

禽流感（H9 亚型）灭活疫苗（标准草案）

Qinliugan (H9 Yaxing) Miehuoyimiao

Avian Influenza (Subtype H9) Vaccine, Inactivated

1 定义

本品系用 A 型禽流感病毒（H9 亚型）接种易感鸡胚或适宜细胞培养，收获感染鸡胚液或细胞培养液，经适宜灭活剂灭活后，加适宜佐剂制成。用于预防由 H9 亚型禽流感病毒引起的禽流感。

2 毒种

2.1 红细胞凝集价 按附录 3403 进行测定，对鸡红细胞凝集效价应不低于 1:256。

2.2 安全性 用毒种制备灭活疫苗，用推荐最小使用日龄 SPF 鸡 10 只，各经推荐使用的免疫途径接种疫苗 2 个推荐使用剂量，至少观察 14 日，应不出现由疫苗引起的局部或全身不良反应。

2.3 免疫原性 用毒种制备灭活疫苗，用 3~4 周龄 SPF 鸡 15 只，其中 10 只各经推荐使用的免疫途径接种疫苗 1/2 推荐使用剂量，另 5 只作对照。接种后 21~28 日，每只鸡用适宜禽流感（H9 亚型）病毒株攻毒，观察 14 日，观察并记录攻毒鸡临床症状。攻毒后第 3~5 日，分别采集每只鸡喉头和泄殖腔拭子，混合处理后进行病毒分离。对照鸡应至少有 4 只病毒分离阳性，免疫鸡应至少 9 只病毒分离阴性。

2.4 纯净

2.4.1 无菌检验 按附录 3306 方法进行检验，应无菌生长。

2.4.2 支原体检验 按附录 3308 方法进行检验，应支原体生长。

2.4.3 外源病毒检验 按附录 3305 方法进行检验，应无外源病毒污染。

2.5 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 若用鸡胚生产 鸡胚应选择来源于健康鸡群的易感鸡胚。

3.2 若用细胞生产 细胞应符合附录 3502 要求。

3.3 若用注射用白油 白油应符合附录 3605 要求。

4 成品检验

4.1 无菌检验 按附录 3306 进行检验，应无菌生长。

4.2 安全检验 用推荐最小使用日龄 SPF 鸡 10 只，各经推荐使用的免疫途径接种疫苗 2 个推荐使用剂量，观察 14 日，应不出现由疫苗引起的局部或全身不良反应。

4.3 效力检验 下列方法任择其一。

4.3.1 血清学方法 用 21~28 日龄 SPF 鸡 15 只，其中 10 只各经推荐使用的免疫途径接种疫苗 1 个推荐使用剂量，另 5 只作对照。接种后 21~28 日，每只鸡分别采血、分离血清，测定 HI 抗体效价。对照鸡 HI 抗体效价均应不高于 1:4，免疫鸡 HI 抗体效价的几何平均值应不低于 1:128。

4.3.2 免疫攻毒法 用 21~28 日龄 SPF 鸡 15 只，其中 10 只各按推荐使用的免疫途径接种疫苗 1 个推荐使用剂量，另 5 只作对照。接种后 21~28 日，每只鸡各用适宜禽流感（H9 亚型）病毒株攻毒。攻毒后第 3~5 日，分别采集每只鸡喉头和泄殖腔拭子，混合处理后进行病毒分离（阴性样品应盲传 1 代）。对照鸡应至少 4 只病毒分离阳性，免疫鸡应至少 9 只病毒分离阴性。

4.4 甲醛残留量测定（适用于用甲醛灭活） 按附录 3203 进行测定，应符合规定。

4.5 汞类防腐剂残留量测定(适用于使用硫柳汞灭活或防腐) 按附录 3202 进行测定, 应符合规定。

起草说明:

1. 本标准拟定 借鉴了 2010-2020 年 29 个含 H9 亚型禽流感的疫苗(9 种单苗+5 种二价苗+20 种联苗, 包括二联、三联和四联苗), 提取其公共部分, 制定本通用标准。

2. 关于制品名称 依据 2023 年第 4 次会议审查意见, 删除了低致病性的表述, 将制品名称规定为“禽流感(H9 亚型)灭活疫苗”

3. 关于培养基质 现行的流感疫苗包括胚苗和细胞苗, 故定义部分采取 2 种培养基质。

4. 关于佐剂 将来使用的佐剂可能不限于油佐剂, 故修改为适宜佐剂。

5. 关于生产用种毒 依据 2023 年第 4 次会议审查意见, 删除了“对鸡胚的毒力”项。依据 2024 年第 8 次会议审查意见, 删除了“毒力”项, 增加了毒种的安全性项内容, 主要用于考察毒种制成灭活疫苗后的安全性。

6. 关于效检用种毒 免疫攻毒法中攻毒剂量和攻毒途径很难确定, 不同产品差异较大, 模糊界定了攻毒途径、攻毒剂量, 各个注册制品标准自己提供确定病毒含量的毒液, 检验时直接用。依据 2024 年第 8 次会议审查意见, 修改为“用适宜禽流感(H9 亚型)病毒株攻毒”。

7. 关于免疫原性 依据 2024 年第 8 次会议审查意见, 删除了病毒分离的过程描述, 增加了临床症状观察。

8. 关于纯净 依据 2023 年度第 4 次会议审查意见, 将无菌检验、支原体检验、外源病毒检验分开进行描述。

9. 关于代次 通用标准暂按照宽泛的要求为好, 指导原则规定也是病毒不超过 5 代。

10. 关于生产用原辅料 目前 H9 亚型禽流感灭活疫苗包括鸡胚苗和细胞苗 2 种, 对所需原辅料鸡胚和细胞分开进行要求, 同时提出注射用白油的要求。

11. 关于成品检验 依据 2023 年度第 4 次会议审查意见, 删除了用于鸭的制品用鸭检验的内容。

12. 关于安全检验动物年龄 不同注册制品标准中使用的 SPF 鸡日龄不一致, 建议选用推荐最小使用日龄。

13. 关于效力检验 依据 2023 年度第 4 次会议审查意见, 效力检验中血清学抗体效价标准改为由 1:64 提高为 1:128; 依据 2024 年第 8 次会议审查意见, 血清学方法和免疫攻毒法检验用 SPF 鸡日龄都改为 3~4 周龄(或 21~28 日龄); 删除了病毒分离的详细过程描述。