

# 仔猪副伤寒活疫苗（标准草案）

Zizhu Fushanghan Huoyimiao

Paratyphus Vaccine for Piglets, Live

## 1 定义

本品系用猪霍乱沙门氏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。用于预防猪霍乱沙门氏菌引起的仔猪副伤寒。

## 2 菌种

2.1 形态特性 应为革兰氏阴性小杆菌。

2.2 生化特性 应符合细菌分类学中猪霍乱沙门氏菌的生化特性。

2.3 培养特性 在普通琼脂平板上，经 37℃ 培养 18~20 小时，菌落为圆形、边缘整齐、突起、半透明、略湿润的光滑型。

2.4 血清型鉴定 普通琼脂新鲜培养物用玻片凝集试验检查法，与沙门氏菌属 O7 因子血清反应应出现凝集。

2.5 鉴别检验 用普通琼脂培养物与 1/500 吡啶黄溶液进行玻片凝集试验，应不出现凝集反应。

2.6 安全性 用 pH 值为 7.4~7.6 的普通肉汤或蛋白胨水，将培养 24~48 小时的普通琼脂斜面培养物洗下并做活菌计数，注射下列动物应符合其标准：

2.6.1 对小鼠的安全性 用体重 18~22g（30~35 日龄）小鼠 10 只，各皮下注射活菌 1/30 个推荐使用剂量，观察 21 日。小鼠应至少存活 9 只，存活鼠精神状态、采食、运动状态均正常，允许个别鼠出现精神不振等症状，但应在 3 日内自行恢复。

2.6.2 对家兔的安全性 用体重 1.5~2kg 的健康易感家兔 5 只，各皮下注射活菌 3 个推荐使用剂量，观察 21 日。家兔应全部存活，存活兔精神状态、采食、饮水均正常，允许个别兔出现精神不振、减食等症状，但应在 3 日内自行恢复。

2.6.3 对仔猪的安全性

2.6.3.1 口服免疫途径 用推荐的最小使用日龄健康易感断奶仔猪 5 头，各口服免疫活菌 10 个推荐使用剂量，观察 30 日。猪精神状态、采食、饮水均应正常，且应不出现由疫苗引起的局部或全身不良反应。

2.6.3.2 肌肉注射途径 用推荐的最小使用日龄健康易感断奶仔猪 5 头，各肌肉注射活菌 10 个推荐使用剂量，观察 30 日。猪精神状态、采食、饮水均应正常，允许个别仔猪出现体温升高、发抖、呕吐或减食等症状，但应在 3 日内自行恢复。

2.7 毒力返强 用 1~3 月龄（体重 12kg 以上）健康易感断奶仔猪，按适宜剂量推荐途径接种传代，每次传代采用 2~5 头，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，连传 5 代，最后一次传代的健康易感猪不少于 5 头，观察至少 21 日。其最后一次传代的安全性应符合 2.6 要求。

2.8 免疫原性 用 1~3 月龄（体重 12kg 以上）健康易感断奶仔猪 5 头，各口服免疫或肌肉注射（用 20% 的氢氧化铝胶生理盐水稀释）活菌 1 个推荐使用剂量，免疫后 30 日，连同对照猪 5 头，各静脉注射猪霍乱沙门氏菌强毒 C78-2 株（CVCC79102）菌液 1MLD（活菌数不高于  $1.0 \times 10^9$  CFU），观察 30 日。对照猪应全部死亡，免疫猪应至少存活 3 头；或对照猪死亡 4 头，免疫猪应至少存活 4 头；或对照猪死亡 3 头，免疫猪应全部存活。免疫存活猪在观察期末，应不出现体温升高（超过正常体温 2℃）、呼吸困难、全身发抖等仔猪副伤寒临床症状。

2.9 纯粹 按附录 3306 进行检验，应纯粹。

2.10 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 稳定剂 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，用普通琼脂平板培养，按附录 3405 进行活菌计数。每头份含活菌数应不低于瓶签标示量。

#### 4.3 安全检验

4.3.1 口服免疫途径 用推荐的最小使用日龄健康易感断奶仔猪 5 头，各口服疫苗 10 个推荐使用剂量（头份），观察 30 日。猪精神状态、采食、饮水均应正常，且应不出现由疫苗引起的局部或全身不良反应。

4.3.2 肌肉注射途径 用推荐的最小使用日龄健康易感断奶仔猪 5 头，各肌肉注射疫苗 10 头份，观察 30 日。猪精神状态、采食、饮水均应正常，允许个别仔猪出现体温升高、发抖、呕吐或减食等症状，但应在 3 日内自行恢复。

4.4 效力检验 用 1~3 月龄（体重 12kg 以上）健康易感断奶仔猪 5 头，各口服免疫或肌肉注射（注射时用 20% 的氢氧化铝胶生理盐水稀释）疫苗 1 个推荐使用剂量（头份）。免疫后 30 日，连同对照猪 5 头，各静脉注射猪霍乱沙门氏菌强毒 C78-2 株（CVCC79102）菌液 1MLD（活菌数不高于  $1.0 \times 10^9$  CFU），观察 30 日。对照猪应全部死亡，免疫猪应至少存活 3 头；或对照猪死亡 4 头，免疫猪应至少存活 4 头；或对照猪死亡 3 头，免疫猪应全部存活。免疫存活猪在观察期末，应不出现体温升高（超过正常体温  $2^{\circ}\text{C}$ ）、呼吸困难、全身发抖等仔猪副伤寒临床症状。

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 2000 年版《兽用生物制品规程》中收录的“仔猪副伤寒活疫苗制造及检验规程”及 2020 年版《中国兽药典》中收录的“仔猪副伤寒活疫苗”标准基础上起草。本标准属于首次起草。

2. 菌种项下形态特性、生化特性、培养特性、血清型鉴定、安全性、免疫原性、纯粹均参考了“仔猪副伤寒活疫苗制造及检验规程”中的标准，仅对文字进行规范性修改；代次限定按统一格式体例表述。

3. 影响产品质量的主要生产用原辅料为培养基，应符合附录 3009 中相关要求。

4. 鉴别检验同“仔猪副伤寒活疫苗制造及检验规程”菌种标准的特异性；活菌计数明确了检验用固体培养基平板。

5. 成品检验中效力检验，虽然仔猪副伤寒活疫苗中活菌数与效力检验呈正相关关系，但是 2020 年版《中国兽药典》未设此项，为便于考察疫苗质量，参照“仔猪副伤寒活疫苗制造及检验规程”中菌种免疫原性并结合成品每头份活菌计数值进行了补充完善。

6. 审核人提出两点主要意见：（1）在菌种及成品的安全性项中，增加对照组。起草小组认为鉴于没有具体试验数据支撑，暂不增加，将此意见在起草说明中体现并提交药典会讨论。（2）建议补充猪霍乱沙门氏菌（CVCC79102）强毒菌液剂量。起草小组参照 2000 年版《兽用生物制品规程》“仔猪副伤寒活疫苗制造及检验规程”中强毒株检验标准起草，不规定

剂量，至限定 1 个 MLD。

7. 依据 2023 年第 6 次会议审查意见，做如下修改：（1）对菌种安全性、免疫原性，成品的安全检验、效力检验进行规范性表述。（2）依据兽用生物制品检验操作规程（SYZY079-2022 细菌类生物制品安全检验-兔检验法操作规程及 SYZY080-2022 细菌类生物制品安全检验-猪检验法操作规程），在菌种项下增加存活判定标准。鉴于该菌对猪的免疫原性采用静脉注射途径，为与免疫原性中途径保持统一，删除菌种安全性静脉注射途径内容，根据原农业部公告第 683 号及 2020 年版《中国兽药典》通则要求，以不低于 10 倍推荐使用剂量进行肌肉注射。（3）在菌种项下增加毒力返强试验要求。（4）鉴于本菌采用醋酸铊致弱，在菌种部分增加鉴别检验项。（5）鉴于本菌研究历史久远，经查缺少完整的毒力返强资料，仅参考了农业部公告第 683 号“兽用生物制品菌（毒、虫）种毒力返强试验技术指导原则”以及本菌部分特性制定粗略要求。

8. 依据 2024 年第 10 次会议审查意见，做如下修改：（1）完善及规范文字描述。a) 菌株安全性存活标准。b) 毒力返强试验表述。c) 免疫原性及成品效力检验中保护标准。（2）在菌株安全性检验中，增加仔猪口服免疫途径内容。（3）菌株免疫原性去掉兔试验内容，将仔猪口服免疫与肌肉注射两种途径分开表述。根据仔猪体重生长情况（体重 12kg 以上）及猪霍乱沙门氏菌自身特点（仅对 1~4 月猪敏感），鉴于免疫后攻毒间隔 1 个月，确定 1~3 月龄（体重 12kg 以上）。（4）成品检验中安全检验及效力检验，去掉兔检验内容。根据菌株安全性及免疫原性对应修改成品安全检验及效力检验内容。（5）根据原 2000 年版《兽用生物制品规程》中涉及的效力检验菌株猪霍乱沙门氏菌 C78-2 株（CVCC79102）毒力标准，1ml 静脉注射  $1 \times 10^8 \sim 5 \times 10^8$  CFU，至少 2/3 头以上死亡。基于活菌计数及动物品种差异，确定 1MLD（活菌数不高于  $1 \times 10^9$  CFU）。（6）鉴于对照组与免疫组仔猪，经静脉注射猪霍乱沙门氏菌强毒后，对照攻毒猪死亡（60%以上死亡）与免疫猪不死亡（60%以上存活），本身就是重大显著差异，可直接证明该苗免疫效力。根据我所相关研究结果，在观察期末，免疫攻毒存活猪应不出现体温升高、呼吸困难、全身发抖等临床症状，但个体体重、被毛及运动状态等相对于健康猪（不接种空白对照）有差异。经起草小组讨论后，进一步完善标准，表述为“对照猪应全部死亡，免疫猪应至少存活 3 头；或对照猪死亡 4 头，免疫猪应至少存活 4 头；或对照猪死亡 3 头，免疫猪应全部存活。免疫存活猪在观察期末，应不出现体温升高（超过正常体温 2℃）、呼吸困难、全身发抖等仔猪副伤寒临床症状。”