

2010 年版兽药典三部增、修订品种

品名	中国兽药典(2010 年版三部)
<p>鸡马立克氏病活疫苗(CVI 988/Rispens 株)</p>	<p>[修订] 新增。</p> <p>鸡马立克氏病活疫苗 (CVI 988/Rispens 株)</p> <p>Ji Malikeshibing Huoyimiao (CVI 988/Rispens Zhu)</p> <p>Marek's Disease Vaccine, Live (Strain CVI 988/Rispens)</p> <p>本品系用鸡马立克氏病病毒 I 型 CVI 988/Rispens 株接种 SPF 鸡胚成纤维细胞, 经细胞培养, 收获感染细胞, 加入适宜冷冻保护液制成。用于预防鸡马立克氏病 (MD)。</p> <p>【性状】 淡粉色混悬液。</p> <p>【无菌检验】 按附录 页进行检验, 应无菌生长。</p> <p>【支原体检验】 按附录 页进行检验, 应无支原体生长。</p> <p>【外源病毒检验】 (1) 鸡贫血因子 (CAV) 检验 取 1 日龄 SPF 鸡 10 只, 每只颈背部皮下注射疫苗 0.2 ml (含 10 羽份), 隔离饲养 28 日, 采血, 分离血清, 按间接 ELISA 进行 CAV 抗体检测, 应为阴性。</p> <p>(2) 其他外源病毒检验 按附录 页进行检验, 应无其他外源病毒污染。</p> <p>【鉴别检验】 将液氮保存的疫苗溶解后, 用含 1% 小牛血清 DMEM 细胞培养液 10 倍系列稀释, 接种在已长成单层成纤维细胞的 96 孔细胞板, 每一稀释浓度 5 个孔, 每个孔 200 μl, 维持培养 5 日。将培养上清吸去, PBS 洗涤 1 次, 用 -20℃ 预冷的丙酮: 乙醇 (3:2) 于室温固定 5 分钟, 再用 PBS 洗涤 1 次, 培养板置超净工作台吹干或自然干燥。然后与 MDV B 抗原 I 型单克隆抗体 BA4 和羊抗鼠 FITC 标记抗体分别 37℃ 孵育 30 分钟, PBS 洗涤 3 次。同法设置 3 型及空白细胞对照孔。在荧光倒置显微镜下进行观察, 二个对照孔均应无绿色荧光蚀斑, 疫苗孔应呈现绿色荧光的蚀斑。</p> <p>【安全检验】 取 1 日龄 SPF 鸡至少 25 只, 每只颈背部皮下注射疫苗 0.2 ml (含 10 羽份), 观察 21 日。检验期间应至少存活 20 只, 否则为无结果; 若出现疫苗本身所致病变或死亡, 判不合格; 若存活数少于 20 只, 但无疫苗本身所致的病变或死亡, 可以重检一次, 若不重检, 判不合格。</p> <p>【蚀斑计数】 下列方法任择其一。</p> <p>(1) 每批疫苗抽样 3 支安瓿, 经 37℃ 温水融解后, 用专用配套稀释液 (适宜温度为 25℃±2℃) 稀释。取适当稀释度, 每个稀释度接种 5 个已长成良好单层鸡胚成纤维细胞的平皿, 每个平皿接种 0.2 ml。37℃ 吸附 1 小时后, 每皿加入维持液 6.0 ml。同时设立空白对照 2 个平皿和标准病毒样品对照 5 个平皿。置 37.5℃±0.5℃、5%CO₂ 培养箱培养 6 日, 不得移动, 第 7 日进行蚀斑计数。先计算同一稀释度 5 个平皿的平均蚀斑数, 再计算出每支疫苗所含蚀斑</p>

数。

判定标准：标准病毒样品 PFU 误差不超过 $\pm 10\%$ 。以 3 个样品中最低 PFU 数核定每批疫苗的 PFU。每羽份应不低于 3000 PFU。

(2) 每批疫苗抽样 3 支安瓿，经 37℃ 温水融解后，用专用配套稀释液（适宜温度为 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ）稀释。取适当稀释度，每个稀释度接种 3 个已长成良好单层鸡胚成纤维细胞瓶或肾细胞瓶，在 37~38℃ 吸附 60 分钟，加入含 2% 牛血清 M-199 营养液，继续培养 24 小时，弃去营养液，覆盖含 5% 牛血清的 E-MEM 或 M-199 营养琼脂（糖）培养基，待凝固后，将瓶倒置，继续培养 5~7 日，进行蚀斑计数。蚀斑应典型、清晰、形态不规则、边缘不整齐，呈乳白色，与同时设立的参照品蚀斑一致。先求出同一稀释度 3 瓶中平均蚀斑数，再计算出每毫升疫苗所含蚀斑数。以 3 瓶疫苗中的最低平均数确定每批疫苗的 PFU，每羽份疫苗所含蚀斑数应不低于 3000 PFU。

【规格】 疫苗 (1) 500 羽份/瓶 (2) 1000 羽份/瓶 (3) 1500 羽份/瓶 (4) 2000 羽份/瓶

稀释液 (1) 100ml/瓶 (2) 200ml/瓶 (3) 300ml/瓶 (4) 400ml/瓶

【贮藏与有效期】 液氮保存，有效期为 12 个月。

附注：稀释液的检验

1 性状 外观 橘红色澄明液体。

pH 值 按照附录 进行检验，应为 7.2 ± 0.2 。

2 装量检查 按附录 页进行检验，应符合规定。

3 不溶性微粒检查 按《中华人民共和国兽药典》一部附录页进行检验，应符合规定。

4 无菌检验 按附录 页进行检验，应无菌生长。

5 疫苗复原后的稳定性检验 用 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 的专用稀释液将疫苗作适当稀释，取刚稀释的疫苗和稀释后置 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 放置 1 小时后的疫苗，分别接种鸡胚成纤维细胞单层，进行蚀斑计数。稀释后置 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 放置 1 小时，疫苗滴度损失应不超过 30%。

用同批号试剂配制多批稀释液时，只需对第 1 批稀释液进行疫苗复原后的稳定性检验，当更换任何试剂的批号时，则需重新抽样进行该检验。