

ゲタウイルス感染症不活化ワクチン

1 定義

ゲタウイルスを培養細胞で増殖させて得たウイルス液を濃縮後、不活化したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

ゲタウイルス MI-110 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

馬に接種すると発熱、発疹及び浮腫などの症状を示す。

馬、牛、豚及び猿由来の培養細胞で CPE を伴って増殖し、がちょう赤血球を凝集する。

2.1.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、Vero 細胞又は適当と認められた培養細胞で継代する。

継代は、原株では 3 代以内、種ウイルスは 2 代以内でなければならない。

原株及び種ウイルスは、凍結して - 70 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 培養細胞

EFD-C₁ 細胞又は製造に適当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

2.3 原液

2.3.1 細胞の培養

1 回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。

個別培養細胞について、3.1 の試験を行う。

2.3.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルスの増殖極期に個別培養細胞ごとに採取した培養液のろ液、遠心上清又はこれを濃縮したものをウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.2 の試験を行う。

2.3.3 不活化

ウイルス浮遊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、不活化したものを不活化ウイルス液とする。

不活化ウイルス液について、3.3 の試験を行う。

2.3.4 原液

不活化ウイルス液を混合したものを原液とする。

原液について、3.4 の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液を混合し、最終バルクとする。

2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、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 培養細胞の試験

個別培養細胞の 1 % 以上を対照培養細胞とし、これについて次の試験を行う。

3.1.1 培養観察

対照培養細胞を、ウイルスを接種することなく、37℃ で7日間培養し、観察するとき、CPE を認めてはならない。

3.1.2 赤血球吸着試験

3.1.1 の試験最終日に培養液を除き、リン酸緩衝食塩液で細胞表面を2回洗浄後、2群に分け、生理食塩液で調整した0.1vol%のモルモット及びがちょうの赤血球浮遊液をそれぞれに重層し、60分間静置後、赤血球吸着の有無を観察するとき、培養細胞に赤血球吸着を認めてはならない。

3.2 ウイルス浮遊液の試験

3.2.1 ウイルス含有量試験

3.2.1.1 試験材料

3.2.1.1.1 試料

検体をウイルス増殖用培養液（付記1）で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.1.1.2 培養細胞

Vero T細胞を小試験管に1～2日間培養し、単層となったものを用いる。

3.2.1.2 試験方法

試料0.1mLずつを、それぞれ4本以上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、37℃ で7日間回転培養し、観察する。

3.2.1.3 判定

培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。

検体のウイルス含有量は、1mL中10^{7.5}TCID₅₀以上でなければならない。

3.3 不活化ウイルス液の試験

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。

3.3.2 不活化試験

3.3.2.1 試験材料

3.3.2.1.1 試料

検体5mLを、100倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、2～5℃ で一夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

3.3.2.1.2 培養細胞

Vero T細胞を培養びんで1～3日間培養し、単層となったものを用いる。

3.3.2.2 試験方法

試料の全量を1mLにつき3cm²以上の培養細胞に接種し、37℃ で90分間吸着させた後、試料を抜き取り、ウイルス増殖用培養液を加え、37℃ で10日間培養し、観察する。

観察最終日の培養液を小試験管4本以上に0.5mLずつ採取し、これに等量の牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液（付記2）を加え、この混合液にVAD6.2液（付記3）で洗浄調整した0.33vol%のがちょう赤血球浮遊液を1.0mLずつ加え、常温で60分間静置後、赤血球凝集の有無を観察する。

3.3.2.3 判定

培養細胞にCPEを認めず、培養液にがちょう赤血球凝集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。

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均質な懸濁液でなければならない。異物又は異臭を認めてはならない。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、0.1vol%以下でなければならない。

3.5.5 蛋白窒素定量試験

一般試験法の蛋白窒素定量法を準用して試験するとき、蛋白窒素の含有量は、1 mL 中 200 μ g 以下でなければならない。

3.5.6 異常毒性否定試験

一般試験法の異常毒性否定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。

3.5.7 力価試験

3.5.7.1 試験材料

3.5.7.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.7.1.2 試験動物

約 6 週齢のハムスターを用いる。

3.5.7.1.3 培養細胞

Vero T 細胞を小試験管又は 48 穴マイクロプレートに培養し、単層となったものを用いる。

3.5.7.1.4 中和試験用ウイルス

Vero 細胞で増殖させたゲタウイルス AMM-2021 株を用いる。

3.5.7.2 試験方法

試験動物 10 匹を試験群、2 匹を対照群とする。注射材料 1 mL ずつを試験群の皮下に注射し、注射後 21 日目に得られた各個体の血清について中和試験を行う。

試験群及び対照群の血清は、それぞれ 2 匹分ずつ等量混合し、非働化する。非働化血清をウイルス増殖用培養液で 2 倍階段希釈する。各希釈血清と 0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、37℃ で 60 分間処理する。各混合液 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）の培養細胞に接種し、37℃ で 90 分間静置した後、ウイルス増殖用培養液を 0.5mL ずつ加え、37℃ で 7 日間回転培養し、観察する。

3.5.7.3 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。抗体価 2 倍以上を中和抗体陽性と判定する。

試験群血清の 80 % 以上が中和抗体陽性でなければならない。この場合、対照群では、2 倍未満でなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、1 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 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

牛胎子血清又はやぎ血清 10 mL
イーグル MEM 残 量

炭酸水素ナトリウムで pH を 7.4 ~ 7.6 に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

不活化試験には、組成中の牛胎子血清を牛血清アルブミン 200mg と入れ替えた培養液を用いる。

付記 2 牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液

1,000mL 中

塩化ナトリウム 7.01 g

ホウ酸 3.09 g

水酸化ナトリウム 0.96 g

ゼラチン 0.01 g

水 残 量

牛血清アルブミンを 0.4w/v%濃度に加えたのち、水酸化ナトリウム液で pH を 9.0 に調整する。

付記 3 VAD6.2 液

1,000mL 中

塩化ナトリウム 20.45 g

リン酸水素二ナトリウム十二水和物 20.06 g

リン酸二水素ナトリウム二水和物 22.47 g

水 残 量

牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液と等量混合して pH を 6.2 に調整する。