

豚サーコウイルス（2型・組換え型）感染症（カルボキシビニルポリマーアジュバント加）不活化ワクチン（シード）

平成30年9月11日（告示第2046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組換え豚サーコウイルス2型オープンリーディングフレーム2（以下この項において「PCV2ORF2」という。）遺伝子挿入バキュロウイルスを同規格に適合した培養細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化し、カルボキシビニルポリマー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 名称

PCV2ORF2遺伝子組換えオートグラフィア核多角体ウイルス（AcNPV）N120-058W株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

バキュロウイルスに感受性のある培養細胞でCPEを伴って増殖する。PCV2ORF2たん白抗原を発現する。

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、Sf細胞（付記1）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°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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、Sf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 -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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、Sf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 -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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は、3.1.3の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 培養細胞

Sf細胞を用いる。

2.2.2 培養液

製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液を用いる。

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。

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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数とする。

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。

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。

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。ウイルス接種前の培養細胞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、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をウイルス培養液とする。

ウイルス培養液について、3.3の試験を行う。

2.3.3 不活化

ウイルス培養液をろ過し、製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた不活化剤を加えて攪拌し不活化した後に、中和剤を加えて中和し、必要に応じて濃縮したものを原液とする。

原液について、3.4の試験を行う。

2.3.4 原液の調整

原液を混合し、混合原液とする場合がある。混合原液について、3.4.2の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液又は混合原液に、必要に応じて生理食塩液及び適量のアジュバントを添加し、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、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1.4.2.3.1.1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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法とする。

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、その試験法とする。

3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法とする。

3.1.1.5 組換え遺伝子等安定性確認試験

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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法とする。

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

豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2及び3.1.1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、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法とする。

3.2.1.5.2.2 個別ウイルス否定試験

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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法とする。

3.2.1.6 核学的（染色体）性状試験

シードロット規格の2.1.4.2.1.6.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.7 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 ウイルス培養液の試験

3.3.1 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。

3.4 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 不活化試験

3.4.2.1 試験材料

3.4.2.1.1 試料

検体を試料とする。

3.4.2.1.2 培養細胞

Sf細胞を用いる。

3.4.2.2 試験方法

検体を150～175cm²の培養細胞に接種し、25～29℃で7日間培養し、次代に継代する。2代目の細胞を25～29℃で7日間培養する。

3.4.2.3 判定

培養細胞にCPEを認めない場合、活性ウイルス陰性と判定する。検体に活性ウイルスを認めてはならない。

3.4.3 抗原含有量試験

3.4.3.1 試験材料

検体、参照抗原 1（付記 2）、陰性対照（付記 3）及び陽性対照抗原 1（付記 4）、抗 PCV2ORF2豚IgG（付記 5）、抗PCV2ORF2モノクローナル抗体（付記 6）及び酵素標識抗体（付記 7）を用いる。

3.4.3.2 試験方法

3.4.3.2.2 試料の調製

検体、参照抗原 1、陰性対照及び陽性対照抗原 1 を洗浄・希釈液（付記 8）でそれぞれ30倍から 3 倍階段希釈した各段階の希釈液を試料とする。

3.4.3.2.1 反応

抗PCV2ORF2豚IgGを固相したプレートを用いる。固相プレートにブロッキング液（付記 9）を 250 μ L ずつ加え、35～39℃で約60分間反応させた後、洗浄・希釈液で洗浄する。各試料100 μ L ずつをプレートの 3 穴に加え、35～39℃で約60分間反応させる。反応後、プレートを洗浄液で洗浄する。洗浄・希釈液で300倍に希釈した抗PCV2ORF2モノクローナル抗体を各穴に100 μ L ずつ分注し、35～39℃で約60分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・希釈液で洗浄する。1 vol% 兔血清加希釈用緩衝液（付記 10）で5,000～20,000倍に希釈した酵素標識抗体を各穴に100 μ L ずつ分注し、35～39℃で約45分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・希釈液で洗浄する。基質液（付記11）を100 μ L ずつ各穴に分注し、室温で反応させる。その後、1 mol/L塩酸溶液を100 μ L ずつ各穴に分注し、反応を停止させる。

3.4.3.2.4 吸光度測定

波長450nmで吸光度を測定する。

3.4.3.3 判定

参照抗原 1 の力価を1.0として、検体の相対力価を統計学的計算方法（付記12）により算出する。このとき、検体の相対力価は、1.0以上でなければならない。また、陽性対照抗原 1 の270倍希釈液の平均吸光度は0.838以上であり、陰性対照の30倍希釈液の平均吸光度は0.2以下でなければならない。

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、透明からやや混濁した無色から帯黄色、粘性のない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。

3.5.2 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 力価試験

3.5.4.1 試験材料

試験品、参照抗原 2（参照ワクチン）（付記13）、陰性対照抗原、陽性対照抗原 2（付記14）、抗 PCV2ORF2豚IgG、抗PCV2ORF2モノクローナル抗体及び酵素標識抗体を用いる。

3.5.4.2 試験方法

3.5.4.2.1 試料等の調製

試験品、参照抗原 2（参照ワクチン）、陰性対照及び陽性対照抗原 2 を洗浄・希釈液でそれぞれ30倍から 2 倍階段希釈した各段階の希釈液を試料とする。

3.5.4.2.2 反応

3.4.3.2.1を準用して行う。

3.5.4.2.3 吸光度測定

波長450nmで吸光度を測定する。

3.5.4.3 判定

参照抗原2（参照ワクチン）の力価を1.0として、試験品の相対力価を統計学的計算方法により算出するとき、試験品の相対力価は、1.0～3.75でなければならない。また、陽性対照抗原2の480倍希釈液の平均吸光度は0.988～2.500、陰性対照の30倍希釈液の平均吸光度は0.124以下でなければならない。

付記1 Sf細胞

Spodoptera frugiperda 卵巣由来細胞

付記2 参照抗原1

ワクチンの製造方法で製造されたもので、PCV2ORF2抗原として約8 μ g/mL含むもの。

更新する場合には、元の参照抗原1に対する相対力価を求めておき、原液の相対力価測定時には元の参照抗原1と同等の抗原量となるよう調製する。

付記3 陰性対照

Sf細胞培養液にワクチンのアジュバントを20vol%含むもの

付記4 陽性対照抗原1

ワクチンの製造方法で製造されたもので、参照抗原1に対する相対力価4.45のPCV2ORF2抗原液31mLに対して生理食塩液9mLを加えたもの。

更新する場合には、元の陽性対照抗原1との相対力価が統計的に同等になるよう調製する。

付記5 抗PCV2ORF2豚IgG

ワクチンで免疫したCDCD（帝王切開由来初乳未摂取）豚血清から精製した抗PCV2ORF2豚IgGであって、間接蛍光抗体価が1,500倍以上のもの。吸着用緩衝液（付記14）で希釈して用いる。

付記6 抗PCV2ORF2モノクローナル抗体

PCV2ORF2に特異的なモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞6C4-2-4A3-5D10の培養上清

付記7 酵素標識抗体

ペルオキシダーゼ標識した抗マウスIgG（H+L）山羊血清

付記8 洗浄・希釈液

1,000mL 中

塩化ナトリウム

8.0 g

塩化カリウム

0.2 g

無水リン酸水素二ナトリウム

1.15 g

リン酸二水素カリウム

0.2 g

ポリソルベート 20

0.5 mL

水 残 量
pHを7.2~7.4に調整する。

付記9 ブロッキング液
洗浄・希釈液に脱脂粉乳を5.0w/v%になるように加えたもの

付記10 1 vol% 兎血清加希釈用緩衝液
洗浄・希釈液に兎正常血清を 1 vol%になるように加えたもの

付記11 基質液
A液：テトラメチルベンチジン0.4gを26vol%*N,N*-ジメチルホルムアミド溶液1,000mLで溶解したもの
B液：クエン酸緩衝液に0.02vol%過酸化水素水を含む液使用時にA液とB液を等量混合して用いる。

付記12 統計学的計算方法
動物医薬品検査所が適当と認めたもの

付記13 参照抗原 2 (参照ワクチン)
「豚サーコウイルス (2型・組換え型) 感染症 (カルボキシビニルポリマー加) 不活化ワクチン」であって、動物医薬品検査所が適当と認めたもの。
参照抗原 1 に対する相対力価4.45のPCV2ORF2抗原液を52%、アジュバントを20%及び生理食塩液を28%含む。
更新する場合は、相対力価が1.0であり、元の参照抗原 2 と同等の免疫原性を確認したものとす。

付記14 陽性対照抗原 2
参照抗原 1 に対する相対力価4.45のPCV2ORF2抗原液を80vol%及びアジュバントを20vol%含むもの。
更新する場合は、元の陽性対照抗原 2 との相対力価が統計的に同等になるよう調製する。

付記15 吸着用緩衝液
1,000mL 中
炭酸水素ナトリウム 2.93 g
無水炭酸ナトリウム 1.59 g
水 残 量
pHを9.5~9.7に調整する。