

ICS

点击此处添加中国标准文献分类号

T/CVDA

团体标准

T/CVDA

—XXXX

动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米粒油乳佐剂

Chitosan and its derivatives nanoparticles oil emulsion liquid as adjuvant of animal vaccine

××××-××-××发布

××××-××-××实施

中国兽药协会 发布

前 言

本标准按照GB/T1.1—2020给出的规则起草。

本标准由中国兽药协会提出。

本标准由中国兽药协会团体标准技术委员会归口。

本标准起草单位：黑龙江凯正利华生物化工科技有限公司，台州学院、哈药集团生物疫苗有限公司，哈尔滨国生生物科技股份有限公司。

本标准起草人：赵凯、金政等。

本标准为首次制定。

动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米粒油乳佐剂

1 范围

本标准规定了动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米粒油乳佐剂的要求、试验方法、检验规则及产品的标签、包装、运输、贮存和保质期要求。

本标准适用于加工、销售、储存和使用的动物疫苗纳米粒油乳佐剂。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

《中华人民共和国兽药典(2020年版)》生产和检定用设施、原材料及辅料、水、器具等应符合本有关规定要求

《兽药质量监督抽样规定》 动物疫苗纳米粒油乳佐剂的监督抽样应符合本规定要求

《兽药标签和说明书管理办法》(2017年修订版全文)农业部令第22号 商品标签应符合本规定要求

GB1886.215-2016《食品添加剂白油》 添加剂白油应符合本规定要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1 佐剂

佐剂是非特异性免疫增强剂，当与抗原一起注射或预先注入机体时，可增强机体对抗原的免疫应答或改变免疫应答类型。

佐剂增强免疫应答的机制是通过改变抗原的物理形状，延长抗原在机体内保留时间；刺激单核吞噬细胞对抗原的递呈能力；刺激淋巴细胞分化，增加扩大免疫应答能力。

3.2 油乳佐剂

油乳佐剂属一种贮存型佐剂。以矿物油(商品名为白油)加乳化剂(如span-80或Tween-80)及稳定剂(硬脂酸铝)为油相(连续相)，再与适当抗原水溶液(分散相)混合乳化成油乳佐剂，其在兽医生物制品中被广泛应用。

3.3 壳聚糖及其衍生物纳米粒

壳聚糖是自然界唯一带有正电荷的天然多糖。由氨基葡萄糖和乙酰氨基葡萄糖通过 β -1,4糖苷键连接而成。由于壳聚糖来源丰富，且安全无毒具有良好的生物相容性，与人体细胞有良好的相容性，在食品医药，农业，材料科学领域具有很大的应用潜力。但壳聚糖本身难溶于水的特点限制了其应用与发展，对其进行衍生化修饰增加其溶解性等将使其应用更加广泛。壳聚糖本身具有较好的生物相容性，在生物体内无毒副作用能够被生物体所降解，而所制备出的纳米粒可发挥良好的载体作用，因此以壳聚糖及其衍生物纳米粒作为疫苗免疫佐剂的开发具有一定优势。

3.4 动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米粒油乳佐剂

动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米粒油乳佐剂（Chitosan and its derivatives nanoparticles oil emulsion liquid as adjuvant of animal vaccine）利用快速膜乳化法制备壳聚糖及其衍生物纳米粒油乳佐剂可以使纳米粒和原油乳佐剂结合更好，在不改变原疫苗配置方法和性状的基础上提高其免疫效果。

4 质量要求

4.1 基本要求

生产和检定用设施、原材料及辅料、水、器具等应符合《中华人民共和国兽药典(2020年版)》的有关要求。

4.2 制备

(1) 取一定量羟丙基三甲基氯化铵壳聚糖，加入去离子水溶解配制成溶液溶液，按照一定比例加入石油醚、液体石蜡、span80 后乳化搅拌 15 min，加入羧甲基壳聚糖配制溶液，搅拌 3 min。上述溶液迅速置于灭菌后的快速膜乳化装置中，450 nm 过滤膜过滤 3 次，37℃水浴固化 3 h；12000 r/min 离心，石油醚洗涤。上述步骤重复 3 次。-80℃预冷冻后，置于冷冻干燥机中冷冻干燥，所得纳米粒 4℃储存。

(2) 在室温（15~25℃）条件下将壳聚糖或其衍生物纳米粒佐剂溶于生理盐水中，混匀、灭菌，加入亲水性表面活性剂 Tween-80，得到水相；再将亲油性表面活性剂 Span-80 加入到白油中，混匀、灭菌，得油相；然后在无菌环境下将内部水相缓慢加入到油相中，并在 10000r/min 的转速下乳化 3min，得动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米粒油乳佐剂。

4.3 感官性状

振摇后应为白色油乳状半透明液体，无摇不散的凝固物及异物。

4.4 剂型鉴定

通过肉眼观察进行外观检验：取清洁吸管吸取少许疫苗佐剂滴于清洁冷水表面，呈云雾状扩散。

4.5 粒径

动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米粒油乳佐剂的粒径根据疫苗要求可做调整，调整范围为150nm到350nm。

4.6 技术指标及质量分级

技术指标及质量应符合表 1 的要求。

表 1 动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米粒油乳佐剂的质量指标

项目	指标
黏度/mPa·s	≤80
Zata 电位/mV	≥ -20
粒径分布/nm	150~350
炽灼残渣	遗留残渣不得过 1.0%
重金属	≤百万分之十
砷	≤百万分之一

5 试验方法

5.1 感官检验

肉眼观察，动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米粒油乳佐剂为白色半透明液体。

5.2 剂型鉴定

通过肉眼观察进行外观检验：取清洁吸管吸取少许疫苗佐剂滴于清洁冷水表面，呈云雾状扩散为 W/O/W 剂型，除第 1 滴外，均不扩散为 W/O 剂型。

5.3 Zeta 电位和粒径分布测定

采用美国 Brookhaven Instruments Zeta 电位分析仪进行 Zeta 电位和粒径分布测定。

5.4 黏度测定

用 NDJ—1 型旋转式黏度计，依法检查（通则 0633 第三法），在 20℃ 时测得黏度不超过 80mPa·s。

5.5 炽灼残渣测定

取本品 1.0g，依法检查（通则 0841），遗留残渣不得过 1.0%。

5.6 重金属含量

取炽灼残渣项下的残渣，依法检查（通则 0821 第二法），含重金属不得过百万分之十。

5.7 砷含量

取本品 2.0g，加氢氧化钙 1.0g，混合，加水 2ml，搅拌均匀，置水浴上蒸干，以小火烧灼使炭化，后以 500~600℃ 炽灼使完全灰化，放冷，加盐酸 5ml，加水 23ml，依法检查（通则 0822 第一法），含砷盐不得过百万分之一。

6 检验规则

6.1 组批

以相同材料、相同的生产工艺、连续生产或同一班次生产的产品为一批。

6.2 采样

采样按 GB/T 6680-2003《液体化工产品采样通则》和《兽药质量监督抽样规定》的规定执行。

6.3 出厂检验

6.3.1 出厂检验项目

出厂检验项目为：感官性状、剂型、Zeta 电位和粒径分布测定、黏度测定、炽灼残渣测定、重金属含量、砷含量测定。

6.3.2 判断方法

所检项目检测结果均与本标准规定指标一致判定为合格产品。

检验结果中如有一项指标不符合本标准规定时，可在原批中重新抽样对不符合项进行复验，若复验结果仍不符合本标准规定，则判定该批产品为不合格。

6.4 型式检验

6.4.1 型式检验项目为第 4 章规定的全部项目。

6.4.2 产品正常生产时，每半年至少进行一次型式检验，但有下列情况之一时，应进行型式检验：

- a) 改变配方或生产工艺；
- b) 原料、设备、加工工艺有较大改变时；
- c) 产品停产 3 个月以上，恢复生产时；
- d) 出厂检验结果与上次型式检验结果有较大差异时；
- e) 当兽药管理部门提出进行型式检验要求时。

6.4.3 判定方法

所检项目检测结果均与本标准规定指标一致判定为合格产品。

检验结果中如有一项指标不符合本标准规定时，可在原批中重新抽样对不符合项进行复验，若复验结果仍不符合本标准规定，则判定该批产品为不合格。

7 标签和标识

7.1 应符合《兽药标签和说明书管理办法》的要求。

7.2 产品符合本标准规定的，可标识为“动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米粒油乳佐剂”。

8 贮存与保质期

2~25℃避光保存，依据稳定性试验结果确定保存时间。