

狂犬病灭活疫苗（标准草案）

Kuangquanbing Miehuoyimiao

Rabies Vaccine, Inactivated

1 定义

本品系用狂犬病病毒固定毒接种适宜细胞培养，收获细胞培养物，经浓缩纯化，灭活后加入适宜佐剂制成灭活疫苗。用于预防犬的狂犬病。免疫期应不低于 12 个月。

2 毒种

2.1 毒力

2.1.1 对犬的毒力 将毒种肌肉注射 2 月龄以上健康易感比格犬（狂犬病病毒抗体 FAVN 效价不高于 0.06 IU/ml）4 只，每只 1ml，观察 3 个月。犬应全部存活且无明显临床异常变化。

2.1.2 对家兔的毒力 将毒种肌肉注射 3~6 月龄健康易感家兔（狂犬病病毒抗体 FAVN 效价不高于 0.06 IU/ml）4 只，每只 1ml，观察 28 日。家兔均应不出现任何狂犬病症状。

2.2 安全性 将毒种稀释成 $10^{6.0}$ TCID₅₀/0.1ml 后制成灭活疫苗，皮下或肌肉注射 2 月龄以上健康易感比格犬（狂犬病病毒抗体 FAVN 效价不高于 0.06 IU/ml）4 只，每只 2ml，观察至少 28 日。犬应全部存活并无明显临床异常变化。

2.3 免疫原性

2.3.1 血清学方法 将最高代次毒种稀释成 $10^{6.0}$ TCID₅₀/0.1ml 后制成灭活疫苗，按推荐使用途径（如肌肉注射等）接种 2~3 月龄健康易感比格犬（狂犬病病毒抗体 FAVN 效价不高于 0.06 IU/ml）10 只，每只接种推荐的最小免疫剂量。免疫后 2 周和 24 周分别采血，分离血清，以 FAVN 方法检测各免疫犬血清中和抗体效价，两次检测的中和抗体效价平均值均不应低于 0.5IU/ml。

2.3.2 免疫攻毒法 将最高代次毒种稀释成 $10^{6.0}$ TCID₅₀/0.1ml 后制成灭活疫苗，按推荐使用途径（如肌肉注射等）接种 2~3 月龄健康易感比格犬（狂犬病病毒抗体 FAVN 效价不高于 0.06 IU/ml）5 只，每只接种推荐的最小免疫剂量，另 5 只不免疫作为对照。免疫后 21~28 日，所有犬经咬肌接种批准的狂犬病病毒强毒（街毒，如 BD06 株等）（含 50 CIM LD₅₀ 或 2×10^5 MIC LD₅₀），观察 90 日。对照犬应至少 4 只死亡，免疫犬应至少 4 只不出现任何狂犬病病毒引起的特征性症状或死亡。意外死亡的犬采集脑组织进行狂犬病病毒间接免疫荧光（IFA）检测，结果应为阴性。

注：CIM LD₅₀ 表示肌肉接种犬测定的半数致死量（Canine Intramuscular LD₅₀）

MIC LD₅₀ 表示脑内接种小鼠测定的半数致死量（Mouse Intracerebral inoculation LD₅₀）

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 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 细胞 应符合附录 3502 要求。

3.2 血清 应符合附录 3503 要求。

3.3 佐剂 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。

4.2 安全检验 用 2~3 月龄健康易感比格犬（狂犬病病毒抗体 FAVN 效价不高于 0.06 IU/ml）3 只，各皮下或肌肉接种疫苗 2 个推荐使用剂量（2 头份），逐日观察 21 日。应全部健活，且应不出现局部或全身不良反应。

4.3 效力检验 按附录 3407 进行检验，每头份疫苗应至少含 2.0 个国际单位（2.0IU）。

4.4 汞类防腐剂残留量测定（适用于使用硫柳汞灭活或防腐） 按附录 3202 进行测定，应符合规定。

4.5 甲醛残留量测定（适用于用甲醛灭活制品） 按附录 3203 进行测定，应符合规定。

起草说明：

1. 本标准参考美国 9CFR 及国内已注册的至少 8 个狂犬病灭活疫苗产品的生产毒种（涉及到已经批准的生产毒株有 SAD 株、PV2601 株、FLury 株、CVS-11 株、CTN-1 株、dG 株、PV/BHK-21 株等毒株）及其制品质量标准起草而成。鉴于当前缺少靶动物猫的试验数据缺，该通用标准适用于犬，暂不考虑用于猫的制品。

2. 根据 2024 年第 9 次会议审查要求，在生产毒种标准中增加了毒种制备成疫苗进行安全性考察的标准；免疫原性检验中要求使用最高代次的毒种，接种推荐剂量的为最小免疫剂量；删除了原来 2.1 对小鼠的半数致死量项和 2.2 病毒含量项；删除了毒种项下的特异性项在定义项最后增加了“免疫期应不低于 12 个月”。

3. 不同企业采用不同的工艺，为保留企业的个性特征，制定国家标准时，不再保罗万象。如：有的质量标准中有氢氧化铝含量测定项，而有的标准中没有，主要是依据生产工艺中的佐剂成分来确定，属于个性特征，在通用标准中，就不再具体体现。真空度测定、内毒素含量测定等控制指标也是由于工艺不同而不同，在通用标准中也不再统一要求，如相关制品涉及个性化工艺，按现行《中国兽药典》附录相关要求制定自己的产品注册标准。

4. 效力检验采用了 2020 年版《中国兽药典》附录收录的“附录 3407 狂犬病灭活疫苗小鼠效力检验方法（NIH 法）”，保证了《中国兽药典》附录标准的传承性。

5. 依据 2024 年第 9 次会议审查意见，删除了成品检验中灭活检验项；在制定通用标准中，删除了个别企业将该灭活疫苗经冻干工艺后需要的水分测定项和真空度测定项；删除了“作用与用途”项和“用法与用量”项。