

牛流行熱（アジュバント加）不活化ワクチン（シード）

平成 23 年 11 月 15 日 (告示第 2266 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牛流行熱ウイルスを同規格に適合した株化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

牛流行熱ウイルス YHL 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

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、HmLu-1 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°C 以下又は凍結乾燥して 5°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、HmLu-1 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°C 以下又は凍結乾燥して 5°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、HmLu-1 細胞で増殖させる。

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°C 以下又は凍結乾燥して 5°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は、3.1.3 の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 株化細胞

HmLu-1 細胞を用いる。

2.2.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.3 マスターセルシード

2.2.3.1 作製、保存及びプロダクションセルシードまでの最高継代数

マスターセルシードは、2.2.2 の培養液で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターセルシードは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して -70°C 以下で保存する。

マスターセルシードについて、3.2.1 の試験を行う。

マスターセルシードは、ワクチンの製造又は試験以外の目的で継代しない。マスターセルシードからプロダクションセルシードまでの最高継代数は、20代以内でなければならない。

2.2.4 ワーキングセルシード

2.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.2 の培養液で増殖及び継代する。

ワーキングセルシードは、凍結して -70°C 以下で保存する。

ワーキングセルシードについて、3.2.2 の試験を行う。

2.2.5 プロダクションセルシード

2.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.2 の培養液で増殖させる。

プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して -70°C 以下で保存する。

プロダクションセルシードを保存する場合は、3.2.3 の試験を行う。

2.3 原液

2.3.1 プロダクションセルシードの培養

1回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前のプロダクションセルシードに異常を認めてはならない。

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採取した培養液のろ液又は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、3.3 の試験を行う。

2.4 不活化

ウイルス浮遊液にホルマリンを 0.2vol % となるように加える方法又は適当と認められた方法によりウイルス浮遊液を不活化し、不活化ウイルス液とする。

不活化ウイルス液について、3.4 の試験を行う。

2.5 原液

不活化ウイルス液に適当と認められたアルミニウムゲルアジュバントを添加し、原液とする。

なお、適当と認められた保存剤を加えてもよい。

原液について、3.5 の試験を行う。

2.6 最終バルク

原液を混合し、最終バルクとする。

2.7 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、3.6 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 1.4.2.3.1.1.2 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

リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス、牛RSウイルス及びブルータングウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.1 及び 3.1.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

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、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.1、3.2.5、3.2.7、3.2.8 及び 3.2.9 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 株化細胞の試験

3.2.1 マスタ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 2.1.4.2.1.1 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 起源動物種同定試験

シードロット規格の 2.1.4.2.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.3 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。

3.2.1.4 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。

3.2.1.5 外来性ウイルス否定試験

3.2.1.5.1 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 1.2、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。

3.2.1.5.2 特定ウイルス否定試験

3.2.1.5.2.1 特定ウイルス否定一般試験

リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス、牛RSウイルス及びブルータングウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.2 及び 3.1.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.5.2.2 個別ウイルス否定試験

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、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.2、3.2.5、3.2.7、3.2.8 及び 3.2.9 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.6 核学的（染色体）性状試験

シードロット規格の 2.1.4.2.1.6 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.7 腫瘍形成性／腫瘍原性試験

シードロット規格の 2.1.4.2.1.7 を準用するとき、適合しなければならない。

3.2.2 ワーキングセルシードの試験

3.2.2.1 培養性状試験

シードロット規格の 2.1.4.2.2.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2.2 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。

3.2.2.3 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。

3.2.3 プロダクションセルシードの試験

3.2.3.1 培養性状試験

シードロット規格の 2.1.4.2.3.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.3.2 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。

3.2.3.3 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 ウイルス浮遊液の試験

3.3.1 ウイルス含有量試験

3.3.1.1 試験材料

3.3.1.1.1 試料

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

3.3.1.1.2 培養細胞

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。

3.3.1.2 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、34℃で 7 日間回転培養し、観察する。

3.3.1.3 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、1 mL 中 10^{5.0}TCID₅₀以上でなければならない。

3.4 不活化ウイルス液の試験

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

3.4.2.1 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

HmLu-1 細胞を培養瓶で 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

試料の全量を 1 mL につき 3 cm² 以上の培養細胞に接種し、34℃ で 60 分間静置吸着させた後、試料を抜き取り、ウイルス増殖用培養液を加え、34℃ で 7 日間培養し、観察する。

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 原液の試験

3.5.1 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。

3.6 小分製品の試験

3.6.1 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ず、異物及び異臭を認めてはならない。また、小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

3.6.2 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。

3.6.3 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。

3.6.4 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。

3.6.5 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。

3.6.6 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 mg 以下でなければならない。

ただし、水酸化アルミニウムゲルの場合は、1 mL 中 5 mg 以下でなければならない。

3.6.7 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。

3.6.8 力価試験

3.6.8.1 試験材料

3.6.8.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.6.8.1.2 試験動物

約4週齢のマウスを用いる。

3.6.8.1.3 中和試験用ウイルス

HmLu-1細胞で増殖させた牛流行熱ウイルス YHL株を用いる。

3.6.8.1.4 培養細胞

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。

3.6.8.2 試験方法

注射材料 0.5mLずつを20匹の試験動物に2週間隔で2回筋肉内注射し、第2回目の注射後7日目に得られた血清について中和試験を行う。

マウス血清は、任意に4匹分ずつプールし、5プールを用いる。

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200TCID₅₀の中和試験用ウイルス液 0.5mLとを混合し、34℃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、34℃で7日間回転培養し、観察する。

3.6.8.3 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。

中和抗体価2倍以上を中和抗体陽性とする。

プール血清の中和抗体陽性率は、80%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2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 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
ブドウ糖	1.0 g
酵母エキス	0.5 g
牛血清	5～20 mL
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。

牛血清は、牛流行熱ウイルスに対する中和抗体陰性のものを用いる。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。