

## 猪支原体肺炎灭活疫苗（J 株）等 5 种 兽药产品质量标准、说明书和标签

### 一、猪支原体肺炎灭活疫苗（J 株）质量标准、说明书和内包装 标签

#### （一）猪支原体肺炎灭活疫苗（J 株）质量标准

##### 猪支原体肺炎灭活疫苗（J 株）

Zhuzhiyuanti Feiyan Miehuoyimiao（J Zhu）

Swine Mycoplasma Hyopneumoniae Vaccine, Inactivated（Strain J）

本品系用猪肺炎支原体 J 株接种于适宜培养基培养，收获培养物，经甲醛溶液灭活后，加适宜佐剂乳化制成。用于预防由肺炎支原体引起的猪支原体肺炎（猪喘气病）。

【性状】 玫瑰红至棕褐色，澄明至稍微浑浊的水溶液。

【无菌检验】 按现行《中国兽药典》附录或《欧洲药典》进行检验，应无菌生长。

【装量检查】 按现行《中国兽药典》附录进行检验，应符合规定。

【安全检验】 下列方法任择其一。

（1）豚鼠安全检验：用 350~600g 健康豚鼠 2 只，各肌肉或皮下注射疫苗 2ml，观察 7 日。在观察期内，若出现因疫苗接种导致的不良反应，判该批疫苗为不合格；若出现非疫苗因素导致的不良反应，判本次检验结果无效，应重检，若不进行重检，则判该批疫苗为不合格。

（2）猪安全检验：用 3~5 周龄健康易感猪（见附注 1）2 头，各颈部肌肉注射 2 头份（2ml），观察 14 日。在观察期内，仔猪不应出现疫苗导致的局部或全身反应；若在观察期内出现疫苗引起的不良反应，则判该批疫苗为不合格；若出现非疫苗导致的不良反应，判本次试验结果不确定，可重检一次，若不进行重检，则判该批疫苗为不合格。

【效力检验】 按附注 2 方法进行检验，与参考疫苗相比较，被检疫苗相对效力值应大于或等于 1.0。

【甲醛含量测定】 按现行《中国兽药典》附录进行测定，甲醛溶液含量应不超过 0.2%。

【规格】 （1）10 头份/瓶 （2）50 头份/瓶 （3）100 头份/瓶 （4）250 头份/瓶

(5) 500 头份/瓶

【贮藏与有效期】 2~8℃保存，有效期为 24 个月。

【生产企业】 勃林格殷格翰动物保健(美国)有限公司(Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., St. Joseph, Missouri 64506 U.S.A, US Vet. Lic. No. 124)

## 附注

### 1 健康易感猪标准

1.1 试验猪来源 所有试验动物血清支原体肺炎抗体滴度应等于或小于 1:20; 未免疫过猪支原体疫苗且没有相关疾病史的猪。

1.2 试剂盒 猪支原体肺炎抗体诊断试剂盒 [IDEXX HerdChek™产品或由勃林格殷格翰动物保健(美国)有限公司提供的其他类似产品]。

2 相对效力检验法 对猪支原体肺炎灭活疫苗样品，按照下列方法进行抗原浓度相对效力测定。

#### 2.1 仪器和设备

2.1.1 酶联洗板机

2.1.2 酶联读数仪

2.1.3 96 孔平底 EIA 微量酶联反应板 (Greiner microlon 或其他类似产品)

2.1.4 8 道、12 道移液器和其他移液器

2.1.5 移液器吸头

2.1.6 37℃培养箱

2.1.7 4℃冰箱

2.1.8 封口膜

2.1.9 聚丙烯试验管

2.1.10 试剂槽

2.1.11 定时器或闹钟

2.1.12 37℃水浴锅

#### 2.2 试剂

2.2.1 10 倍 Tris 缓冲液 (10 倍 TBS) (最终 pH 为 7.2~7.4): 取 Tris 碱 24.2 g、氯化钠 87.66 g, 加注射用水或同等试剂 800ml, 溶解, 再加浓盐酸 (36.5~38.0%) 15.0ml, 调 pH 值至 7.3, 定容至 1L。其最终 pH 值为 7.2~7.4。在室温, 20~25℃下保存, 若无污染,

有效期为 6 个月。

2.2.2 TBS 包被缓冲液：取 10 倍 TBS100ml，加入到 900ml 注射用水或同等试剂中。在室温，20~25℃下保存，若无污染，有效期为 6 个月。（注：最好新鲜配制后当天使用）

2.2.3 TTBS 洗涤缓冲液：共需约 2~4L（具体量取决于酶联反应板的数量）。若需配制 1L 溶液，取 10 倍 TBS100ml、吐温-20 0.5ml，加入到 850ml 注射用水或同等试剂中，充分混匀直至溶解，再用注射用水或同等试剂调至 1L。在室温，20~25℃下保存，若无污染，有效期为 6 个月。（注：最好新鲜配制后当天使用）

2.2.4 阻断液：若需配制 1L 溶液，取 10 倍 TBS100ml、脱脂奶粉 50g、吐温-20 0.5ml，加入到 850ml 注射用水或同等试剂中，充分混匀直至溶解，再用注射用水或同等试剂调至 1L。在 2~8℃下保存，若无污染，有效期为 14 日。（注：最好新鲜配制后当天使用）

2.2.5 结合稀释液：若需配制 1L 溶液，取照射过的猪血清 50ml、脱脂奶粉 50g、吐温-20 0.5ml、10 倍 TBS100ml，加入到 800ml 注射用水或同等试剂中，充分混匀直至溶解，用注射用水或同等试剂调至 1L。在 2~8℃下保存，若无污染，有效期为 14 日。（注：最好新鲜配制后当天使用）

2.2.6 捕获抗体：将在-70±10℃保存的经蛋白 G 亲和层析纯化兔抗肺炎支原体多克隆抗体融化后，在 2~8℃下保存。2~8℃下有效期为 1 个月。

2.2.7 单克隆抗体：将在-70±10℃保存的肺炎支原体 P44 单克隆抗体，IgG<sub>2</sub>融化后，在 2~8℃下保存。2~8℃下有效期为 1 个月。

2.2.8 结合物：辣根过氧化物酶标记山羊抗鼠 IgG（H+L），在-20±2℃下有效期为 12 个月。

2.2.9 底物：SureBlue TMB 微孔过氧化物酶底物（1-成分），按说明书要求保存，有效期为自收到之日起 1 年。

2.2.10 终止液：1mol/L 盐酸，按说明书要求保存。

2.2.11 阴性对照：将在-70±10℃保存的接种前培养基融化后，在 2~8℃下保存。2~8℃下有效期为 1 个月。

2.2.12 阳性对照样品：将在-70±10℃保存的阳性对照融化后，在 2~8℃下保存。2~8℃下有效期为 1 个月。

2.2.13 参考样品：在-70℃±10℃下保存的参考样品融化后，在 2~8℃下保存。2~8℃下有效期为 1 个月。

## 2.3 试验方法

- 2.3.1 将样品冷冻在 $-70^{\circ}\text{C}\pm 10^{\circ}\text{C}$ 。
- 2.3.2 向第 1 列和第 12 列的每孔内加 TBS $100\mu\text{l}$ ，作为空白试剂对照。
- 2.3.3 用 TBS 将捕获抗体稀释至 1:200。向每个剩余孔（第 2~11 列）内加稀释的捕获抗体  $100\mu\text{l}$ 。
- 2.3.4 孵育前用封口膜封酶联反应板。在  $37^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$  孵育 1 小时 $\pm 5$  分钟。孵育时不要将酶联反应板堆叠。
- 2.3.5 用 TTBS 洗板 3 次。用酶联洗板机进行洗板，设定参数为  $250\mu\text{l}$ /次、3 次、浸泡时间为 0。最后一次洗板后，在吸水纸上拍打。
- 2.3.6 向每孔内加阻断液  $250\mu\text{l}$ 。密封酶联反应板。
- 2.3.7  $2\sim 8^{\circ}\text{C}$  下孵育过夜（16~24 小时），孵育时可把酶联反应板堆叠。
- 2.3.8 第二天，将对照样品和参考样品置于  $37^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$  孵育，直到融解，使用前涡旋。
- 2.3.9 用洗涤缓冲液洗板 3 次。用酶联洗板机进行洗板，设定参数为  $250\mu\text{l}$ /次、3 次、浸泡时间为 0。最后一次洗板后，在吸水纸上拍打。
- 2.3.10 向每孔内加阻断液  $100\mu\text{l}$ 。
- 2.3.11 向第 11 列 A~D 排每孔内加阴性对照  $100\mu\text{l}$ ，将其内容物用移液器吹打至少 5 次，混匀；然后弃掉  $100\mu\text{l}$ 。向第 11 列 E~H 排每孔内加阳性对照  $100\mu\text{l}$ ，将其内容物用移液器吹打至少 5 次，混匀；然后弃掉  $100\mu\text{l}$ 。详见加样示意图。
- 2.3.12 向 A2、A3、A4 每孔内加参考样品  $100\mu\text{l}$ 。
- 2.3.13 向 A 排的 5~7 列或 8~10 列每孔内加待检疫苗样品  $100\mu\text{l}$ ，每个样品重复 3 个孔。详见加样示意图。
- 2.3.14 从第 2 列到第 10 列，2 倍系列稀释。将 A 排相应孔中内容物用移液器上下吹打至少 5 次，混匀，吸取每孔中的内容物各  $100\mu\text{l}$  转移至 B 排相应孔内，用多道移液器上下吹打至少 5 次，依此类推，直至 H 排。用移液器从 H 排相应孔中内容物吸弃  $100\mu\text{l}$ ，保持各稀释度的体积一致。密封酶联反应板。
- 2.3.15 将酶联反应板置于  $37^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$  孵育 1 小时 $\pm 5$  分钟。
- 2.3.16 孵育开始后初期用结合稀释液将结合物稀释至适宜浓度。充分混匀，然后在  $37^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$  下孵育。
- 2.3.17 用洗涤缓冲液洗板 3 次。用酶联洗板机进行洗板，设定参数为  $250\mu\text{l}$ /次、3 次、浸泡时间为 0。最后一次洗板后，在吸水纸上拍打。
- 2.3.18 向第 1 列和第 12 列每孔内加  $37^{\circ}\text{C}$  或室温下已预温阻断液  $100\mu\text{l}$ 。

2.3.19 向剩余每孔内加入用 37℃或室温下已预温阻断液稀释至适宜浓度的单克隆抗体 100μl。

2.3.20 37℃±2℃温育 1 小时±5 分钟。

2.3.21 用洗涤缓冲液洗板 3 次。用酶联洗板机进行洗板，设定参数为 250μl/次、3 次、浸泡时间为 0。最后一次洗板后，在吸水纸上拍打。

2.3.22 向第 1 列和 12 列每孔内加入 37℃或室温下已预温结合稀释液 100μl。

2.3.23 向第 2~11 列每孔内加入按步骤 16 制备的 37℃或室温下已预温稀释结合物溶液 100μl。

2.3.24 将酶联反应板在 37℃±2℃下孵育 1 小时±5 分钟。

2.3.25 吸取一份 SureBlue 底物，放入一个不透明的高密度聚乙烯容器中，然后在 37℃±2℃下孵育 1 小时±5 分钟。

2.3.26 用洗涤缓冲液洗板 3 次。用酶联洗板机进行洗板，设定参数为 250μl/次、3 次、浸泡时间为 0。最后一次洗板后，在吸水纸上拍打。

2.3.27 向每孔加入底物溶液 100μl。

2.3.28 室温孵育 10 分钟±15 秒钟。

2.3.29 打开酶联读数仪，进行仪器自检。

2.3.30 向每孔加入 1mol/L HCl100μl 终止底物反应。

2.3.31 立即用酶联读数仪在 450nm 波长的吸收光下读取吸收值，并保存数据。

2.3.32 用 RelPot 4.0 或类似方法确定待检疫苗对参考疫苗的相对效力 (RP 值)。

加样示意图

抗原	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
稀释	空白	参考 疫苗	参考 疫苗	参考 疫苗	待检 样品 1	待检 样品 1	待检 样品 1	待检 样品 2	待检 样品 2	待检 样品 2	对照	空白
A	空白	1: 2	1: 2	1: 2	1: 2	1: 2	1: 2	1: 2	1: 2	1: 2	阴性对照 1: 2	空白
B	空白	1: 4	1: 4	1: 4	1: 4	1: 4	1: 4	1: 4	1: 4	1: 4	阴性对照 1: 2	空白
C	空白	1: 8	1: 8	1: 8	1: 8	1: 8	1: 8	1: 8	1: 8	1: 8	阴性对照 1: 2	空白

D	空白	1: 16	1: 16	1: 16	1: 16	1: 16	1: 16	1: 16	1: 16	1: 16	1: 16	阴性对照 1: 2	空白
E	空白	1: 32	1: 32	1: 32	1: 32	1: 32	1: 32	1: 32	1: 32	1: 32	1: 32	阳性对照 1: 2	空白
F	空白	1: 64	1: 64	1: 64	1: 64	1: 64	1: 64	1: 64	1: 64	1: 64	1: 64	阳性对照 1: 2	空白
G	空白	1: 128	1: 128	1: 128	1: 128	1: 128	1: 128	1: 128	1: 128	1: 128	1: 128	阳性对照 1: 2	空白
H	空白	1: 256	1: 256	1: 256	1: 256	1: 256	1: 256	1: 256	1: 256	1: 256	1: 256	阳性对照 1: 2	空白

## 2.4 合格标准

### 2.4.1 有效试验的标准

阳性对照的吸收值应为 0.542~1.578。

阴性对照的吸收值应 $\leq$ 0.081。

经 RelPot 4.0 或类似方法分析，测得的试验结果应符合有效线性关系或为有效 RP 值。

### 2.4.2 无效试验的标准

若检验结果不符合上述标准中的一项或多项，则该试验为无效试验，应用相同样品进行重检。对重检结果及样品检验结果的判定应按附注 3 进行。

### 2.4.3 合格批次的标准

符合上述的所有有效标准。

待检疫苗的 RP 值应 $\geq$ 1.0。

若试验有效，而 RP 值 $<$ 1.0，可按照附注 3 进行重检。

## 3 对重检结果及样品检验结果的判定

对于灭活产品，采用有效期内的参考疫苗，利用平行线性免疫测定方法或其它类似方法，来评估相对抗原浓度（效力）。根据此方法进行检验的结果，只有满足最低效力的批次产品可放行，对于不满足最低效力的批次产品不可放行。

“结果可疑”表示“结果不清楚”，是指可以获得有效的参考疫苗工作曲线和待检疫苗工作曲线，但二者缺乏平行关系。由于不能确定产品的效力检验结果是否合格，不能以此作为放行依据，如果第 1 次检验结果为“结果可疑”，可以重检 3 次。根据表 1 中的重检情况

确定产品的效力检验结果。若不重检，则判该批疫苗不合格。

“不合格”是指在第1次检验中产生了有效的平行线，但疫苗效力低于最低标准。至少应进行2次重检，但不超过3次。根据表2中的重检情况确定产品的效力检验结果。若不重检，则判该批疫苗不合格。

按照下述规定对产品做出评估

表1 第1次检验结果为可疑（因缺乏平行关系，结果不清楚）时允许重检情况

第1次检验	第2次检验 (重检1)	第3次检验 (重检2)	第4次检验 (重检3)	报告
曲线不平行， 结果可疑	参考疫苗和待检 疫苗曲线有效且 平行，效力等于或 大于最低标准	不需要	不需要	合格
曲线不平行， 结果可疑	曲线不平行，结果 可疑	参考疫苗和待检 疫苗曲线有效且 平行，效力等于或 大于最低标准	不需要	合格
曲线不平行， 结果可疑	曲线不平行，结果 可疑	曲线不平行，结果 可疑	参考疫苗和待检疫 苗曲线有效且平 行，效力等于或大 于最低标准	合格
曲线不平行， 结果可疑	参考疫苗和待检 疫苗曲线有效且 平行，效力低于最 低标准	参考疫苗和待检 疫苗曲线有效且 平行，效力等于或 大于最低标准	参考疫苗和待检疫 苗曲线有效且平 行，效力等于或大 于最低标准	合格
曲线不平行， 结果可疑	参考疫苗和待检 疫苗曲线有效且 平行，效力低于最 低标准	参考疫苗和待检 疫苗曲线有效且 平行，效力低于最 低标准	不需要	不合格

曲线不平行， 结果可疑	参考疫苗和待检 疫苗曲线有效且 平行，效力低于最 低标准	参考疫苗和待检 疫苗曲线有效且 平行，效力等于或 大于最低标准	参考疫苗和待检疫 苗曲线有效且平 行，效力低于最低 标准	不合格
曲线不平行， 结果可疑	参考疫苗和待检 疫苗曲线有效且 平行，效力低于最 低标准	曲线不平行，结果 可疑	不需要	不合格
曲线不平行， 结果可疑	参考疫苗和待检 疫苗曲线有效且 平行，效力低于最 低标准	参考疫苗和待检 疫苗曲线有效且 平行，效力等于或 大于最低标准	曲线不平行，结果 可疑	不合格
曲线不平行， 结果可疑	曲线不平行，结果 可疑	曲线不平行，结果 可疑	曲线不平行，结果 可疑	不合格

表 2 第 1 次检验结果为  $RP < 1.0$  时允许重检情况

第 1 次检验	第 2 次检验 (重检 1)	第 3 次检验 (重检 2)	第 4 次检验 (重检 3)	报告
参考疫苗和待检 疫苗曲线有效且 平行，效力低于最 低标准	参考疫苗和待检疫 苗曲线有效且平 行，效力等于或大 于最低标准	参考疫苗和待检疫 苗曲线有效且平 行，效力等于或大 于最低标准	不需要	合格
参考疫苗和待检 疫苗曲线有效且 平行，效力低于最 低标准	参考疫苗和待检疫 苗曲线有效且平 行，效力等于或大 于最低标准	参考疫苗和待检疫 苗曲线有效且平 行，效力低于最低 标准	不需要	不合格
参考疫苗和待检 疫苗曲线有效且 平行，效力低于最 低标准	参考疫苗和待检疫 苗曲线有效且平 行，效力等于或大 于最低标准	结果可疑，参考疫 苗和待检疫苗曲线 有效但不平行	参考疫苗和待检疫 苗曲线有效且平 行，效力等于或大	合格



第 1 次检验	第 2 次检验 (重检 1)	第 3 次检验 (重检 2)	第 4 次检验 (重检 3)	报告
低标准	于最低标准		于最低标准	
参考疫苗和待检疫苗曲线有效且平行,效力低于最低标准	结果可疑,参考疫苗和待检疫苗曲线有效但不平行	参考疫苗和待检疫苗曲线有效且平行,效力等于或大于最低标准	参考疫苗和待检疫苗曲线有效且平行,效力等于或大于最低标准	合格
参考疫苗和待检疫苗曲线有效且平行,效力低于最低标准	结果可疑,参考疫苗和待检疫苗曲线有效但不平行	参考疫苗和待检疫苗曲线有效且平行,效力等于或大于最低标准	参考疫苗和待检疫苗曲线有效且平行,效力低于最低标准	不合格
参考疫苗和待检疫苗曲线有效且平行,效力低于最低标准	结果可疑,参考疫苗和待检疫苗曲线有效但不平行	结果可疑,参考疫苗和待检疫苗曲线有效但不平行	不需要	不合格
参考疫苗和待检疫苗曲线有效且平行,效力低于最低标准	结果可疑,参考疫苗和待检疫苗曲线有效但不平行	参考疫苗和待检疫苗曲线有效且平行,效力等于或大于最低标准	结果可疑,参考疫苗和待检疫苗曲线有效但不平行	不合格
参考疫苗和待检疫苗曲线有效且平行,效力低于最低标准	参考疫苗和待检疫苗曲线有效且平行,效力等于或大于最低标准	结果可疑,参考疫苗和待检疫苗曲线有效但不平行	结果可疑,参考疫苗和待检疫苗曲线有效但不平行	不合格
参考疫苗和待检疫苗曲线有效且平行,效力低于最低标准	参考疫苗和待检疫苗曲线有效且平行,效力低于最低标准	不需要	不需要	不合格
参考疫苗和待检	结果可疑,参考疫苗	参考疫苗和待检疫苗	不需要	不合格

第 1 次检验	第 2 次检验 (重检 1)	第 3 次检验 (重检 2)	第 4 次检验 (重检 3)	报告
疫苗曲线有效且平行, 效力低于最低标准	苗和待检疫苗曲线有效但不平行	苗曲线有效且平行, 效力低于最低标准		
参考疫苗和待检疫苗曲线有效且平行, 效力低于最低标准	参考疫苗和待检疫苗曲线有效且平行, 效力等于或大于最低标准	结果可疑, 参考疫苗和待检疫苗曲线有效但不平行	参考疫苗和待检疫苗曲线有效且平行, 效力低于最低标准	不合格

## (二) 猪支原体肺炎灭活疫苗 (J 株) 说明书

### 【兽药名称】

**兽用**

通用名 猪支原体肺炎灭活疫苗 (J 株)

商品名 梦福莱

英文名 Swine Mycoplasma Hyopneumoniae Vaccine, Inactivated (Strain J)

汉语拼音 Zhuzhiyuanti Feiyan Miehuoyimiao (J Zhu)

**【主要成分与含量】** 疫苗中含有灭活的猪肺炎支原体; 与参考疫苗相比较, 相对效力值应大于或等于 1.0。

**【性状】** 玫瑰红至棕褐色, 澄明至稍微浑浊的水溶液。

**【作用与用途】** 用于预防由猪肺炎支原体引起的猪支原体肺炎 (猪喘气病)。免疫期为至少 26 周。

**【用法与用量】** 3 周龄或以上猪, 每头肌肉注射 1 头份 (1ml)。对种猪群, 每半年重复免疫接种一次。

**【不良反应】** 本品接种后可能会发生过敏反应, 可使用肾上腺素进行治疗。

**【注意事项】** (1) 不要使疫苗冻结。

(2) 一旦打开, 应尽快用完。

(3) 停药期为 21 日。

**【规格】** (1) 10 头份/瓶; (2) 50 头份/瓶; (3) 100 头份/瓶; (4) 250 头份/瓶; (5) 500 头份/瓶。

【包装】 1 瓶/盒

【贮藏与有效期】 2~8℃保存；有效期为 24 个月。

【《进口兽药注册证书》证号】

【生产企业】 勃林格殷格翰动物保健(美国)有限公司(Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.,  
St. Joseph, Missouri 64506 U.S.A, US Vet. Lic. No. 124)

仅在兽医指导下使用

### (三) 猪支原体肺炎灭活疫苗 (J 株) 内包装标签

梦福莱

猪支原体肺炎灭活疫苗 (J 株)

**兽用**

10 (50、100、250、500) 头份/瓶

《进口兽药注册证书》证号：

批 号：

生产日期：

【作用与用途】 用于预防由猪肺炎支原体引起的猪支原体肺炎 (猪喘气病)。免疫期为至少 26 周。

【用法与用量】 3 周龄或以上猪，每头肌肉注射 1 头份 (1ml)。对种猪群，每半年重复免疫接种一次。

【注意事项】 不要使疫苗冻结；一旦打开，应尽快用完；停药期为 21 日；本品接种后可能会发生过敏反应，可使用肾上腺素进行治疗。

【贮藏与有效期】 2~8℃保存，有效期为 24 个月。

【生产企业】 勃林格殷格翰动物保健(美国)有限公司(Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.,  
St. Joseph, Missouri 64506 U.S.A, US Vet. Lic. No. 124)

仅在兽医指导下使用

## 二、犬瘟热、腺病毒病、细小病毒病、副流感四联活疫苗—犬钩端螺旋体病（犬型、黄疸出血型）二价灭活疫苗质量标准、说明书和内包装标签

### （一）犬瘟热、腺病毒病、细小病毒病、副流感四联活疫苗—犬钩端螺旋体病（犬型、黄疸出血型）二价灭活疫苗质量标准

#### 犬瘟热、腺病毒病、细小病毒病、副流感四联活疫苗—犬钩端螺旋体病 （犬型、黄疸出血型）二价灭活疫苗

Quanwenre Xianbingdubing Xixiaobingdubing Fuliugan Silian Huoyimiao —  
Quangouduanluoxuantibing (Quanxing Huangdanchuxuexing) Erjia Miehuyimiao  
Live Vaccine against Canine Distemper, Adenovirus Type 2, Parvovirus, Parainfluenza Virus and  
Inactivated Vaccine Against Canine Leptospirosis (Canicola+ Icterohaemorrhagiae)

本品活疫苗部分系用致弱的犬瘟热病毒（CDV）Lederle 株接种 VERO 细胞、犬腺病毒 2 型（CAV-2）曼哈顿株接种 MDCK 细胞、犬细小病毒（CPV）C-780916 株接种 CRFK 细胞、副流感病毒（CPIV）Penn 103/70 株接种 MDCK 细胞，收获病毒培养物，混合后加适宜稳定剂，经冷冻真空干燥制成；灭活疫苗部分系用犬型钩端螺旋体和黄疸出血型钩端螺旋体分别接种适宜培养基，收获培养物，加甲醛灭活后混合制成。用于预防犬瘟热、犬腺病毒病、犬细小病毒病、犬副流感和犬钩端螺旋体病。

**【性状】** 活疫苗部分为黄白色海绵状疏松团块，加灭活疫苗部分后迅速溶解；灭活疫苗部分为微带乳光的均 悬液。

**【无菌检验】** 按现行《中国兽药典》附录进行检验，活疫苗部分和灭活疫苗部分均应无菌生长。

**【支原体检验】** 按现行《中国兽药典》附录进行检验，活疫苗部分应无支原体生长。

**【外源病毒检验】** 按现行《中国兽药典》附录进行检验，活疫苗部分应无外源病毒污染。

**【安全检验】** 用体重 4~5 kg 的比格犬 2 只，各皮下接种 2 头份灭活疫苗部分和 8ml PBS 溶液稀释的 10 头份活疫苗的混合溶液，分 2~3 个点进行注射。连续观察 14 日，应不出现由疫苗引起的局部或全身不良反应。个别犬在接种部位会出现短暂的瘙痒现象，视为正

常反应。

**【抗原含量测定】** (1) 犬瘟热病毒部分 按附注 1 进行, 每头份病毒含量应不低于  $10^{4.0}$ TCID<sub>50</sub>。

(2) 犬腺病毒 2 型部分 按附注 2 进行, 每头份病毒含量应不低于  $10^{4.0}$ TCID<sub>50</sub>。

(3) 犬细小病毒部分 按附注 3 进行, 每头份病毒含量应不低于  $10^{6.0}$ TCID<sub>50</sub>。

(4) 犬副流感病毒部分 按附注 4 进行, 每头份病毒含量应不低于  $10^{5.0}$ TCID<sub>50</sub>。

(5) 犬型钩端螺旋体和黄疸出血型钩端螺旋体部分 按附注 5 采用 PCR 方法进行, 每头份菌体数量应各不少于  $10^9$  个。

**【甲醛残留量测定】** 按现行《中国兽药典》附录进行测定, 灭活疫苗部分的甲醛残留量应不超过 0.05%。

**【剩余水分测定】** 按现行《中国兽药典》附录进行测定, 活疫苗部分的水分应不超过 2%。

**【pH 值测定】** 用 pH 计进行测定, 灭活疫苗部分的 pH 值应为 6~8。

**【规格】** 活疫苗部分: 1 头份/瓶; 灭活疫苗部分: 1ml (1 头份)/瓶。

**【贮藏与有效期】** 2~8℃ 保存, 有效期为 18 个月。

**【生产企业】** 西班牙海博莱生物大药厂

附注: 1 犬瘟热病毒 (CDV) TCID<sub>50</sub> 的测定

#### 1.1 材料

1.1.1 待检疫苗 (活疫苗部分)

1.1.2 疫苗稀释液: Invitrogen 公司的 MEM Glasgow 培养基。

1.1.3 工作缓冲液: PBS (pH 值 7.1~7.5)+ 吐温-20 (1L PBS 中添加 0.55ml 吐温-20)。

PBS (pH 值 7.1~7.5) 配方

NaCl 8.0g

KCl 0.2g

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.15g

KHPO<sub>4</sub> 0.2g

纯水 加至 1000ml

1.1.4 已知浓度的抗血清 (CDV 抗血清), 临用前用工作缓冲液稀释至工作浓度。

1.1.5 结合物 (Prot A\*PO), 临用前用工作缓冲液稀释至 1:1000。

1.1.6 工作培养基: Carbazole stock (咔唑) 溶液 (具有呼吸和皮肤毒性, 试验人员在

操作时应当佩戴手套、口罩和护目装置！使用后的培养基应放入特定容器中进行处理），配置方法如下：

培养基缓冲液	5.0ml
Carbazole stock 溶液	0.3ml
过氧化氢 30 % (w/v) PRS (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	5.0μl

1.1.7 固定剂（80%丙酮，4℃保存）。

1.1.8 96孔平底细胞培养板。

1.1.9 CO<sub>2</sub>培养箱。

1.1.10 倒置显微镜。

1.1.11 VERO 细胞（培养条件：37℃下培养 4~5 日）

## 1.2 方法

1.2.1 将活疫苗部分用 MEM Glasgow 培养基进行 10 倍系列稀释后，取 8 个稀释度（10<sup>-1</sup> 到 10<sup>-8</sup>）接种 96 孔细胞板，每个稀释度接种 8 个孔（A 到 H），每孔 100μl。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	CC	CC
A										
B										
C										
D										
E										
F										
G										
H										

CC=细胞对照孔，每孔加入 MEM Glasgow 培养基 100 μl。

注意：加入疫苗稀释液的顺序应从最高稀释度至低稀释度。

1.2.2 设细胞对照孔 16 个，每孔加入 MEM Glasgow 培养基 100μl。

1.2.3 从细胞对照孔开始，每孔中加入 100μl 细胞悬液（约含 0.2×10<sup>6</sup> 个细胞/ml）。

1.2.4 置 CO<sub>2</sub> 培养箱中，在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 下培养 4~5 日。

1.2.5 弃去细胞板中的培养基，用工作缓冲液轻轻洗涤 1 次。

1.2.6 每孔加入 100  $\mu$ l 固定剂 (80%丙酮), 室温下固定 10~15 分钟。

1.2.7 弃去固定剂, 用工作缓冲液洗涤 2 次。建议: 不要让细胞板完全干燥, 除非立即加入抗血清。

1.2.8 把细胞板中的液体拍干后, 立即加入工作浓度的 CDV 抗血清, 每孔 50 $\mu$ l, 并放入湿盒中, 置 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时。

1.2.9 弃去细胞板中的液体, 并用工作缓冲液洗涤 3 次。

1.2.10 加入已稀释的结合物, 每孔 50 $\mu$ l, 放入湿盒中, 置 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时。

1.2.11 弃去细胞板中的液体, 并用工作缓冲液洗涤 3 次。

1.2.12 加入工作培养基, 每孔 50 $\mu$ l。在室温下培养, 直到颜色加深 (大约需要观察 10~20 分钟)。建议用倒置显微镜来检查是否出现了着色的细胞。

1.2.13 弃去细胞板中的液体, 每孔加入 100 $\mu$ l 洗涤液 (PBS) 进行洗涤和终止反应。

1.2.14 弃去细胞板中的液体, 在倒置显微镜下读取数据, 计算出现着色细胞的孔数, 填写相应的检验记录单。

应特别观察细胞的形态, 当孔中出现深红色细胞时判为阳性; 当孔中没有出现着色的细胞时判为阴性。(即使只观察到 1 个着色的细胞也应判为阳性。)

1.2.15 按 Kärber 法计算半数感染量, 滴度以 TCID<sub>50</sub>/头份表示。

## 2 犬腺病毒 2 型 (CAV-2) TCID<sub>50</sub> 的测定

### 2.1 材料

2.1.1 待检疫苗 (活疫苗部分)

2.1.2 疫苗稀释液: Invitrogen 公司的 MEM Glasgow 培养基。

2.1.3 工作缓冲液: PBS (pH 值 7.1~7.5) + 吐温-20 (1L PBS 中添加 0.55ml 吐温-20)。

2.1.4 已知浓度的抗血清 (CAV-2 抗血清), 临用前用工作缓冲液稀释至工作浓度。

2.1.5 结合物 (Prot A\*PO), 临用前用工作缓冲液稀释至 1:1000。

2.1.6 工作培养基: Carbazole stock 溶液 (具有呼吸和皮肤毒性, 试验人员在操作时应当佩戴手套、口罩和护目装置! 使用后的培养基应放入特定容器中进行处理), 配置方法如下:

培养基缓冲液	5.0ml
Carbazole stock 溶液	0.3ml
过氧化氢 30% (w/v) PRS (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	5.0 $\mu$ l

2.1.7 固定剂 (80%丙酮, 4 $^{\circ}$ C 保存)。

2.1.8 96 孔平底细胞培养板。

2.1.9 CO<sub>2</sub> 培养箱。

2.1.10 倒置显微镜。

2.1.11 MDCK 细胞（培养条件：37℃下培养 4~5 日）

## 2.2 方法

2.2.1 将活疫苗部分用 MEM Glasgow 培养液进行 10 倍系列稀释后，取 8 个稀释度（10<sup>-1</sup> 到 10<sup>-8</sup>）接种 96 孔细胞板，每个稀释度接种 8 个孔（A 到 H），每孔 100μl。加入疫苗稀释液的顺序应从最高稀释度至低稀释度。

2.2.2 设细胞对照孔 16 个，每孔加入 MEM Glasgow 培养基 100μl。

2.2.3 从细胞对照孔开始，每孔中加入 100μl 细胞悬液（约含 0.2×10<sup>6</sup> 个细胞/ml）。

2.2.4 置 CO<sub>2</sub> 培养箱中，在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 下培养 4~5 日。

2.2.5 弃去细胞板中的培养基，用工作缓冲液轻轻洗涤 1 次。

2.2.6 每孔加入 100 μl 固定剂（80%丙酮），室温下固定 10~15 分钟。

2.2.7 弃去固定剂，用工作缓冲液洗涤 2 次。建议：不要让细胞板完全干燥，除非立即加入抗血清。

2.2.8 把细胞板中的液体拍干后，立即加入工作浓度的 CAV-2 抗血清，每孔 50μl，并放入湿盒中，置 37℃孵育 1 小时。

2.2.9 弃去细胞板中的液体，并用工作缓冲液洗涤 3 次。

2.2.10 加入结合物，每孔 50μl，放入湿盒中，置 37℃孵育 1 小时。

2.2.11 弃去细胞板中的液体，并用工作缓冲液洗涤 3 次。

2.2.12 加入工作培养基，每孔 50μl。在室温下培养，直到颜色加深。建议用倒置显微镜来检查是否出现了着色的细胞。

2.2.13 弃去细胞板中的液体，每孔加入 100μl 洗涤液（PBS）或蒸馏水进行洗涤和终止反应。

2.2.14 弃去细胞板中的液体，在倒置显微镜下读取数据，计算出现着色细胞的孔数，填写相应的检验记录单。

应特别观察细胞的形态，当孔中出现深红色细胞时判为阳性；当孔中没有出现着色的细胞时判为阴性。（即使只观察到 1 个着色的细胞也应判为阳性。）

2.2.15 按 Kärber 法计算半数感染量，滴度以 TCID<sub>50</sub>/头份表示。

## 3 犬细小病毒（CPV）TCID<sub>50</sub> 的测定



### 3.1 材料

3.1.1 待检疫苗（活疫苗部分）

3.1.2 疫苗稀释液：Invitrogen 公司的 MEM Glasgow 培养基。

3.1.3 工作缓冲液：PBS（pH 值 7.1~7.5）

3.1.4 已知浓度的抗血清（CPV 抗血清），临用前用工作缓冲液稀释至工作浓度。

3.1.5 结合物（Prot A\*PO），临用前用工作缓冲液稀释至 1:1000。

3.1.6 工作培养基：Carbazole stock 溶液（具有呼吸和皮肤毒性，试验人员在操作时应当佩戴手套、口罩和护目装置！使用后的培养基应放入特定容器中进行处理），配置方法如下：

培养基缓冲液	5.0ml
Carbazole stock 溶液	0.3ml
过氧化氢 30% (w/v) PRS (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	5.0μl

3.1.7 固定剂（甲醇）。

3.1.8 96 孔平底细胞培养板。

3.1.9 CO<sub>2</sub> 培养箱。

3.1.10 倒置显微镜。

3.1.11 CRFK 细胞

### 3.2 方法

3.2.1 将活疫苗部分用 MEM Glasgow 培养液进行 10 倍系列稀释后，取 8 个稀释度（10<sup>-1</sup> 到 10<sup>-8</sup>）接种 96 孔细胞板，每个稀释度接种 8 个孔（A 到 H），每孔 100μl。加入病毒悬液的顺序应从最高稀释度至低稀释度。

3.2.2 设细胞对照孔 16 个，每孔加入 MEM Glasgow 培养基 100μl。

3.2.3 从细胞对照孔开始，每孔中加入 100μl 细胞悬液（约含 0.2×10<sup>6</sup> 个细胞/ml）。

3.2.4 置 CO<sub>2</sub> 培养箱中，在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 下培养 4~5 日。

3.2.5 弃去细胞板中的培养基，然后用工作缓冲液轻轻洗涤 1 次。

3.2.6 每孔加入 100μl 固定剂（甲醇），室温下固定 10 分钟（不要超过）。

3.2.7 弃去固定剂，用工作缓冲液洗涤 2 次。建议：不要让细胞板完全干燥，除非立即加入抗血清。

3.2.8 把细胞板中的液体拍干后，立即加入工作浓度的 CPV 抗血清，每孔 50μl，并放入湿盒中，置 37℃ 孵育 1 小时。

3.2.9 弃去细胞板中的液体，并用工作缓冲液洗涤 3 次。

3.2.10 加入已稀释的结合物，每孔 50 $\mu$ l，放入湿盒中，置 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时。

3.2.11 弃去细胞板中的液体，并用工作缓冲液洗涤 3 次。

3.2.12 加入工作培养基，每孔 50 $\mu$ l。在室温下培养，直到颜色加深。建议用倒置显微镜来检查是否出现了着色的细胞。

3.2.13 弃去细胞板中的液体，每孔加入 100 $\mu$ l 洗涤液 (PBS) 或蒸馏水进行洗涤和终止反应。

3.2.14 弃去细胞板中的液体，在倒置显微镜下读取数据，计算出现着色细胞的孔数，填写相应的检验记录单。

应特别观察细胞的形态，当孔中出现深红色细胞时判为阳性；当孔中没有出现着色的细胞时判为阴性。（即使只观察到 1 个着色的细胞也应判为阳性。）

3.2.15 按 Kärber 法计算半数感染量，滴度以 TCID<sub>50</sub>/头份表示。

#### 4 犬副流感病毒 (CPIV) TCID<sub>50</sub> 的测定

##### 4.1 材料

4.1.1 待检疫苗 (活疫苗部分)

4.1.2 疫苗稀释液: Invitrogen 公司的 MEM Glasgow 培养基。

4.1.3 工作缓冲液: PBS (pH 值 7.1~7.5)+ 吐温-20 (1L PBS 中添加 0.55ml 吐温-20)。

4.1.4 已知浓度的抗血清 (CPIV 抗血清)，临用前用工作缓冲液稀释至工作浓度。

4.1.5 结合物 (Prot A\*PO)，临用前用工作缓冲液稀释至 1:1000。

4.1.6 工作培养基: Carbazole stock 溶液 (具有呼吸和皮肤毒性，试验人员在操作时应当佩戴手套、口罩和护目装置！使用后的培养基应放入特定容器中进行处理)，配置方法如下：

培养基缓冲液	5.0ml
Carbazole stock 溶液	0.3ml
过氧化氢 30% (w/v) PRS (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	5.0 $\mu$ l

4.1.7 固定剂 (80%丙酮，4 $^{\circ}$ C 保存)。

4.1.8 96 孔平底细胞培养板。

4.1.9 CO<sub>2</sub> 培养箱。

4.1.10 倒置显微镜。

4.1.11 MDCK 细胞 (培养条件: 37 $^{\circ}$ C 下培养 4~5 日)

## 4.2 方法

4.2.1 将活疫苗部分用 MEM Glasgow 培养液进行 10 倍系列稀释后,取 8 个稀释度( $10^1$  到  $10^8$ )接种 96 孔细胞板,每个稀释度接种 8 个孔(A 到 H),每孔 100  $\mu$ l。加入疫苗稀释液的顺序应从最高稀释度至低稀释度。

4.2.2 设细胞对照孔 16 个,每孔加入 MEM Glasgow 培养基 100 $\mu$ l。

4.2.3 从细胞对照孔开始,每孔中加入 100 $\mu$ l 细胞悬液(约含  $0.2 \times 10^6$  个细胞/ml)。

4.2.4 置 CO<sub>2</sub> 培养箱中,在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 下培养 4~5 日。

4.2.5 弃去细胞板中的培养基,用工作缓冲液轻轻洗涤 1 次。

4.2.6 每孔加入 100 $\mu$ l 固定剂(80%丙酮),室温下固定 10~15 分钟。

4.2.7 弃去固定剂,用工作缓冲液洗涤 2 次。建议:不要让细胞板完全干燥,除非立即加入抗血清。

4.2.8 把细胞板中的液体拍干后,立即加入工作浓度的 CPIV 抗血清,每孔 50 $\mu$ l,并放入湿盒中,置 37℃ 孵育 1 小时。

4.2.9 弃去细胞板中的液体,并用工作缓冲液洗涤 3 次。

4.2.10 加入已稀释的结合物,每孔 50 $\mu$ l,放入湿盒中,置 37℃ 孵育 1 小时。

4.2.11 弃去细胞板中的液体,并用工作缓冲液洗涤 3 次。

4.2.12 加入工作培养基,每孔 50 $\mu$ l。在室温下培养,直到颜色加深。建议用倒置显微镜来检查是否出现了着色的细胞。

4.2.13 弃去细胞板中的液体,每孔加入 100 $\mu$ l 洗涤液(PBS)或蒸馏水进行洗涤和终止反应。

4.2.14 弃去细胞板中的液体,在倒置显微镜下读取数据,计算出现着色细胞的孔数,填写相应的检验记录单。

应特别观察细胞的形态,当孔中出现深红色细胞时判为阳性;当孔中没有出现着色的细胞时判为阴性。(即使只观察到 1 个着色的细胞也应当判为阳性。)

4.2.15 按 Kärber 法计算半数感染量,滴度以 TCID<sub>50</sub>/头份表示。

## 5 钩端螺旋体含量测定

### 5.1 材料

5.1.1 待检疫苗(灭活疫苗部分)

5.1.2 非模板对照品(NTC)(无 DNA 酶/RNA 酶的水)

5.1.3 用于制备标准曲线的样品(已知浓度的钩端螺旋体)

5.1.4 PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent® (购自 Applied Biosystems)

5.1.5 PCR 基础混合液

5.1.6 上下游引物

5.1.7 探针 A 和探针 B

5.1.8 实时 PCR 测定仪

5.1.9 96 孔 PCR 反应板

5.2 方法

5.2.1 DNA 分离

5.2.1.1 将 1 ml 待检疫苗 (灭活疫苗部分) 转移到 1.5 ml Eppendorf 管中。

5.2.1.2 以 16000g 离心 3 分钟, 弃去上清液。

5.2.1.3 加入 200µl PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent® (Applied Biosystems), 上下颠倒混匀 10~30 秒, 直到沉淀完全分散开。

5.2.1.4 在 105°C 下 (水浴) 作用 10 分钟。

5.2.1.5 以 16000g 离心 3 分钟, 将 100µl 上清液 (DNA) 转移到一个新的 1.5 ml Eppendorf 管中。

5.2.1.6 将 DNA 溶液进行 10 倍稀释: 10µl DNA 溶液中加入 90µl 无 DNA 酶/RNA 酶的水。作为 DNA 工作样品。

5.2.1.7 将 DNA 工作样品保存在 -20°C 下, 直到进行实时 PCR 时再取出。

5.2.1.8 对每种待检疫苗样品和所有用作制备标准曲线的样品重复 5.2.1.1 到 5.2.1.7 的操作。同时设一份非模板对照, 即对无 DNA 酶/RNA 酶的水进行 5.2.1.1 到 5.2.1.7 相同的 DNA 提取程序。

5.2.2 实时 PCR

5.2.2.1 PCR 基础混合液, 按下表 (单位为 µl), 在 1.5ml Eppendorf 管中将基础混合液各成分 (除 DNA) 进行混合:

	1 份样品的体积
无 DNA 酶/RNA 酶的水	2.68
待用的基础混合液	10
TaqMan 探针 A (黄疽出血型)	0.80

TaqMan 探针 B (犬型)	0.80
上游引物	0.36
下游引物	0.36
最终的基础混合液的容量	15

5.2.2.2 取基础混合液，加至 96 孔板的各孔中，每孔 15  $\mu$ l。

5.2.2.3 将待检疫苗 DNA 工作样品、用作制备标准曲线的 DNA 工作样品以及非模板对照分别加入适当的孔中，每个样品加 2 孔，每孔 5  $\mu$ l。

5.2.2.4 用塑料薄膜胶带将 96 孔板密封后，放入实时 PCR 测定仪中。

\*在仪器软件上标出含待检疫苗样品的孔、用作制备标准曲线的孔以及非模板对照孔。输入每种标准样品的钩端螺旋体的量。仪器同时测定各孔中荧光染料 FAM (对探针 A) 和荧光染料 VIC (对探针 B) 的信号。非对照模板孔中应没有任何 DNA 扩增信号。

5.2.2.5 按照以下温度和循环条件进行程序操作：

50℃作用 2 分钟

95℃作用 10 分钟

以下温度和作用时间做 40 个循环：

95℃作用 15 秒

60℃作用 1 分钟

5.2.2.6 一旦循环结束，将待检验品的结果与标准曲线相比较，计算每种钩端螺旋体的个数。

## (二) 犬瘟热、腺病毒病、细小病毒病、副流感四联活疫苗—犬钩端螺旋体病 (犬型、黄疸出血型) 二价灭活疫苗说明书

**兽用**

### 【兽药名称】

通用名 犬瘟热、腺病毒病、细小病毒病、副流感四联活疫苗—犬钩端螺旋体病 (犬型、黄疸出血型) 二价灭活疫苗

商品名 喜贝多

英文名 Live Vaccine against Canine Distemper, Adenovirus Type 2, Parvovirus, Parainfluenza Virus and Inactivated Vaccine against Canine Leptospirosis (Canicola +

Icterohaemorrhagiae)

汉语拼音 Quanwenre Xianbingdubing Xixiaobingdubing Fuliugan Silian Huoyimiao —  
Quangouduanluoxuantibing (Quanxing Huangdanchuxuexing) Erjia Miehuoyimiao

**【主要成分与含量】** 每头份疫苗中含犬瘟热病毒 Lederle 致弱株至少  $10^{4.0}$ TCID<sub>50</sub>；含犬腺病毒 2 型曼哈顿致弱株至少  $10^{4.0}$ TCID<sub>50</sub>；含犬细小病毒 C-780916 致弱株至少  $10^{6.0}$ TCID<sub>50</sub>；含副流感病毒 Penn 103/70 致弱株至少  $10^{5.0}$ TCID<sub>50</sub>；黄疸出血型钩端螺旋体 L-9 株和犬型钩端螺旋体 L-2 株，灭活前菌体数量均不低于  $10^9$  个。

**【性状】** 活疫苗部分为黄白色海绵状疏松团块，加灭活疫苗部分后迅速溶解；灭活疫苗部分为微带乳光的均一悬液。

**【作用与用途】** 用于预防犬瘟热、犬腺病毒病、犬细小病毒病、犬副流感和犬钩端螺旋体病。

**【用法与用量】** 用灭活疫苗部分溶解活疫苗部分，皮下注射。每次 1 头份 (1ml)。对 8 周龄或 8 周龄以上犬首次免疫，推荐连续接种 2 次，每次间隔 3 周，以后每年加强接种 1 次。

**【不良反应】** 接种疫苗后，个别犬可能会出现过敏反应，可使用抗组胺药治疗。

**【注意事项】** (1) 本疫苗仅用于接种健康犬；禁止接种怀孕母犬。

(2) 疫苗严禁冻结，使用前应先恢复至室温 (15~25℃)。

(3) 疫苗瓶启封后，应在 1 小时内用完，未用完的疫苗及废弃材料应按规定销毁。

(4) 接种时，应按常规无菌操作；注射器和针头不能使用化学方法消毒。

(5) 如果动物处于某些传染性疾病的潜伏期、有肠道寄生虫感染、处于运输或环境应激状态下，或者未按说明书进行接种，均可能引起免疫失败。

**【规格】** (1) 活疫苗部分：1 头份/瓶 (2) 灭活疫苗部分：1ml/瓶

**【包装】** 10 头份 (20 瓶) / 盒

**【贮藏与有效期】** 2~8℃ 保存，有效期为 18 个月。

**【《进口兽药注册证书》证号】**

**【生产企业】** 西班牙海博莱生物大药厂 (LABORATORIOS HIPRA, S.A.)

地址：Avda. La Selva, 135. 17170 — Amer (Girona) Spain

**仅在兽医指导下使用**

(三) 犬瘟热、腺病毒病、细小病毒病、副流感四联活疫苗—犬钩端螺旋体病(犬型、黄疸出血型)二价灭活疫苗内包装标签

**兽用**

犬瘟热、腺病毒病、细小病毒病、副流感四联活疫苗—犬钩端螺旋体病  
(犬型、黄疸出血型)二价灭活疫苗

(活疫苗部分)

喜贝多

1 头份/瓶

《进口兽药注册证书》证号:

批 号:

有效期至:

**【用法与用量】** 用灭活疫苗部分溶解活疫苗部分,皮下注射。每次 1 头份(1ml)。

**【贮藏与有效期】** 2~8℃保存,有效期为 18 个月。

**【生产企业】** 西班牙海博莱生物大药厂(LABORATORIOS HIPRA, S.A.)

**仅在兽医指导下使用**

**兽用**

犬瘟热、腺病毒病、细小病毒病、副流感四联活疫苗—犬钩端螺旋体病  
(犬型、黄疸出血型)二价灭活疫苗

(灭活疫苗部分)

喜贝多

1ml/瓶

《进口兽药注册证书》证号:

批 号:

有效期至:

**【用法与用量】** 用灭活疫苗部分溶解活疫苗部分,皮下注射。每次 1 头份(1ml)。

**【贮藏与有效期】** 2~8℃保存,有效期为 18 个月。

**【生产企业】** 西班牙海博莱生物大药厂(LABORATORIOS HIPRA, S.A.)

**仅在兽医指导下使用**

### 三、鸡传染性喉气管炎活疫苗（Salsbury #146 株）质量标准、说明书和内包装标签

#### （一）鸡传染性喉气管炎活疫苗（Salsbury #146 株）质量标准

##### 鸡传染性喉气管炎活疫苗（Salsbury #146 株）

Ji Chuanranxinghouqiguanyan Huoyimiao (Salsbury #146 Zhu)

Fowl Laryngotracheitis Vaccine, Modified Live Virus (Strain Salsbury #146)

本品系用鸡传染性喉气管炎病毒 Salsbury #146 株接种 SPF 鸡胚培养，收获感染鸡胚绒毛尿囊膜和尿囊液，研磨后加适宜稳定剂，经冷冻真空干燥制成。用于预防鸡传染性喉气管炎。

**【性状】** 粉色至棕色海绵状疏松团块，易与瓶壁脱离，加入稀释液后迅速溶解。

**【无菌检验】** 按现行《中国兽药典》附录或 9CFR 进行检验，应无菌生长。

**【支原体检验】** 按现行《中国兽药典》附录或 9CFR 进行检验，应无支原体生长。

**【血凝性外源病毒检验】** 按现行《中国兽药典》附录或 9CFR 进行检验，应无血凝性外源病毒污染。

**【禽淋巴白血病毒检验】** 按现行《中国兽药典》附录或 9CFR 进行检验，应符合规定。

**【外源病毒检验】** 按现行《中国兽药典》附录或 9CFR 进行检验，应无外源病毒污染。

**【鉴别检验】** 将疫苗稀释至  $100\text{EID}_{50}/0.1\text{ml}$ ，分成 2 组。一组与等量抗鸡传染性喉气管炎病毒特异性血清（血清中和抗体效价应不低于 1:10）混合，另一组与等量生理盐水混合，置室温中和 1 小时后，经绒毛尿囊膜接种 11 日龄 SPF 鸡胚，中和组和病毒对照组各接种 5 枚，置  $37^{\circ}\text{C}$  孵育 120 小时。病毒对照组的鸡胚绒毛尿囊膜应有明显病斑，中和组的鸡胚绒毛尿囊膜应不出现病斑、鸡胚应不出现死亡。

**【安全检验】** 用 21~35 日龄 SPF 鸡 5 只，每只点眼或滴鼻接种疫苗 0.1ml（含 10 羽份），观察 14 日，应无异常反应，或在接种后 3~5 日有轻度眼炎或轻微咳嗽，但应在 2~3 日后恢复正常。

**【病毒含量测定】** 按瓶签注明羽份，将疫苗用生理盐水稀释至 5 羽份/ml，再继续作 10 倍系列稀释，取  $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$  3 个稀释度，经绒毛尿囊膜途径分别接种 10~11 日龄 SPF 鸡胚 5 枚，每胚 0.2 ml，置  $37^{\circ}\text{C}$  孵育 5 日，解剖，观察病变。鸡胚绒毛尿囊膜呈明显增厚，有灰色病斑时，判为感染，计算  $\text{EID}_{50}$ ，每羽份疫苗病毒含量应不低于  $10^{3.2}\text{EID}_{50}/\text{羽份}$ 。



【**剩余水分测定**】 按现行《中国兽药典》附录进行测定，应不超过4%。

【**真空度测定**】 按现行《中国兽药典》附录进行测定，应符合规定。

【**规格**】 (1) 1000羽份/瓶 (2) 5000羽份/瓶

【**贮藏与有效期**】 2~8℃保存，有效期为18个月。

【**生产企业**】 美国辉瑞动物保健公司查理斯堡生产厂 (Pfizer Animal Health)

附注：稀释液质量标准

本品系生理盐水中加入一定浓度的FD&C Green N° 3染色剂，经灭菌后制成。用于稀释鸡传染性喉气管炎活疫苗。

1 **性状** 外观 蓝色澄清液体。

**装量** 按现行《中国兽药典》附录进行检查，每瓶装量应为30~32ml。

2 **无菌检验** 按现行《中国兽药典》附录或9CFR进行检验，应无菌生长。

3 **pH测定** 按现行《中国兽药典》附录进行测定，应为7.2±0.2。

4 **规格** 30ml/瓶

5 **贮藏与有效期** 室温避光保存，有效期为24个月。

6 **生产企业** 美国辉瑞动物保健公司查理斯堡生产厂 (Pfizer Animal Health)

## (二) 鸡传染性喉气管炎活疫苗 (Salsbury #146 株) 说明书

兽用

### 【兽药名称】

通用名 鸡传染性喉气管炎活疫苗 (Salsbury #146 株)

商品名 无

英文名 Fowl Laryngotracheitis Vaccine, Modified Live Virus (Strain Salsbury #146)

汉语拼音 Ji Chuanranxinghouqiguanyan Huoyimiao (Salsbury #146 Zhu)

【**主要成分与含量**】 含鸡传染性喉气管炎病毒 Salsbury #146 株至少为  $10^{3.2}$  EID<sub>50</sub>/羽份。

【**性状**】 粉色至棕色海绵状疏松团块，易与瓶壁脱离，加入稀释液后迅速溶解。

【**作用与用途**】 用于预防鸡传染性喉气管炎。

【**用法与用量**】 点眼接种。按瓶签注明羽份，用专用稀释液稀释，对4周龄或4周龄以上鸡进行接种。每只鸡选一侧眼，点眼1滴 (含1羽份)。

【**不良反应**】 接种后4日左右可能出现轻度结膜炎。个别情况下可能出现过敏反应。

【**注意事项**】 (1) 同一鸡舍中的鸡应同时进行接种。

- (2) 接种后 10~14 日内应限制人员在鸡舍间流动。
- (3) 疫苗稀释后应一次全部用完。
- (4) 屠宰前 21 日内禁止使用。
- (5) 疫苗中含有庆大霉素。
- (6) 疫苗瓶和未用完的疫苗应焚毁。

【规格】 (1) 1000 羽份/瓶 (2) 5000 羽份/瓶

【包装】 10 瓶/盒

【贮藏与有效期】 2~8℃保存, 有效期为 18 个月。

【《进口兽药注册证书》证号】

【生产企业】 美国辉瑞动物保健公司查理斯堡生产厂 (Pfizer Animal Health)

地址: 2000 Rockford Road, Charles City, Iowa 50616-9989, USA

**仅在兽医指导下使用**

(三) 鸡传染性喉气管炎活疫苗 (Salsbury #146株) 内包装标签

**兽用**

鸡传染性喉气管炎活疫苗 (Salsbury #146 株)

1000 (5000) 羽份/瓶

《进口兽药注册证书》证号:

批 号:

有效期至:

【作用与用途】 用于预防鸡传染性喉气管炎。

【贮藏与有效期】 2~8℃保存, 有效期为 18 个月。

【生产企业】 美国辉瑞动物保健公司查理斯堡生产厂

**仅在兽医指导下使用**

#### 四、鸡新城疫、传染性支气管炎、减蛋综合征三联灭活疫苗

(LaSota 株+M41 株+B8/78 株) 质量标准、说明书和内包装标签

(一) 鸡新城疫、传染性支气管炎、减蛋综合征三联灭活疫苗 (La Sota 株+M41 株+B8/78 株) 质量标准

##### 鸡新城疫、传染性支气管炎、减蛋综合征三联灭活疫苗

(La Sota 株+M41 株+B8/78 株)

Ji Xinchengyi Chuanranxingzhiqiguanyan Jiandanzhonghezheng Sanlian Miehuoyimiao (La Sota Zhu+M41 Zhu+B8/78 Zhu)

Newcastle Disease, Infectious Bronchitis and Egg Drop Syndrome Vaccine, Inactivated (Strain La Sota+Strain M41+Strain B8/78)

本品系用鸡新城疫病毒 La Sota 株和传染性支气管炎病毒 M41 株分别接种易感鸡胚培养, 收获感染鸡胚尿囊液, 经乙烯亚胺灭活并用甲醛溶液处理; 用减蛋综合征病毒 B8/78 株接种易感鸭胚培养, 收获感染鸭胚尿囊液, 经乙烯亚胺灭活。将三种抗原成份按比例混合, 加矿物油佐剂混合乳化制成。用于预防鸡新城疫、传染性支气管炎和减蛋综合征。

**【性状】** 外观 乳白色乳剂。

**剂型** 油包水型。取 2 支试管, 分别加入去离子水和 Marcol 52 油 5ml, 分别在水和油的表面滴加 0.5ml 待检疫苗, 轻轻振摇。疫苗应与 Marcol 52 油均匀混合, 而不与去离子水混合。如果不能明确确定是否混合, 应另取疫苗进行导电性测定, 其导电性应低于 5 $\mu$ S。

**稳定性** 取 3 支大小适宜的离心管, 分别加入待检疫苗 8ml, 以 3000r/min 离心 30 分钟。3 支离心管中的疫苗均应不分层。

**黏度** 按现行《中国兽药典》附录中旋转式黏度计测定法进行, 动力黏度应不超过 200mPa.s。

**【装量检查】** 按现行《中国兽药典》附录进行检验, 应符合规定。

**【无菌检验】** 按现行《中国兽药典》附录进行检验, 应无菌生长。

**【安全检验】** 用 2~4 周龄 SPF 鸡 10 只, 各皮下注射疫苗 1ml (2 羽份), 观察 21 日, 应不出现由疫苗引起的局部或全身不良反应。

**【灭活检验】** 用 9~11 日龄 SPF 鸡胚和易感鸭胚各 10 枚, 各尿囊腔接种疫苗 0.2ml, 37℃下孵化 7 日, 取出接种后 24 小时内死亡的鸡胚和鸭胚, 进行病毒检测, 如出现 ND、IB 和 EDS 病毒, 则判疫苗不合格。

分别收集接种 24 小时后死亡胚的尿囊液和接种后 7 日时活胚的尿囊液。用 9~11 日龄 SPF 鸡胚和易感鸭胚各 10 枚, 分别尿囊腔接种上述活胚尿囊液的混合物 0.2ml, 另用同来源 SPF 鸡胚和易感鸭胚各 10 枚, 分别尿囊腔接种上述死胚尿囊液的混合物 0.2ml, 继续孵化 5~6 日。取鸡胚(鸭胚)尿囊液, 用鸡红细胞进行 HA 检测。如果尿囊液无 HA 活性, 且在任一阶段检验中死亡的鸡胚(鸭胚)不超过 20%, 则判疫苗合格。如果在某一阶段中死亡的鸡胚(鸭胚)超过 20%, 则应重复该阶段的检验。重检后, 如果尿囊液无 HA 活性, 且在该检验中死亡的鸡胚(鸭胚)不超过 20%, 则判疫苗合格。

**【效力检验】** (1) 鸡新城疫部分 采用血清学方法进行检验, 结果不符合规定时, 可采用免疫攻毒法进行检验。

**血清学方法** 用 4 周龄 SPF 鸡 20 只, 各肌肉注射疫苗 1/50 羽份, 另用 SPF 鸡 10 只, 不接种, 作为对照。3 周后, 采集所有鸡的血清, 进行血凝抑制 (HI) 抗体效价测定。对照鸡 HI 抗体效价均应不高于 1:4, 免疫组鸡 HI 抗体效价几何平均值应不低于 1:16。

**免疫攻毒法** 用 4 周龄 SPF 鸡 3 组, 每组 20 只, 分别肌肉注射疫苗 1/25 羽份、1/50 羽份和 1/100 羽份, 另用 SPF 鸡 10 只, 不接种, 作为对照。3 周后, 对所有鸡肌肉接种鸡新城疫病毒强毒, 每只  $10^6$ ELD<sub>50</sub>。观察 21 日, 所有对照鸡应全部死亡, 计算 PD<sub>50</sub>, 每羽份疫苗应  $\geq 50$ PD<sub>50</sub>。

(2) 传染性支气管炎部分 用 4 周龄 SPF 鸡 20 只, 各皮下注射疫苗 1 羽份, 另用 SPF 鸡 5 只, 不接种, 作为对照。接种后第 5 周, 采集血清。用 IBV M41 株抗原检测 HI 抗体效价, 对照鸡 HI 抗体效价几何平均值应不高于 1:8, 免疫鸡 HI 抗体效价几何平均值应不低于 1:64。

(3) 减蛋综合征部分 用 4 周龄 SPF 鸡 20 只, 各皮下注射疫苗 1 羽份, 另用 SPF 鸡 5 只, 不接种, 作为对照, 接种后第 5 周, 采集血清。用 EDS 抗原检测 HI 抗体效价, 对照鸡 HI 抗体效价均应不高于 1:4, 免疫鸡 HI 抗体效价几何平均值应不低于 1:128。

**【甲醛、汞类防腐剂残留量测定】** 按现行《中国兽药典》附录进行测定, 甲醛残留量应不超过 150  $\mu$ g/ml (0.015%), 汞类防腐剂残留量应不超过 90  $\mu$ g/ml (0.009%)。

**【规格】** (1) 250 ml (500 羽份)/瓶 (2) 500 ml (1000 羽份)/瓶

**【贮藏与有效期】** 2~8℃保存, 有效期为 24 个月。

**【生产企业】** 匈牙利诗华—费拉西亚兽医生物制品有限公司

附注：1 传染性支气管炎病毒 M41 株抗原标准

本品系用传染性支气管炎病毒 M41 株制成。用于鸡传染性支气管炎血凝抑制试验。

1.1 性状 微黄白色海绵状疏松团块。

1.2 无菌检验 按现行《中国兽药典》附录进行检验，应无菌生长。

1.3 效价测定 按标识体积稀释后，HA 效价应 $\geq 1:128$ 。

1.4 特异性检验 取本品与 ND 阳性血清、EDS 阳性血清、SPF 鸡血清进行血凝抑制试验，HI 抗体效价应不高于 1:8。

1.5 规格 1ml / 瓶

1.6 贮藏与有效期 2~8℃保存，有效期为 120 个月。

## 2 传染性支气管炎血凝抑制试验操作方法

### 2.1 试验材料和工具

2.1.1 PBS 溶液 (PH 值 7~7.4)

2.1.2 3.8%枸橼酸钠溶液 (W/V)

2.1.3 血凝抗原：IBV HI 抗原 M-41 株

2.1.4 按照 2.2.1 部分制备的 0.5%红细胞悬液

2.1.5 96 孔 V 型微量滴定板

2.1.6 56℃水浴锅

2.1.7 12 通道加样器

2.1.8 微量振荡器

2.1.9 阳性对照血清：标准工作滴度为  $6 \log_2$

2.1.10 阴性对照血清

### 2.2 试验步骤

2.2.1 制备 0.5%鸡红细胞悬液 (RBC)

2.2.1.1 从至少 3 只 SPF 鸡 (3~4 周龄) 采血制备鸡红细胞悬液。

2.2.1.2 将血样加入 3.8%枸橼酸钠溶液，以 1500 rpm 离心 15 分钟，弃去上清液。再加入 30ml PBS 液用相同方法离心，此步骤重复 3 次。

2.2.1.3 将洗涤并沉淀后的红细胞用 PBS 液进行 200 倍稀释。

2.2.2 制备 4HAU 抗原工作液

2.2.2.1 向 96 孔微量滴定板中每孔加入 50  $\mu$ l 生理盐水。

2.2.2.2 在第一行设 4 个平行孔，每孔中加入 50  $\mu$ l 抗原，并设 1 个空白缓冲液对照孔。

2.2.2.3 用多通道移液器进行系列稀释，每次吸取 50 μl 混合液。

2.2.2.4 将 50 μl PBS 液和 50 μl 红细胞加入每个含有抗原稀释液的孔中，并加入空白缓冲液对照孔中。

2.2.2.5 振荡平板，在 4℃ 保持 60 分钟。

2.2.2.6 判定 将平板倾斜 45°，1 分钟内读取出现 100% 血凝的最高稀释度。

2.2.2.7 将此稀释度除以 4，获得理论工作稀释度。

2.2.3 血清的血凝抑制 (HI) 滴度测定

2.2.3.1 被检血清须在 56℃ 水浴灭活 30 分钟。

2.2.3.2 将 50 μl PBS 液加入每个板孔中。

2.2.3.3 将 50 μl 被检血清加入第一行的 1 至 10 孔。

2.2.3.4 将阳性对照血清加入第 11 孔，阴性对照血清加入第 12 孔。

2.2.3.5 系列稀释从第一行开始，每次移取 50 μl 混合液。

2.2.3.6 向每孔添加相同体积的 4HAU 抗原液。

2.2.3.7 振荡后使平板在 37℃ 作用 60 分钟。

2.2.3.8 将与抗原液等量的按第 2.2.1 部分制备的红细胞加入板孔中。

2.2.3.9 振荡平板后在室温作用 40 分钟。

2.2.3.10 判定 将平板倾斜 45°，1 分钟内读取没有发生血凝的血清最高稀释度。

2.2.3.11 如果上述方法不能获得最终滴度，将样品稀释 5 倍后重复试验。

2.2.3.12 阳性对照血清的 HI 抗体效价为 1:64~1:128 时试验有效。阴性对照血清的 HI 抗体效价应不高于 1:8。

(二) 鸡新城疫、传染性支气管炎、减蛋综合征三联灭活疫苗 (La Sota 株 + M41 株 + B8/78 株) 说明书

**兽用**

**【兽药名称】**

通用名 鸡新城疫、传染性支气管炎、减蛋综合征三联灭活疫苗 (La Sota 株 + M41 株 + B8/78 株)

商品名 无

英文名 Newcastle Disease, Infectious Bronchitis and Egg Drop Syndrome Vaccine, Inactivated (Strain La Sota + Strain M41 + Strain B8/78)

汉语拼音 Ji Xinchengyi Chuanranxingzhiqiguanyan Jiandanzonghezheng Sanlian

Miehuoyimiao (La Sota Zhu+M41 Zhu+B8/78 Zhu)

**【主要成分与含量】** 每羽份疫苗中含灭活的鸡新城疫病毒 La Sota 株, HI 抗体效价几何平均值不低于 1:16 或 $\geq 50\text{PD}_{50}$ ; 含灭活的鸡传染性支气管炎病毒 M41 株, HI 抗体效价几何平均值不低于 1:64; 含灭活的鸡减蛋综合征病毒 B8/78 株, HI 抗体效价几何平均值不低于 1:128。

**【性状】** 乳白色乳剂。

**【作用与用途】** 用于预防鸡新城疫、传染性支气管炎和减蛋综合征。

**【用法与用量】** 皮下或肌肉注射, 每只 0.5 ml。建议将本疫苗用于已经用新城疫和传染性支气管炎活疫苗进行过基础免疫的种鸡和蛋鸡, 开产前 3~4 周即 16~20 周龄时接种。

**【不良反应】** 注射部位可能会出现轻度肿胀, 一般在 2~3 周内自行消失。

**【注意事项】** (1) 使用前应将疫苗在室温 (15~25℃) 下放置 3~4 小时。

(2) 使用前和使用过程中应充分振摇疫苗瓶。

(3) 疫苗开封后, 应在 24 小时内用完。

(4) 接种时应采用常规无菌操作。

(5) 不要与其他疫苗或药物混合使用。

(6) 用过的疫苗瓶、器具和未用完的疫苗等应进行无害化处理。

**【规格】** (1) 250 ml/瓶 (2) 500 ml/瓶

**【包装】** 5 瓶/箱

**【贮藏与有效期】** 2~8℃保存, 有效期为 24 个月。

**【《进口兽药注册证书》证号】**

**【生产企业】** 匈牙利诗华—费拉西亚兽医生物制品有限公司 (CEVA - PHYLAXIA Veterinary Biologicals Co. Ltd.)

地址: 1107 Budapest, Szallas u.5. - Hungary

电话: (361) 2629505

**仅在兽医指导下使用**

(三) 鸡新城疫、传染性支气管炎、减蛋综合征三联灭活疫苗 (La Sota 株 + M41 株 + B8/78 株) 内包装标签

**兽用**

鸡新城疫、传染性支气管炎、减蛋综合征三联灭活疫苗  
(La Sota 株 + M41 株 + B8/78 株)

250 (500) ml/瓶

《进口兽药注册证书》证号:

批 号:

详见说明书。

有效期至:

**【贮藏与有效期】** 2~8℃保存, 有效期为 24 个月。

**【生产企业】** 匈牙利诗华—费拉西亚兽医生物制品有限公司

**仅在兽医指导下使用**

五、鸡肠炎沙门氏菌病活疫苗 (Sm24/Rif12/Ssq 株) 质量标准、  
说明书、内包装标签

(一) 鸡肠炎沙门氏菌病活疫苗 (Sm24/Rif12/Ssq 株) 质量标准

鸡肠炎沙门氏菌病活疫苗 (Sm24/Rif12/Ssq 株)

Ji Changyanshamenshijunbing Huoyimiao (Sm24/Rif12/Ssq zhu )

Salmonella Enteritidis Vaccine, Live (Strain Sm24/Rif12/Ssq)

本品系用致弱肠炎沙门氏菌 Sm24/Rif12/Ssq 株, 接种于适宜培养基培养, 收获培养物, 加入适宜稳定剂, 经冷冻真空干燥制成。用于预防鸡肠炎沙门氏菌感染。

**【性状】** 浅褐色海绵状疏松团块, 易与瓶壁脱离, 加稀释液后迅速溶解。

**【纯粹检验】** 按现行《中国兽药典》附录进行检验, 应纯粹。

**【鉴别检验】** (1) 血清学 取标准 I 级营养琼脂平板上 37℃需氧条件下的 24 小时疫苗菌株培养物, 分别与沙门氏菌特异性抗血清 O<sub>9</sub>、Hgm 进行混合做平板凝集试验; 同时, 与 3.5%NaCl 溶液混合做平板凝集试验作为阴性对照。出现肉眼可见的凝集现象, 判为阳性反应。阴性对照必须成立, 疫苗菌株培养物与沙门氏菌特异性抗血清 O<sub>9</sub>、Hgm 凝集反应均应为阳性。

(2) 菌株特性 按附注 1 进行, 疫苗菌株应在含有 200μg 链霉素/ml 营养琼脂培养基



和含有 200 $\mu\text{g}$  利福平/ml 营养琼脂培养基上生长，在含有 20 $\mu\text{g}$  红霉素/ml 的营养琼脂培养基上不生长。

(3) 回复突变 按附注 2 进行，取 5 个含有 30 $\mu\text{g}$  红霉素/ml 的标准 I 级营养琼脂平板上各涂抹 0.1ml 菌悬液（含  $10^8$ CFU）后共长出的菌落数应少于 5 个，判为合格。

**【活菌计数】** 按现行《中国兽药典》附录进行检验，每羽份活菌数应大于  $1.1 \times 10^8$ CFU。

**【安全检验】** 按瓶签注明羽份，用灭菌纯净水将疫苗进行适当稀释。取 1 日龄 SPF 鸡 10 只，每只喙囊灌注接种疫苗悬液 0.5ml（含 10 羽份），连同对照鸡 10 只，观察 21 日。试验组和对照组由非疫苗原因引起的死亡应不超过 1 只。接种鸡不出现肠炎沙门氏菌病临床症状（渐进性沉郁、闭眼、羽毛粗乱、腹泻），也没有因为接种疫苗而死亡，判为合格。

**【效力检验】**（代表批次检，其他批次用**【活菌计数】**代替）用 PBS 溶液（pH 值 7.2）将疫苗按瓶签注明羽份进行适当稀释，取 1 日龄 SPF 鸡 20 只，每只喙囊灌注接种疫苗 0.5ml（含 1 羽份）。免疫 4 周后，连同对照鸡 20 只，胸肌注射攻击肠炎沙门氏菌 SE K482/91 株，每只鸡  $3.0 \times 10^8$ CFU。观察 14 日，记录死亡情况。对照鸡应至少死亡 18 只，而免疫组的死亡鸡数应不超过 5 只。

**【剩余水分测定】** 按现行《中国兽药典》附录进行测定，应为 1%~4%。

**【真空度测定】** 按现行《中国兽药典》附录进行测定，应符合规定。

**【规格】** (1) 1000 羽份/瓶 (2) 2000 羽份/瓶

**【贮藏与有效期】** 2~8 $^{\circ}\text{C}$  保存，有效期为 24 个月。

**【生产企业】** 德国罗曼动物保健有限公司（Lohmann Animal Health GmbH & Co. KG）

**【附注】** 1 菌株特性检验

把分别含有 200 $\mu\text{g}$  链霉素/ml、200 $\mu\text{g}$  利福平/ml 和 20 $\mu\text{g}$  红霉素/ml 的 3 个标准 I 级营养琼脂平板划分为面积相等的两部分，并标记上待检疫苗和 SE K482/91 株。取标准 I 级营养琼脂平板上 37 $^{\circ}\text{C}$  条件下的 24 小时待检疫苗菌株培养物和 SE K482/91 株培养物，接种到有标记平板的相应位置上。同时，用不含抗生素的标准 I 级营养琼脂平板接种这些培养物作对照。在 37 $^{\circ}\text{C}$  下，需氧培养 16~24 小时。观察细菌生长情况。不含抗生素的琼脂平板上接种的培养物都应生长良好，在含有 200 $\mu\text{g}$  链霉素/ml 和 200 $\mu\text{g}$  利福平/ml 的琼脂平板上接种的疫苗菌株培养物应生长良好，在含有 20 $\mu\text{g}$  红霉素/ml 的琼脂平板上接种的疫苗菌株培养物应不生长，SE K482/91 株的生长状况应正好与疫苗菌株的相反。

## 2 回复突变检验

用生理盐水将标准 I 级营养琼脂平板上 37 $^{\circ}\text{C}$  条件下的 24 小时疫苗菌株培养物和 SE

K482/91 株培养物，分别制成  $10^9$ CFU/ml 的菌悬液。为了达到这个目的，取标准 I 级营养琼脂平板上 37℃ 条件下的 24 小时疫苗菌株培养物和 SE K482/91 株培养物，分别稀释到装有生理盐水的试管中。将随后出现的混悬液的浊度和 McFarland 标准第 5 号管进行比较；如果浊度不够，就添加一些相应的培养物；如果浊度太浓，需重新配制。

各取 0.1ml 疫苗菌株悬液涂抹到 5 个含有 30μg 红霉素/ml 的标准 I 级营养琼脂平板上，在 37℃ 下需氧培养 72 小时。同时，取 0.1ml SE K482/91 株菌悬液涂抹到 1 个同种培养基上，在相同条件下培养作对照。观察细菌生长情况。SE K482/91 株菌悬液在平板上应生长良好，5 个接种疫苗菌株悬液平板上的菌落总数应少于 5 个。

### 3 标准 I 级营养琼脂培养基

(Merckoplate<sup>®</sup>) 标准 I 级营养琼脂 (每 37g)

蛋白质陈	15.0g
酵母浸膏	3.0g
氯化钠	6.0g
(D+) 葡萄糖	1.0g
琼脂	12.0g

取 37g 标准 I 级营养琼脂 (Merckoplate<sup>®</sup>) 加热溶解于 1000ml 去离子水中，调节 pH 值至  $7.5 \pm 0.2$  (25℃)，分装于容器中，121℃ 高压灭菌 15 分钟。

## (二) 鸡肠炎沙门氏菌病活疫苗 (Sm24/Rif12/Ssq 株) 说明书

兽用

### 【兽药名称】

通用名 鸡肠炎沙门氏菌病活疫苗 (Sm24/Rif12/Ssq 株)

商品名 无

英文名 *Salmonella Enteritidis* Vaccine, Live (Strain Sm24/Rif12/Ssq)

汉语拼音 Ji Changyanshamenshijunbing Huoyimiao (Sm24/Rif12/Ssq zhu)

【主要成分与含量】 每羽份含有致弱肠炎沙门氏菌 Sm24/Rif12/Ssq 株  $> 1.1 \times 10^8$ CFU。

【性状】 浅褐色海绵状疏松团块，易与瓶壁脱离，加稀释液后迅速溶解。

【作用与用途】 用于预防鸡肠炎沙门氏菌感染。

【用法与用量】 每次接种 1 羽份/只。饮水：肉鸡——在 1 日龄时接种 1 次；蛋鸡和种鸡——在 1 日龄、6~8 周龄和 16~18 周龄时各接种一次。

用不含氯离子、金属离子及其它有害物质的新鲜凉水稀释疫苗。通常，对于1日龄鸡，1000羽份疫苗用1L水稀释，最高为20L/1000羽份。例如：1000只15日龄的鸡用15L水。在炎热的气候条件下或对体重大的品种来说，用水量可增加到30L/1000羽份。如果有条件，应使用水表准确测定所需水量。可在饮水中添加低脂肪（<1%）的脱脂奶粉（2~4g/L）或低脂肪的脱脂乳（至少2~4L/1000L水），混合均匀静置15分钟后加入疫苗，混匀后立即使用。也可在饮水中添加适宜的水质稳定剂，然后混入疫苗使用。

皮下注射：仅限用于替换蛋鸡和种鸡的第三次饮水免疫接种。接种前用无菌pH值为7.2的PBS溶液或生理盐水稀释疫苗，每只颈下部皮下注射0.5ml（含1羽份）。

**【不良反应】** 一般无可见的不良反应。

**【注意事项】** （1）仅用于接种健康鸡。

（2）每次免疫接种当日和前后3天内，不能使用对沙门氏菌有防治作用的化学药物。如果无法避免，必须重新接种。

（3）不要与其它疫苗混合使用。

（4）饮水使用时，要保证水线中不残留任何消毒剂、清洁剂。复融疫苗时，应戴上胶皮手套。在水面下开启疫苗瓶，防止形成疫苗气溶胶。处理完疫苗后，应消毒、清洗手部。

（5）稀释好的疫苗应在3小时内用完。由于鸡只饮水行为有所不同，免疫前可能有必要停水一定时间，以保证免疫期间所有鸡都能够饮到疫苗水。

（6）使用后的疫苗瓶、剩余的疫苗和稀释所用器具，应煮沸、焚烧或用适宜消毒剂浸泡消毒处理。

（7）禁止操作人员吸入疫苗。如果已经吞下疫苗，可服用环丙沙星等敏感抗菌素。

（8）人体接触接种鸡群的粪便后，要注意清洗、消毒接触部位。

（9）患有免疫抑制性疾病的人员，不要接触疫苗。

（10）观赏和纯系家禽慎用。

（11）屠宰前21日内禁用。

**【规格】** （1）1000羽份/瓶 （2）2000羽份/瓶

**【包装】** 10瓶/盒

**【贮藏与有效期】** 2~8℃保存，有效期为24个月。

**【《进口兽药注册证书》证号】**

**【生产企业】** 德国罗曼动物保健有限公司（Lohmann Animal Health GmbH & Co. KG）

地址 Heinz-Lohmann-Str. 4, 27472 Cuxhaven, Germany

电话 +49-(0)4721-747-0 传真 +49-(0)4721-747-377 网址 [www.lah.de](http://www.lah.de)

北京代表处电话 +86 10-84551497/2647/1436 传真 +86 10-84551496

**仅在兽医指导下使用**

(三) 鸡肠炎沙门氏菌病活疫苗 (Sm24/Rif12/Ssq 株) 内包装标签

**兽用**

**鸡肠炎沙门氏菌病活疫苗 (Sm24/Rif12/Ssq 株)**

1000 (2000) 羽份/瓶

《进口兽药注册证书》证号:

批 号:

有效期至:

**【作用与用途】** 用于预防鸡肠炎沙门氏菌感染。

**【用法与用量】** 每次接种 1 羽份/只。饮水: 肉鸡——在 1 日龄时接种 1 次; 蛋鸡和种鸡——在 1 日龄、6~8 周龄和 16~18 周龄时各接种一次。皮下注射: 仅限用于替换蛋鸡和种鸡的第三次饮水免疫接种, 接种前用无菌 pH 值为 7.2 的 PBS 溶液或生理盐水稀释疫苗, 每只颈下部皮下注射 0.5ml。

**【贮藏与有效期】** 2~8℃ 保存, 有效期为 24 个月。

**【生产企业】** 德国罗曼动物保健有限公司

**仅在兽医指导下使用**