

**凝结芽孢杆菌活菌片**  
**Ningjieyabaoganjun Huojun Pian**  
***Bacillus coagulans* Tablets, Live**

本品系用凝结芽孢杆菌发酵培养后，收集菌体，冷冻干燥成菌粉，与适宜辅料混合制成的活菌片。

### 1 基本要求

生产和检定用设施、原料及辅料、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

凝结芽孢杆菌 TBC169 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超过 5 代。

##### 2.1.4 种子批的检定

###### 2.1.4.1 培养特性

凝结芽孢杆菌 TBC169 株为兼性厌氧菌，在酪胨培养基（琼脂）上培养出灰白色或乳白色菌落。

###### 2.1.4.2 染色镜检

应为革兰氏染色阳性，菌体为杆形，大部分菌体中央或一端有卵圆形芽孢、不膨胀。

###### 2.1.4.3 生化反应

发酵葡萄糖、阿拉伯糖、木糖、甘露醇。触酶、V-P 反应阳性，吲哚阴性、硝酸盐还原阴性、牛奶凝固。

###### 2.1.4.4 毒性试验

用体重 18~22g 小鼠 5 只，每只以新鲜菌液 0.5ml（不少于  $1.0 \times 10^9$ CFU/0.5ml）经口灌胃连续 3

天，每天1次，从第1天灌胃起观察至第7天，小鼠应健康存活，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

启开工作种子批的菌种，接种于适宜培养基进行多级种子扩增，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

采用经批准的培养基用于生产。

#### 2.2.3 培养

采用液体培养。将种子液置适宜条件下培养，培养过程中取样涂片做革兰染色镜检、pH值检测及芽孢形成率检测，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 收集菌体和制成菌粉

培养结束后，离心收获湿菌体，与适宜的分散剂、稳定剂混合。采用冷冻干燥法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

将菌粉与适宜辅料按适宜的比例混合即为半成品，每1g半成品含活菌数应不低于 $1.0 \times 10^8$ 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0101的有关规定。

### 2.4.3 规格

每片 0.35g，含凝结芽孢杆菌活菌数应不低于  $3.5 \times 10^7$ CFU，有效期内含凝结芽孢杆菌活菌数不低于  $1.75 \times 10^7$ 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 0101 有关规定。

## 3 检定

### 3.1 菌粉检定

#### 3.1.1 外观

应为白色或灰白色粉末。

#### 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，接种在适宜琼脂平皿上，在适宜条件下培养，其培养物的生长特性和染色镜检应符合凝结芽孢杆菌 TBC169 株的特征。

#### 3.1.3 杂菌检查

按《中国药典》2020 年版三部“微生态活菌制品总论”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 5.0%。

#### 3.1.5 活菌数测定

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

### 3.2 半成品检定

#### 杂菌检查

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

### 3.3 成品检定

#### 3.3.1 外观

片剂应完整、光洁，呈白色或灰白色，可有灰黄色色斑。

#### 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，应符合凝结芽孢杆菌 TBC169 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

按现行版《中国药典》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 重量差异

依法检查（《中国药典》2020年版三部通则 0101），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 制品中凝结芽孢杆菌活菌数应不低于  $1.0 \times 10^8$  CFU，有效期内每 1g 制品中凝结芽孢杆菌活菌数应不低于  $5.0 \times 10^7$  CFU。

### 4 保存、运输及有效期

在室温干燥处保存和运输，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存管理”规定和批准的内容。