

# イバラキ病生ワクチン（シード）

平成22年 7月12日（告示第1038号） 新規追加  
令和 2年 6月30日（告示第1246号） 一部改正

## 1 定義

シードロット規格に適合した弱毒イバラキウイルスを同規格に適合した初代細胞で増殖させて得たウイルス液を凍結乾燥したワクチンである。

## 2 製法

### 2.1 製造用株

#### 2.1.1 名称

弱毒イバラキウイルスNo. 2 株又はこれと同等と認められた株

#### 2.1.2 性状

牛腎継代細胞、鶏胚初代細胞及びHmLu-1細胞でCPEを伴って増殖する。

#### 2.1.3 マスターシードウイルス

##### 2.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードウイルスは、SPF動物規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞又は適当と認められた細胞で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシードウイルスは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

マスターシードウイルスについて、3.1.1の試験を行う。

マスターシードウイルスは、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシードウイルスから小分製品までの最高継代数は、5代以内でなければならない。

#### 2.1.4 ワーキングシードウイルス

##### 2.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、SPF動物規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞又は適当と認められた細胞で増殖及び継代する。

ワーキングシードウイルスは、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

ワーキングシードウイルスについて、3.1.2の試験を行う。

#### 2.1.5 プロダクションシードウイルス

##### 2.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、SPF動物規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞又は適当と認められた細胞で増殖する。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

プロダクションシードウイルスを保存する場合について、3.1.3の試験を行う。

## 2.2 製造用材料

### 2.2.1 初代細胞

SPF動物規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞又は製造に適当と認められた細胞を用いる。

### 2.2.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

### 2.2.3 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）

#### 2.2.3.1 増殖、継代及び保存

マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）は、2.2.2の培養液で増殖し、継代及び保存しない。

マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）について、3.2の試験を行う。

### 2.3 原液

#### 2.3.1 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）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。ウイルス接種前の個別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、3.3の試験を行う。

#### 2.3.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを2.3.1の細胞で培養し、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又は遠心上清を混合し、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

原液に相当と認められた安定剤を加えて混合し、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、凍結乾燥し、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 製造用株の試験

#### 3.1.1 マスターシードウイルスの試験

##### 3.1.1.1 同定試験

シードロット規格の1.4.2.1.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

##### 3.1.1.2 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。

##### 3.1.1.3 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ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。

##### 3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

###### 3.1.1.4.1 共通ウイルス否定試験

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、2.1及び2.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

###### 3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験

###### 3.1.1.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験

牛RSウイルス、ブルータングウイルス及び鶏脳脊髄炎ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、3.1.1及び3.1.2を準用して試験をするとき、適合しなければならない。ただし、鶏脳脊髄炎ウイルスについて3.1.1.4.2.2に規定する試験を実施する製剤については、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の3.1.2の試験を実施しなくてもよい。

###### 3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

鶏白血病ウイルス、細網内皮症ウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、牛伝染性リンパ腫ウイルス、日本脳炎ウイルス、狂犬病ウイルス及び鶏脳脊髄炎ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、3.2.1、3.2.2、3.2.5、3.2.7、3.2.8、3.2.9及び3.2.10を準用して試験をするとき、適合しなければならない。ただし、鶏脳脊髄炎ウイルスについて3.1.1.4.2.1に規定する試験を実施する製剤については、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の3.2.10の試験を実施しなくてもよい。

#### 3.1.1.5 対象動物を用いた免疫原性試験

一般試験法の対象動物を用いた免疫原性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。

#### 3.1.1.6 対象動物を用いた安全性確認試験

一般試験法の対象動物を用いた安全性確認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。

#### 3.1.1.7 病原性復帰確認試験

一般試験法の病原性復帰確認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。

### 3.1.2 ワーキングシードウイルスの試験

#### 3.1.2.1 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。

#### 3.1.2.2 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ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。

### 3.1.3 プロダクションシードウイルスの試験

#### 3.1.3.1 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。

#### 3.1.3.2 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ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。

### 3.2 初代細胞の試験

#### 3.2.1 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）の試験

##### 3.2.1.1 培養性状試験

シードロット規格の2.2.4.2.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

##### 3.2.1.2 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。

##### 3.2.1.3 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ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。

### 3.3 培養細胞の試験

静置培養の場合は、個体別培養細胞の1%以上を、ファーメンター培養の場合は、個体別培養細胞の1vol%以上又は500mL以上を対照培養細胞とし、これについて次の試験を行う。

#### 3.3.1 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し、観察するとき、CPEを認めてはならない。

#### 3.3.2 赤血球吸着試験

3.3.1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、生理食塩液で調整した0.1vol%の鶏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。

### 3.4 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 ウイルス含有量試験

##### 3.4.2.1 試験材料

###### 3.4.2.1.1 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。

###### 3.4.2.1.2 培養細胞

牛腎継代細胞又は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。

###### 3.4.2.2 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、34～36℃で7日間回転培養し、観察する。

#### 3.4.2.3 判定

培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID<sub>50</sub>を算出する。検体のウイルス含有量は、1 mL中10<sup>6.0</sup>TCID<sub>50</sub>以上でなければならない。

### 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乾燥物でなければならない。溶解したものは、固有の色調を有する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。

#### 3.5.2 真空度試験

一般試験法の真空度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。

#### 3.5.3 含湿度試験

一般試験法の含湿度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 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。

#### 3.5.5 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ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。

ただし、原液を含む中間工程でマイコプラズマ否定試験を実施する場合には、本試験の実施を省略することができる。

#### 3.5.6 ウイルス含有量試験

3.4.2を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり10<sup>3.5</sup>TCID<sub>50</sub>以上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 安全試験

##### 3.5.8.1 試験材料

###### 3.5.8.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

###### 3.5.8.1.2 試験動物

体重100～200kgの牛を用いる。

##### 3.5.8.2 試験方法

注射材料1頭分を1頭の試験動物の皮下に注射し、14日間観察する。

##### 3.5.8.3 判定

観察期間中、軽い発熱（40.5℃以下）を認めても3日間以上継続せず、その他の異常を認めてはならない。

#### 3.5.9 力価試験

##### 3.5.9.1 試験材料

###### 3.5.9.1.1 試験動物

3.5.8の試験に用いた動物を用いる。

###### 3.5.9.1.2 中和試験用ウイルス

牛腎継代細胞で増殖させたイバラキウイルスNo.2株を用いる。

###### 3.5.9.1.3 培養細胞

牛腎継代細胞又は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。

##### 3.5.9.2 試験方法

3.5.8の試験終了後、7日目に得られた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、37℃で7日間回転培養し、観察する。

#### 3.5.9.3 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。

試験動物の中和抗体価は、2倍以上でなければならない。

#### 4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後1年3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 ウイルス増殖用培養液

1,000mL 中

ラクトアルブミン水解物	5 g
酵母エキス	1 g
ハンクス液又はイーグル MEM	残 量

炭酸水素ナトリウムでpHを7.2～7.6に調整する。

イバラキウイルスに対する中和抗体陰性の牛血清又は山羊血清を1～2vol%となるように加えてもよい。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。