

豚パルボウイルス感染症生ワクチン（シード）

平成24年7月4日（告示第1622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パルボ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させたワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

弱毒豚パルボウイルスHT-/SK株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

子豚に注射しても、临床上異常を認めず、ウイルス血症及びウイルス排出を認めない。また、妊娠豚に注射しても、胎子・胎盤感染及び死亡を認めない。

豚腎由来細胞に接種したとき、32℃での増殖は、37℃での増殖を上回る。

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、豚腎株化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、豚腎株化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℃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、豚腎株化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℃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は、3.1.3の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 培養細胞

豚腎株化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のろ液又は遠心上清を混合し、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製し、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1.4.2.1.1.1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

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 腫瘍形成試験／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）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

豚腎初代細胞、ESK細胞又は適当と認められた細胞を小試験管に培養し、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4本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1mLを加え、31~32°Cで10~14日間培養した後、ペロナール緩衝食塩液（付記2）又はリン酸緩衝食塩液（以下この項において「PBS」という。）（付記3）で濃度を調整した0.5vol%の被凝集性の鶏又はモルモットの赤血球浮遊液を0.4mLずつ加え、常温で60分間静置した後、赤血球凝集の有無を観察する。

3.3.2.3 判定

赤血球の凝集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、1mL中10^{5.7}TCID₅₀以上でなければならない。

3.3.3 マーカー試験

3.3.3.1 試験材料

3.3.3.1.1 試料

検体をウイルス増殖用培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.3.1.2 培養細胞

豚腎初代細胞、ESK細胞又は適当と認められた細胞を小試験管に培養し、単層となったものを用いる。

3.3.3.2 試験方法

試料 0.1mLずつを 8 本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 1 mLを加え、2 群に分け、31~32°C及び37°Cでそれぞれ10~14日間培養する。培養終了時に、3.3.2.2の赤血球浮遊液をそれぞれ0.4mLずつ加え、常温で60分間静置した後、赤血球凝集の有無を観察する。

3.3.3.3 判定

培養上清に赤血球の凝集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、32°Cで培養するとき、37°Cで培養する場合より100倍以上高くないなければならない。

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^{5.0}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 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.7.1.2 試験動物

約1~2か月齢の豚を用いる。

3.4.7.2 試験方法

試験動物2頭を試験群、1頭を対照群とする。注射材料1 mLずつを試験群の動物の皮下に注射し、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 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.8.1.2 試験動物

体重約350gのモルモットを用いる。

3.4.8.1.3 赤血球凝集抗原

赤血球凝集抗原（付記4）を用いる。

3.4.8.2 試験方法

注射材料5mLずつを、5匹の試験動物の腹腔内に4週間隔で2回注射し、2回目の注射後14日目に得られた各個体の血清について、赤血球凝集抑制試験を行う。

被検血清をペロナール緩衝食塩液又はPBSで5倍に希釈し、等量の25w/v%カオリン液を加え、常温で20分間処理する。遠心後の上清に鶏又はモルモットの赤血球を加え、常温で15分間処理し、再度遠心し、上清を採取する。これをペロナール緩衝食塩液又はPBSで2倍階段希釈し、各段階の希釈液に8単位の赤血球凝集抗原を等量加え、4℃で1夜処理する。これに3.3.2.2の赤血球浮遊液を加え、常温で60分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

3.4.8.3 判定

赤血球凝集を抑制した血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価とする。

赤血球凝集抑制抗体価20倍以上を赤血球凝集抑制抗体陽性とする。

試験動物の赤血球凝集抑制抗体陽性率は、80%以上でなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、1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

トリプトース・ホスフェイト・ブロス

2.95 g

牛血清

20～50 mL

又は牛血清アルブミン

1 g

イーグル MEM

残量

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。

付記2 ペロナール緩衝食塩液（pH7.0）

1,000mL 中

バルビタール

0.575 g

バルビタールナトリウム

0.375 g

塩化ナトリウム

8.5 g

水

残量

付記3 リン酸緩衝食塩液

1,000mL 中

塩化ナトリウム

8.0 g

塩化カリウム

0.2 g

リン酸水素二ナトリウム十二水和物

2.9 g

リン酸二水素カリウム

0.2 g

水

残量

塩酸でpHを6.8～7.2に調整する。

付記4 赤血球凝集抗原

豚パルボウイルス90HS株又は適当と認められた株を用いて調製した赤血球凝集抗原で、赤血球凝集価が64倍以上のもの。