

鸡毒支原体活疫苗（标准草案）

Jiduzhiyuant Huoyimiao

Mycoplasma gallisepticum Vaccine, Live

1 定义 本品系用鸡毒支原体弱毒株接种适宜培养基培养，收获培养物加入适宜稳定剂，经冷冻真空干燥制成。用于预防鸡毒支原体引起的鸡慢性呼吸道疾病。

2 菌种

2.1 形态特性 菌体经姬姆萨或瑞氏染色后，镜下观察，呈多形态，有细小球杆状、圆形等。

2.2 培养特性 接种 CM 改良培养基培养 48~72 小时，培养液呈均匀浑浊，能发酵葡萄糖产酸；在 CM 改良固体培养基上生长，呈圆形且中央突起的菌落。

2.3 代谢抑制试验 将菌株培养物稀释到 10^3 CCU/ml，取稀释好的菌液分别接种 1ml 含 10% 阳性血清和不含阳性血清的 CM 改良液体培养基中各 1ml，充分混匀。同时设空白对照 2 支，其中一支加入 10% 阳性血清，另一支不加。置 37℃ 培养 10 日，空白对照不变色，加阳性血清组培养物颜色应不出现明显改变，不加阳性血清组培养物颜色应出现明显变化。

2.4 安全性 用 8 日龄 SPF 鸡 10 只，经推荐使用途径（点眼或喷雾）接种，每种途径接种不少于 10 只，每只接种不少于 10 个推荐使用剂量，同时设对照鸡 5 只，观察 21 日。应无呼吸道临床症状；解剖，观察出现气囊病变的鸡应不超过 3 只，且每只气囊病变记分不应高于 1 分。

气囊病变记分标准：

0 分 气囊正常，清洁透明而薄。

1 分 气囊稍有增厚和轻度浑浊，局部有少数灰色或黄色渗出物斑点。

2 分 部分气囊区域有可见的灰色和黄色渗出物，同时伴有气囊中度增厚。

3 分 大片气囊布满黄色干酪样渗出物。

4 分 整个气囊布满黄色干酪样渗出物，气囊失去弹性。

2.5 毒力返强 用 10~20 日龄 SPF 鸡 5 只，气囊注射培养物 1 个推荐使用最大剂量，接种传代，每次传代注射 5 只，攻毒后 10 日，无菌采集气囊、鼻咽拭子等，处理后作为继代接种物，连传 5 代，将重新分离的鸡毒支原体最后一次传代接种 SPF 鸡 10 只，逐日观察至少 21 日，应无呼吸道临床症状。解剖后进行气囊病变记分，第五代的气囊病变平均分应不高于第一代气囊病变平均分。

2.6 免疫原性 用 10 日龄 SPF 鸡 10 只，按 1 个最小免疫剂量点眼，接种后 20 日采血，进行血清平板凝集试验，应 8 只以上为阳性反应；接种 30 日后，连同对照鸡 10 只，各气囊注射鸡毒支原体强毒株培养物（含 10^9 CCU/ml），攻毒后观察有无呼吸道症状，14 日后剖检，观察气囊病变并进行病变记分。对照鸡应至少 7 只出现 2 分及以上气囊病变，免疫鸡的平均气囊保护率应不低于 60%。

平均气囊保护率计算公式：

$$\text{平均气囊保护率} = \frac{\text{对照鸡平均气囊病变分数} - \text{试验鸡平均气囊病变分数}}{\text{对照鸡平均气囊病变分数}} \times 100\%$$

2.7 无菌检验 按附录 3306 页进行检验，应无菌生长。

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 CM 改良培养基等），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 代谢抑制试验 按菌种代谢抑制试验进行检验，应符合规定。
- 4.2 活菌计数 按瓶签注明羽份加 CM 改良液体培养基稀释后，测定 CCU。每头份活菌计数应不低于说明书标示量。
- 4.3 安全检验 按瓶签注明的羽份用无菌生理盐水或注射用水溶解，用 10~20 日龄 SPF 鸡 10 只，各点眼接种疫苗 10 羽份，同时设同条件对照鸡 5 只，观察 21 日。应无呼吸道临床症状，解剖，观察出现气囊病变的鸡应不超过 3 只，且每只气囊病变记分不应高于 1 分。
- 4.4 效力检验 按瓶签注明的羽份用无菌生理盐水或注射用水溶解，并稀释到 1 羽份/0.05ml，用 10~20 日龄 SPF 鸡 10 只，各点眼接种疫苗 1 羽份，接种后 30 日，连同对照鸡 10 只，各气囊注射鸡毒支原体强毒株培养物（含 10^9 CCU/ml），攻毒后 14 日观察有无呼吸道症状，14 日后剖检，观察气囊病变并进行病变记分。对照鸡应至少 7 只出现 2 分及以上气囊病变，免疫鸡的平均气囊保护率应不低于 60%。
- 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. 本标准系在 2020 年版《中国兽药典》中收载的“鸡毒支原体活疫苗”基础上以及参考了我国批准的鸡毒支原体疫苗制品标准：包括 2 个灭活疫苗、1 个活疫苗注册标准的基础上起草而成。本标准属于首次起草。

名称	批准的公告号
鸡毒支原体、传染性鼻炎（A、C 型）二联灭活疫苗	2006.12.12 农业部公告第 780 号
鸡毒支原体油乳剂灭活疫苗	2003.09.02 农业部公告 297 号
鸡毒支原体活疫苗	1998.12.14 农牧函〔1998〕38 号

2. 菌种标准参照了批准注册的试行规程。

3. 培养特性 MG 的生化特性为发酵葡萄糖，不水解精氨酸，不利用尿素。但目前市面上没有可以用于其生化鉴定的生化管，实践中，使用自己配制的培养基加减成分进行鉴定，且生化结果也不是关键指标，故将其归入“培养特性”。

4. 基础菌种 基础菌种代次限定 按照通用体例中的规定为：除另有规定外，从基础菌种到生产菌种传代一般不超过 5 代。

5. 原 CM2 培养基，改为 CM 改良培养基 制备牛心浸出液做鸡毒支原体培养基质量不易控制，工艺繁琐，参考 ATCC 鸡毒支原体培养基改进了疫苗用菌株的培养基配方及配制方法，其中除菌方式按照现在的配制方式，由之前的高压灭菌改为过滤除菌。相关培养基及制备方法已在日常工作中进行了验证。

6. 活菌计数中，原标准只规定了稀释成 100 羽份/3ml 的疫苗的 CCU，换算成每羽份疫苗的 CCU 含量，方便比较和评价。同时，由于支原体活菌计数采用颜色变化单位即 CCU 计数法，与其他细菌不同，故不采用附录 3405 的方法。

7. 效力检验 与原 2020 年版药典收载的鸡毒支原体活疫苗标准相比，将喷雾攻毒法更

改为气囊注射攻毒法。气囊注射具有易定位、易操作和接种量更准确的优点，气囊注射法攻毒优于气雾免疫法攻毒。用气囊注射法代替气雾攻毒法可行。

8. 依据 2025 年年度 2 次会议审查意见，又参照了 2 个国外鸡毒支原体活疫苗的产品质量标准进行了如下修改：1.“2 菌种”项下：（1）代谢抑制试验中，明确了培养物的准确 CCU 含量。（2）安全性中，接种日龄改为推荐使用最小日龄，即 8 日龄，接种途径涵盖了点眼和喷雾，剂量改为 10 个推荐使用剂量；接种后的观察时间，参考 MG6/85 株，改为 21 日。根据批准的 3 个产品的质量，修改判定标准为无呼吸道症状，无气囊病变。（3）按照意见将“毒力返强”接种鸡的数量定为 5 只，删除了“应至少有 7 只评分不超过 1 分”的描述，改为“第 5 代与第 1 代毒对鸡的致病性进行比较，气囊病变平均分应不高于第 1 代”。（4）修改完善“免疫原性”标准。接种剂量为最小免疫剂量；攻毒毒株删除 R 株的描述，改为强毒株。2.“4 成品检验”项下：（1）将“纯粹检验”修改为“代谢抑制试验”。（2）参照拟定的菌种安全性标准修改完善了“安全检验”项。（3）参照拟定的菌种免疫原性标准修改完善了“效力检验”项。