

豚パルボウイルス感染症不活化ワクチン

1 定義

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 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、豚腎初代又は継代細胞又は適当と認められた培養細胞で継代する。

継代は、原株では3代以内、種ウイルスでは2代以内でなければならない。

原株及び種ウイルスは、凍結して - 70 以下又は凍結乾燥して5 以下で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 培養細胞

豚腎初代又は継代細胞又は製造に適当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

2.3 原液

2.3.1 細胞の培養

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、3.1 の試験を行う。

2.3.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、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ウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.2 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、3.3 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、3.4 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、3.5 の試験を行う。

3 試験法

3.1 培養細胞の試験

個別培養細胞の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。

3.1.1 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本以上の培養びんに継代し、7日間培養し、観察するとき、CPEを認めてはならない。

3.1.2 赤血球吸着試験

3.1.1の試験最終日に培養びんの培養液を除き、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。

3.2 ウイルス浮遊液の試験

3.2.1 ウイルス含有量試験

3.2.1.1 試験材料

3.2.1.1.1 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。

3.2.1.1.2 培養細胞

豚腎初代又は継代細胞その他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。

3.2.1.2 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℃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℃で10日間培養後、ペロナル緩衝食塩液（付記2）（以下「VBS」という。）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。

3.2.1.3 判定

赤血球の凝集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、1mL中10^{5.0}TCID₅₀以上でなければならない。

3.3 不活化ウイルス液の試験

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 不活化試験

3.3.2.1 試験材料

3.3.2.1.1 試料

100倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、検体5mLを4℃で一夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

3.3.2.1.2 培養細胞

豚腎初代又は継代細胞を培養びんで培養し、単層となったものを用いる。

3.3.2.2 試験方法

試料の全量を1mLにつき3cm²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を加え、37℃で10日間培養後、培養上清に3.2.1.2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。

3.3.2.3 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。

3.4 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。

3.5 小分製品の試験

3.5.1 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、異物又は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。

3.5.2 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。

3.5.3 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。

3.5.4 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。

3.5.5 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。

3.5.6 力価試験

3.5.6.1 試験材料

3.5.6.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.6.1.2 試験動物

体重約 300g のモルモットを用いる。

3.5.6.1.3 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 3）を用いる。

3.5.6.2 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 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 3.2.1.2 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。

3.5.6.3 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、1 年間とする。ただし、特に承認されたものは、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 ペ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