

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部の日本脳炎（アジュバント加）不活化ワクチンの項を次のように改める。

日本脳炎（アジュバント加）不活化ワクチン

1 定義

日本脳炎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、アルミニウムゲルアジュバントを添加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

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、マウスの脳又は生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞で継代する。

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°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 培養細胞

豚腎継代細胞を用いる。

2.2.2 培養液

製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液を用いる。

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、ウイルスの増殖終末期に個別培養細胞ごとに採取した培養液のろ液、遠心上清又はこれら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

ウイルス浮遊液に製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた不活化剤を加えて不活化し、必要に応じて濃縮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、製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めたアルミニウムゲルアジュバントを加えて、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

原液又は複数の原液を混合し、最終バルクとする。

この場合、製剤ごとに農林水産大臣が適当と認め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、3.5 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、ウイルスの培養と同じ条件で培養する。

対照培養細胞をプールし、4本以上の培養びん及びカバーグラスを入れた4枚以上のシャーレに継代し、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びんの培養液を除き、リン酸緩衝食塩液で細胞表面を2回洗浄後、3群に分け、0.1vol%のモルモット、がちょう及び7日齢以内の鶏の赤血球浮遊液を重層し、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

製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた細胞を小試験管に培養し、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1mLを加え、37℃で7日間培養し、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^{5.0}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 注射材料

検体を注射材料とする。

3.3.2.1.2 試験動物

3日齢以内の乳のみマウスを用いる。

3.3.2.2 試験方法

注射材料0.02mLを10匹の試験動物の脳内に注射し、14日間観察する。

3.3.2.3 判定

脳炎症状を示して死亡した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。

3.4 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。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 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。

3.5.5 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。

3.5.6 アルミニウム定量試験

一般試験法のアルミニウム定量法を準用して試験するとき、アルミニウムの含有量は、1 mL 中 1.0mg 以下でなければならない。

3.5.7 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。

3.5.8 力価試験

3.5.8.1 試験材料

3.5.8.1.1 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。

3.5.8.1.2 試験動物

2～3 週齢のマウスを用いる。

3.5.8.2 攻撃ウイルス

攻撃用ウイルス（付記 2）を用いる。

3.5.8.3 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 日目及び第 4 日目に、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 日目に、試験群及び対照群のそれぞれ 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。

3.5.8.4 判定

脳炎症状を示して死亡した動物及び生き残っても脳炎症状を示している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 LD₅₀ 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、攻撃ウイルスを注射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^{3.0}LD₅₀ 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 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

又はラクトアルブミン水解物	5.0 g
牛血清	20 ~ 50 mL
イーグル MEM 又はアール液	残 量

炭酸水素ナトリウムで pH を 7.0 ~ 7.4 に調整する。
必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 2 攻撃ウイルス

日本脳炎ウイルス中山株葉検系を生後 3 ~ 4 週齢のマウスの脳内に接種し、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希釈液で 10 倍乳剤とする。これを遠心した上清を攻撃ウイルスとする。