

A red-tinted world map is visible in the background of the top section of the slide.

# 血しょうたん白製造工程

# 血しょうたん白の作り方とは？

- 米国農務省またはカナダ食品検査庁で生前検査された豚から血液を採取し、抗凝血剤を添加後、冷蔵されます。
- 血液はAPC社の専用タンクローリーで血しょうたん白専用工場へ運ばれます
- 遠心分離機で白血球と赤血球に分離されます。(屠場若しくはAPC社工場内)
- APC社の工場内で液体白血球は紫外線照射工程を経ます。
- 噴霧乾燥工程は、極力機能性たん白質の性能を損なわれないよう行われます。
- 製品の袋詰めは、新しい25kg袋やトートバックを使用します。
- 製品はQA(品質管理部門)で品質チェック後、販売されます。



# WHO (世界保健機関) 指針

WHOは人体血しょう製剤のウイルスの安全性を保証するための手順に、ウイルスの不活化と除去についてガイドラインを設けています。

Technical Report, Series No. 924, 2004

© World Health Organization  
WHO Technical Report, Series No. 924, 2004

## Annex 4 Guidelines on viral inactivation and removal procedures intended to assure the viral safety of human blood plasma products

|  |     |
|--|-----|
| List of abbreviations and definitions used in this Annex   | 151 |
| 1. Introduction and scope  | 154 |
| 2. General considerations  | 155 |
| 3. Infectious agents   | 157 |
| 3.1 Viruses, viral burden and screening methods  | 157 |
| 3.2 Other infectious agents  | 161 |
| 3.3 Validation of viral inactivation and removal procedures  | 161 |
| 4. Review of well-recognized methods for viral inactivation and removal  | 166 |
| 4.1 Methods of inactivation  | 167 |
| 4.2 Methods of virus removal   | 179 |
| 4.3 Protein issues   | 186 |
| 4.4 Clinical trials to assess safety   | 193 |
| 4.5 Implementation in a manufacturing setting  | 193 |
| 5. Virally inactivated plasma for transfusion  | 198 |
| 5.1 Quarantine or donor-retested plasma  | 199 |
| 5.2 Solvent/detergent-treated plasma   | 200 |
| 5.3 Methylene blue and visible light   | 201 |
| 6. Review of newer viral inactivation methods under development  | 203 |
| 6.1 Psoralen-treated fresh frozen plasma   | 203 |
| 6.2 UVC light irradiation  | 204 |
| 6.3 Gamma-irradiation  | 205 |
| 6.4 Iodine   | 208 |
| 6.5 Pasteurized fresh frozen plasma  | 208 |
| 7. Summary   | 209 |
| 8. Authors   | 211 |
| Acknowledgements   | 212 |
| WHO Secretariat  | 213 |
| References   | 213 |
| Appendix   |     |
| Example of a study on the inactivation of human immunodeficiency virus-1 by treating a therapeutic plasma protein preparation with tris(n-butyl)phosphate and Tween 80 | 219 |

# 血しょう製剤のウイルス安全性

- ウイルスの安全性を保証するために、製造工程で3つの予備手順が設定されています。
  1. ドナーの選択
  2. ドナーと貯蔵されている血しょうを検査
  3. ウイルスの不活化と除去は製造工程中に行われる

A red-tinted world map is centered in the upper half of the slide, with the text 'ドナーの選択' overlaid on it.

# ドナーの選択

# ドナーの選択

WHO ガイドライン

ドナーの選択

APC 社の血しょうたん白製造工程

連邦政府で管理された食肉加工場

- 連邦政府で管理された食肉加工場で、食肉として認められた豚の血液を採取します。
- 上記の基準は、以下の豚からは血液採取する問題を未然に防ぐものです:
  - 臨床的に病気である豚
  - OIEリストAにある疾病がある地域からの豚

# ドナーと貯蔵されている血しょうを検査

WHO ガイドライン

貯蔵されている血しょうを検査

APC Production of Spray Dried Plasma

最終製品をPCR検査

- 分析結果 (例):

- PCR 検査でPEDウイルスがネガティブの豚血しょうたん白
- 牛血しょうたん白は、PCR検査で豚組織が無いこと

A red-tinted world map is visible in the background of the top banner. The map shows the continents in a lighter shade of red against a darker red background.

# ウイルス不活化への製造基準



# WHO による製造基準: ウイルス不活化または除去するための基準

- WHO定義:確固たる製造手順
    - その一つとして、効果的且つ信頼性の高い製造手順は相当量のウイルス不活化又は除去すること(99.99%以上、通常 4 logs以上)が出来る手順である。
  - 製造工程
    - 1つの製造工程は、エンベロープウイルスを不活化出来る確固たる2つの製造基準を設けていること。
- または
- その製造工程で、ノンエンベロープウイルスを不活化できる確固たる製造基準を設けていること。

# APCのウイルス不活化手順

| WHOガイドライン   | APC 社血しょうたん白の製造工程 |
|-------------|-------------------|
| 複数の確固たる製造基準 | 噴霧乾燥工程            |
|             | 紫外線照射工程           |
|             | 乾燥後の熱工程           |

- 複数の異なる確固たる製造基準でウイルスの不活化を測定  
>99.99%ウイルス不活化( 4 log)
  - 噴霧乾燥工程: 乾燥工程中は80°C
  - 液体血しょうたん白を紫外線照射: 3000 J/L
  - 乾燥工程後熱工程と倉庫内で一定期間保管: 常温( 20°C)で14日間

# 熱工程は国際機関が定めた基準に準拠しています

Directive 2002/99/EC:

動物の健康リスクを排除するための工程です。

| MEAT Treatment (*)  | Disease                |                       |                         |                     |            |
|---|------------------------|-----------------------|-------------------------|---------------------|------------|
|   | Foot-and-mouth disease | Classical swine fever | Swine vesicular disease | African swine fever | Rinderpest |
| (a) Heat treatment in a hermetically sealed container with an F <sub>0</sub> value of 3,00 or more (**) | +                      | +                     | +                       | +                   | +          |
| (b) Heat treatment at a minimum temperature of 70 °C, which must be reached throughout the meat         | +                      | +                     | +                       | 0                   | +          |
| (c) Heat treatment at a minimum temperature of 80 °C, which must be reached throughout the meat         | +                      | +                     | +                       | +                   | +          |

80度の噴霧乾燥工程中は、様々なウイルスを不活化(アフリカ豚コレラを含む)する手順として認められている。

# 生物学的安全性の試験(まとめ)

## 噴霧乾燥工程のウイルス不活化研究

| Virus          | Nucleic Acid | Envelope | Virus Size (nm) | Thermal Resistance | Before SD TCID <sub>50</sub> /mL | Virus Inactivation | Reference               |
|----------------|--------------|----------|-----------------|--------------------|----------------------------------|--------------------|-------------------------|
| PRRS           | ssRNA        | Yes      | 50-65           | Low                | 10 <sup>4.0</sup>                | 4 logs             | Polo et al., 2005       |
| Aujeszky Virus | ssDNA        | Yes      | 150-180         | Medium             | 10 <sup>5.3</sup>                | 5.3 logs           | Polo et al., 2005       |
| SVD            | ssRNA        | No       | 22-30           | High               | 10 <sup>6.0</sup>                | 6.0 logs           | Pujols et al., 2007     |
| PEDV           | ssRNA        | Yes      | 90-190          | Low to Medium      | >10 <sup>5.15</sup>              | > 5.15 logs        | Pujols & Segales, 2014  |
| PEDV           | ssRNA        | Yes      | 90-190          | Low to Medium      | 1.8 x 10 <sup>4.0</sup>          | > 3.56 logs        | Gerber et al., 2014     |
| ASFV           | dsDNA        | Yes      | 80-200          | High               | 10 <sup>5.8</sup>                | 4.1 logs           | CReSA 2018, unpublished |

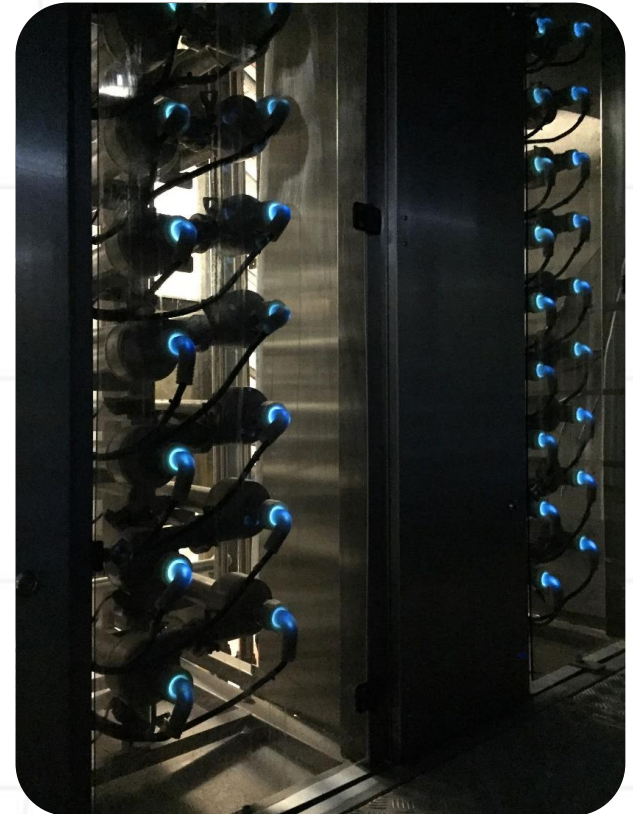
# APC社のウイルス不活化手順

| WHO ガイドライン  | APC社血しょうたん白製造工程 |
|-------------|-----------------|
| 複数の確固たる製造基準 | 噴霧乾燥工程          |
|             | 紫外線照射工程         |
|             | 乾燥後の熱工程         |

- 複数の異なる確固たる製造基準でウイルスの不活化を測定  
>99.99%ウイルス不活化( 4 log)
  - 噴霧乾燥工程: 乾燥工程中は80° C
  - 液体血しょうを紫外線照射: 3000 J/L
  - 乾燥工程後熱工程と倉庫内で一定期間保管: 常温( 20° C)で14日間

# 紫外線照射

- WHO Section 6.2  
紫外線照射 (UVC)
- 紫外線照射は核酸に影響を与える
  - エンベロープに関わりなく、幅広く様々なウイルスを不活化する



# 確固たる製造工程： 液体血しょうへの紫外線照射

| Virus                            | Nucleic Acid | Envelope   | Virus Size (nm) | Thermal resistance | UV Log <sub>10</sub> Reduction* |
|----------------------------------|--------------|------------|-----------------|--------------------|---------------------------------|
| PRRSV                            | ssRNA        | Yes        | 50-65           | Low                | >5.2                            |
| Aujeszky Virus (PRV)             | ssDNA        | Yes        | 150-180         | Medium             | > 4.5                           |
| PEDV                             | ssRNA        | Yes        | 90-190          | Low to Medium      | > 4.0                           |
| PPV                              | ssDNA        | No         | 18-26           | Very High          | >4.0                            |
| BVDV                             | ssRNA        | Yes        | 15-120          | Medium             | >3.2                            |
| Classical Swine Fever            | ssRNA        | Yes        | 30              | Medium             | >4.0                            |
| Swine Influenza Virus            | ssRNA        | Yes        | 80-120          | Low                | >5.1                            |
| Seneca Valley Virus (SVV)        | ssRNA        | No         | 30              | High               | 3.7                             |
| Swine Vesicular Disease (SVD)    | ssRNA        | No         | 22-30           | High               | 2.7                             |
| <b>African Swine Fever Virus</b> | <b>dsDNA</b> | <b>Yes</b> | <b>80-200</b>   | <b>High</b>        | <b>Pending</b>                  |

UVC treatment, 3,000 J/L inactivates many organisms in liquid plasma.

\* Log reduction is limited by viral concentration in the stock solution

# APC社のウイルス不活化手順

| WHO ガイドライン  | APC Production of Spray Dried Plasma |
|-------------|--------------------------------------|
| 複数の確固たる製造基準 | 噴霧乾燥工程                               |
|             | 紫外線照射工程                              |
|             | 乾燥後の熱工程                              |

- 複数の異なる確固たる製造基準でウイルスの不活化を測定  
>99.99%ウイルス不活化( 4 log)
  - 噴霧乾燥工程: 乾燥工程中は80° C
  - 液体血しょうを紫外線照射: 3000 J/L
  - 乾燥工程後熱工程と倉庫内で一定期間保管: 常温( 20° C)で14日間



# 確固たる製造: 噴霧乾燥後に熱工程: 常温 20°Cで14日間

| Storage Condition    | 4°C (39°F) | 12°C (54°F) | 21°C (70°F) |
|----------------------|------------|-------------|-------------|
| Initial <sup>1</sup> | Pos        | Pos         | Pos         |
| 7 days               | Pos        | Pos         |             |
| 14 days              | Pos        |             |             |
| 21 days              |            |             |             |

|                           |     |
|---------------------------|-----|
| Indicates positive result | Pos |
| Indicates negative result |     |

<sup>1</sup> Inoculated spray dried bovine plasma; Ct = 22.0±0.8

噴霧乾燥牛血しょうたん白にPEDウイルスを強制的に植菌させ、常温(20°C)で7日間保管した結果、もはやウイルスは感染性が無かった。



# 生物学的安全性試験

# 生物学安全性試験(まとめ): 給与試験

| Virus | PCR Positive DNA copies | Inclusion level | Feeding Duration | Results       | Reference             |
|-------|-------------------------|-----------------|------------------|---------------|-----------------------|
| PCV-2 | $2.47 \times 10^{5.0}$  | 8%              | 45 days          | Not infective | Pujols et al., 2008   |
| PCV-2 | $10^{6.7}$              | 4%              | 42 days          | Not infective | Shen et al., 2011     |
| PCV-2 | $7.56 \times 10^{5.0}$  | 8%              | 32 days          | Not infective | Pujols et al., 2011   |
| HEV   | Positive                | 8%              | 28 days          | Not infective | Pujols et al., 2014   |
| PEDV  | Positive (Ct: 30.1)     | 5%              | 14 days          | Not infective | Campbell et al., 2014 |
| PEDV  | Positive                | 3% – 8%         | 7 to 14 days     | Not infective | Crenshaw et al., 2014 |
| PRRS  | Positive                | 3% - 8%         | 7 to 21 days     | Not infective | Crenshaw et al., 2014 |

PCRの結果は感染性とは無関係である。

給与試験において、血しょうたん白が安全な原料であることが示された。

A horizontal red banner with a world map silhouette in a lighter shade of red. The map shows the continents of North America, South America, Europe, Africa, Asia, and Australia. The banner has a rounded right edge.

# まとめ

# WHOとAPC社の血しょうたん白製造に関するガイドライン

- 噴霧乾燥血しょうたん白はWHOが人体用の血しょうたん白製剤のウイルスの安全性を定めた基準を具体化し、製造されています。

| WHO ガイドライン     | APC 社の血しょうたん白製造基準                                       |
|----------------|---|
| ドナーの選択         | 連邦政府で管理されている食肉加工場                                       |
| 貯蔵されている血しょうを検査 | 製品をPCR検査  |
| ウイルス不活化の製造工程   | 噴霧乾燥工程中は80度<br>液体血しょうたん白に紫外線照射<br>乾燥工程後に熱工程(20度で14日間保管) |

# まとめ

噴霧乾燥血しょうたん白は安全で高品質の飼料原料であり、飼料プログラムで不可欠な原料です。

# 継続的なカイゼン： 製造工場のバイオセキュリティ

*Tom Schmitt*

# 北米血しょうたん白生産拠点



Calgary, Alberta  
Bovine Plasma, Porcine Red Cells  
Separate lines



Verchères, Quebec



Denison, Iowa



Dubuque, Iowa



Sublette, Kansas



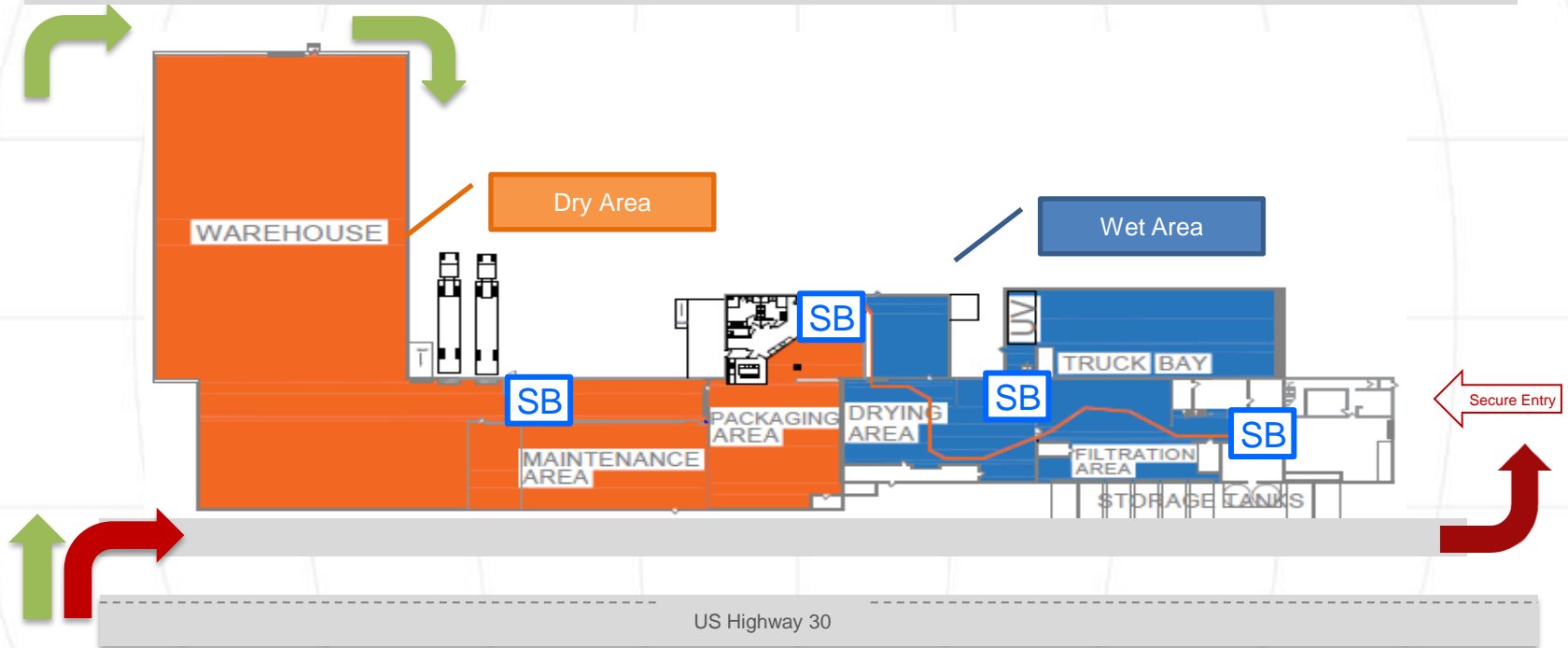
Selma, North Carolina





# APC, Inc. デニス工場

APC, Inc. Denison, Iowa Porcine Plasma Manufacturing Facility



- WET AREA
- DRY AREA
- SB SANITARY BARRIER

工場内のバイオセキュリティは、製品完成後のコンタミを防ぐために設計されています。



APC Denison facility



An LGI Company

**Finished Product Shipping & Receiving**



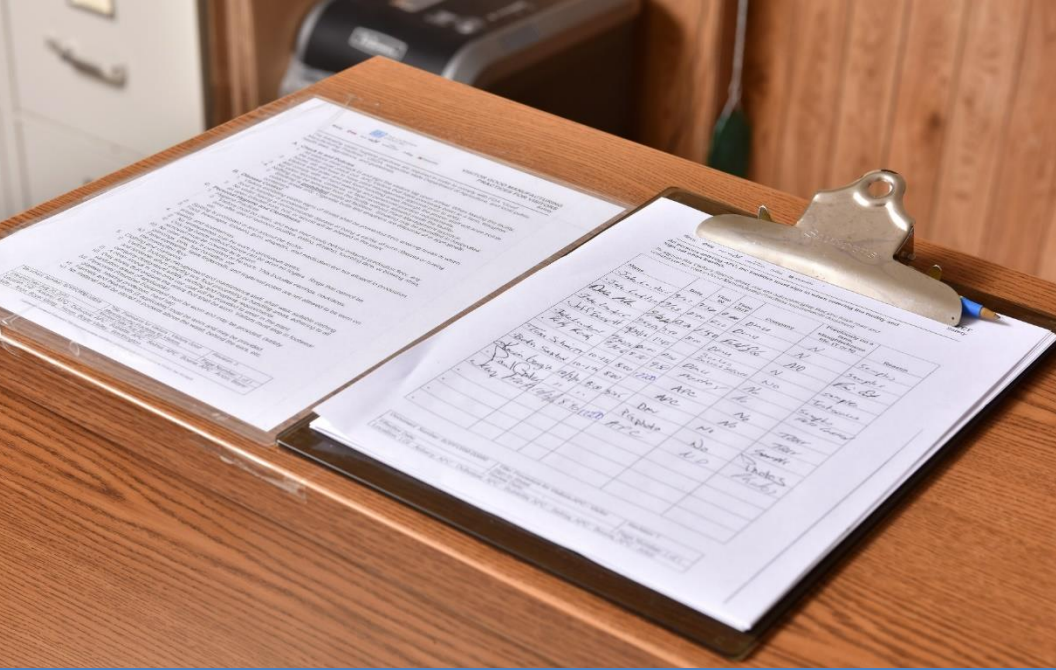
**Raw Material Receiving**



Raw materials and finished goods have separate entry and exit points.



Controlled entry for visitors;  
truck drivers do not enter the facility.



All visitors are logged and must certify they comply with entry rules, including downtime from animal exposure. Visitors must wear provided gear.



**UNIFORM COLOR CODING**  
White Shirt Blue Pant = Raw Wet Product Side  
Light Blue Shirt and Blue Pant = Dry or Finished Product Side  
Management/Maintenance/Quality = Dark Blue Shirt Dark Blue Pants  
Visitors Must wear White Frock in Wet Area and Light Blue in Dry Area

**- VISITORS -**  
-Must Be accompanied by APC personnel  
**Must wear proper PPE**  
- Hard Hat, Hearing Protection, Safety Eyewear, Steel Toe Boots (with plastic cover)  
**Must Wear Frock Over Clothing**  
- White Frock Wet Area - Light Blue Frock Dry Area

Visitors and employees must pass through a sanitary barrier before entering the plant. Uniforms and visitor frocks are color coded to wet / dry areas.



Sanitary Barriers are installed throughout the facility, including:

- From office to wet area
- From unloading bay to processing
- From processing to dry area
- From dry area to exterior loadout





The raw material unloading bay is sanitized before tankers are brought in by the APC shag truck.





Tankers are sanitized prior to unloading.



Tanker seals placed at the packing facility are examined and verified, unloading of raw material is enclosed. Note wet side employees wear white shirts.



Liquid plasma is stored on site in insulated, stainless steel tanks.



All plasma flows through APC's exclusive UV photopurification system. The special design allows for turbulent flow, ensuring all plasma is treated.



Maintenance workers utilize dedicated wet side or dry side tools. Note maintenance and management employees wear dark blue shirts.



CCP of 80° C minimum outlet air temperature is maintained on dryers and is continuously monitored.

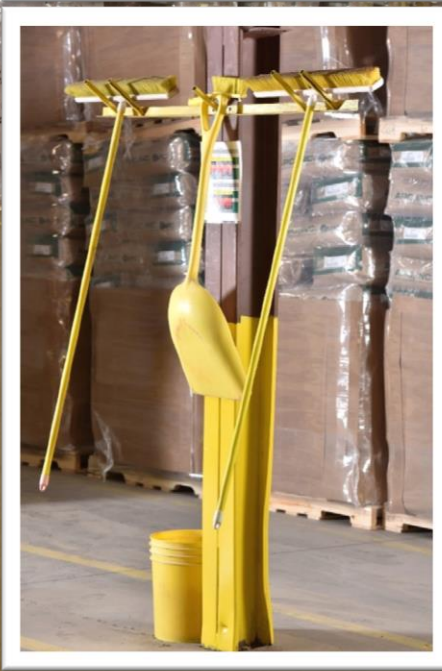


Packaging lines for bagged and bulk product. Note dry side employees wear light blue shirts.



Packaged product is stacked utilizing advanced technology. Only all new packaging materials are used including pallets, totes and bags.





Equipment is designated wet side or dry side including forklifts and cleaning tools.



Packaged material is stored in a controlled environment for 14 days at 20° C.



Product is monitored via probes placed in the middle of material with alarms to assure temperature is maintained throughout the holding period.

Sanitizer is applied to the dock plate prior to loading finished goods out.

