

# 猪丹毒活疫苗（标准草案）

Zhudandu Huoyimiao

Swine Erysipelas Vaccine, Live

## 1 定义

本品系用猪丹毒杆菌弱毒株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。用于预防猪丹毒。

## 2 菌种

2.1 形态特性 应为革兰氏阳性纤细小杆菌。

2.2 生化特性 应符合细菌分类学中猪丹毒杆菌的生化特性。

2.3 培养特性

2.3.1 明胶平板培养 置 15~18℃培养 3~5 日，肉眼观察呈灰白色、不透明的圆形小菌落。用低倍显微镜观察，呈浅黄色，中心可见核样结构，周边有向外生长的短毛样分枝。

2.3.2 明胶穿刺培养 置 15~18℃培养 3~5 日，肉眼观察为乳白色线状生长。用放大镜观察，应呈线状生长或呈不规则的间断短毛生长线。

2.3.3 马丁琼脂平板培养 在含有 4.0%血清及 0.1%裂解血细胞全血的马丁琼脂平板上，置 36~37℃培养 36~48 小时，为圆整光滑型菌落。在低倍显微镜下观察，周围有微小波纹，中部有黄褐色点状颗粒。

2.4 血清型鉴定 用猪丹毒杆菌分型血清作沉淀试验进行鉴定，应符合菌种的血清型特征。

2.5 安全性

2.5.1 对小鼠的安全性 用 20%氢氧化铝胶生理盐水稀释活菌。用体重 20~22g 小鼠 10 只，每只皮下注射活菌 2 个推荐使用剂量，观察至少 14 日。小鼠应至少 9 只健活。

2.5.2 对猪的安全性 用 20%氢氧化铝胶生理盐水稀释活菌。用推荐使用最小日龄健康易感猪（养殖场未爆发过猪丹毒，且未接种过猪丹毒疫苗的猪）5 头，各经推荐使用的途径接种活菌至少 10 个推荐使用剂量，观察至少 14 日，应不出现精神沉郁、不愿走动、厌食、暗红色皮肤丘疹（打火印）等临床症状，允许个别猪有体温反应（高于 40.0℃），但稽留时间应不超过 3 日。

2.6 毒力返强 使用基础种子的最低代次，用 56~63 日龄健康易感猪（养殖场未爆发过猪丹毒，且未接种过猪丹毒疫苗的猪）2 头，各皮下注射适宜剂量活菌，在适宜时间采集含菌量最高组织，经匀浆处理后作为继代接种物（必要时可加大接种剂量或者对接种材料进行适当浓缩，以保证接种的接种物中有足量的微生物），皮下注射连续 5 代，前 4 代每代接种 2 头猪。将最后一代分离物皮下注射 5 头猪和 10 只体重 20~22g 小鼠，逐日观察至少 21 日，其症状应符合 2.5 项安全性标准。

2.7 免疫原性

2.7.1 用 20%氢氧化铝胶生理盐水稀释活菌。用体重 16~18g 小鼠 16 只，分成 3 组，第 1 组 10 只，第 2、3 组各 3 只。第 1 组各皮下注射活菌 1/50 个推荐使用剂量，免疫后 14 日，第 1 组 10 只免疫小鼠，连同第 2 组 3 只对照小鼠，各皮下注射含 1000 个对小鼠最小致死剂量（MLD）的适宜血清型猪丹毒杆菌菌液，另取第 3 组 3 只对照小鼠，各皮下注射含 1 个对小鼠最小致死剂量（MLD）的适宜血清型猪丹毒杆菌攻毒菌液，观察 14 日。第 2 组对照小鼠应全部死亡，第 3 组对照小鼠应至少 2 只死亡，免疫小鼠应至少 8 只保护。

2.7.2 用 20%氢氧化铝胶生理盐水稀释活菌。用 58~63 日龄健康易感猪（养殖场未爆发过猪丹毒，且未接种过猪丹毒疫苗的猪）5 头，各经推荐途径接种活菌最小免疫剂量。免疫后 14 日，连同对照猪 5 头，各静脉注射含 1 个对猪最小致死剂量（MLD）的适宜血清型

猪丹毒杆菌菌液，观察 14 日。对照猪应全部死亡，免疫猪应至少 4 头精神、被毛、采食、行动均正常，若攻毒后出现体温升高（高于 40.0℃），应在 3 日内恢复正常；若对照猪至少 4 头出现精神沉郁、不愿走动、厌食、暗红色皮肤丘疹（打火印）、体温至少持续 2 日超过 40.5℃等症状，且至少死亡 2 头，免疫猪应 5 头精神、被毛、采食、行动均正常，若攻毒后出现体温升高（高于 40.0℃），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 按瓶签注明头份，将疫苗用马丁肉汤稀释后，用含 10% 血清的马丁琼脂平板培养，按附录 3405 进行活菌计数。每头份疫苗中含活菌数应不低于瓶签标示量。

4.3 安全检验 下列方法任择其一。

4.3.1 用小鼠检验 用 20% 氢氧化铝胶生理盐水稀释疫苗，皮下注射体重 20~22g 小鼠 10 只，每只 2 个推荐使用剂量（头份），观察 14 日。小鼠应至少 8 只健活。

4.3.2 用猪检验 用 20% 氢氧化铝胶生理盐水稀释疫苗。用推荐使用最小日龄健康易感猪（养殖场未爆发过猪丹毒，且未接种过猪丹毒疫苗的猪）5 头，各按推荐免疫途径接种疫苗至少 10 个推荐使用剂量（头份），观察 10 日。应不出现精神沉郁、不愿走动、厌食、暗红色皮肤丘疹（打火印）等临床症状，允许个别猪有体温反应（高于 40.0℃），但稽留时间应不超过 3 日。

4.4 效力检验 用 20% 氢氧化铝胶生理盐水稀释疫苗。用体重 16~18g 小鼠 16 只，分成 3 组，第 1 组 10 只，第 2、3 组各 3 只。第 1 组各皮下注射疫苗 1/50 个推荐使用剂量，免疫后 14 日，第 1 组 10 只免疫小鼠，连同第 2 组 3 只对照小鼠，各皮下注射含 1000 个对小鼠最小致死剂量（MLD）的适宜血清型猪丹毒杆菌攻毒菌液，另取第 3 组 3 只对照小鼠，各皮下注射含 1 个对小鼠最小致死剂量（MLD）的适宜血清型猪丹毒杆菌攻毒菌液，观察 14 日。第 2 组对照小鼠应全部死亡，第 3 组对照小鼠应至少 2 只死亡，免疫小鼠应至少 8 只保护。

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. 本标准在 2020 版《中国兽药典》中收录的“猪瘟、猪丹毒、猪多杀性巴氏杆菌三联活疫苗”和 2000 年版《兽用生物制品规程》中收录的“猪丹毒活疫苗制造及检验规程”以及注册批准的猪丹毒活疫苗制造及检验规程标准的基础上起草。本标准属于首次起草。

2. 菌种项下的形态特性、生化特性、纯粹参考了“猪丹毒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共性特性，“健康动物血清”改为“血清”；“血清学特性”改为“血清型鉴定”，不限定具体血清型；代次限定按统一格式体例表述。

3. 菌种项下的安全性，依据 2024 年第 10 次会议审查意见，在原标准基础上，（1）要求按标签上推荐的每个接种途径，对菌种进行安全性检定；（2）将检验用动物日龄修订为“推荐使用最小日龄”；（3）将易感猪标准定为“养殖场未爆发过猪丹毒，且未接种过猪丹毒疫苗”。

的猪”；(4)将检验猪数量由4头调整为5头；(5)小鼠判定标准定为应至少9只健活，GC42株安全性标准为应全部健活，G4T10株安全性标准为可允许死亡1只，取较低的标准按应至少9只健活予以要求；(6)归纳菌种安全性检定工作中观察到的症状，将猪健活标准定为“应不出现精神沉郁、不愿走动、厌食、暗红色皮肤丘疹（打火印）等临床症状，允许个别猪有体温反应（高于40.0℃），但稽留时间应不超过3日”。

4. 菌种项下的毒力返强，(1)参照原农业部公告第683号要求限定使用基础种子的最低代次进行毒力返强检定；(2)用56~63日龄猪进行毒力返强试验，回传5代，每代2头猪；(3)第1代皮下注射适宜剂量活菌，第2~5代皮下注射上一代次组织；(4)判定标准、为将最后一代组织皮下注射5头猪和10只体重20~22g小鼠，逐日观察至少21日，其症状应符合2.5项安全性标准。

5. 菌种项下的免疫原性，在原标准基础上，(1)小鼠部分，将1型、2型菌混合攻毒修订为适宜血清型猪丹毒杆菌攻毒；(2)猪部分，将猪日龄限定为58~63日龄，要求对标签上推荐的每个接种途径进行免疫原性检定；将易感猪标准定为“养殖场未爆发过猪丹毒，且未接种过猪丹毒疫苗的猪”；免疫剂量定为最小免疫剂量；将1型、2型菌混合攻毒修订为适宜血清型猪丹毒杆菌攻毒；归纳菌种毒力检定工作中观察到的症状，将发病标准定为“出现精神沉郁、不愿走动、厌食、暗红色皮肤丘疹（打火印）、体温至少持续2日超过40.5℃等症”；将保护标准定为“精神、被毛、采食、行动均正常，若攻毒后出现体温升高（高于40.0℃），应在3日内恢复正常”；(3)文字表述进行规范性修改。

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，规定应符合附录3009要求。

7. 成品检验中剩余水分测定、真空度均与2020年版《中国兽药典》附录标准一致；纯粹检验删除“用马丁琼脂进行检验”；鉴别检验删除，菌种标准中已有培养特性（鉴别检验）；活菌计数删除“或其他适宜的琼脂培养基”，将不低于瓶签标示量作为活菌计数通用标准；安全检验小鼠判定标准定为应至少8只健活，GC42株安全检验标准为应全部健活，G4T10株安全检验标准应至少8只健活，采取按应至少8只健活的标准要求；效力检验改动内容同菌种免疫原性检验。

8. 依据2024年第10次会议审查意见，在成品检验项下完善用小鼠检验中安全检验的文字描述，删除“否则，可用.....检验1次”。

9. 依据2024年第10次会议审查意见，在成品检验项下的效力检验中删除了二选一方法，即删除了用猪检验，仅保留用小鼠检验。