

# 地衣芽孢杆菌活菌胶囊

Diyiyabaoganjun Huojun Jiaonang

**Bacillus Licheniformis Capsules, Live**

本品系用地衣芽孢杆菌经培养收集菌体制成菌粉与辅料混合制成的活菌胶囊。

## 1 基本要求

生产和检定用设施、原材料及辅料、水、器具、动物等应符合《中国药典》2020年版三部“凡例”的有关要求。

## 2 制造

### 2.1 生产用菌种

生产用菌种应符合《中国药典》2020年版三部“生物制品生产检定用菌毒种管理及质量控制”的有关规定。

#### 2.1.1 名称及来源

生产用菌种为地衣芽孢杆菌 BL63516 株，传代背景清晰，具备稳定的生物学和遗传学特性。

#### 2.1.2 种子批的建立

应符合《中国药典》2020年版三部“生物制品生产检定用菌毒种管理及质量控制”的有关规定。

#### 2.1.3 种子批的传代

原始种子批和主种子批启开后传代次数不得超过 10 代，工作种子批启开后至发酵培养传代次数不得超过 5 代。

#### 2.1.4 种子批的检定

##### 2.1.4.1 培养特性

菌种接种于普通营养琼脂平板上 36~38℃培养 18~24 小时，应为浅灰白色，呈扁平形，边缘不整齐的菌落。

##### 2.1.4.2 染色镜检

应为革兰氏阳性杆菌，芽孢中生，孢体不膨大，呈散在或链状排列。

##### 2.1.4.3 生化反应

发酵 *D*-葡萄糖、*L*-阿拉伯糖、*D*-木糖和 *D*-甘露醇，水解淀粉，液化明胶，VP 反应阳性。

##### 2.1.4.4 毒性实验

取体重 18~22g 小鼠 5 只，每只经口灌胃 0.5ml 新鲜菌液（不少于  $1.0 \times 10^9$ CFU/0.5ml），每天 1

次，连续3天，从第1天灌胃起观察至第7天，小鼠均应健康存活，体重增加。

#### 2.1.5 种子批的保存

原始种子和主种子应冻干保存于8℃以下，工作种子应置于适宜温度保存。

### 2.2 菌粉制造

#### 2.2.1 生产用种子

启开工作种子批菌种，接种于营养肉汤培养基或其他适宜培养基中，36~38℃培养，应涂片做革兰氏染色，在显微镜下观察5~10个视野，细菌的染色反应、形态应一致并符合原始菌种的特征。制备过程应防止污染，菌种传代次数应符合规定。

#### 2.2.2 生产用培养基

采用pH7.2-7.4的营养肉汤培养基或其他适宜培养基。

#### 2.2.3 培养

采用液体培养。种子液经检查合格后，接种于发酵罐内，于36~38℃培养，培养过程中取样涂片做革兰氏染色镜检、pH值检测及芽孢形成率的检测，均应符合规定。培养结束后取样做纯菌检查，如发现污染应予废弃。

#### 2.2.4 收获菌体和制成菌粉

培养结束后离心收获湿菌体，与适宜的分散剂、稳定剂混合。采用真空冷冻干燥或加热干燥法干燥菌体，再经粉碎、过筛制成粉末状菌粉。

#### 2.2.5 菌粉的保存及保存时间

应通过活菌稳定性试验确定保存温度和保存时间。

#### 2.2.6 菌粉检定

按3.1项进行。

### 2.3 半成品

#### 2.3.1 配制

将菌粉与辅料按适宜的比例混合均匀后制成半成品，每1g半成品含活菌数应不低于 $1.0 \times 10^9$ CFU。

#### 2.3.2 半成品检定

按3.2项进行。

### 2.4 成品

#### 2.4.1 分批

应符合《中国药典》2020年版三部“生物制品分包装及贮运管理”的规定。

#### 2.4.2 分装

应符合《中国药典》2020年版三部“生物制品分包装及贮运管理”与通则0103有关规定。

#### 2.4.3 规格

每粒胶囊0.5g，含地衣芽孢杆菌活菌数应不低于 $5.0 \times 10^8$ CFU；每粒胶囊0.25g，含地衣芽孢杆菌活菌数应不低于 $2.5 \times 10^8$ CFU。

#### 2.4.4 包装

应符合《中国药典》2020年版三部“生物制品分包装及贮运管理”与通则0103有关规定。

### 3 检定

#### 3.1 菌粉检定

##### 3.1.1 外观

应为灰白色粉末。

##### 3.1.2 目的菌检查

取少量菌粉加入适量灭菌0.85%~0.90%氯化钠溶液或其他适宜稀释液后，涂布在适宜琼脂平皿上，在适宜条件下培养，其培养物的生长特性和染色镜检的特征应符合地衣芽孢杆菌BL63516株特征。

##### 3.1.3 杂菌检查

按《中国药典》2020年版三部“微生物活菌制品总论”附录3进行，应符合规定。

##### 3.1.4 干燥失重

按《中国药典》2020年版三部通则0831或仪器方法测定，减失重量应不得超过7.0%。

##### 3.1.5 活菌数测定

按《中国药典》2020年版三部“微生物活菌制品总论”附录2进行，每1g菌粉中活菌数应不低于 $1.0 \times 10^{10}$ CFU。

#### 3.2 半成品检定

##### 杂菌检查

按《中国药典》2020年版三部“微生物活菌制品总论”附录3进行，应符合规定。

#### 3.3 成品检定

##### 3.3.1 外观

本品为胶囊剂，内容物应为白色或灰白色粉末，可有菌粉色斑。

##### 3.3.2 鉴别试验

按 2.1.4 项方法进行生长特性、染色镜检和生化反应检查，应符合地衣芽孢杆菌 BL63516 株的特征。

### 3.3.3 检查

#### 3.3.3.1 干燥失重

按《中国药典》2020 年版三部通则 0831 或仪器方法测定，减失重量应不得超过 7.0%。

#### 3.3.3.2 杂菌检查

按《中国药典》2020 年版三部“微生物活菌制品总论”附录 3 进行，应符合规定。

#### 3.3.3.3 崩解时限

依法检查（《中国药典》2020 年版三部通则 0921），应符合规定。

#### 3.3.3.4 装量差异

依法检查（《中国药典》2020 年版三部通则 0103），应符合规定。

### 3.3.4 活菌数测定

按《中国药典》2020 年版三部“微生物活菌制品总论”附录 2 进行，每 1g 制品中的活菌数应不低于  $1.0 \times 10^9$ CFU。

## 4 保存、运输及有效期

于室温、避光干燥处保存和运输。自生产之日起，按批准的有效期执行。

## 5 使用说明

应符合《中国药典》2020 年版三部“生物制品分包装及贮运管理”规定和批准的内容。