

禽多杀性巴氏杆菌病（A 型）灭活疫苗（标准草案）

Qin Duoshaxingbashiganjunbing (A Xing) Miehuoyimiao

Avian Pasteurella multocida (Type A) Vaccine, Inactivated

1 定义

本品系用禽多杀性巴氏杆菌接种适宜培养基培养，收获培养物，灭活后加适宜佐剂制成。用于预防鸡 A 型禽多杀性巴氏杆菌病。

2 菌种

2.1 形态特性 应为革兰氏阴性杆菌。

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 0.1%裂解血细胞全血及 4.0%血清的改良马丁琼脂平板上，置 36~37℃培养 16~22 小时，肉眼观察，菌落表面光滑，呈微蓝色；在低倍显微镜下，45 度折光观察，菌落结构细致，边缘整齐，呈桔黄（桔红）色，属 Fo 菌落型。

2.4 血清型鉴定 用血清学方法或分子生物学方法鉴定，应为 A 型。

2.5 安全性 将菌种制备灭活疫苗，用推荐使用的最小日龄 SPF 鸡不少于 10 只，各经推荐使用的免疫途径接种疫苗 2 个推荐使用剂量，观察至少 14 日。逐日观察接种鸡饮食、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，允许在注射疫苗后出现饮食减少等应激反应，但 3 日内应恢复正常。注射疫苗后观察注射部位，应无硬结、破溃、坏死等情况，如出现注射局部肿胀，应在 14 日内消除。剖检鸡，心、肝、脾、肾、胸腺、睾丸均应无肉眼可见病变。

2.6 免疫原性 将菌种制备灭活疫苗，用 2~4 月龄 SPF 鸡 10 只，各经推荐使用的免疫途径接种疫苗 1 个推荐使用剂量。免疫后 21 日，连同对照鸡 5 只，各肌肉注射禽多杀性巴氏杆菌强毒株 C48-1 株（CVCC44801）菌液 1MLD（不超过 10CFU 活菌），观察 14 日。对照鸡应全部死亡，免疫鸡应至少 5 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。

2.7 纯粹 按附录 3306 进行检验，应纯粹。

2.8 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 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 用推荐使用的最小日龄 SPF 鸡 10 只，各经推荐使用的免疫途径接种疫苗 2 个推荐使用剂量（羽份），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，允许在注射疫苗后出现饮食减少等应激反应，但 3 日内应恢复正常。注射疫苗后观察注射部位，应无硬结、破溃、坏死等情况，如出现注射局部肿胀，应在 14 日内消除。

4.3 效力检验 用 2~4 月龄 SPF 鸡 10 只，各经推荐使用的免疫途径接种疫苗 1 个推荐使用剂量（羽份）。免疫后 21 日，连同对照鸡 5 只，各肌肉注射禽多杀性巴氏杆菌强毒株 C48-1 株（CVCC44801）菌液 1MLD（不超过 10CFU 活菌），观察 14 日。对照鸡应全部死亡，免疫鸡应至少 5 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。

4.4 甲醛、苯酚和汞类防腐剂残留量测定 分别按附录 3203、3201 和 3202 进行测定，

应符合规定。

起草说明：

1. 本标准在 2020 年版《中国兽药典》中收录的“禽多杀性巴氏杆菌病灭活疫苗（1502 株）”“禽多杀性巴氏杆菌病灭活疫苗（C48-2 株）”、2000 年版《兽用生物制品规程》中收录的“禽多杀性巴氏杆菌病灭活疫苗制造及检验规程”以及“禽多杀性巴氏杆菌病油乳剂灭活疫苗制造及检验规程”标准基础上起草，并在名称和定义中增加 A 型。本标准属于首次起草。

2. 由于铝胶佐剂疫苗和油佐剂疫苗生产工艺上的差别，在定义中以适宜佐剂表述，简化了工艺概述，不强调浓缩工艺，并限定为“用于预防鸡 A 型禽多杀性巴氏杆菌病”。

3. 菌种项下形态特性、生化特性、培养特性、纯粹参考了“禽多杀性巴氏杆菌病灭活疫苗制造及检验规程”以及“禽多杀性巴氏杆菌病油乳剂灭活疫苗制造及检验规程”相关标准制定；形态特性中删除了组织涂片瑞氏染色内容；培养特性将“健康动物血清”改为“血清”；将原有的“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”），故未列操作术式；删除毒力项；代次限定按统一格式体例表述。

4. 菌种项下的安全性，（1）明确用菌种制备灭活疫苗后进行；（2）要求对标签上推荐的每个接种途径均要进行安全性评价；（3）用推荐使用的最小日龄 SPF 鸡不少于 10 只进行；（4）接种剂量为疫苗 2 倍推荐使用剂量；（5）观察时间至少 14 日；（6）逐日观察，观察指标包括饮食、精神状态、行动等全身反应情况和注射局部反应情况；（7）合格标准定为不应出现畏寒、精神沉郁、跛行等临床症状，允许在注射疫苗后出现饮食减少等应激反应，但 3 日内应恢复正常；注射疫苗后观察注射部位，应无硬结、破溃、坏死等情况，如出现注射局部肿胀，应在 14 日内消除；剖检鸡，心、肝、脾、肾、胸腺、睾丸均应无肉眼可见病变。

5. 菌种项下的免疫原性，在参考产品标准基础上，（1）要求对标签上推荐的每个接种途径均要进行免疫原性评价；（2）规定免疫 SPF 鸡 10 只，对照鸡 5 只，对照鸡应全部死亡，免疫鸡应至少 5 只保护；C48-2 株的产品原标准是免疫鸡 4 只，对照鸡 2 只，对照鸡应全部死亡，免疫鸡应至少 2 只保护，即对照鸡 100%死亡，免疫鸡 50%保护（总保护率 50%）；1502 株的产品原标准是免疫鸡 5 只，对照鸡 3 只，对照鸡应全部死亡，免疫鸡应至少 3 只保护，即对照鸡 100%死亡，免疫鸡 60%保护（总保护率 60%）；美国 9CFR 规定免疫动物 20 只，对照动物 11 只，对照动物应至少 8 只死亡，免疫动物应至少 14 只保护，即对照动物至少 73%死亡，免疫动物 70%保护（总保护率 51%）；欧洲药典规定免疫动物不少于 20 只，对照动物不少于 10 只，对照动物至少 70%发病或死亡，免疫动物至少 70%保护（总保护率 49%）；新修订的标准维持对照组 100%死亡，免疫组按 50%保护予以要求；（3）保护标准定为在观察期内精神、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；（4）免疫剂量定为最小免疫剂量；（5）检验用动物日龄定为 2~4 月龄；（6）增加攻毒用菌种毒力标准，限定为不超过 10CFU 活菌；（7）对文字进行统一规范性修改。

6. 影响产品质量的主要生产用原辅料为培养基和佐剂，应符合附录 3009 要求。

7. 成品检验中无菌检验及甲醛、苯酚和汞类防腐剂残留量测定均保持与 2020 年版《中国兽药典》附录一致；安全检验中将接种部位修订为按疫苗推荐接种途径，将接种剂量修订为“2 个推荐使用剂量（羽份）”，将观察时间统一为 14 日，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，应不出现畏寒、精神沉郁、跛行等临床症

状，允许在注射疫苗后出现饮食减少等应激反应，但3日内应恢复正常。注射疫苗后观察注射部位，应无硬结、破溃、坏死等情况，如出现注射局部肿胀，应在14日内消除”；效力检验内容参照菌种免疫原性检验，免疫剂量定为1羽份，C48-2株产品免疫剂量为2.0ml，即1个推荐使用剂量（1羽份），1502株产品免疫剂量为1.0ml，即1羽份，故将免疫剂量定为1个推荐使用剂量（羽份）。

1502株产品