

豚熱・豚丹毒混合生ワクチン（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熱ウイルスを同規格に適合したモルモット腎初代細胞で増殖させて得たウイルス液及び同規格に適合した弱毒豚丹毒菌培養菌液を混合し、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 豚熱ウイルス

2.1.1.1 名称

弱毒豚熱ウイルス GPE⁻株

2.1.1.2 性状

豚精巣初代細胞で増殖するが、END 現象を示さない（E マーカー）。また、30 °Cでのモルモット腎初代細胞における増殖は、40 °Cでの増殖を上回り（T マーカー）、強毒豚熱ウイルスの増殖を100 倍以上上回る（G マーカー）。

2.1.1.3 マスターシードウイルス

2.1.1.3.1 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、SPF 動物規格の 2.15 に適したモルモット腎初代細胞で増殖させ、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。

2.1.1.4 ワーキングシードウイルス

2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、SPF 動物規格の 2.15 に適したモルモット腎初代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。

2.1.1.5 プロダクションシードウイルス

2.1.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、SPF 動物規格の 2.15 に適したモルモット腎初代細胞で増殖させる。

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。

2.1.2 豚丹毒菌

2.1.2.1 名称

アクリフラビン耐性弱毒豚丹毒菌小金井 65 - 0.15 株

2.1.2.2 性状

0.02w/v %アクリフラビン加寒天培地で発育する。

豚丹毒抗体陰性豚の皮下に注射した場合、注射部位に限局した善感反応（小丘疹の形成）を呈するが、全身症状を認めず、注射後 3 週目に豚丹毒菌の強毒株で攻撃した場合、耐過生存する。

4 週齢のマウスの皮下に注射した場合、その 90 %以上が関節炎を呈するが、100 %が耐過生存し、注射後 10 日目に豚丹毒菌の強毒株で攻撃した場合、耐過生存する。

2.1.2.3 マスターシード菌

2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、普通ブイヨン又は適当と認められた培地で増殖させ、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菌は、保存安定剤（付記 1）又は適当と認められた安定剤を添加し、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

マスターシード菌について、3.1.4 の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10 代以内でなければならない。

2.1.2.4 ワーキングシード菌

2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、普通ブイヨン又は適当と認められた培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、保存安定剤又は適当と認められた安定剤を添加し、凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

ワーキングシード菌について、3.1.5 の試験を行う。

2.1.2.5 プロダクションシード菌

2.1.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、普通ブイヨン又は適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、保存安定剤又は適当と認められた安定剤を添

加し、凍結乾燥して5℃以下で保存する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.6 の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 豚熱ウイルス

2.2.1.1 培養細胞

SPF 動物規格の 2.15 に適合したモルモット腎初代細胞を用いる。

2.2.1.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.1.3 マスタープライマリーセルシード(プロダクションプライマリーセルシード)

2.2.1.3.1 増殖、継代及び保存

マスタープライマリーセルシード(プロダクションプライマリーセルシード)は、2.2.1.2 の培養液で増殖し、継代及び保存しない。

マスタープライマリーセルシード(プロダクションプライマリーセルシード)について、3.2 の試験を行う。

2.2.2 豚丹毒菌

2.2.2.1 培地

製造用培地（付記2）又は相当と認められた培地を用いる。

2.3 原液

2.3.1 豚熱ウイルス原液

2.3.1.1 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）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。

個別培養細胞について、3.3 の試験を行う。

2.3.1.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを 2.3.1.1 の細胞に接種し、30℃で培養した後、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て豚熱ウイルス原液とする。

豚熱ウイルス原液について、3.4 の試験を行う。

2.3.2 豚丹毒菌原液

2.3.2.1 培養

プロダクションシード菌を培地で溶解した後、培地に接種し、培養したものを豚丹毒菌培養菌液とする。

豚丹毒菌培養菌液について、3.5 の試験を行う。

2.3.2.2 原液の調製

培養菌液を遠心して菌体を採取し、相当と認められた安定剤に浮遊させた菌液を混合して豚丹毒菌原液とする。

豚丹毒菌原液について、3.6 の試験を行う。

2.4 最終バルク

豚熱ウイルス原液に、適当と認められた希釈液を加えて濃度調整したもの1容と、豚丹毒菌原液に適当と認められた安定剤を加えて濃度調整したもの2容とを混合し、最終バルクとする。

希釈液及び安定剤は、ロットごとに調製しなければならない。

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。

2.5.1 サブロット

1つの最終バルクに由来し、同一条件で凍結乾燥した小分製品の1群をサブロットとする。

サブロットについて、3.7 の試験を行う。

2.5.2 ロット

1つの原液に由来するサブロット群を1ロットとする。

ロットについて、3.8 の試験を行う。

3 試験法

3.1 製造用株の試験

3.1.1 豚熱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 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 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リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスについて、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の 1.1、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によって試験するとき、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によって試験するとき、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によって試験するとき、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 E マーカー試験

3.1.1.8.1.1 試験材料

3.1.1.8.1.1.1 試料

検体を試料とする。

3.1.1.8.1.1.2 培養細胞

豚精巣初代細胞浮遊液を用いる。

3.1.1.8.1.1.3 ニューカッスル病ウイルス

TCND 株又は宮寺株を用いる。

3.1.1.8.1.2 試験方法

試料の 0.1mL ずつを小試験管に 0.5mL ずつ分注した細胞 10 本以上に接種し、37 °Cで4日間静置培養し、単層形成が良好であることを確認する。培養液を除き、ニューカッスル病ウイルスを約 $10^{6.0}$ PFU含む細胞増殖用培養液1(付記3)を 0.5mL ずつを加え、37 °Cで3日間培養する。

3.1.1.8.1.3 判定

培養細胞に CPE を認めてはならない。

3.1.1.8.2 T及びG マーカー試験

3.1.1.8.2.1 試験材料

3.1.1.8.2.1.1 試料

検体を細胞増殖用培養液1で希釈し、1 mL 中 $10^{3.0}$ TCID₅₀ を含むように濃度を調整したものを試料とする。

3.1.1.8.2.1.2 培養細胞

モルモット腎初代細胞を小試験管に培養し、単層となったものを用いる。

3.1.1.8.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 20 本以上の培養細胞に接種し、2群に分け、30 °C及び 40 °Cで6～8日間静置培養する。群ごとに培養液を採取し、混合し、そのウイルス含有量を

3.4.2 を準用して測定する。

3.1.1.8.2.3 判定

30℃での増殖は、40℃での増殖を上回らなければならない（Tマーカー）、30℃でのウイルス含有量は、1 mL 中 10^{4.5}TCID₅₀ 以上でなければならない（Gマーカー）。

3.1.1.9 力価試験

3.1.1.9.1 試験材料

3.1.1.9.1.1 注射材料

検体又は検体を細胞増殖用培養液 1 で 1 mL 当たり 10^{3.0}TCID₅₀ のウイルス量に希釈したものを注射材料とする。

3.1.1.9.1.2 試験動物

体重 20 ～ 40kg の豚を用いる。

3.1.1.9.1.3 中和試験用ウイルス

弱毒豚熱ウイルス GPE⁻ 株を用いる。

3.1.1.9.1.4 培養細胞

CPK-NS 細胞を細胞数が 1 mL 中約 5 × 10^{5.0} となるように細胞増殖用培養液 2（付記 4）に浮遊させたものを用いる。

3.1.1.9.2 試験方法

豚 4 頭を試験群とし、1 頭を対照群とする。注射材料 1 mL ずつを試験群の皮下又は筋肉内に注射し、28 日目の血清について、中和試験を行う。

被検血清を非働化した後、細胞増殖用培養液 2 で 2 倍階段希釈し、各希釈血清と 0.025mL 中約 200TCID₅₀ を含む中和試験用ウイルス液とを等量混合し、37℃で 60 分間処理する。この各混合液 0.05mL ずつをそれぞれ 96 穴組織培養用プレートの 4 穴ずつに分注し、CPK-NS 細胞浮遊液 0.1mL ずつを加え、37℃で 7 日間培養し、観察する。

3.1.1.9.3 判定

培養細胞 4 穴中 2 穴以上に CPE の阻止を認めた血清の最高希釈倍数で中和抗体価を表す。試験群の中和抗体価は、全て 4 倍以上でなければならない。この場合、対照群は、抗体価 1 倍未満でなければならない。

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。

3.1.4 豚丹毒マスターシード菌の試験

3.1.4.1 同定試験

シードロット規格の 1.4.2.2.1.1 を準用して試験を実施するとき、適合しなければならない。

3.1.4.2 マーカー試験

3.1.4.2.1 試験材料

検体及び 0.02w/v %アクリフラビン加寒天培地を用いる。

3.1.4.2.2 試験方法

検体 0.1mL を 0.02w/v %アクリフラビン加寒天培地 2 枚以上に接種し、培地表面に拡散させ、37℃で 48 時間培養し、観察する。

3.1.4.2.3 判定

豚丹毒菌の発育が認められなければならない。

3.1.4.3 夾雑菌否定試験

3.1.4.3.1 液状チオグリコール酸培地培養法

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、豚丹毒菌以外の菌の発育を認めてはならない。

3.1.4.3.2 普通寒天培地斜面培養法

3.1.4.3.2.1 培地

斜面の普通寒天培地を用いる。

3.1.4.3.2.2 試験方法

検体 0.5mL ずつを普通寒天培地 4 本の斜面部に接種し、2 本を 30 ~ 32℃で 10 日間、残りの 2 本を 22 ~ 25℃で 14 日間培養し、観察する。

3.1.4.3.2.3 判定

豚丹毒菌以外の菌の発育を認めてはならない。

3.1.4.4 生菌数試験

3.1.4.4.1 試験材料

3.1.4.4.1.1 試料

検体を普通ブイヨン又は適当と認められた培地で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.1.4.4.1.2 培地

普通寒天培地又は適当と認められた培地を用いる。

3.1.4.4.2 試験方法

試料 1 mL ずつを平板混濁培養法により培地 2 枚以上に接種し、37℃で 48 時間培養した

後、生じた豚丹毒菌の集落数を数える。

3.1.4.4.3 判定

各段階の希釈液ごとの集落数の平均値、希釈倍数及び培地への接種量から生菌数を算出する。

検体の生菌数は、1 mL 中 5×10^7 個以上でなければならない。

3.1.4.5 対象動物を用いた免疫原性試験

3.1.4.5.1 試験材料

3.1.4.5.1.1 検体

マスターシード菌及びそれを 10 代継代したものを検体とする。ただし、試験のために充分量のマスターシード菌が利用できない場合は、最も継代数の少ないワーキングシード菌を検体とする。

3.1.4.5.1.2 試験動物

品種及び系統（SPF 等）が明らかで健康な、豚丹毒菌に対する抗体陰性の 2～3 か月齢の豚 8 頭以上を用いる。

3.1.4.5.2 試験方法

試験動物を、試験群 2 群（1 群 3 頭以上）及び対照群（2 頭以上）1 群に分ける。

試験群には、各々の検体を生菌数が 1 mL 中 10^6 個となるように濃度を調整したものを 1.0mL ずつ、肩部皮下に注射する。

注射後 3 週目に、豚丹毒菌藤沢株又は適当と認められた菌株の培養菌液を 0.1mL（生菌数 1 mL 中 10^8 個）ずつ各群の皮内に注射し、10 日間臨床観察する。

3.1.4.5.3 判定

試験群は、いずれも、攻撃局所に限定された局所反応（発赤）を呈することがあっても、全身反応を呈することなく耐過生存しなければならない。この場合、対照群は、いずれも定型的な豚丹毒の症状が認められなければならない。

3.1.4.6 対象動物を用いた安全性確認試験

3.1.4.6.1 試験材料

3.1.4.6.1.1 検体

マスターシード菌を検体とする。ただし、試験のために充分な量のマスターシード菌が利用できない場合は、最も継代数の少ないワーキングシード菌を検体とする。

3.1.4.6.1.2 試験動物

品種及び系統（SPF 等）が明らかで健康な、豚丹毒菌に対する抗体陰性の 2～3 か月齢の豚 4 頭以上を用いる。

3.1.4.6.2 試験方法

試験動物を 2 頭以上ずつの試験群及び対照群に分ける。

試験群には、検体を生菌数が 1 mL 中 5×10^7 個以上となるように濃度を調整したものを 10mL ずつ肩部皮下に注射する。対照群は、非投与とする。

投与後 21 日間、臨床症状を観察する。

3.1.4.6.3 判定

試験群は、いずれも注射局所に善感反応が認められなければならないが、全身の異常を認めてはならず、生存しなければならない。対照群は、いずれも善感反応に類似する反応が認められてはならず、生存しなければならない。

3.1.4.7 マウスを用いた安全性確認試験

3.1.4.7.1 試験材料

3.1.4.7.1.1 検体

マスターシード菌を検体とする。ただし、試験のために十分な量のマスターシード菌が利用できない場合は、最も継代数の少ないワーキングシード菌を検体とする。

3.1.4.7.1.2 試験動物

4 週齢のマウスを用いる。

3.1.4.7.2 試験方法

マウス 10 匹を試験群、10 匹を対照群とする。

検体を生菌数が 1 mL 中 1×10^8 個となるように濃度を調整したものを 0.1mL ずつ試験群の内股部皮下に注射し、対照群と共に 10 日間臨床観察する。

3.1.4.7.3 判定

試験群は、いずれも生存しなければならないが、90%以上に関節炎が認められなければならない。対照群は、いずれも生存しなければならないが、関節炎が認められてはならない。

3.1.4.8 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。

3.1.4.9 力価試験（マウス注射試験）

3.1.4.9.1 試験材料

3.1.4.9.1.1 検体

マスターシード菌を検体とする。ただし、試験のために十分な量のマスターシード菌が利用できない場合は、最も継代数の少ないワーキングシード菌を検体とする。

3.1.4.9.1.2 試験動物

4 週齢のマウスを用いる。

3.1.4.9.2 試験方法

試験動物の 10 匹を試験群、10 匹を対照群とする。

検体を生菌数が 1 mL 中 10^4 個となるように調整したものを 0.1mL ずつ、試験群の左内股部皮下に注射する。注射後 10 日目に、藤沢株又は適当と認められた菌株の培養菌液を 0.1mL 中 1,000 致死量となるように希釈したものを 0.1mL を両群の右内股部皮下に注射し、10 日間臨床観察する。

3.1.4.9.3 判定

試験群は、全て無症状で耐過生存しなければならない。この場合、対照群は、全て死亡し

なければならない。

3.1.5 ワーキングシード菌の試験

3.1.5.1 夾雑菌否定試験

3.1.4.3 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、普通寒天培地斜面培養法の培養は、37℃で7日間とする。

3.1.6 プロダクションシード菌の試験

3.1.6.1 夾雑菌否定試験

3.1.4.3 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、普通寒天培地斜面培養法の培養は、37℃で7日間とする。

3.2 初代細胞の試験

3.2.1 マスタープライマリーセルシード(プロダクションプライマリーセルシード)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 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。

3.2.1.3 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 個体別培養細胞の試験

個体別培養細胞の1%以上を対照培養細胞とし、これについて次の試験を行う。

3.3.1 培養観察

対照培養細胞を、ウイルスを接種することなく、ウイルスの培養と同じ条件で培養する。

対照培養細胞をプールし、4本以上の培養瓶及びカバーグラスを入れた4枚以上のシャーレに継代し、7日間培養し、観察するとき、CPEを認めてはならない。

3.3.2 赤血球吸着試験

3.3.1 の試験最終日に培養瓶の培養液を除き、リン酸緩衝食塩液で細胞表面を2回洗浄した後、3群に分け、0.1vol %のモルモット、がちょう及び7日齢以内の鶏の赤血球浮遊液を重層し、60分間静置した後、赤血球吸着の有無を観察するとき、培養細胞に赤血球吸着を認めてはならない。

3.3.3 封入体染色試験

3.3.1 の試験最終日に培養カバーグラスをリン酸緩衝食塩液で洗浄し、固定した後、ギムザ染色し、封入体の有無を観察するとき、培養細胞に封入体を認めてはならない。

3.3.4 迷入ウイルス否定試験

3.3.1 の試験最終日に採取した培養液を試料として、一般試験法の迷入ウイルス否定試験法2.3.1.1、2.3.1.2、2.3.1.32.3.2 及び 2.7.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.4 豚熱ウイルス原液の試験

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 ウイルス含有量試験

3.4.2.1 試験材料

3.4.2.1.1 試料

検体を細胞増殖用培養液 1 で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.2.1.2 培養細胞

豚精巣初代又は豚腎継代細胞浮遊液を用いる。

3.4.2.2 試験方法

96 穴組織培養用プレートを用いる。試料 0.1mL ずつをそれぞれ 1 列 10 穴に分注する。各列の 2 穴には細胞増殖用培養液 1 を 0.1mL ずつ分注し、対照細胞とする。各穴に細胞増殖用培養液 1 で濃度を調整した細胞浮遊液を 0.1mL ずつ分注する。37℃で 5～7 日間静置培養した後、培養液を除き、洗浄液（付記 5）で 2 回洗浄した後、固定する。

固定プレートの各穴に抗体希釈液（付記 6）で至適濃度に希釈した抗豚熱ウイルスモノクローナル抗体（付記 7）0.05mL ずつを分注し、37℃で 60 分間反応させる。

洗浄液で 4 回洗浄後、抗体希釈液で至適濃度に希釈したペルオキシダーゼ標識抗マウス免疫グロブリン 0.05mL ずつを各穴に分注し、37℃で 40～60 分間反応させる。

洗浄液で 4 回洗浄後、基質液（付記 8）0.1mL を各穴に分注し、常温で 10～30 分間反応させた後、2.5mol/L 硫酸 0.05mL ずつを各穴に加えて反応を停止させ、各穴の吸光度値を 492/630nm の波長でそれぞれ測定する。

3.4.2.3 判定

対照細胞の平均吸光度値の 2 倍以上の吸光度値を示す穴を豚熱ウイルス感染細胞とみなし、TCID₅₀ を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL 中 10^{4.8}TCID₅₀ 以上でなければならない。

3.4.3 マーカー試験

3.1.1.8 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.5 豚丹毒菌培養菌液の試験

3.5.1 夾雑菌否定試験

3.1.4.3 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、普通寒天培地斜面培養法の培養は、37℃で 7 日間とする。

3.6 豚丹毒菌原液の試験

3.6.1 夾雑菌否定試験

3.1.4.3 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、普通寒天培地斜面法の培養は、37℃で 7 日間とする。

3.6.2 生菌数試験

3.1.4.4 を準用して試験するとき、検体の生菌数は、1 mL 中 1×10^9 個以上でなければならない。

3.7 サブロットの試験

3.7.1 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。

3.7.2 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。

3.7.3 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。

3.7.4 夾雑菌否定試験

3.1.4.3 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、普通寒天培地斜面法の培養は、 37°C で7日間とする。

3.7.5 豚熱ウイルス含有量試験

3.4.2 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 $10^{3.0}\text{TCID}_{50}$ 以上でなければならない。

ただし、試料は、遠心した上清を用いる。

3.7.6 生菌数試験

3.1.4.4 を準用して試験するとき、試験品の生菌数は、1頭分当たり 1×10^8 個以上でなければならない。

3.8 ロットの試験

3.8.1 マイコプラズマ否定試験

試料は、各サブロットから2本ずつを用い、それぞれ等量ずつ混合したものを用いて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。

3.8.2 豚丹毒マーカー試験

3.1.4.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.8.3 安全試験

3.8.3.1 豚注射試験

3.8.3.1.1 試験材料

3.8.3.1.1.1 注射材料

各サブロットから同数の試験品を採取し、溶解用液 20mL 中に 100 頭分のワクチンが含まれるように溶解し、混合し、注射材料とする。

3.8.3.1.1.2 試験動物

体重 20 ～ 40kg の豚を用いる。

3.8.3.1.2 試験方法

注射材料 20mL ずつを 4 頭の試験動物の皮下に注射し、14 日間観察する。ワクチン注射時、試験動物の体重 1 kg 当たり、50,000 単位のペニシリンを筋肉内に注射する。

3.8.3.1.3 判定

観察期間中、試験動物に異常を認めてはならない。

3.8.3.2 マウス注射試験

3.8.3.2.1 試験材料

3.8.3.2.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.8.3.2.1.2 試験動物

4 週齢のマウスを用いる。

3.8.3.2.2 試験方法

試験動物 10 匹を試験群、5 匹を対照群とする。

注射材料 0.1mL ずつを試験群の内股部皮下に注射し、対照群と共に 10 日間生死を観察する。

3.8.3.2.3 判定

全ての試験動物が生存しなければならない。

3.8.4 毒力試験

3.8.4.1 試験動物

3.8.3.2 の試験に用いた動物を用いる。

3.8.4.2 試験方法

3.8.3.2 の試験の観察期間中、関節炎の発生の有無を検査する。

3.8.4.3 判定

試験群の 80 %以上に関節炎が認められなければならない。この場合、対照群は、いずれも関節炎が認められてはならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、1年6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 保存安定剤

1 脱脂乳液 1,000 mL 中

脱脂粉乳 100 g

水 残量

加温溶解した後、100 メッシュでろ過したろ液を、110 ～ 115 °Cで 20 分間滅菌したもの。

2 酵母エキス液 1,000 mL 中

酵母エキス	50 g
水	残量

加温溶解後、121 °Cで 15 分間滅菌したもの。

使用時に 1 及び 2 を等量混合する。

付記 2 製造用培地

1,000mL 中

ペプトン	20.0 g
塩化ナトリウム	5.0 g
ポリソルベート 80	1.0 mL
肉水	残量

pH を 7.8 ~ 8.0 に調整し、121 °Cで 15 分間高圧滅菌する。

付記 3 細胞増殖用培養液 1

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 g
牛又はやぎ血清	50 ~ 100 mL
イーグル MEM 又はアール液	残量

炭酸水素ナトリウムで pH を 6.8 ~ 7.2 に調整する。

牛又はやぎ血清は、牛ウイルス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 4 細胞増殖用培養液 2

1,000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス	2.95 g
バクトペプトン	5 g
N,N-ビス(2-ヒドロキシエチル)-2-アミノエタンスルホン酸	2.13 g
イーグル MEM	残量

炭酸水素ナトリウムで pH を 6.8 ~ 7.2 に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 5 洗浄液

A液とB液を混合したもの

A液 800mL 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
水	残量
B液 200mL 中	
無水塩化カルシウム	0.1 g
塩化マグネシウム六水和物	0.1 g
水	残量

付記6 抗体希釈液

ハンクス液又は洗浄液に牛血清アルブミン・フラクションVを 0.5 ~ 1.0w/v %となるように溶解したもの。

付記7 抗豚熱ウイルスモノクローナル抗体

動物医薬品検査所が配布するもの

付記8 基質液

0.2mol/L リン酸- 0.1mol/L クエン酸緩衝液 (pH5.0) 50mL に *o*-フェニレンジアミン二塩酸塩 25mg 及び過酸化水素 (30) 0.01mL を加えたもの。
用時調製する。