

《动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂》

团体标准编制说明

（一）工作简况（包括任务来源、协作单位、主要工作过程、国家标准主要起草人及其所做的工作等）

1. 概述

随着我国养殖业的迅速发展，国内外畜禽贸易日益频繁，疾病传播机会增加，疫苗接种仍然是防控重大疫病的重要手段之一；免疫佐剂、增强剂具有提高机体免疫系统功能、增强机体抗病力、减少疾病发生等特点，逐渐引起了养殖界的关注和重视，成为近年来十分活跃的研究领域。目前我国在动物疫苗方面使用的佐剂主要集中在铝佐剂、油乳佐剂、蜂胶佐剂等，并取得了一定的成效，但仍与发达国家存在一定的差距，如不能很好的起到抗原仓库和载体效应，并引起一系列副作用。近些年我国每年有近 50% 的动物疫苗佐剂需要进口，所以亟需开发新型疫苗佐剂来替代传统疫苗佐剂和进口佐剂。

制定本标准的目的是为动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂建立质量控制标准，动物疫苗佐剂可通过改变抗原物理性状，延长抗原在机体内的存在时间和保持对免疫系统的持续激活作用，有利于抗原在体内缓慢释放，延缓抗原在体内降解，从而更有效地刺激免疫系统，使抗原易被巨噬细胞吞噬，刺激单核巨噬细胞系统，增强其对抗原的处理和呈递抗原的能力，促进淋巴细胞的增殖、分化，从而扩大和增强机体的免疫应答的效应等作用。壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂可提高黏膜免疫、体液免疫和细胞免疫等多种免疫途径的免疫应答水平，并具有成本低、给药方便，避免交叉感染、毒性小，流动性好，对机体刺激性小等优点，因此尽早建立动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂质量控制标准对其开发应用到动物疫苗中具有重要意义。同时，建立动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂质量控制标准对保证动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂具有良好的高黏膜免疫、体液免疫和细胞免疫等多种免疫途径的免疫应答水平和更低的副作用以及良好的质量保证具有重要意义。在过去几年中，全球兽医疫苗佐剂市场发展迅速，平均增长率为 26.2%。兽医疫苗佐剂广泛销售牲畜疫苗，伴侣动物疫苗。大部分兽医疫苗佐剂用于牲畜疫苗，消费比例约为 88.4%，欧洲是最大的消费地，消费市场份额接近 43.3%，继欧洲之后，北美是第二大消费地，消费市场份额为 26%，中国也是兽医疫苗佐剂的重要销售区域。国内各企业力图建立兽医疫苗佐剂开发生产，此时建立规范动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂质量控制标准对保证我国新型疫苗佐剂规范化开发生产是必要的。目前动物疫苗壳聚糖及其衍

生物纳米水佐剂的研究开发工作日益完善，但是标准化工作还没有相应的国家标准或行业标准，因此亟待建立动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂质量控制标准。

目前该产品已具有一定的生产规模，已完成动物免疫试验，为保证这一创新产品能够在养殖领域得到健康推广应用、有规可依，特申请制定该产品的团体标准。

2. 任务来源

《动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂》团体标准制订，是根据中国兽药学会文件下达的工作任务，由黑龙江凯正利华生物化工有限公司负责，与台州学院、哈药生物疫苗有限公司、哈尔滨国生生物科技股份有限公司等单位组成《动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂》团体标准起草组，共同完成标准制定任务。

3. 工作过程

为了更好地完成标准制订任务，并使标准适应市场需要。先期就《动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂》标准方案所涉及的范围、分类、质量要求的内容、标签、包装和储存等方面，进行了行业调研，并收集许多宝贵的意见和建议。

随后，起草组多次与行业专家进行沟通及吸纳我国佐剂生产企业和相关领域的专家学者的意见和建议，结合我国十三五期间动物绿色健康养殖的新要求，在借鉴现有《中国兽药典（2020年版）》的有关规定和要求的基础上，形成了标准的《征求意见稿》初稿，在业内征询意见和建议，起草组采纳了合理的意见和建议，形成《动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂》送审材料。

（二）国家标准编制原则和确定国家标准主要内容

1. 编制原则

本标准的编写规则是按照 GB/T 1.1-2009 《标准化工作导则 第一部分：标准的结构和编写规则》的要求进行。

2. 主要内容

根据动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂的原料及加工方法，对其进行了分类和定义等；对标准中质量要求项目参考了相关国家、行业标准；并对质量指标中相关项目和指标值作了调整。

动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂团体标准主要内容包括：

（1）封面

(2) 前言

(3) 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。

2.1 关于术语和定义

本标准的术语和定义参照了《中国兽药典（2020年版）》三部“凡例”，以及其它的有关要求，确定了本标准所涉及到的术语和定义。

2.2 质量要求

本标准中第4章“要求”中“基本要求”和“技术指标要求”是根据产品性质设置的质量指标。

2.2.1 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《中国兽药典（2020年版）》三部“凡例”的有关要求。

2.2.2 动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂的基本组成和主要物理参数

动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂的主要成分是壳聚糖及其衍生物，《中国兽药典（2020年版）》规定的质量标准。

2.2.3 纳米油乳佐剂的质量指标

动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂“质量指标”共设8个项目，包括：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、重金属含量测定。其相关指标的测定方法均符合《中华人民共和国兽药典(2020年版)》的规定。

2.3 检验规则

检验规则包括抽样方法、判定规则、型式检验、出厂检验四项内容，对其都作了具体说明。

2.4 检验方法

检验方法是保证国家标准正确实施的重要手段，也是为监督部门提供的有力工具。本标准对所有指标的检验方法都作了明确规定。

2.5 标签和标识

本标准制订强调了标签的重要性，除应遵循《兽药标签和说明书管理办法》（2017年修订版）农业部令第22号的规定外，以维护消费者的知情权和选择权。

2.6 包装、储存、运输和销售

为了保证动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂的品质安全，要求“动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂在零售终端不得脱离原包装进行散装销售”，以防掺杂使假的现象发生。

3. 新旧标准的总体对比

动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂团体标准为首次制定。

(三) 主要试验（或验证）的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效果

接种疫苗作为迄今为止较为成功的一种公共卫生干预措施，对有效预防传染病及其传播起到了重要的作用。要增强疫苗抗原在机体内的免疫应答能力，延长其存在时间，提高抗原的免疫效力，就必须同抗原一起或预先注射佐剂。佐剂可以作为免疫增强剂来增强抗原的免疫应答反应，也可以作为载体来递送抗原到相应的免疫细胞，降低抗原的降解，由此增强机体的免疫保护。在疫苗的研发应用中，佐剂是必不可少的。常用的佐剂主要有铝佐剂、弗氏佐剂等。但为适应新型疫苗的需求，就需要开发新型和多元化的佐剂。

壳聚糖是天然阳离子多糖，其在体内可被机体消化吸收，具有生物可降解性、黏膜粘附性、生物相容性和低毒性等优良特性，并能够增强 APCs 摄取抗原；同时，壳聚糖作为递送载体能够保护抗原免受降解，并能在接种位点形成抗原库，延长抗原在体内的滞留时间。壳聚糖做为疫苗佐剂及递送系统具有诸多优点，所以其在药物和疫苗递送系统领域应用前景广泛。但壳聚糖化学性质稳定，只能溶于稀酸，几乎不溶于水和有机溶剂，这使其既难以形成纳米粒子，也不利于在碱性肠道环境中吸收，极大程度地限制了其被广泛应用。由此可见，在制备壳聚糖纳米载药粒子设计中，如何对壳聚糖进行化学改性，提高其溶解性，是扩大其用途的必由之路。修饰壳聚糖的羟基或氨基能够合成不同的壳聚糖衍生物，对壳聚糖进行了铵盐化和羧甲基化修饰，合成水溶性和黏膜粘附性更好的壳聚糖季铵盐 N-2-羟丙基三甲基氯化铵壳聚糖和 N,O-羧甲基壳聚糖等壳聚糖水溶性衍生物，可解决壳聚糖仅在酸性条件下具有水溶性的问题，同时采用壳聚糖或壳聚糖衍生物制备纳米粒，可进一步提高对疫苗的保护和缓释，并通过增加同黏膜和细胞膜黏附作用提供疫苗的免疫效果。

壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂因其高效且无毒副作用，具有广阔的应用前景，对于开发我国疫苗佐剂产品，解决国外卡脖子问题至关重要，大量开发生产势在必行，该类产品

的开发将带动兽用疫苗产业的技术进步及产品更新换代，对解决和推动疫苗持续缓慢释放和黏膜免疫等关键技术具有重要的意义。而目前我国及国外尚未有相关产品的标准，因此亟需建立该产品的团体标准。

组别	1组-纳米水佐剂灭活疫苗组	2组-MONTANIDETM GEL 01	3组-CPG	4组-不免疫对照组
免疫后(日)	抗体效价平均值(log2)	抗体效价平均值(log2)	抗体效价平均值(log2)	抗体效价平均值(log2)
0	0	0	0	0
7	7.2	7.0	4.0	0
14	10.8	8.8	5.2	0
21	11.0	9.8	3.6	0
28	11.4	9.8	3.6	0
35	11.6	10.4	4.2	0

从测试结果可以看出，相比其他试验组，纳米水佐剂灭活疫苗组具有更高的综合免疫值。

在动物实验以前考察纳米颗粒在培养细胞中的安全性是非常重要的。从图1(1)可以看出，当壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂的浓度高达1000 $\mu\text{g/mL}$ 时，293T细胞活力仍然在80%以上，表明壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂在一定浓度范围内表现出良好的生物安全性，可以安全地用于体内试验研究。

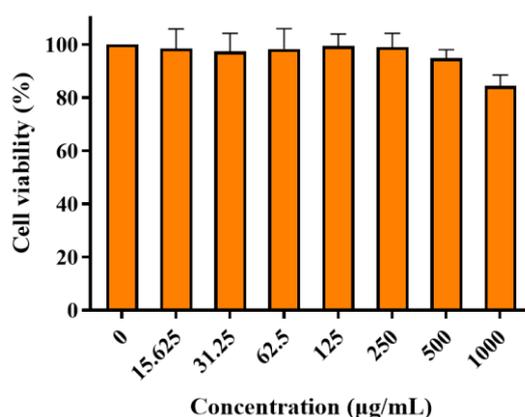


图1 壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂对细胞活力的影响.

采用10倍剂量接种SPF鸡，与PBS对照组相比，10倍剂量壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂组鸡的采食、饮水以及精神状态均无异常，且无发病情况，表明10倍免疫剂量接种壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂是安全的。

将壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂分别在室温(20 $^{\circ}\text{C}$)、冷藏(4 $^{\circ}\text{C}$)低温(-20 $^{\circ}\text{C}$)保存30d后，形态没有明显变化，表明壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂具有良好的稳定性，

可以长时间储存。

研究制定《动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂》团体标准符合我国“十三五”期间绿色健康养殖的发展趋势，开展新型疫苗佐剂研发与产业化，不仅可减少对进口佐剂的依赖，而且对于促进我国养殖业的健康发展具有重要意义。

（四）采用国际标准和国外先进标准的程度

目前，未查询到可参考的国际标准和国外先进标准。

（五）与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系

本标准的制订，符合《中国兽药典（2020年版）》三部“凡例”等有关要求。

（六）重大分歧意见的处理经过和依据

在《动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂》团体标准制定过程中和征求意见中未收到重大分歧意见。

（七）贯彻团体标准的要求和措施建议

1. 发布后、实施前应将信息在媒体上广为宣传，推广国产产品，替代进口。
2. 本次制订，不仅与动物疫苗佐剂生产企业有关，而且与疫苗生产企业和广大养殖企业和养殖户有关。
3. 实施的过渡期宜定为6个月。

《动物疫苗壳聚糖及其衍生物纳米水佐剂》团体标准起草组

2021年8月20日