

ヘモフィルス・パラシイス（2・5型）感染症（アジュバント加）不活化ワクチン（シード）

平成 23 年 5 月 11 日 (告示第 939 号) 新規追加

1 定義

シードロット規格に適合したヘモフィルス・パラシイス 2 型菌及び 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 ヘモフィルス・パラシイス 2 型菌

2.1.1.1 名称

ヘモフィルス・パラシイス滝川 188 株 (PAGE I 型、血清型 2) 又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

感受性豚の気管内に接種すると、グレーサー病の特徴的な症状を発現する。

2.1.1.3 マスターシード菌

2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、平板培地（付記 1）又は適当と認められた培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して 5℃以下で保存する。

マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10 代以内でなければならない。

2.1.1.4 ワーキングシード菌

2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、平板培地又は適当と認められた培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して -60℃以下又は凍結乾燥して 5℃以下で保存する。

ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。

2.1.1.5 プロダクションシード菌

2.1.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、平板培地又は適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して -60℃以下又は凍結乾燥して 5℃以下で保存する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.2 ヘモフィルス・パラシイス 5 型菌

2.1.2.1 名称

ヘモフィルス・パラシイス長崎株 (PAGE II 型、血清型 5)

2.1.2.2 性状

感受性豚の気管内に接種すると、グレーサー病の特徴的な症状を発現する。

2.1.2.3 マスターシード菌

2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、平板培地又は適当と認められた培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して 5℃以下で保

存する。

マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10 代以内でなければならない。

2.1.2.4 ワーキングシード菌

2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、平板培地又は適当と認められた培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して -60°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。

2.1.2.5 プロダクションシード菌

2.1.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、平板培地又は適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して -60°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 培地

平板培地及び液状培地（付記2）、又は製造に適当と認められた培地を用いる。

2.3 ヘモフィルス・パラシイスの各型菌原液

2.3.1 培養

プロダクションシード菌を平板培地に接種して培養したものを、更に液状培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.2 の試験を行う。

2.3.2 不活化

培養菌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、遠心して得られた沈殿菌を、リン酸緩衝食塩液（付記3）に浮遊し、適当と認められた保存剤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、3.3 の試験を行う。

2.3.3 濃度調整

リン酸緩衝食塩液で不活化菌液の濃度を規定の濃度になるように希釈したものを原液とする。この場合、適当と認められた保存剤を添加してもよい。

原液について、3.4 の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液にリン酸緩衝食塩液及びアジュバントを添加し、濃度を調整したものを最終バルクとする。

この場合、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、3.5 の試験を行う。

3 試験法

3.1 製造用株の試験

3.1.1 マスターシード菌の試験

3.1.1.1 同定試験

シードロット規格の 1.4.2.4.1.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.2 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 ワーキングシード菌の試験

3.1.2.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.3 プロダクションシード菌の試験

3.1.3.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2 培養菌液の試験

3.2.1 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法 1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2 変異試験

3.2.2.1 試験材料

検体をハートインフュージョン・ブイヨン培地 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。

3.2.2.2 培地

平板培地又は適当と認められた培地を用いる。

3.2.2.3 試験方法

試料の 25 μ L 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。

3.2.2.4 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。

3.3 不活化菌液の試験

3.3.1 不活化試験

3.3.1.1 試験材料

3.3.1.1.1 試料

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

3.3.1.1.2 培地

液状培地又は適当と認められた培地を 100mL ずつ 2 本に小分けしたものをを用いる。

3.3.1.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを培地 2 本に接種して、37 °C で 4 日間培養する。

3.3.1.3 判定

菌の発育を認めてはならない。

3.3.2 総菌数試験

3.3.2.1 試験材料

3.3.2.1.1 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。

3.3.2.2 試験方法

試料の濃度を分光光度計で測定する。

3.3.2.3 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 1×10^{10} 個以上でなければならない。

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懸濁液でなければならず、異物及び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。

3.5.2 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、0.25vol %以下でなければならない。

3.5.5 チメロサル定量試験

チメロサル添加製剤については、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。

3.5.6 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。

3.5.7 毒性限度確認試験

一般試験法の毒性限度確認試験 1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.5.8 力価試験

3.5.8.1 試験材料

3.5.8.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.8.1.2 試験動物

約 4 週齢の BALB/c 雌マウスを用いる。

3.5.8.1.3 攻撃用菌液

凍結乾燥若しくは凍結したヘモフィルス・パラシス 2 型菌滝川 188 株又はこれと同等の毒力を有する株、及び凍結乾燥若しくは凍結した 5 型菌長崎株又はこれと同等の毒力を有する株をそれぞれ平板培地に接種し、37℃、5 vol %炭酸ガス下で 40～48 時間培養する。発育した集落をそれぞれ同培地に移植し、同じ条件で 16～20 時間培養する。発育した集落をそれぞれハートインフュージョン・ブイヨン培地に浮遊したものを、それぞれ 2 型菌株攻撃用菌液及び 5 型菌株攻撃用菌液とする。

3.5.8.2 試験方法

試験動物 20 匹を試験群、20 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 週目に、試験群及び対照群をそれぞれ 10 匹ずつの各 2 群に分ける。2 型菌株攻撃用菌液をハートインフュージョン・ブイヨン培地で約 10^6 CFU/mL の菌量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 日間臨床観察する。

また、同様に、注射後 2 週目に、試験群及び対照群をそれぞれ 10 匹ずつの各 2 群に分ける。5 型菌株攻撃用菌液をハートインフュージョン・ブイヨン培地で約 10^7 CFU/mL の菌量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 日間臨床観察する。

3.5.8.3 判定

2型菌及び5型菌のそれぞれの攻撃において、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、製造後3年3か月間とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その期間とする。

付記1 平板培地

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
寒天粉末	10 g
鶏血清	50 mL
5 w/v% β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド液	2 mL
水	残量

鶏血清及びβ-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド液は、あらかじめろ過滅菌しておき、他の組成を加温溶解後、pHを7.0～7.4に調整し、121℃で15分間高圧滅菌して、約50℃に冷却した後、無菌的に添加する。

付記2 液状培地

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
10w/v%酵母エキス液	30 mL
鶏血清	10 mL
5 w/v% β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド液	2 mL
水	残量

酵母エキス、鶏血清及びβ-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド液は、あらかじめろ過滅菌しておき、他の組成を加温溶解後、pHを7.0～7.4に調整し、121℃で15分間高圧滅菌して、約50℃に冷却した後、無菌的に添加する。

付記3 リン酸緩衝食塩液

1,000 mL 中

リン酸水素二ナトリウム十二水和物	2.435 g
リン酸二水素カリウム	0.435 g
塩化ナトリウム	8.5 g
水	残量

pHを6.9～7.1に調整後、121℃で20分間高圧滅菌する。