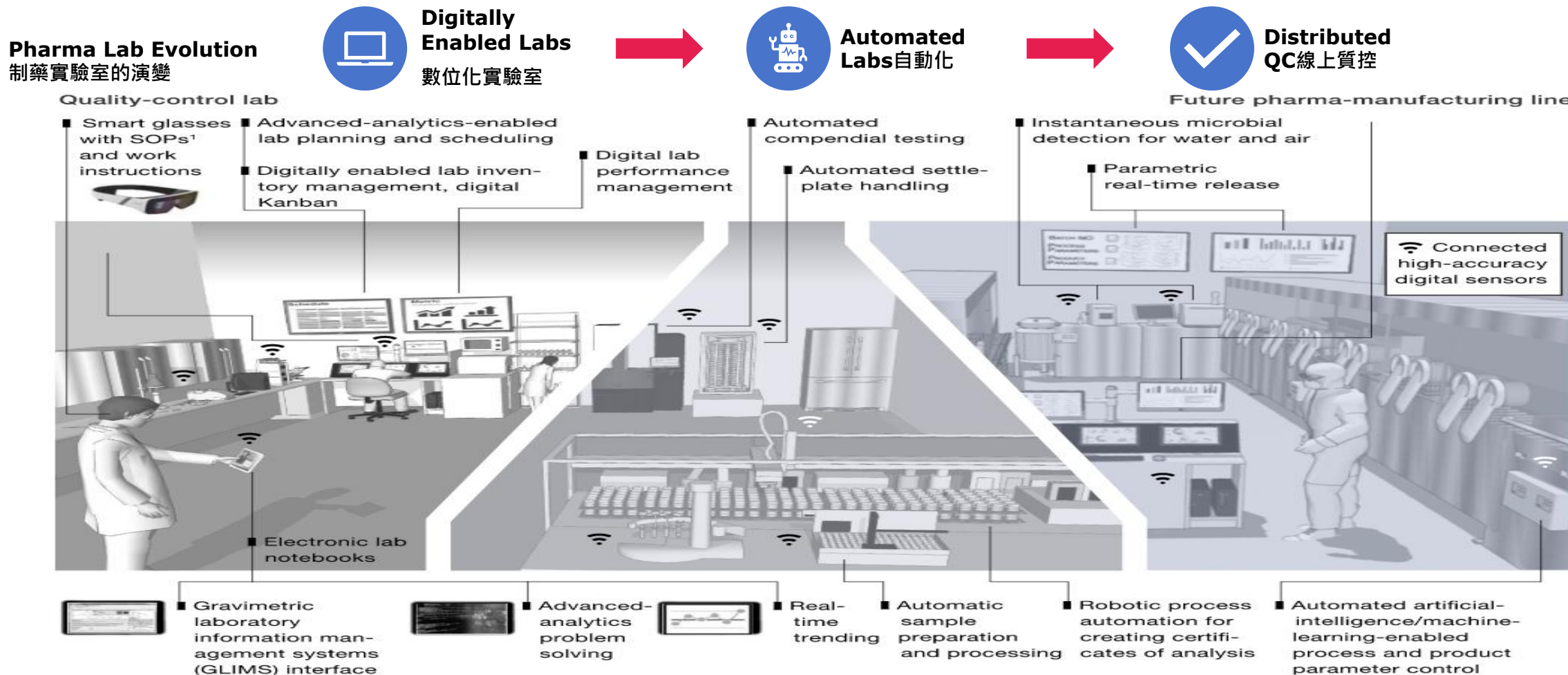
全自動菌落計數工作站提供全方位藥品QC限量測試的解決方案

-環境監測、生物負荷和水測試

Speaker: 繆若禮 (Marco)

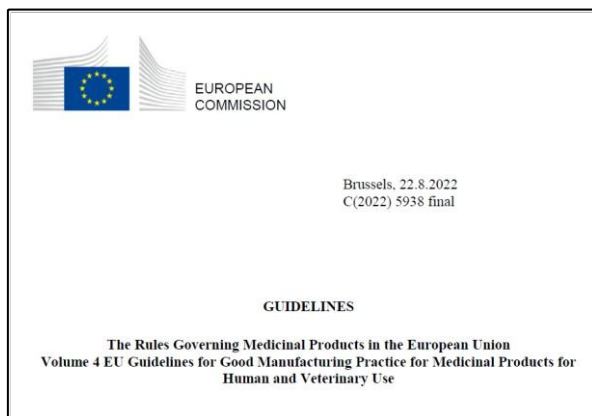
Pharmaceutical QC Development Trend (制藥品質控制發展趨勢)

數位化和自動化將通過引入新的工作方式來改變實驗室和工廠的品質控制工作



Source: <https://www.mckinsey.com/industries/pharmaceuticals-and-medical-products/our-insights/digitization-automation-and-online-testing-the-future-of-pharma-quality-control>

法規進展有利於RMM的推進

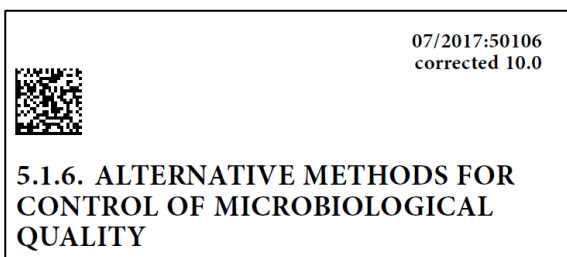


歐盟 GMP 附錄 1

對藥品製造商的重大影響

應考慮將 RMM 用於 CCS (污染控制策略)

實施日期為 2023 年



Revision of Pharm. Eur. chapter 5.1.6

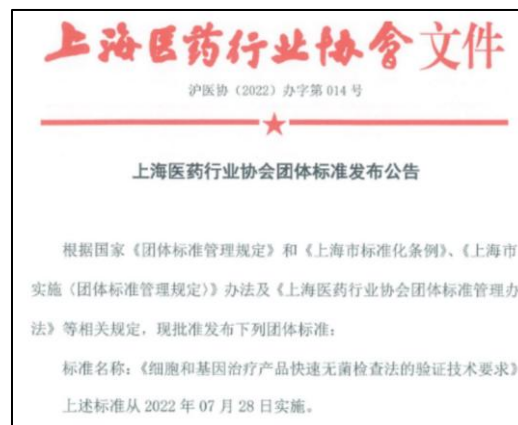
(控制微生物品質的替代方法的修訂)

將進一步促進 RMM 的實施



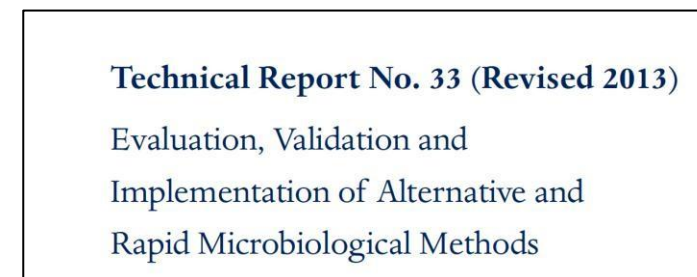
9201 藥品微生物檢驗替代方法驗證指導原則公示稿 (第二次)

明確替代方法可應用於生產過程中的微生物品質控制和終產品放行



團標 T/SHA 012-2022 細胞和基因治療產品快速無菌檢查法的驗證技術要求

彌補了國內細胞和基因治療產品快速無菌檢查法的驗證技術領域的空白



PDA TR 33在修訂中

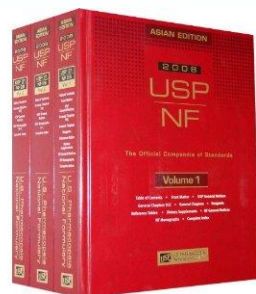
(新微生物測試方法的評估、驗證和實施)

審核中的草稿



USP: 1071 Rapid Microbial Tests for Release of Sterile Short-Life Products: A Risk-Based Approach (用於無菌短壽命產品的放行: 基於風險的方法)

RMM 是 USP MEC (微生物專家組) 的“最優先工作之一”正在修訂/定稿的幾個章節



目錄

A. 環境監測、生物負荷和水測試回顧

B. 法規要求

C. AI圖像識別技術分析

(全自動菌落計數工作站)



A

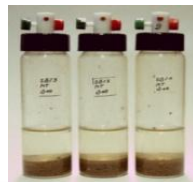
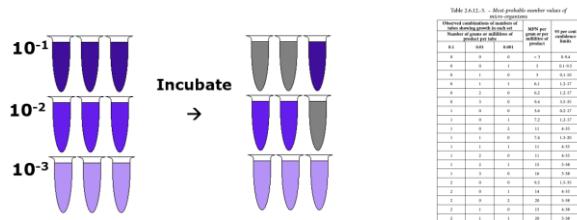
生物負荷和水測試回顧與法規要求



1. 微生物計數法（4大分類）
2. 微生物計數法法規要求
3. 膜過濾法法規要求

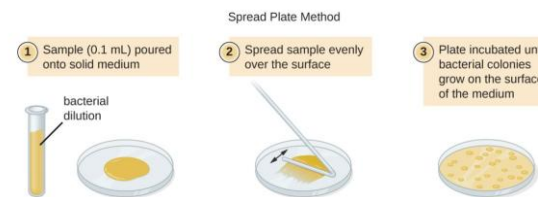
Most Probable Number (MPN法)

- 基於統計學方法
- 測試至少3次不同稀釋度 (10⁻¹至10⁻³) 的重複
- 結果與MPN參考表進行比較



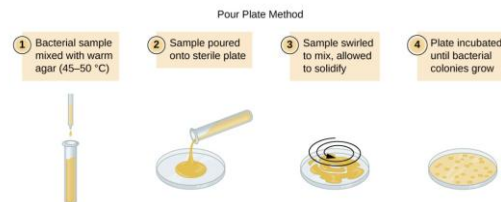
Spread Plate Method (塗布法)

- 將0.1ml樣品鋪展在培養基板上
- 孵化和計數



Pour Plate Method (傾注平板法)

- 將1ml樣品倒入具有熔解培養基的培養皿中
- 孵化和計數



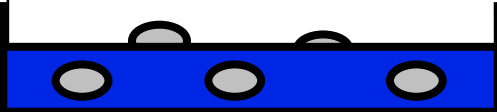
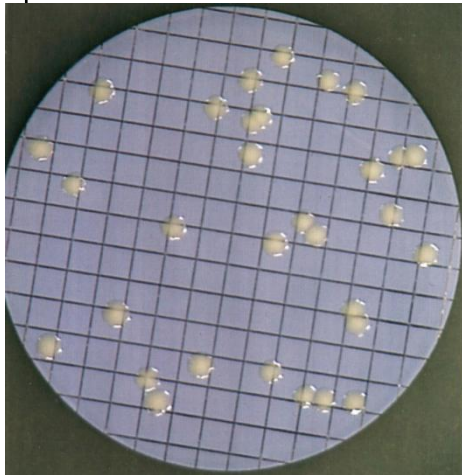
Membrane Filtration Method (膜過濾法)

- 使用真空泵過濾多達250ml樣品
- 篩檢程式在培養基平板上孵育
- 操作員計數



微生物計數法

通常膜過濾法與傾注平板法用得較多

	塗布法	傾注平板法	膜過濾法
測試樣品體積	最多大概0.2 mL	最多大概2 mL	理論上無限量 只要膜可以用
菌落圖像			
			

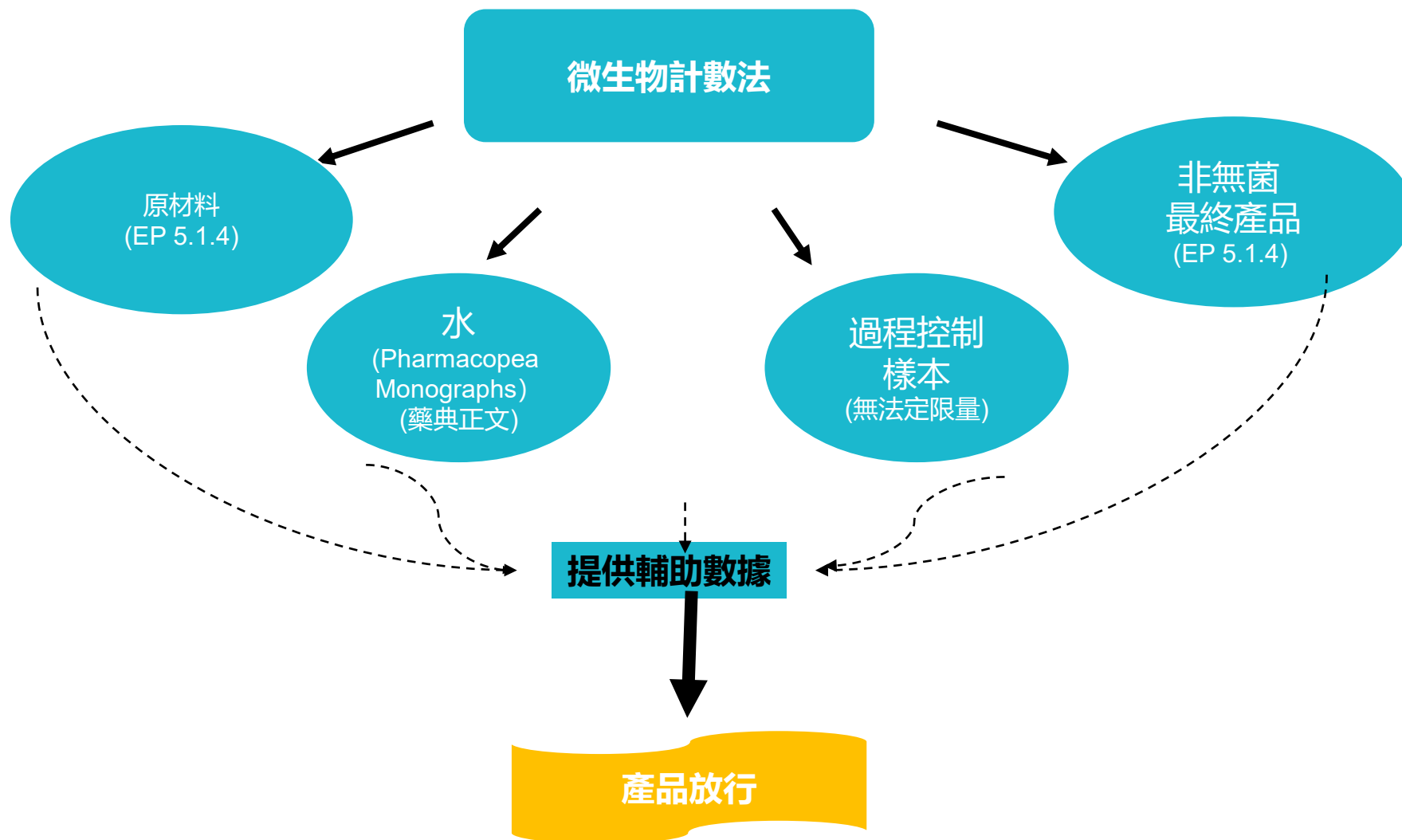
微生物計數法

通常膜過濾法與傾注平板法用得較多

Method方法	Advantages優點	Disadvantages缺點
Streak Plate塗布 Spread Plate Pour Plate傾注	Fast and Easy快速簡單	有限採樣量<1ml
	較多的培養基選擇	較小的菌落
	無法過濾的樣品	樣本抑制微生物生長
Most Probable Number (MPN)	增加檢測機率	需要更多的複製樣
Membrane Filtration (濾膜法)	Rinses inhibitors清洗過程	只適用於可過濾樣本
	大採樣量 (up to 1L)	固體成分做成濾膜堵塞

制藥工業：生物負荷 (Bioburden)

測試專案與接收標準



非無菌藥品的驗收標準

Table 5.1.4.-1. – Acceptance criteria for microbiological quality of non-sterile dosage forms

Route of administration	TAMC (CFU/g or CFU/mL)	TYMC (CFU/g or CFU/mL)	Specified micro-organisms
Non-aqueous preparations for oral use	10 ³	10 ²	Absence of <i>Escherichia coli</i> (1 g or 1 mL)
Aqueous preparations for oral use	10 ²	10 ¹	Absence of <i>Escherichia coli</i> (1 g or 1 mL)
Rectal use	10 ³	10 ²	-
Oromucosal use Gingival use Cutaneous use Nasal use Auricular use	10 ²	10 ¹	Absence of <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g or 1 mL) Absence of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g or 1 mL)
Vaginal use	10 ²	10 ¹	Absence of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g or 1 mL) Absence of <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g or 1 mL) Absence of <i>Candida albicans</i> (1 g or 1 mL)
Transdermal patches (limits for one patch including adhesive layer and backing)	10 ²	10 ¹	Absence of <i>Staphylococcus aureus</i> (1 patch) Absence of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 patch)
Inhalation use (special requirements apply to liquid preparations for nebulisation)	10 ²	10 ¹	Absence of <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g or 1 mL) Absence of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g or 1 mL) Absence of bile-tolerant gram-negative bacteria (1 g or 1 mL)
◆ Special Ph. Eur. provision for oral dosage forms containing raw materials of natural (animal, vegetal or mineral) origin for which antimicrobial pretreatment is not feasible and for which the competent authority accepts TAMC of the raw material exceeding 10 ³ CFU/g or CFU/mL.	10 ⁴	10 ²	Not more than 10 ² CFU of bile-tolerant gram-negative bacteria (1 g or 1 mL) Absence of <i>Salmonella</i> (10 g or 10 mL) Absence of <i>Escherichia coli</i> (1 g or 1 mL) Absence of <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g or 1 mL)◆
◆ Special Ph. Eur. provision for premixes for medicated feeding stuffs for veterinary use using excipients of plant origin for which antimicrobial treatment is not feasible.	10 ⁵	10 ⁴	Not more than 10 ⁴ CFU of bile-tolerant gram-negative bacteria (1 g or 1 mL) Absence of <i>Escherichia coli</i> (1 g or 1 mL) Absence of <i>Salmonella</i> (25 g or 25 mL)◆

Microbiological monitoring. During production and subsequent storage, appropriate measures are taken to ensure that the microbial count is adequately controlled and monitored. Appropriate alert and action levels are set so as to detect adverse trends. Under normal conditions, an appropriate action level is a microbial count of 10 CFU per 100 mL when determined by filtration through a membrane with a nominal pore size not greater than 0.45 µm, using R2A agar, using at least 200 mL of water for injections in bulk and incubating at 30-35 °C for not less than 5 days. For aseptic processing, stricter alert levels may need to be applied.

EP Monograph on water for injection

過程控制樣本的驗收標準

由用戶設置

*"Unlike non-sterile dosage forms, there are **no recommended bioburden levels provided in regulatory guidelines or compendia for the [downstream]** protein purification processes of biologic or other biopharmaceutical products, therefore, manufacturers are responsible for setting bioburden control levels for biologic production processes."*

"The BPOG Bioburden Working Group conducted a member survey of bioburden action levels and found that the majority of biologic processes action levels were set between 1-10 CFU/mL."

Bain, D. "Microbial Monitoring For Biological Drug Substance Manufacturing: An Industry Perspective"
BioPhorum Operations Group. 2015

微生物限度檢查法

國際上主要藥典方法基本上是融合一致的

非無菌藥品



口服/局部給藥

微生物限度檢查 藥典方法



微生物計數法

EP 2.6.12 = USP 61=CHP1105

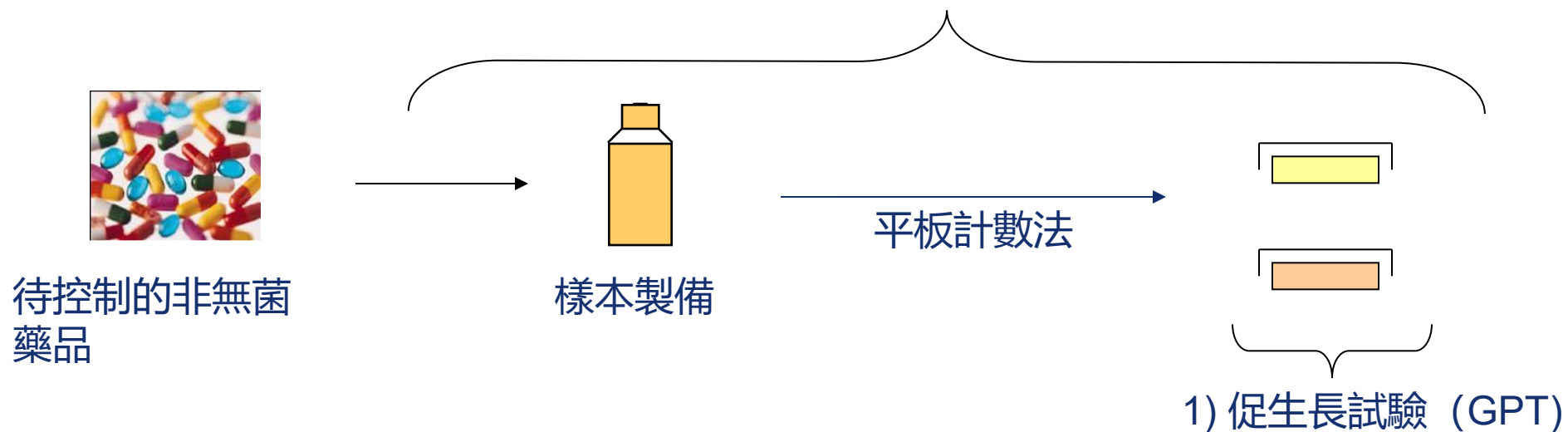
控制菌檢查法

EP 2.6.13 = USP 62= CHP1106

+ 限度標準

EP 5.1.4 = USP 1111= CHP1107

2) 計數方法的適用性



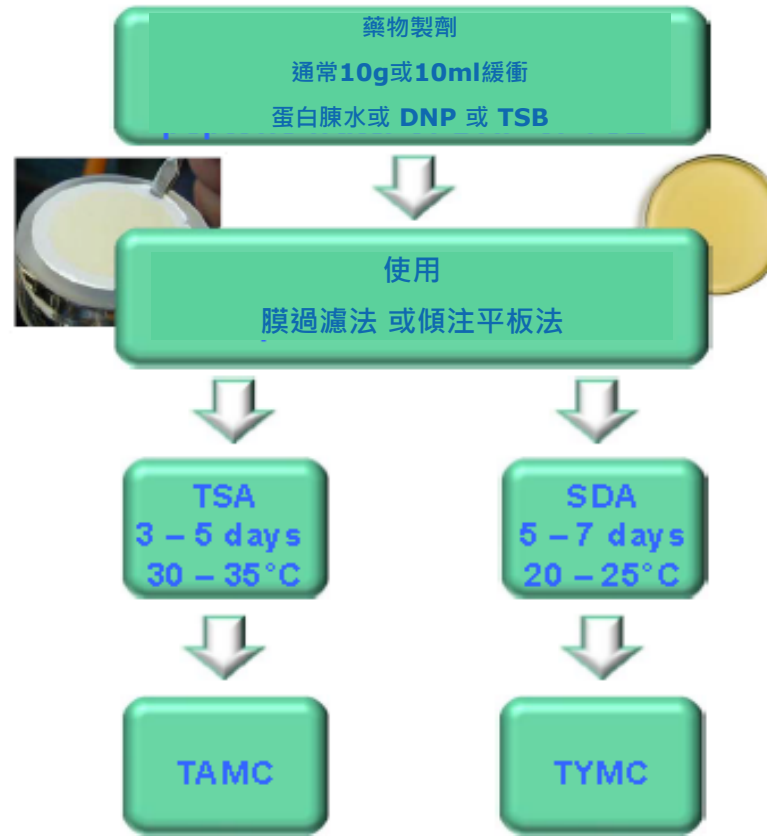
- 為了控制一個產品：
- 1) 控制使用的培養基
- 2) 計數方法的適用性=證明方法本身是適合本產品的特徵，有效控制品質
- 3) 常規微生物控制：產品測試

微生物計數法測試 (常規微生物控制: 產品測試)

- 需氧微生物總數 (TAMC) 和酵母菌和黴菌總數 (TYMC)

- 目標
- EP 2.6.12 and USP <61>: 'The tests described will allow quantitative enumeration of mesophilic bacteria and fungi that may grow under aerobic conditions. The tests are designed to determine whether a substance or preparation complies with an established specification for microbiological quality.'
- “所描述的測試將允許定量計數可能在有氧條件下生長的嗜溫細菌和真菌。這些測試旨在確定物質或製劑是否符合既定的微生物品質規範。”

⇒ Protocol: USP <61>; EP 2.6.12 ; CHP 1105



Total Aerobic Microbial Count (TAMC)

大豆酪蛋白消化瓊脂(TSA)

Total Yeast and Mold Count (TYMC)

沙保弱葡萄糖瓊脂(SDA)

驗收限量標準 : USP <1111>; EP 5.1.6

例 :

(取決於給藥途徑)

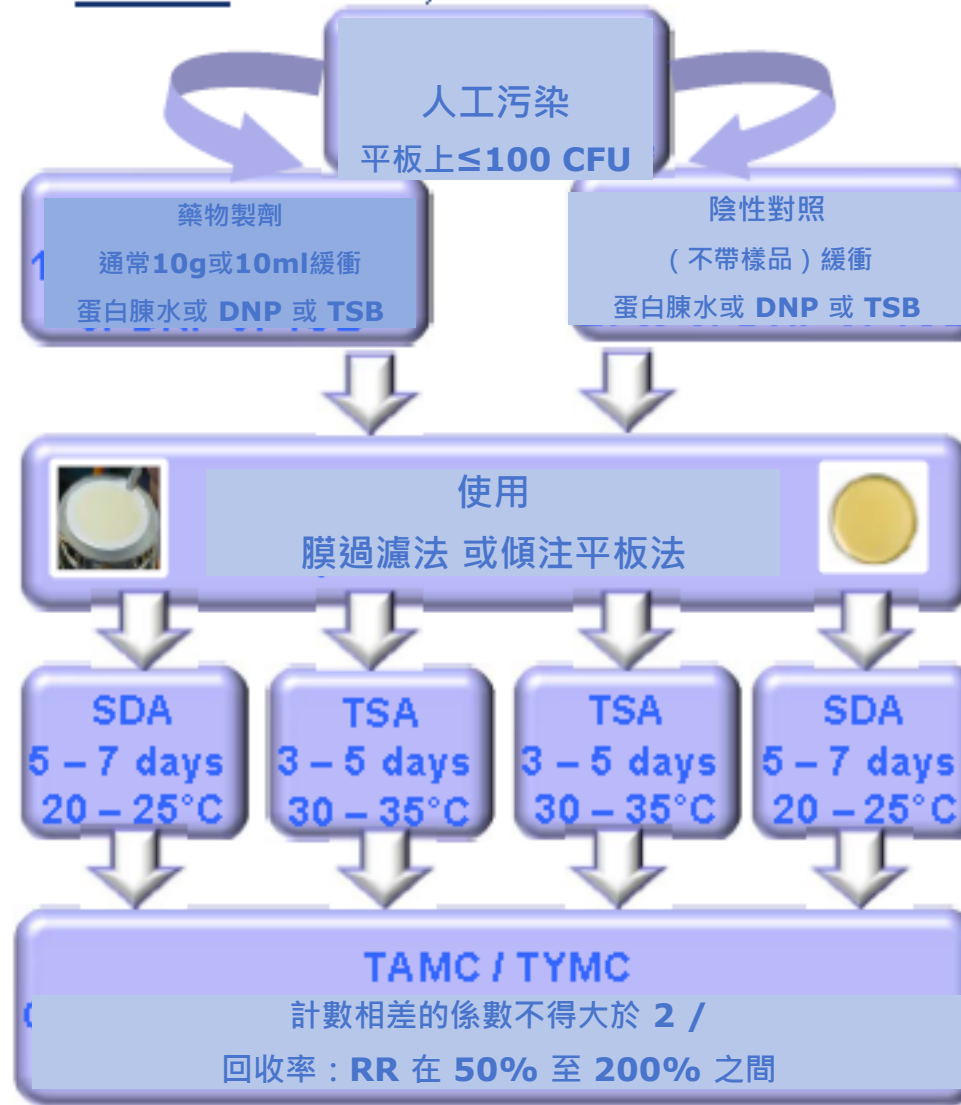
- TAMC: 10^2 to 10^7 CFU/g
- TYMC: 10^1 to 10^5 CFU/g

微生物計數法測試 (驗證方法：計數方法的適用性)

- 需氧微生物總數 (TAMC) 和酵母菌和黴菌總數 (TYMC)

- 目標*
- EP 2.6.12 and USP <61>:
- ‘The ability of the test to detect micro-organisms in the presence of product to be tested must be established.’
- ‘必須確定測試在待測試產品存在的情況下檢測微生物的能力。’
- *僅在初始驗證時或產品發生任何重大變化時才需要。

⇒ Protocol: USP <61>; EP 2.6.12



● ⇒ Strains to be tested:

(individually)

- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538,
 - *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027,
 - *Bacillus subtilis* ATCC 6633,
 - *Candida albicans* ATCC 10231
 - *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404
- TSA
- SDA

● 要測試的菌株：

(單獨)

- 金黃色葡萄球菌 ATCC 6538,
 - 銅綠假單胞菌 ATCC 9027,
 - 枯草芽孢桿菌 ATCC 6633,
 - 白色念珠菌 ATCC 10231
 - 巴西黴黴 ATCC 16404
- TSA
- SDA



微生物計數法測試 (驗證方法：計數方法的適用性)

- 需氧微生物總數 (TAMC) 和酵母菌和黴菌總數 (TYMC)

如果回收的微生物數量小於接種微生物數量的2 (計數相差的係數)，則方法未經驗證。在這種情況下：

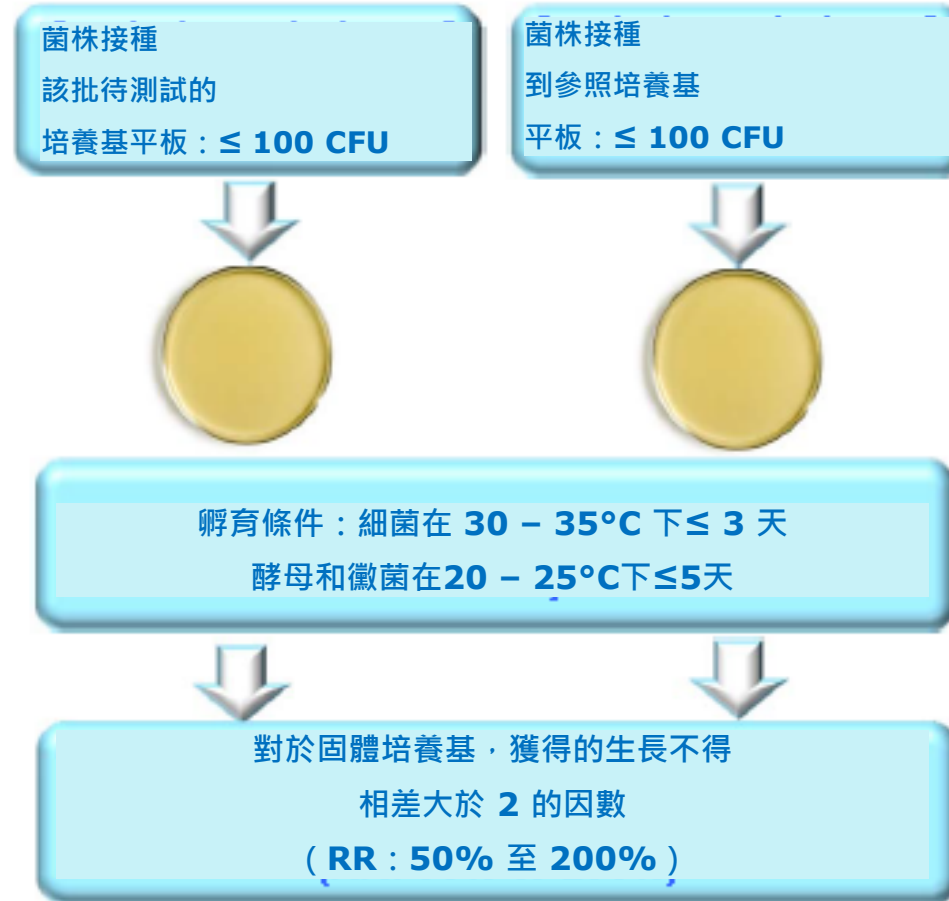
- 不帶產品微生物計數法端：審查樣品製備方法並減少微生物的壓力步驟
- 帶產品微生物計數法端：微生物的不良或不生長可能是由於產品本身造成的。可能有必要使用帶有中和劑的稀釋劑...

微生物計數法測試 (培養基品質控制-生長促進試驗 (GPT))

- 需氧微生物總數 (TAMC) 和酵母菌和黴菌總數 (TYMC)

- 目標:
- EP 2.6.12 and USP <61>:
- 'Test each batch of ready-prepared medium and each batch of medium prepared either from dehydrated medium or from the ingredient described'
- '測試每批現成培養基和每批由脫水培養基或所述成分製備的培養基'

⇒ Protocol: USP <61>; EP 2.6.12



● ⇒ Strains to be tested:(individually)

- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538,
 - *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027,
 - *Bacillus subtilis* ATCC 6633,
 - *Candida albicans* ATCC 10231
 - *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404
 - + wild isolate for environmental monitoring
- TSA
- SDA

要測試的菌株:
(單獨)

- 金黃色葡萄球菌 ATCC 6538 ,
 - 銅綠假單胞菌 ATCC 9027 ,
 - 枯草芽孢桿菌 ATCC 6633 ,
 - 白色念珠菌 ATCC 10231
 - 巴西黴菌 ATCC 16404
 - + 從環境分離的菌株
- TSA
- SDA



	Media	Test strain	Culture condition
EP8.3	R2A agar	Pseudomonas aeruginosa ATCC 2027	30 - 35°C Within 3day
		Bacillus subtilis ATCC 6633	
		Preculture by SCD、dilute by NaCl peptone buffer、inoculate <100CFU, use this strain solution within 2hours, use them at 2 ~ 8°C within 24hours (for test sample also)	
USP43 (1231)	Plate Count Agar Or TGYA medium as high nutrient R2A as low nutrient	No concrete information about standard strain and culture condition=>changed.. <i>Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 and Bacillus subtilis ATCC 6633.</i> <i>Additional organisms should be used to represent those that are considered objectionable and/or typically isolated from the water system (house isolates).</i>	30 - 35°C Within 3day <i>(Or low temp at least 4days)</i>
CHP 2015	R2A	Pseudomonas aeruginosa CMCC(B)10 104	30 - 35°C at least 5 days
		Bacillus subtilis CMCC(B) 63 501	
		Preculture by TSB or TSA at 30-35°C 18-24h, inoculate ≤100CFU	

- “The type of filter material is chosen such that the bacteria retaining efficiency is not affected by the components of the sample to be investigated.”
- “選擇過濾材料的類型，以確保細菌截留效率不受待研究樣品成分的影響。”

EP 2.6.12 Microbial Examination of non-sterile products

- Select the material of the membrane depending on the test product (e.g. antibiotics: use a low absorption membrane)
- “Adherence of residual antimicrobial agents to the filter membrane may cause growth inhibition. Filtration through a low-binding filter material, such as polyvinylidene difluoride, helps to minimize this growth inhibition..”
- 根據測試產品選擇膜的材料（例如抗生素：使用低吸收膜）
- “殘留的抗菌劑粘附在濾膜上可能會導致生長抑制。通過低結合力過濾材料（如聚偏二氟乙烯）進行過濾，有助於最大限度地減少這種生長抑制。

USP <1227> validation of microbial recovery from pharmacopeial articles

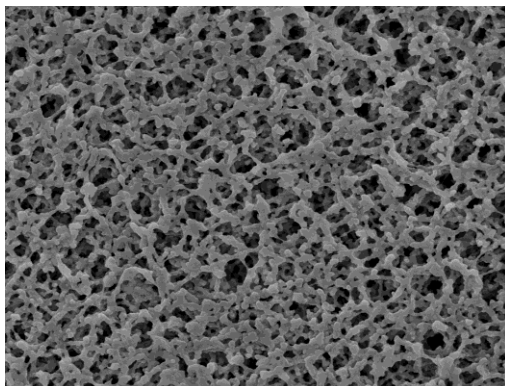
膜材料推薦

選擇膜材料的標準：
檢查化學相容性
檢查產品是否具有抗菌活性

濾膜的種類和特性

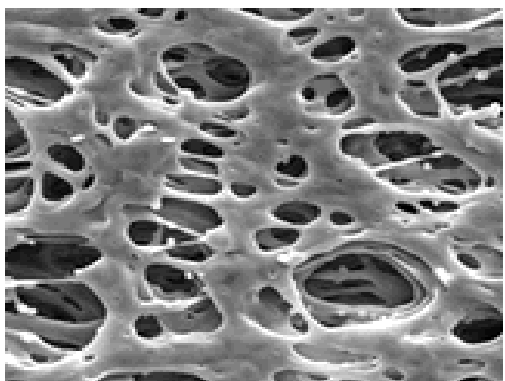
混合纖維素(MCE)

最普遍用途的膜、高流速
化學相容性：pH6 ~ 8,
不耐有機溶劑



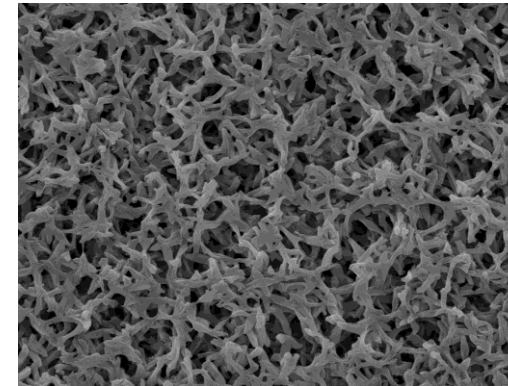
聚醚砜(PES)

高流速，蛋白結合率低
化學相容性：pH1 ~ 14,
能耐受部分有機溶劑



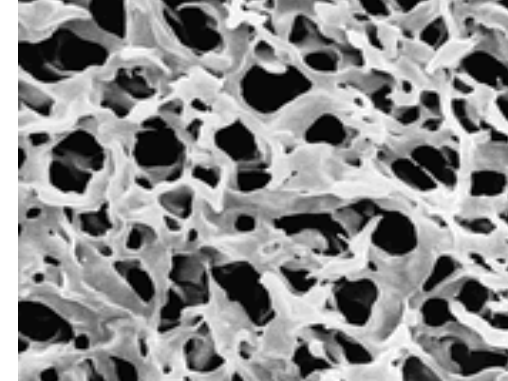
尼龍(N66)

釋出物低、高強度
化學相容性：pH6 ~ 13,
能耐受大部分有機溶劑



聚偏二氟乙烯(PVDF)

蛋白結合率最低。
化學相容性：pH1 ~ 10,
能耐受大部分有機溶劑



Choose your membrane wisely 明智地選擇您的濾膜

Regulatory overview 法規概述 (孔徑)

1. "Select the membrane material depending on the test product (e.g. antibiotics : use a low absorption membrane)"
2. "Use membrane filters having a nominal pore size not greater than 0,45 μm "
1. "根據測試產品選擇膜材料 (例如抗生素：使用低吸收膜)"
2. "使用標稱孔徑不大於0.45 μm 的膜篩檢程式"



USP <61> & USP <62> Microbiological examination of non sterile products

EP 2.6.12 Microbial examination of non sterile products

USP <71> Sterility testing

USP <1231> Water for Pharmaceutical purposes

Choose your membrane wisely 明智地選擇您的濾膜

Membrane Filtration: Retention & Recovery

膜過濾: 保留和恢復

Retention 保留

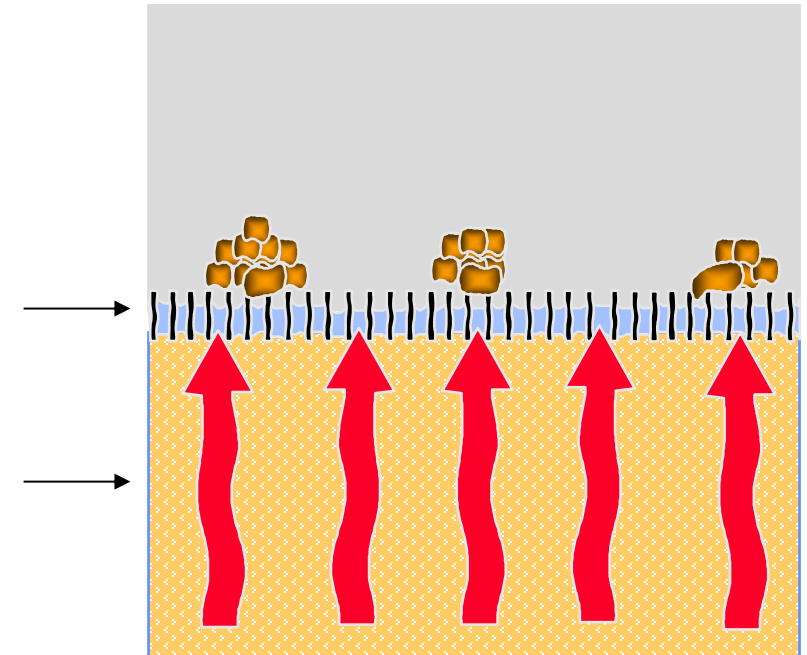
- Ability to capture all microorganisms on membrane surface
能夠捕捉膜表面的所有微生物

Recovery 回收

- Ability to grow captured microorganisms
- Proper nutrients, temperature, and time
- Filter matrix must allow free flow of nutrients
- Cell must be able to replicate
- 能够生长捕获的微生物
- 适当的营养物质、温度和时间过滤基质必须允许营养物质的自由流动
- 细胞必须能够复制

Membrane

Media



Influence of Pore Size on Recovery

孔徑大小對恢復率的影響

Examined relationship of membrane pore size to growth characteristics and recovery on membranes used for enumeration tests
檢測膜孔徑與用於列舉試驗的膜的生長特性和恢復的關係

Tested recovery and retention on a range of MCE membranes
檢測膜孔徑與用於列舉試驗的膜的生長特性和恢復的關係

在一系列 mce 膜上經過測試的恢復和保留

- 0.2μm, 0.45μm 0.7μm, 0.8μm, 0.65μm, 1.2μm

Examined a variety of microorganisms
檢測了各種微生物

B. subtilis 13933

C. albicans 10231

E. aerogenes 11437

M. luteus 9341

Primary effluent

Br. diminuta 19146

C. sporogenes 11437

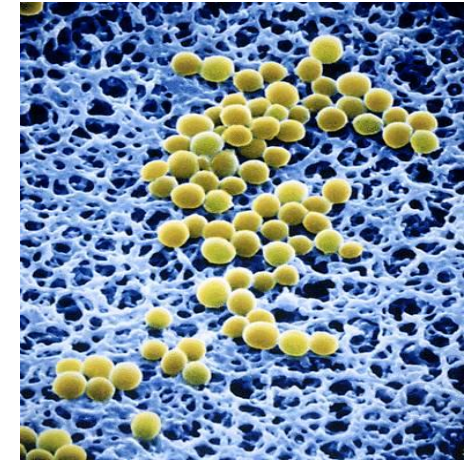
E. coli 25922

P. agglomerans (environmental)

Pore size considerations for bioburden testing method

生物負荷檢測方法中的孔大小注意事項

- 0.45 μm retained the microorganisms as well as 0.22 μm
- 0.45 μm consistently demonstrated acceptable recovery (>90% vs spread plate) of a broad range of microorganisms
- 0.22 μm did not always demonstrate acceptable recovery
- Colony morphology was similar to or slightly smaller for 0.45 μm and 0.22 μm vs spread plates but still acceptable
- Standard Methods currently recommend 0.45 μm membranes for microbiology testing



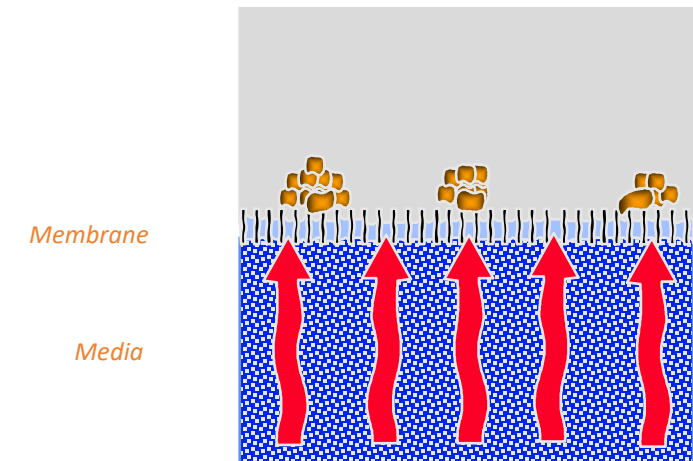
0.45 μm 保留微生物以及0.22 μm

0.45 μm 一致證明了廣泛微生物的可接受回收 (> 90% 與塗布法)

0.22 μm 並不總是證明是可接受的回收率

與塗布平板相比, 菌落形態與0.45 μm 和0.22 μm 相似或稍小, 但仍可接受

標準方法目前建議0.45 μm 膜用於微生物學測試



微生物計數系統

微生物計數系統可以由微生物檢驗儀構成，也可以由支架和微生物檢測專用泵組成。

- + **微生物檢驗儀**：儀器通過泵頭配合篩檢程式，**內置泵形成負壓**對檢品進行抽濾，使供試液通過濾膜，微生物截流在濾膜上；通過培養或其他方式形成肉眼可見的菌落，獲得檢品中的微生物數量。
- + **微生物檢測支架**：通過泵頭配合篩檢程式，需**另使用泵**提供動力進行膜過濾；通過閥門控制過濾的啟停。
- + 其他輔助配件和耗材如：勻漿儀、均質器、取膜器、平皿等。



微生物檢驗儀



微生物檢測支架



取膜器

型號圖片				
是否帶濾膜	否	是	是	是
是否帶底座	否	是	是	是
能否取膜	能	能	能	否
能否加培養基	否	否	能	能
培養基類型	—	—	液體	瓊脂

微孔濾膜

- + 孔徑均勻，空隙率高
- + 阻力小，通量大，有效提升濾速
- + 高效截留微生物，避免漏檢
- + 親水性強，易於吸收營養

濾膜材質	性能特點	應用範圍
MCE 混合纖維素	流速快	非抑菌性檢品， 水系、難過濾檢品
N66 尼龍膜	易於解吸附，化學相容性較好	抑菌性檢品或非抑菌性檢品， 水系、有機溶劑
PES 聚醚砜膜	流速較快，化學相容性較好	油性檢品
PVDF 偏聚二氟乙烯	低吸附， 化學相容性較好	抑菌性檢品，有機溶劑



單片包裝



連續包裝

B

環境監測回顧與法規要求



1. 環境監測建立方案
2. 潔淨室的環境監測- 方法與行動水準
3. 培養基的選擇

環境監測的法規資料來源

“在無菌工藝中最重要的實驗室控制之一是環境監控”

◆ Regulators-優良製造規範 GMP

- 歐盟

◆ EU GMP (2008) + (2020年歐盟GMP新草案附件1)

- 美國

◆ FDA Aseptic F

◆ Compendial-藥典

- 美國

◆ USP 1116 (pu

- 中國

◆ 9205 藥品潔淨

◆ Standard-標準

- EN 17141 (取代歐洲的ISO 14698) - 潔淨室和其他受控環境/ 生物污染控制
- ISO 14644:潔淨室和其他受控環境/潔淨室分類

◆ Industrial Led -行業主導

- 美國

◆ PDA Technical Report # 13-2

“在無菌生產過程中最終要的實驗室控制之一是
環境監控程式”

(通過無菌生產過程生產無菌藥品

Current Good Manufacturing Practice(cGMP) - FDA 2004)

環境監測的目的是什麼？

- ◆ 提供有關製造過程中加工環境品質的資訊
- ◆ 通過檢測不利趨勢並做出反應，防止未來的微生物污染
- ◆ 防止釋放可能受污染的批次
- ◆ 防止劑型對藥品接收者造成污染的風險
- ◆ 評估一些環境控制
- ◆ 提供製造環境微生物清潔度的概況。



有效的環境監測計畫

一個有效的方案將：

- ◆ 證明環境品質始終在指定級別內
- ◆ 如果環境品質或其控制正在變得或已經變得不可接受，則提供及時和敏感的警告
- ◆ 每當環境監測結果表明不可接受的環境品質或控制時，能夠啟動及時，全面的計畫行動方案



環境監測建立方案

- ◆ 建立採樣計畫,檢測所有潛在的污染源
 - 操作人員 (工作服表面, 手指, 手腕)
 - 工作區域 (桌面, 空氣, 地面, 壁)
- ◆ 建立生產環節品質的有效數據 (方法建立包括培養基的選擇)
- ◆ 建立行動和警戒水準
 - 警戒限 (**Alert level**): 對於來自正常操作條件下的潛在風險的警告. 需要對潛在的問題繼續跟進
 - 行動限(**Action level**): 當超過了這個水準, 便會引發一個調查, 及基於該調查而採取的措施
- ◆ 定期監測
- ◆ 定量趨向性分析
 - 異常情況



EU GMP Annex 1 2022

9.30 **Action limits** for viable particle contamination are shown in Table 6

Table 6: Maximum action limits for viable particle contamination

Grade	Air sample CFU /m ³	Settle plates (diam. 90 mm) CFU /4 hours ^(a)	Contact plates (diam. 55mm), CFU / plate ^(b)	Glove print, Including 5 fingers on both hands CFU / glove
A	No growth ^(c)			
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

(a) Settle plates should be exposed for the duration of operations and changed as required after 4 hours. Exposure time should be based on recovery studies and should not allow desiccation of the media used.

(b) It should be noted that for Grade A, the expected result should be no growth.

微生物監測標準

United States Pharmacopeia (USP) <1116> Microbiological evaluation of clean rooms and other controlled environments May 2012

Suggested initial Microbial Contamination

Recovery rates (%) in Aseptic environments (Targeted Levels)

Room Classification	Active Air Sample (%)	Settle Plate (9 cm) 4h Exposure (%)	Contact Plate or Swab (%)	Glove or Garment (%)
Isolator/Closed RABS (ISO 5 or better)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
ISO 5	<1	<1	<1	<1
ISO 6	<3	<3	<3	<3
ISO 7	<5	<5	<5	<5
ISO 8	<10	<10	<10	<10

(a) All operators are aseptically gowned in these environments (with the exception of background environments for isolators). These recommendations do not apply to production areas for non-sterile products or other classified environments in which fully aseptic gowns are not donned.

(b) From USP 36/37 <1116>, Table 3

微生物監測標準

潔淨室的環境監測 – 不同的方法

空氣微生物

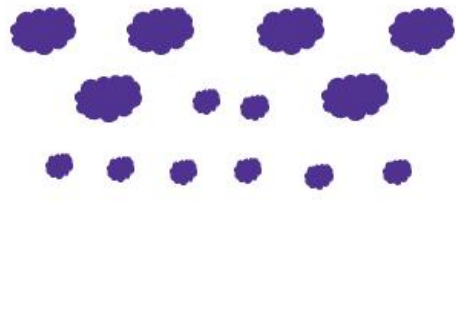
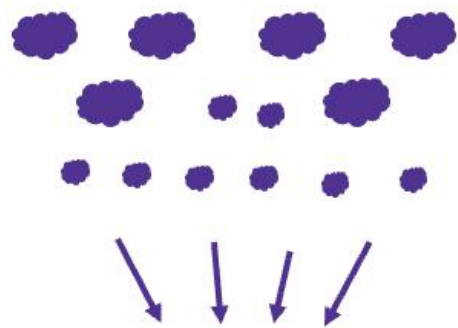
表面微生物

浮游菌
(Active Air sampling)

沉降菌(Passive Air
sampling)

接觸碟(Contact Plate)

五指手套
(Contact Plate)



主動採樣：檢測特定生產時段

被動採樣：檢測整個過程（時間長，能反映產品污染風險）

培養基的選擇

5.5.2 Culture media

Culture media shall, if not otherwise indicated, be non-selective.



單一培養基

非選擇性營養培養基
-TSA

2步孵育
(兩個前後不同的溫度)

兩種培養基

非選擇性營養培養基 (細菌)
+ 選擇性培養基 (黴菌酵母)
-TSA
-SDA

两个培养基分开在不同的温度进行孵育
Y & M: 20°C - 25°C @ 5 天 (SDA)
and
Bacteria: 30°C - 35°C @ 3 天 (TSA)





International
Organization for
Standardization

- ISO 14698-1

5.5.3 Incubation

Total incubation periods of two to five days for bacteria and five to seven days for fungi are generally acceptable, especially when the number of VU is low. When anaerobic, thermophilic, micro-aerophilic, or nutritionally deficient or fastidious bacteria, and fungi are of concern, specific atmospheric conditions and incubation times could be necessary. Plates should be observed at appropriate intervals over the incubation period.

- 行業指南

The microbiological culture media used in environmental monitoring should be validated as capable of detecting fungi (i.e., yeasts and molds) as well as bacteria and incubated at appropriate conditions of time and temperature. Total aerobic bacterial count can be obtained by incubating at 30 to 35°C for 48 to 72 hours. Total combined yeast and mold count can generally be obtained by incubating at 20 to 25°C for 5 to 7 days.

Selection of Culture Conditions

Incubation time and incubation temperatures are set once the appropriate media have been selected. Typically, for general microbiological growth media such as SCDM, incubation temperatures in the ranges of approximately 20°–35° have been used with an incubation time of not less than 72 hours. Longer incubation times may be considered when contaminants are known to be slow growing. The temperature ranges given above are by no means absolute.



一般在市場上看到:
20–25°C => 3 天
然後
30–35°C => 2 天

C. 全自動菌落計數工作站SCW-160/320

(AI圖像識別技術分析法)



單層全自動菌落計數工作站



雙層全自動菌落計數工作站

-傳統菌落總數檢查方法面臨的挑戰

-全自動菌落計數工作站系統組成與原理

-傳統菌落計數與自動化菌落計數流程對比



AI圖像識別技術分析法 (全自動菌落計數工作站)



1. 傳統菌落總數檢查方法面臨的挑戰
2. 全自動菌落計數工作站系統組成與原理
3. 傳統菌落計數與自動化菌落計數流程對比

傳統菌落總數檢查方法面臨的挑戰

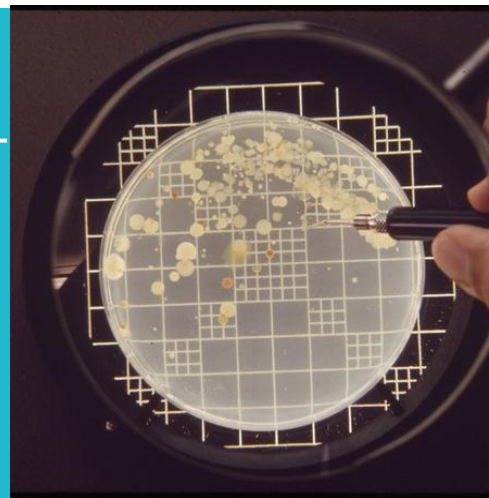
耗 時

- 大量培養皿菌落計數工作，費時費力



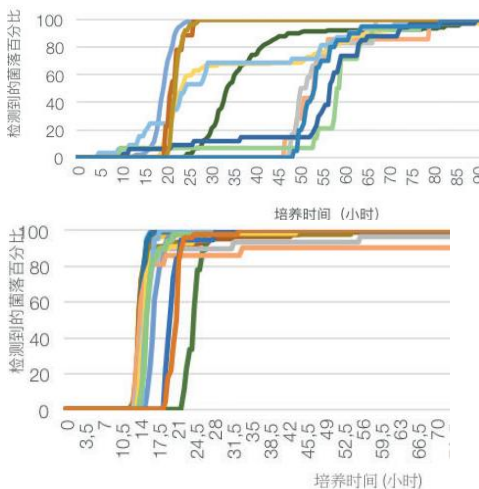
準確率低

- 人工計數無法將粘連重疊菌落準確計入；
- 疲勞等因素導致計數結果偏差，重複性差



數據無法追溯

- 計數結果與數據不可追溯（電子化）
- 無法實現較好的監管



滯 後 性

- 無法在菌落培養早期快速獲得計數結果，以便及時採取應對措施

傳統菌落計數操作的難點



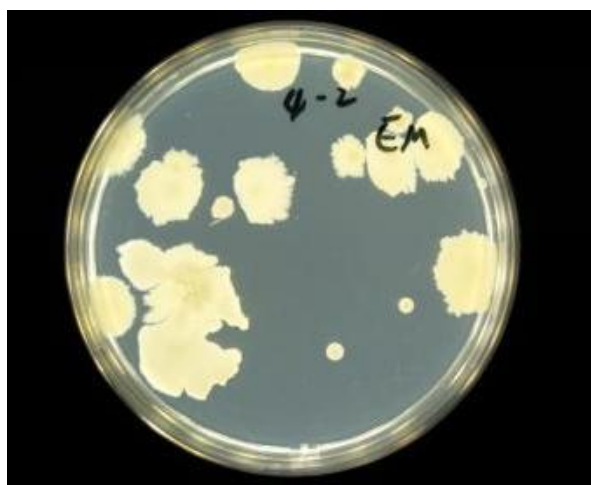
菌落粘連



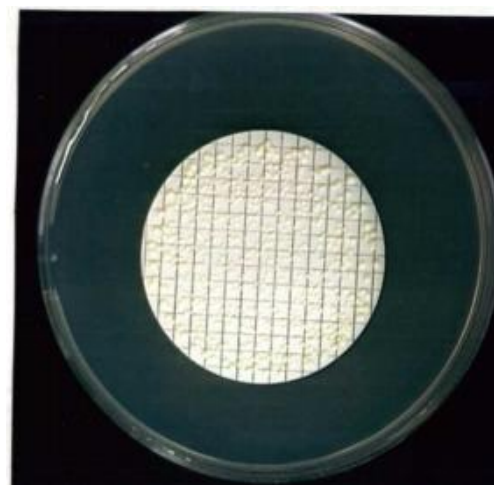
黴菌



培養基含雜質



邊緣菌落



菌落顏色和濾膜同色/無
色透明菌落



傾注法微小菌落

系統組成



全自动菌落计数工作站（单温区）

系統組成

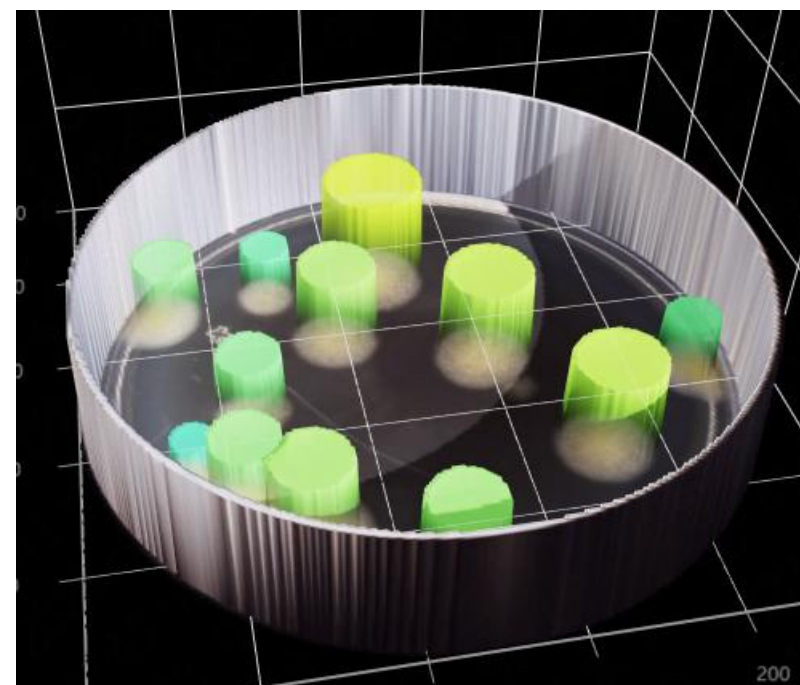


全自动菌落计数工作站（雙溫區）

菌落計數工作站核心產品特點

	快速计数	菌落一旦出现, 就会被检测和计数
	批量化计数	160/320 个培养皿一起计数 (其中SCW-320具有上下双层培养室, 两个温区)
	广普适用性	支持涂布法、浇碟法、自然沉降法、滤膜法、接触碟等多种接种方式
	数据完整可追溯	支持三级权限、电子签名、审计追踪等; 易于实验人员进行数据管理与分析, 并实现远程监管
	实时计数	整个培养周期内可持续计数, 保存菌落生长图像, 动态回放菌落生长视频, 输出菌落数生长曲线, 自动生成结果报告
	准确率高	基于菌落动态生长形态学变化自主研发的高准确率自动计数算法, 可自动分割黏连菌落, 标注菌落轮廓, 剔除杂质
	全自动工作站	集恒温培养箱和菌落全自动计数判读于一体, 大幅节省人力
	操作灵活	特殊设计独立可取出的培养皿放置料架, 可实现快速取放样本, 方便清洁
	菌种形态学鉴定	通过判断菌落颜色、形状、规则度等形态学特征, 实现对特殊菌种的识别鉴定, 如沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特菌等
	菌落三维成像	根据样本图片的RGB特征, 自动生成三维数据图档
	兼容多种平板	普通营养琼脂平板、血平板、巧克力平板、麦康凯琼脂培养基等

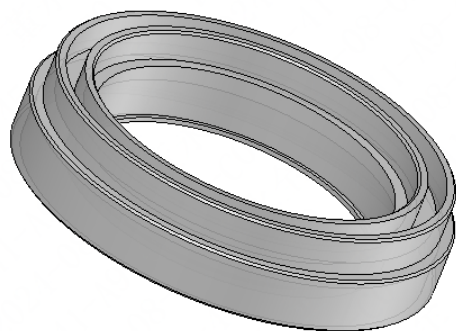
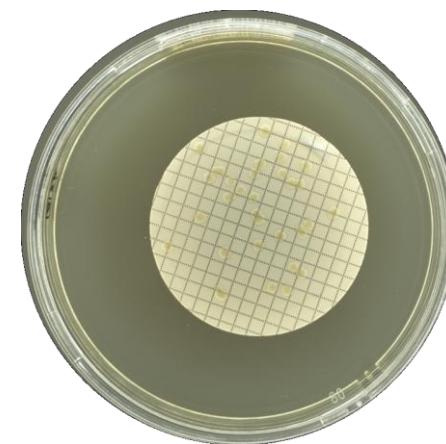
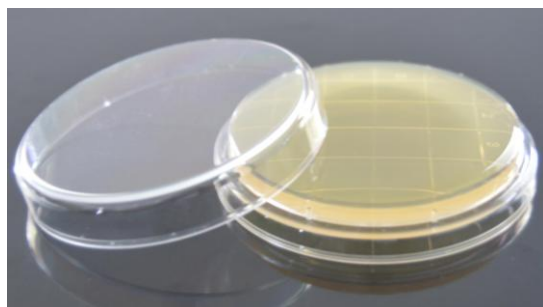
支持培養皿類型自動識別，無需用戶做選擇★



支持多種樣本接種類型和多種規格平板

支持的接種類型：塗布法、澆碟法、自然沉降法、濾膜法、接觸碟（需適配器）等多種接種方式

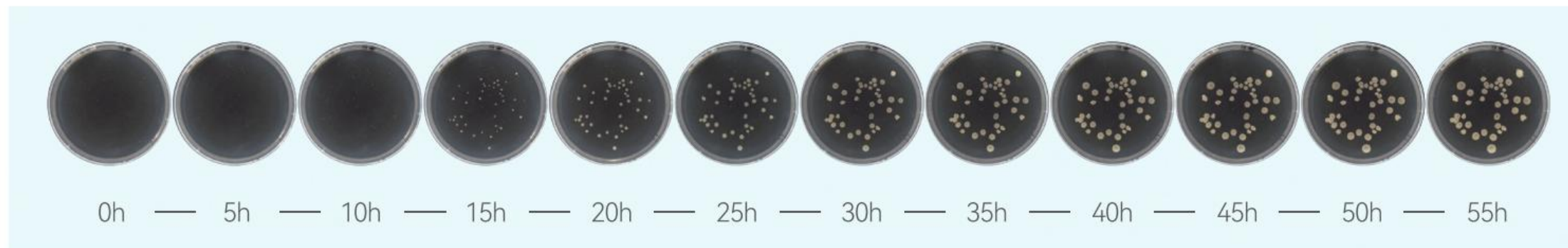
支持的平板類型：普通營養瓊脂平板（TSA/TSB/R2A等）、血平板、巧克力平板、VRBA平板、麥康凱瓊脂培養基以及選擇性培養基等



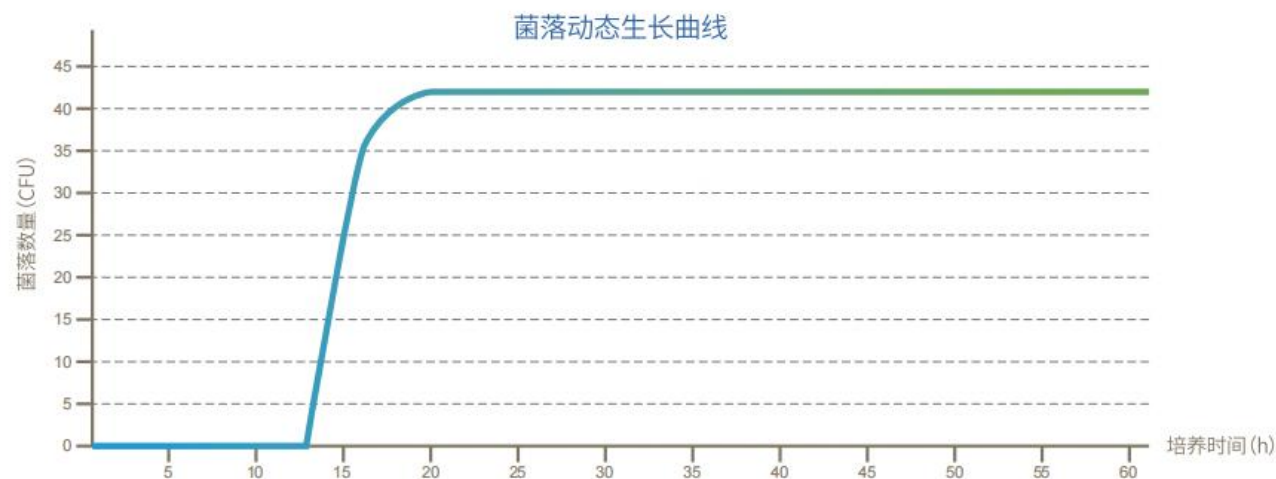
接觸碟適配器

保存菌落生長的全部過程數據

培养过程持续计数，保存微生物生长过程视频，输出菌落生长曲线与报告，确保数据完整性。



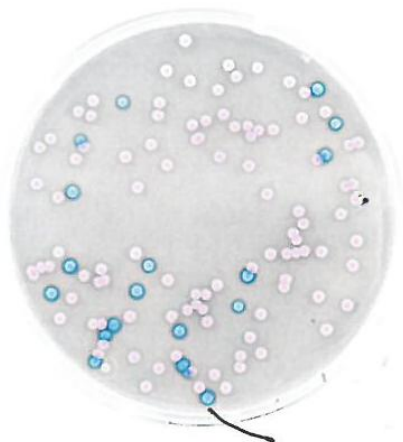
33°C培养的枯草芽孢杆菌



菌種形態學鑒定★

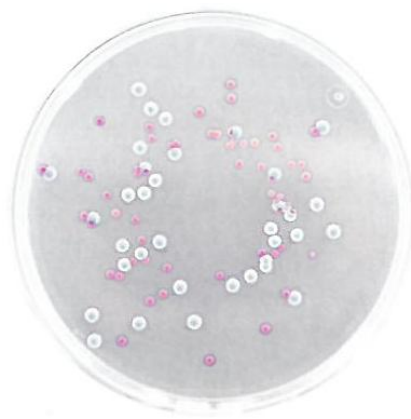
對培養皿上某個單菌落進行形態分析，通過判斷菌落形狀、顏色、規則度等形態特徵，實現對該菌落種屬的初步定性判定。

如沙門氏菌、金黃色葡萄球菌、單增李斯特氏菌和凝固酶陽性葡萄球菌培養基(BP)等常見致病微生物的初步定性判定。



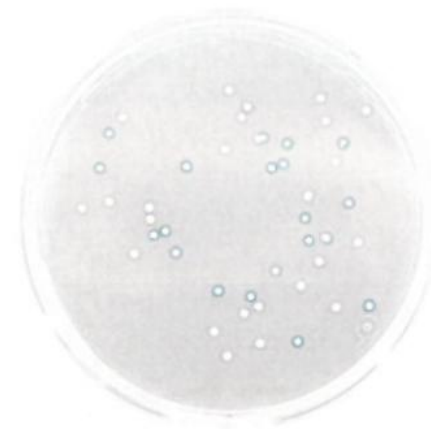
CRM004 沙門氏菌顯色培養基

- ▶ 適用於食品樣品中沙門氏菌的快速分離和初步鑒別。
- ▶ 沙門氏菌顯紫紅色，大腸菌群顯綠色。



CRM012 金黃色葡萄球菌顯色培養基

- ▶ 適用於食品工業樣品中選擇性分離和計數金黃色葡萄球菌。
- ▶ 特異性強，金黃色葡萄球菌菌落為粉紅-紫紅色。

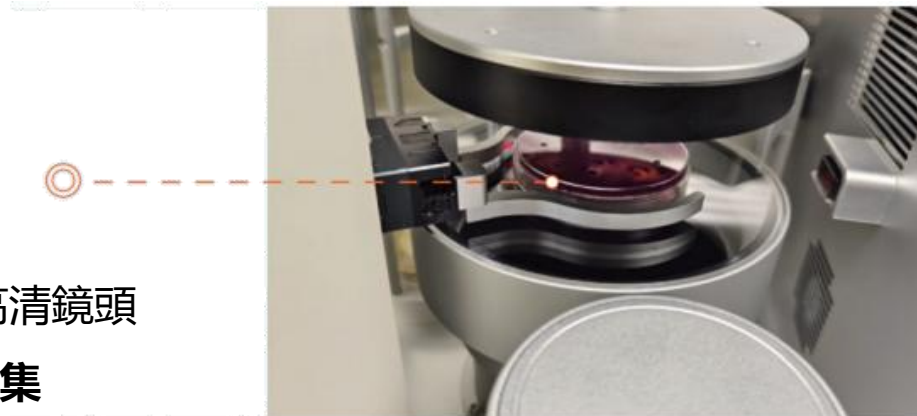


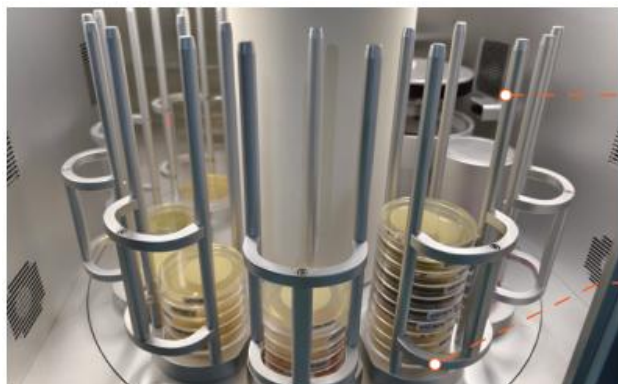
CRM013 單增李斯特氏菌顯色培養基

- ▶ 適用於食品檢測中單核細胞增生李斯特氏菌的初步篩選。
- ▶ 致病菌單核細胞增生李斯特氏菌為藍綠色菌落。

● 高清成像系統

- ✓ 2000萬像素高清相機，CMOS感測器，高清鏡頭
- ✓ **LED環形無影光源，正反雙向光源圖片採集**
- ✓ 能夠清晰拍攝微小、透明菌落，各種肉眼無法區分的情況達到較好的成像效果，使得實驗結果準確可靠





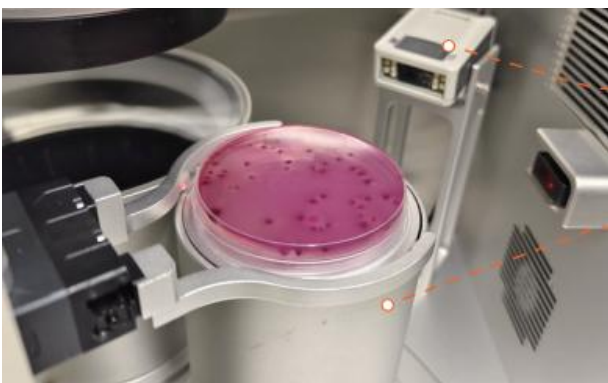
● 培養皿放置料架

- ✓ 特殊設計，可獨立取出，可實現快速取放樣本，方便清潔
- ✓ 可拆卸式支架，結構更緊湊



● 旋轉託盤與抓手

- ✓ 實現自動取放樣本與自動拍照識別
- ✓ 無多軸機械手，空間利用率高

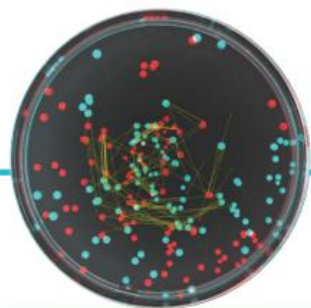


● 自動掃碼系統

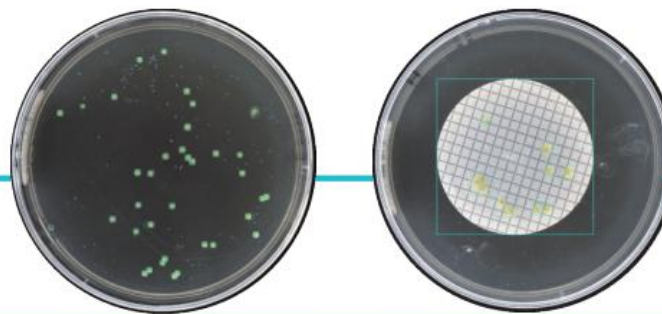
- ✓ 內置高靈敏掃碼器，拍照前對培養皿樣本逐一掃碼識別，避免數據錯亂，全程可回溯和監管

核心技術-高準確AI率演算法

運用圖像跟蹤與神經網路演算法，結合多時相配准技術、動態即時檢測技術、局部區域分析等技術，實現對生長在平板上的菌落精準計數。可實現自動分割黏連或連片菌落，標注菌落輪廓，自動剔除顆粒、雜質，準確識別邊緣菌落。



多時相的配准技術



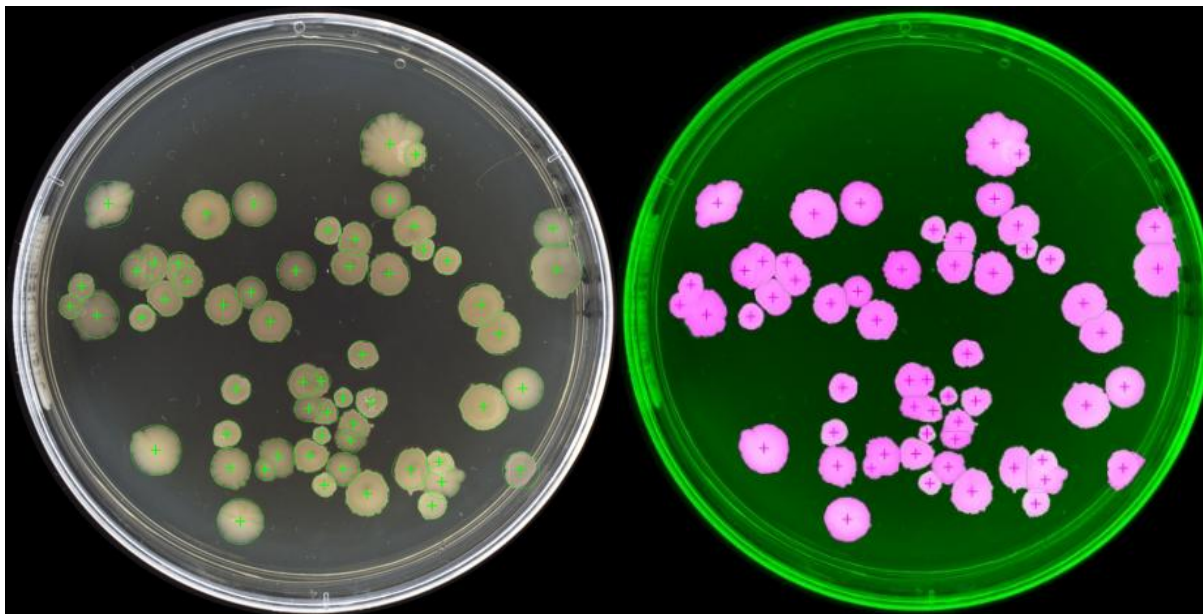
培養皿分析技術



局部區域分析技術

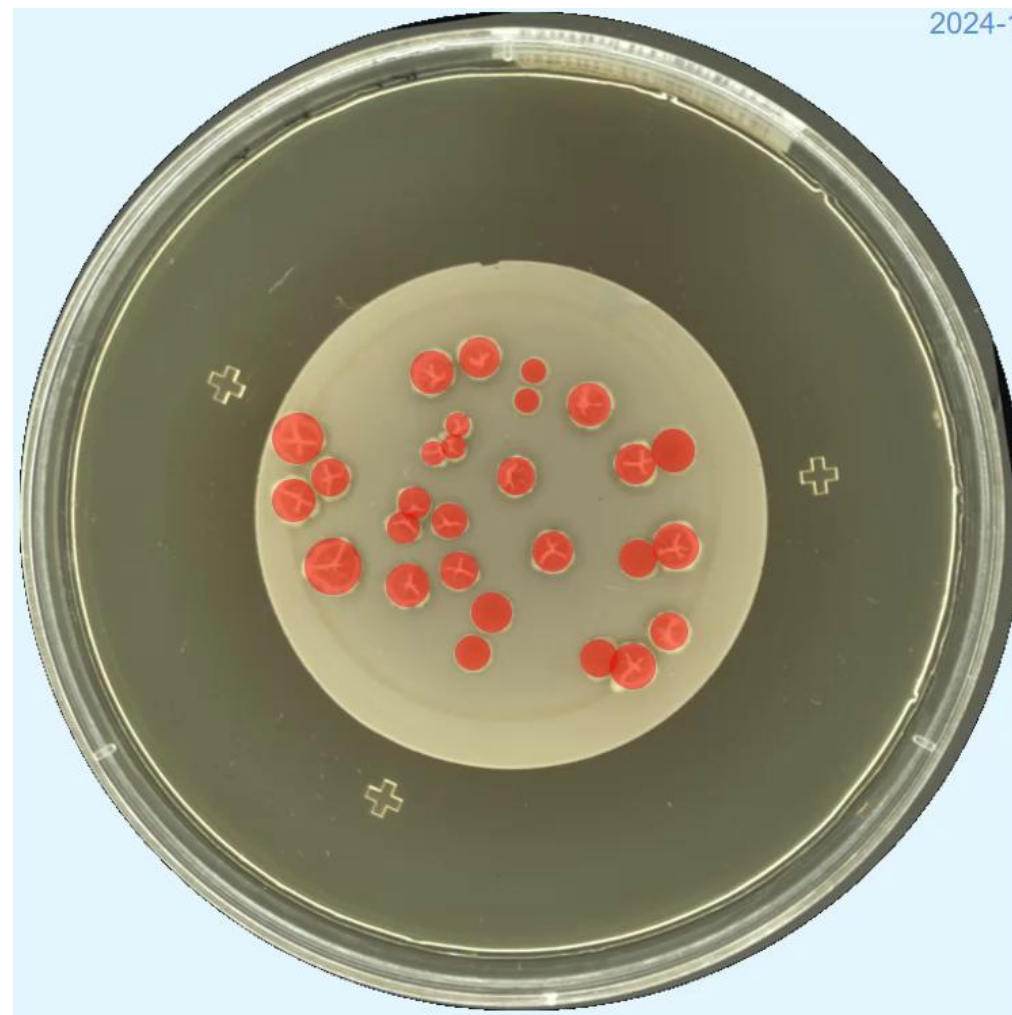
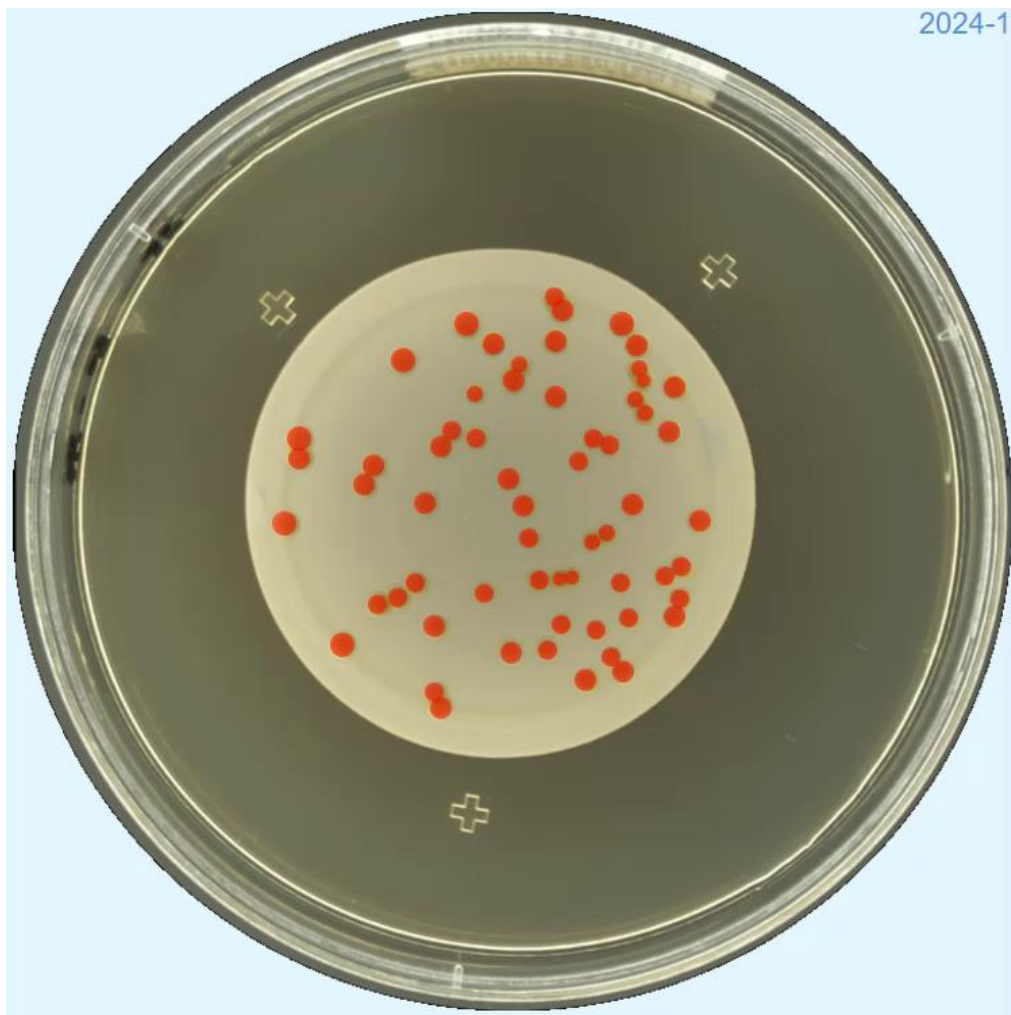
利用位置、面積信息建立邊間距離變化二值圖；
自適應型多閾值步進式逼近算法分割部分融合菌落

AI時差成像分析技術，突破傳統局限



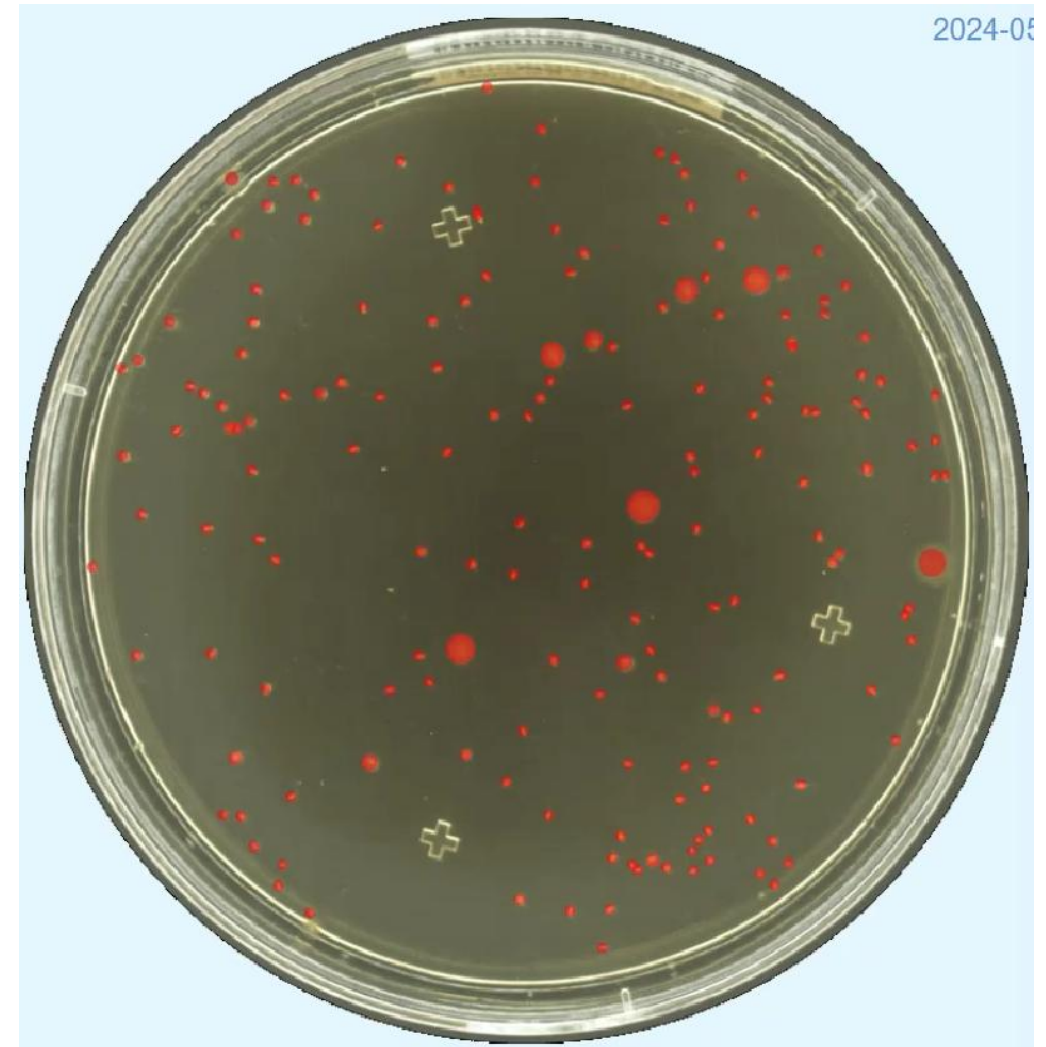
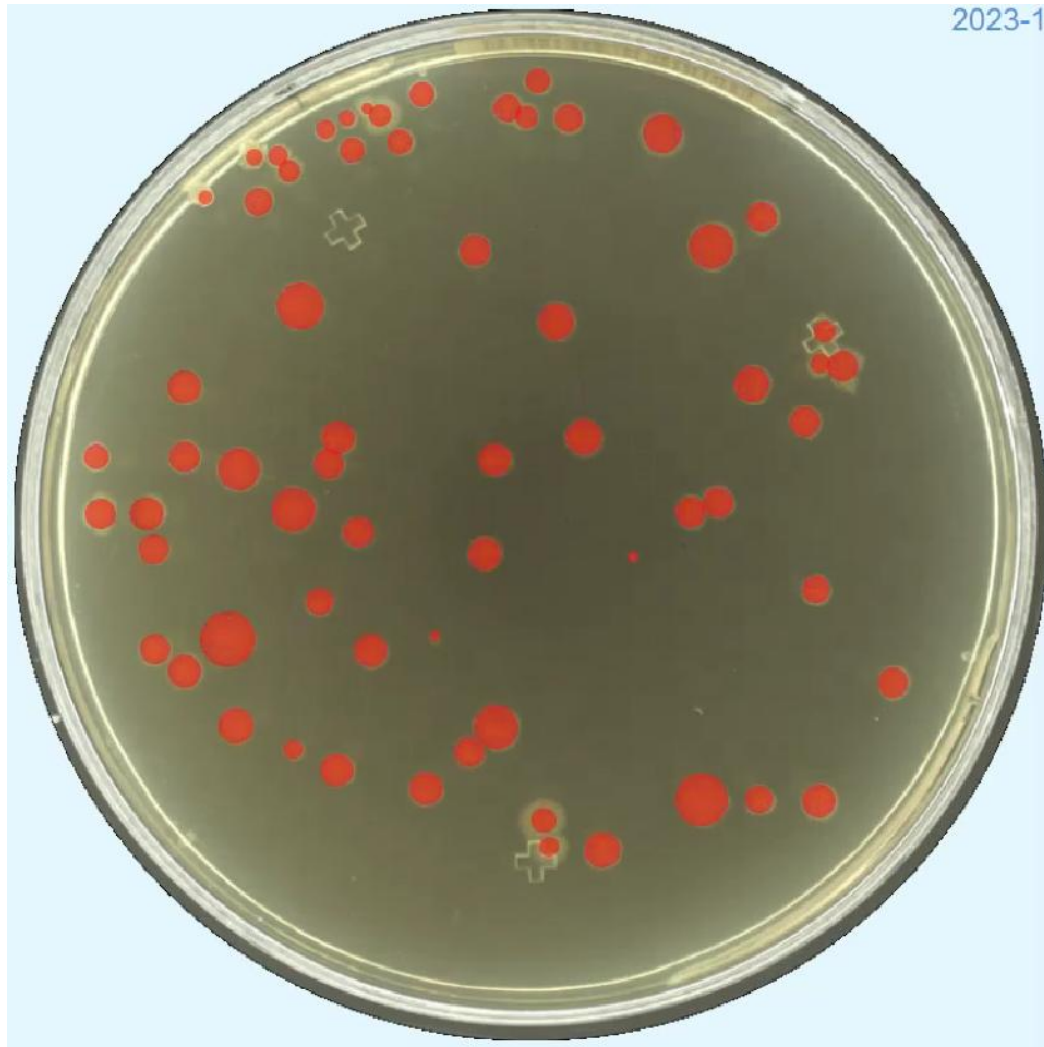
時差成像分析技術結合AI演算法，通過捕捉菌落動態生長過程中的形態學變化，實現更精准的識別與計數。AI強大的圖像識別和分析能力，能夠快速準確地識別出菌落的特徵，根據菌落的形態大小變化，將其與顆粒物區分開來。該技術還可實現對菌落的生長狀況動態監測，**大大提高了檢測的準確性。**

計數效果展示-濾膜

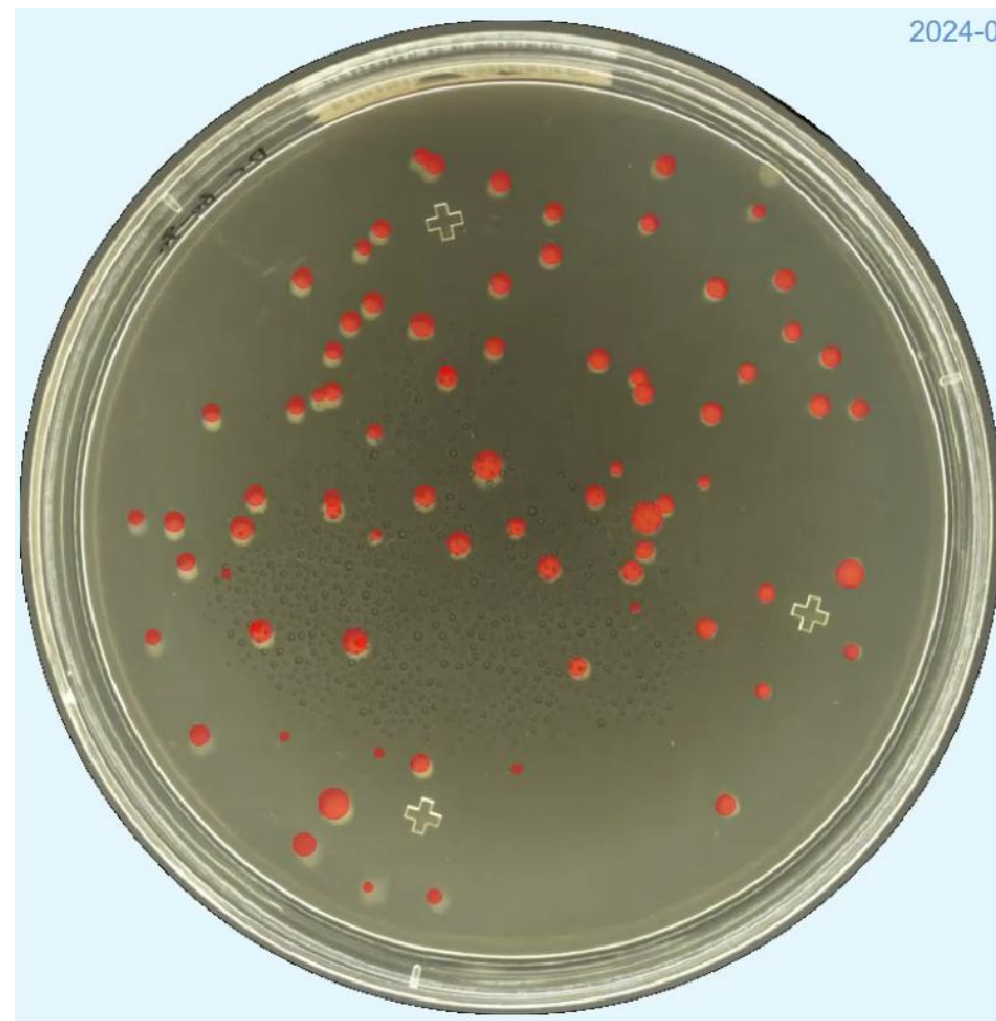
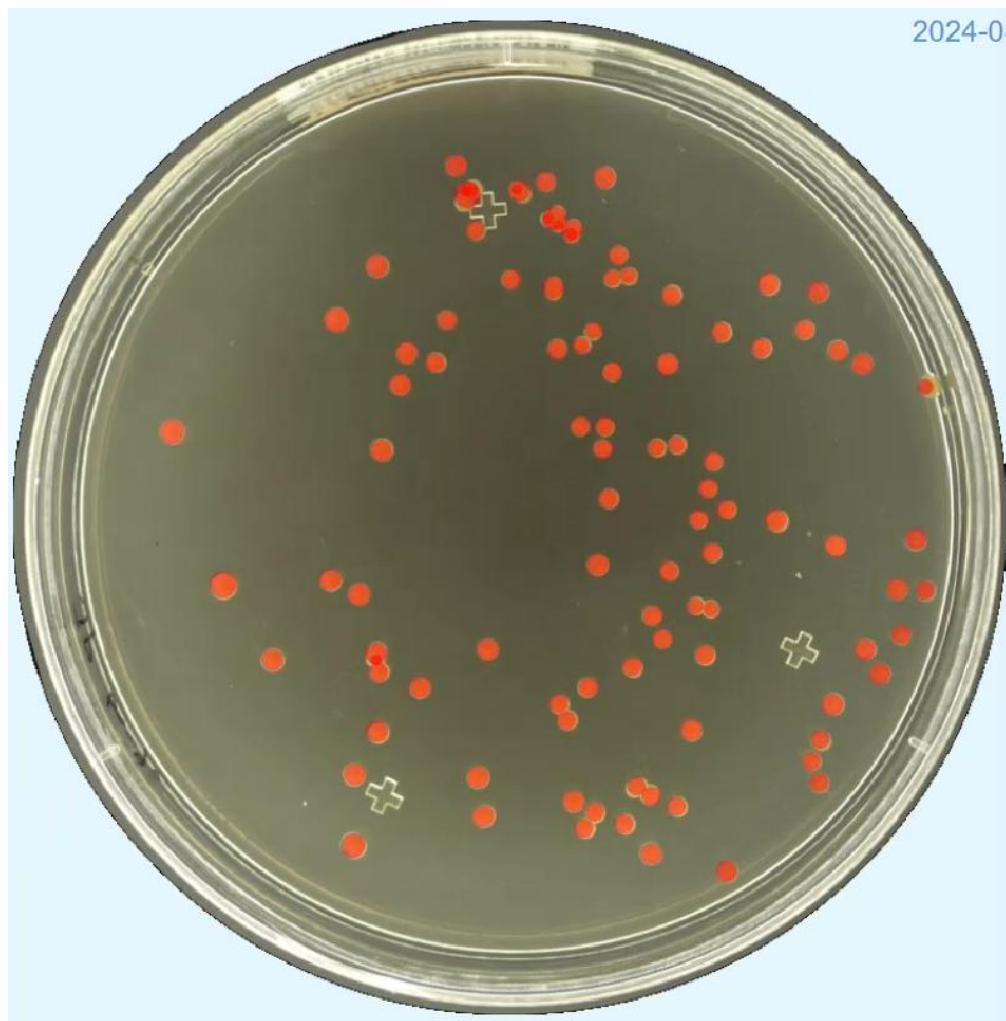


用戶介面展示完整區域的培養皿圖片，且能對整個培養皿進行計數（邊緣區域不剔除）★

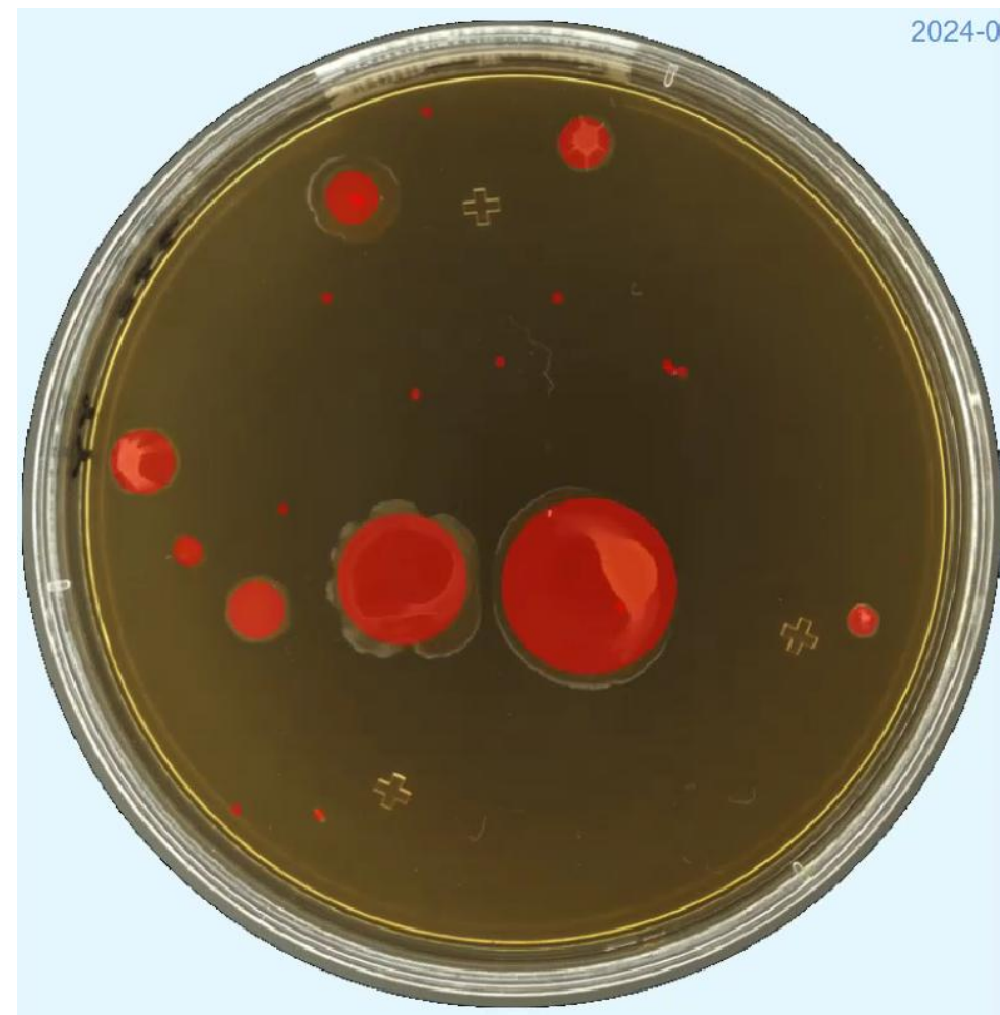
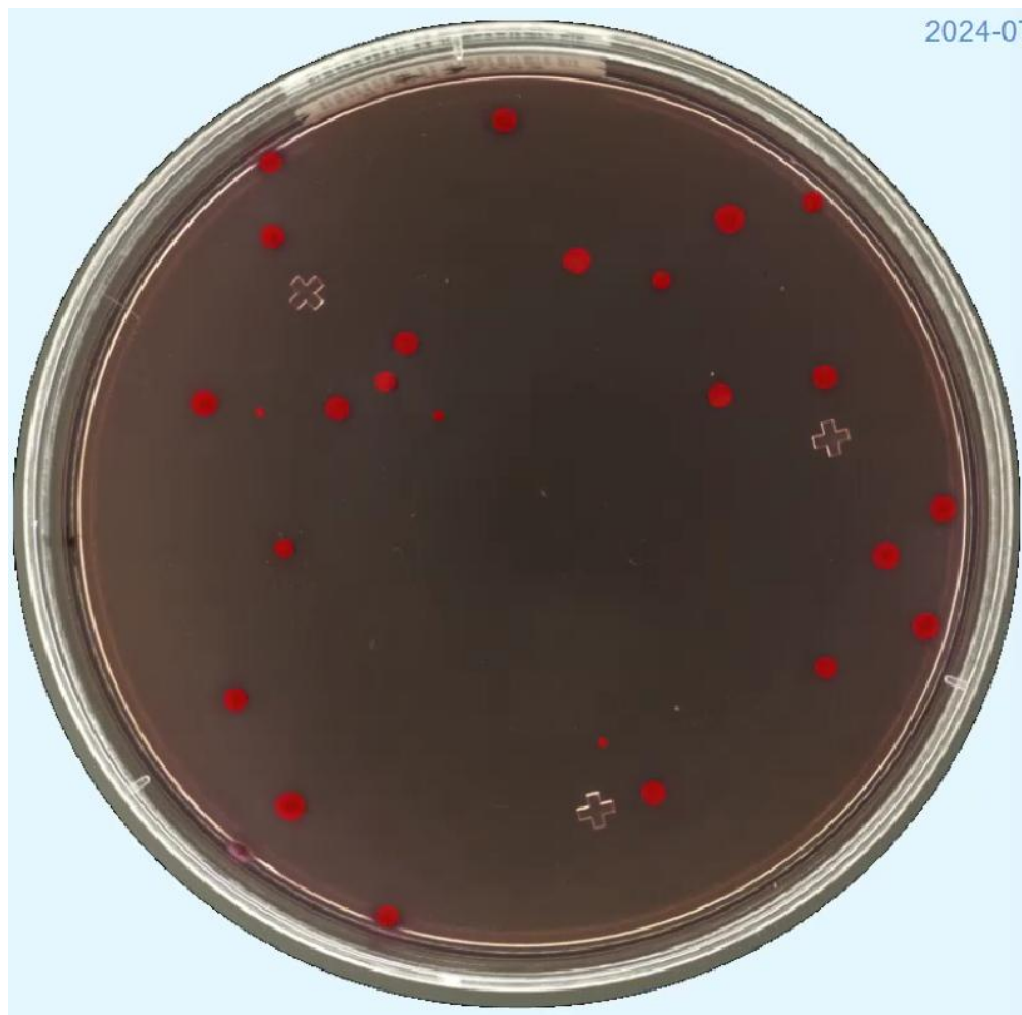
計數效果展示-塗布/傾注



計數效果展示-不同程度的水汽干擾

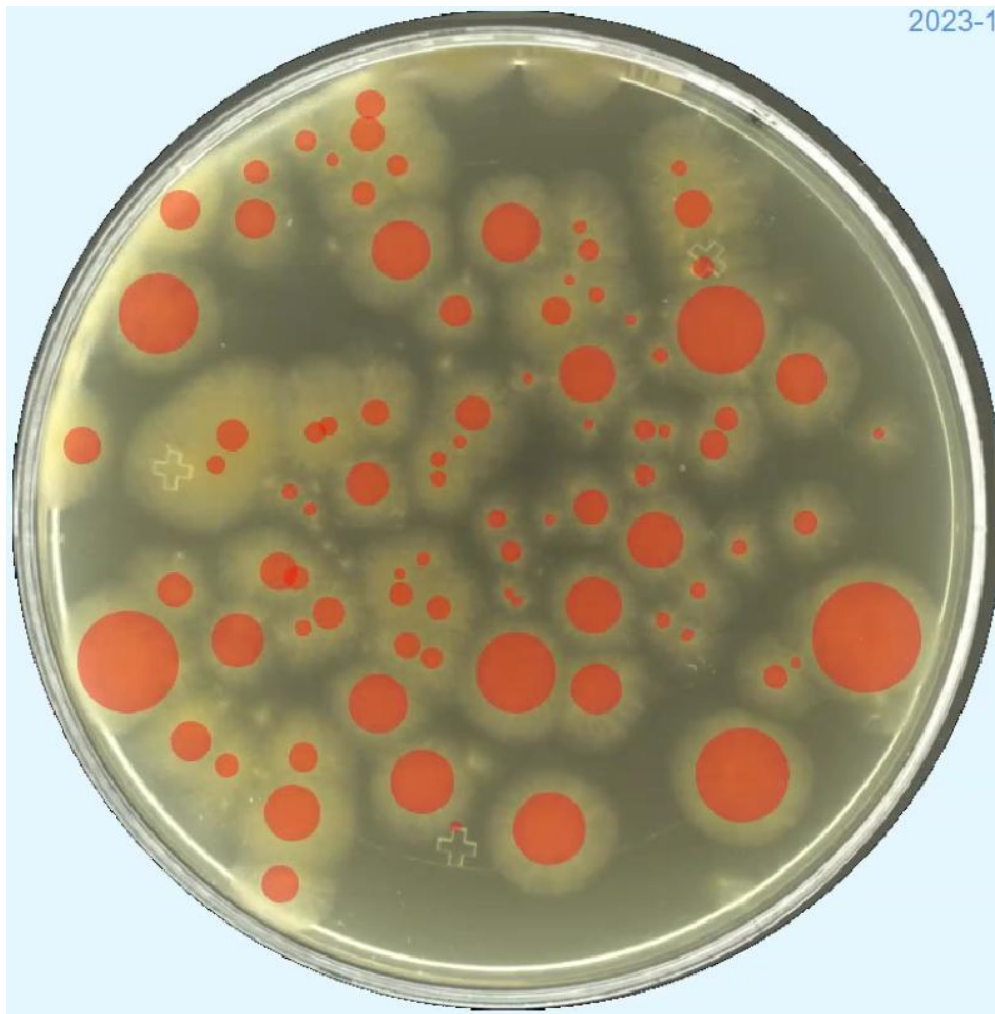


計數效果展示-深色培養基、蔓延菌落

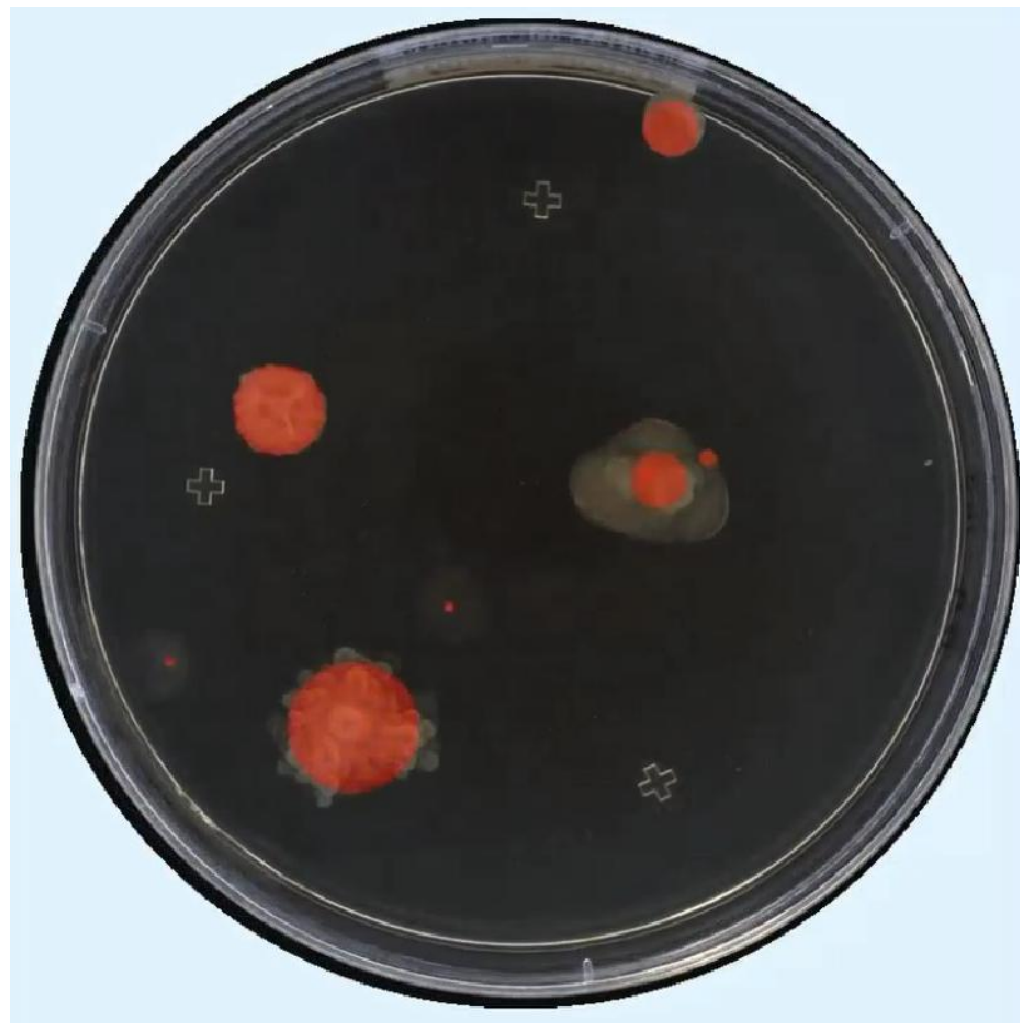


計數效果展示-黴菌

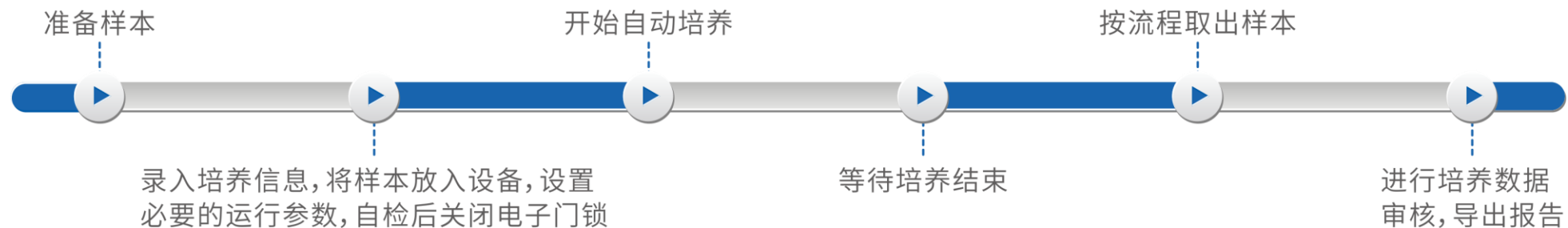
2023-11



計數效果展示-中成藥



全自動菌落計數工作站使用流程



操作視頻:



系统介面

◎ 培养皿展示区 实时展示正在培养的样本最新图片、识别菌落数、位置信息等

◎ 功能控制区 不同界面切换及运动控制、快捷开关、系统运行状态等



展示菌落生长曲线、培养皿信息、算法判读结果、培养皿生长图片视频、算法菌落标记位置、数据回溯、人工修正工具栏等

◎ 培养皿详细界面

◎ 数据报告展示

線上通知與報警功能★

业务通知和 报警通知

支持短信、电话、邮件等
形式的移动端即时信息通知



通知人设置

判阳通知	decentdong@qq.com,497116078@q	设置
变温培养通知	decentdong@qq.com	设置
培养结束通知	decentdong@qq.com	设置
报告提交通知	decentdong@qq.com,497116078@q	设置
报告审批通过/驳回通知	decentdong@qq.com	设置
预约变温通知	decentdong@qq.com	设置
报警通知	decentdong@qq.com,oAPpP6VUpk	设置

预约变温: [] h后, 变温: 15-60 °C [设置] [取消]

泰林医学工程

设备名称: 3F实验室

检测时间: 2024-06-04 15:04:29

检测名称: 【报告提交通知】

检测结果: 《豆酱 稀释1000倍》报告已提交, 请审批

6月4日 下午16:09

检测结果通知

单位名称: 泰林医疗器械有限公司-研发部

设备名称: 2F

检测时间: 2024-06-04 16:09:53

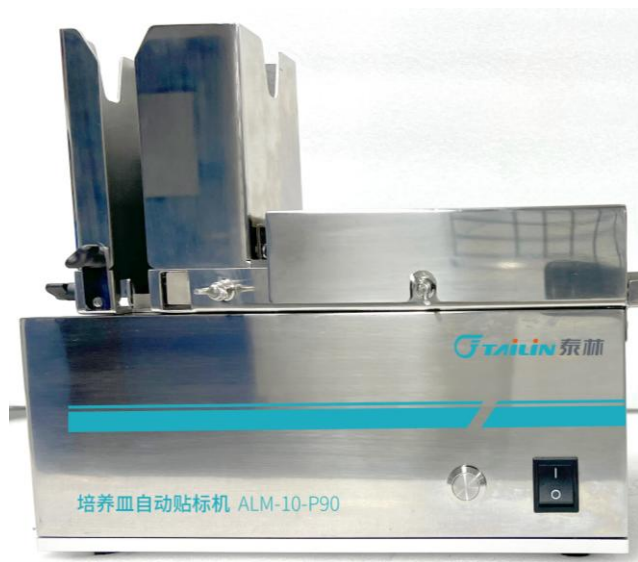
检测名称: 【报告提交通知】

检测结果: 《豆酱 稀释100倍》报告已提交, 请审批

6月22日 上午08:40

设备报警通知

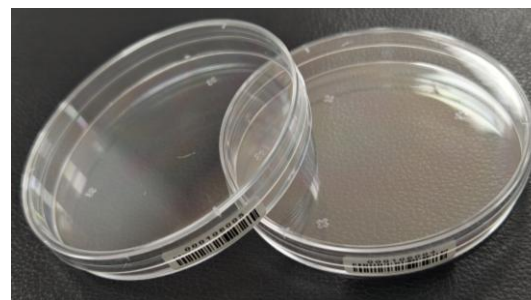
相關配套設備及耗材



培養皿自動貼標機（選配）



手持掃碼錄入終端（選配）



定制培養皿



一次性條碼

傳統菌落計數與自動化菌落計數流程對比

傳統方法

樣品準備

填寫樣本資訊

樣本
放進培養箱

培養箱培養
(環境監測讀兩次)

兩人閱讀確認+手工轉
錄結果

傳統報告時間: 3-5天(細菌: 24-48 小時; 真菌: 到5天)出結果

全自動菌落計數工作站
(培養+即時計數)

微小菌落

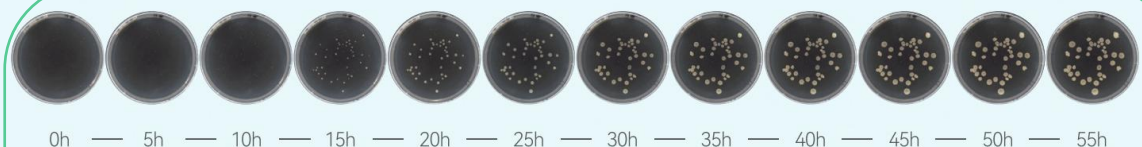
$\sim 10^6$ 個細胞

SCW160方法

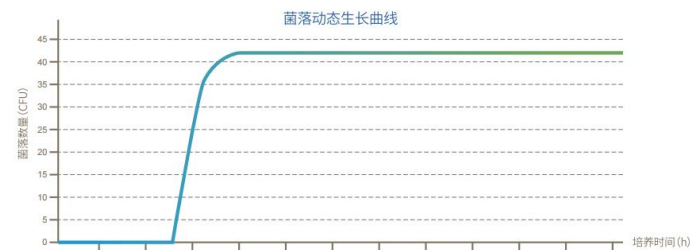
電子化樣本資訊錄入

樣本批量
放進自動工作站

自動生成報告
(數據可追蹤)



33°C培養的枯草芽孢桿菌



權威技術評價分析報告

GRGTEST

第 1 页 共 25 页

检测报告

报告编号: H202206201273-01-G1

校验码: 985537

委托单位: 浙江泰林生物技术股份有限公司

单位地址: 浙江省杭州市富阳区东洲街道东洲工业功能区七号路 33 号

样品名称: 微生物智能培养计数系统、智能无菌检查培养判读系统

样品型号: SCW-160、AST-80

收样日期: 2022 年 07 月 01 日

检测日期: 2022 年 07 月 01 日~2022 年 07 月 04 日

检测依据: 依据微生物智能培养计数系统功能性测试大纲、智能无菌检查培养判读系统功能性测试大纲

检测结论: 符合要求

编制: 张中华 审核: 唐锦鑫 批准: 张巍

广州广电计量检测股份有限公司

签发日期: 2022/7/15

(04)

广州广电计量检测股份有限公司

地址: 广东省广州市黄埔大道西平云路 163 号

电话(Tel): (+86) 400-602-0999 传真(FAX): (+86) 020-38698685 网页: http://www.grgtest.com

项目编号: 2023-KY-HX-098

共 7 页, 第 1 页

技术评价分析报告

项目名称 全自动菌落计数工作站性能参数研究

委托单位 浙江泰林医疗器械有限公司

项目编号 2023-KY-HX-098

浙江省计量科学研究院

项目编号: 2023-KY-HX-098

共 7 页, 第 2 页

浙江省计量科学研究院 技术评价分析报告

项目名称	全自动菌落计数工作站性能参数研究		
委托单位	浙江泰林医疗器械有限公司	样品名称	全自动菌落计数工作站
型号规格	SCW-160	样品编号	00032259
立项部门	/	完成单位	浙江省计量科学研究院
评价分析地点	浙江泰林医疗器械有限公司	评价分析日期	2023.01.10~2023.02.24
环境条件	温度: (15.5~25.5) °C	湿度: (32~75) %RH	
评价分析依据	ZJIMHX-YJ-SWHX007-2023《全自动菌落计数工作站性能参数研究技术方案》		
项目合同指标	1、试验项目包括: 系统基本配置、基本结构、软件系统、访问安全控制、权限分配、电子签名、审计追踪、电子数据完整性、控制有效性、报警功能等功能检查, 以及系统温度控制范围、控温精度、升降温时间、计数速度、计数误差、最小识别菌落直径、工作噪音、泄漏电流、保护接地阻抗等性能指标研究。 2、全自动菌落计数工作站性能参数研究技术评价分析报告 1 份。		
评价分析结论	具体测量数据见附评价分析结果/数据。 采用高精度测温仪、温度验证仪、电子秒表、声级计、模拟菌落总数标准物质、模拟菌落大小标准物质、医用泄露电流测试仪和医用程控接地电阻测试仪等对全自动菌落计数工作站的性能进行研究和分析。通过资料查看、设备检查和检测等方式, 确认了全自动菌落计数工作站具备菌落自动培养、菌落自动计数、自动生成计数结果报告等功能, 此外还具有三级权限、电子签名、审计追踪、远程信息通知等功能; 测试结果显示, 系统温度控制范围、控温精度、升降温时间、计数速度、计数误差、最小识别菌落直径、工作噪音、泄漏电流、保护接地阻抗、系统基本配置、系统基本结构、软件系统、访问安全控制、权限分配、电子签名、审计追踪、电子数据完整性、控制有效性、报警功能等均满足技术指标要求。 建议设备报警过程中蜂鸣器可以选择声音柔和一点的。		
备注	/		

批准:

审核:

编制:

职务: (副所长)

權威技術評價分析報告



中国认可
国际互认
检测
TESTING
CNAS L0116

检测报告 TEST REPORT



扫一扫查真伪



扫一扫关注我们



溯品码

报告编号
REPORT NO. 2411200347

项目名称
NAME OF PROJECT 全自动菌落计数工作站 SCW-160

委托单位
CUSTOMER 浙江泰林医学工程有限公司

受检单位
INSPECTED ENTITY /

检测类别
TEST CATEGORY 委托检测

浙江方圆检测集团股份有限公司
ZHEJIANG FANGYUAN TEST GROUP CO., LTD.

报告编号 (Report NO.): 2411200347

第 1 页共 7 页 (Page 1 of 7)

浙江方圆检测集团股份有限公司

ZHEJIANG FANGYUAN TEST GROUP CO., LTD.

检测报告 TEST REPORT

项目名称 Name of Project	全自动菌落计数工作站 SCW-160		检测类别 Test Category	委托检测
委托单位(客户)名称 Customer	浙江泰林医学工程有限公司		委托单位(客户)地址 Address	浙江省杭州市富阳区东洲街道 江堤路 2 号
业主单位名称 Name of Owner	/		业主单位地址 Address of Owner	/
施工单位名称 Name of Construct unit	/		施工单位地址 Address of Construct unit	/
委托日期 Commission Date	2024 年 03 月 20 日		检测地点 Test location	浙江省杭州市富阳区东洲街道 江堤路 2 号
检测日期 Test Date	2024 年 03 月 27 日			
判定依据 Decision Criteria	GB/T 25000.51-2016《系统与软件工程系统与软件质量要求和评价(SQuaRE) 第 51 部分:就绪可用软件产品(RUSP)的质量要求和测试细则》; 《全自动菌落计数工作站 SCW-160 测试需求书》。			
检测依据 Test Requirements	GB/T 25000.51-2016《系统与软件工程系统与软件质量要求和评价(SQuaRE) 第 51 部分:就绪可用软件产品(RUSP)的质量要求和测试细则》; *《全自动菌落计数工作站 SCW-160 测试需求书》。			
检测项目 Test Item(s)	软件质量要求(功能性)、*系统技术要求。			
项目描述 Description of Project	本项目主要开发一款全自动菌落计数工作站产品,型号为 SCW-160,该工作站是集恒温培养箱和菌落全自动计数判读功能于一体的智能工作站,使用时实验人员只需将制备好的样本放入设备中,系统即可自动完成菌落培养、菌落计数、结果分析和报告输出,过程无需人工参与,且对放入培养的样本进行编码,避免数据出现错乱。			
检测结论 Test Summary	依据上述检测依据,对样品进行检测,所检项目的检测结果均符合判定依据要求。			
备注 Remarks	带*检测依据及检测项目均不在本实验室 CNAS 授权范围内。			

批准:
Approved by

审核:
Verified by

编制:
Composed by

胡天成

快速微生物方法 (RMM) : 預測和實施實驗室轉型，機遇與挑戰

隨著我們邁向工業 4.0，基於自動化和數字化技術的RMM正越來越多地被納入工業微生物學工作流程。

RMM帶來的好處:

環境監測

培養期間自動即時計數
數據完整性
更快獲得結果

水系統

線上即時監測生產用水中的微生物水準

無菌檢查

快速結果
數據完整性
減少人工錯誤

关于征求《〈药品生产质量管理规范 (2010 年修订)〉无菌药品附录(征求意见稿)》

污染源的影响。并应考虑使用快速/替代方法和连续监测系统，以快速检测环境和产品中的潜在污染物。

歡迎交流與討論

