

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水佐剂

Chitosan and its derivatives nanoparticles water 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水佐剂

1 范围

本标准规定了动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂的要求、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壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂。

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》 动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水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
GB/T 6680-2003 和《兽药质量监督抽样规定》 扦样按本标准和规定执行

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水平或改变免疫应答类型。

佐剂增强免疫应答的机制是改变抗原物理性状，使抗原在体内缓慢释放，延长抗原与免疫细胞作用时间；抗原在佐剂的辅佐作用下，更易被巨噬细胞吞噬和有效加工处理及呈递；刺激单核或巨噬细胞活化，释放细胞因子调节和增强淋巴细胞免疫应答能力；刺激淋巴细胞增生、分化，从而增强和扩大免疫应答能力。

3.2 纳米粒佐剂

纳米粒佐剂：纳米粒佐剂比表面积大，具有较多表面活性中心，可以更多更好地吸附和催化抗原，且纳米粒子具有很好的生物相容性，能够持续释放抗原，使机体抗原维持在有效浓度。纳米粒佐剂均匀性好，是突状细胞(dendritic cell,DC)和巨噬细胞(macrophage,M)首选的吞噬目标。纳米佐剂作为异物进入机体后会引发炎症和免疫反应，可以起到免疫效应增强剂和对抗原免疫应答的强效作用，并可起到对抗原的保护作用。

纳米粒水佐剂：采用水作为纳米粒佐剂的溶剂或分散剂，纳米粒水佐剂具有无毒、无副作用、免疫刺激作用小等优点。可替代原有的铝胶等水佐剂。

3.3 动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂

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。动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂(Chitosan and its derivatives nanoparticles water liquid as adjuvant of animal vaccine)是采用壳聚糖衍生物在水溶液中制备并应用于水液疫苗的纳米佐剂。

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

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,水浴温度 37°C ,搅拌速度 $1100\text{r}/\text{min}$,以一定速度(2-3s/滴)滴加羧甲基壳聚糖溶液,滴定过后继续反应 30min (水浴温度 37°C ,搅拌速度 $1100\text{r}/\text{min}$)。 $12000\text{ r}/\text{min}$ 离心,去离子水洗涤,上述步骤重复3次。 -80°C 预冷冻后,置于冷冻干燥机中冷冻干燥,所得纳米粒 4°C 储存。

4.3 感官性状

壳聚糖或其衍生物佐剂纳米粒外观为白色或淡黄色絮片状固体。称取 75mg 壳聚糖或其衍生物佐剂纳米粒加入 100mL 去离子水中振摇后应为无色透明液体,无絮状物或其它异物。

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溶液滴于清洁冷水表面,可均匀透明状扩散。

4.5 粒径分布

动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂粒径根据疫苗要求可做调整,调整范围为 150nm 到 300nm 。

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水佐剂的质量指标

项目	指标
粒径分布/nm	150~300
黏度/ $\text{mPa}\cdot\text{s}$	≤ 10
Zata 电位/mV	≥ 20
酸碱度	pH 值 6.5~8.5
炽灼残渣	遗留残渣不得过 1.0%
重金属	\leq 百万分之十

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水佐剂外观为白色或淡黄色絮片状固体，其水溶液为无色透明液体或淡白色半透明液体。

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溶液滴于清洁冷水表面，可均匀透明状扩散。

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 水溶液黏度测定

精密称取本品 0.1g，加 100mL 去离子水，搅拌使完全溶解，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 10mPa·s。

5.5 酸碱度测定

取本品 0.50g，加水 50mL，搅拌 30 分钟，静置 30 分钟，依法测定（通则 0631），pH 值应为 6.5~8.5。

5.6 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%。

5.7 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。

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 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、水溶液黏度测定、酸碱度测定、炽灼残渣测定、重金属含量。

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。

6.4.5 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 标签

应符合《兽药标签和说明书管理办法》的要求。

7.2 标识

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水佐剂”。

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。