

# 豚繁殖・呼吸障害症候群生ワクチン

平成20年6月6日(告示第913号) 新規追加

平成29年6月28日(告示第1010号) 一部改正

## 1 定義

弱毒豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスを培養細胞で増殖させて得たウイルス液を凍結乾燥したワクチンである。

## 2 製法

### 2.1 製造用株

#### 2.1.1 名称

豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスJJ1882株又はこれと同等と認められた株

#### 2.1.2 性状

豚に注射しても病原性又は臨床的な異常を示さず、MA-104細胞又は豚肺胞マクロファージでCPEを伴って増殖する。

#### 2.1.3 継代及び保存

原株及び原種ウイルスは、MA-104細胞又は適当と認められた細胞で継代する。

原株の継代は、原種ウイルスの製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行ってはならない。原種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は4代以内でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数以内とする。

原株及び原種ウイルスは、凍結して-60℃以下で保存する。

### 2.2 製造用材料

#### 2.2.1 培養細胞

MA-104細胞又は製造に適当と認められた培養細胞を用いる。

#### 2.2.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

### 2.3 原液

#### 2.3.1 細胞の培養

1回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。

個別培養細胞について、3.1の試験を行う。

#### 2.3.2 ウイルスの培養

原種ウイルスを培養細胞で培養し、適当と認められた時期に個別培養細胞ごとに採取し、必要に応じてろ過及び濃縮した培養液を原液とする。原液に適当と認められた安定剤を加えてもよい。

原液について、3.2の試験を行う。

### 2.4 最終バルク

原液に適当と認められた安定剤を加え、これを最終バルクとする。

### 2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、凍結乾燥し、小分製品とする。

小分製品について、3.3の試験を行う。

## 3 試験法

### 3.1 培養細胞の試験

個別培養細胞の1%以上を対照培養細胞とし、これについて次の試験を行う。

#### 3.1.1 培養観察

対照培養細胞を、ウイルスを接種することなく、ウイルスの培養と同じ条件で培養する。

対照培養細胞を4本以上の培養びんに継代し、7日間培養し、観察するとき、CPEを認めてはならない。

#### 3.1.2 赤血球吸着試験

3.1.1の試験最終日に培養びんの培養液を除き、リン酸緩衝食塩液で細胞表面を2回洗浄後、3群に分け、それぞれ0.1vol%のモルモット、がちょう及び7日齢以内の鶏の赤血球浮遊液を重層し、60分間静置後、赤血球吸着の有無を観察するとき、培養細胞に赤血球吸着を認めてはならない。

### 3.2 原液の試験

### 3.2.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

### 3.2.2 ウイルス含有量試験

#### 3.2.2.1 試験材料

##### 3.2.2.1.1 試料

検体をウイルス増殖用培養液（付記1）又は適当と認められた培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

##### 3.2.2.1.2 細胞

MA-104細胞又は適当と認められた培養細胞を96穴プレートに培養し、単層となったものを用いる。

##### 3.2.2.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ6穴以上の培養細胞に接種し、37°Cで8日間培養し観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

##### 3.2.2.3 判定

培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID<sub>50</sub>を算出する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その判定方法とする。

検体のウイルス含有量は、1 mL中10<sup>6.0</sup>TCID<sub>50</sub>以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

### 3.3 小分製品の試験

#### 3.3.1 特性試験

一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、固有の色調を有する乾燥物でなければならない。溶解したものは固有の色調を有する液体でなければならない。異物及び異臭を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

#### 3.3.2 真空度試験

一般試験法の真空度試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.3.3 含湿度試験

一般試験法の含湿度試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

#### 3.3.4 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

#### 3.3.5 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。また、原液を含む中間工程でマイコプラズマ否定試験を実施する場合には、本試験の実施を省略することができる。

#### 3.3.6 迷入ウイルス否定試験

一般試験法の迷入ウイルス否定試験法1.1、2.3.1及び2.3.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。中和用血清は、抗豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス血清（付記2）を非働化したものを用いる。

ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、1.1の実施を省略することができる。

#### 3.3.7 ウイルス含有量試験

3.2.2を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり10<sup>4.9</sup>～10<sup>6.7</sup>TCID<sub>50</sub>の範囲内で行なければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

#### 3.3.8 安全試験

##### 3.3.8.1 試験材料

##### 3.3.8.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

##### 3.3.8.1.2 試験動物

3～4週齢の豚を用いる。

##### 3.3.8.2 試験方法

注射材料1頭分ずつを2頭の試験動物の頸部筋肉内に注射し、21日間観察する。

##### 3.3.8.3 判定

観察期間中、異常を認めてはならない。

##### 3.3.9 力価試験

##### 3.3.9.1 試験材料

#### 3.3.9.1.1 試験動物

3.3.8の試験に用いた動物を用いる。

#### 3.3.9.1.2 感染細胞

MA-104細胞を8チャンバースライドに37℃で培養し、単層を形成させたものに豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスJJ1882株を1チャンバー当たり $10^{3.5}$ TCID<sub>50</sub>以上接種する。37℃で1～2日間培養した後、生理食塩液及び蒸留水で洗浄し、乾燥する。その後、冷アセトン・エタノール(1:1)液で固定後乾燥させたものを感染細胞とし、8℃以下で密封保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その方法で調製した感染細胞を用いる。

#### 3.3.9.2 試験方法

3.3.8の試験終了後7日目に得られた各個体の血清について、蛍光抗体法を行う。

被検血清を生理食塩液で20倍希釈した後、更に2倍階段希釈する。感染細胞に各希釈液を加え、37℃で60分間処理した後、生理食塩液で洗浄し、抗豚IgG蛍光標識抗体(付記3)を加え、37℃で60分間処理した後、生理食塩液で洗浄し、UV励起方式で観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

#### 3.3.9.3 判定

特異蛍光が認められた血清の最高希釈倍数を抗体価とする。

試験動物の抗体価は、40倍以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その抗体価とする。

### 4 貯法及び有効期間

有効期間は、2年間とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その期間とする。

#### 付記1 ウイルス増殖用培養液

1,000mL 中

牛胎子血清

20～50 mL

イーグルMEM

残量

炭酸水素ナトリウムでpHを6.8～7.0に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

#### 付記2 抗豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス血清

豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスVR-2332株又はこれと同等と認められた株で免疫した豚の血清で、検体又は試験品のウイルスを完全に中和する力価を有するもの。

ただし、免疫に用いる豚は、適当と認められた規格の豚を用いる。

#### 付記3 抗豚IgG蛍光標識抗体

抗豚IgG血清からγグロブリンを調製し、これを蛍光色素で標識したもの。