

日本脳炎精製不活化ワクチン

1 定義

日本脳炎ウイルスをマウスの脳で増殖させて得た脳乳剤を精製し、そのウイルス液を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

日本脳炎ウイルス中山株薬検系又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

マウスの脳内に注射すると、死亡する。豚腎初代細胞で増殖し、がちょう、鶏初生ひな及びはとの赤血球を凝集する。

2.1.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、マウスの脳で継代する。

継代は、原株では3代以内、種ウイルスでは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 動物

生後3～4週のマウスを用いる。

2.3 原液

2.3.1 ウイルスの培養

種ウイルスをマウス脳内に接種し、マウスの発症極期に脳を採取して、リン酸緩衝食塩液で乳剤とする。乳剤の遠心上清をウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.1の試験を行う。

2.3.2 精製及び不活化

個体別ウイルス浮遊液を適当と認められた方法により精製し、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、精製不活化ウイルス液とする。

精製不活化ウイルス液について、3.2の試験を行う。

2.3.3 原液の調製

精製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、3.3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。

この場合、適当と認められた保存剤を加えてもよい。

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、3.4の試験を行う。

3 試験法

3.1 ウイルス浮遊液の試験

3.1.1 ウイルス含有量試験

3.1.1.1 試験材料

3.1.1.1.1 試料

検体を適当と認められた希釈用液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.1.1.1.2 動物

3 週齢のマウスを用いる。

3.1.1.2 試験方法

試料 0.03mL をそれぞれ 4 匹以上のマウスの脳内に接種し、14 日間観察する。

3.1.1.3 判定

脳炎症状を示して死亡したマウスを感染とみなし、LD₅₀ を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL 中 10^{7.5}LD₅₀ 以上でなければならない。

3.2 精製不活化ウイルス液の試験

3.2.1 不活化試験

3.2.1.1 試験材料

3.2.1.1.1 接種材料

検体を接種材料とする。

3.2.1.1.2 試験動物

3 週齢のマウスを用いる。

3.2.1.2 試験方法

接種材料 0.03mL を 10 匹の試験動物の脳内に接種し、14 日間観察する。

3.2.1.3 判定

脳炎症状を示した試験動物を認めない場合、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。

3.3 原液の試験

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。

3.4 小分製品の試験

3.4.1 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液体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。

3.4.2 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。

3.4.3 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。

3.4.4 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、0.2vol % 以下でなければならない。

3.4.5 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。

3.4.6 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、1mL 中 20 μg 以下でなければならない。

3.4.7 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。

3.4.8 力価試験

3.4.8.1 試験材料

3.4.8.1.1 注射材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で 10 倍に希釈したものを注射材料とする。

3.4.8.1.2 試験動物

2～3週齢のマウスを用いる。

3.4.8.2 攻撃ウイルス

日本脳炎ウイルス中山株薬検系又は適当と認められた株（付記1）を用いる。

3.4.8.3 試験方法

試験動物 30 匹を試験群、60 匹を対照群とする。

試験第1日及び第4日に注射材料 0.1mL ずつを試験群の腹腔内に注射する。試験第8日に試験群及び対照群それぞれ 30 匹に攻撃ウイルス 0.2mL ずつを腹腔内に注射する。更に、対照群 30 匹を 10 匹ずつ 3 群に分け、各群に攻撃ウイルスを 10 倍、100 倍及び 1,000 倍に希釈したものを 0.2mL ずつを腹腔内に注射する。

試験群及び対照群について、14 日間観察する。

3.4.8.4 判定

脳炎症状を示して死亡した試験動物及び生き残っても脳炎症状を示している試験動物を死亡したものとみなし、各群の死亡率及び攻撃ウイルスの LD_{50} を算出する。

試験群の耐過率は、40 %以上でなければならない。この場合、攻撃ウイルスを接種した対照群の死亡率は 90 %以上、また、攻撃ウイルスのウイルス量は、0.2mL 中 $10^3 LD_{50}$ 以下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 攻撃ウイルス

日本脳炎ウイルスを生後 3～4 週齢のマウスの脳内に注射し、発症極期に採脳し、リン酸緩衝食塩液又は適当と認められた液で 10 倍乳剤とし、これを 2,000rpm で 5 分間遠心した上清を攻撃ウイルスとする。