

附件 7. 猪伪狂犬病活疫苗（标准草案）

猪伪狂犬病活疫苗

Zhu Weikuangquanbing Huoyimiao

Swine Pseudorabies Vaccine, Live

1 定义 本品系用猪伪狂犬病病毒弱毒株接种适宜细胞培养，收获细胞培养物，加入适宜保护剂，经冷冻真空干燥制成。用于预防猪伪狂犬病。

2 毒种

2.1 安全性

2.1.1 对仔猪的安全性 用推荐使用最小日龄健康易感仔猪，每种推荐使用途径接种数量不少于 10 头，各接种病毒液 10 个推荐使用剂量，接种后至少观察 21 日。观察期内，所有接种猪应体温正常，无精神沉郁、食欲减退、呼吸急促、以及肌肉震颤、流涎、歪头、共济失调、角弓反张、抽搐、转圈、侧卧划水状运动等伪狂犬病典型临床症状。

2.1.2 对神经系统的安全性 用 3~5 日龄健康易感仔猪至少 10 头，各经鼻内途径接种病毒液不少于 10 个推荐使用剂量，至少观察 21 日。所有仔猪应均健活，且应不出现由疫苗毒种接种引起的神经系统异常症状。

2.1.3 对妊娠母猪的安全性 用妊娠 70~90 日龄健康易感母猪 5 头，各经肌肉注射接种病毒液不少于 10 个推荐使用剂量，同时设不免疫对照母猪 5 头，观察至分娩。母猪应无流产、死胎、弱仔等繁殖障碍，所产仔猪的活仔率、健仔率等与对照组相比，应无统计学差异；所产仔猪吮吸初乳前血清中抗伪狂犬病病毒抗体应为阴性；对出现异常的仔猪，检测肝脏和肺脏中的伪狂犬病病毒抗原，应为阴性。

2.1.4 对绵羊的安全性 用 6~18 月龄健康易感绵羊 2 只，各肌肉注射接种病毒液 1 个推荐使用剂量，接种后至少观察 21 日，观察期内，绵羊体温应正常，且无伪狂犬病相关临床症状及死亡。

2.2 毒力返强 用最易感日龄的健康易感仔猪 2~5 头，经肌肉注射接种病毒液不少于 1 个推荐使用最大剂量，接种后在猪伪狂犬病病毒增殖高峰期，采集肺脏组织，经适当处理作为继代接种物，连续传代 5 代，且最后一代（第 5 代）接种健康易感猪应不少于 10 头。每一次接种或继代后，应连续观察 21 日，应无猪伪狂犬病临床症状，与第 1 次传代相比较，应无毒力返强现象。

2.3 免疫原性 用 21~28 日龄健康易感仔猪，每种推荐使用途径接种不少于 5 头，各接种病毒液 1 个最小免疫剂量，接种后 21 日，连同对照猪 5 头，用适宜猪伪狂犬病病毒强毒株进行攻毒，连续测量 7 日体温，至少观察 14 日。对照猪应至少 4 头发病（出现体温升高、神经症状等特异性临床症状或死亡），免疫猪应至少 4 头保护。

对于说明书明确用于母猪接种提供仔猪被动免疫保护的制品，应经推荐免疫途径接种不少于 4 头健康易感妊娠母猪，各接种病毒液 1 个最小免疫剂量，同时设同条件对照母猪 2 头。在所产仔猪第 6~10 日龄时，用适宜猪伪狂犬病病毒强毒株进行攻毒，攻毒后至少观察 21 日。与对照母猪所产仔猪相比，免疫母猪所产仔猪的保护率应不低于 80%。

2.4 水平传播 用 21~28 日龄健康易感仔猪 5 头，各接种病毒液不少于 1 个推荐使用最大剂量，接种后 1 日，将对照猪 5 头，与免疫猪同居饲养进行水平传播试验，免疫猪和同居猪之间应无水平传播（自接种前 1 日至接种后 10 日，逐日采集鼻拭子和口腔拭子，选取适宜的检测方法分别对口鼻分泌物样品进行检测，采集的分泌物中应分离不出病毒）。同居

4~5 周，所有同居猪采血、分离血清，检测相应抗体，抗体检测结果应为阴性。

2.5 纯净

2.5.1 无菌检验 按附录 3306 进行检验，应无菌生长。

2.5.2 支原体检验 按附录 3308 进行检验，应无支原体生长。

2.5.3 外源病毒检验 按附录 XX（外源病毒检验的一般要求）和附录 3305 进行检验，应无外源病毒污染。必要时，采用分子生物学方法或者猪检查法检测，应无其他病毒污染。

2.6 毒种基因检测 采用适宜的 PCR 方法进行基因检测与鉴定。若为人工基因缺失制备的毒株，至少 TK、gE 基因检测为阴性。

2.7 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 生产原辅料

3.1 若用细胞生产，细胞应符合附录 3502 要求。

3.2 培养基 应符合附录 3009 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 支原体检验 按附录 3308 进行检验，应无支原体生长。

4.3 外源病毒检验 按附录 3305 进行检验，应无外源病毒污染。

4.4 鉴别检验 用适宜的基因鉴定 PCR 检测法，应缺失该疫苗毒株相关基因。

4.5 安全检验 用 21~28 日龄健康易感仔猪 5 头，各肌肉注射疫苗 10 个推荐使用剂量，连续观察 14 日，应不出现由疫苗引起的全身和局部不良反应。

4.6 病毒含量测定 用含 2%新生牛血清的 DMEM 细胞培养液将疫苗稀释为 1 个推荐使用剂量/ml，再作 10 倍系列稀释，取 4 个适宜稀释度，分别接种已长成良好单层（弃去细胞培养液）的 96 孔适宜细胞培养板，每个稀释度接种 4~6 孔，每孔 0.1ml，同时设正常细胞对照 4~6 孔。置 37℃、含 5%CO₂ 培养箱中培养 5~7 日，观察 CPE，按 Reed-Muench 法计算 TCID₅₀。每头份疫苗病毒含量应不低于说明书标示量。

4.7 效力检验 用 21~28 日龄健康易感仔猪 5 头，各颈部肌肉注射疫苗 1 个推荐使用剂量。接种后 21 日，连同不接种的攻毒对照仔猪 5 头，用猪伪狂犬病毒强毒株攻毒，连续测量 7 日体温，并连续观察 14 日。攻毒对照仔猪应至少 4 头发病（出现体温升高、神经症状等特异性临床症状或死亡），免疫仔猪应至少 4 头保护。

4.8 剩余水分测定 按附录 3204 进行测定，应符合规定。

4.9 真空度测定 按附录 3103 检测测定，应符合规定。

起草说明：

1. 本标准系在参考 2020 年版《中国兽药典》、2017 年版《兽药质量标准》、欧洲药典、WOAH 陆生动物诊断与疫苗手册中收载的伪狂犬病活疫苗以及 2020 年 10 月前批准的伪狂犬病活疫苗注册标准、美国兽医生物制品法规和技术标准等基础上起草而成。本标准属于首次起草。

2. 关于疫苗用毒株 早在我国的注册评审中已有共识性要求：即对于猪伪狂犬病，无论是灭活疫苗，或者是活疫苗，均要求是缺失毒株或自然缺失毒株（如：Bartha-K61 毒株）制备。

3. 毒种特异性与成品鉴别检验 新增病毒基因鉴定。由于 PCR 方法完全可以对毒株进行特异性鉴别，取消血清学鉴别方法，采用适宜的基因鉴定 PCR 检测法，能确定疫苗毒株属于基因缺失株。

4. 依据 2024 年度第 9 次会议审查意见, 修改如下: (1) 完善修改了文字表述, 包括安全性中的推荐使用途径、产品推荐使用最小日龄、健康易感猪表述等。(2) 毒种免疫原性中免疫剂量由 1 头份改为 1 个最小免疫剂量。(3) 病毒含量标准改为不低于标示量等。(4) 按照安全性至少观察 2 个潜伏期的原则, 一般潜伏期 3~6 日, 少数为 10 日, 所以修改为 21 日。(5) 毒力返强传 5 代, 途径为肌肉注射途径, 采样组织规定为肺脏。(6) 增加了毒种不应有水平传播的要求。(7) 删除了毒种特异性项下、成品检验的鉴别检验项下的中和试验项目。

5. 依据 2025 年度第 3 次会议审查意见, 修改如下: (1) 把定义“基因缺失株”修改为“弱毒株”; (2) 修改完善 2.1.1 项对仔猪的安全性的规范表述。如删除健康仔猪后的括弧中内容, 将健康仔猪统一修改为“健康易感仔猪”; 接种接种剂量不用毫升数表述, 应为 10 个推荐使用剂量; 每种途径接种动物头数改为至少 10 头, 至少观察 21 日。(3) 修改完善 2.1.2 项和 2.1.3 项, 参照 2.1.1 项要求理念修改, 母猪头数维持 5 头。(4) 将“2.2 毒力返强试验”修改为“2.2 毒力返强”; 同居感染不列在毒力返强项后, 应单独列项。(5) 修改完善 2.4.3 外源病毒检验项, 删除了括弧中内容, 毒种项下外源病毒检测项中增加了必要时进行分子生物学检测的内容。(6) 毒种基因检测中明确若为人工基因缺失毒株应至少缺失 TK 基因、gE 基因。此外, 将病毒含量按照会议要求统一修改为“不低于说明书标示量”。

6. 依据 2025 年度第 3 次审查会议意见修改后, 起草小组再次研讨, 对毒种项下仔猪和妊娠母猪的安全性问题, 参照欧洲药典, 增加对 3~5 日龄仔猪神经系统的安全评价要求, 同时对毒种开展同居感染试验时, 增加用灵敏的检测方法对免疫动物的口鼻分泌物样品进行检测; 对毒种项下免疫原性再次修改完善, 参考欧洲药典, 增加被动免疫的毒种免疫原性标准, 以便用于指导伪狂犬疫苗被动免疫相关产品开发。

7. 至于外源病毒检验, 按照毒种项下的外源病毒检验比成品检验的外源病毒检验相对严格的原则, 在毒种项下的外源病毒检验中, 统一增加了“按附录 (外源病毒检验的一般要求) 和附录 3305 进行检验”, 而成品检验项下的外源病毒检验直接按照附录 3305 进行检验。