

豚伝染性胃腸炎濃縮生ワクチン（母豚用）（シード）

平成23年5月11日（告示第939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弱毒豚伝染性胃腸炎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濃縮し、凍結乾燥した母豚用のワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

弱毒豚伝染性胃腸炎ウイルスh-5株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

豚腎初代若しくは継代細胞又は豚精巣初代細胞で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、MPK-IIIa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°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、MPK-IIIa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 -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、継代及び保存

プロダクションシードウイルスは、MPK-IIIa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 -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

MPK-IIIa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。

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。

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、継代及び保存

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、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その遠心上清を、適当と認められた方法で濃縮したものを混合して、原液とする。

原液について、3.3の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液を混合し、適当と認められた希釈液及び安定剤を加えて調整し、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、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1.4.2.1.1.2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

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。

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。

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 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

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。

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。

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）又は適当と認められた希釈液で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 培養細胞
豚精巢初代又は継代細胞を培養し、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4本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃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℃で5～7日間培養し、観察する。
- 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。
検体のウイルス含有量は、1 mL中10^{9.0}TCID₅₀以上でなければならない。
- 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 $10^{7.0}$ TCID₅₀以上でなければならない。

3.4.7 安全試験

3.4.7.1 試験材料

3.4.7.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

3.4.7.1.2 試験動物

体重約15kgの豚を用いる。

3.4.7.2 試験方法

試験動物4頭を試験群、1頭を対照群とする。接種材料10頭分及び1頭分をそれぞれ試験群の2頭ずつの鼻腔内に噴霧する。対照群と共に同居飼育し、14日間観察する。

3.4.7.3 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。

3.4.8 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のうち、接種材料1頭分を接種した豚及び対照群の豚を用いる。

3.4.8.1.2 中和試験用ウイルス

豚伝染性胃腸炎ウイルスh-5株又は適当と認められた株を用いる。

3.4.8.1.3 培養細胞

豚精巢初代又は継代細胞を培養し、単層となったものを用いる。

3.4.8.2 試験方法

3.4.7の試験終了後14日目に、接種材料1頭分を接種した豚に、「豚伝染性胃腸炎不活化ワクチン」1頭分を筋肉内に注射し、その後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、2倍階段希釈し、各希釈血清0.5mLと0.1mL中約200TCID₅₀の中和試験用ウイルス液0.5mLとを混合し、37°Cで90分間処理する。この各混合液0.1mLずつをそれぞれ4本（穴）の培養細胞に接種し、37°Cで90分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を0.5mLずつ加え、37°Cで7日間培養し、観察する。

3.4.8.3 判定

培養細胞の2本（穴）以上にCPEの阻止を認め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、256倍以上でなければならない。この場合、対照群では、2倍未満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 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

又はラクトアルブミン水解物 5.0 g

牛又はやぎ血清 50～100 mL

イーグル MEM又はアール液
炭酸水素ナトリウムでpHを7.0~7.4に調整する。
必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

残 量