

猪败血性链球菌病活疫苗（标准草案）

Zhu Baixuexinglianqiujunbing Huoyimiao

Swine Streptococcosis Septicemia Vaccine, Live

1 定义

本品系用猪源马链球菌兽疫亚种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。用于预防马链球菌兽疫亚种引起的猪败血性链球菌病。

2 菌种

2.1 形态特性 应为革兰氏阳性球杆菌。

2.2 生化特性 应符合细菌分类学中马链球菌兽疫亚种的生化特性。

2.3 培养特性 在缓冲肉汤中，于 37°C 培养 10~18 小时，菌液一致混浊，不形成菌膜。在鲜血马丁琼脂平板上，37°C 培养 24 小时，其菌落圆形、湿润、光滑、半透明，呈β溶血。

2.4 血清型鉴定 血清学方法或分子生物学方法鉴定，应为兰氏 C 群。

2.5 安全性

2.5.1 对小鼠的安全性 用体重 18~22g（30~35 日龄）小鼠 10 只，各皮下注射菌液 0.2ml（含 1/50 推荐使用剂量活菌），观察 14 日。小鼠精神状态、被毛、行动均应正常，且无疫苗引起的局部或全身不良反应。

2.5.2 对猪的安全性

2.5.2.1 口服免疫途径 用 2~4 月龄健康易感猪 5 头，各口服免疫活菌至少 10 个推荐使用剂量，观察 21 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。

2.5.2.2 皮下注射途径 用 2~4 月龄健康易感猪 5 头，各皮下注射活菌至少 10 个推荐使用剂量，观察 21 日，精神状态、采食、饮水均应正常，允许个别猪体温升高超过基础体温 1°C 或减食等症状，但应在 3 日内自行恢复。

2.6 毒力返强 用 2~4 月龄健康易感猪，按照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，应观察至少 21 日。其最后一次传代的安全性应符合 2.5 要求。

2.7 免疫原性

2.7.1 口服免疫途径 用生理盐水稀释活菌。用 2~4 月龄健康易感猪 5 头，各口服活菌 1 个推荐使用剂量，免疫后 14 日，连同对照猪 5 头，各静脉注射猪链球菌强毒菌液 1MLD（活菌数不高于 1.6×10^7 CFU），观察 21 日。对照猪全部死亡，免疫猪应至少存活 4 头；或对照猪死亡 4 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、精神不振、关节炎等临床症状。

2.7.1 皮下注射途径 用 20% 氢氧化铝胶生理盐水稀释活菌。用 2~4 月龄健康易感猪 5 头，各皮下注射 1/2 个推荐使用剂量活菌，免疫后 14 日，连同对照猪 5 头，各静脉注射猪链球菌强毒菌液 1MLD（活菌数不高于 1.6×10^7 CFU），观察 21 日。对照猪全部死亡，免疫猪应至少存活 4 头；或对照猪死亡 4 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、精神不振、关节炎等临床症状。

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 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，用缓冲肉汤或马丁肉汤稀释，用含 10% 鲜血（或血清）马丁琼脂平板，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 用小鼠检验 按瓶签注明头份，用 20% 氢氧化铝胶生理盐水稀释疫苗。用体重 18~22g（30~35 日龄）小鼠 10 只，各皮下注射疫苗 0.2ml（含 1/50 头份），观察 14 日。小鼠精神状态、被毛、行动均应正常，且应不出现由疫苗引起的局部或全身不良反应。

4.3.2 用猪检验 按瓶签注明头份，用 20% 氢氧化铝胶生理盐水稀释疫苗。用 2~4 月龄健康易感猪 2 头，各皮下注射疫苗 10 个推荐使用剂量（头份），观察 21 日，除体温可升高超过基础体温 1°C 或减食等症状（均应在 3 日内自行恢复）外，应无其他临床症状。

4.4 效力检验 按瓶签注明头份，用 20% 氢氧化铝胶生理盐水稀释疫苗。用 2~4 月龄健康易感猪 5 头，各皮下注射疫苗 1 个推荐使用剂量（头份），免疫后 14 日，连同对照 5 头猪，各静脉注射猪源马链球菌兽疫亚种菌强毒菌液 1MLD（活菌数不高于 1.6×10^7 CFU），观察 21 日。对照猪全部死亡，免疫猪应至少存活 4 头；或对照猪死亡 4 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、精神不振、关节炎等临床症状。

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“猪败血性链球菌病活疫苗制造及检验规程”及 2020 年版《中国兽药典》中收录的“猪败血性链球菌病活疫苗”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、培养特性、血清型鉴定、安全性、免疫原性、纯粹均参考了“猪败血性链球菌病活疫苗制造及检验规程”标准，并对文字进行规范性修改；代次限定按统一格式表述。

3. 影响产品质量的主要生产用原辅料为缓冲肉汤培养基，应符合附录 3009 要求。

4. 成品检验中纯粹检验、活菌计数、安全检验、效力检验、剩余水分测定、真空度均参考了 2020 年版《中国兽药典》标准；活菌计数明确了检验用稀释液和固体培养基平板；成品安全检验中小鼠数量与菌种安全性小鼠数量保持一致，规定不少于 10 只。

5. 审核人提出两点意见：（1）在菌种及成品的安全性项中，建议增加对照组。起草小组认为鉴于没有具体试验数据支撑，暂不增加；（2）鉴于原 2020 年版《中国兽药典》中收录的“猪败血性链球菌病活疫苗”标准中 ST171 株为兽疫亚种链球菌，而农业农村部公告第 130 号中 SS2-RD 株系猪链球菌 2 型，两者分群及血清型均有明显差别，建议 2025 年版《中国兽药典》中收录的“猪败血性链球菌病活疫苗”按兽疫链球菌 ST171 版式独立起草。

6. 依据 2023 年第 6 次会议审查意见，做如下修改：（1）根据《兽医微生物学》（第六版）及《伯杰氏细菌鉴定系统手册》调整了该菌的学名。（2）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。（3）依据兽用生物制品检验操作规程（SYZY076-2022 细菌类生物制品安全检验-小鼠检验法操作规程），在菌种安全性细化了存活的判定标准。（4）在菌种项下增加了毒力返强要求，鉴于本菌研究历史久远，仅参考了原农业部公告第 683 号“兽用生物制品菌（毒、虫）种毒力返强试验技术指导原则”要求粗略性

制定。

7. 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) 成品活菌计数。d) 菌株免疫原性及成品效力检验发病及保护标准。（2）鉴于 2020 年版《中国兽药典》及 2000 年版《兽用生物制品规程》中，免疫原性及成品效力检验中免疫及对照攻毒猪均采用 4 头，而且发病或保护标准均不低于 3 头（即 75%）。根据会议讨论意见，建议动物数量参照农业农村部公告第 130 号（免疫攻毒法，免疫组 5 头，对照组 5 头）调整，将动物数量由 4 头提升为 5 头。鉴于本菌株免疫原性良好，为便于统计，经征询近 3 年批签发数量较多的部分企业意见，将发病或保护标准定为 80%，表述调整为“对照猪全部死亡，免疫猪应至少存活 4 头；或对照猪死亡 4 头，免疫猪应全部存活”。（3）参考原 2000 年版《兽用生物制品规程》中涉及的效力检验菌株 CVCC1903（原 C74-37 株）和 CVCC562（原 C74-63 株）毒力标准，CVCC1903（原 C74-37 株）1ml 静脉注射的致死剂量为 $1.6 \times 10^3 \sim 1.6 \times 10^6$ CFU；CVCC562（原 C74-63 株）1ml 静脉注射的致死剂量约 2×10^3 CFU，基于通用原则，确定 1MLD（活菌数不高于 1.6×10^7 CFU）。（4）参考 2020 年版《中国兽药典》中【活菌计数】及【用法与用量】标准，结合会议讨论意见，补充菌种安全性检验、免疫原性检验中用猪口服免疫途径相关内容。（5）鉴于成品检验中用猪皮下注射进行安全检验，不良反应观察更直观；用猪皮下注射进行效力检验，采用 1/2 头份免疫即可产生良好保护力，经讨论，考虑普适性，确定为 1 个推荐使用剂量（头份），成品检验中暂不增加口服免疫途径。（6）鉴于对照组与免疫组仔猪，经静脉注射马链球菌兽疫亚种菌强毒后，对照猪死亡（80%以上死亡）与免疫猪不死亡（80%以上存活），本身就是极显著差异，可直接证明该苗免疫效力。根据相关企业提供结果，在观察期末，免疫攻毒存活猪不出现体温升高、精神不振、关节炎等临床症状，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。经讨论进一步完善标准表述为“对照猪全部死亡，免疫猪应至少存活 4 头；或对照猪死亡 4 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、精神不振、关节炎等临床症状。”