

豚オーエスキー病（g I⁻、t k⁺）生ワクチン（アジュバント加溶解用液）（シード）

平成22年10月12日（告示第 66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

1 定義

シードロット規格に適合した糖たん白gIを産生しない弱毒オーエスキー病ウイルスを同規格に適合した初代細胞で増殖させて得たウイルス液を凍結乾燥したものであって、使用時にアジュバントを含む溶解用液で溶解するワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

弱毒オーエスキー病ウイルスバーサ・KS株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

糖蛋白gI遺伝子の一部を欠損する。

各種培養細胞でCPEを伴って増殖する。CRFK細胞では巨細胞非形成、Vero細胞では小ブラックを形成する。

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、SPF動物規格の2.6に適合した鶏胚初代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-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

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、SPF動物規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖する。

ワーキングシードウイルスは、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

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、SPF動物規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖する。

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-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

プロダクションシードウイルスを保存する場合について、3.1.3の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 初代細胞

SPF動物規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞又は製造に相当と認められた細胞を用いる。

2.2.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.3 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）

2.2.3.1 増殖、継代及び保存

マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）は、2.2.2の培養液で増殖し、継代及び保存しない。

マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）について、3.2の試験を行う。

2.3 原液

2.3.1 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）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。ウイルス接種前の個別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、3.3の試験を行う。

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、ウイルスの増殖極期に個別培養細胞ごとに採取した培養液のろ液又は遠心上清を原液とする。

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、相当と認められた安定剤を加え、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、3.5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1.4.2.1.1.1.1又は1.4.2.1.1.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験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

豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス及び鶏脳脊髄炎ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、3.1.1及び3.1.2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、鶏脳脊髄炎ウイルスについて3.1.1.4.2.2に規定する試験を実施する製剤については、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の3.1.2の試験を実施しなくてもよい。

3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

鶏白血病ウイルス、細網内皮症ウイルス、豚熱ウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、日本脳炎ウイルス、狂犬病ウイルス及び鶏脳脊髄炎ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、3.2.1、3.2.2、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7、3.2.9及び3.2.10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、鶏脳脊髄炎ウイルスについて、3.1.1.4.2.1に規定する試験を実施する製剤については、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の3.2.10の試験を実施しなくてもよい。

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。

3.1.2 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 初代細胞の試験

3.2.1 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）の試験

3.2.1.1 培養性状試験

シードロット規格の2.2.4.2.1.1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 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。

3.2.1.3 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 培養細胞の試験

個体別培養細胞の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。

3.3.1 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し、観察するとき、CPEを認めてはならない。

3.3.2 赤血球吸着試験

3.3.1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、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。

3.4 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。

3.4.2 ウイルス含有量試験

3.4.2.1 試験材料

3.4.2.1.1 試料

検体をウイルス増殖用培養液（付記1）で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.2.1.2 培養細胞

PD5細胞、HmLu-1細胞又は適当と認められた培養細胞を培養し、単層となったものを用いる。

3.4.2.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ4本（穴）以上の培養細胞に接種し、37°Cで60分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液0.5mLを加え、37°Cで6～7日間培養し、観察する。

3.4.2.3 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。

検体のウイルス含有量は、1 mL中10^{7.5}TCID₅₀以上でなければならない。

3.4.3 マーカー試験

検体0.1mLをCRFK細胞に接種し、37°Cで3日間培養し、観察するとき、直径0.1mm以上の巨細胞を認めてはならない。

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、乾燥ワクチンは、固有の色調を有する乾燥物でなければならない。溶解用液は、固有の色調を有する均質な懸濁液でなければならない。異物又は異臭を認めてはならない。溶解ワクチンは、固有の色調を有する均質な懸濁液でなければならない。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 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。

3.5.3 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。

3.5.4 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。

3.5.5 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。

3.5.6 ウイルス含有量試験

3.4.2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^{4.7}TCID₅₀以上でなければならない。

3.5.7 マーカー試験

3.5.7.1 試験材料

3.5.8の試験終了後、14日目の試験群の血清を用いる。

3.5.7.2 試験法

オーエスキー病ウイルス糖蛋白gI抗体を識別できる酵素抗体反応キット又は動物医薬品検査所がこれと同等と認めたものを用いて酵素抗体反応を行う。

3.5.7.3 判定

血清中にオーエスキー病ウイルス糖蛋白gI抗体を認めてはならない。

3.5.8 安全試験

3.5.8.1 試験材料

3.5.8.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.8.1.2 試験動物

体重10～40kgの豚を用いる。

3.5.8.2 試験方法

試験動物2頭を試験群、1頭を対照群とする。試験群に注射材料1頭分を筋肉内に注射し、対照群とともに同居飼育し、14日間観察する。

3.5.8.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に異常を認めてはならない。

3.5.9 力価試験

3.5.9.1 試験材料

3.5.9.1.1 試験動物

3.5.8の試験に用いた動物を用いる。

3.5.9.1.2 中和試験用ウイルス

PD5細胞で増殖させたオーエスキー病ウイルスパーサ・KS株を用いる。

3.5.9.1.3 培養細胞

MDBK細胞を24穴プラスチックプレートに培養し、単層となったものを用いる。

3.5.9.2 試験方法

3.5.8の試験終了後、14日目に得られた各個体の血清について中和試験を行う。

被検血清を非働化した後、ウイルス増殖用培養液で10倍に希釈し、更に2倍階段希釈する。各希釈血清0.5mLと0.05mL中約40PFUの中和試験用ウイルス液0.5mLを混合し、37℃で一夜処理する。この各混合液0.05mLずつをそれぞれ4穴の培養細胞に接種し、37℃で60分間吸着させた後、混合液を除き、第1次重層寒天培地（付記2）を重層し、37℃ 5 vol%炭酸ガス下で2日間培養後、第2次重層寒天培地（付記3）を重層し、更に一夜培養後、プラック数を測定する。

3.5.9.3 判定

プラック数がウイルス対照の50%以下に減少した血清の最高希釈倍数を中和抗体価とする。試験群の中和抗体価は、100倍以上でなければならない。この場合、対照群では、10倍以下でなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後1年9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

トリプトース・ホスフェイト・ブロス 2.95 g

牛血清 20～50 mL

イーグル MEM 残量

炭酸水素ナトリウムでpHを7.2～7.6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 第1次重層寒天培地

1,000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス 2.95 g

寒天 10.0 g

牛血清 20 mL

イーグル MEM 残量

炭酸水素ナトリウムでpHを7.2～7.6に調整する。
必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記3 第2次重層寒天培地

1,000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス 2.95 g

寒天 10.0 g

ニュートラルレッド 0.05 g

イーグル MEM 残 量

炭酸水素ナトリウムでpHを7.2～7.6に調整する。
必要最少量の抗生物質を加えてもよい。