

# 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29年11月7日（告示第1701号）新規追加

## 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、油性アジュバントを添加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K22 MF15 ST94/626株又はこれと同等と認められた株

#### 2.1.2 性状

豚腎継代細胞及び豚精巢継代細胞で増殖し、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、豚精巢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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その継代数以内とする。

原株及び種ウイルスは、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その保存温度とする。

### 2.2 製造用材料

#### 2.2.1 培養細胞

豚精巢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。ただし、2.3.1と2.3.2を同時に実施する場合には、本試験の実施を省略することができる。

#### 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をウイルス浮遊液とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その培養方法とする。

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

ウイルス浮遊液にエチレンイミン又は製造に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濃縮及び遠心し、生理食塩液に再浮遊したものを原液とする。

この場合、製造に適当と認められた保存剤を加えてもよい。

原液について、3.4の試験を行う。

## 2.4 最終バルク

原液に適量のアジュバントを添加し、最終バルクとする。

この場合、製造に相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。

#### 3.1.1 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、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、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で階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その希釈倍数とする。

###### 3.2.1.1.2 培養細胞

豚精巢継代細胞その他相当と認められた細胞浮遊液を用いる。

###### 3.2.1.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ4穴以上に分注し、細胞浮遊液を加え、37°Cで9日間培養し、観察する。

###### 3.2.1.3 判定

培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID<sub>50</sub>を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL中10<sup>6.5</sup>TCID<sub>50</sub>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 不活化試験

##### 3.3.1.1 試験材料

###### 3.3.1.1.1 試料

限外濾過により20倍に濃縮した不活化ウイルス液を試料とする。

###### 3.3.1.1.2 培養細胞

豚精巢継代細胞をローラーボトルで培養し、単層となったものを用いる。

###### 3.3.1.2 試験方法

試料を2本のローラーボトルに接種し、37°Cで6日間培養後、細胞を観察し、-20°C以下で凍結する。融解した継代材料を同様に培養細胞に接種し、37°Cで6日間培養後、細胞を観察し、-20°C以下で凍結する。融解した継代材料0.1mLを5穴以上の豚精巢継代細胞に接種し、37°Cで4日間培養後、抗豚パルボウイルス血清（付記1）及び抗豚IgG蛍光標識抗体（付記2）による蛍光抗体法を行う。

###### 3.3.1.3 判定

培養細胞にCPE及び特異蛍光抗原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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その試験方法とする。

### 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。

#### 3.5.2 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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その試験方法とする。

#### 3.5.3 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、注射量は0.4mLとする。

#### 3.5.4 力価試験

3.5.4.1又は3.5.4.2の試験を行う。

##### 3.5.4.1 力価試験1

###### 3.5.4.1.1 試験材料

###### 3.5.4.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

###### 3.5.4.1.1.2 試験動物

約6～8週齢のモルモットを用いる。

###### 3.5.4.1.1.3 赤血球凝集抗原

豚パルボウイルスK22 MF15 ST94/626株を豚精巣継代細胞で増殖させた培養上清を用いる。

###### 3.5.4.1.2 試験方法

注射材料2mLずつを、5匹の試験動物の筋肉内に注射し、21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。

被検血清をホウ酸緩衝食塩液（付記3）で4倍に希釈し、等量の25w/v%カオリン液1（付記4）を加え、室温で処理する。遠心後の上清にモルモットの赤血球を加え、37℃で処理し、再度遠心し、上清を採取する。これを希釈液（付記5）で階段希釈し、各段階の希釈液に4単位の赤血球凝集抗原を等量加え、室温で60分間反応後、モルモット赤血球浮遊液を加えて4℃で一夜処理し、赤血球凝集の有無を観察する。

###### 3.5.4.1.3 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。

##### 3.5.4.2 力価試験2

###### 3.5.4.2.1 試験材料

###### 3.5.4.2.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

###### 3.5.4.2.1.2 試験動物

体重約300gのモルモットを用いる。

###### 3.5.4.2.1.3 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6）を用いる。

### 3.5.4.2.2 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。

被検血清をペロナール緩衝食塩液（以下この項において「VBS<sup>-</sup>」という。（付記7））で5倍に希釈し、等量の25w/v%カオリン液2（付記8）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、室温で処理し、再度遠心し、上清を採取する。これをVBS<sup>-</sup>で段階希釈し、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<sup>-</sup>で調製した鶏又はモルモットの赤血球浮遊液を加え、室温で静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

### 3.5.4.2.3 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。

### 4 貯法及び有効期間

有効期間は、3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 抗豚パルボウイルス血清

豚パルボウイルスで免疫した豚の血清で、豚パルボウイルスに特異的に反応するもの。

#### 付記2 抗豚IgG蛍光標識抗体

豚のγ-グロブリンに対するウサギのγ-グロブリンを蛍光色素で標識したもの。

#### 付記3 ホウ酸緩衝食塩液（pH9.0）

1,000mL中

塩化ナトリウム	7.01 g
ホウ酸	3.09 g
水酸化ナトリウム	0.96 g
水	残量

#### 付記4 25w/v%カオリン液1（pH8.5±0.5）

カオリンを精製水で3回洗浄後、ホウ酸緩衝食塩液で最終濃度25w/v%に調製したもの。

#### 付記5 希釈液

牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液（付記9）を生理食塩液（pH7.15）で100倍に希釈したもの。

#### 付記6 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。

#### 付記7 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8 25w/v%カオリン液2 (pH7.2)

カオリンをリン酸緩衝食塩液で3回洗浄後、ホウ酸緩衝食塩液で最終濃度25w/v%に調製したものの。

付記9 緩衝食塩液 (pH8.95±0.2)

1,000mL中

塩化ナトリウム

7.01 g

ホウ酸

3.09 g

水酸化ナトリウム

0.96 g

牛血清アルブミン

4.0 g

水

残量