



# (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105510571 A

(43) 申请公布日 2016. 04. 20

(21) 申请号 201510920475. 7

(22) 申请日 2015. 12. 11

(71) 申请人 中国兽医药品监察所

地址 100081 北京市海淀区中关村南大街 8 号

(72) 发明人 赵启祖 邹兴启 朱元源 王琴  
徐璐 范学政 张乾义 丁家波  
冯忠武 冯忠泽 印春生 郎洪武  
杨劲松 才学鹏 宁宜宝

(74) 专利代理机构 北京君智知识产权代理事务  
所 11305

代理人 郑明

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006. 01)

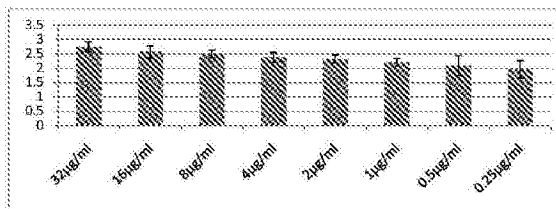
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

## (54) 发明名称

一种口蹄疫灭活疫苗效力检验方法

## (57) 摘要

本发明涉及一种口蹄疫灭活疫苗效力检验方法。本发明所述的方法包括：(1) 每批疫苗每个剂量免疫 4 ~ 8 只 Balb/c 系小鼠，疫苗免疫剂量可分为 1 头份，1/2 头份，1/4 头份三个剂量组，第 28 天采血，分离血清；(2) 通过口蹄疫阻断 ELISA 方法检测血清特异性抗体，抗体阻断 ELISA 效价  $-\log_{10}X$  高于 2.0 以上，变异系数低于 12%，即判为合格。本发明为口蹄疫灭活疫苗效力检验提供了一种新的方法，通过上述方法免疫 Balb/c 系小鼠，检测血清可较好的反映疫苗中有效抗原含量，替代本动物免疫攻毒试验。



1. 一种口蹄疫灭活疫苗效力检验方法,其特征在于本发明所述的方法是通过口蹄疫阻断ELISA方法检测血清特异性抗体替代本动物免疫攻毒进行口蹄疫灭活疫苗效力检验。

2. 如权利要求1所述口蹄疫灭活疫苗效力检验方法,其特征在于该方法包括:(1)每批疫苗每个剂量免疫4~8只Ba1b/c系小鼠,疫苗免疫剂量可分为1头份,1/2头份,1/4头份三个剂量组,第28天采血,分离血清;(2)通过口蹄疫阻断ELISA方法检测血清特异性抗体,抗体阻断ELISA效价 $\log_{10}X$ 高于2.0以上,变异系数低于12%,即判为合格。

3. 根据权利要求1所述的一种口蹄疫灭活疫苗效力检验方法,步骤(1)中Ba1b/c系小鼠为8~9周龄。

4. 根据权利要求1所述的一种口蹄疫灭活疫苗效力检验方法,步骤(1)中疫苗可为O型、亚洲I型、A型单价疫苗或二价疫苗或三价疫苗。

5. 根据权利要求1所述的一种口蹄疫灭活疫苗效力检验方法,步骤(2)中血清特异性抗体分为O型,Asia 1型,A型。

## 一种口蹄疫灭活疫苗效力检验方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种口蹄疫灭活疫苗效力检验方法。属于动物用生物制品领域。

### 背景技术

[0002] 口蹄疫在许多发展中国家仍然肆虐,引起猪牛羊等主要家畜发病,造成巨大的经济损失。发达国家通过扑杀为主的防控措施有效控制了口蹄疫,对于流行地区和国家主要采取免疫结合扑杀的综合防控措施,其中疫苗免疫是关键一环,疫苗质量是重中之重。检验口蹄疫灭活疫苗质量控制的主要指标有内毒素含量,总蛋白含量,有效抗原含量(146S含量),在我国已有内毒素含量及总蛋白含量的检测标准。

[0003] 有效抗原含量(146S)被认为是一个比较能够客观反映疫苗质量的重要指标,当前146S含量检测可通过蔗糖密度梯度离心法及高效液相色谱法测定,但无法区分多价疫苗(不同血清型口蹄疫毒株),因此需研究能反映不同血清型146S含量的检测方法,可通过建立抗原ELISA或使用标准动物免疫检测146S含量。

[0004] 效力检验的目的是检测疫苗的免疫效果,其实质主要反映的是146S含量的高低。效力检验需要使用本动物猪或牛,我国有6家口蹄疫灭活疫苗生产企业,每家企业每年生产几十批至百余批疫苗,每批疫苗效力检验使用动物数18~50头不等,每年总共使用猪和牛数以万计。由于在我国口蹄疫是强制免疫动物疫病,口蹄疫阴性动物极少,造成效力检验动物极度缺乏;同时口蹄疫免疫攻毒还存在生物安全风险,可能造成散毒引起疫病暴发;动物之间个体差异大,对结果影响明显,不能客观的反应疫苗中有效抗原含量;此外要处理大量的动物尸体会造成环境污染;动物实验引发动物福利问题,总之,使用本动物免疫攻毒效力检验方法存在诸多缺点,耗费大量人力财力。因此,口蹄疫灭活疫苗效力替代方法的研究迫在眉睫,国际上阿根廷建立了牛免疫血清抗体水平与免疫攻毒保护之间的相互关系,替代了本动物攻毒检验,并获得了OIE的认可。

[0005] 综合目前口蹄疫灭活疫苗146S含量检测及效力检验存在的问题,进行了相应的研究,并发明了一种替代本动物免疫攻毒的效力检验方法。

### 发明内容

[0006] 本发明的目的是针对口蹄疫灭活疫苗效力检验存在的缺点,本发明提供了一种口蹄疫灭活疫苗效力检验方法,使用该方法可对口蹄疫灭活疫苗进行效力检验,反映口蹄疫灭活疫苗的免疫效果,本法用于替代口蹄疫灭活疫苗传统效力检验方法。

[0007] 本发明的技术方案

[0008] 1.一种口蹄疫灭活疫苗效力检验方法,其特征在于本发明所述的方法是通过口蹄疫阻断ELISA方法检测血清特异性抗体替代本动物免疫攻毒进行口蹄疫灭活疫苗效力检验。

[0009] 2.如权利要求1所述口蹄疫灭活疫苗效力检验方法,其特征在于该方法包括:(1)每批疫苗每个剂量免疫4~8只Ba1b/c系小鼠,疫苗免疫剂量可分为1头份,1/2头份,1/4头

份三个剂量组,第28天采血,分离血清;(2)通过口蹄疫阻断ELISA方法检测血清特异性抗体,抗体阻断ELISA效价 $-\log_{10}X$ 高于2.0以上,变异系数低于12%,即判为合格。

[0010] 3.根据权利要求2所述的一种口蹄疫灭活疫苗效力检验方法,步骤(1)中Balb/c系小鼠为8-9周龄。

[0011] 4.根据权利要求1所述的口蹄疫灭活疫苗效力检验方法,步骤(1)中疫苗可为0型、亚洲I型、A型单价疫苗或二价疫苗或三价疫苗。

[0012] 5.根据权利要求1所述的一种口蹄疫灭活疫苗效力检验方法,步骤(2)中血清特异性抗体分为0型,Asia 1型,A型。

### 具体实施方式

[0013] 1.不同146S含量口蹄疫0型灭活抗原与小鼠免疫血清抗体关系

[0014] 将已知146S含量(64 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )的0型口蹄疫灭活抗原(金宇保灵生物药品有限公司提供)作2倍系列稀释至0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ,加入等体积206佐剂(中牧实业股份有限公司兰州生物药厂提供)配制疫苗(疫苗抗原含量—32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ),每只Balb/c皮下注射免疫0.5ml,每个抗原含量疫苗注射5只小鼠,28天采血分离血清,用液相ELISA试剂盒测定血清效价。血清效价用 $-\log_{10}X$ 表示,计算平均值和标准差,结果如图1所示。

[0015] 每毫升疫苗中抗原含量和抗体产生有相关性,随着抗原含量降低,抗体水平也降低。每毫升疫苗抗原含量大于1 $\mu\text{g}$ 时,不同免疫小鼠抗体差异小,标准差小于统计学可以接受的12%,但当每毫升疫苗中抗原含量小于0.5 $\mu\text{g}$ 时,标准差大于12%,不同动物之间离散度加大,测定准确性降低。该方法不仅可以评价抗原,也可以评价佐剂,综合反应疫苗的免疫应答效果。也可以解决不同血清型的问题。

[0016] 2.不同146S含量口蹄疫二价灭活抗原(0型+亚洲I型)与小鼠免疫血清抗体关系

[0017] 疫苗配制:将0型和亚洲I型抗原(均由金宇保灵生物药品有限公司提供)等量混合,分别配制成总抗原含量分别为32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的疫苗。每个含量的疫苗免疫5只小鼠,每只0.5ml,免疫后28天采血分离血清,采用液相阻断ELISA测定血清抗体效价。

[0018] 不同抗原浓度的二价疫苗免疫小鼠,分别测定亚洲I型抗体和0型抗体,亚洲I型随着抗原浓度降低,抗体效价逐渐下降,小鼠间变异系数增加。但总抗原含量为4 $\mu\text{g}$ 或亚洲I型抗原达到2 $\mu\text{g}$ ,抗体效价位于2.0上下(结果见图2)。

[0019] 3.不同146S含量口蹄疫三价灭活抗原(0型+亚洲I型+A型)与小鼠免疫血清抗体关系

[0020] 口蹄疫三价灭活抗原(0型、亚洲I型和A型)均为金宇保灵生物药品有限公司提供)。按照0型抗原40%,A型抗原30%,Asia1型抗原30%的比例,配制总抗原含量分别为32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的疫苗。例如疫苗中总抗原含量为32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的疫苗,其0型抗原12.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 疫苗,A型抗原9.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 疫苗,Asia1抗原9.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 疫苗。分别免疫5只小鼠,每只0.5ml,免疫后28天采血分离血清,采用液相阻断ELISA测定血清抗体效价。

[0021] 总抗原含量大于4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 疫苗时,抗体可以达到约2.0以上,不同小鼠之间变异系数小于12%,总抗原含量小时,不同小鼠之间抗体变异加大,没有规律性,变异系数超过12%(结果见图3)。

[0022] 本发明为口蹄疫灭活疫苗效力检验提供了一种新的方法,通过上述方法免疫Ba1b/c系小鼠,检测血清可较好的反映疫苗中有效抗原含量,可替代本动物免疫攻毒试验。

[0023] 本发明提供了一种口蹄疫灭活疫苗效力检验的替代方法,其方法包括如下:

[0024] 1)每批疫苗每个剂量免疫4~8只Ba1b/c系小鼠,疫苗免疫剂量可分为1头份,1/2头份,1/4头份三个剂量组,第28天采血,分离血清;

[0025] 2)通过口蹄疫阻断ELISA方法检测血清特异性抗体,抗体阻断ELISA效价 $-1\log_{10}X$ 高于2.0以上,变异系数低于12%,即判为合格。

[0026] 本发明的积极意义

[0027] 本发明涉及一种口蹄疫灭活疫苗效力检验方法。本发明所述的方法包括:(1)每批疫苗每个剂量免疫4~8只Ba1b/c系小鼠,疫苗免疫剂量可分为1头份,1/2头份,1/4头份三个剂量组,第28天采血,分离血清;(2)通过口蹄疫阻断ELISA方法检测血清特异性抗体,抗体阻断ELISA效价 $-1\log_{10}X$ 高于2.0以上,变异系数低于12%,即判为合格。本发明为口蹄疫灭活疫苗效力检验提供了一种新的方法,通过上述方法免疫Ba1b/c系小鼠,检测血清可较好的反映疫苗中有效抗原含量,替代本动物免疫攻毒试验。

## 附图说明

[0028] 图1不同146S含量口蹄疫0型灭活抗原与免疫血清抗体的关系

[0029] 图2不同146S含量口蹄疫二价灭活抗原(0型+亚洲I型)与免疫血清抗体的关系

[0030] 图3不同146S含量口蹄疫三价灭活抗原(0型+亚洲I型+A型)与免疫血清抗体的关系

[0031] 实施例

[0032] 下面通过实施例对本发明进行进一步说明:

[0033] 实施例一0型口蹄疫灭活疫苗的小鼠免疫血清学检测

[0034] 1.实验动物:选取8~10周龄SPF级Ba1b/c系小鼠,分为4组,其中3个实验组,1组对照组,每组5只小鼠。

[0035] 2.疫苗及疫苗免疫:0型口蹄疫灭活疫苗;选取3组动物为实验组,分别免疫1头份剂量,1/2头份剂量,1/4头份剂量,对照组注射206佐剂。

[0036] 3.采血分离血清:小鼠于免疫后第28天眼窝采血,4℃,5000r/min离心10min,分离血清。

[0037] 4.血清抗体阻断ELISA检测将小鼠血清用PBST稀释,从1:4开始,2倍系列稀释至1:512,于反应板的每孔加量50 $\mu$ L;然后每孔再加入50 $\mu$ L稀释至工作浓度的0型抗原,混匀4℃反应过夜;取以上50 $\mu$ L抗原抗体反应物加入至包被兔抗口蹄疫抗体(中国农科院兰州兽医研究所)的另一块96孔反应板中,37℃作用1小时,弃液,PBST洗涤5遍,加入豚鼠抗血清工作液,37℃作用30min,弃液,PBST洗涤5遍,加入酶标二抗,37℃作用30min,弃液,PBST洗涤5遍,然后加入OPD底物反应液,37℃作用5~10min,加入终止液,酶标读数测定结果OD(492nm)。

[0038] 5.结果计算:根据阻断ELISA计算方法,确定阳性临界值,高于临界值为阴性,小于等于临界值为阳性,如某样品稀释至1:256孔的值低于临界值,1:512孔的值高于临界值,则确定阻断ELISA值为1:256。

[0039] 6. 判定: 首先将阻断ELISA值换算成以 $-\log_{10}X$ 的抗体效价, 然后计算同组5只老鼠抗体效价的平均值及SD值, 并计算变异系数(C.V)=SD值/平均值, 当1头份剂量组平均值大于2.0, C.V低于12%则判为合格。

[0040] 按此操作测定了4批经本动物免疫攻毒检验合格的口蹄疫O型灭活疫苗, 结果均判为合格。

[0041] 表1 4批口蹄疫O型灭活疫苗免疫小鼠血清抗体结果( $-\log_{10}X+SD$ )

[0042]

编号	剂量	O 型 ELISA 抗体	变异系数	判定	PD <sub>50</sub>
1	1	2.65±0.25	9.51%	合格	11.84
	1/2	2.35±0.13	5.73%		
	1/4	2.23±0.34	15.41%		
2	1	2.68±0.22	8.35%	合格	13.59
	1/2	2.29±0.27	11.77%		
	1/4	2.71±0.00	0.00%		
3	1	2.59±0.16	6.37%	合格	10.81
	1/2	2.29±0.16	7.21%		
	1/4	2.35±0.25	10.73%		
4	1	2.53±0.16	6.52%	合格	13.59
	1/2	2.41±0.21	8.84%		
	1/4	2.47±0.13	5.45%		

[0043] 实施例二

[0044] 口蹄疫O型AsiaI型二价灭活疫苗; 的小鼠免疫血清学检测

[0045] 1. 实验动物: 选取8~10周龄SPF级Ba1b/c系小鼠, 分为4组, 其中3个实验组, 1组对照组, 每组5只小鼠。

[0046] 2. 疫苗及疫苗免疫: 口蹄疫二价灭活疫苗(O型+AsiaI型)选取3组动物为实验组, 分别免疫1头份剂量, 1/2头份剂量, 1/4头份剂量, 对照组注射206佐剂。

[0047] 3. 采血分离血清: 小鼠于免疫后第28天眼窝采血, 4℃, 5000r/min离心10min, 分离血清。

[0048] 4. 血清抗体阻断ELISA检测: 将小鼠血清用PBST稀释, 从1:4开始, 2倍系列稀释至1:512, 于反应板的每孔加量50μL; 然后每孔再加入50μL稀释至工作浓度的O型抗原, 混匀4℃反应过夜; 取以上50μL抗原抗体反应物加入至包被兔抗口蹄疫抗体(中国农科院兰州兽医研究所)的另一块96孔反应板中, 37℃作用1小时, 弃液, PBST洗涤5遍, 加入豚鼠抗血清工作液, 37℃作用30min, 弃液, PBST洗涤5遍, 加入酶标二抗, 37℃作用30min, 弃液, PBST洗涤5遍, 然后加入OPD底物反应液, 37℃作用5~10min, 加入终止液, 酶标读数测定结果OD(492nm)。同样按此方法检测小鼠血清中亚洲I型抗体。

[0049] 5. 结果计算: 根据阻断ELISA计算方法, 确定阳性临界值, 高于临界值为阴性, 小于

等于临界值为阳性,如某样品稀释至1:256孔的值低于临界值,1:512孔的值高于临界值,则确定阻断ELISA值为1:256。

[0050] 6.判定:首先将阻断ELISA值换算成以 $-\log_{10}X$ 的抗体效价,然后计算同组5只老鼠的抗体效价的平均值及SD值,并计算变异系数(C.V)=SD值/平均值,只有当1头份剂量组O型和Asia I抗体效价平均值均大于2.0,C.V低于12%,疫苗判为合格。

[0051] 按此操作测定了3批经本动物免疫攻毒检验合格的口蹄疫三价灭活疫苗(O型+Asia I型+A型),结果均判为合格。

[0052] 表2 3批口蹄疫二价灭活疫苗(O型+Asia I型)免疫小鼠血清抗体结果( $-\log_{10}X+SD$ )

[0053]

编号	剂量	阻断ELISA 效价						判定	PD <sub>50</sub>
		O 型			Asia1 型				
1	1	2.71±0.00	0.00%	√	2.83±0.27	9.52%	√	合格	O 13.59 Asia1 15.59
	1/2	2.65±0.13	5.08%	√	2.53±0.16	6.52%	√		
	1/4	2.13±0.39	18.31%	×	2.11±0.37	17.50%	×		
2	1	2.71±0.12	4.43%	√	2.59±0.16	6.37%	√	合格	O 15.59 Asia1 13.59
	1/2	2.65±0.13	5.08%	√	2.35±0.25	10.73%	√		
	1/4	2.11±0.21	10.10%	√	1.81±0.30	16.67%	×		
3	1	2.53±0.27	10.65%	√	2.15±0.23	10.70%	√	合格	O 13.59 Asia1 13.59
	1/2	2.35±0.13	5.73%	√	1.96±0.26	13.27%	×		
	1/4	2.09±0.16	7.66%	√	1.72±0.25	14.53%	×		

[0054] 实施例三

[0055] 口蹄疫三价灭活疫苗(O型+Asia I型+A型)的小鼠免疫血清学检测

[0056] 1.实验动物:选取8~10周龄SPF级Balb/c系小鼠,分为4组,其中3个实验组,1组对照组,每组5只小鼠。

[0057] 2.疫苗及疫苗免疫:口蹄疫三价灭活疫苗(O型+Asia I型+A型),选取3组动物为实验组,分别免疫1头份剂量,1/2头份剂量,1/4头份剂量,对照组注射206佐剂。

[0058] 3.采血清分离血清:小鼠于免疫后第28天眼窝采血,4℃,5000r/min离心10min,分离血清。

[0059] 4.血清抗体阻断ELISA检测:将小鼠血清用PBST稀释,从1:4开始,2倍系列稀释至1:512,于反应板的每孔加量50μL;然后每孔再加入50μL稀释至工作浓度的O型抗原,混匀4℃反应过夜;取以上50μL抗原抗体反应物加入至包被兔抗口蹄疫抗体(中国农科院兰州兽医研究所)的另一块96孔反应板中,37℃作用1小时,弃液,PBST洗涤5遍,加入豚鼠抗血清工作液,37℃作用30min,弃液,PBST洗涤5遍,加入酶标二抗,37℃作用30min,弃液,PBST洗涤5遍,然后加入OPD底物反应液,37℃作用5~10min,加入终止液,酶标读数测定结果OD(492nm)。同样按此方法检测小鼠血清中Asia I型和A型抗体。

[0060] 5.结果计算:根据阻断ELISA计算方法,确定阳性临界值,高于临界值为阴性,小于等于临界值为阳性,如某样品稀释至1:256孔的值低于临界值,1:512孔的值高于临界值,则

确定阻断ELISA值为1:256。

[0061] 6.判定:首先将阻断ELISA值换算成以 $-\log_{10}X$ 的抗体效价,然后计算同组5只老鼠的抗体效价的平均值及SD值,并计算变异系数(C.V)=SD值/平均值,只有当1头份剂量组O型、Asia I型及A型抗体效价平均值均大于2.0,C.V低于12%,疫苗判为合格。

[0062] 按此操作测定了3批经本动物免疫攻毒检验合格的口蹄疫三价灭活疫苗(O型+Asia I型+A型),结果均判为合格。

[0063] 表3 3批口蹄疫三价灭活疫苗(O型+Asia I型+A型)免疫小鼠血清抗体结果( $-\log_{10}X+SD$ )

[0064]

编号	剂量	阻断 ELISA 效价									判定	PD <sub>50</sub>
		O 型			Asia1 型			A 型				
1	1	2.77±0.13	4.86%	√	2.35±0.13	5.53%	√	2.35±0.25	10.73%	√	合格	O: 15.59
	1/2	2.65±0.13	5.08%	√	2.29±0.16	7.21%	√	2.17±0.13	6.21%	√		Asia1: 15.59
	1/4	2.47±0.25	10.20%	√	1.87±0.39	21.03%	×	1.90±0.36	19.14%	×		A: 15.59
2	1	3.01±0.00	0.00%	√	2.59±0.16	6.37%	√	2.59±0.27	10.40%	√	合格	O: 15.59
	1/2	2.95±0.13	4.56%	√	2.53±0.16	6.52%	√	2.53±0.16	6.52%	√		Asia1: 15.59
	1/4	2.65±0.13	5.08%	√	2.35±0.25	10.73%	√	2.35±0.25	10.73%	√		A: 15.59
3	1	2.53±0.27	10.65%	√	2.17±0.25	11.62%	√	2.41±0.21	8.84%	√	合格	O: 13.59
	1/2	2.35±0.13	5.73%	√	1.93±0.27	13.98%	×	1.99±0.16	8.30%	×		Asia1: 15.59
	1/4	2.11±0.21	10.10%	√	1.69±0.16	9.78%	×	1.51±0.21	14.14%	×		A: 13.59

[0065] 注:每批疫苗PD<sub>50</sub>从上到下依次为O型,亚洲I型,A型。

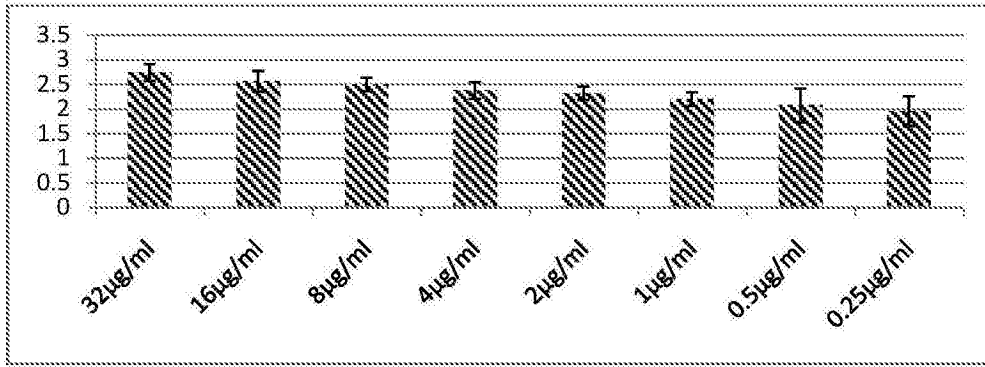


图1

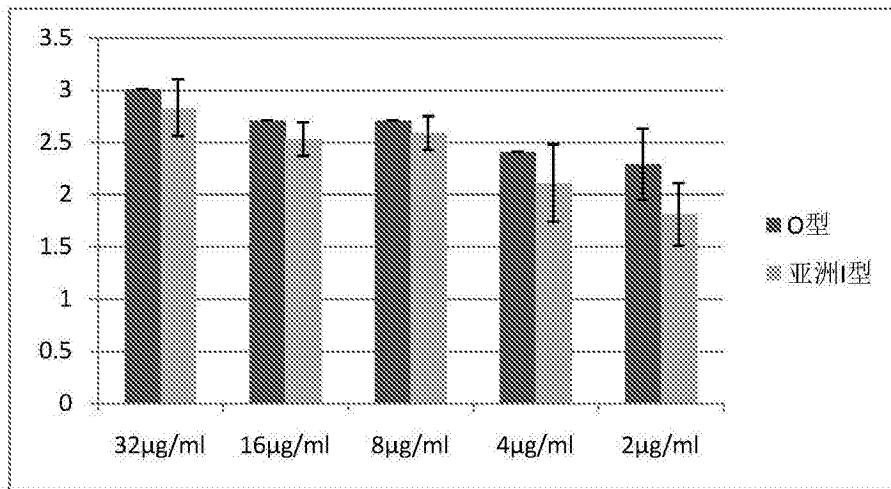


图2

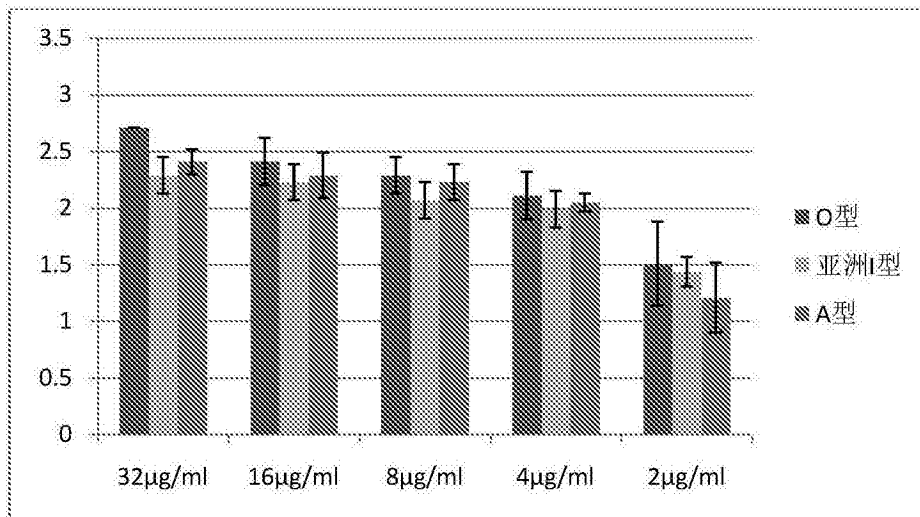


图3

专利名称(译)	一种口蹄疫灭活疫苗效力检验方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN105510571A</a>	公开(公告)日	2016-04-20
申请号	CN201510920475.7	申请日	2015-12-11
[标]申请(专利权)人(译)	中国兽医药品监察所		
申请(专利权)人(译)	中国兽医药品监察所		
当前申请(专利权)人(译)	中国兽医药品监察所		
[标]发明人	赵启祖 邹兴启 朱元源 王琴 徐璐 范学政 张乾义 丁家波 冯忠武 冯忠泽 印春生 郎洪武 杨劲松 才学鹏 宁宜宝		
发明人	赵启祖 邹兴启 朱元源 王琴 徐璐 范学政 张乾义 丁家波 冯忠武 冯忠泽 印春生 郎洪武 杨劲松 才学鹏 宁宜宝		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/94		
代理人(译)	郑明		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

本发明涉及一种口蹄疫灭活疫苗效力检验方法。本发明所述的方法包括：(1)每批疫苗每个剂量免疫4~8只Balb/c系小鼠，疫苗免疫剂量可分为1头份，1/2头份，1/4头份三个剂量组，第28天采血，分离血清；(2)通过口蹄疫阻断ELISA方法检测血清特异性抗体，抗体阻断ELISA效价-log<sub>10</sub>X高于2.0以上，变异系数低于12%，即判为合格。本发明为口蹄疫灭活疫苗效力检验提供了一种新的方

法，通过上述方法免疫Balb/c系小鼠，检测血清可较好的反映疫苗中有效抗原含量，替代本动物免疫攻毒试验。

