

豚インフルエンザ・豚丹毒混合（油性アジュバント加）不活化ワクチン

平成22年3月3日（告示第395号） 新規追加

豚インフルエンザ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後凍結乾燥したもの（以下「乾燥ワクチン」という。）と、豚丹毒菌の培養菌液を不活化し、その遠心上清を濃縮したものに油性アジュバントを添加したもの（以下「液状ワクチン」という。）とを組み合わせたものである。

1 小分製品の試験

1.1 無菌試験

乾燥ワクチンを液状ワクチンで溶解したもの（以下「混合ワクチン」という。）について、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 注射材料

乾燥ワクチンを液状ワクチンと同量のリン酸緩衝食塩液で溶解したものを注射材料とする。

1.2.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1の10～12日齢のものを用いる。

1.2.2 試験方法

注射材料0.2mLずつを4個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、36～37℃で培養し、3日間隔で尿膜腔液を2代まで継代する。2代目の尿膜腔液に0.5vol%の鶏の赤血球浮遊液を等量加え、室温で60分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

ただし、赤血球凝集を示す尿膜腔液があった場合には、その尿膜腔液を等量に混合して3代まで継代し、3代目の尿膜腔液について同様の試験を繰り返した後、判定する。

1.2.3 判定

赤血球凝集を認めない場合、活性ウイルス陰性と判定する。

試験品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。

1.4 力価試験

1.4.1 豚インフルエンザ力価試験

1.4.1.1 試験材料

1.4.1.1.1 注射材料

混合ワクチンをリン酸緩衝食塩液で10倍に希釈したものを注射材料とする。

1.4.1.1.2 試験動物

4週齢のマウスを用いる。

1.4.1.1.3 赤血球凝集抗原

試験品に含まれるそれぞれのウイルス株と同一タイプのウイルスで調製した赤血球凝集抗原（付記1）を用いる。

1.4.1.2 試験方法

注射材料0.5mLずつを試験動物20匹の腹腔内に注射した後、4群に分け、14日目に得られた血清を各群ごとにプールして、赤血球凝集抑制試験を行う。

被検血清をRDE及び鶏赤血球処理又は適当と認められた方法で処理する。これをリン酸緩衝食塩

液で2倍階段希釈し、各希釈液0.2mLに0.2mL中8単位の赤血球凝集抗原を等量ずつ加え、室温で60分間処理する。これに0.5vol%の鶏の赤血球浮遊液を0.4mLずつ加え、室温に60分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

1.4.1.3 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。

各群のプール血清の赤血球凝集抑制抗体価は、H1N1亜型では16倍以上、H3N2亜型では32倍以上でなければならない。

1.4.2 豚丹毒力価試験

1.4.2.1 試験材料

1.4.2.1.1 注射材料

混合ワクチンを注射材料とする。

1.4.2.1.2 試験動物

5週齢のマウスを用いる。

1.4.2.1.3 攻撃用菌液

豚丹毒藤沢株又はこれと同等の毒力を有する株を攻撃菌用培地（付記2）に接種し、37℃で14～20時間培養する。これを普通ブイヨンで1mL中 10^3 個の菌量となるように希釈したものを攻撃用菌液とする。

1.4.2.2 試験方法

試験動物の10匹を試験群、10匹を対照群とする。

注射材料0.5mLずつを2週間隔で2回、試験群の内股部皮下に注射する。第2回目注射後2週目に、攻撃用菌液を試験群及び対照群の内股部皮下に0.1mLずつ注射して攻撃した後、7日間観察する。

1.4.2.3 判定

試験群では、80%以上が耐過生存しなければならない。この場合、対照群では90%以上が死亡しなければならない。

付記1 赤血球凝集抗原

豚インフルエンザウイルスA型A/swine/Iowa/08/00 (H1N1) 株及びA/swine/Iowa/06/00 (H3N2) 株又はこれらと同等と認められたウイルス株を用いて、それぞれ調製した赤血球凝集抗原

付記2 攻撃菌用培地

1,000mL中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス	30 g
プロテオーゼペプトン	10 g
ポリソルベート80	1 mL
水	残量

pHを7.4～7.8に調整して、121℃で15分間高压滅菌する。