

猪多杀性巴氏杆菌病（B 型）灭活疫苗（标准草案）

Zhu Duoshaxingbashiganjunbing (B Xing) Miehuoyimiao

Swine *Pasteurella multocida* (Type B) Vaccine, Inactivated

1 定义

本品系用 B 型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。用于预防由 B 型多杀性巴氏杆菌引起的猪多杀性巴氏杆菌病。

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%健康动物血清及 0.1%裂解血细胞全血的改良马丁琼脂平板或其他适宜固体培养基（如 TSA 等）上，置 36~37°C 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，呈鲜明的蓝绿色虹彩，边缘一部分有狭窄的红黄光带，属 Fg 菌落型。

2.4 血清型鉴定 用血清学方法或分子生物学方法进行鉴定，应为 B 型。

2.5 安全性 将菌种制备灭活疫苗。

2.5.1 对猪的安全性 用推荐使用最小日龄的健康易感猪 2 头，各经推荐的免疫途径接种疫苗 2 个推荐使用剂量（头份），观察 14 日。应不出现由疫苗引起的局部或全身不良反应。

2.5.2 对家兔的安全性 用体重 1.5~2.0kg 健康易感家兔 2 只，各经推荐的免疫途径接种疫苗 1 个推荐使用剂量（头份），观察 14 日。应不出现由疫苗引起的局部或全身不良反应。

2.5.3 对小鼠的安全性 用体重 18~22g 小鼠 10 只，各经推荐的免疫途径接种疫苗 1/10 个推荐使用剂量（头份），观察 14 日，应不出现由疫苗引起的局部或全身不良反应。

2.6 免疫原性 将推荐的最小免疫剂量菌种制备灭活疫苗。用 35~56 日龄（体重 15~30kg）健康易感猪 5 头，各经推荐的各免疫途径接种疫苗 1 个推荐使用剂量（头份），免疫后 21 日，连同对照猪 3 头，各皮下注射猪多杀性巴氏杆菌 C44-1 株（CVCC4401）强毒菌液 1MLD（含活菌 80~100 个），观察 10 日。对照猪全部死亡时，免疫猪应至少保护 4 头；或对照猪死亡 2 头，免疫猪应全部保护。

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 适宜培养基（如改良马丁肉汤等），应符合附录 3009 要求。

3.2 动物源性材料 应符合附录 3008 要求。

3.3 原材料及辅料 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

4.2.1 用兔检验 用体重 1.5~2.0kg 健康易感家兔 2 只，各皮下注射疫苗 1 个推荐使用剂量，观察 10 日，应全部健活。

4.2.2 用小鼠检验 用体重 18~22g 小鼠 10 只，各皮下注射疫苗 1/10 个推荐使用剂量，观察 10 日，应全部健活。

4.3 效力检验 用 35~56 日龄（体重 15~30kg）健康易感猪 5 头，各皮下注射疫苗 1 个推荐使用剂量，免疫后 21 日，连同对照猪 3 头，各皮下注射猪多杀性巴氏杆菌 C44-1 株

(CVCC44401) 强毒菌液 1MLD (含活菌 80~100 个), 观察 10 日。对照猪全部死亡时, 免疫猪应至少保护 4 头; 或对照猪死亡 2 头, 免疫猪应全部保护。

4.4 甲醛、苯酚和汞类防腐剂残留量测定 分别按附录 3203、3201、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“猪多杀性巴氏杆菌病灭活疫苗”和“猪丹毒、多杀性巴氏杆菌病二联灭活疫苗”以及 2000 年版《中国兽用生物制品规程》中收录的“猪多杀性巴氏杆菌病灭活疫苗制造及检验规程”基础上起草而成, 并在名称增加 B 型。本标准属于首次起草。

2. 农业农村部公告第 573 号发布一、二、三类动物疫病病种名录, 统一将此类疫病命名为猪巴氏杆菌病, 但巴氏杆菌种属较多, 各类菌种特性有比较大的差异, 难以统一描述, 且目前生产菌种多为荚膜 B 群多杀性巴氏杆菌, 故仍保留“猪多杀性巴氏杆菌灭活疫苗”的命名, 但在名称中增加了 B 型的限定。

3. 菌种项下形态特性、生化特性、培养特性、安全性、免疫原性、纯粹等参考了 2000 年版《中国兽用生物制品规程》中收录的“猪多杀性巴氏杆菌病灭活疫苗制造及检验规程”, 并做规范性修改; 生化特性未明确具体的鉴定方法, 既可以采取传统的培养基方法进行鉴定, 也可以用 16srDNA 方法进行鉴定, 仅规定“应符合细菌分类学中多杀性巴氏杆菌的生化特性”的要求; 血清学特性统一改为血清型鉴定, 参照“NY/T 564-2016 猪巴氏杆菌病诊断技术”补充了多重 PCR 荚膜定型法; 代次限定按统一格式体例表述。

4. 培养特性 2000 年版《中国兽用生物制品规程》中收录的“猪多杀性巴氏杆菌病灭活疫苗制造及检验规程”中使用的是改良马丁琼脂, 但在实际应用过程中, (改良) 马丁琼脂、(改良) 马丁肉汤受其配方中的牛肉汤等原料质量影响较大, 培养基质量不太稳定, 故在标准中增加其他适宜固体培养基 (如 TSA 等) 进行补充。

5. 依据 2024 年第 10 次会议审查意见, 毒种项下的免疫原性中删除了家兔的内容, 明确了接种猪的日龄, 会议审查建议牵头人对攻毒强毒菌液中规定菌数限定 (不高于? 菌数/CFU), 牵头人认为没有相对准确的试验数据, 建议先不规定菌数; 毒种项下增加了安全性, 接种动物为猪、家兔、小鼠, 包括各种推荐使用途径, 牵头人认为按照原标准拟定, 没有问题, 暂不细化本动物猪的观察指标。

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

7. 成品检验中无菌检验、安全检验参考了 2020 版《中国兽药典》中收录的同类制品标准基本一致, 并作部分文字改动。依据 2024 年第 10 次会议审查意见, 效力检验项中删除了用家兔检验的相关内容。