

酪酸梭菌活菌片

Laosuansuojun Huojun Pian

Clostridium butyricum Tablets, Live

本品系用酪酸梭菌发酵培养后，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

酪酸梭菌 CGMCC 0313-1 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

酪酸梭菌 CGMCC 0313-1 株为厌氧菌，在 GAM 培养基上 37℃ 培养 24 小时，应为灰白色菌落。

2.1.4.2 染色镜检

应为革兰氏染色阳性，为粗大杆菌，有芽孢。

2.1.4.3 生化检定

发酵木糖、核糖、葡萄糖、甘露醇、果糖、半乳糖、蔗糖、麦芽糖、纤维二糖、乳糖、

蔗糖、蜜二糖、棉子糖、松三糖、可溶性淀粉、菊糖、七叶苷、水杨素、牛奶凝固；不发酵阿拉伯糖、鼠李糖、甘露醇、山梨醇、肌醇；明胶液化及硝酸盐还原试验阴性。

2.1.4.4 毒性试验

用体重 18~22g 小鼠 5 只，每只小鼠经口灌胃 0.5ml 新鲜菌液(不少于 1.0×10^9 CFU/0.5ml)，每天 1 次，连续 3 天，从第 1 天灌胃起连续观察至第 7 天，小鼠均应健康存活，体重增加。

2.1.4.5 代谢产物检定

采用气相色谱法（现行版《中国药典》三部通则 0521）对原始种子进行代谢产物丁酸的测定，应符合该菌种的特征。

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。将种子液接种于发酵罐内，36~38℃ 厌氧培养，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配方比例混合即为半成品，每 1g 半成品含活菌数应不低于 1.5×10^8 CFU，用于压制成片。

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，含酪酸梭菌活菌数应不低于 5.25×10^7 CFU，有效期内酪酸梭菌活菌数不低于 5.25×10^6 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、灰白色粉末或灰黄色粉末。

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酪酸梭菌 CGMCC 0313-1 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 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 1.5×10^9 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、染色镜检检查和生化反应，应符合酪酸梭菌CGMCC 0313-1株的特性。

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测定，减失重量应不得超过6.0%。

3.3.3.2 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。

3.3.3.3 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“微生态活菌制品总论”附录2进行，每1g制品中活菌数应不低于 1.5×10^8 CFU，有效期内每1g制品中活菌数应不低于 1.5×10^7 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。