

猪伪狂犬病灭活疫苗（标准草案）

Zhu Weikuanguanbing Miehuo Yimiao

Swine Pseudorabies Vaccine, Inactivated

1 定义

本品系采用 gE 基因缺失的猪伪狂犬病病毒接种适宜细胞培养，收获细胞培养物，灭活后加适宜佐剂制成灭活疫苗。用于预防猪伪狂犬病。

2 毒种

2.1 安全性 用最小推荐使用剂量的毒种与适宜佐剂制备灭活疫苗，用推荐使用最小日龄健康易感猪（猪伪狂犬病病毒抗原、抗体均为阴性）5 头，经推荐的各种免疫途径接种疫苗 2 倍推荐使用剂量，如需二免，间隔至少 14 日后二免，免疫后逐日观察至少 14 日，应不出现由疫苗引起的任何局部或全身不良反应。

2.2 免疫原性 用最高代次的毒种稀释至推荐的最小免疫剂量制备疫苗，用 3~5 周龄健康易感仔猪（猪伪狂犬病病原及抗体阴性，体重浮动在平均体重 20% 以内）不少于 15 头，其中不少于 10 头经推荐的免疫途径接种疫苗最小免疫剂量，如需二免，14 日后按相同剂量和途径进行二免，另 5 头作对照。首免 28 日或二免 14 日后，对所有猪采用肌肉注射或滴鼻接种猪伪狂犬病病毒强毒株（至少 10^6 TCID₅₀/头），观察至少 21 日。攻毒后对照猪均应出现猪伪狂犬病特异性临床症状或死亡，免疫猪应全部保护。

2.3 纯净

2.3.1 无菌检验 按附录 3306 进行检验，应无菌生长。

2.3.2 支原体检验 按附录 3308 进行检验，应无支原体生长。

2.3.3 外源病毒检验 按附录 3305 进行检验，应无外源病毒污染。

2.4 gE 基因的鉴定 取毒种适量，提取病毒核酸，鉴定 gE 基因。毒种鉴定结果应缺失 gE 基因。

2.5 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

3.1 细胞 应符合附录 3502 要求。

3.2 血清 应符合附录 3503 要求。

3.3 佐剂 佐剂应符合附录 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 安全检验 用推荐使用最小日龄健康易感仔猪（猪伪狂犬病病原及抗体阴性）5 头，各肌肉注射疫苗 2 头份，如制品规定需二次免疫的，第二次免疫剂量不低于 1 头份。观察至少 14 日，所有接种猪应精神、呼吸、采食正常；接种部位应无红肿、硬结；所有仔猪在接种前观察并测温 3 日，接种后连续测温 5 日，接种后体温与接种前基础体温相比，应不超过基础体温 1.0℃。若超过 1.0℃，但不超过 1.5℃，稽留应不超过 2 个温次（每日测温 1 次）。

4.3 效力检验 用健康易感仔猪（猪伪狂犬病抗原和抗体阴性）10 头，其中 5 头各按照推荐的最小免疫剂量（1 头份）接种，如需二免，14 日后按相同剂量和途径进行二免，另 5 头作对照。接种 28 日或二免后 14 日，连同对照仔猪 5 头，各颈部肌肉注射或滴鼻猪伪狂犬病病毒强毒株（至少 10^6 TCID₅₀/头），观察 14 日。对照猪应全部出现伪狂犬病的特异性临床症状或死亡，免疫猪应至少 4 头保护。

4.4 甲醛残留量测定（适用于用甲醛灭活） 按附录 3203 进行测定，应符合规定。

4.5 汞类防腐剂残留量测定（适用于硫柳汞灭活或防腐） 按附录 3203 进行测定，应符合规定。

起草说明：

1. 本标准是在 2020 年版《中国兽药典》、2017 年年版《兽药质量标准》、欧洲药典、WOAH 陆生动物诊断与疫苗手册、2020 年 10 月前批准的伪狂犬病灭活疫苗注册标准、美国兽医生物制品法规和技术标准基础上起草而成。

2. 至于猪伪狂犬病预防用制品，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，全病毒灭活疫苗或者致弱的全病毒灭活疫苗，均不予注册。

3. 牛羊伪狂犬病灭活疫苗在 CVP3/2015/MHYM/029 中也有收载。该毒株为伪狂犬病病毒闽 A 株（CVCC AV1211）接种鸡胚成纤维细胞培养，甲醛灭活，用于牛羊伪狂犬病。但闽 A 株属于全病毒灭活疫苗，在本版本中未载入该疫苗相关内容。

4. 猪伪狂犬病灭活疫苗标准中成品检验部分依据农业农村部公告第 457 号、129 号和 301 号共性部分制定，毒种免疫原性及安全性上结合欧洲药典第 10 版、世界动物卫生组织诊断与疫苗手册 3.1.2（2018）。

5. 关于制品名称，依据 2024 年第 9 次会议审查意见，英文名称沿用 2020 年体例，加上 Swine，以限定用于猪。

6. 关于定义，删除具体佐剂名称，按照简化要求进行修改。

7. 由于目前伪狂犬尚无统一攻毒用毒株；毒种中，只涉及生产用基础毒种。

8. 关于毒种 gE 基因的鉴定未限定特定的方法，只说明应符合 gE 基因缺失的特征。

9. 关于毒种的安全性，依据 2024 年第 9 次会议审查意见，并参考了已公布的灭活疫苗的体例进行撰写，在使用剂量、观察时间及判定上参考了欧洲药典第 10 版、世界动物卫生组织诊断与疫苗手册（2018）中对猪伪狂犬病灭活疫苗种毒安全性的规定。

10. 关于毒种的免疫原性，依据 2024 年第 9 次会议审查意见，按照高于成品效力检验的要求对毒种的免疫原性进行了规定，在使用剂量和观察时间、及判定上参考了欧洲药典第 11 版、世界动物卫生组织诊断与疫苗手册 3.1.2（2018）中对猪伪狂犬病灭活疫苗免疫原性的要求。

其中欧洲药典对免疫原性进行了比较具体的规定，且可以开展免疫原性的同时，开展安全性检验。欧洲药典具体要求如下：

对每一种推荐的给药途径和方法都要进行检验，每一种情况下均使用推荐接种年龄的猪。接种疫苗为用基础种子传代的最高代次和最小免疫剂量。

拟用于主动免疫的疫苗。使用不少于 15 头伪狂犬病病毒抗体阴性的育肥猪进行试验。所有猪的体重与该组的平均体重相差不超过 20%。根据建议的时间表，对至少 10 头猪进行疫苗接种。保持不少于 5 头猪作为对照。在育肥期结束时（80~90 公斤），称量并通过鼻内途径向每头猪攻毒足够病毒滴度的强毒株（至少 10⁶TCID₅₀），强毒应不超过 3 次传代，攻毒剂量不低于 4mL。从攻毒前一天开始，每天取鼻拭子，测定排出的病毒滴度，直到不再检测到病毒。每头猪在攻毒后 7 日称重，如果死亡时间较早，则在死亡时称重，平均日增重按百分比计算。对于每组（接种疫苗和对照组），计算平均日增重的平均值。

所有对照组的猪均出现伪狂犬病症状，且猪平均日增重低于 0.5kg，试验方有效，否则无效。

所有接种的猪均存活，并且两组猪的平均日增重之差不低于 1.5 公斤。

疫苗的几何平均滴度和攻毒后排毒时间都明显低于对照组。

拟用于被动免疫的疫苗，即疫苗免疫母猪以此保护仔猪，可通过以下方法证明该品系的适用性。在试验中使用不少于 12 头伪狂犬病病毒抗体阴性母猪。根据免疫攻毒试验设计，接种至少 8 头母猪，相当于至少 25 头份的剂量。如果未检测到活病毒，那么灭活病毒就符合试验要求。

世界动物卫生组织诊断与疫苗手册中尽管没有具体要求，也明确了需要对免疫组和对照组在攻毒后的体温变化、增重情况，猪的体型以及母猪繁殖性能等关键要素和副反应进行观察和检测。观察时间至少 14 日。如果用于母猪，欧洲药典及世界动物卫生组织诊断与疫苗手册均要求，观察期应涵盖整个妊娠阶段。

11. 安全检验标准是在 2020 年 10 月前注册的伪狂犬灭活疫苗质量标准的基础上进行编写，建议采用推荐使用最小日龄。已批准的制品成品安全检验有用 2~3 周龄，也有用 3~4 周龄，还有用 2 月龄的。

12. 效力检验中的发病标准和保护标准是基于伪狂犬病的典型症状，并结合 2020 年 10 月前已注册的 4 种伪狂犬病灭活疫苗质量标准中所规定的发病和保护标准进行编写。