

# ヘモフィルス・パラスイス（5型）感染症（アジュバント加）不活化ワクチン

平成 16 年 4 月 23 日（告示 977） 新規作成

## 1 定義

ヘモフィルス・パラスイス5型菌の培養菌液を不活化し、アルミニウムゲル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

ヘモフィルス・パラスイス長崎株（PAGE 型、血清型5）又はこれと同等と認められた株

#### 2.1.2 性状

感受性豚の気管内に接種すると、感染豚は急性経過で死亡又はグレーサー病の特徴的な症状を発現する。

#### 2.1.3 継代及び保存

原株及び種菌は、継代用寒天培地（付記1）で継代する。

継代は、原株では3代以内、種菌では5代以内でなければならない。ただし、特に承認されたものはその継代数以内とする。

原株及び種菌は、凍結して - 60 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 培地

継代用寒天培地及び製造用培地（付記2）又は製造に相当と認められた培地を用いる。

### 2.3 原液

#### 2.3.1 培養

種菌を継代用寒天培地に接種し、培養して十分に発育した集落をかきとり製造用培地に浮遊する。これを製造用培地に接種して培養し、一夜、4 に置き、等量の製造用培地を加えて培養したものをさらに製造用培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.1の試験を行う。

#### 2.3.2 不活化

培養菌液にホルマリン又は相当と認められた不活化剤を加えて不活化し、遠心して得られた沈殿菌を、リン酸緩衝食塩液に浮遊し、チメロサルを添加したものを不活化菌液とする。

不活化菌液について、3.2の試験を行う。

#### 2.3.3 濃度調整

不活化菌液を規定の濃度になるように、リン酸緩衝食塩液で希釈し、チメロサルを添加したものを原液とする。

原液について、3.3の試験を行う。

### 2.4 最終バルク

原液にリン酸緩衝食塩液及び水酸化アルミニウムゲルを加えたものを最終バルクとする。この場合、チメロサル又は適当と認められた保存剤を添加してもよい。

## 2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注して、小分製品とする。

小分製品について、3.4 の試験を行う。

## 3 試験法

### 3.1 培養菌液の試験

#### 3.1.1 夾雑菌否定試験

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 変異試験

##### 3.1.2.1 試験材料

###### 3.1.2.1.1 試料

検体をハートインフュージョン・ブイヨンで 1 mL 中  $10^3$  CFU 以上になるように希釈したものを試料とする。

###### 3.1.2.1.2 培地

継代用寒天培地を用いる。

###### 3.1.2.2 試験方法

試料の 0.025mL ずつ 4 滴、合計 0.1mL を培地表面に滴下して吸収させた後、37 °C の 5 vol % 炭酸ガス下で 18 ~ 24 時間培養し、発育した集落の形態を透過光法及び斜光線法により調べる。

###### 3.1.2.3 判定

製造用株は透過光で観察するとき、直径 1 ~ 2 mm の灰白色半透明の露滴状を呈し、斜光線で観察すると青灰色半透明を呈する。90 % 以上の集落が製造用株の集落形態を保たなければならない。

### 3.2 不活化菌液の試験

#### 3.2.1 不活化試験

##### 3.2.1.1 試験材料

###### 3.2.1.1.1 試料

検体を遠心し、その沈渣をハートインフュージョン・ブイヨンで原量に再浮遊したものを試料とする。

###### 3.2.1.1.2 培地

製造用培地を 100mL ずつ 2 本に小分したものをを用いる。

###### 3.2.1.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを培地 2 本に接種して、37 °C で 4 日間培養後、菌の発育の有無を観察する。

###### 3.2.1.3 判定

検体に菌の発育を認めてはならない。

### 3.2.2 総菌数試験

#### 3.2.2.1 試験材料

##### 3.2.2.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で適度に希釈したものを試料とする。

##### 3.2.2.2 試験方法

試料の濃度を分光光度計で測定する。

### 3.2.2.3 判定

標準検量曲線、濁度の測定値及び検体の希釈度から総菌数を算出するとき、検体中の総菌数は 1 mL 中  $1 \times 10^{10}$  個以上でなければならない。

## 3.3 原液の試験

### 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。

## 3.4 小分製品の試験

### 3.4.1 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ない、異物又は異臭を認めてはならない。各小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

### 3.4.2 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。

### 3.4.3 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。

### 3.4.4 ホルマリン定量試験

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、0.25 vol % 以下でなければならない。

### 3.4.5 チメロサル定量試験

一般試験法のチメロサル定量法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3.4.6 アルミニウム定量試験

一般試験法のアルミニウム定量法を準用して試験するとき、アルミニウムの含有量は、固有の値でなければならない。

### 3.4.7 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。

### 3.4.8 力価試験

#### 3.4.8.1 試験材料

##### 3.4.8.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

##### 3.4.8.1.2 試験動物

約 4 週齢の BALB/c 雌マウスを用いる。

##### 3.4.8.1.3 攻撃用菌液

凍結乾燥又は凍結したヘモフィルス・パラスイス長崎株又はこれと同等の毒力を有する株を継代用培地に接種し、37℃、5 vol % 炭酸ガス下で 40 ~ 48 時間培養する。発育した集落を同培地に移植し、37℃ で 16 ~ 20 時間培養する。発育した集落をハートインフュジョン・ブイヨンに浮遊し、濃度調整したものを攻撃用菌液とする。

##### 3.4.8.2 試験方法

試験動物 10 匹を試験群、10 匹を対照群とする。

注射材料 0.5ml ずつを試験群の腹腔内に注射する。注射後 2 週間目に、攻撃用菌液をハートイン

フュージョン・ブイオンで1 mL 中約  $10^7$  CFU の濃度となるように希釈し、更にこの希釈菌液を10w/v %ムチン液で10倍に希釈したものを、試験群及び対照群にそれぞれ0.5mL ずつ腹腔内に注射して攻撃した後、7日間観察する。

#### 3.4.8.3 判定

試験群では、70 %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、70 %以上が死亡しなければならない。

#### 4 貯法及び有効期間

有効期間は、2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 継代用寒天培地

1,000mL 中

ハートインフュージョン・ブイオン培地粉末 25 g

寒天 10 g

水 残量

加温溶解後、pHを7.0 ~ 7.4に調整し、121、15分間高圧滅菌する。45 ~ 50 に冷却した後、ろ過滅菌した鶏血清を5 vol %及び5 w/v % -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド[還元型](以下「-NAD」という。)を0.2vol %の割合に加える。

#### 付記2 製造用培地

1,000 mL 中

ハートインフュージョン・ブイオン培地粉末 25 g

水 残量

加温溶解後、pHを7.0 ~ 7.4に調整し、121、15分間高圧滅菌する。冷却後、ろ過滅菌した10w/v %酵母エキス液を3 vol %、鶏血清を1 vol %及び5 w/v % -NADを0.2vol %の割合に加える。