

豚流行性下痢生ワクチン（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12月11日（告示第2406号）一部改正

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒豚流行性下痢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したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

弱毒豚流行性下痢ウイルスP-5V株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

幼若豚にほとんど病原性を示さない。

Vero細胞でトリプシンを添加することなくCPEを伴って増殖する。

トリプシンに感受性を示し、トリプシン非添加培養液で測定した時のウイルス含有量は、トリプシン添加培養液で測定した時より100倍以上高い。

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、Vero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、Vero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、Vero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

Vero 細胞又は製造に相当と認められた株化細胞を用いる。

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、培養した細胞を個体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体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

原液に、相当と認められた希釈液及び安定剤を加えて混合し、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1.4.2.1.1.1.2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及び内在性レトロウイルス（C、Dタイプ粒子）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。

3.1.1.8 マーカー試験

3.1.1.8.1 試験材料

3.1.1.8.1.1 試料

検体を希釈液（付記1）で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.1.1.8.1.2 培養細胞

Vero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。

3.1.1.8.1.3 培養液

ウイルス増殖用培養液（付記2）及び希釈液に結晶トリプシンを1 mL中2 μ g加えたトリプシン添加培養液を用いる。

3.1.1.8.2 試験方法

試料の0.1 mLずつを、希釈液で2回洗浄したそれぞれ8本（穴）の培養細胞に接種し、2群に分ける。ウイルス増殖用培養液又はトリプシン添加培養液をそれぞれ1本（穴）当たり0.5 mLずつ加え、37°C 5 vol%炭酸ガス下で7日間培養し、観察する。

3.1.1.8.3 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。

ウイルス増殖用培養液で測定したウイルス含有量は、トリプシン添加培養液で測定したウイルス含有量と比べ100倍以上高くなければならない。

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及び内在性レトロウイルス（C、Dタイプ粒子）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

Vero 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。

3.3.2.2 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°Cで60分間吸着させた後、ウイルス増殖用培養液0.5mLを加え、37°C 5 vol%炭酸ガス下で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^{6.3}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 $10^{4.5}$ 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

体重20～40kg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。注射材料10頭分及び1頭分をそれぞれ試験群の2頭ずつの筋肉内に注射し、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 試験動物

3.4.7の試験に用いた注射材料1頭分を注射した試験群及び対照群の動物を用いる。

3.4.8.1.2 中和試験用ウイルス

Vero細胞で増殖させた豚流行性下痢ウイルスP-5V株を用いる。

3.4.8.1.3 培養細胞

細胞増殖用培養液（付記3）で調整したVero細胞浮遊液を用いる。

3.4.8.2 試験方法

3.4.7の試験終了後7日目に、注射材料1頭分を注射した試験群に、更に1頭分を筋肉内に注射し、その7日目に試験群及び対照群から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2倍階段希釈する。各希釈血清0.5mLと0.1mL中約200TCID₅₀を含む中和試験用ウイルス液0.5mLとを混合し、37℃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）に接種し、Vero細胞浮遊液0.5mLずつを加え、37℃ 5 vol%炭酸ガス下で7日間培養し、観察する。

3.4.8.3 判定

培養細胞の2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、16倍以上でなければならない。この場合、対照群は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 1 希釈液

1,000mL中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス	2.95 g
イーグルMEM	残 量

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 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
牛又はやぎ血清	50 mL
イーグルMEM	残 量

pHを7.2～7.6に調整する。

牛又はやぎ血清は、豚流行性下痢ウイルスに対する中和抗体陰性のものを用いる。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 3 細胞増殖用培養液

1,000mL中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス	2.95 g
牛又はやぎ血清	100～150 mL
イーグルMEM	残 量

pHを7.2～7.4に調整する。

牛又はやぎ血清は、豚流行性下痢ウイルスに対する中和抗体陰性のものを用いる。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。