

イリドウイルス病不活化ワクチン

平成21年11月12日(告示第1569号) 新規追加

平成23年11月15日(告示第2266号) 一部改正

平成29年11月7日(告示第1701号) 一部改正

1 定義

マダイイリド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たワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

マダイイリドウイルスEhime-1/GF14株又はこれと同等の免疫原性を有すると認められた株

2.1.2 性状

GF細胞でCPEを伴って増殖、イリドウイルス感染症に対する免疫原性を有する。

2.1.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、GF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2代以内、種ウイルスでは3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

GF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する。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、個別培養細胞ごとに採取した培養液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、3.2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製造に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。不活化ウイルス液を原液としてもよい。

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原液としなかったものについて、複数の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

原液又は複数の原液を混合したものを濃度調整して最終バルクとする。

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

個体別培養細胞の5%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、25℃で7日間隔で2代まで継代培養し、観察するとき、いずれの継代においてもCPEを認めてはならない。

3.2 ウイルス浮遊液の試験

3.2.1 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。

3.2.2 ウイルス含有量試験

3.2.2.1 試験材料

3.2.2.1.1 試料

検体をウイルス含有量試験用培養液（付記1）又は細胞培養用培地（付記2）で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.2.1.2 培養細胞

GF細胞をウイルス含有量試験用培養液に約20万個/mLの濃度で浮遊させ、24穴のプレートに1 mLずつ、又は96穴プレートに0.1 mLずつ接種したものをを用いる。

3.2.2.2 試験方法

試料0.1 mLずつを、それぞれ4穴以上の培養細胞に接種し、25℃で14日間培養して、CPEの有無を観察する。

3.2.2.3 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、1 mL中10^{6.0}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 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。

3.3.2.1.2 培養細胞

GF細胞を細胞培養用培地に約20万個/mLの濃度で浮遊させたものをを用いる。

3.3.2.2 試験方法

試料の全量を100 mL以上の培養細胞に接種し、25℃で7日間培養した後、その培養細胞をEDTA・トリプシン液で処理して細胞を分散し、細胞培養用培地に再浮遊し、更に25℃で7日間培養する。

3.3.2.3 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。

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。

3.4.2 不活化試験

3.3.2を実施するものについては、本試験を実施しなくてもよい。

3.4.2.1 試験材料

3.4.2.1.1 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。

3.4.2.1.2 培養細胞

GF細胞を不活化試験用培養液（付記 3）に約20万個/mLの濃度で浮遊させたものを用いる。

3.4.2.2 試験方法

試料の全量を100mL以上の培養細胞に接種し、25℃で7日間培養した後、その培養細胞をEDTA・トリプシン液で処理して細胞を分散し、不活化試験用培養液に再浮遊し、更に25℃で7日間培養する。

3.4.2.3 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。

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液剤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

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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのホルマリン含有量以下とする。

3.5.5 安全試験

3.5.5.1又は3.5.5.2のいずれかの試験を行う。

3.5.5.1 安全試験 1

3.5.5.1.1 試験材料

3.5.5.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.5.1.1.2 試験動物

水温22～28℃、循環式で7日間以上飼育し、異常のないことを確認した体重5～15gのまだい180尾以上を用いる。

3.5.5.1.2 試験方法

試験動物は24時間餌止めした後、1群90尾以上ずつの2群に分ける。1群の試験動物に、注射材料0.1mLずつを腹腔内に注射し、試験群とする。他の1群を対照群とする。それぞれ水温22～28℃、循環式で飼育し、10日間観察する。

3.5.5.1.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。

3.5.5.2 安全試験 2

3.5.5.2.1 試験材料

3.5.5.2.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.5.2.1.2 試験動物

水温22～28℃、循環式で7日間以上飼育し、異常のないことを確認した体重5～50gのまがい180尾以上を用いる。

3.5.5.2.2 試験方法

試験動物は24時間以上餌止めした後、1群90尾以上ずつの2群に分ける。1群の試験動物に、注射材料0.1mLずつを筋肉内に注射し、試験群とする。他の1群は対照群とし、試験群と同様の方法でリン酸緩衝食塩液を注射する。それぞれ水温22～28℃、循環式で飼育し、10日間観察する。

3.5.5.2.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。

3.5.6 力価試験

3.5.6.1 試験材料

3.5.6.1.1 試験動物

3.5.5.1又は3.5.5.2の試験に用いた動物を用いる。

3.5.6.1.2 攻撃用ウイルス液

マダイイリドウイルス強毒株（付記4）の培養ウイルス液を希釈液（付記5）で10倍階段希釈し、対照群の死亡率が80%と予測される希釈とその前後の希釈の3段階の希釈ウイルス液を攻撃用ウイルス液とする。

3.5.6.2 試験方法

3.5.5.1又は3.5.5.2の試験最終日の前日から24時間餌止めした試験群及び対照群をそれぞれ30尾以上の3群ずつに分け、それぞれの攻撃用ウイルス液0.1mLを腹腔内に注射して攻撃し、14日間観察して各群の生死を調べる。

3.5.6.3 判定

対照群の60%以上が死亡した攻撃用ウイルスの希釈段階のうち、少なくとも1段階において試験群の生残率が対照群のそれより40%以上高い値を示さなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は1年6か月間とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その期間とする。

付記1 ウイルス含有量試験用培養液

1,000mL中

牛胎子血清 100mL

MEM 非必須アミノ酸溶液（100倍濃縮液） 10mL

イーグルMEM 残量

炭酸水素ナトリウムでpHを7.8～8.6に調整する。

必要最小量の抗生物質を加えてもよい。

付記2 細胞培養用培地

1,000mL中

牛胎子血清 50～100mL

イーグル ダルベッコMEM 残量

炭酸水素ナトリウムでpHを7.0～7.6に調整する。

必要最小量の抗生物質を加えてもよい。

付記3 不活化試験用培養液

1,000mL中
牛胎子血清 100mL
MEM 非必須アミノ酸溶液（100倍濃縮液） 10mL
イーグルMEM 残量
炭酸水素ナトリウムでpHを7.0～7.8に調整する。
必要最小量の抗生物質を加えてもよい。

付記4 マダイイリドウイルス強毒株
マダイイリドウイルスEhime-1/CV株又はこれと同等以上の毒力を有する株

付記5 希釈液
1,000mL中
牛胎子血清 100mL
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。