

鸡痘活疫苗（标准草案）

Jidou Huoyimiao

Fowl Pox Vaccine, Live

1 定义 本品系用鸡痘病毒弱毒接种 SPF 鸡胚或适宜细胞培养，收获感染的鸡胚绒毛尿囊膜或细胞培养物，加入适宜稳定剂，经冷冻真空干燥制成。用于预防鸡痘。

2 毒种

2.1 安全性 用推荐使用最小日龄 SPF 鸡，每种推荐使用途径至少接种 10 只，每只鸡接种病毒液不少于 10 个推荐使用剂量，接种后每日观察临床症状，至少观察 14 日。接种鸡应不出现因毒种引起的特异性临床症状或死亡，注射或刺种部位在 5~14 日有痘肿、结痂和脱落的过程。

2.2 毒力返强 用 21 日龄 SPF 鸡 10 只，刺种病毒液不少于 1 个推荐使用最大剂量，接种后 4~7 日，采集接种部位形成的肿胀、结痂等皮肤病变组织，经适当处理后作为第 1 代接种物，随后将第一代接种物以同样方式接种 21 日龄 SPF 鸡，连续传代次数应不少于 5 代。最后 1 代接种鸡应至少观察 14 日，且应与基础毒接种鸡进行安全性比较，应无毒力增强现象。

2.3 免疫原性 采用推荐使用使用日龄 SPF 鸡 20 只，用推荐使用的各种接种途径接种病毒液 1 个最小免疫剂量。接种后 21 日，连同不接种对照鸡 10 只，各经毛囊法接种适宜强毒（含 100 个最小发痘量），观察 21~28 日。记录死亡和发病的存活鸡只数，观察每只存活鸡的皮肤和黏膜等肉眼病理变化。对照鸡应至少 80% 出现皮肤和黏膜病变或死亡，免疫鸡应至少 80% 存活且无皮肤和黏膜病变。

2.4 REV 基因检测 用 REV LTR 基因特异性引物进行 PCR 检测，毒种不应整合 REV 病毒特定基因序列。

2.5 纯净

2.5.1 无菌检验 按附录 3306 进行检验，应无菌生长。

2.5.2 支原体检验 按附录 3308 进行检验，应无支原体生长。

2.5.3 外源病毒检验 按附录 XX（外源病毒检验一般要求）和附录 3305 进行检验，应无外源病毒污染。

2.6 代次限定 除另有规定外，从基础种子到生产种子传代一般应不超过 5 代。

3 生产用原辅料

若用鸡胚生产，鸡胚应为 SPF 鸡胚，应符合附录 3501 要求。

若用细胞生产，细胞应符合附录 3502 要求。

4 成品检验

4.1 无菌检验 按附录 3306 进行检验，应无菌生长。鸡胚苗如果有菌生长，应进行杂菌计数和病原性鉴定（附录 3307）以及禽沙门氏菌检验（附录 3303），结果应符合规定。每羽份含非病原菌应不超过 1 个。

4.2 支原体检验 按附录 3308 进行检验，应无支原体生长。

4.3 外源病毒检验 按附录 3305 鸡检查法进行检验，应无外源病毒污染。

4.4 安全检验 用 7~14 日龄 SPF 鸡 10 只，各肌肉注射疫苗 10 羽份，观察 10 日，应全部健活；或每只于翅内侧无血管处皮下刺种疫苗 10 羽份，观察 21 日，应全部健活。

4.5 病毒含量测定 按瓶签注明的羽份，用适当稀释液将疫苗稀释至 1 羽份/0.2ml，再作 10 倍系列稀释。取 3 个适宜稀释度，鸡胚苗每个稀释度经绒毛尿囊膜接种 11~12 日龄 SPF 鸡胚各 5 枚；细胞苗每个稀释度接种适宜细胞各 5 孔，置 37°C 培养适宜时间。观察记

录鸡胚或细胞病变，按 Reed-Muench 法计算 EID₅₀ 或 TCID₅₀。每羽份病毒含量应不低于说明书标示量。

4.6 效力检验 用推荐使用日龄 SPF 鸡 10 只，采用推荐使用途径接种 1 个推荐使用剂量的疫苗，接种后 21 日，连同不接种对照鸡 10 只，各经毛囊法接种适宜强毒（含 100 个最小发痘量），观察 21~28 日。记录死亡和发病的存活鸡只数，观察每只存活鸡的皮肤和黏膜等肉眼病理变化。对照鸡应至少 80% 出现皮肤和黏膜病变或死亡，免疫鸡应至少 80% 存活且无皮肤和黏膜病变。

4.7 剩余水分测定 按附录 3204 进行测定，应符合规定。

4.8 真空度测定 按附录 3103 进行测定，应符合规定。

起草说明：

1. 本标准系在参考 2000 年版《中国兽用生物制品规程》中收录的 2 种鸡痘病毒活疫苗制品（其中一种为鸡痘病毒油系弱毒株，一种为鸡痘鹌鹑化弱毒株）以及参考欧洲药典有关标准的基础上起草而成。本通用标准属于首次起草。

2. 按照农业农村部公告第 573 号（2022.06.23）发布的病种名录对制品名称进行了修改。结合 2024 年度第 8 次会议审查意见，将标准中的制品名称由禽痘活疫苗改为鸡痘活疫苗。

3. 不建议增加鉴别检验项目。在国产疫苗成品检验中，之前未进行过鉴别检验，实际操作过程中，鸡痘阳性血清不易获得，同时还需要配套阳性血清质量标准。鸡痘病毒特征相对比较明显，易于鉴别。如需增加，建议增加在种毒鉴定过程中，或改用其它方法。

4. 种毒免疫原性部分参照欧洲药典。参照文献《鸡痘弱毒苗几种免疫途径的安全性及免疫效果》增加攻毒剂量。成品效力检验基本参照此要求。已参照欧洲药典的表述，修改为记录死亡和出现临床症状的存活鸡只数，观察每只存活鸡的皮肤和黏膜等肉眼病理变化。对照鸡应至少 90% 发病（死亡或出现皮肤和黏膜病变），免疫鸡应至少 90% 保护（存活且无皮肤和黏膜病变）。关于保护率，其他注册标准为：由于欧洲药典 90%，要求过高，降低为 80%。

5. 种毒安全性，所用 SPF 鸡日龄修改为推荐使用最小日龄，根据参考文献《鸡痘弱毒苗几种免疫途径的安全性及免疫效果》，对不同接种途径的安检鸡分别进行规定，其中饮水、喷雾、滴鼻点眼等接种途径的鸡只，规定不得出现局部和全身不良反应；对肌肉注射、刺翼等接种途径的鸡只，接种方式都能引起鸡发生局部痘肿，允许有局部反应但不得有全身不良反应。毒种安全性，观察至少 14 日，应不出现异常反应或死亡。

6. 种毒检验项中，参照欧洲兽药典增加毒力返强试验。外源病毒检验，参照文献《鸡痘病毒整合禽网状内皮组织增生病毒基因的分子生物学鉴定及致病机理研究》，增加 REV 基因整合的 PCR 检测方法。毒力返强的接种方式改为刺种，判定改为第 5 代与第 1 代比较安全性无差异。免疫原性，毒种用刺种，强毒用毛囊接种，观察时间改为 21~28 日（欧洲药典为，观察至少 21 日）。REV 整合检测放在毒种。

7. 成品效力检验中，由于参考标准涉及的油系、鹌鹑化弱毒的效力标准不一样，相对较难统一。故建议参考欧洲药典，统一采用免疫攻毒法。

8. 依据 2025 年度第 2 次会议审查意见，完善毒种安全性：细化观察，明确不同接种途径的临床观察指标要求；参考文献《鸡痘弱毒苗几种免疫途径的安全性及免疫效果》，显示结痂脱落均在 14 日内；免疫原性的免疫途径已修改为用推荐使用的各种接种途径；完善毒力返强：接种日龄改为 21 日龄，及时采集接种部位的痘斑；病料采集时间已参考欧洲药典，修改为 4~7 日。

9. 关于种毒的外源病毒检验项，暂按照“要求+附录”样式，统一改为“按附录（外源病

毒的一般要求和附录 3305 进行检验，应无外源病毒污染)”;成品无菌检验项，按照有鸡胚苗可以允许 1 个非病原菌，而细胞苗不允许有菌的表述方式。

10. 参考了鸡痘 102 标准强毒株，100 倍稀释后接种鸡，100%出现痘肿连片、化脓、全经过型痘肿。见参考文献《鹤鹑化鸡痘弱毒疫苗的研究》，农业部兽医生物药品监察所鸡痘疫苗研究小组，畜牧兽医学报，1981 年 5 月，第 12 卷第 2 期。参考已经批准的二联苗标准：涂抹毛囊开始红肿、增厚，后变黄白色干酪样物，结血痂等融合全经过型。标准定为攻毒对照 80%发病，见参考文献《禽脑脊髓炎、鸡痘二联活疫苗安全性、最小免疫剂量及免疫效力试验》，王红，曹志，毛娅卿等，中国兽药杂志 2018 年 7 月第 52 卷第 7 期。

11. 关于免疫原性的情况各种不同：有攻毒对照组 10/10 发病，免疫组 10/10 保护。见参考文献，海尔滨兽医研究所发表的《表达传染性喉气管炎病毒 gB 基因重组鸡痘病毒疫苗免疫持续期试验》和《表达传染性喉气管炎病毒 gB 基因重组鸡痘病毒疫苗的遗传稳定性评价》；免疫组保护率 90%以上，见参考文献《表达传染性喉气管炎病毒 gB 基因重组鸡痘病毒疫苗的安全性试验与最小免疫剂量测定》；标准定为攻毒对照 80%发病。见参考文献《禽脑脊髓炎、鸡痘二联活疫苗安全性、最小免疫剂量及免疫效力试验》。

强毒发病的临床症状，已参照欧洲药典的表述，修改为“记录死亡和出现临床症状的存活鸡只数，观察每只存活鸡的皮肤和黏膜等肉眼病理变化。对照鸡应至少 90%死亡或出现皮肤和黏膜病变，免疫鸡应至少 90%存活且无皮肤和黏膜病变”。关于保护率，其他注册标准为：由于欧洲药典规定为 90%，要求过高，而我国目前，参照其他疫苗标准仅能暂定为 80%保护。

12. REV 基因整合的检测：查阅文献，均整合 LTR，因此在毒种 REV 基因检测项中，规定用 REV LTR 基因特异性引物进行 PCR 检测，毒种不应整合 REV 病毒特定基因序列。