

传染性法氏囊病活疫苗（低毒力）（标准草案）

Chuanranxingfashinangbing Huoyimiao (Diduli)

Infectious Bursal Disease Vaccine, Live (Low Virulence)

1 定义 本品系用传染性法氏囊病病毒低毒力株接种 SPF 鸡胚或适宜细胞培养，收获感染鸡胚（研磨、离心）或细胞培养液，加适宜保护剂，经冷冻真空干燥制成。用于预防鸡传染性法氏囊病。

2 毒种

2.1 安全性

2.1.1 对鸡的毒力 用推荐使用最小日龄（不超过 3 周龄）SPF 鸡，每种使用途径至少接种 20 只，每只接种病毒液 10 个推荐使用剂量；另取 20 只不接种作为对照，分别隔离饲养。接种后 72 小时，每组各剖检 10 只，对照鸡法氏囊应正常，接种鸡法氏囊应不出现出血、肿胀、炎性渗出等传染性法氏囊病特征性病变。其余鸡继续观察至 21 日，在观察期内所有鸡均应不出现精神沉郁、食欲不振等临床症状；21 日时剖检，测定 B:B 指数，其均值应 ≥ 0.7 。

2.1.2 免疫抑制 用推荐使用最小日龄（不超过 2 周龄）SPF 鸡 30 只，随机分为 3 组，每组 10 只。第 1 组各接种病毒液不少于 1 个推荐使用最大剂量。接种后 14 日，第 1、2 组各点眼接种新城疫病毒活疫苗 La Sota 株 ($10^{6.0}\text{EID}_{50}$)。接种 14 日后，所有组各经肌肉注射鸡新城疫病毒强毒北京株 ($10^{4.0}\text{ELD}_{50}$)，观察 14 日。第 3 组鸡应全部死亡，第 1、2 组均应至少 9 只保护。

2.2 毒力返强 用推荐使用最小日龄 SPF 鸡 5 只，各经点眼途径接种病毒液至少 1 个推荐使用最大剂量，接种后 3~4 日，剖检观察法氏囊损伤情况，同时采集鸡的法氏囊，适当处理后作为第 1 次传代接种物；将接种物按照与第 1 次传代相同方式接种 SPF 鸡 5 只，连续传代次数应不少于 5 代。最后 1 次传代接种 SPF 鸡 10 只，同时设 SPF 鸡不接种作为对照 10 只，逐日观察至少 21 日。比较不同代次接种动物的临床症状及病理变化，特别应对最后 1 次传代鸡与第 1 次传代鸡的临床症状、法氏囊病变、B:B 指数进行对比，应无明显差异。

2.3 免疫原性 用推荐使用日龄 SPF 鸡，每种使用途径至少接种 10 只，各接种病毒液 1 个最小免疫剂量；另 10 只不接种作为对照，分别隔离饲养。接种后 21 日，全部免疫鸡连同攻毒对照鸡 5 只各点眼接种适宜鸡传染性法氏囊病病毒强毒（至少含 10 个 BID/ID）。72~96 小时将所有鸡扑杀、剖检。健康对照鸡的法氏囊均应无任何变化，攻毒对照鸡应至少 4 只鸡的法氏囊出现特征性病变，免疫鸡的法氏囊应至少 8 只无病变。

2.4 纯净

2.4.1 无菌检验 按附录 3306 进行检验，应无菌生长。

2.4.2 支原体检验 按附录 3308 进行检验，应无支原体生长。

2.4.3 外源病毒检验 按附录 XX（外源病毒检验的一般要求）和附录 3305 进行检验，应无外源病毒污染。

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

3 生产用原辅料

3.1 若用鸡胚生产，鸡胚应为 SPF 鸡胚，应符合附录 3501 要求。

3.2 若用细胞生产，细胞应符合附录 3502 要求。

3.3 保护剂 应符合附录 3009 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。每羽份疫苗含非病原菌数应不超过 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 进行检验，应无外源病毒污染。

4.4 鉴别检验 用无菌生理盐水将疫苗稀释至 1 羽份/0.1ml，与抗鸡传染性法氏囊病毒特异性血清等量混合，37℃作用 60 分钟。经绒毛尿囊膜接种 10~12 日龄 SPF 鸡胚 10 枚，每胚 0.2ml；同时设疫苗对照鸡胚 10 枚，每胚接种稀释的疫苗液 0.2ml（含 1 羽份），同条件培养观察 168 小时。疫苗对照鸡胚应至少 8 枚死亡，中和鸡胚应全部健活，且鸡胚尿囊液对鸡红细胞凝集试验（HA）应为阴性。或接种已长成良好细胞单层的适宜细胞 2 瓶（25cm²），0.2ml/瓶，同时设正常细胞对照和未中和对照，置 37℃、含 5% CO₂ 的培养箱中培养 5 日，每日观察 CPE 产生情况。未中和对照应出现 CPE，中和细胞和正常细胞对照应均无 CPE。

4.5 安全检验 用推荐使用最小日龄 SPF 鸡 10 只，各按推荐途径接种疫苗，每只鸡 10 个推荐使用剂量，另 10 只不接种作为对照，两组分别饲养观察 21 日，均应健活。试验结束后，剖检免疫组鸡和对照组鸡，法氏囊的色泽、弹性应无明显变化。如出现非特异性死亡、两组鸡死亡总数应不超过 3 只，且免疫鸡死亡数应不超过对照鸡。

4.6 病毒含量测定 用无菌生理盐水将疫苗作适当稀释，取适宜稀释度，每个稀释度分别经绒毛尿囊膜途径接种 10~12 日龄 SPF 鸡胚或适宜细胞培养；分别记录鸡胚情况或细胞病变，按 Reed-Muench 法计算。每羽份病毒含量应不低于说明书标示量。

4.7 效力检验 用推荐使用日龄 SPF 鸡 20 只，按推荐用途接种疫苗 1 个推荐使用剂量（1 羽份），另 10 只不接种作为对照，分别隔离饲养。免疫后 21 日，取全部免疫鸡连同攻毒对照鸡 5 只，各点眼接种传染性法氏囊病毒适宜强毒（至少含 10 个 BID/ID），72~96 小时将所有鸡扑杀、剖检。攻毒对照鸡的法氏囊应至少有 4 只出现法氏囊特征性病变，免疫鸡的法氏囊应至少有 8 只无病变，健康对照鸡的法氏囊均应无任何变化。

4.8 剩余水分测定 按附录 3204 进行测定，应符合规定。

4.9 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 2020 年版《中国兽药典》、2017 年版《兽药质量标准》、欧洲药典、美国药典和我国已批准注册的 15 种单苗+3 种联苗制品标准的基础上起草而成。本标准属于首次起草。

2. 制苗用毒株应为弱毒株，参考已经注册的标准，一般效检用毒株为传染性法氏囊病强毒 BC6/85 株（CVCC AV7）。根据第 8 次会议审查意见，建议删掉效检用强毒毒株名称，统一改为适宜鸡传染性法氏囊病病毒强毒。

3. 按全病毒活疫苗制品进行了编制标准，不包括有关载体疫苗、免疫复合物疫苗等内容。但对于此类疫苗的安全检验与效力检验时，可以作为参考使用。

4. 基础种毒不强制要求病毒含量规定，故删除了毒种部分的病毒含量测定的内容。

5. 毒种安全性中对鸡的毒力部分，增加了每种接种推荐途径的内容，建议使用推荐使用最小日龄（不超过 3 周龄）的 SPF 鸡，且免疫后 3 日剖解数量由原来的 5 只增加到 10 只；

重点就现有不同毒力传染性法氏囊病活疫苗接种 21 日时的 B:B 指数进行了试验, 结果发现中等偏强毒力传染性法氏囊病疫苗, 免疫后 3 日和 21 日均对法氏囊有不同程度的损伤, 经相关专家开会讨论, 确定将该品种名称限定为“低毒力”; 毒种安全性中对鸡的毒力部分, 仅规定了低毒力疫苗株免疫后 3 日和 21 日的描述, 其中接种后 21 日的 B:B 指数应 ≥ 0.7 ; 另外将安全性试验的感染日龄改为了推荐使用最小日龄。

6. 免疫抑制部分参考了欧洲药典, 新城疫疫苗要在 IBDV 接种 14 日后免疫, 免疫剂量为 $10^{6.0}$ ELD₅₀/只, 免疫 14 日后攻毒, 具体攻毒保护参考新城疫活疫苗的效力检验方法和标准。

7. 毒力返强项中, 明确了接种途径为点眼; 接种剂量为至少 1 个推荐使用最大剂量; 最后一代要接种 10 只 SPF 鸡, 增加 10 只对照组, 要比较最后一代和第一代的临床症状、法氏囊病变和 B:B 指数。

8. 毒种免疫原性参考最新《农业农村部兽药评审中心关于发布兽用生物制品技术标准文件编写要求的通知》, SPF 鸡为推荐使用日龄, 按最小使用剂量进行。

9. 毒种免疫原性和成品效力检验中的攻毒剂量均确定为至少 10 个 BID/ID 的传染性法氏囊病毒适宜强毒。

10. 制苗用主要原辅材料, 生产用细胞和生产用鸡胚。应符合附录要求。

11. 目前细胞苗逐渐增多, 所以在成品鉴别检验部分, 在保留原来的鸡胚法基础上, 增加了细胞法。

12. 成品检验项中, “鉴别检验”将鸡胚数量由原来的 5 枚增加到 10 枚; “安全检验”建议使用推荐使用最小日龄的 SPF 鸡; “效力检验”建议使用推荐使用日龄 SPF 鸡; “病毒含量测定”按批准的编制格式作为单列检验项, 鉴于不同毒株病毒含量差异比较大, 含量标准规定为“应不低于说明书标示量”。