

禽多杀性巴氏杆菌病（A 型）活疫苗（标准草案）

Qin Duoshaxingbashiganjunbing (A Xing) Huoyimiao
Avian Pasteurella multocida (Type A) Vaccine, Live

1 定义

本品系用禽源多杀性巴氏杆菌接种适宜培养基培养，收获培养物，加适宜稳定剂，经冷冻真空干燥制成。用于预防 A 型禽多杀性巴氏杆菌病（即禽霍乱）。

2 菌种

2.1 形态特性 应为革兰氏阴性球杆菌。

2.2 生化特性 应符合细菌分类学中多杀性巴氏杆菌的生化特性。

2.3 培养特性 在含有 4.0%血清及 0.1%裂解血细胞全血的（改良）马丁琼脂平板上，置 36~37℃培养 16~20 小时，肉眼观察，菌落表面光滑，呈微蓝色或灰白色。在低倍显微镜下，45 度折光观察，菌落结构细致，边缘整齐，呈灰蓝色无荧光或呈橘红色边缘呈浅蓝色虹彩。

2.4 血清型鉴定 血清学方法或分子生物学方法鉴定，应为 A 型。

2.5 安全性 用推荐使用最小日龄动物（鸭、鹅用健康易感动物检验，鸡用 SPF 鸡检验），经推荐使用途径接种，每种途径接种不少于 10 只，各接种用 20%铝胶生理盐水稀释的活菌不少于 10 个推荐使用剂量，至少观察 14 日。逐日观察接种动物饮食、精神状态、行动等全身反应情况，不应出现畏寒、精神沉郁、跛行等临床症状及死亡，允许在接种后出现饮食减少等症状，但 3 日内应恢复正常。注射后观察注射部位，应无破溃、坏死等情况。剖检鸡，心、肝、脾、胸腺均应无肉眼可见病变。

2.6 毒力返强 用 2~4 月龄 SPF 鸡 2 只，各肌肉接种活菌不少于 1 个推荐使用最大剂量，接种后 48 小时采集肝脏，经匀浆、过滤处理后作为继代接种物，肌肉注射继代鸡，连传 5 代。将最后一代分离物肌肉注射 SPF 鸡至少 10 只，至少观察 14 日，其症状应符合 2.5 项安全性标准。

2.7 免疫原性 用推荐使用日龄动物（鸭、鹅用健康易感动物检验，鸡用 SPF 鸡检验），经推荐使用途径接种，每种途径接种不少于 10 只，各接种用 20%铝胶生理盐水稀释的活菌 1 个最小免疫剂量。接种后 14 日，连同对照动物 10 只，各肌肉注射禽多杀性巴氏杆菌攻毒株 C48-1 株（CVCC44801）菌液 1MLD，观察 10 日。10 只对照动物应至少死亡 8 只，10 只免疫动物应至少 8 只在观察期内精神、采食、行动均正常，若攻毒后出现精神沉郁、饮食减少等症状，应在 3 日内恢复正常。

2.8 纯粹 按附录 3306 进行检验，应纯粹。

2.9 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 培养基 应符合附录 3009 要求。

3.2 冻干保护剂 应符合附录 3009 要求。

4 成品检验

4.1 纯粹检验 按附录 3306 进行检验，应纯粹。

4.2 活菌计数 按瓶签注明羽份，用马丁肉汤将疫苗稀释后，用含有 4.0%血清及 0.1%裂解血细胞全血的（改良）马丁琼脂平板培养，按附录 3405 进行活菌计数。每羽份疫苗中含活菌应不低于说明书标示量。

4.3 安全检验 用推荐使用最小日龄 SPF 鸡 10 只，各肌肉接种用 20%铝胶生理盐水

稀释的疫苗至少 10 个推荐使用剂量，观察 14 日。逐日观察接种动物饮食、精神状态、行动等全身反应情况，应不出现畏寒、精神沉郁、跛行等临床症状及死亡，允许在接种后出现饮食减少等症状，但 3 日内应恢复正常。注射后观察注射部位，应无破溃、坏死等情况。

4.4 效力检验 用推荐使用日龄 SPF 鸡 10 只，各肌肉接种用 20% 铝胶生理盐水稀释的疫苗 1 个推荐使用剂量。接种后 14 日，连同对照鸡 10 只，各肌肉注射禽多杀性巴氏杆菌攻毒株 C48-1 株（CVCC44801）菌液 1MLD，观察 10 日。对照鸡应至少 8 只死亡，免疫鸡应至少 8 只在观察期内精神、采食、行动均正常，若攻毒后出现精神沉郁、饮食减少等应激反应，应在 3 日内恢复正常。

4.5 剩余水分测定 按附录 3204 进行测定，应符合规定。

4.6 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 版《中国兽药典》收录的“禽多杀性巴氏杆菌病活疫苗（B26-T1200 株）、禽多杀性巴氏杆菌病活疫苗（G190E40 株）”标准，2000 年版《中国兽用生物制品规程》中收录的“禽多杀性巴氏杆菌病活疫苗制造及检验规程（I、II）”标准的基础上起草而成。本标准属于首次起草。

2. 菌种标准中形态特性、生化特性、纯粹均同“禽多杀性巴氏杆菌病活疫苗制造及检验规程”，未作改动；培养特性综合了不同菌株的特性，将“健康动物血清”改为“血清”；“血清学特性”改为“血清型鉴定”，除血清学方法外，补充了可按分子生物学方法进行，由于血清学方法和分子生物学方法均有标准方法（如“NY/T 563-2016 禽霍乱（禽巴氏杆菌病）诊断技术”），故未罗列操作术式；代次限定按统一格式表述。

3. 菌种标准中安全性，在原标准基础上，（1）要求应用每种使用对象动物，对标签上推荐的每个接种途径，对菌种进行安全性检定；（2）将检验用动物日龄统一为用推荐使用的最小日龄动物；（3）规定鸭、鹅用健康易感动物检验，鸡用 SPF 鸡检验；（4）检验动物数量由“4 只”改为“10 只”；（5）将观察时间由“10~14 日”改为“至少 14 日”；（6）注射剂量改为 10 个推荐使用剂量，G190E40 株为 6.0×10^9 CFU，B26-T1200 株为 3.0×10^9 CFU，取低值 3.0×10^9 CFU 作为通用标准的注射剂量，与活菌计数每羽份 3.0×10^7 CFU 的标准相比较，注射剂量约为 100 个推荐使用剂量，但作为通用标准来讲，还是规定为 10 个推荐使用剂量；（7）总结安全检验观察记录，将判定标准统一为“逐日观察接种动物饮食、精神状态、行动等全身反应情况，不应出现畏寒、精神沉郁、跛行等临床症状及死亡，允许在接种后出现饮食减少等应激反应，但 3 日内应恢复正常。注射后观察注射部位，应无破溃、坏死等情况。剖检鸡，心、肝、脾、胸腺均应无肉眼可见病变”。

4. 菌种标准中毒力返强，（1）用 2~4 月龄 SPF 鸡进行，传 5 代；（2）第 1 代肌肉接种不少于 1 个推荐使用最大剂量，第 2~5 代肌肉注射上一代次组织分离物；（3）通过试验证实多杀性巴氏杆菌接种鸡后 48 小时肝脏载菌量最高，故制定接种后 48 小时采集肝脏，经匀浆、过滤处理后作为继代接种物；（4）将最后一代分离物肌肉注射 SPF 鸡至少 10 只，逐日观察至少 14 日，其症状应符合 2.5 项安全性标准。

5. 菌种标准中免疫原性，在原标准基础上，（1）应用每种使用对象动物，对标签上推荐的每个接种途径，对菌种进行免疫原性检定；（2）免疫途径修订为按推荐接种途径；（3）检验用动物日龄为最小使用日龄动物；（4）检验动物数量由“免疫 5 只、对照 2 只”改为“免疫 10 只、对照 10 只”；（5）免疫菌数定为最小免疫剂量的活菌；（6）总结效力检验观察记录，并参照 9CFR 同类产品将判定标准统一为“对照动物应至少死亡 8 只，免疫动物应至少

8 只在观察期内精神、采食、行动均正常，若攻毒后出现饮食减少等应激反应，应在 3 日内恢复正常。”G190E40 株产品原注册标准是免疫鸡 5 只，对照鸡 5 只，对照鸡应全部死亡，免疫鸡应至少保护 4 只，即对照鸡 100%死亡，免疫鸡 80%保护；B26-T1200 株产品原注册标准是免疫鸡 8 只，对照鸡 2 只，对照鸡应全部死亡，免疫鸡应至少保护 6 只，即对照鸡 100%死亡，免疫鸡 75%保护；9CFR 是 10 只对照动物应不少于死亡 8 只，10 只免疫动物应至少保护 8 只)；(7) 文字统一进行了规范性修改。

6. 影响产品质量的主要生产用原辅料为培养基和冻干保护剂，规定符合附录 3009 要求。

7. 成品检验中纯粹检验、剩余水分测定、真空度均与 2020 年版《中国兽药典》附录要求一致，未改动；活菌计数明确了检验用稀释液和固体培养基平板，将不低于说明书标示量作为活菌计数的通用标准；安全检验修改内容参照菌种安全性标准规定；效力检验改动内容参考了菌种免疫原性规定。