

豚パルボウイルス感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチン

平成 20 年 10 月 28 日（告示 1564） 新規追加

豚パルボウイルスを培養細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化し、油性アジュバントを添加したワクチンである。

1 小分製品の試験

1.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法により試験を行い、これに適合しなければならない。

1.2 不活化試験

1.2.1 試験材料

1.2.1.1 試料

試験品 10mL に等量のクロロホルムを加え、よく混和後、遠心分離した水層の 5mL を約 100 倍以上のリン酸緩衝食塩液で 4℃ で一夜透析したものを試料とする。

1.2.1.2 培養細胞

PK-15 細胞を培養びんで培養し、単層となったものを用いる。

1.2.2 試験方法

試料の全量を 1 mL につき 3 cm²以上の培養細胞に接種し、37℃ 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（付記 1）を加え、37℃ で 10 日間培養後、培養上清にペロナール緩衝食塩液（以下「VBS⁻」という。（付記 2））で調製した 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。

1.2.3 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。

試料に活性ウイルスを認めてはならない。

1.3 毒性限度確認試験

一般試験法の毒性限度確認試験法 1 により試験を行い、これに適合しなければならない。ただし、注射量は 0.4mL とする。

1.4 力価試験

1.4.1 試験材料

1.4.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

1.4.1.2 試験動物

体重約 300g のモルモットを用いる。

1.4.1.3 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 3）を用いる。

1.4.2 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 VBS⁻ 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 VBS⁻ 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℃ で一夜処理する。これに VBS⁻ で調製した 0.5vol % の非凝集性の鶏又はモルモットの赤血球浮

遊液を加え、室温で 60 分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

1.4.3 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。

試験動物の赤血球凝集抑制抗体価の幾何平均は、80 倍以上でなければならない。

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

牛胎子血清又は牛血清アルブミン 20mL 又は 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 (pH7.2)

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 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、赤血球凝集価は 64 倍以上のもの