

鸡球虫病活疫苗（标准草案）

Ji Qiuchongbing Huoyimiao

Coccidiosis Vaccine for Chickens, Live

1 定义

本品系用鸡球虫(鸡柔嫩艾美耳球虫或毒害艾美耳球虫或堆型艾美耳球虫或巨型艾美耳球虫)的适宜虫种经口接种无球虫感染健康易感鸡，收获卵囊、经纯化，置适宜溶液经适宜条件下孵育，获得孢子化卵囊制成疫苗。用于预防鸡球虫病。

2 虫种

2.1 生物学特性 应在该球虫寄生相对应部位寄生且表现出其相应形状：柔嫩艾美耳球虫应寄生于鸡的盲肠，卵囊呈宽卵圆形；或毒害艾美耳球虫应寄生于鸡的小肠中段，卵囊呈长卵圆形；或堆型艾美耳球虫应寄生于鸡的十二指肠，卵囊呈卵圆形；或巨型艾美耳球虫应寄生于鸡的小肠近端和中段，卵囊呈卵圆形。虫种的大小、形状指数及潜隐期应符合相应艾美耳球虫的虫种特性。

2.2 药物敏感性 柔嫩艾美耳球虫（或毒害艾美耳球虫或堆型艾美耳球虫或巨型艾美耳球虫），均对相应的抗球虫药物敏感。

2.3 对 SPF 鸡的毒力 用产品推荐使用最小日龄的 SPF 鸡 20 只，随机分成 2 组，感染组 10 只鸡，每只经推荐使用途径接种 10 个推荐使用剂量的该早熟减毒株孢子化卵囊；另 10 只鸡不免疫作为空白对照组，置隔离器中饲养，观察 7 日，应不出现该球虫引起的特异性症状：柔嫩艾美耳球虫感染鸡应不出现排鲜红色血便，或毒害艾美耳球虫感染鸡应不出现排粘稠血便，且均不出现精神萎靡、羽毛逆立，缩头闭眼，扎堆表现；或巨型艾美耳球虫感染鸡应不出现水样黄褐色粪便或粘液样粪便，且不出现精神不振、脱水引起的鸡爪干瘪表现；或堆型艾美耳球虫感染鸡应不出现排粘液粪便或未消化的饲料便，且感染鸡临床表现正常。分别称量感染组与空白对照组鸡体重，计算相对增重率，柔嫩艾美耳球虫感染鸡相对增重率应不低于 90%，或毒害艾美耳球虫感染鸡相对增重率应不低于 85%，或巨型艾美耳球虫感染鸡相对增重率应不低于 85%，或堆型艾美耳球虫感染鸡相对增重率应不低于 90%。剖检所有试验鸡，按病变记分标准进行评分（附注），感染组各试验鸡该球虫虫种对应的寄生部位病变记分均不应高于 1 分，空白对照组各试验鸡该球虫虫种对应的寄生部位均无病变。

2.4 毒力返强 取最低代次的基础虫种口服感染接种产品推荐使用日龄的 SPF 鸡 10 只，收集该虫种潜隐期之后一定时间内排出的含卵囊粪便，混匀后取样计算其 OPG 和卵囊总量，评价其繁殖性能，同时将收集的子代卵囊经分离纯化、孢子孵化发育获得孢子化卵囊，记为第 1 代，按照第一次传代相同的途径连续接种继代，共传代 5 代次（含首次接种），观察记录每次接种后 SPF 鸡精神状态、粪便状态等临床症状及剖检后的肠道病变记分。第 5 代接种后观察 21 日，应不出现该球虫引起的症状和肠道病变。非选择性连续传代 5 代次内的子代卵囊潜隐期、繁殖性能应稳定，且不应出现该虫种引起的临床症状和明显肠道病变，子代卵囊对 SPF 鸡的致病力无发生明显变化，毒力稳定。

2.5 免疫原性 用产品推荐使用日龄的 SPF 鸡 30 只，随机分成 3 组，每组 10 只。免疫组各经推荐使用途径接种最小免疫剂量的该早熟减毒株孢子化卵囊；另 2 组不免疫，分别作为空白对照组和攻虫对照组，置隔离器中饲养。接种后 21 日，免疫组和攻虫对照组各经口感染推荐攻虫剂量的该球虫强毒株孢子化卵囊。观察攻虫后发病情况：柔嫩艾美耳球虫感染后 5 日，攻虫对照组应出现排鲜红色血便，发病鸡精神萎靡、羽毛逆立，缩头闭眼，扎堆；或毒害艾美耳球虫感染后 6 日，攻虫对照组应出现排粘稠血便，发病鸡精神萎靡、羽毛逆立，缩头闭眼，扎堆；或巨型艾美耳球虫感染后 6 日，攻虫对照组应出现水样黄褐色粪便或粘液

样粪便，发病鸡精神不振、脱水引起的鸡爪干瘪；或堆型艾美耳球虫感染后 5 日，攻虫对照组应出现排粘液粪便或未消化的饲料便，观察结束时，免疫组和空白对照组均应不出现上述临床症状。剖检所有试验鸡，按病变记分标准进行评分（附注）。攻虫对照组至少 9 只该球虫虫种对应的寄生部位病变记分均应不少于 3 分；免疫组至少 8 只该球虫虫种对应的寄生部位病变记分均应不高于 1 分；空白对照组该球虫虫种对应的寄生部位均应无病变。

2.6 纯粹检验 用 7~21 日龄 SPF 鸡 20 只，其中，感染组 10 只鸡，各经口感染推荐使用剂量的该早熟减毒株孢子化卵囊，另 10 只为空白对照组，置隔离器中饲养。感染组试验鸡感染潜隐期后粪检应发现卵囊，在 10×40 倍显微镜下测量 30~50 个卵囊，卵囊应符合 2.1 中该虫种的生物学特性；若为感染柔嫩艾美耳球虫或堆型艾美耳球虫的试验鸡，感染后第 5 日剖检；若为感染毒害艾美耳球虫或巨型艾美耳球虫的试验鸡，感染后第 6 日剖检；感染球虫对应的寄生部位应出现相应球虫引起的病变，其他肠段应无球虫引起的病变；空白对照组所有试验鸡各肠段均应无病变，粪检应无卵囊。

2.7 虫种鉴定 取 1ml 卵囊液，作适当稀释，在 10×40 倍显微镜下观察并测量 30~50 个卵囊，卵囊应符合相应该球虫虫种的生物学特性。

2.8 虫种代次限定 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

生产用鸡应为 4 周龄以内的健康易感鸡，粪便检查应无球虫卵囊。

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 卵囊计数 用计数板进行卵囊计数，计算每羽份疫苗的孢子化卵囊数，应为产品规定孢子化卵囊数量范围内。

4.3 安全检验 用推荐使用最小日龄的 SPF 鸡 20 只，随机分为 2 组，每组 10 只，其中 1 组各经推荐使用途径接种疫苗 10 个推荐使用剂量作为接种组，另 1 组不免疫作为空白对照组。分置隔离器内饲养，免疫后观察 7 日，所有试验鸡均应健活，且应不出现由疫苗引起的球虫病症状，包括精神沉郁，食欲减退，腹泻，血便及死亡。剖检所有试验鸡，按“病变记分标准”对肠道部位的病变进行记分（附注）。所有接种组鸡相应肠道病变记分均不应超过 1 分；空白对照组所有鸡的相应部位均应无病变。

4.4 效力检验 用推荐使用日龄的 SPF 鸡 30 只，随机分为 3 组，每组 10 只，其中免疫组鸡各经推荐使用途径接种疫苗 1 个推荐使用剂量，另 2 组不免疫，分别作为空白对照组和攻虫对照组，分置隔离器中饲养。免疫接种后 21~28 日进行攻虫试验，分别灌服与生产虫种对应的强毒虫种推荐攻虫剂量的球虫孢子化卵囊，攻虫后观察：柔嫩艾美耳球虫感染后 5 日，攻虫对照组应出现排鲜红色血便，发病鸡精神萎靡、羽毛逆立，缩头闭眼，扎堆；或毒害艾美耳球虫感染后 6 日，攻虫对照组应出现排粘稠血便，发病鸡精神萎靡、羽毛逆立，缩头闭眼，扎堆；或巨型艾美耳球虫感染后 6 日，攻虫对照组应出现水样黄褐色粪便或粘液样粪便，发病鸡精神不振、脱水引起的鸡爪干瘪；或堆型艾美耳球虫感染后 5 日，攻虫对照组应出现排粘液粪便或未消化的饲料便，观察结束时，免疫组和空白对照组均应不出现上述临床症状，剖检所有试验鸡，按“病变记分标准”对肠道部位的病变进行记分（附注）。各攻虫对照组至少 9 只鸡相应肠道病变记分均应不少于 3 分；各免疫组至少 8 只鸡相应肠道病变记分均不应高于 1 分；空白对照组所有鸡的相应部位均应无病变。

5 注意事项

5.1 疫苗仅限于健康易感鸡只免疫，仅用于预防鸡球虫病。

5.2 疫苗接种前 24 小时及接种后两周内不得使用抗球虫药物。

附注：病变记分标准

1 柔嫩艾美耳球虫引起的盲肠病变（两侧盲肠病变不一致时，以严重一侧为准）。

0分 无肉眼可见病变。

1分 盲肠内容物正常，肠壁黏膜面可见少量散在出血点，或出血斑。

2分 盲肠内容物带血，肠壁黏膜面出血点或出血斑数量较为密集，肠壁增厚。

3分 盲肠轻度肿大，肠腔内没有正常的盲肠粪便，肠道黏膜增厚，盲肠腔内充满暗红色血液或出现盲肠芯（呈灰白色干酪样香蕉型块状物）。

4分 盲肠高度肿大，盲肠腔内没有盲肠粪或已被包在肠芯中，肠腔内充满坏死凝血块和盲肠黏膜碎片。因本球虫致死的鸡记为4分。

2 毒害艾美耳球虫引起的小肠中段病变

0分 无肉眼可见病变。

1分 小肠中段浆膜面可见针尖状大小散在的出血点和白点，肠腔内可见少量橘红色内容物，肠壁略增厚。

2分 肠壁增厚，浆膜面有大量的出血点和白点，小肠中段出现轻度胀气，肠腔局部混有凝血块。

3分 浆膜面布满红色出血点和白点，肠腔鼓气扩张，肠壁明显增厚，整个肠内容物中含有多量的血凝块和坏死脱落的上皮组织，肠黏膜面粗糙，没有正常的肠内容物。

4分 小肠中段高度肿胀，肠段出现萎缩、明显缩短，病变延伸至十二指肠和小肠后段，小肠内容物中含有酱油色或棕色粘液，肠道黏膜出血，坏死。因本球虫致死的鸡记为4分。

3 巨型艾美耳球虫引起的小肠中段病变

0分 无肉眼可见病变。

1分 小肠中段黏膜面可见较小的出血点，肠腔中有少量桔黄色粘液。

2分 小肠中段出现轻度胀气，浆膜面可见许多出血点，延伸至十二指肠，肠腔内可见大量的桔黄色粘液。

3分 肠管扩张，没有正常的肠内容物，肠内容物混有血凝块和桔黄色粘液，肠壁变薄，黏膜面粗糙。

4分 肠管肿胀，肠内容物粘稠，呈红棕色，并混有大量血凝块，呈淡洗肉水色，肠黏膜充血、出血、脱落。因本球虫致死的鸡记为4分。

4 堆型艾美耳球虫引起的十二指肠病变

0分 无肉眼可见病变。

1分 十二指肠浆膜面和黏膜面均可见有散在横纹状白斑，横向排列，外观呈梯形。

2分 病变较为密集，但未融合，十二指肠黏膜上覆以横向排列的横纹状白斑，外观呈梯状，病变延伸至空肠，消化道内容物较稀薄，肠黏膜增厚。

3分 十二指肠黏膜面可见密集的灰白色病灶，病变延伸至卵黄囊蒂处，肠道苍白，肠腔内有多量水分，内容物呈水样液体。

4分 十二指肠黏膜面呈浅灰色，横纹状白斑完全融合，肠腔内充满奶油状渗出物，肠壁增厚，因本球虫致死的鸡记为4分。

起草说明：

1.本标准参考了国内已经批准的鸡球虫病活疫苗多价疫苗工艺规程，考虑到不同虫株不同致病性和不同的寄生部位的复杂性，故选择常见的柔嫩艾美耳球虫、或毒害艾美耳球虫、或堆型艾美耳球虫、或巨型艾美耳球虫，以单价球虫来起草编写，考虑到其通用性或普适性，

同时兼顾了四种艾美耳球虫中可能的每一种情形。本标准属于首次起草。

2. 修订完善“定义”项，简化表述。

3. 虫种项下的安全性修改为“对 SPF 鸡毒力”，分别针对常见的四种艾美耳球虫中每种虫种增加了临床观察指标、相对增重率。接种日龄表述为推荐使用最小日龄。

4. 虫种项下增加了毒力返强标准。第 5 代接种后观察时间与观察指标与毒力标准要求基本一致。

5. 虫种项下的免疫原性鉴定和成品检验项下的效力检验，增加了攻虫后对照组的临床症状，同时把病变记分标准以附注的形式列出。

6. 虫种项下的纯粹检验标准，仅保留感染剖检法，依据 2024 年第 11 次会议审查意见，删除 PCR 法。

7. 生产用原辅料中，简化了健康易感鸡标准表述。

8. 标准中不作具体操作性描述，删除了添加薄膜的规定。

9. 疫苗的安全和效力检验“经口免疫”修改为“推荐使用途径”。

10. 删除了助悬剂质量标准的内容和注意事项中 5.2“接种前应用球虫疫苗助悬剂稀释疫苗”，因为有的疫苗使用途径为非口服。

11. 进一步完善了“附注：病变记分标准”，同时明确了不同虫种的观察部位。所以在疫苗安全检验和效力检验中删除了“（柔嫩艾美耳球虫检查盲肠；巨型及毒害艾美耳球虫检查小肠中段；堆型艾美耳球虫检查十二指肠）”。

12. 对于虫种的毒力测定和疫苗的安全检验的观察时间没有采纳“观察 21 日”，原因如下：（1）鸡球虫的生活史为 5~7 日，包括孢子生殖、裂殖生殖和配子生殖 3 个发育阶段；其中鸡体内发育阶段包括裂殖生殖和配子生殖，球虫体内发育阶段引起相应寄生部位（十二指肠、小肠或盲肠）肠上皮细胞损伤，从而出现临床发病症状，解剖可见相应寄生部位的特征性病变。（2）球虫是自身限制性疾病，鸡感染一次球虫后，如不再重复感染，球虫就不会长期寄生于宿主体内，而是在完成配子生殖后全部形成卵囊排出体外。（3）球虫卵囊排出体外，肠道黏膜没有继续受到球虫损害，寄生部位细胞修复，恢复正常机能，鸡体出现代偿生长，随着饲养或观察时间延长，鸡体重得到恢复，感染鸡与正常鸡的体重差异缩小或无差异。