

豚繁殖・呼吸障害症候群生ワクチン（シード）

平成 24 年 3 月 13 日（告示第 675 号）新規追加
令和 2 年 2 月 5 日（告示第 231 号）一部改正
令和 2 年 6 月 30 日（告示第 1246 号）一部改正
令和 3 年 6 月 3 日（告示第 941 号）一部改正

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスを同規格に適合した株化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 マスターシードウイルス

2.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードウイルスは、MA104 細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシードウイルスは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して -60°C 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

マスターシードウイルスについて、3.1.1 の試験を行う。

マスターシードウイルスは、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。

マスターシードウイルスから小分製品までの最高継代数は、5 代以内でなければならない。

2.1.4 ワーキングシードウイルス

2.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、MA-104 細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖及び継代する。

ワーキングシードウイルスは、凍結して -60°C 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

ワーキングシードウイルスについて、3.1.2 の試験を行う。

2.1.5 プロダクションシードウイルス

2.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、MA-104 細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖させる。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して -60°C 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

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株化細胞を用いる。

2.2.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

2.2.3 マスターセルシード

2.2.3.1 作製、保存及びプロダクションセルシードまでの最高継代数

マスターセルシードは、2.2.2 の培養液で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターセルシードは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して -70°C 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

マスターセルシードについて、3.2.1 の試験を行う。

マスターセルシードは、ワクチンの製造又は試験以外の目的で継代しない。マスターセルシードからプロダクションセルシードまでの最高継代数は、20 代以内でなければならない。

2.2.4 ワーキングセルシード

2.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.2 の培養液で増殖及び継代する。

ワーキングセルシードは、凍結して -70°C 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

ワーキングセルシードについて、3.2.2 の試験を行う。

2.2.5 プロダクションセルシード

2.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.2 の培養液で増殖させる。

プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して -70°C 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

プロダクションセルシードを保存する場合は、3.2.3 の試験を行う。

2.3 原液

2.3.1 プロダクションセルシードの培養

1 回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前のプロダクションセルシードに異常を認めてはならない。

2.3.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを 2.3.1 の細胞で培養し、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、3.3 の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液に、必要に応じて、適当と認められた安定剤、希釈液及び保存剤を加え、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、3.4 の試験を行う。

3 試験法

3.1 製造用株の試験

3.1.1 マスターシードウイルスの試験

3.1.1.1 同定試験

シードロット規格の 1.4.2.1.1.1 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 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。

3.1.1.3 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。

3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

3.1.1.4.1 共通ウイルス否定試験

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.1、2.1 及び 2.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験

3.1.1.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験

げっ歯類由来細胞を用いる場合にはリンパ球脈絡髄膜炎ウイルスについて、サル由来細胞を用いる場合には内在性レトロウイルス（C、Dタイプ粒子）について、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.1 及び 3.1.1 を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

牛ウイルス性下痢ウイルス、豚熱ウイルス、豚サーコウイルス、ロタウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.1、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7 及び 3.2.9 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.5 対象動物を用いた免疫原性試験

一般試験法の対象動物を用いた免疫原性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。

3.1.1.6 対象動物を用いた安全性確認試験

一般試験法の対象動物を用いた安全性確認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。

3.1.1.7 病原性復帰確認試験

一般試験法の病原性復帰確認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。

3.1.1.8 組換え遺伝子等安定性確認試験

マスターシードウイルスが遺伝子組換え技術を利用して作製されたものである場合には、一般試験法の組換え遺伝子等安定性確認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。

3.1.2 ワーキングシードウイルスの試験

3.1.2.1 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。

3.1.2.2 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。

3.1.3 プロダクションシードウイルスの試験

3.1.3.1 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。

3.1.3.2 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。

3.2 株化細胞の試験

3.2.1 マスターセルシードの試験

3.2.1.1 培養性状試験

シードロット規格の 2.1.4.2.1.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.2 起源動物種同定試験

シードロット規格の 2.1.4.2.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.3 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。

3.2.1.4 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。

3.2.1.5 外来性ウイルス否定試験

3.2.1.5.1 共通ウイルス否定試験

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.2、2.1 及び 2.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.5.2 特定ウイルス否定試験

3.2.1.5.2.1 特定ウイルス否定一般試験

げっ歯類由来細胞を用いる場合には豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス及びリンパ球脈絡髄膜炎ウイルスについて、サル由来細胞を用いる場合には豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス及び内在性レトロウイルス（C、Dタイプ粒子）について、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.2 及び 3.1.1 を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

3.2.1.5.2.2 個別ウイルス否定試験

牛ウイルス性下痢ウイルス、豚熱ウイルス、豚サーコウイルス、ロタウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.2、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7 及び 3.2.9 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.6 核学的（染色体）性状試験

シードロット規格の 2.1.4.2.1.6 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.7 腫瘍形成性／腫瘍原性試験

シードロット規格の 2.1.4.2.1.7 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2 ワーキングセルシードの試験

3.2.2.1 培養性状試験

シードロット規格の 2.1.4.2.2.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2.2 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。

3.2.2.3 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。

3.2.3 プロダクションセルシードの試験

3.2.3.1 培養性状試験

シードロット規格の 2.1.4.2.3.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.3.2 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。

3.2.3.3 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。

3.3 原液の試験

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 ウイルス含有量試験

3.3.2.1 試験材料

3.3.2.1.1 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。

3.3.2.1.2 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。

3.3.2.2 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℃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。

3.3.2.3 判定

培養細胞に CPE を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ 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^{6.0}TCID₅₀ 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。

3.4 小分製品の試験

3.4.1 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。

3.4.2 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。

3.4.3 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。

3.4.4 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。

3.4.5 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、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。

3.4.6 ウイルス含有量試験

3.3.2 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^{4.9} ~ 10^{6.7}TCID₅₀ の範囲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、そのウイルス含有量とする。

3.4.7 安全試験

3.4.7.1 試験材料

3.4.7.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.7.1.2 試験動物

3 ~ 4 週齢の豚を用いる。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その週齢とする。

3.4.7.2 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。

3.4.7.3 判定

観察期間中、異常を認めてはならない。

3.4.8 力価試験

3.4.8.1 試験材料

3.4.8.1.1 試験動物

3.4.7 の試験に用いた動物を用いる。

3.4.8.1.2 感染細胞

MA-104 細胞を 8 チャンバースライドに 37 °C 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} TCID₅₀ 以上接種する。37 °C 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) 液で固定した後乾燥させたものを感染細胞とし、8 °C 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。

3.4.8.2 試験方法

3.4.7 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 °C 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 2）を加え、37 °C 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。

3.4.8.3 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、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 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

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。

ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その組成とする。

付記 2 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。