

# アカバネ病（アジュバント加）不活化ワクチン

アカバネ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、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 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

HmLu-1細胞で増殖させたアカバネウイルス JaGAr39株を用いる。

##### 1.3.1.4 培養細胞

HmLu-1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7日目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1）で2倍階段希釈する。各希釈血清0.5mL と0.1mL 中約200TCID<sub>50</sub>の中和試験用ウイルス液0.5mL とを等量混合し、37℃で60分間処理する。この各混合液0.1mL ずつをそれぞれ4本の培養細胞に接種し、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、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。

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、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、検体5 mL を4℃で一夜透析し、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。

#### 2.1.2 試験方法

試料の全量を1 mL につき3 cm<sup>2</sup>以上の培養細胞に接種し、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、34℃で7日間培養し、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。

検体に活性ウイルスを認めてはならない。

付記 1 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       | 4.0 g  |
| ブドウ糖              | 1.0 g  |
| 酵母エキス             | 0.5 g  |
| 牛血清               | 10 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。