

# 豚アクチノバシラス・プルロニューモニエ（1・2・5型） 感染症（アジュバント加）不活化ワクチン（シード）

平成21年11月12日（告示第1569号） 新規追加

## 1 定義

シードロット規格に適合したアクチノバシラス・プルロニューモニエ1型菌、2型菌及び5型菌の培養菌液をそれぞれ不活化したものを混合し、アルミニウムゲルアジュバントを添加したワクチンである。

## 2 製法

### 2.1 製造用株

#### 2.1.1 アクチノバシラス・プルロニューモニエ1型菌

##### 2.1.1.1 名称

アクチノバシラス・プルロニューモニエ1型菌 1H-7株又はこれと同等と認められた株

##### 2.1.1.2 性状

5～8週齢の感受性豚の鼻腔内又は気管内に接種すると、急性経過で豚を発病又は死亡させる。

##### 2.1.1.3 マスターシード菌

###### 2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、平板培地（付記1）又は適当と認められた平板培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して5℃以下で保存する。

マスターシード菌について、3.1.1の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの継代数は、10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は、その継代数以内とする。

##### 2.1.1.4 ワーキングシード菌

###### 2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、平板培地又は適当と認められた平板培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結乾燥して5℃以下で保存する。

ワーキングシード菌について、3.1.2の試験を行う。

##### 2.1.1.5 プロダクションシード菌

###### 2.1.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、平板培地又は適当と認められた平板培地で増殖する。

プロダクションシード菌は、凍結乾燥して5℃以下で保存する。

プロダクションシード菌について、3.1.3の試験を行う。

#### 2.1.2 アクチノバシラス・プルロニューモニエ2型菌

##### 2.1.2.1 名称

アクチノバシラス・プルロニューモニエ2型菌 SH-15株又はこれと同等と認められた株

##### 2.1.2.2 性状

5～8週齢の感受性豚の鼻腔内又は気管内に接種すると、急性経過で豚を発病又は死亡させる。

##### 2.1.2.3 マスターシード菌

###### 2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、平板培地又は適当と認められた平板培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して5℃以下で保存する。

マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの継代数は、10 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。

#### 2.1.2.4 ワーキングシード菌

##### 2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、平板培地又は適当と認められた平板培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結乾燥して5℃以下で保存する。

ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。

##### 2.1.2.5 プロダクションシード菌

###### 2.1.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、平板培地又は適当と認められた平板培地で増殖する。

プロダクションシード菌は、凍結乾燥して5℃以下で保存する。

プロダクションシード菌について、3.1.3 の試験を行う。

#### 2.1.3 アクチノバシラス・プルロニューモニエ 5 型菌

##### 2.1.3.1 名称

アクチノバシラス・プルロニューモニエ 5 型菌 KN-1 株又はこれと同等と認められた株

##### 2.1.3.2 性状

5～8 週齢の感受性豚の鼻腔内又は気管内に接種すると、急性経過で豚を発病又は死亡させる。

##### 2.1.3.3 マスターシード菌

###### 2.1.3.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、平板培地又は適当と認められた平板培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して5℃以下で保存する。

マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの継代数は 10 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。

##### 2.1.3.4 ワーキングシード菌

###### 2.1.3.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、平板培地又は適当と認められた平板培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結乾燥して5℃以下で保存する。

ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。

##### 2.1.3.5 プロダクションシード菌

###### 2.1.3.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、平板培地又は適当と認められた平板培地で増殖する。

プロダクションシード菌は、凍結乾燥して5℃以下で保存する。

プロダクションシード菌について、3.1.3 の試験を行う。

## 2.2 製造用材料

### 2.2.1 培地

平板培地及び液状培地（付記 2）又は製造に相当と認められた平板培地及び液状培地を用いる。

## 2.3 アクチノバシラス・プルロニューモニエの各型菌原液

### 2.3.1 培養

平板培地で培養した各プロダクションシード菌をそれぞれ別の液状培地に接種し、培養したものを更にそれぞれ液状培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、 3.2 の試験を行う。

### 2.3.2 不活化

培養菌液を遠心して得られた菌液にホルマリン又は相当と認められた不活化剤を加えて不活化後、希釈用液（付記 3）又は相当と認められた希釈用液で遠心洗浄し、適量の希釈用液に浮遊させたものを不活化菌液とする。

不活化菌液について、 3.3 の試験を行う。

### 2.3.3 アジュバントの添加

各型菌の不活化菌液を希釈用液で濃度を調整し、混合したものに、適量のアジュバントを添加したものを原液とする。この場合、相当と認められた保存剤を添加してもよい。

原液について、 3.4 の試験を行う。

## 2.4 最終バルク

原液を混合したものを、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て、小分製品とする。

小分製品について、 3.5 の試験を行う。

## 3 試験法

### 3.1 製造用株の試験

#### 3.1.1 マスターシード菌の試験

##### 3.1.1.1 同定試験

シードロット規格の 1.4.2.4.1.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

##### 3.1.1.2 夾雑菌否定試験

###### 3.1.1.2.1 液状チオグリコール酸培地培養法

一般試験法の無菌試験法 1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

###### 3.1.1.2.2 平板培地培養法

###### 3.1.1.2.2.1 培地

平板培地又は相当と認められた平板培地を用いる。

###### 3.1.1.2.2.2 試験方法

検体 0.05mL ずつを平板培地 2 枚以上に接種し、37 °C、5 vol%炭酸ガス下で 10 ~ 16 時間培養する。

###### 3.1.1.2.2.3 判定

アクチノバシラス・プルロニューモニエ 1 型菌、2 型菌及び 5 型菌以外の菌の発育を認めてはならない。

#### 3.1.2 ワーキングシード菌の試験

##### 3.1.2.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.1.3 プロダクションシード菌の試験

##### 3.1.3.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

## 3.2 培養菌液の試験

### 3.2.1 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法 1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3.3 不活化菌液の試験

#### 3.3.1 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。

#### 3.3.2 不活化試験

##### 3.3.2.1 試験材料

検体及び液状培地を用いる。

##### 3.3.2.2 試験方法

検体 0.5mL ずつを 20mL の培地 2 本以上にそれぞれ接種し、37℃で 2～4 日間培養する。

##### 3.3.2.3 判定

菌の発育を認めてはならない。

#### 3.3.3 総菌数試験

##### 3.3.3.1 試験材料

###### 3.3.3.1.1 試料

検体を希釈用液で適度に希釈したものを試料とする。

##### 3.3.3.2 試験方法

分光光度計で試料の濁度を測定する。

##### 3.3.3.3 判定

標準検量線及び試料の濁度の測定値及び並びに希釈倍率から総菌数を算出するとき、検体の総菌数は、1 mL 中  $1.8 \times 10^{12}$  個以上でなければならない。

### 3.4 原液の試験

#### 3.4.1 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。

### 3.5 小分製品の試験

#### 3.5.1 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液体でなければならず、異物又は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。

#### 3.5.2 pH 測定試験

一般試験法の pH 測定試験法を準用して試験するとき、pH は、固有の値を示さなければならない。

#### 3.5.3 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。

#### 3.5.4 チメロサル定量試験

チメロサル添加製剤については、一般試験法のチメロサル定量法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.5.5 ホルマリン定量試験

一般試験法のホルマリン定量法を準用して試験するとき、ホルマリンの含有量は、0.01vol%以下でなければならない。

#### 3.5.6 アルミニウム定量試験

一般試験法のアルミニウム定量法を準用して試験するとき、アルミニウムの含有量は、1 mL 中 0.75mg 以下でなければならない。

#### 3.5.7 毒性限度確認試験

一般試験法の毒性限度確認試験法 1 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、体重は、注射前及び注射後 5 日目に測定する。

#### 3.5.8 力価試験

### 3.5.8.1 試験材料

#### 3.5.8.1.1 注射材料

試験品を希釈用液又は適当と認められた希釈用液で 20 倍に希釈したものを注射材料とする。

#### 3.5.8.1.2 試験動物

約 3 週齢のマウスを用いる。

#### 3.5.8.1.3 攻撃用菌液

アクチノバシラス・プルロニューモニエ 1 型菌 1H-7 株又はその他適当と認められた株、2 型菌 SH-15 株又はその他適当と認められた株、並びに 5 型菌 KN-1 株又はその他適当と認められた株を試験用培地 1（付記 4）に移植し、37℃で 16 時間増殖させ、集落を釣菌して試験用培地 2（付記 5）に移植し、37℃で 6 時間振盪培養したものを各攻撃用菌液とする。

#### 3.5.8.2 試験方法

試験動物の 90 匹以上を試験群、90 匹以上を対照群とする。

注射材料 0.5mL ずつを試験群の腹腔内に注射する。

注射後 14 日目に、試験群及び対照群をそれぞれ 10 匹ずつの 3 群計 6 群に分ける。1 型菌株攻撃用菌液をハートインフュージョン培地で 3 段階に希釈し、更にこれらの希釈菌液を 10w/v % ムチン液で 10 倍に希釈したもの 0.5mL ずつを、それぞれ試験群及び対照群の腹腔内に注射して攻撃後、7 日間臨床観察する。

また同様に、注射後 14 日目に、試験群及び対照群をそれぞれ 10 匹ずつの 3 群計 6 群に分ける。2 型菌株攻撃用菌液をハートインフュージョン培地で 3 段階に希釈し、更にこれらの希釈菌液を 10w/v % ムチン液で 10 倍に希釈したもの 0.5mL ずつを、それぞれ試験群及び対照群の腹腔内に注射して攻撃後、7 日間臨床観察する。

また同様に、注射後 14 日目に、試験群及び対照群をそれぞれ 10 匹ずつの 3 群計 6 群に分ける。5 型菌株攻撃用菌液をハートインフュージョン培地で 3 段階に希釈し、更にこれらの希釈菌液を 10w/v % ムチン液で 10 倍に希釈したもの 0.5mL ずつを、それぞれ試験群及び対照群の腹腔内に注射して攻撃後、7 日間臨床観察する。

#### 3.5.8.3 判定

各攻撃菌株の対照群のマウスの 80 % 以上が死亡した最少の攻撃菌量において、試験群のマウスの 80 % 以上が耐過生存しなければならない。

### 4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後 2 年 3 か月間とする。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 平板培地

1,000mL 中

鶏肉水

200 mL

ペプトン

5 g

カザミノ酸

5 g

塩化ナトリウム

5 g

寒天

15 g

水

残 量

加熱溶解後、pH を 7.4 ~ 7.6 に調整し、121℃で 15 分間高圧滅菌する。

約 50℃に冷却後、鶏非働化血清を 5 vol % の割合に、また β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド〔還元型〕（以下「β-NAD」という。）を 0.001w/v % の割合に加える。

#### 付記 2 液状培地

1,000mL 中	
鶏肉水	200 mL
ペプトン	5 g
塩化ナトリウム	5 g
水	残 量

pH を 7.4 ~ 7.6 に調整し、121 °C で 15 分間高圧滅菌する。

冷却後、鶏非働化血清を 1 vol % の割合に、また  $\beta$  - NAD を 0.001w/v % の割合に加える。

付記 3 希釈用液

1,000mL 中	
リン酸水素二ナトリウム十二水和物	2.53 g
リン酸二水素ナトリウム二水和物	0.45 g
塩化ナトリウム	6.0 g
水	残 量

pH を 7.0 に調整後、121 °C で 15 分間高圧滅菌するか、又はろ過滅菌して用いる。

付記 4 試験用培地 1

ハートインフュージョン寒天培地を 121 °C で 15 分間高圧滅菌し、約 50 °C に冷却後、ろ過滅菌した鶏非働化血清を 5 vol % 及び 0.1w/v %  $\beta$  - NAD 液を 1 vol % の割合に加えたもの

付記 5 試験用培地 2

ハートインフュージョン培地を 121 °C で 15 分間高圧滅菌し、冷却後、ろ過滅菌した鶏非働化血清を 5 vol % 及び 0.1w/v %  $\beta$  - NAD 液を 1 vol % の割合に加えたもの