

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

A61K 47/42

A61K 9/19 A61K 39/00

A61P 31/12



# [12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 01138871.4

[45] 授权公告日 2004 年 9 月 29 日

[11] 授权公告号 CN 1168503C

[22] 申请日 2001.12.21 [21] 申请号 01138871.4

[71] 专利权人 卫广森

地址 111000 辽宁省辽阳市太子河区南驻路  
12 号

[72] 发明人 卫广森 王文成 张万林

审查员 胡 婧

[74] 专利代理机构 沈阳科威专利代理有限责任公  
司

代理人 崔红梅

权利要求书 1 页 说明书 3 页

[54] 发明名称 鸡新城疫弱毒冻干疫苗耐热冻干保  
护剂及制备工艺

[57] 摘要

鸡新城疫弱毒冻干疫苗耐热冻干保护剂及制备工艺，其特征是保护剂的物质组份配比是：明胶 1.5-2%、蔗糖 5-6%、糊精 5-10%、PVP(K90)2-5%、山梨醇 2%、谷氨酸钠 1-2%；制剂中为干物质组份，百分比剩余份均为蒸馏水。对保护剂的可高压灭菌的和不耐高温的有效物质组份分别除菌后混合，即为冻干耐热保护剂，使用时按 1:1 比例加入病毒抗原液中，分装后进行冷冻干燥。产品在 2-8℃ 保存 24 个月，仍保持冻干后的外形，病毒含量均超过国家兽医生物制品规程的标准。本发明是一种低成本、长效制品及制备方法，为兽医生物制品使用解决了长久以来运输、储存的高成本问题。

ISSN 1008-4274

1、一种鸡新城疫弱毒冻干疫苗耐热冻干保护剂，包括常用的明胶、蔗糖、糊精，其特征是耐热冻干保护剂的物质组份配比是：明胶 1.5-2%、蔗糖 5-6%、糊精5-10%、PVP (K90)2-5%、山梨醇2%、谷氨酸钠 1-2%；制剂中为干物质组份，百分比剩余份均为蒸馏水。

2 一种制备权利要求 1 所述的鸡新城疫弱毒冻干疫苗耐热冻干保护剂的工艺，包括将上述耐热冻干保护剂的干物质组份按比例混合，其特征是对保护剂的有效物质进行除菌处理：（1）对可高压灭菌的物质：明胶、蔗糖、糊精、PVP（90），按各自比例溶于蒸馏水中，116℃灭菌 30-40 分钟；（2）将不耐高温的物质：山梨醇、谷氨酸钠；均按各自比例溶于蒸馏水中，用孔径 0.22 μ m 的滤膜过滤除菌；分别完成除菌后将（1）、（2）两种成分混合，即为冻干耐热保护剂，使用时按 1：1 比例加入病毒抗原液中，分装后进行冷冻干燥。

## 鸡新城疫弱毒冻干疫苗耐热冻干保护剂及制备工艺

### 技术领域

本发明涉及生物制品的冷冻干燥技术，保藏辅助剂及其制造方法。

### 背景技术

我国目前常用的兽医生物制品保护剂主要为5%蔗糖脱脂牛奶和5-10%蔗糖，1.5-3%明胶，制品要求低温保存(-15℃以下)，2-8℃条件的保存期仅3-9个月，在常温下必须尽快用完。这就为兽医生物制品的保存、运输、使用等带来许多困难和不便，同时由于必需低温保存造成能源消耗及储存成本大。

目前，国际上发达的国家兽医生物冻干制品几乎全部是2-8℃保存24个月以上。但未见方法的详细报道。中国专利CN1176827A“一种动物用冻干活疫苗的制造方法”提出采用以聚乙烯吡咯烷酮、羧甲基纤维素钠，罗望子胶，谷氨酸钠，海藻糖等为主要基质冻干保护剂的配方配制成的冻干保护剂，采用与之相适应的冻干曲线与新城疫疫苗病毒抗原制成鸡新城疫冻干活疫苗的方法，该苗在2-8℃条件下可长期保存。

### 发明内容

本发明的目的是提供一种鸡新城疫弱毒冻干疫苗耐热冻干保护剂及制备工艺，降低保护条件，延长使用期并降低使用成本。

鸡新城疫弱毒冻干疫苗耐热冻干保护剂的制备工艺，按组份、比例混合，其特征是对保护剂的有效物质分别处理除菌：（1）对可高压灭菌的物质按制剂比例溶于蒸馏水中，116℃灭菌30-40分钟；（2）将不耐高温的物质也按制剂比例溶于蒸馏水中，用孔径0.22 μm滤膜过滤除菌；分别完成除菌后将（1）、（2）两种成分混合，即为冻干耐热保护剂，使用时按1：1比例加入病毒抗原液中，分装后进行冷冻干燥。

本发明的制备工艺制备的制剂在2-8℃条件下可保存24个月以上，能达到《中华人民共和国兽医生物制品质量标准》中规定的各项指标。

### 具体实施方式

鸡新城疫弱毒冻干疫苗耐热冻干保护剂，包括常用的明胶、蔗糖、糊精，其特征是耐热冻干保护剂的物质组份配比是：明胶 1.5-2%、蔗糖 5-6%、糊精5-10%、PVP (K90) 2-5%、山梨醇2%、谷氨酸钠 1-2%；制剂中为干物质组份，百分比剩余份均为蒸馏水。

鸡新城疫弱毒冻干疫苗耐热冻干保护剂的制备工艺，包括将上述耐热冻干保护剂的干物质组份按比例混合，其特征是对保护剂的有效物质组份进行除菌处理：（1）对可高压灭菌的物质：明胶、蔗糖、糊精、PVP（90），按各自比例溶于蒸馏水中，116℃灭菌30-40分钟；（2）将不耐高温的物质：山梨醇、谷氨酸钠，也按比例溶于蒸馏水中，用孔径0.22 μm的滤膜过滤除菌；分别完成除菌后将（1）、（2）两种成分混合，即为冻干耐热保护剂，使用时按1：1比例加入病毒抗原液中，分装后进行冷冻干燥。

#### 技术参数及检测方法

1. 产品的物理性状、无菌检验、支原体检验、外源病毒检验、特异性检验、安全检验、剩余水分测定和真空度测定按《中华人民共和国兽医生物制品规程》的方法及标准进行。

2. 冻干周期不超过48h。

3. 保护剂的毒性试验

禽类疫苗按产品当中含保护剂量的10倍量，对7日龄健康雏鸡分别进行滴鼻、点眼、饮水及皮下注射各20只，观察20d，雏鸡全部健活；无任何不良反应。

4. 病毒含量测定及标准

（1）测定方法：

A.按实含组织量用灭菌生理盐水作10倍系列稀释,取3个适宜稀释度,分别尿囊腔内接种10日龄SPF鸡胚5个,每胚0.1mL,置37℃继续孵育,48h以前死亡的鸡胚弃去不计,在48-120h死亡的鸡胚,随时取出,收获鸡胚液,将同一稀释度的鸡胚液等量混合,分别测定红细胞凝集价。至120h,取所有活胚,

逐个收获鸡胚液,分别测定红细胞凝集价,凝集价 $\geq 160$ 者判为感染,计算EID<sub>50</sub>。

B. 按瓶签注明羽份,将疫苗用灭菌生理盐水稀释至1羽份/0.1mL,再作10倍系列稀释,其它方法同上,最后计算每羽份EID<sub>50</sub>含量。

(2) 达到标准

- A. 冻干后病毒损失率小于0.4个滴度。
- B. 冻干后每羽份病毒含量 $\geq 10^{6.7}$  EID<sub>50</sub>。
- C. 冻干后的产品放37℃保存10d及30d进行病毒含量测定,病毒含量下降率前者在1个滴度之内,后者在2个滴度之内。
- D. 冻干后产品放25℃保存30d,病毒含量下降率在0.6个滴度之内。
- E. 产品放2-8℃保存24个月,每羽份病毒含量 $\geq 10^{6.17}$  EID<sub>50</sub>。