

《中国药典》2015版3301-支原体检查法规定了：主细胞库、工作细胞库、病毒种子批、对照细胞以及临床治疗用细胞进行支原体检查时，应同时进行培养法和指示细胞培养法（DNA染色法）。病毒类疫苗的病毒收获液、原液采用培养法检查支原体，必要时，亦可采用指示细胞培养法筛选培养基。也可采用经国家药品检定机构认可的其他方法。

生物制品生产检定用动物细胞基质制备及检定规程（四）中细胞检定明确要求进行支原体检查：取细胞培养上清液样品，依法检查；人用重组单克隆抗体制品总论中要求对细胞培养和收获液进行支原体检查。

国家药监局发布的细胞治疗产品研究与评价技术指导原则的通告（2017年第216号）中指出：研究者需建立细胞治疗产品的质量控制策略。建议采用中间样品的质量检验和终产品放行检验相结合的机制。检定项目应当建立在产品质量研究以及对生产工艺和生产过程充分理解的基础之上，同时兼顾产品的特性和当下的科学认知与共识。随着研究的不断深入（如从临床前阶段进行至临床阶段），工艺相关信息应逐渐获得累积，检验方法应逐步完善，以适应各阶段的质量控制要求，建议确证性临床试验用样品的质量控制与商业化生产时的质控要求保持一致。质量控制一般应考虑鉴别、生物学效力、纯度、杂质、细胞数量（活细胞数、功能细胞数等）和一般检测（如无菌、支原体、内毒素、外观、除细胞之外的其他外源性异物等）等。

按照美国联邦法规21CFR中关于生物制品的规定，应测试用于制造人类生物制品的细胞系中是否存在可检测的微生物制剂（包括支原体）。除了主细胞库和工作细胞库，还应测试任何对照细胞和生产末期细胞，以及主病毒和工作病毒种子。对于生产批次，应在最有可能检测到任何支原体不定因子的阶段（即未加工的散装物料（而不是已加工的散装物料或最终产品））进行测试。21CFR610.30中的支原体测试规定，活病毒疫苗应在澄清或过滤之前进行测试，灭活病毒疫苗应在灭活之前进行测试。



▲ 湖州申科资质

- 以完善的SOP全程监控整个实验操作
- 报告结果可靠，协助客户提供相关的服务
- 支原体菌株来源正规，可溯源
- 使用正规的培养基，并对每批培养基进行测试
- 实验人员受过良好的技能培训，曾在中检院接受支原体检测包括实验等培训
- 对样本进行适用性验证
- 可根据企业要求，提供液体、固体培养检查
- 具有资质的P2实验室

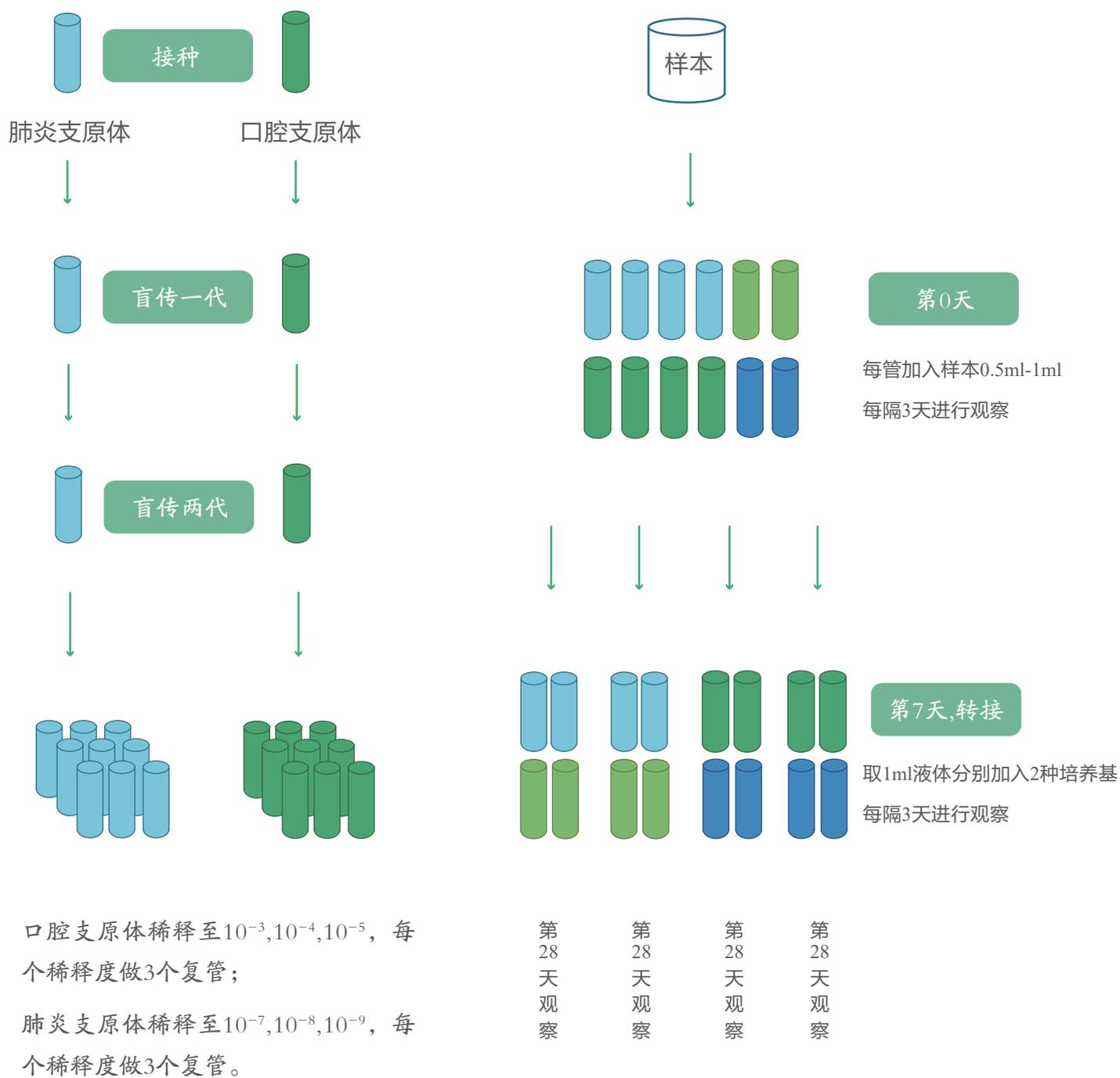
▲ 全面技术服务

- 主细胞库、工作细胞库、生产细胞库
- 病毒种子批
- 最终收获液
- 细胞培养原料
- 其他的生物制品

▲ 材料及设备

- 在P2实验室的生物安全柜中进行实验，保护人员及样本的安全
- 对阳性对照进行单独处理，保证与样本不相互污染
- 实验前后进行消毒杀菌处理，保证整个实验室的清洁
- 实验数据可追溯

中国药典-支原体培养法检测流程



培养基灵敏度检查

培养法检查

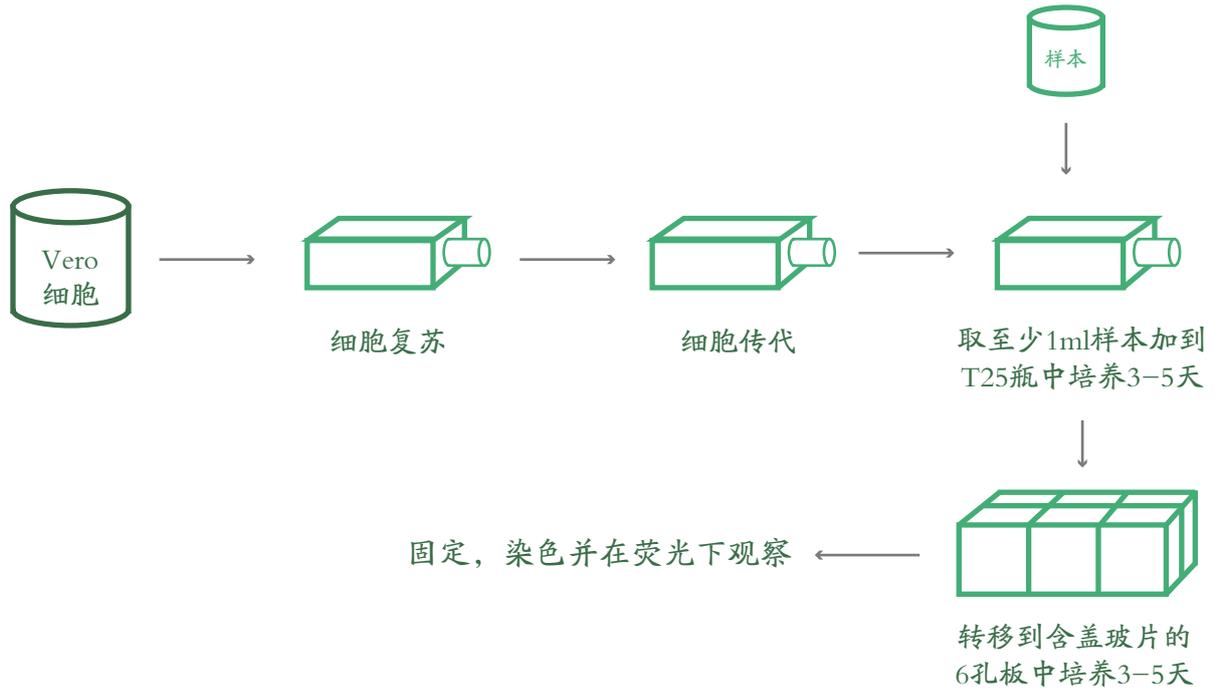
支原体肉汤液体培养基

精氨酸支原体肉汤液体培养基

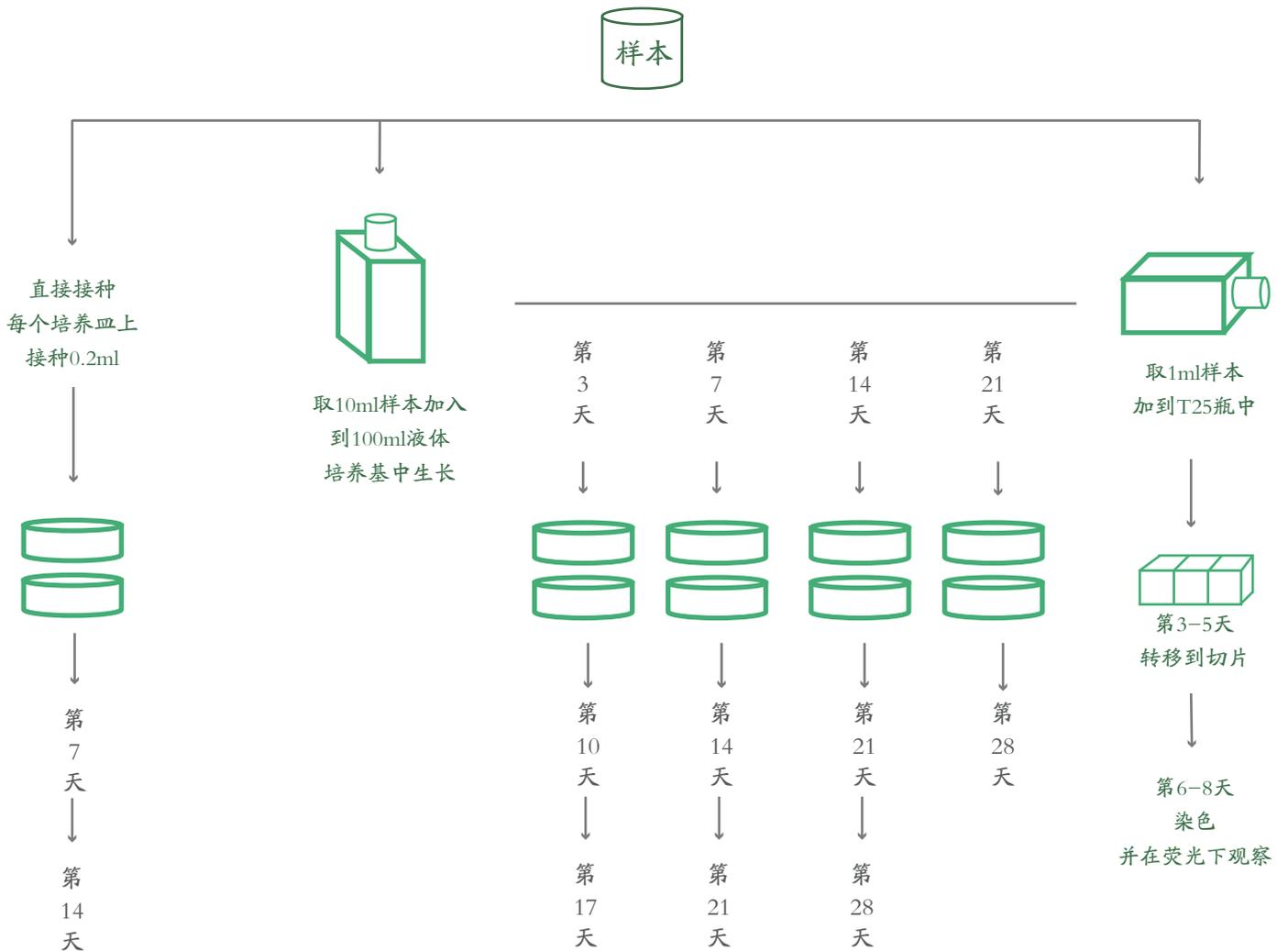
支原体肉汤半流体培养

精氨酸支原体肉汤半流体培养基

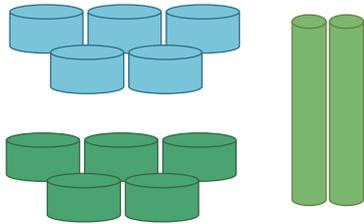
中国药典-支原体指示细胞培养法检测流程



EP/JP/USP/PTC中培养法检测流程

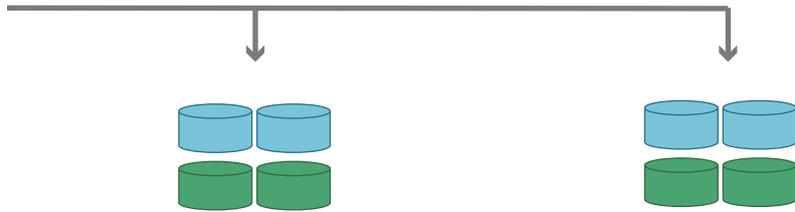


36°C/CO₂培养



第3天
从每个管中取0.5ml混匀

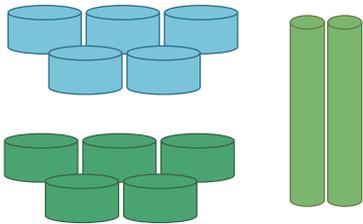
第14天
从每个管中取0.5ml混匀



从上面混匀管中取0.1ml
加到培养皿上培养14天

从上面混匀管中取0.1ml
加到培养皿上培养14天

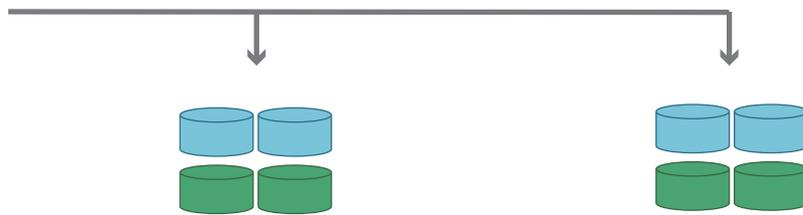
36°C/N₂/CO₂培养



第0天

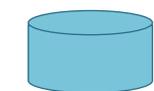
第3天
从每个管中取0.5ml混匀

第14天
从每个管中取0.5ml混匀



从上面混匀管中取0.1ml
加到培养皿上培养14天

从上面混匀管中取0.1ml
加到培养皿上培养14天



支原体肉汤
固体培养基



精氨酸支原体
固体培养基



支原体肉汤
半流体培养基