

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2018.04.04

禽用活疫苗外源病毒污染情况的调查研究

刘 丹,侯力丹,李启红,黄小洁,李俊平,杨承槐*

(中国兽医药品监察所,北京 100081)

[收稿日期] 2017-05-31 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2018) 04-0019-07 [中图分类号] S852.65

[摘 要] 为对禽用活疫苗污染外源病毒的情况进行彻底摸底调查,抽取了目前使用量大、覆盖面广的禽用活疫苗重点品种共 8 种 28 批,涉及 18 家国内生产企业、7 家国外企业,疫苗生产用 SPF 鸡胚来自国内 8 家企业。按照《中国兽药典》2010 年版三部鸡检查法和《欧洲药典》对抽检的禽病活疫苗进行了外源病毒污染和禽腺病毒污染检验。结果显示所抽检的禽用活疫苗均无外源病毒污染和禽腺病毒污染,表明我国禽用活疫苗的质量控制和安全性良好。

[关键词] 禽用活疫苗;外源病毒;腺病毒;污染

Investigation about the Extraneous Virus Contaminations of the Avian Live Vaccines

LIU Dan, HOU Li-dan, LI Qi-hong, HUANG Xiao-jie, LI Jun-ping, YANG Cheng-huai*

(China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China)

Corresponding author: YANG Cheng-huai, E-mail: yangchenghuai@ivdc.org.cn

Abstract: In order to investigate the extraneous virus contaminations of the avian live vaccines, the avian live vaccines which were widely used and covered were extracted, involving 18 domestic production enterprises, 7 foreign enterprises, the SPF chicken embryo used for the vaccine production were came from eight domestic enterprises. According to chicken test of "the Veterinary Pharmacopoeia of the People's Republic of China" (2010) and "Investigation Plan into the Group I Adenovirus Contaminations of the Avian Live Vaccines", the common extraneous viruses and group I adenovirus were tested. The results showed that the 28 batches avian live vaccines were not contaminated with extraneous viruses and group I adenovirus, indicating the quality control and safety of the avian live vaccines were good.

Key words: avian live vaccines; extraneous virus; group I adenovirus; contamination

基金项目: 国家重点研发计划“畜禽重大疫病防控与高效安全养殖综合技术研发”重点专项(2016YFD0500800, 2016YFD0500809)

作者简介: 刘 丹,助理研究员,从事禽用疫苗检验及相关研究工作;侯力丹,助理研究员,从事禽病毒类生物制品检验及研究工作,为共同第一作者。

通讯作者: 杨承槐。E-mail: yangchenghuai@ivdc.org.cn

兽用疫苗的安全性一直是企业、养殖户和监管部门非常重视的问题。由于疫苗的生产原材料如组织、细胞、血清等大多来源于动物,因此疫苗产品存在外源病毒污染的风险^[1-3]。污染了外源病毒的疫苗不仅不能预防和控制疾病,反而造成疾病爆发和扩散,对人和养殖业造成巨大危害,所以实施系统性的检测和采取严格的预防措施可以有效降低外源病毒污染的风险。

近年来发生的禽用活毒疫苗污染事件,以禽白血病病毒(Avian leucosis virus,ALV)^[4-5]、网状内皮组织增生症病毒(Reticuloendotheliosis virus,REV)^[6-7]和鸡传染性贫血病毒(Chicken infectious anemia virus,CAV)^[8-9]较为常见。如果禽用活疫苗混有ALV、REV和CAV等外源病毒,在使用污染的疫苗时会加剧该疫病的传播,并且这些疾病可引

起免疫抑制、免疫失败或直接导致免疫动物发病,影响正常疫苗免疫效果^[10]。

进行禽用活疫苗外源病毒污染的检验,对确保疫苗质量和产品安全方面具有重要作用。为对禽用活疫苗污染外源病毒的情况进行摸底调查,试验抽取了18家国内生产企业、7家国外企业生产的禽用活疫苗重点品种,按照《中国兽药典》2010年版三部外源病毒检验^[11]鸡检查法和《欧洲药典》对抽检的禽病活疫苗进行了外源病毒污染和禽腺病毒(Group I adenovirus,FAvV-I)污染检验,为更好监控疫苗安全性提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 疫苗 共抽检禽用活疫苗8种28批(表1)。

表 1 国内外企业抽检的疫苗
Tab 1 Vaccines of domestic and foreign enterprises

疫苗品种	批数	涉及生产企业数	国产/进口
鸡新城疫活疫苗(La Sota 株)	3	3	国产
鸡新城疫、传染性支气管炎二联活疫苗(La Sota 株+H120 株)	3	3	国产
鸡传染性法氏囊病活疫苗(B87 株)	3	3	国产
鸡传染性喉气管炎活疫苗	2	2	国产
鸡传染性喉气管炎活疫苗(K317 株)	1	1	国产
鸡痘活疫苗(鹌鹑化弱毒株)	3	3	国产
鸡马立克氏病火鸡疱疹病毒活疫苗(FC-126)	1	1	国产
鸡马立克氏病活疫苗(814 株)	1	1	国产
鸡马立克氏病活疫苗(CVI988/Rispens 株)	1	1	国产
鸡传染性法氏囊病活疫苗(M.B.株)	1	1	进口
鸡传染性法氏囊病活疫苗(W2512 G-61 株)	1	1	进口
鸡传染性法氏囊病复合冻干活疫苗(2512 株)	1	1	进口
鸡传染性法氏囊病活疫苗(CH/80 株)	1	1	进口
鸡传染性法氏囊病活疫苗(D22 株)	1	1	进口
鸡传染性支气管炎活疫苗(Ma5 株)	1	1	进口
鸡传染性喉气管炎活疫苗(serva 株)	1	1	进口
鸡传染性喉气管炎活疫苗	1	1	进口
鸡马立克氏病Ⅰ、Ⅲ型二价活疫苗	1	1	进口
鸡病毒性关节炎活疫苗(S1133 株)	1	1	进口

[illegible]

表 3 外源病毒检验结果(临床观察、HI 和 AGP 结果)

Tab 3 The results of extraneous virus test(Clinical observations, HI, and AGP)

疫苗品种	生产企业	临床观察	HI 结果				琼脂扩散试验	
			NDV 抗体	AIV 抗体		EDSV 抗体	MDV 抗体	FadV- I 抗体
				H5	H9			
鸡新城疫活疫苗(La Sota 株)	国内企业 1	10/10 健活	10/10 阳性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
	国内企业 2	10/10 健活	10/10 阳性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
	国内企业 3	10/10 健活	10/10 阳性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
鸡新城疫、传染性支气管炎二联活疫苗(La Sota 株+H120 株)	国内企业 4	10/10 健活	10/10 阳性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
	国内企业 5	10/10 健活	10/10 阳性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
	国内企业 6	10/10 健活	10/10 阳性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
鸡传染性法氏囊病活疫苗(B87 株)	国内企业 7	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
	国内企业 8	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
	国内企业 9	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
鸡传染性喉气管炎活疫苗	国内企业 10	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
	国内企业 11	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
鸡传染性喉气管炎活疫苗(K317 株)	国内企业 12	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
鸡痘活疫苗(鹌鹑化弱毒株)	国内企业 13	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
	国内企业 14	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
	国内企业 15	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
鸡马立克氏病火鸡疱疹病毒活疫苗(FC-126)	国内企业 16	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	5/10 阳性	10/10 阴性
鸡马立克氏病活疫苗(814 株)	国内企业 17	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	4/10 阳性	10/10 阴性
鸡马立克氏病活疫苗(CVI988/Rispens 株)	国内企业 18	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	4/10 阳性	10/10 阴性
鸡传染性法氏囊病活疫苗(M.B.株)	国外企业 1	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
鸡传染性法氏囊病活疫苗(W2512 G-61 株)	国外企业 2	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
鸡传染性法氏囊病复合冻干活疫苗(2512 株)	国外企业 3	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性

续表								
疫苗品种	生产企业	临床观察	HI 结果			琼脂扩散试验		
			NDV 抗体	AIV 抗体		EDSV 抗体	MDV 抗体	FadV-1 抗体
				H5	H9			
鸡传染性法氏囊病活疫苗 (CH/80 株)	国外企业 4	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
鸡传染性法氏囊病活疫苗 (D22 株)	国外企业 5	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
鸡传染性支气管炎活疫苗 (Ma5 株)	国外企业 6	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
鸡传染性喉气管炎活疫苗 (serva 株)	国外企业 6	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
鸡传染性喉气管炎活疫苗	国外企业 7	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性
鸡马立克氏病I、Ⅲ型二价活疫苗	国外企业 3	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	5/10 阳性	10/10 阴性
鸡病毒性关节炎活疫苗 (S1133 株)	国外企业 3	10/10 健活	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性	10/10 阴性

3 讨 论

疫苗的预防接种是目前有效控制家禽疫病的重要手段之一,但由于病毒类制品在毒种选育和生产过程中经常使用动物或细胞培养,因此有可能造成外源病毒的污染。常见的外源病毒污染有 REV、ALV 和 CAV 等,这些病毒的共同特点是:既可以水平传播,也可以垂直传播,感染后能引起免疫抑制,没有相应的疫苗防控。因此,一旦鸡群感染这些病原,将会引起严重的经济损失^[12]。为了保证产品质量,需要对毒种、细胞和成品进行外源病毒的检测,我国常用的外源病毒检验方法有鸡胚检查法、细胞检查法和鸡检查法。鸡检查法一般不用,只在用鸡胚检查法进行外源病毒检验无结果或可疑时,用鸡进行检验^[11-13]。

除了上述常见的外源病毒污染外,近年来 I 群禽腺病毒(FAdV-1)疫情爆发受到高度重视。通过查阅比较了国内外有关禽病活疫苗禽腺病毒污染控制的方法,发现我国、美国及欧洲对禽病活疫苗成品进行外源病毒检验时均无专门针对 I 群 FAdV 检验的方法,《欧洲药典》对基础种毒的外源病毒检验需用鸡检查法,该方法规定需对 I 群 FAdV 进行检测。而我国对基础种毒外源病毒的检验未强制

使用鸡检查法,且我国目前的鸡检查法中也没有对 I 群 FAdV 检测的要求。

研究中采用的检验方法是借鉴《欧洲药典》2.6.24 "6.Test For Extraneous Agents Using Chicks"。即:取 2~5 周龄的 SPF 鸡 10 只,点眼接种 10 羽份疫苗,肌肉注射 100 羽份疫苗,2 周后,按上述方法和剂量重复接种 1 次。接种后每天观察 SPF 鸡状态。第 2 次接种后 21 日采血,用琼脂扩散试验方法、ELISA 方法或间接免疫荧光方法检测 I 群 FAdV 抗体。试验用的试验动物数量和免疫程序,虽与《中国兽药典》2010 年版三部鸡检查法不一致,但由于该方法与《欧洲药典》鸡检查法一致,所以试验的外源病毒检测结果是有效和具有说服力的^[14]。

试验抽取了 18 家国内生产企业、7 家国外企业生产的禽用活疫苗重点品种,结果显示所抽检的禽用活疫苗均无外源病毒污染和禽腺病毒污染,表明我国禽用活疫苗的质量控制和安全性良好。为了保证生物制品安全,所有起始材料和最终产品都必须检测潜在污染物。尽管如此,污染风险还不能完全排除,只是尽可能降低。对于新发现的风险因子并没有具体规定和检测方法,应该采取什么措施才能最大程度地提高安全性值得考虑。

参考文献:

- [1] Pastoret P P. Human and animal vaccine contaminations [J]. Biologicals, 2010, 38 (3) : 332-334.
- [2] Levings R L, Wilbur L A, Evermann J F, *et al.* Abortion and death in pregnant bitches associated with a canine vaccine contaminated with bluetongue virus [J]. Developments in Biological Standardization, 1996, 88 (2) : 219-220.
- [3] Dodet B, Hesselink W, Jungback C, *et al.* Viral safety and extraneous agents testing for veterinary vaccines [J]. Biologicals, 2010, 38 (3) : 326-331.
- [4] Zavala G, Cheng S. Detection and characterization of avian leukosis virus in Marek's disease vaccines [J]. Avian Diseases, 2006, 50 (2) : 209-215.
- [5] Fadly A, Silva R, Hunt H, *et al.* Isolation and characterization of an adventitious avian leukosis virus isolated from commercial Marek's disease vaccines [J]. Avian Diseases, 2006, 50 (3) : 380-385.
- [6] Awad A M, Abd EI-Hamid H S, Abou Rawash A A, *et al.* Detection of reticuloendotheliosis virus as a contaminant of fowl pox vaccines [J]. Poultry Science, 2010, 89 (11) : 2389-2395.
- [7] Jing W, Zhong L, Peng Z, *et al.* Isolation of reticuloendotheliosis virus from a fowlpox live vaccine and env gene sequence analysis [J]. Chinese Journal of Animal Infectious Diseases, 2010, 18 : 35-39.
- [8] Amer H M, Elzahed H M, Elabiare E A, *et al.* An optimized polymerase chain reaction assay to identify avian virus vaccine contamination with chicken anemia virus [J]. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 2011, 23 (1) : 34-40.
- [9] 邵红霞, 王平平, 武 敏, 等. 家禽活疫苗中鸡传染性贫血病毒 PCR 检测方法的建立 [J]. 中国家禽, 2012, 21 : 28-30.
- Shao H X, Wang P P, Wu M, *et al.* A rapid PCR approach for detecting the contamination of chicken anemia virus in avian live vaccine [J]. China Poultry, 2012, 21 : 28-30.
- [10] 饶明章, 袁丽霞, 赵子君, 等. 浅谈禽用活毒疫苗污染外源病毒问题 [J]. 养禽与禽病防治, 2016, 3 : 2-8.
- Rao M Z, Yuan L X, Zhao Z J, *et al.* Discussion on the problem of contaminated exogenous virus of avian live vaccine [J]. Poultry Husbandry and Disease Control, 2016, 3 : 2-8.
- [11] 中国兽药典 2010 年版三部 [S].
Veterinary pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2010 (Ⅲ) [S].
- [12] 李慧姣. 禽用病毒性活疫苗外源病毒污染现状 [J]. 中国家禽, 2010, 32 (22) : 37-38.
- Li H J. The exogenous virus pollution status of chicken viral live vaccine [J]. China Poultry , 2010, 32 (22) : 37-38.
- [13] 庄金秋, 梅建国, 刘晓倩, 等. 部分禽源生物制品外源病毒的检测 [J]. 动物医学进展, 2011, 33 (4) : 121-125.
- Zhuang J Q, Mei J G, Liu X Q, *et al.* Detection of exogenous virus of some poultry source biological products [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2011, 33 (4) : 121-125.
- [14] 欧洲药典 2014 年第八版 [S].
European pharmacopoeia, 2014 (Ⅷ) [S].

(编 辑:李文平)