

# 实用兽医生物制品技术

张振兴 姜 平 主编

中国农业科技出版社



# 实用兽医生物制品技术

|     |       |       |
|-----|-------|-------|
| 主 编 | 张 振 兴 | 姜 平   |
| 编 者 | 马 志 永 | 沈 永 林 |
|     | 陈 怀 青 | 姜 平   |
|     | 张 振 兴 |       |

中国农业科技出版社

(京)新登字 061 号

图书在版编目 (CIP) 数据

实用兽医生物制品技术/张振兴 姜平主编. - 北京: 中国农业科技出版社, 1996.5

ISBN 7-80119-192-7

I. 实… II. 张… III. 畜禽-药物: 生物制品-制造-技术 IV. TQ464

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (96) 第 07127 号

责任编辑  
技术设计  
出版发行

经 销  
印 刷  
开 本  
印 数  
版 次  
定 价

杜 洪

中国农业科技出版社

(北京海淀区白石桥路 30 号)

新华书店北京发行所发行

北京昌平长城印刷厂

787×1092 毫米 1/16 印张: 17

1-3000 册 字数: 400 千字

1996 年 5 月第一版 1996 年 5 月第一次印刷

21.00 元

## 前 言

生物制品技术是一种既古老而又充满时代信息的技术，经典的生物技术与近代的生物技术互通运用，方能适应与生命、健康息息相关的制剂不断发展。

近 10 多年来，生物技术有了许多新的进展，特别是基因工程技术和生物化学工程技术的应用，不仅使生物制品科学进入了一个新的阶段，而且借此也研制出了不少高质量、高效能的制品以满足社会发展的需要。

为了适应广大实际工作者的需要，以提高常规兽医生物制品的质量，切实达到安全有效的标准，促进新技术的应用和新制品的开发应用，决定在南京农业大学教材《兽医生物制品学》(1988 年版)的基础上，组织从事与生物制品相关的教学、研究、生产者进行全面修订，并将书名改为《实用兽医生物制品技术》。我们修订的主旨是：充实基本理论，突出生物制品的特点和生物制品技术的实用性以及增加实用新技术与当前急需的新制品，使其成为一本新的工具性参考书。修订后的《实用兽医生物制品技术》包括：生物制品概念，药厂建设与药品生产规范(GMP)，菌(毒)种育选技术，菌、毒培养增殖技术，灭活与灭活剂，保护剂与稳定剂，免疫佐剂，抗病血清制造技术等总论部分；以及包含有病原与病状、免疫与疫苗、诊断与诊断液、治疗与抗病血清在内的传染病生物制品 50 个病的 239 项制品，寄生虫病生物制品 6 个病的 10 项制品，和鱼类免疫概述及鱼病生物制品 8 个病的 24 项制品等各论部分。此外，还有附录：兽用新生物制品管理办法，生物制品生产车间管理办法。

本书 1 至 10 部分由张振兴、姜平、马志永执笔，11 部分由沈永林执笔，12 部分由陈怀青执笔。全部书稿由张振兴统阅审定。

兽医生物制品是一门多学科相互渗透、交叉的边缘学科，涉及的领域十分广泛，虽然在编写过程中已注意收集新知识、新技术和新信息，但毕竟能力有限，才疏识浅，错误与疏漏在所难免，诚请广大读者提出批评意见，以便再版时修正。

张振兴

1996 年 1 月于南京农业大学

# 目 录

|                                 |      |
|---------------------------------|------|
| 1 绪论 .....                      | (1)  |
| 1.1 兽医生物制品概念 .....              | (1)  |
| 1.2 生物制品简史 .....                | (1)  |
| 1.3 兽医生物制品在国民经济中的作用 .....       | (1)  |
| 1.4 兽医生物制品分类 .....              | (2)  |
| 1.4.1 按生物制品性质分类 .....           | (2)  |
| 1.4.2 按制法与物理性状分类 .....          | (3)  |
| 1.5 疫苗 .....                    | (3)  |
| 1.5.1 灭活疫苗 .....                | (3)  |
| 1.5.2 弱毒疫苗 .....                | (4)  |
| 1.5.3 单(价)疫苗 .....              | (4)  |
| 1.5.4 多价疫苗 .....                | (4)  |
| 1.5.5 混合疫苗 .....                | (4)  |
| 1.5.6 同源疫苗 .....                | (4)  |
| 1.5.7 异源疫苗 .....                | (5)  |
| 1.5.8 亚单位疫苗 .....               | (5)  |
| 1.5.9 基因工程疫苗 .....              | (5)  |
| 1.5.10 抗独特型疫苗 .....             | (5)  |
| 1.6 我国兽医生物制品概况 .....            | (5)  |
| 1.6.1 各个时期发展简介 .....            | (5)  |
| 1.6.2 几种重要制品的发展简况 .....         | (6)  |
| 1.6.3 我国兽医生物药品监察制度和制造检验规程 ..... | (6)  |
| 1.7 兽医生物药品厂建设与设施 .....          | (9)  |
| 1.7.1 医药工业 GMP .....            | (9)  |
| 1.7.2 厂房建设 .....                | (9)  |
| 1.7.3 洁净车间建筑 .....              | (9)  |
| 1.7.4 设备 .....                  | (10) |
| 1.7.5 环境保护设施 .....              | (13) |
| 1.7.6 实验动物与实验动物设施 .....         | (14) |
| 2 菌种与毒种选育技术 .....               | (19) |
| 2.1 兽医生物制品菌(毒)种标准 .....         | (19) |
| 2.2 强菌(毒)种选育 .....              | (19) |
| 2.3 弱菌(毒)种选育 .....              | (20) |
| 2.3.1 自然弱毒株的选育 .....            | (20) |
| 2.3.2 人工诱发突变弱毒株的选育 .....        | (20) |
| 2.3.3 变异毒株的初选依据 .....           | (21) |
| 2.3.4 我国一些弱毒株的育成线路与方法 .....     | (21) |
| 3 细菌培养技术 .....                  | (22) |
| 3.1 细菌生长繁殖规律 .....              | (22) |
| 3.2 细菌的营养 .....                 | (22) |
| 3.3 细菌营养的摄取 .....               | (23) |

|       |               |      |
|-------|---------------|------|
| 3.4   | 细菌生长的环境条件     | (24) |
| 3.5   | 细菌培养          | (24) |
| 3.5.1 | 种子接种量         | (24) |
| 3.5.2 | 培养时间          | (24) |
| 3.5.3 | 培养方法          | (25) |
| 3.6   | 培养基           | (25) |
| 3.6.1 | 培养基的原料标准      | (25) |
| 3.6.2 | 培养基分类         | (27) |
| 3.6.3 | 培养基制造         | (27) |
| 4     | 病毒增殖培养技术      | (33) |
| 4.1   | 病毒的复制、增殖与营养   | (33) |
| 4.1.1 | 病毒的复制增殖       | (33) |
| 4.1.2 | 病毒的营养         | (34) |
| 4.2   | 动物接种增殖病毒技术    | (34) |
| 4.2.1 | 动物的选择         | (34) |
| 4.2.2 | 接种方法          | (34) |
| 4.3   | 病毒禽胚培养技术      | (35) |
| 4.3.1 | 禽胚的选择         | (35) |
| 4.3.2 | 禽胚接种途径与收获     | (35) |
| 4.3.3 | 影响禽胚病毒增殖的因素   | (38) |
| 4.4   | 病毒细胞培养技术      | (39) |
| 4.4.1 | 细胞培养技术        | (40) |
| 4.4.2 | 病毒增殖技术        | (43) |
| 5     | 灭活与灭活剂        | (46) |
| 5.1   | 灭活概念          | (46) |
| 5.2   | 灭活类型与灭活剂      | (46) |
| 5.2.1 | 灭活类型          | (46) |
| 5.2.2 | 灭活剂           | (46) |
| 5.3   | 影响灭活效应的因素     | (48) |
| 5.3.1 | 灭活剂种类         | (48) |
| 5.3.2 | 温度            | (48) |
| 5.3.3 | 灭活物浓度         | (48) |
| 5.3.4 | 灭活物内的残物       | (48) |
| 5.4   | 几种灭活疫苗的灭活方法   | (48) |
| 6     | 佐剂            | (50) |
| 6.1   | 佐剂概念与研究进展     | (50) |
| 6.2   | 佐剂标准          | (50) |
| 6.3   | 佐剂类型          | (51) |
| 6.3.1 | Bullanti 佐剂分类 | (51) |
| 6.3.2 | 山村雄一佐剂分类      | (51) |
| 6.3.3 | 按佐剂作用分类       | (51) |
| 6.4   | 佐剂的效应         | (51) |
| 6.4.1 | 对抗原的作用        | (51) |
| 6.4.2 | 对抗体的作用        | (52) |

|       |               |       |
|-------|---------------|-------|
| 6.5   | 兽医上使用的佐剂      | (52)  |
| 6.5.1 | 氢氧化铝胶佐剂       | (52)  |
| 6.5.2 | 钾明矾佐剂         | (52)  |
| 6.5.3 | 佛氏佐剂          | (52)  |
| 6.5.4 | 油乳佐剂          | (53)  |
| 6.5.5 | 蜂胶佐剂          | (54)  |
| 6.5.6 | 脂质体载体佐剂       | (54)  |
| 6.5.7 | 左旋咪唑、葡聚糖佐剂    | (54)  |
| 7     | 保护剂           | (56)  |
| 7.1   | 保护剂的作用机理与效应   | (56)  |
| 7.2   | 保护剂种类         | (56)  |
| 7.3   | 适用于微生物的保护剂与组成 | (57)  |
| 7.3.1 | 微生物适用的保护剂     | (57)  |
| 7.3.2 | 一般冻干保护剂的组成    | (57)  |
| 7.4   | 兽医生物制品常用的保护剂  | (57)  |
| 8     | 抗病血清制造技术      | (59)  |
| 8.1   | 动物的选择         | (59)  |
| 8.2   | 抗原制备          | (59)  |
| 8.3   | 免疫程序          | (60)  |
| 8.4   | 血清提取          | (60)  |
| 8.5   | 质量检验          | (60)  |
| 9     | 动物细菌性生物制品     | (61)  |
| 9.1   | 炭疽            | (61)  |
| 9.2   | 破伤风           | (66)  |
| 9.3   | 马沙门氏菌病        | (69)  |
| 9.4   | 鼻疽            | (72)  |
| 9.5   | 结核            | (74)  |
| 9.6   | 布氏杆菌病         | (77)  |
| 9.7   | 牛传染性胸膜肺炎      | (84)  |
| 9.8   | 牛出血性败血症       | (88)  |
| 9.9   | 羊梭菌病          | (90)  |
| 9.10  | 肉毒梭菌中毒        | (94)  |
| 9.11  | 猪丹毒           | (96)  |
| 9.12  | 猪肺疫           | (101) |
| 9.13  | 猪链球菌病         | (106) |
| 9.14  | 禽乱霍           | (108) |
| 9.15  | 鸡大肠杆菌病        | (113) |
| 9.16  | 禽沙门氏菌病        | (115) |
| 9.17  | 鸡支原体病         | (117) |
| 9.18  | 鸡传染性鼻炎        | (119) |
| 9.19  | 兔巴氏杆菌病        | (121) |
| 9.20  | 兔梭菌性腹泻        | (122) |
| 9.21  | 溶血素           | (123) |
| 9.22  | 补体            | (125) |

|                     |       |
|---------------------|-------|
| <b>10 动物病毒性生物制品</b> | (127) |
| 10.1 口蹄疫            | (127) |
| 10.2 狂犬病            | (131) |
| 10.3 马传染性贫血         | (135) |
| 10.4 牛流行热           | (139) |
| 10.5 牛病毒性腹泻-粘膜病     | (142) |
| 10.6 蓝舌病            | (145) |
| 10.7 绵羊痘            | (147) |
| 10.8 猪瘟             | (150) |
| 10.9 猪水泡病           | (157) |
| 10.10 猪伪狂犬病         | (160) |
| 10.11 猪传染性胃肠炎       | (162) |
| 10.12 新城疫           | (166) |
| 10.13 马立克氏病         | (171) |
| 10.14 鸡传染性法氏囊病      | (175) |
| 10.15 禽痘            | (182) |
| 10.16 鸡传染性支气管炎      | (184) |
| 10.17 鸡传染性喉气管炎      | (188) |
| 10.18 鸡产蛋下降综合征      | (189) |
| 10.19 禽流感           | (191) |
| 10.20 鸭瘟            | (193) |
| 10.21 鸭病毒性肝炎        | (196) |
| 10.22 小鹅瘟           | (198) |
| 10.23 兔出血症          | (201) |
| 10.24 兔粘液瘤病         | (203) |
| 10.25 犬瘟热           | (204) |
| 10.26 犬传染性肠炎        | (207) |
| 10.27 犬传染性肝炎        | (210) |
| 10.28 猫泛白细胞减少症      | (212) |
| 10.29 貂传染性肠炎        | (214) |
| 10.30 貂阿留申病         | (216) |
| <b>11 动物寄生虫生物制品</b> | (219) |
| 11.1 牛环形泰勒虫病        | (219) |
| 11.2 牛伊氏锥虫病         | (220) |
| 11.3 弓形虫病           | (222) |
| 11.4 肝片吸虫病          | (224) |
| 11.5 鸡球虫病           | (225) |
| 11.6 日本分体吸虫病        | (228) |
| <b>12 鱼的生物制品</b>    | (230) |
| 12.1 鱼类免疫概述         | (230) |
| 12.2 运动性气单胞菌败血症     | (234) |
| 12.3 疳病             | (236) |
| 12.4 弧菌病            | (239) |
| 12.5 红嘴肠炎           | (241) |



|           |                     |              |
|-----------|---------------------|--------------|
| 12.6      | 爱德华氏菌败血症 .....      | (242)        |
| 12.7      | 细菌性肾病 .....         | (245)        |
| 12.8      | 传染性胰坏死症 .....       | (247)        |
| 12.9      | 草鱼出血症 .....         | (249)        |
| <b>13</b> | <b>附录 .....</b>     | <b>(251)</b> |
| 13.1      | 兽用新生物制品管理办法 .....   | (251)        |
| 13.1.1    | 生物制品命名原则 .....      | (253)        |
| 13.1.2    | 新生物制品申报资料项目 .....   | (254)        |
| 13.1.3    | 规程书写格式与内容要求 .....   | (254)        |
| 13.1.4    | 新生物制品有关试验数据要求 ..... | (258)        |
| 13.2      | 生物制品生产车间管理办法 .....  | (259)        |

# 1 绪 论

兽医生物制品学是生物制品学科中的重要组成部分。兽医生物制品学包含兽医生物制品与兽医生物制品制造工艺两个内容,前者以微生物学、免疫学、传染病学和生物化学为基础发展为一门以免疫、防病、治病、诊断为中心的边缘应用学科,后者以动物学、细胞学、遗传学和生物工程学为依托的制造工艺技术,由此而相互广泛渗透,成为一门重要的预防医学科学。

在现阶段,兽医生物制品学科的内容和任务是:研究用于动物免疫预防疫苗的制备理论与技术;研究用于动物疾病诊断制品的制备理论与技术;研究治疗动物疾病的免疫制剂的理论与技术;以及这些制品的质量标准、检验方法和发酵、冻干等工程学理论与工艺。

## 1.1 兽医生物制品概念

兽医生物制品是根据免疫学原理,利用微生物、寄生虫及其代谢产物或免疫应答产物制备的一类物质。这类物质专供相应的疾病诊断、治疗或预防之用。然而,从狭义上讲,可将用于动物疾病诊断、检疫、治疗和免疫预防的诊断液、疫苗和抗病血清称为兽医生物制品;从广义上讲,又可将血液制品、脏器制剂和非特异性免疫制剂(干扰素、促菌生、丙种球蛋白等)列入生物制品。由此可见,兽医生物制品的涵义和内容也将随着科学技术的发展而发展成为兽医保健制品。

## 1.2 生物制品简史

我国早在宋真宗时代就有峨嵋山人用天花病人的痂皮接种儿童鼻内或皮肤划痕以预防天花的记载,此后又传到日本和英美等国。

在18世纪末,英国 Dames Phipps 首次用牛痘材料接种儿童来预防天花,从而创造了第1个生物制品牛痘苗。其后,法国 Louis Pasteur 又相继发明了鸡霍乱菌苗(1881)和狂犬病疫苗(1885)。1889年 Yersin 等从白喉杆菌培养物滤液中分离到白喉菌素,免疫小鼠和家兔后,在其血清中发现存在中和白喉菌素的物质,从而又创制了抗毒素血清。在诊断制品方面,1891年 R. Koch 首次自结核杆菌菌体中提取到一种特异过敏素物质,后来被 Aujuid 命名为结核菌素。

我国自1924年以后才陆续生产一些鼻疽菌素、狂犬病疫苗和抗牛瘟血清等生物药品,并先后在四川、西北、西南和东南等地设立血清制造所,以后又在东北和台湾建立兽疫研究所,以生产兽医生物药品,但品种数量不多。到1950年,全国共有9个兽医生物药品厂,年生产生物药品3500余万毫升,并在1952年组建了国家兽医生物药品监察所,制定了各种生物药品的制造及检验规程,共计30多个品种、1亿多毫升。及至80年代末,全国已有29个兽医生物药品厂,品种已达107种,年产量达90亿毫升以上,从业人员超过万名,一个新兴的兽医生物制品行业随着养殖业的发展而已经形成。

## 1.3 兽医生物制品在国民经济中的作用

兽医生物制品是动物防病、治病、灭病的重要手段之一,也是保障人兽健康的必要条件。许多国家借助于生物制品控制或消灭了很多危害严重的传染病和寄生虫病,例如在世界范围内消灭或完全控制了天花的发生。

在以往,一些家畜传染病在很多国家广泛流行、危害,在法国(1713—1746)牛瘟暴发而死

亡1100万头牛；19世纪末南美死于牛瘟的牛达900万头；我国青海、甘肃和四川在1938—1941年间流行牛瘟，死牛100万头以上，及至20世纪中在研制成牛瘟兔化弱毒疫苗后经几年的预防注射才得到了控制消灭。再如，过去猪瘟在世界各国均有发生，我国年死猪达千万头以上，自育成猪瘟兔化弱毒株以来，不仅在我国控制了猪瘟的流行，而且在朝鲜、阿尔巴尼亚等国也借此消灭了猪瘟。

迄今，已有许多国家由于采取了包括免疫预防在内的综合性防制措施，消灭或完全控制了多种家畜传染病。如已消灭口蹄疫的国家有：澳大利亚(1871)、日本(1908)、牙买加(1923)、美国(1929)、北爱尔兰(1941)、加拿大(1952)、挪威(1952)、墨西哥(1954)、芬兰(1959)、阿尔巴尼亚(1960)、瑞士(1969)、卢森堡(1964)、马尔他(1978)、阿尔及利亚(1977)、智利和圭亚那(1978)、纳米比亚(1980)、英国、奥地利、葡萄牙和希腊(1981)、波兰(1971)、罗马尼亚(1973)、捷克(1975)、摩洛哥(1977)；消灭猪瘟的国家有：芬兰(1917)、纳米比亚和南非(1917)、丹麦(1933)、瑞典(1944)、冰岛和新西兰(1953)、北爱尔兰(1958)、以色列(1959)、澳大利亚(1962)、加拿大和挪威(1963)、马尔他(1968)、英国(1971)、匈牙利(1972)、阿尔巴尼亚(1973)、罗马尼亚(1974)、瑞士(1974)、美国(1976)、波兰(1978)；新城疫已宣布消灭的国家有：冰岛(1959)、瑞典(1956)、北爱尔兰和丹麦(1973)、匈牙利、波兰和纳米比亚(1974)、乌拉圭(1975)、法国和津巴布韦(1976)、智利(1977)、美国(1978)。迄今，在我国已消灭或控制了牛瘟和牛肺疫。

然而，世界各国的实践表明，有些国家所以能有效地控制或消灭传染病，不外从理论上和实践上采取了四项基本措施：①有效地消灭传染源，诸如检疫、消毒、封锁、隔离、处理病死尸体及一切污染物品；②切断传播媒介，如灭虫、灭鼠；③正确而快速的诊断；④有效而合理地进行免疫预防，以增强特异性抵抗力。由此可见，兽医生物药品乃是传染病防制中的重要武器，但决非是唯一的手段。

#### 1.4 兽医生物制品分类

生物制品由于微生物种类、动物种类、制备方法、菌毒株性状、应用对象等不同而品种繁多，而兽医生物制品的品种更是繁杂，因此只能按生物制品性质、用途和制法等进行粗略的归类。

##### 1.4.1 按生物制品性质分类

(1) 疫苗(vaccine) 凡接种动物后能产生自动免疫、预防疾病的一类生物制剂均称为疫苗，包含细菌性菌苗和病毒性疫苗，寄生虫性虫苗也应列入。

(2) 类毒素(toxoid) 又称脱毒毒素，细菌生长繁殖过程中产生的外毒素，经化学药品(甲醛)处理后，成为无毒性而保留免疫原性的生物制剂。接种动物后能产生自动免疫，以及用以注射动物制备抗毒素血清。于类毒素中加入适量磷酸铝或氢氧化铝等吸附剂吸附的类毒素即为吸附精制类毒素。精制类毒素注入动物体后，能延缓吸收，长久地刺激机体产生抗体，增强免疫效果。如破伤风类毒素、明矾沉降破伤风类毒素等。

(3) 诊断液(diagnosticum) 利用微生物、寄生虫及其代谢产物，或动物血液、组织，根据免疫学原理制备的生物制剂。用于诊断疾病、群体检疫、检测免疫状态以及病原微生物鉴定。诊断液包含诊断菌液、毒液或抗原，诊断血清和定型血清，标记抗体，诊断用毒素和菌素。多数诊断制品属于体外试验诊断用品，如布氏杆菌补体结合反应抗原与阴、阳性血清，猪瘟荧光抗体，炭疽沉淀素血清等；少数属于体内试验用品，如鼻疽菌素、布氏杆菌水解素等。随着免疫化学和实验技术的发展，多数诊断制剂更加纯化，制成标记抗原和抗体，从而大大地提高了特异性和敏感性，且组合成诊断试剂盒，使用十分方便。

诊断液大体分为下列几类：①凝集试验用抗原与阴阳性血清；②补体结合试验用抗原与阴阳性血清；③沉淀试验用抗原与阴阳性血清；④琼脂扩散试验用抗原与阴阳性血清；⑤标记抗原与标记抗体，如荧光素标记、酶标记、同位素标记等；⑥定型血清及因子血清；⑦溶血素及补体、致敏血细胞。

(4) 抗病血清 (antiserum) 又称高免血清，为含有高效价特异性抗体的动物血清制剂，能用于治疗、紧急预防相应病原体所致的疾病，所以又称为被动免疫制品。通常给适当动物以反复多次注射特定的病原微生物或其代谢产物，促使动物不断产生免疫应答，在血清中含有大量对应的特异性抗体制成。如抗猪瘟血清、破伤风抗毒素血清等。

在生产上，有同源动物抗病血清和异源动物抗病血清之别，但为了增加产量、降低成本，多选择马属动物以生产各种抗病血清。

#### 1.4.2 按制法与物理性状分类

(1) 普通制品 指一般生产方法制备的、未经浓缩或纯化处理，或者仅按毒(效)价标准稀释的制品。如无毒炭疽芽孢苗、猪瘟兔化弱毒细胞培养冻干疫苗、普通结核菌素等。

(2) 精制生物制品 将普通制品(原制品)利用物理的或化学的方法除去无效成分，进行浓缩、提纯处理制成的制品，其毒(效)价均较普通制品为高，从而增高效力、特异性和灵敏性。如精制破伤风类毒素、精制结核菌素等。

(3) 液状制品 与干燥制品相对而言的湿性生物制品。多数灭活疫苗(猪肺疫氢氧化铝菌苗、猪瘟兔化弱毒组织湿苗等)、诊断制品(抗原、血清、溶血素、豚鼠血清补体等)为液状制品。液状制品多数既不耐高温、阳光，又不宜低温冻结或反复冻融，否则均能影响效价，故只能在低温冷暗处保存。

(4) 干燥制品 生物制品经冷冻真空干燥后能保护活性、毒价很长，无论活疫苗、抗原、血清、补体、酶制剂和激素制剂均如此。将液状制品根据其性质加入适当冻干保护剂或稳定剂，经冷冻真空干燥处理，将96%以上的水分除去后剩留疏松、多孔呈海绵状的物质，即为干燥制品。冻干制品应在8℃下运输，在0—5℃保存。如猪瘟兔化弱毒冻干苗、鸡马立克氏病火鸡疱疹病毒冻干苗等。有些菌体生物制品是经干燥处理后制成粉状物，成为干粉制剂，十分有利于运输、保存，且可根据具体情况配制成混合制剂，例如羊梭菌干粉疫苗即是。

(5) 佐剂制品 为了增强疫苗制剂注入动物机体后的免疫应答反应，以提高免疫效果，往往在疫苗制备过程中加入适量的佐剂(免疫增强剂或免疫佐剂)，制成的生物制剂即为佐剂制品。若加入的佐剂是氢氧化铝胶，即制成氢氧化铝疫苗，如猪丹毒氢氧化铝菌苗等；若于疫苗中加入的是油佐剂，则称为油乳佐剂苗，如鸡新城疫油乳剂疫苗等。

### 1.5 疫苗

随着生物工程技术和生物化学乃至分子生物学的发展，兽医生物制品中的疫苗制品无论在疫苗种类、疫苗类型上均有重要的进展，新疫苗、苗型不断研制成功，确实是种类繁多。

#### 1.5.1 灭活疫苗

灭活疫苗(inactivated vaccine)又称死疫苗，以含有细菌或病毒的材料利用物理的(热、射线等)或化学的(甲醛、乙醇、染料、烷化剂等)方法处理，使其丧失感染性或毒性而保有免疫原性，接种动物后能产生自动免疫、预防疾病的一类生物制品。灭活疫苗分为组织灭活疫苗(猪疫结晶紫疫苗、兔出血症组织灭活疫苗等)、培养物灭活疫苗(猪丹毒氢氧化铝疫苗、羊梭菌多联菌苗、猫泛白细胞减少症细胞培养灭活疫苗等)，其特点是：无毒安全，易于保存运输，疫苗

稳定，便于制备多价或多联苗，以及剂量大、多次注射和不产生局部免疫力。

1.5.2 弱毒疫苗

弱毒疫苗 (attenuated vaccine) 又称活疫苗，微生物的自然强毒株通过物理的（温度、射线等）、化学的（醋酸酐、吡啶黄等）和生物的（非敏感动物、细胞、鸡胚等）连续传代，使其对原宿主动物丧失致病力，或只引起亚临床感染，但仍保存良好的免疫原性遗传特性的毒株，用以制备的疫苗。如猪丹毒弱毒菌苗、猪瘟兔化弱毒疫苗、牛肺疫兔化弱毒菌苗等。此外，从自然界筛选的自然弱毒株同样具有人工育成弱毒株的遗传特性，同样可以制备弱毒疫苗，如鸡新城疫 Lasota 疫苗等。

灭活疫苗和弱毒疫苗的利和害，发展重与轻，历来都有争论。现将两者的优缺点简介见表 1。

表 1 灭活疫苗与弱毒活疫苗比较

|       | 优 点                                                                                           | 缺 点                                                                             |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| 灭活疫苗  | 比较安全，不发生全身性副作用，无返祖现象；<br>有利于制备多价、多联等混合疫苗；<br>制品稳定，受外界条件影响小，有利于运输保存                            | 接种次数、剂量多而大，免疫途径必须注射；不产生局部免疫；需要高浓度抗原物质，生产成本高                                     |
| 弱毒活疫苗 | 一次免疫接种即可成功，可采取自然感染途径接种（如注射、滴鼻、饮水、喷雾、划痕等）；可引起整个免疫应答，产生广谱性免疫及局部和全身性抗体；免疫力持久，有利于清除局部野毒；产量高，生产成本低 | 残毒在自然界动物群体中持续传递后毒力有增强、返祖危险；疫苗中存在的污染毒有可能扩散；存在不同抗原的干扰现象，从而影响免疫效果；要求在低温、冷暗条件下运输、储存 |

1.5.3 单（价）疫苗

单（价）疫苗 (univalent vaccine) 利用同一种微生物菌（毒）株或同一种微生物中的单一血清型菌（毒）株的增殖培养物制备的疫苗称为单（价）疫苗。单苗对单一血清型微生物所致的病有免疫保护效能；但单价苗仅能对多血清型微生物所致疾病中的对应型有保护作用，而不能使免疫动物获得安全的免疫保护。前者如鸡新城疫疫苗（I 系苗、II 系苗、Lasota 苗），都能使接种鸡获得完全的免疫保护；后者如猪肺疫氢氧化铝菌苗，系由 6:B 血清型猪源多杀性巴氏杆菌强毒株制造，对由 A 型多杀性巴氏杆菌引起的猪肺疫无免疫保护。

1.5.4 多价疫苗

多价疫苗 (polyvalent vaccine) 指同一种微生物中若干血清型菌（毒）株的增殖培养物制备的疫苗。多价疫苗能使免疫动物获得完全的保护力，且可在不同地区使用。如钩端螺旋体二价及五价菌苗、口蹄疫 A、O 型鼠化弱毒疫苗等。

1.5.5 混合疫苗

混合疫苗 (mixed vaccine) 又称多联疫苗，指利用不同微生物增殖培养物，按免疫学原理、方法组合而成。接种动物后，能产生对相应疾病的免疫保护，具有减少接种次数、使用方便等优点，是一针防多病的生物制剂。混合疫苗又可根据实际流行病情况、微生物组合的多少，有三联疫苗、四联疫苗等之分，如猪瘟、猪丹毒、猪肺疫三联苗等。

1.5.6 同源疫苗

同源疫苗 (homologous vaccine) 指利用同种、同型或同源微生物株制备的，而又应用于同种类动物免疫预防的疫苗。如猪瘟兔化弱毒疫苗，用于各种品种的猪以预防猪瘟；牛肺疫兔化弱毒菌苗，能使各种品种的牛获得抵抗牛肺疫的免疫力。

### 1.5.7 异源疫苗

异源疫苗(heterologous vaccine)包含①用不同种微生物的菌(毒)株制备的疫苗,接种动物后能使其获得对疫苗中不含有的病原体产生抵抗力。如犬在接种麻疹疫苗后,能产生对犬瘟热的抵抗力;兔接种兔纤维瘤病毒疫苗后能使其抵抗兔粘液瘤病。②用同一种中一种型(生物型或动物源)微生物种毒制备的疫苗,接种动物后能使其获得对异型病原体的抵抗力。如接种猪型布氏杆菌弱毒菌苗后,能使牛获得对牛型和使羊获得对羊型以及使绵羊获得对绵羊型布氏杆菌病的免疫力。

### 1.5.8 亚单位疫苗

亚单位疫苗(subunit vaccine)微生物经物理和化学方法处理,除去其无效的毒性物质,提取其有效抗原部分制备的疫苗。微生物的免疫原性结构成分包含多数细菌的荚膜、鞭毛,多数病毒的囊膜、膜粒、衣壳蛋白等,经提取后制成不同的亚单位疫苗。亚单位疫苗具有明确的生物化学特性、免疫活性和无遗传性的物质,其免疫效果极高,如脑膜炎球菌多糖疫苗、肺炎球菌荚膜多价多糖疫苗、口蹄疫 Vp3 疫苗和流感血凝素疫苗等。

然而,亚单位疫苗工厂化生产比较困难,成本也较高,至少在近期内尚难全面推广,因此发展的方向应着重于化学合成疫苗和亚单位基因工程疫苗方面。

### 1.5.9 基因工程疫苗

基因工程疫苗(genetic engineering vaccine)利用基因工程技术制取的疫苗。通常将微生物供体 DNA,用限制性核酸内切酶切割,分离出携带遗传信息的 DNA 目的基因片段,然后与受体载体(vector)DNA 相连结,实现遗传性状的转移与重新组合,再经载体将目的基因带进受体(host),进行正常的复制和表达,从而获得增殖培养物供制备疫苗。一般的受体为无毒大肠杆菌;理想的载体是一个相当小的 DNA 分子,能在受体内自行复制,如质粒、噬菌体和病毒基因组。当今问世的基因工程疫苗有大肠杆菌基因工程疫苗、口蹄疫基因工程疫苗等。

### 1.5.10 抗独特型疫苗

抗独特型疫苗(anti idiotypic vaccine)根据免疫网络学说原理,利用第 1 抗体分子中的独特型抗原决定位(簇)制备的疫苗。这种疫苗可引起体液性和细胞性免疫应答,当仅对病原体的一种表位有免疫力即可充分保护时更有用。

## 1.6 我国兽医生物制品概况

我国兽医生物制品事业的发展,自 19 世纪 20 年代的血清制品进入到灭活疫苗制品,至 20 世纪 50 年代以后始大力发展弱毒疫苗和诊断制品,目前已趋完善阶段。在半个多世纪中,兽医生物制品在畜牧业的发展中发挥了十分重要的作用,而且研制成功了一些世界领先的生物制品。

### 1.6.1 各个时期发展简介

在 50 年代以前,全国仅有几个兽疫防疫所和血清制造所,生产的生物制品局限于抗病血清和少数疫苗,工艺、法规也不完善,以致象牛瘟、猪瘟和口蹄疫等烈性传染病屡次暴发流行,损失巨大。在 50 年代以后,开始调整扩充原有的血清所为血清厂,兽疫所改为研究和生产的研究机构,并采用苏联的标准制定规程和实施对兽医生物药品的监察,品种不断增加,产量和质量不断提高,法规逐渐完善,及至 80 年代全国已有 29 个生物药厂、国家监察所和一部完整的规程。50 年代以来各个时期兽医生物制品的品种与比例见表 2。

迄至 1985 年版《兽医生物制品制造及检验规程》所载的我国兽医生物制品已有菌苗 24 种、38 个剂型,疫苗 14 种、29 个剂型,虫苗 1 种,抗病血清 6 种,诊断液 17 种、28 个品种。此外,尚有相当数量的中试品种在应用中,但未列入国家规程内。

表2 50年代以后各个时期兽医生物制品的品种与比例

| 年    | 抗病血清 | 菌 苗 |    | 疫 苗 |    | 合 计 | 血清:疫苗 | 灭活苗:活苗 |
|------|------|-----|----|-----|----|-----|-------|--------|
|      |      | 灭活  | 弱毒 | 灭活  | 弱毒 |     |       |        |
| 1952 | 11   | 6   | 2  | 5   | 4  | 28  | 11:17 | 11:6   |
| 1955 | 6    | 12  | 2  | 5   | 5  | 30  | 6:24  | 17:7   |
| 1959 | 6    | 13  | 4  | 5   | 9  | 37  | 6:31  | 18:13  |
| 1963 | 0    | 8   | 3  | 0   | 6  | 17  | 0:17  | 8:9    |
| 1973 | 8    | 13  | 4  | 2   | 11 | 38  | 8:30  | 15:15  |
| 1984 | 9    | 18  | 25 | 4   | 27 | 83  | 9:74  | 22:52  |

### 1.6.2 几种重要制品的发展简况

就我国几种重要的兽医生物制品的研制过程,可以得知科学技术在国民经济中的巨大作用。

牛瘟,是世界性的烈性传染病,以往在我国曾屡次暴发流行,尤以西南和西北地区为重,损失惨重。开始只能生产一些抗牛瘟血清以适应治疗和紧急控制疫情的需要,但始终达不到完全控制的目的。后来生产组织灭活疫苗,用于污染地区牛只的预防注射,逐渐控制了疫情,但由于成本高、产量低而很难在全国普遍推广应用。继而在40年代末开始,将牛瘟强毒通过生物学途径,经长时期的传代,终于育成了牛瘟兔化弱毒株,此后又根据地区特点、就地取材又发展为牛瘟兔化绵羊化弱毒疫苗,从此在全国范围内使用,最终消灭了牛瘟。

牛肺疫,曾在亚、非地区广泛流行,在我国27个省区流行过,严重地危害着养牛业。在50年代我国曾研制、使用牛传染性胸膜肺炎培养致弱菌株苗预防,但效果不理想。及至60年代育成牛肺疫兔化弱毒株,推广应用牛肺疫兔化弱毒疫苗、牛肺疫兔化绵羊适应弱毒疫苗和牛肺疫兔化藏系绵羊化弱毒疫苗后,至1995年方宣布在全国消灭牛肺疫,而兔化弱毒苗也为世界公认。

猪瘟,是影响养猪业发展的主要疾病之一,在我国各地普遍存在,以往的危害、损失更大。开始时也只能生产抗猪瘟血清用于被动免疫,但无法全面推广。自40年代前后生产猪瘟结晶紫疫苗,50年代国家全力生产使用,从而基本上控制了猪瘟的流行,收到了一定的效果。同时,进行了将猪瘟强毒株通过生物学途径,经数百代兔体传代育成了性状稳定、免疫原性优良的猪瘟兔化弱毒株,国外称为猪瘟弱毒中国株,从而在国内外广泛生产疫苗用以猪的免疫预防,获得了满意的效果。近年来,我国学者又将猪瘟兔化弱毒株在猪肾、羊肾和牛睾丸原代细胞上增殖制苗获得了成功,从而既降低了成本,又提高了产量。晚近,考虑到仔猪肾存在带野毒的可能和羊肾细胞苗毒价不够稳定等原因,优选出猪瘟兔化弱毒牛睾丸细胞疫苗作为法定疫苗用于免疫预防。

马传染性贫血,曾在世界50多个国家和地区发生过。在我国自30年代以来陆续由引进的军马、种马传入,至70年代几乎扩散到全国养马地区,造成的经济损失十分巨大。及至70年代末,我国才研制成功将马传贫强毒株通过驴体传代育成马传贫驴强毒株,继而将驴强毒株通过驴的白细胞传代育成马传贫驴白细胞弱毒株,并将其作为疫苗株生产疫苗,经国内外广泛应用表明安全有效。目前马传贫驴白细胞弱毒疫苗,已被国际所公认。

### 1.6.3 我国兽医生物药品监察制度和制造检验规程

生物制品是一种特殊商品,兽医生物制品也不例外,世界各国均有专门机构、法规加以管理。我国自1952年开始设立中国兽医药品监察所,负责制定法规、颁发制造及检验规程,以及

组织审定新制品, 收藏分发菌毒种和仲裁处理质量事件等。

(1) 机构与职能 国家设中国兽医药品监察所, 其任务是监督管理兽医生物制品, 监督管理化学药品。各生物药厂设立监察室, 负责全部制品的生产监督与质量检验, 并对合格产品签发合格证, 以及解决质量事故; 监察室有权代表中监所抽检各项产品, 并保管、鉴定、分发自中监所领来的菌毒种; 监察室有权了解、组织审查工艺改进, 以及监督厂各方项散毒措施的执行; 监察室的业务归国家中监所领导和指导。在过去, 各厂监察室均属国家中监所派出驻厂机构, 后来在 60 年代体制改变下放归厂管理。

(2) 规程与标准 国家制定《兽医生物药(制)品制造及检验规程》作为法定规范, 并不定期地进行修订和增补, 迄今已发布了 1957、1959、1963、1973、和 1993 年等版本。继而在 1993 年又颁布了《中华人民共和国兽医生物制品质量标准》, 共收载 138 个品种。《标准》包括总则、灭活疫苗 36 个、活疫苗 50 个、抗病血清 6 个、诊断制品 46 个。

(3) 成品检验 成品检验是各厂监察室的常规工作, 按国家颁布的质量标准、方法进行检验, 其内容和程序如下。

① 监察室在接到成品检验通知单后, 应及时按《规程》规定抽取检样。抽取样本中的部分作为留样保存, 其余部分作各种检验用。

② 无菌或纯粹检验, 灭活菌苗和血清类制品批量在 50 万毫升以下者, 每批抽取 5 瓶; 50—100 万毫升者抽样 10 瓶; 100 万毫升以上者抽 15 瓶; 同批冻干制品应每柜抽样 5 瓶; 诊断制品每批抽 5 瓶, 作为检验之用。

检验用培养基按制品性质分为四类: A. 血清、诊断制品和需氧性灭活菌苗, 多用马丁琼脂斜面或普通琼脂斜面、厌气肉肝汤、改良沙氏或不滴定 pH 普通琼脂斜面; 另用 50—100ml 厌气肉肝汤或马丁肉汤小瓶作增菌培养检验。B. 厌气性灭活菌苗, 用改良沙氏或不滴定 pH 普通琼脂和马丁肉汤琼脂斜面, 另用 50—100ml 厌气肉肝汤或马丁肉汤作增菌培养检验。C. 加抗生素的组织疫苗, 用改良沙氏或不滴定 pH 普通琼脂斜面, 另用 50—100ml 厌气肉肝汤或马丁肉汤小瓶作增菌培养检验。D. 弱毒活疫苗, 用马丁肉汤、厌气肉肝汤和血液琼脂、马丁琼脂或普通琼脂斜面, 另用改良沙氏或不滴定 pH 普通琼脂斜面作霉菌检验。

污染杂菌病原性鉴定, 一些加有抗生素的组织疫苗(禽胚组织苗、乳兔组织苗、血脾淋组织苗等)如污染需氧性杂菌, 应将其培养物移植于马丁肉汤内培养 24 小时, 取培养物用肉汤作 1:100 稀释后接种小鼠; 如污染厌氧菌或兼性厌氧菌时, 应将培养物作 65℃ 加热 30 分钟处理后移植于厌气肉肝汤培养 24 小时, 如有菌生长则取其培养物接种豚鼠, 观察 10 天。污染杂菌病原性检查的动物全部健活, 表明污染菌为非病原菌, 反之则为致病性菌。

非病原性杂菌污染计数, 将污染制品根据污染程度作适当稀释, 分别定量均匀地接种血液琼脂或马丁肉汤琼脂平板, 37℃ 培养 48 小时后再放置室温 24 小时, 计数杂菌菌落数。任何一瓶样本每克组织的非病原菌数不得超过各制品规定的杂菌数。

③ 活菌计数, 灭活菌苗的半成品需作菌数计数后方可配苗, 而弱毒活菌苗也要进行活菌计数合格后才能出厂。在活菌计数时, 冻干制品按原装量加入灭菌水溶化, 液体制品用原液, 然后用肉汤或蛋白胨水、灭菌水作适当稀释, 定量均匀地接种规定的平板培养基上(血液琼脂、马丁肉汤琼脂等), 37℃ 培养 48 小时后再放置室温 24 小时, 计数菌落数。

④ 安全检验, 各种制品均按《规程》规定进行安全性检验与判定。安全检验都用动物进行(本动物或实验动物), 若第 1 次检验因动物死亡或安全可疑时, 应以加倍的同种动物作重检, 如仍达不到安全标准则该批产品不合格。如安检动物在观察期间有意外死亡或损失时, 应作无结果



论，可以重检。安全检验应在厂内特定的单独动物舍内进行，不得在外作安检。死亡的安检动物都要进行检查（临床、剖检、病原分离），以明确原因。

⑤效力检验，各种制品的效力检验，应按《规程》规定进行，或用本动物、实验动物，或仅检测制品的毒价、效价。效检用动物等级，大动物以普通级为主，小动物（鼠、兔、鸡）以清洁级为好，当前都用封闭群动物，体重要均等。如免疫动物攻毒时仍保持规定保护头数以上时，仍可攻击强毒，攻毒后按《规程》保护头数标准判定。如果制品规定用一种小动物和本动物效检时，也可用小动物检验两次；如规定用本动物或小动物效检，在本动物效检不合格时，不可再用小动物效检；如效检的对照动物经强毒攻击后死亡数达不到《规程》规定头数时，检验作无结果论。

⑥物理性状检验，物理性状检验按制品性质分三类标准进行检查：液状疫苗与诊断液，无异物，无霉团，不变质，封口严密，装量准确，瓶签符合而清晰；血清制品，呈微带乳光橙黄色清朗的液体，无絮状物、沉淀和异物，装量、瓶签和封口均符合标准；冻干制品，为海绵状疏松物，呈微白、微黄或微红色，加入溶剂后5分钟内即溶解成均一的悬浮液。

⑦残余水分检验，冻干制品的残水量不得超过4%。多用烘烤法或卡氏法测定。

⑧真空度检验，无真空的冻干制品（失空）剔出报废。常用电火花真空检测仪检查。

（4）菌毒种管理 在我国，大部分生产检验和研究用菌毒种均由中国兽医药品监察所保藏、分发，少数由国家指定的研究所管理分发（如马传贫强、弱毒种由中国农业科学院哈尔滨兽医研究所负责，口蹄疫强、弱毒种由中国农业科学院兰州兽医研究所负责）。菌毒种的申领，除有关生产厂按规定向中监所直接申请发放外，其他实验研究用如牛瘟、口蹄疫、炭疽、猪瘟、狂犬病等强毒须经农业部审批后由中国兽医药品监察所分发，实验研究结束后就地销毁。

菌毒种发放，除应附有菌毒种鉴定单外，还应按规定要求运送、验收。生产用菌毒种在开产前尚须进行生产鉴定，合格后方能正式投入大批量生产。

（5）防止散毒 兽医生物制品生产、检验和实验研究与人兽疾病病原体有关，而且多属传染病的病原微生物，所以防止散播病菌病毒乃是监察制度的重要内容之一，必须严格执行。防止散毒的主要措施应包含：生产区与生活区分开，健康动物场与动物实验场分开，洁净区与污染区分开；凡强毒制品车间、解剖室、动物加工室、焚尸炉、贮粪池、污水处理池等地区划为疫区，疫区应有隔离消毒设施，进出人员都应严格消毒；一切污染物（粪、尿、垫料和病死动物、污水等）都应化制或焚烧；宰杀的污染动物除炭疽、开放性鼻疽、全身性结核、梭状芽孢菌和狂犬病动物焚毁化制外，其它动物可经除去病变部分后煮熟利用，可加工利用的动物皮、毛、鬃、骨、蹄、角等经消毒检验证明无毒后出厂，厂区内除经常保持清洁、定期消毒灭虫灭鼠外，严禁犬、猫、禽等动物进入，对从事布氏杆菌、狂犬病、日本乙型脑炎等人兽共患性疾病制品的人员，应在从事工作前进行免疫接种。

（6）新制品、新工艺研究 凡属于厂方生产品种的生产工艺改进，可由厂方审核后报中国兽医药品监察所备案后即可采用；凡属本厂产品的制造线路、方法和产品检验方法等重大改革，其效果不低于原线路、方法的标准，并有3—5批量产品的试验数据、结果者，可报中国兽医药品监察所审批后，再进行扩大中试和试用后，经国家规程委员会会议审定后列入新版《规程》；凡属我国新制品，具备实验室完整资料、中试阶段完整资料和区域试验完整资料者，可报送中国兽医药品监察所转国家规程委员会会议审定后列入《规程》进行全国性试生产和推广试用。

（7）保管与使用 兽医生物制品的科学保管与使用乃是保证制品质量稳定和防疫效果的重要环节。根据生物制品特性，应储存于冷暗处，按性质分类、分批存放在不同的低温下（0—5℃冷