

虎源猫泛白细胞减少症病毒灭活疫苗的制备及初步应用

于亚丽¹, 周明², 张进¹, 华育平^{1*}, 王立刚², 刘熠楠¹, 刘丹², 夏咸柱³

(¹ 东北林业大学野生动物资源学院, 哈尔滨 150040)

(² 黑龙江东北虎林园, 哈尔滨 150028)

(³ 军事医学科学院军事兽医研究所, 长春 130062)

摘要 【目的】研制出虎源猫泛白细胞减少症病毒灭活疫苗并对其应用效果进行评价。【方法】以 FPV-HLJ 为种毒, 按培养液体积 1/10(V/V) 的接毒量, 采用同步接毒的方法接于猫肾传代细胞系 F81 株, 于 37℃ 静置培养, 待细胞病变(CPE)达到 75% 以上时, 进行收毒。病毒悬液经甲醛灭活 24 h, 加入佐剂氢氧化铝胶, 制备成 FPV-HLJ 细胞培养灭活疫苗。将灭活苗皮下接种 2 月龄非免疫家猫, 确定其能产生较好的保护后, 将该苗接种 2 月龄左右幼虎。【结果】实验组免疫猫 FPV HI 抗体水平随免疫次数的增加而呈上升趋势, 三免后 FPV HI 抗体效价为 1:1024~1:2048, 且免疫猫能抵抗 FPV 强毒攻击, 具有 100% 的存活率。幼虎三免后抗体效价多数能达到 1:1024。【结论】表明此灭活苗可产生较为理想的免疫效果。

关键词: 虎, 猫泛白细胞减少症病毒, 灭活疫苗, 抗体检测

中图分类号: S864.7 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2009)04-0643-05

猫泛白细胞减少症病毒(Feline panleukopenia virus, FPV)又名猫瘟热病毒, 是引起猫科动物发生以高热、呕吐、白细胞减少和病毒性肠炎为主要特征的传染病病原。FPV 在自然条件下可感染猫, 也可感染虎(*Panthera tigris*)、狮(*Panthera leo*)、豹(*Panthera pardus*)、浣熊(*Procyon lotor*)和水貂(*Lutreola*)等野生动物^[1-2], 对经济动物的养殖和野生动物的保护构成极大的威胁, 尤其是近几年来, FPV 严重影响着我国圈养大型猫科动物的健康^[3-5]。2005 年 9 月~2006 年 3 月, 国内某虎园首次暴发猫泛白细胞减少症, 并导致部分成年虎及幼虎死亡, 在随后两年的相同季节里仍有此病的发生, 利用 PCR 方法对 06 年 11 月收集的虎粪便进行检测, 阳性率为 54.8%, 但多为幼虎发病^[5]。

疫苗接种是控制本病流行的有效手段, 目前应用于 FPV 免疫预防的疫苗大致分为常规疫苗和新型疫苗两种, 前者主要包括灭活疫苗和弱毒疫苗, 后

者主要包括基因工程亚单位疫苗、基因疫苗、基因工程活载体疫苗等。弱毒苗虽然能有效地诱导机体产生特异性免疫应答, 但目前国内使用的 FPV 弱毒疫苗或是直接从国外进口, 或是用国外弱毒疫苗分离的毒株制备。由于不了解这些疫苗株的遗传背景, 对疫苗株与国内流行株在抗原性上是否存在差异尚不清楚, 免疫效果还难以保证, 且弱毒苗存在毒力返祖的潜在危险, 用于野生动物尚存在着一定的风险。近些年来, 国内外学者对新型疫苗的研究有了突破性进展, 且这些新型疫苗对小鼠等模式动物可产生一定的免疫效果^[6-7]。但到目前为止, 在我国一些野生动物人工饲养种群中尚未使用新型疫苗来控制 FPV 的感染。鉴于此, 本实验利用从某圈养虎群中分离的 FPV-HLJ 为种毒, 研制了 FPV 细胞培养灭活疫苗, 既能充分地保证使用安全, 而且还具有良好的抗原特异性, 为最终有效控制猫泛白细胞减少症在圈养虎群中的发生奠定了基础。

基金项目: 国家林业局野生动植物保护管理项目资助

* 通信作者。Tel/Fax: +86-451-82191734; E-mail: yuying_hua@126.com

作者简介: 于亚丽(1984-), 女, 河南周口人, 硕士研究生, 研究方向为野生动物疾病的预防及控制。E-mail: yuyali_1984@163.com

收稿日期: 2008-10-21; 修回日期: 2009-02-11

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料:①毒株:虎源猫泛白细胞减少症病毒 FPV-HLJ 由本实验室分离鉴定并保存。②传代细胞 F81:由军事医学科学院夏咸柱院士馈赠。③猫瘟热灭活疫苗:由军事医学科学院黄耕教授馈赠。④实验动物:45~60 日龄的健康非免疫幼猫(*Felis catus*) 20 只,血清 FPV 抗体阴性(HI < 1:2),分别用来做安全实验和效力实验。哈尔滨市东北虎林园饲养的 60 日龄健康非免疫幼虎 4 只,血清 FPV 抗体阴性(HI < 1:2)。⑤标准阳性血清:军事医学科学院生产的猫瘟热灭活疫苗经免疫家猫制备。

1.1.2 主要试剂和仪器:①主要试剂:DMEM 培养基、胰蛋白酶、胎牛血清(GiBco);DMSO(Sigma);Taq DNA 聚合酶、DNA marker 2000(TaKaRa);氢氧化铝胶佐剂(哈药集团生物疫苗有限公司);注射用青霉素钠(80 万单位)、注射用硫酸链霉素(100 万单位)(哈药集团制药总厂)。②主要仪器:超纯水机(Millipore, Milli-Q A10);电热恒温 CO₂ 培养箱(Heraeus, BB5060);-70℃ 超低温冰箱(MDF-U4086S, Sanyo);倒置相差显微镜(Nikon, eclipseTS100)。

1.2 细胞培养灭活疫苗的制备及安全性检测

1.2.1 疫苗毒的复制:以 FPV-HLJ 为种毒,按培养液体积 1/10 的接毒量,采用同步接毒的方法,接种于猫肾细胞系 F81,37℃ 静置培养。24 h 后弃掉生长液换成维持液继续培养。当 CPE 达到 75% 以上时开始收毒,反复冻融 3 次。从中抽取 10 mL 做 HA、TCID₅₀ 等检验。

1.2.2 疫苗的制备:向上述细胞培养物溶液中逐滴加入总量为 0.2%~0.5% 的纯甲醛,置 37℃ 灭活 24 h 或 4℃ 冰箱灭活 7 d,按 2%(W/V)加入氢氧化铝胶原液,置 4℃ 处理 2 d。

1.2.3 无菌检验:抽取少量上述甲醛灭活苗接种于葡萄糖蛋白胨汤(GP)、硫乙醇酸盐培养基(TG)、酪胺琼脂(GA),按常规方法检测有无细菌生长。若无细菌生长,则在无菌室中按总量的万分之一加入硫柳汞钠,然后按每瓶 10 mL 进行分装、加塞、封盖、贴签后置 4℃ 冰箱保存备用。

1.2.4 安全实验:对 3 只实验猫分别接种 FPV 灭活疫苗 0.5 mL,1 mL,2 mL,2 只阴性对照猫不注苗,但与注苗猫同室饲养。注苗 15 d 内逐日观察临床表现,同时用 PCR 实验逐日检测猫粪便中是否有

FPV 疫苗毒排出。参考 GenBank 报道的 FPV VP2 蛋白基因序列(GenBank 登录号:M38246),选择 FPV VP2 基因的保守区域,利用 DNASIS 软件设计了一对检测 FPV 的特异性引物,P₁:5'-CTGCAGTTAAAGGAAACATGG-3',P₂:5'-CCTCAGCTGGTCTCATAATAG-3',理论扩增长度为 738 bp,由北京 Invitrogen 公司合成。参照陈曦等^[8]的实验方法并加以改良,将每日收集到的 5 只猫粪便分别提取总 DNA 作为 PCR 扩增模板。PCR 采用 25 μ L 反应体系,反应条件为:95℃ 5 min,94℃ 45 s,50.5℃ 45 s,72℃ 1 min,30 个循环;72℃ 10 min。PCR 反应结束后取 PCR 产物 5 μ L,1% 琼脂糖凝胶电泳,观察扩增结果。

1.3 疫苗的效力实验

1.3.1 实验猫分组与免疫方案:15 只 FPV HI 抗体 < 1:2 的 45~60 日龄健康非免疫幼猫,随机分成 3 组,每组 5 只。第 1 组为实验组,接种本实验所制备的虎源 FPV 灭活疫苗;第 2 组为阳性对照组,接种军事医学院所赠送的猫瘟热灭活疫苗;第 3 组为阴性对照组,接种生理盐水。右肩胛皮下多点接种,接种剂量为 1 mL/只,间隔 15 d 免疫 1 次,连续免疫 3 次。每次免疫前及第 3 次免疫 15 d 后颈静脉采血,分离血清后检测 FPV HI 抗体。

1.3.2 攻毒保护实验:第 3 次免疫 15 d 后,用同一批次的 FPV-HLJ 细胞培养物对各免疫猫攻毒,攻毒剂量为每只猫口腔和皮下各 2 mL,隔离饲养,每日观察记录攻毒后猫的精神、食欲、排便等主要临床指标,攻毒后第 3、6、9、12、15 d 采集猫血液,制备抗凝血,进行白细胞总数计数,对死亡猫肝、脾、肠、肾、淋巴结等脏器进行 PCR 检测(采用 1.2.4 中的引物及反应体系),记录并统计各免疫组猫的发病及死亡数。

1.3.3 实验东北虎分组与免疫方案:随机选取 4 只健康幼虎,接种本实验所制备的虎源 FPV 灭活疫苗,右肩胛皮下多点接种,接种剂量为 3 mL/只,间隔 15 d 免疫 1 次,连续免疫 3 次。每次免疫前及第 3 次免疫 15 d 后颈静脉采血,分离血清后检测 FPV HI 抗体。

2 结果

2.1 细胞培养灭活疫苗的制备及安全检测

2.1.1 病毒复制及疫苗制备:利用 FPV-HLJ 的第 5 代毒,成功制备了 FPV 细胞培养灭活疫苗,其 HA 效价为 1:1024,TCID₅₀ 为 10⁻⁵/0.1 mL,病变细胞出现肿胀圆缩、脱落和拉网等现象(图 1)。

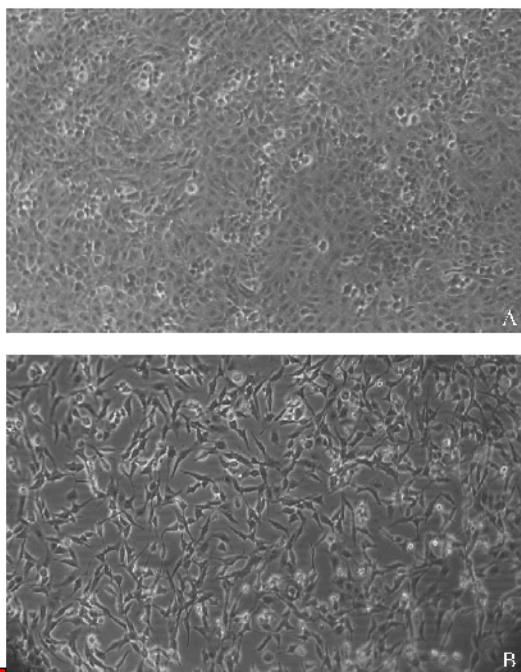


图1 F81 正常细胞形态(A)和细胞接毒 24h 形态(B)(100 ×)

Fig.1 (A) Normal F81 cell(100 ×); (B) CPE of FPV isolate in F81 cell(100 ×).

2.1.2 无菌检测及安全实验 制备的细胞培养灭活疫苗经细菌学检查, 无任何细菌生长。接种该疫苗的3只猫及对照猫均没有明显的临床变化, 食欲、精神、体温及排便正常, PCR 实验对其粪便检测呈阴性。

2.2 疫苗的效力实验

2.2.1 实验猫免疫前后 FPV HI 效价检测结果 微量血凝抑制试验结果表明, 一免后 15 d, 第 1、2 免疫组猫血清中均可检测到 FPV HI 抗体, 但效价偏低, 分别为 1:16 ~ 1:64 和 1:32 ~ 1:64; 二免后 15 d, 第 1、2 免疫组猫血清 HI 抗体效价显著升高, 均为 1:256 ~ 1:512; 三免后 15 d, 第 1、2 免疫组猫血清 HI 抗体效价均可达到 1:1024 ~ 1:2048(表 1)。

2.2.2 攻毒实验结果 接种病毒后, 第 1、3 组有个别猫在第 3 ~ 5 d 出现厌食现象, 其中以第 3 组明显。第 5 ~ 7 d 后, 第 1 组中 1 只猫、第 3 组 5 只猫相继出现腹泻、呕吐、拉稀便等临床症状。重症猫食欲废绝, 机体明显脱水, 检测发病猫的白细胞数减少为 4000 ~ 5000 个/mm³ (正常猫血清中白细胞数为 15000 ~ 20000 个/mm³)。第 8 ~ 10 d 开始死亡, 其中, 第 3 组 5 只猫均出现明显的临床症状, 最终 4 只死亡。第 2 组免疫猫没有出现明显临床症状, 全部存活。第 1 组有 1 只猫出现精神不振和拉稀便等临床症状, 但最终耐过。病死猫解剖后可见肠系膜淋

表 1 免疫猫血清 FPV HI 抗体效价

Table 1 The titers of FPV HI antibodies of immunized cats

Groups	Before inoculation	15d after 1 st immunization	15d after 2 nd immunization	15d after 3 rd immunization	30d after 3 rd immunization
Group1	1:2 ⁰	1:2 ⁴	1:2 ⁸	1:2 ¹⁰	1:2 ¹⁰
	1:2 ⁰	1:2 ⁶	1:2 ⁹	1:2 ¹⁰	1:2 ¹⁰
	1:2 ⁰	1:2 ⁵	1:2 ⁹	1:2 ⁹	1:2 ¹⁰
	1:2 ⁰	1:2 ⁵	1:2 ⁹	1:2 ¹⁰	1:2 ¹¹
	1:2 ⁰	1:2 ⁶	1:2 ⁸	1:2 ¹¹	1:2 ¹⁰
Group2	1:2 ⁰	1:2 ⁶	1:2 ⁹	1:2 ¹⁰	1:2 ¹⁰
	1:2 ⁰	1:2 ⁶	1:2 ⁸	1:2 ¹⁰	1:2 ¹⁰
	1:2 ⁰	1:2 ⁶	1:2 ⁹	1:2 ¹⁰	1:2 ¹¹
	1:2 ⁰	1:2 ⁵	1:2 ⁸	1:2 ¹⁰	1:2 ¹⁰
	1:2 ⁰	1:2 ⁵	1:2 ⁹	1:2 ¹¹	1:2 ¹¹
Group3	1:2 ⁰	1:2 ⁰	1:2 ⁰	1:2 ⁰	1:2 ⁰
	1:2 ⁰	1:2 ⁰	1:2 ⁰	1:2 ⁰	1:2 ⁰
	1:2 ⁰	1:2 ⁰	1:2 ⁰	1:2 ⁰	1:2 ⁰
	1:2 ⁰	1:2 ⁰	1:2 ⁰	1:2 ⁰	1:2 ⁰
	1:2 ⁰	1:2 ⁰	1:2 ⁰	1:2 ⁰	1:2 ⁰

巴结肿大、肝肿大, 肠壁有出血, 肠内充满稀薄、水样黄绿色内容物, 恶臭。各组猫发病及死亡情况如下表 2 所示。对发病后死亡猫的肝、肾、肠和肠淋巴结进行病毒 DNA 提取及 PCR 检测, 结果检测结果均为阳性(图 2), 因此确定死亡猫为 FPV 强毒攻毒所致。

表 2 FPV-HLJ 株攻毒试验结果

Table 2 The challenge results after inoculated virulent strain FPV-HLJ

Groups	Group1	Group2	Group3
Morbidity	1/5	0/5	5/5
Mortality	0/5	0/5	4/5
Survival rate	100%	100%	20%

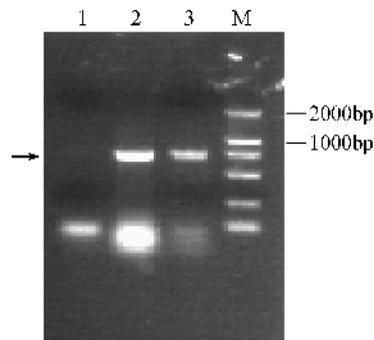


图 2 攻毒实验 PCR 检测结果

Fig.2 Detection of PCR amplification of FPV. M. DL2000; 1. negative control; 2. FPV positive control; 3. positive sample.

2.2.3 东北虎免疫前后 FPV HI 效价检测结果 微量血凝抑制试验结果表明, 一免后 15 d, 各免疫虎血清中均可检测到 FPV HI 抗体, 效价多为 1:64; 二免后 15 d 各免疫虎血清 HI 抗体效价均升高, 为 1:256 ~ 1:512; 三免后 15 d, 其 HI 抗体效价多为 1:1024

(如表 3 所示)。

表 3 免疫虎血清 FPV HI 抗体效价

Table 3 The titers of FPV HI antibodies of immunized tigers

Immunized tigers	Before inoculation	15d after 1 st immunization	15d after 2 nd immunization	15d after 3 rd immunization
1	1:2 ⁰	1:2 ⁶	1:2 ⁹	1:2 ¹⁰
2	1:2 ⁰	1:2 ⁵	1:2 ⁸	1:2 ¹¹
3	1:2 ⁰	1:2 ⁶	1:2 ⁸	1:2 ¹⁰
4	1:2 ⁰	1:2 ⁶	1:2 ⁹	1:2 ¹⁰

3 讨论

3.1 母源抗体与免疫方案

母源抗体 HI 滴度大于 80 时,能有效保护幼年动物免受细小病毒的感染^[9]。4~18 周的幼年动物最易感染细小病毒,这时母源抗体逐渐低于保护水平^[10]。2005 年至今,FPV 严重威胁着我国某虎园圈养虎尤其是幼虎的健康,且感染的虎年龄越来越小,甚至已经从 4 日龄的幼虎中检测出细小病毒。分析其原因可能是:某些母虎母性不强,幼虎吃不到母乳,而猫科动物主要从乳汁中获得母源抗体^[11];或者母源抗体低于保护水平,再者,发病或隐性感染个体不断向外排毒,造成环境的严重污染。因此,对其进行及时有效的疫苗接种显得颇为重要。本实验室分离出的虎源 FPV-HLJ 免疫原性上优于国外标准株 CU-4,将 FPV-HLJ 用以研制保护效力更高的常规或新型疫苗,对预防国内圈养东北虎 FPV 的流行具有重要的意义^[12]。

弱毒疫苗能诱导机体快速产生免疫应答,但在实际应用中发现,FPV 弱毒苗易受母源抗体的影响,当母源抗体 HI 效价大于 20 时可能导致疫苗免疫的失败,不适合在幼年群体中使用^[13-14]。甲醛制备的同源或异源细胞培养灭活疫苗,通常间隔 4 周免疫一次,2 次免疫后能诱导动物机体产生对 FPV 的抵抗力^[15],免疫期可持续 8~12 个月,甚至可达 3~7 年^[16]。这种疫苗对幼年动物或怀孕的母体安全性好,没有副作用。目前国内外还没有报道有关虎 FPV 的免疫程序,本实验在参考以上免疫程序的基础上并加以改进先对猫进行免疫,获得理想的免疫效果。而后对虎进行免疫,二免后就能产生较好的保护效价。因此,在以后的免疫接种中,我们建议采用如下免疫方式:用灭活苗进行 2 次或 2 次以上的免疫,或先用灭活疫苗免疫 1 次,待机体产生一定的保护效价后,接种弱毒疫苗诱导机体产生较强的特异性免疫应答,以期获得较长时间的保护,而且能很好地保证弱毒疫苗的使用安全。

3.2 FPV 疫苗应用效果实验

实验结果显示,本实验研制的 FPV 灭活苗和猫瘟热灭活苗免疫家猫后,机体产生的抗体呈规律性上升,一免后 15 d,两组动物均产生较低水平的抗体,随着免疫次数增多猫血清 FPVHI 抗体效价逐渐升高,直至三免后 15 d,抗体水平达到最高。动物攻毒试验表明,未免疫猫(第 3 组)在强毒攻击后,在早期产生明显症状随后表现少数耐过大多数死亡,而经本实验室所制虎源 FPV 细胞培养灭活疫苗(第 1 组)和猫瘟热灭活疫苗(第 2 组)三次接种免疫后的猫对 FPV 强毒的攻击具有良好的免疫保护作用。本实验的最终目的是研制出有效控制大型野生猫科动物 FPV 的疫苗,所以当确信免疫猫能产生较高的效价和良好的免疫保护后,将此苗接种东北虎。同样,本实验研制的 FPV 灭活苗二免后在东北虎体内能产生较高的效价,且此 FPV 灭活苗是以某虎园分离鉴定的虎源 FPV-HLJ 株为制苗种毒,该苗具有针对性强,免疫原性好,免疫剂量小等特点,比较适合用于对大型圈养猫科动物尤其是幼年动物 FPV 的防治。

3.3 关于实验东北虎样本量的选择

灭活疫苗免疫效果目前主要采用强毒攻毒和血清中抗体检测方法进行评价,采用强毒攻击进行疫苗效力测定易出现强度扩散的风险,用在虎这种国家一级保护动物,可能会构成无法估量的潜在危险,HI 抗体水平高低与疫苗保护呈正相关,可以作为疫苗效力检验评价方法在生产中应用。但采血过程中必须现行麻醉,这对虎的正常生活造成影响,而且操作如有过失,还可能导致虎的死亡。为了尽量减少实验给东北虎带来的伤害,本研究仅选取了 4 只东北虎作为实验组,免疫前各虎体内 FPV HI 抗体均为阴性,若此时 FPV 感染实验虎,机体必然表现出高温、呕吐、厌食等临床症状,并有可能导致动物的死亡。实验过程中,动物机体并没有相应症状的出现,因此,虽没有阴性对照,仍能说明随着免疫次数的增加 FPV HI 抗体的增加是灭活苗的作用而非感染 FPV 所致。免疫后 HI 抗体水平测定将在大群疫苗免疫后进一步完成,为评价疫苗免疫效果提供更全面地数据。

参考文献

- [1] Harrison TM, Mazet JK, Holekamp KE, et al. Antibodies to canine and feline viruses in spotted hyenas (*Crocuta crocuta*) in the Masai Mara National Reserve. *Journal of Wildlife Diseases* 2004; 40(1): 1-10.

- [2] Nettles VF , Pearson JE , Gustafson GA , et al. Parvovirus infection in translocated raccoons. *American Veterinary Medical Association* ,1980 ,177(9) :787 - 789 .
- [3] 杨松涛,周明,王铁成,等.猫科动物猫泛白细胞减少症血清抗体调查.兽类学报(*Acta Theriologica Sinica*), 2008 ,28(1) :101 - 104 .
- [4] 杨松涛,王立刚,戈锐,等.虎源猫泛白细胞减少症病毒的分离鉴定.兽类学报(*Acta Theriologica Sinica*), 2007 ,27(2) :170 - 174 .
- [5] 刘丹,于亚丽,华育平,等.圈养东北虎 FPV 感染情况的初步调查与研究.野生动物杂志(*Journal of Chinese Wildlife*) 2008 ,29(4) :171 - 173 .
- [6] 杨松涛,夏咸柱,乔军,等.表达猫瘟热病毒 VP2 蛋白重组腺病毒的构建及免疫原性研究.中国病毒学(*Virologica sinica*) 2005 ,20(6) :637 - 641 .
- [7] Hu L , Ngichabe C , Trimarchi CV , et al. Raccoon poxvirus live recombinant feline panleukopenia virus VP2 and rabies virus glycoprotein bivalent vaccine. *Vaccine* ,1997 ,15(12-13) :1466 - 1472 .
- [8] 陈曦,杨水云,孙飞龙.大熊猫粪便 DNA 纯化及其 PCR 检测.经济动物学报(*Journal of Economic Animal*), 2003 ,71 :32 - 34 .
- [9] Nicola D , Marco C , Costantina D. Maternally-derived antibodies in pups and protection from canine parvovirus infection. *Biologicals* 2005 (33) :261 - 267 .
- [10] Christopher M , DeBouck P , Wisemant A. Immunogenicity of a low-passage , high-titer modified live canine parvovirus maternally vaccine in pups with derived antibodies. *Vaccine* , 1997 ,15(3) :273 - 275 .
- [11] Tizard I. *Veterinary immunology-An introduction*. London : W. B. Saunders Company ,1987 .
- [12] 于亚丽,华育平,曾祥伟,等.虎源猫泛白细胞减少症病毒 VP1、VP2 和 NS1 基因的克隆与序列分析.东北林业大学学报(*Journal of Northeast Forestry University*), 2009 ,37(1) :83 - 85 .
- [13] Duenwald JC , Holland JM , Gorham JR , et al. Feline panleukopenia : experimental cerebellar hypoplasia produced in neonatal ferrets with live virus vaccine. *Research in Veterinary Science* ,1971 ,14(4) :394 - 396 .
- [14] Spencer JA , Burroughs R. Antibody response of captive cheetahs to modified-live feline virus vaccine. *Journal of Wildlife Diseases* ,1991 ,27(4) :578 - 583 .
- [15] Sampson GR , Counter FT , Schlegel BF , et al. Antibody response of cats vaccinated with an inactivated cell culture feline panleukopenia vaccine. *American Veterinary Medical Association* ,1972 ,160(12) :1619 - 1621 .
- [16] Scott FW , Geissinger CM. Long-term immunity in cats vaccinated with an inactivated trivalent vaccine. *American Journal Veterinary Research* ,1999 ,60(5) :652 - 658 .

Preparation of the vaccine with inactivated Feline Panleukopenia Virus isolated from tiger and the preliminary application

Yali Yu¹ , Ming Zhou² , Jin Zhang¹ , Yuping Hua^{1*} , Ligang Wang² , Yinan Liu¹ , Dan Liu² , Xianzhu Xia³

(¹College of Wildlife Resources , Northeast Forestry University , Harbin 150040 , China)

(²Northeast Tiger Wooden Land of Heilongjiang , Harbin 150028 , China)

(³Institute of Military Veterinary , Academy of Military Medical Sciences , Changchun 130062 , China)

Abstract : [**Objective**] To prepare a vaccine with inactivated Feline Panleukopenia Virus (FPV) isolated from Siberian tigers and to evaluate its immunological effect. [**Methods**] FPV-HLJ , an FPV strain previously isolated from Siberian tiger in our lab was used to inoculate cat kidney cell line F81 with dose 1/10 (v/v) using the synchronizing inoculation method. Inoculated F81 cell line was cultured at 37°C and collected when cytopathic effect was up to 75% . Viral suspension was inactivated by using formaldehyde for 24 h and inactive vaccine prepared by adding aluminium hydroxide gel as adjuvant to the suspension. The inactive vaccine was applied to 2- month old kitten tigers of hypodermically after protection effect was proved in 2-month old nonimmunized cats by using the same vaccination procedure. [**Results**] Antibody level in vaccinated cats revealed an increasing trend that the valence of antibody reached 1 :1024 ~ 2048 after three times of vaccination. All vaccinated cats survived challenges of virulent FPV virus. The valence of antibody reached 1 :1024 in most vaccinated tigers 15 days after the third vaccination. [**Conclusion**] The results indicated that the inactivated vaccine can produce immunoprotection for tigers.

Keywords : tiger ; Feline Panleukopenia Virus ; inactivated vaccine ; antibody detection

(本文责编 : 王晋芳)