

猪瘟、猪丹毒、猪多杀性巴氏杆菌病三联活疫苗

Zhuwen, Zhudandu, Zhuduoshaxingbashiganjunbing Sanlian Huoyimiao

Combined Classical Swine Fever, Swine Erysipelas and *Pasteurella multocida* Vaccine, Live

本品系用猪瘟兔化弱毒株接种乳兔或易感细胞，收获含毒乳兔组织或病毒培养物，以适当比例和猪丹毒杆菌（G4T10 株或 GC42 株）弱毒菌液、猪源多杀性巴氏杆菌（EO630 株）弱毒菌液混合，加适宜稳定剂，经冷冻真空干燥制成。用于预防猪瘟、猪丹毒和猪多杀性巴氏杆菌病（即猪肺疫）。

【性状】 海绵状疏松团块，易与瓶壁脱离，加稀释液后迅速溶解。

【纯粹检验】 按附录 3306 进行检验，细胞毒配制的疫苗应纯粹。用组织毒配制的疫苗，如果有杂菌生长，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。

【活菌计数】 对猪丹毒杆菌和猪多杀性巴氏杆菌进行活菌计数（附录 3405）。按瓶签注明头份将疫苗稀释，接种含 0.1% 裂解血细胞全血及 10% 健康动物血清马丁琼脂平板中。每头份疫苗中，猪丹毒杆菌 G4T10 株应不少于 5.0×10^8 CFU 活菌，GC42 株应不少于 7.0×10^8 CFU 活菌，多杀性巴氏杆菌 EO630 株应不少于 3.0×10^8 CFU 活菌。

【安全检验】 按瓶签注明头份，将疫苗用灭菌生理盐水稀释，接种小鼠、兔、豚鼠和无猪瘟母源抗体的猪，应符合以下各项要求：

- （1）用小鼠检验 用体重 18~22 g（30~35 日龄）小鼠 5 只，各皮下注射疫苗 0.5 ml（含 1 头份）；
 - （2）用兔检验 用体重 1.5~2.0 kg 兔 2 只，各肌肉注射疫苗 1.0 ml（含 2 头份）；
 - （3）用豚鼠检验 用体重 300~400 g 豚鼠 2 只，各肌肉注射疫苗 1.0 ml（含 2 头份）。
- （本项检验只适用于乳兔组织毒配制的疫苗。）

观察 10 日，除用 G4T10 株配制的疫苗允许有 1 只小鼠死亡外，其他动物应全部健活。否则，可应用加倍数量小鼠重检一次，重检后，应符合规定。

（4）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、食欲正常的猪使用。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°C ，但不超过 1°C ，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°C 以上，但不超过 1.5°C ，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】 （1）猪瘟部分 下列方法任择其一。

用兔检验 兔源疫苗按瓶签注明头份，将疫苗用灭菌生理盐水稀释成 1/150 头份/ml（兔源）或 1/750 头份/ml（细胞源），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，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。

用猪检验 将疫苗用生理盐水稀释成每 1/150 头份/ml（兔源）或 1/300 头份/ml（细胞

源), 肌肉注射无猪瘟病毒中和抗体猪瘟病毒抗体阴性(检测方法见附注)的猪 4 头(兔源)或 2 头(细胞源), 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。

(2) 猪丹毒部分 下列方法任择其一。

用小鼠检验 按瓶签注明头份, 将疫苗用 20%氢氧化铝胶生理盐水稀释成 0.1 头份/ml, 皮下注射体重 16~18 g 小鼠 10 只, 各 0.2 ml (含 1/50 头份), 另取 6 只同条件小鼠, 不接种作为对照。接种 14 日后, 免疫组小鼠和 3 只对照组小鼠各皮下注射 1000 MLD 的猪丹毒杆菌 1 型和 2 型(各 1 株)强毒菌的混合菌液, 另 3 只对照小鼠各皮下注射 1 MLD 的上述混合菌液, 观察 10 日。注射 1000 MLD 的对照小鼠应全部死亡, 注射 1 MLD 的对照小鼠应至少死亡 2 只, 免疫小鼠应至少保护 8 只。

用猪检验 按瓶签注明头份, 将疫苗用 20%氢氧化铝胶生理盐水稀释成每 1.0 ml 含 1/50 头份。用断奶 1 个月后、体重 20 kg 以上的猪 10 头, 5 头各皮下注射疫苗 1.0 ml, 另 5 头不注射疫苗留作对照。接种 14 日后, 免疫猪和对照猪各静脉注射 1 MLD 的猪丹毒杆菌 1 型和 2 型(各 1 株)强毒混合菌液。观察 14 日, 当对照猪全部死亡时, 免疫猪应至少保护 4 头; 当对照猪至少发病 4 头, 且至少死亡 2 头时, 免疫猪应全部健活。

(3) 猪肺疫部分 按瓶签注明头份, 将疫苗用 20%氢氧化铝胶生理盐水稀释后进行检验, 下列方法任择其一。

用小鼠检验 用体重 16~18 g 小鼠 10 只, 各皮下注射疫苗 0.2 ml (含 1/30 头份)。接种 14 日后, 连同对照小鼠 3 只, 各皮下注射多杀性巴氏杆菌 C44-8 株(CVCC 44408)强毒菌液 2 MLD, 另用对照小鼠 3 只, 各皮下注射 1 MLD, 观察 10 日。攻击 2 MLD 的对照小鼠应全部死亡, 攻击 1 MLD 的对照小鼠应至少死亡 2 只, 免疫小鼠应至少保护 8 只。

用兔检验 用体重 1.5~2.0 kg 兔 6 只, 4 只各皮下注射疫苗 1.0 ml (含 1/3 头份), 另 2 只作对照。接种 14 日后, 每只兔各皮下注射多杀性巴氏杆菌 C44-8 株(CVCC 44408)强毒菌液 80~100 CFU 活菌, 观察 10 日。对照兔应全部死亡, 免疫兔应至少保护 2 只。

用猪检验 用断奶 1 个月后、体重约 20 kg 猪 8 头, 5 头各皮下注射疫苗 1.0 ml (含 1 头份), 另 3 头作对照。接种 14 日后, 每头猪各皮下注射的多杀性巴氏杆菌 C44-1 株(CVCC 44401)强毒菌液 1 MLD, 观察 10 日。对照猪全部死亡时, 免疫猪应至少保护 4 头; 对照猪死亡 2 头时, 免疫猪应全部保护。

【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、猪丹毒、猪多杀性巴氏杆菌病(即猪肺疫)。猪瘟免疫期为 12 个月, 猪丹毒和猪肺疫免疫期为 6 个月。

【用法与用量】 肌肉注射。按瓶签注明头份, 用生理盐水稀释成 1 头份/ml。断奶半个月以上猪, 每头 1.0 ml; 断奶半个月以内的仔猪, 每头 1.0 ml, 但应在断奶后 2 个月左右再接种 1 次。

【注意事项】 (1) 疫苗应冷藏保存与运输。

- (2) 初生仔猪，体弱、有病猪均不应接种。
- (3) 接种前 7 日、后 10 日内均不应喂含任何抗生素的饲料。
- (4) 稀释后，限 4 小时内用完。
- (5) 接种时，应作局部消毒处理。
- (6) 接种后可能出现过敏反应，应注意观察，必要时注射肾上腺素等脱敏措施抢救。
- (7) 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) 10 头份/瓶 (2) 20 头份/瓶 (3) 50 头份/瓶 (4) 100 头份/瓶

【贮藏与有效期】 2~8℃ 保存，有效期为 6 个月；-15℃ 以下保存，有效期为 12 个月。

附注：猪瘟病毒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。