

# 豚パルボウイルス感染症不活化ワクチン(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不活化したワクチンである。

## 2 製法

### 2.1 製造用株

#### 2.1.1 名称

豚パルボウイルス90HS株又はこれと同等と認められた株

#### 2.1.2 性状

豚腎初代又は継代細胞で増殖し、モルモット及び鶏の赤血球を凝集する。

#### 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、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 $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 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、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 $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 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、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 $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 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

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、特定の番号又は製造番号を付し、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 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℃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の培養液で増殖する。

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℃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、適当と認められた時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ウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.3の試験を行う。

### 2.3.3 不活化

ウイルス浮遊液にホルマリン又は適当と認められた不活化剤を加えて不活化し、不活化ウイルス液とする。

不活化ウイルス液について、3.4の試験を行う。

### 2.3.4 原液

不活化ウイルス液を混合し、原液とする。

原液について、3.5の試験を行う。

## 2.4 最終バルク

原液を混合し、最終バルクとする。

この場合、適当と認められた保存剤を加えてもよい。

## 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、3.6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。

#### 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。

#### 3.1.2 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 ウイルス浮遊液の試験
- 3.3.1 ウイルス含有量試験
- 3.3.1.1 試験材料
- 3.3.1.1.1 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。
- 3.3.1.1.2 培養細胞  
豚腎初代若しくは継代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。
- 3.3.1.2 試験方法  
試料0.1mLずつをそれぞれ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0.5mLを加え、37°Cで10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%の非凝集性の鶏又はモルモットの赤血球浮遊液をそれぞれ0.4mLずつ加え、室温で60分間静置した後、赤血球凝集の有無を観察する。
- 3.3.1.3 判定  
赤血球の凝集を認めたものを感染とみなし、TCID<sub>50</sub>を算出する。  
検体のウイルス含有量は、1 mL中10<sup>5.0</sup>TCID<sub>50</sub>以上でなければならない。
- 3.4 不活化ウイルス液の試験
- 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  
100倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、検体5 mLを4°Cで1夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。
- 3.4.2.1.2 培養細胞  
豚腎初代又は継代細胞を培養瓶で培養し、単層となったものを用いる。

#### 3.4.2.2 試験方法

試料の全量を1 mLにつき3 cm<sup>2</sup>以上の培養細胞に接種し、37°Cで60分間静置吸着させる。試料を抜き取り、ウイルス増殖用培養液を加え、37°Cで10日間培養した後、培養上清に3.3.1.2の赤血球浮遊液を等量加え、室温で60分間静置した後、赤血球凝集の有無を観察する。

#### 3.4.2.3 判定

赤血球の凝集を認めない場合、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。

### 3.5 原液の試験

#### 3.5.1 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。

### 3.6 小分製品の試験

#### 3.6.1 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液体でなければならず、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。

#### 3.6.2 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。

#### 3.6.3 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。

#### 3.6.4 ホルマリン定量試験

ホルマリン添加製剤については、一般試験法のホルマリン定量法を準用して試験するとき、ホルマリンの含有量は、0.2vol%以下でなければならない。

#### 3.6.5 異常毒性否定試験

一般試験法の異常毒性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。

#### 3.6.6 力価試験

##### 3.6.6.1 試験材料

###### 3.6.6.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

###### 3.6.6.1.2 試験動物

体重約300gのモルモットを用いる。

###### 3.6.6.1.3 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（付記4）を用いる。

##### 3.6.6.2 試験方法

注射材料2 mLずつを、5匹の試験動物の皮下に注射し、28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、室温で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、室温で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°Cで1夜処理する。これに3.3.1.2の赤血球浮遊液を加え、室温で60分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

##### 3.6.6.3 判定

赤血球凝集を阻止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80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、製造後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

牛血清アルブミン 1.1 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。

##### 付記2 ベ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あって、赤血球凝集価が64倍以上のもの。