

## 微生态药品制剂的质量控制

袁佩娜 中国药品生物制品检定所 (100050)

随着微生态学理论研究的深入,利用微生态制剂调整人体内微生态平衡,恢复正常生理功能,防治疾病、增进健康,已在世界范围内形成热潮。根据最近国内外有关报导,微生态制剂可分成三大类:(1)益生菌(probiotics),也称活菌制剂,即能够促进肠内菌群生态平衡,对宿主起有益作用的活菌制剂。(2)益生元(prebiotics),指能够选择性地刺激肠内一种或几种有益菌生长繁殖,而且不被宿主消化的物质。(3)合生素(synbiotics),是指益生菌和益生元同时并用的制剂。

近十年来,微生态制剂在我国发展迅速,其中绝大部分属益生菌制剂。目前市场上除了一小部分作为正式药品用于临床治疗外,绝大部分是用作保健品、保健食品。但是,在当前的大发展中,难免鱼龙混杂,泥沙俱下。有些制品生产不规范,质量不符合要求,为了保证微生态制剂正常发展,能安全有效地为人类健康服务,本文根据生物制品生产和管理的要求,就益生菌制剂的质量控制介绍如下。

1 益生菌的质量 益生菌的质量含四个主要特征:(1)安全性,即使用必须安全,无副反应。(2)有效性,即治疗有效。(3)稳定性,即制品中活菌的生物学、遗传学特性稳定,制品在使用和贮存期间,应保持稳定的活存状态。(4)可接受性,即制剂的生产工艺、条件、成品的外观、包装、使用方法以及价格都应是可接受的。

根据《生物制品管理规定》和《新生物制品审批办法》等条例规定,益生菌属一类生物制品,对其质量管理、质量标准和质量检定都应按生物制品规定要求进行。

2 益生菌的标准化 我国近十几年来,对于益生菌制剂的标准化问题日益受到关注。益生菌标准化是组织益生菌生产和提高制品质量的重要手段。益生菌标准化如同其他生物制品标准化一样,目前主要工作是制品规程的制定和修订。《生物制品规程》是我国生物制品的国家标准和技术法规。它包括生产和检定的技术指标,它来源于生产,反过来又指导生产,不但规定了生产和检定技术指标,还对原材料、工艺流程、检定方法等作了详细的规定,对制品质量起保证作用。它分为正式规程和试行规程两个等级。如今我国已有4种益生菌制剂,即口服双歧杆菌活菌制剂(丽珠肠乐、回春生),口服双歧杆菌三联活菌制剂(培菲康),口服蜡样芽孢杆菌活菌制剂(促菌生)和口服地衣芽孢杆菌活菌制剂(整肠生)。它们在90年代初获得国家新药证书和卫生部批准的生产文号正式生产,并且这4种制剂的生产和检定规程已编入1995年版国家《生物制品试行规程》。《生物制品试行规程》是国家对益生菌制剂实行监督的准绳,也是国家对益生菌制剂生产和质量的最低要求。它们与其他生物制品相比还存在不少差距,还需不断改进,尽快升级为正式规程。

3 益生菌的菌种及管理 1992年R. Fukker提出益生菌应符合以下标准:(1)益生菌必须是大规模工业生产的活菌制剂;(2)在保藏和使用期间,应保持稳定的活菌状态;(3)必须能在人体肠道中存活;(4)必须对宿主产生有益作用;(5)应是人体肠道正常菌群的成员(具有调节和有益作用的外来菌也可以)。

根据上述5项标准,生产益生菌制剂的菌种必须经过严格筛选,采用良好的保存方法和科学管理,这是生产出高质量的益生菌制剂的关键。

3.1 生产用菌种的筛选 筛选生产用菌种的原则应根据生产制品的用途、使用范围、使用方式、生产过程和生产条件等确定,必须考虑其安全性、有效性和生产实用性。

3.1.1 安全性 筛选的菌种必须对人体无毒无害,不产生任何过敏反应;有的菌可能需作驯化、诱变等处理,则不能使用有致癌性等药物,以免对人体带来危害。

3.1.2 有效性 应根据使用目的、用途,通过动物试验证实其有效功能和通过体外拮抗试验证实对致病性细菌的抑制作用等,选择有效的菌种。

3.1.3 稳定性 目前较多产品均采用天然菌株,应该选择具有较稳定的生物学特征和代谢特征的菌株作为生产用菌种。对于经过驯化、诱变或基因重组的菌株,则应该特别注意选择遗传学上稳定性好的菌种。

3.1.4 生产实用性 生产用菌种应易于培养生产,适合于大规模工业生产,尽可能使生产工艺和流程简化。

### 3.2 生产用菌种的质量控制

3.2.1 菌种来源 菌种来源历史应清楚,以专门机构审查认可并同意,方可用于生产。由专门机构负责保存和分发或由研制单位专门管理部门保存和分发。

3.2.2 菌种检定 生产用菌种在投产前必须进行全面的检定,检定内容包括:

形态及培养特性的检查 菌株染色、形态均应典型;在培养基上生长的菌落应具有典型特征。

糖发酵和生化反应观察 应符合伯杰氏细菌分类的特性要求。

代谢产物测定 对于双歧杆菌、乳杆菌等细菌必须做代谢产物中有机酸含量测定;常采用气相色谱分析测定方法。

血清学检查 通过特异免疫血清作定量凝集试验,要求凝集效价不低于原效价一半。若做玻片凝集试验,必须呈强凝集反应。

毒性试验 用较大浓度菌液,给小白鼠腹腔注射或灌胃,小白鼠应无不良反应出现,健康活存,体重增加。例如双歧杆菌,采用体重 20~22 g 小白鼠,一次腹腔注射 0.3 mL 含 10 亿菌;或每天一次灌胃 0.5 mL 含 20 亿菌,连续灌 3 d,观察反应至第 7 天,小鼠健康活存,体重增加。

必要时应作 G+C mol% 测定和其他遗传学特征的鉴定。

### 3.3 生产用菌种的保存与管理

生产用菌种经审查认可,批准同意使用后,即应冷冻干燥一大批,并保存于 2℃~3℃ 以备生产使用。冻干菌种启开后须按上述规定检定合格后才可投产。并且传代不应超过 5 代,因过多过频传代易造成细菌某些生物特性变异。菌种传达方法包括斜面、液体和半固体穿刺培养等,菌种在适宜培养基和适宜温度等条件下培育,生产的细菌可保存于 4℃ 冰箱,有的细菌在室温下保存更适宜。

生产用菌种要求长期延续保持原有特性,除良好的保存方法外,还须科学管理方法。菌种必须专人管理,经常定期检查,并应建立菌种档案资料,包括来源、历史、筛选、检定、冻干保存、数量、启开使用等完整的记录,这些都须专门管理部门专门人员承担。

微生态制剂是通过扶植人体正常菌群,调整机体内环境生态平衡来达到防病治病目的,无论活菌制剂、死菌体、菌体成分或代谢产物,都离不开菌种,都是由菌种扩大培养发展而得。因此菌种是微生态制剂生产的关键,也是微生态制剂质量的直接保证。

4 益生菌制品的质量检定 益生菌制品质量检定的依据是《生物制品规程》。规程对各种益生菌制品的检定项目、检定方法和质量指标有明确的规定。益生菌制品的检定,一般分为理化检定、安全检定、效力检定和菌种特性检定。

#### 4.1 理化检定

##### 4.1.1 物理性状检查

外观 制品的色泽应均一。胶囊制剂菌粉颗粒大小应一致,悬液制剂不得有摇不散凝块或其他异物。

崩解时间及溶解速度 片剂或胶囊剂加适宜溶剂后,崩解时间和溶解速度应在规定时间内。

4.1.2 水分含量测定 冻干活菌制剂残余水分含量高会直接影响制品质量和稳定性,水分过高易造成活菌死亡而失效,含水分过低使菌体脱水亦可造成活菌死亡。水分测定方法很多,常用有干烤失重法,五氧化二磷真空干燥失重法和费休氏法。

4.1.3 装量测定 制剂装量应符合国家药典标准。

## 4.2 安全检定

4.2.1 安全试验 采用较人用剂量多出数倍的试样(按体重计算),给小鼠口服,观察对小鼠健康是否有不良影响。规程规定取 2 g 制品溶解在 8 mL 无菌生理盐水中,20~22 g 小白鼠 5 只,每只灌胃 0.5 mL,每天 1 次,连续 3 d,并观察反应至第 7 天,小鼠应健康活存,体重增加。

4.2.2 杂菌检查 口服活菌制剂不得污染大肠杆菌、绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌和志贺氏菌等致病性细菌,检查时可采用上述致病菌选择特异培养基。参照口服药卫生学指标要求,口服活菌制剂非致病性杂菌数不得超过 1 000/g,霉菌数不超过 100 /g。对于非口服制剂,卫生学指标另有规定。

4.3 效力检定 益生菌制品多以制品中益生菌活存数表示效力。活菌计数,通常采用平板法即先使细胞分散、定位、增值后,再做菌落计数,也称之为细胞集落形成试验,以每克(每毫升)细菌集落数表示(CFU/g, CFU/mL)。对于多种细菌制成的活菌制剂,则应分别在各种菌的特异培养基平板上计数。一般胶囊制剂或片剂按规程规定测定方法应为:无菌称取 3 g 制剂,加入适宜稀释液中,充分摇匀,作 10 倍系列稀释(根据不同制品不同指标),取量后稀释度 0.1 mL 滴入适宜琼脂平皿上,共做 3 个平皿,并以“L”棒涂布均匀,置适宜条件下培育,到期观察每个平皿菌落生长情况,并计数,但必须注意,当平皿菌落数小于 10 或大于 100 时,都应重新调整稀释度重新测定。根据 3 个平皿菌落总数可按下列公式计算活菌数。

$$\frac{3 \text{ 个平皿菌落数之和}}{3} \times 10 \times \text{最后稀释度} = \text{活菌数(CFU/g)} \quad \text{活菌数用“CFU”表示,即为细菌集落单位。}$$

一切工业产品都要求把质量放在首位。微生态制剂也不例外,益生菌制品,也称活菌制剂,是最为广泛使用的微生态制剂,它是用于临床治疗或保健的具有生物活性的制品;其质量具有自身的特殊性和重要性。益生菌直接用于特定患者、年老体弱者或者直接用于健康人,益生菌制品质量优劣直接关系到使用者的疗效和安全,因而更须强调“质量第一”的原则。

## 5 参考文献

- 1 中华人民共和国卫生部.中国生物制品规程(第一部).1995
- 2 卢锦汉,等.医学生物制品学.北京:人民卫生出版社,1995
- 3 袁佩娜.益生菌的质量控制.见:双歧杆菌.大连:大连海事大学出版,1998
- 4 袁佩娜.97 全国现代微生态学实验技术研讨班,1997
- 5 袁佩娜.微生态制剂安全性有效性检查方法.中国微生态学杂志,1996,8(5)
- 6 袁佩娜.微生枋制剂的菌种及其管理.中国微生态学杂志,1996,8(6)
- 7 周德庆,等.对发展我国微生态制剂产业的几点看法.今日微生物学信息,1997

# 《保健食品功能学评价程序和检验方法》的有关技术问题

严卫星 何来英 卫生部食品卫生监督检验所 (100021)

为了使保健食品健康有序地发展,卫生部颁布了于 1996 年 6 月 1 日正式生效的《保健食品管理办法》,使我国的相关管理纳入了法制轨道。保健食品是一类特殊的食品,其生产经营必须有一套严格、科学的评价程序。为此,卫生部颁布了《保健食品功能学评价程序和检验方法》(以下简称《程序和方法》)。

《程序和方法》是从 80 年代后期开始编写的。根据当时市场上的产品情况,对 12 类保健食品的功能,从评价指标、检验方法、评价原则和评价标准等方面作了明确、详细的规定。从颁布执行到 1998 年 3 月,卫生部认定的 28 个保健食品功能检测机构按照《程序和方法》共检测试样 2119 个,到 1998 年 3 月为止已有 1270 个