

猪瘟活疫苗（兔源）

Zhuwen Huoyimiao (Tu Yuan)

Classical Swine Fever Vaccine, Live (Rabbit Origin)

本品系用猪瘟病毒兔化弱毒株（CVCC AV1412）接种兔或乳兔，收获感染兔的脾脏及淋巴结或乳兔的肌肉及实质脏器，制成乳剂，加适宜稳定剂，经冷冻真空干燥制成。用于预防猪瘟。

【性状】 海绵状疏松团块，易与瓶壁脱离，加稀释液后迅速溶解。

【无菌检验】 按附录 3306 进行检验，应无菌生长。如果有菌生长，应进行杂菌计数和病原性鉴定（附录 3307）。每头份非病原菌应不超过 75 个。

【支原体检验】 按附录 3308 进行检验，应无支原体生长。

【外源病毒检验】 （1）用兔检验 将疫苗用灭菌生理盐水稀释为 10 头份/ml，~~8000g 离心 10 分钟~~10000g 离心 30~40 分钟，取上清液耳静脉注射接种 1.5~2.0 kg 兔 4 只（兔出血症 HI 抗体效价不高于 1:8 或 SPF 兔），每只 1.0ml（含 10 头份），观察 7 日，应健活。

（2）其他检验 按附录 3305 进行检验，应无外源病毒污染。

【鉴别检验】 将疫苗用灭菌生理盐水稀释成每毫升含有 100 个兔 MID 的病毒悬液，与等量抗猪瘟病毒特异性血清充分混合，置 10~15℃作用 60 分钟，其间振摇 2~3 次。同时设病毒对照和生理盐水对照。中和结束后，分别耳静脉注射兔 2 只，每只 1.0 ml，按效力检验项（1）进行观察和判定。除病毒对照组应出现热反应外，其余 2 组在接种后 120 小时内应不出现热反应。

【安全检验】 （1）用小动物检验 按瓶签注明头份，将疫苗用灭菌生理盐水稀释成 5 头份/ml，皮下注射体重 18~22 g 小鼠 5 只，各 0.2 ml，肌肉注射体重 350~400 g 豚鼠 2 只，各 1.0 ml，观察 10 日。应全部健活。

（2）用猪检验 ~~选用无猪瘟病毒中和抗体（检测方法见附注）~~猪瘟病毒抗体阴性（检测方法见附注）的断奶猪，接种前观察 5~7 日，每日上、下午各测体温一次。挑选体温、精神、食欲正常的使用。每批疫苗按瓶签注明头份用灭菌生理盐水稀释成 6 头份/ml，肌肉注射猪 4 头，每头 5.0 ml（含 30 头份）。接种后，每日上、下午各观察并测体温 1 次，观察 21 日。体温、精神、食欲与接种前相比没有明显变化；或体温升高超过 0.5℃，但不超过 1℃，稽留不超过 4 个温次；或减食不超过 1 日。如果有 1 头猪体温升高 1℃以上，但不超过 1.5℃，稽留不超过 2 个温次，疫苗也可判为合格。如果有 1 头猪的反应超过上述标准；或出现可疑的其他体温反应和其他异常现象时，可用 4 头猪重检 1 次。重检的猪仍出现同样反应，疫苗应判为不合格。也可在猪高温期采血复归猪 2 头，每头肌肉注射可疑猪原血 5.0 ml，测温观察 16 日。如果均无反应，疫苗可判合格。如果第 1 次检验结果已经确证疫苗不安全，则不应进行重检。

【效力检验】 下列方法任择其一。

（1）用兔检验 按瓶签注明头份，将疫苗用灭菌生理盐水稀释成 1/150 头份/ml，耳静脉注射体重 1.5~3.0 kg 兔 2 只，每只 1.0 ml。接种后，上、下午各测体温 1 次，48 小时后，

每隔 6 小时测体温 1 次，根据体温反应和攻毒结果进行综合判定。

接种疫苗后，兔的体温反应标准如下：

定型热反应(++) 潜伏期 48~96 小时，体温上升呈明显曲线，至少有 3 个温次升高 1℃ 以上，并稽留 18~36 小时。如稽留 42 小时以上，则必须攻毒（接种新鲜脾淋毒或冻干毒），攻毒后如果无反应，可判为定型热。

轻热反应(+) 潜伏期 48~96 小时，体温上升呈明显曲线，至少有 2 个温次升高 0.5℃ 以上，并稽留 12~36 小时。

可疑反应(±) 潜伏期 48~96 小时，体温曲线起伏不定，稽留不到 12 小时；或潜伏期在 24 小时以上，不足 48 小时及超过 96 小时至 120 小时出现热反应。

体温反应呈二次高峰，有一次高峰符合定型热反应(++) 或轻热反应(+) 标准者，均须攻毒。攻毒后无反应时，该兔的热反应可判为定型热或轻热反应。

无反应(-) 体温正常。

结果判定 接种疫苗后，当 2 只兔均呈定型热反应(++), 或 1 只兔呈定型热反应(++), 另 1 只兔呈轻热反应(+) 时，疫苗判为合格。

接种疫苗后，当 1 只兔呈定型热反应(++), 或轻热反应(+), 另 1 只兔呈可疑反应(±); 或 2 只兔均呈轻热反应(+) 时，可在接种后 7~10 日攻毒。

攻毒时，加对照兔 2 只，攻毒剂量为 50~100 倍乳剂。每只兔耳静脉注射 1.0 ml。

攻毒后的体温反应标准如下：

热反应(+) 潜伏期 24~72 小时，体温上升呈明显曲线，升高 1℃ 以上，稽留 12~36 小时。

可疑反应(±) 潜伏期不到 24 小时或 72 小时以上，体温曲线起伏不定，稽留不到 12 小时或超过 36 小时而不下降。

无反应(-) 体温正常。

攻毒后，当 2 只对照兔均呈定型热反应(++), 或 1 只兔呈定型热反应(++), 另 1 只兔呈轻热反应(+), 而 2 只接种疫苗兔均无反应(-)，疫苗判合格。

接种疫苗后，如果有 1 只兔呈定型热(++) 或轻热反应(+), 另 1 只兔呈可疑反应(±) 或无热反应(-)，可对可疑反应兔或无反应兔采用扑杀剖检或采心血分离病毒的方法，判定是否隐性感染；或接种疫苗后，2 只兔均呈轻热反应，亦可对其中 1 只兔分离病毒。方法是：接种疫苗后 96~120 小时之间，将兔扑杀，采取脾脏，用生理盐水制成 50 倍稀释的乳剂（脾脏乳剂应无菌），或采取心血（全血），耳静脉注射 2 只兔，每只 1.0 ml。凡有 1 只兔潜伏期 24~72 小时出现定型热反应(++)，疫苗可判为合格。

接种疫苗后，由于出现其他反应情况而无法判定时，可重检。用兔做效力检验，应不超过 3 次。

(2) 用猪检验 将疫苗用生理盐水稀释成每 1/150 头份/ml，肌肉注射无猪瘟病毒中和抗体（检测方法见附注）猪瘟病毒抗体阴性（检测方法见附注）的猪 4 头，每头 1.0 ml，接种后 10~14 日，连同对照猪 3 头，各注射猪瘟病毒石门系血毒 1.0 ml（不低于 10^{5.0} MLD），观察 16 日。对照猪应全部发病，且至少死亡 2 头，免疫猪应全部健活或稍

有体温反应，但无猪瘟临床症状。

【剩余水分测定】 按附录 3204 进行测定，应符合规定。

【真空度测定】 按附录 3103 进行测定，应符合规定。

【作用与用途】 用于预防猪瘟。接种后 4 日产生免疫力。断奶后无母源抗体仔猪的免疫期，脾淋苗为 18 个月，乳兔苗为 12 个月。

【用法与用量】 肌肉或皮下注射。按瓶签注明头份，用生理盐水稀释成 1 头份/ml，每头 1.0 ml。

在没有猪瘟流行的地区，断奶后无母源抗体的仔猪，接种 1 次即可。有疫情威胁时，仔猪可在 21~30 日龄和 65 日龄左右时各接种 1 次。

断奶前仔猪可接种 4 头份疫苗，以防母源抗体干扰而导致免疫效果降低。

【注意事项】 (1) 应在 8℃ 以下的冷藏条件下运输。

(2) 使用单位收到冷藏包装的疫苗后，如保存环境超过 8℃ 而在 25℃ 以下时，从接到疫苗时算起，限 10 日内用完。

(3) 接种时，应作局部消毒处理。

(4) 接种后应注意观察，如出现过敏反应，应及时注射肾上腺素治疗。

(5) 稀释后，如气温在 15℃ 以下，6 小时内用完，如气温在 15~27℃，则应在 3 小时内用完。

(6) 用过的疫苗瓶、器具和未用完的疫苗等应进行无害化处理。

【规格】 (1) 5 头份/瓶 (2) 10 头份/瓶 (3) 20 头份/瓶 (4) 50 头份/瓶 (5) 100 头份/瓶

【贮藏与有效期】 -15℃ 以下保存，有效期为 12 个月。

附注：猪瘟病毒中和试验方法 **抗体检测方法与判定标准**

下列方法任择其一。逐头检测，猪瘟病毒抗体应为阴性。

1 兔体中和试验法

1.1 先测定猪瘟病毒兔化弱毒（抗原）对兔的最小感染量（MID）。试验时，将抗原用灭菌生理盐水稀释成 100 个兔 MID/ml，作为工作抗原（如果抗原对兔的 MID 为 $10^{-5.0}$ /ml，则将抗原稀释成 1000 倍使用）。

1.2 将被检猪血清分别用灭菌生理盐水作 2 倍稀释，与含有 100 个兔 MID/ml 的工作抗原等量混合，摇匀后，置 10~15℃ 中和 2 小时，其间振摇 2~3 次。同时设含有相同工作抗原量加等量生理盐水（不加血清）的对照组，与被检组在同样条件下处理。

1.3 中和完毕，被检组各注射兔 1~2 只，对照组注射兔 2 只，每只兔耳静脉注射 1.0 ml，观察体温反应，并判定结果。

1.4 结果判定 体温反应标准同效力检验项。当对照组 2 只兔均呈定型热反应（++），或 1 只兔呈定型热反应（++）、另 1 只兔呈轻热反应（+）时，方能判定结果。被检组如果用 1 只兔，须呈定型热反应；如果用 2 只兔，每只兔应呈定型热或轻热反应，被检血清判为阴性。

1.5 注意 如被检组用 2 只兔，其中 1 只兔无反应或呈可疑反应时，可采血复归或对 2 只兔进行攻毒。如被检血清出现阳性反应或复归兔仍为可疑反应时，则该头被检猪不得用于猪瘟疫苗的安全（或效力）检验。被检组用 1 只兔时，不得复归或攻毒。用中和试验方法选择易感猪，无论是否同窝猪，均须逐头检测。

2 细胞中和试验法 以猪瘟病毒 Thiverval 株（CVCC AV65）、PK-15（或 ST）细胞作为试验用病毒和细胞，按附录 3406 中和试验法中方法 1 进行检验，同时设标准阳性血清和标准阴性血清对照。接种后培养 72~120 小时，采用间接免疫荧光方法进行染色和结果判定。标准阳性血清和标准阴性血清对照成立时，待检血清细胞中和抗体效价不高于 1：2 判为猪瘟抗体阴性。

3 ELISA 试剂盒检测法 用商品化的猪瘟病毒抗体检测试剂盒，按说明书进行检测和判定。