

アカバネ病・イバラキ病・チュウザン病・アイノウイルス 感染症・ピートンウイルス感染症混合（アジュバント加） 不活化ワクチン

平成23年11月15日(告示第2267号)新規追加

アカバネウイルス、イバラキウイルス、カスバウイルス、アイノウイルス及びピートンウイルスをそれぞれ培養細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化し、混合した後、アジュバントを添加したワクチンである。

1 小分製品の試験

1.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法により試験を行い、これに適合しなければならない。

1.2 異常毒性否定試験

一般試験法の異常毒性否定試験法により試験を行い、これに適合しなければならない。

1.3 力価試験

1.3.1 試験材料

1.3.1.1 試験材料

1.3.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

1.3.1.2 試験動物

体重約 350g のモルモットを用いる。

1.3.1.3 中和試験用ウイルス

1.3.1.3.1 アカバネウイルス

HmLu-1 細胞又は適当と認められた細胞で増殖させたアカバネウイルス E-24TC 株を用いる。

1.3.1.3.2 イバラキウイルス

HmLu-1 細胞又は適当と認められた細胞で増殖させたイバラキウイルス IA-1TC 株を用いる。

1.3.1.3.3 カスバウイルス

BHK-21 (C-13) 細胞又は適当と認められた細胞で増殖させたカスバウイルス K-47TC 株を用いる。

1.3.1.3.4 アイノウイルス

HmLu-1 細胞又は適当と認められた細胞で増殖させたアイノウイルス JaNAr28TC 株を用いる。

1.3.1.3.5 ピートンウイルス

HmLu-1 細胞又は適当と認められた細胞で増殖させたピートンウイルス NS/3TC 株を用いる。

1.3.1.4 培養細胞

HmLu-1 細胞及び Vero-T 細胞を小試験管に 1～3 日間培養し、単層となったものを用いる。

1.3.2 試験方法

注射材料 0.5mL ずつを 5 匹の試験動物に 3 週間隔で 2 回筋肉内注射し、第 2 回目の注射後 10 日に得られた各個体の血清について中和試験を行う。

被検血清を非働化した後、ウイルス増殖用培養液（付記）で 2 倍階段希釈する。各希釈血清 0.5mL と 0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液 0.5mL とを等量混合し、アカバネウイルス、イバラキウイルス、アイノウイルス及びピートンウイルスでは 37℃で 60 分間、カスバウイルスでは 90 分間処理する。この各混合液 0.1mL ずつをアカバネウイルス、イバラキウイルス、アイノウイルス及びピートンウイルスではそれぞれ 4 本の HmLu-1 細胞に、カスバウイルスではそれぞれ 4 本

の Vero-T 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を 0.5mL ずつ加え、アカバネウイルス、イバラキウイルス、カスバウイルス及びピートンウイルスは 37℃、アインウイルスは 34～36℃で 7 日間回転培養し、観察する。

1.3.3 判定

培養細胞の 2 本以上に CPE の阻止を認めた血清の最高希釈倍数を中和抗体価とする。

アカバネウイルス及びピートンウイルスでは中和抗体価 16 倍以上、イバラキウイルスでは中和抗体価 2 倍以上、カスバウイルスでは中和抗体価 32 倍以上、アインウイルスでは中和抗体価 8 倍以上を中和抗体陽性とする。

試験動物の中和抗体陽性率は、それぞれのウイルスに対して 80 % 以上でなければならない。

2 中間製品の試験

2.1 不活化試験

2.1.1 試験材料

2.1.1.1 試料

100 倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、それぞれ検体 5 mL ずつを 4℃で 1 夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

2.1.1.2 培養細胞

HmLu-1 細胞及び Vero-T 細胞を培養瓶に 1～3 日間培養し、単層となったものを用いる。

2.1.2 試験方法

2.1.2.1 不活化アカバネウイルス中間製品、不活化アインウイルス中間製品及びピートンウイルス中間製品の試験

それぞれの試料の全量を 1 mL につき 3 cm² 以上の HmLu-1 細胞に接種し、アカバネウイルス及びピートンウイルスでは 37℃で、アインウイルスでは 34℃で 60 分間静置吸着させた後、試料を抜き取り、ウイルス増殖用培養液を加え、アカバネウイルス及びピートンウイルスでは 37℃で、アインウイルスでは 34～36℃で 7 日間培養し、観察する。

2.1.2.2 不活化イバラキウイルス中間製品の試験

試料の全量を 1 mL につき 3 cm² 以上の HmLu-1 細胞に接種し、37℃で 60 分間静置吸着させた後、試料を抜き取り、ウイルス増殖用培養液を加え、37℃で 5 日間培養した後、細胞を次代に継代する。単層形成後に培養液を抜き取り、ウイルス増殖用培養液を加え、37℃で 5 日間培養した後、更に次代に継代し、2 代目と同様の方法で培養し、観察する。

2.1.2.3 不活化カスバウイルス中間製品の試験

試料の全量を 1 mL につき 3 cm² 以上の Vero-T 細胞に接種し、34℃で 60 分間静置吸着させた後、試料を抜き取り、ウイルス増殖用培養液を加え、34～36℃で 5 日間培養した後、細胞を次代に継代する。単層形成後に培養液を抜き取り、ウイルス増殖用培養液を加え、34～36℃で 5 日間培養した後、更に次代に継代し、2 代目と同様の方法で培養し、観察する。

2.1.3 判定

培養細胞に CPE を認めない場合、活性ウイルス陰性と判定する。

それぞれの検体に活性ウイルスを認めてはならない。

付記 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
グルタミン酸ナトリウム	5.0 g
ブドウ糖	1.0 g
酵母エキス	0.5 g
牛血清	10～20 mL

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。

牛血清は、アカバネウイルス、イバラキウイルス、カスバウイルス、アイノウイルス及びピー
トンウイルスに対する中和抗体陰性のものを用いる。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。