

アカバネ病・チュウザン病・アイノウイルス感染症 ・ピートンウイルス感染症混合（アジュバント加） 不活化ワクチン（シード）

令和2年8月28日（告示第1689号）新規追加

1 定義

シードロット規格に適合したアカバネウイルス、カスバウイルス、アイノウイルス及びピートンウイルスをそれぞれ同規格に適合した培養細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化し、混合した後、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 アカバネウイルス

2.1.1.1 名称

アカバネウイルスE-24株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

牛腎初代培養細胞、豚腎初代培養細胞、HmLu-1細胞、HmLu-SC細胞及びVero細胞でCPEを伴って増殖する。

2.1.1.3 マスターシードウイルス

2.1.1.3.1 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°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。

2.1.1.4 ワーキングシードウイルス

2.1.1.4.1 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°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。

2.1.1.5 プロダクションシードウイルス

2.1.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、HmLu細胞又は適当と認められた細胞で増殖させる。

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。

2.1.2 カスバウイルス

2.1.2.1 名称

カスバウイルスK-47株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

子牛の脳内に接種すると、発熱、食欲不振、白血球減少、次いで神経症状を示す。

BHK-21細胞、BHK-SC細胞、HmLu-1細胞、HmLu-SC細胞及びVero-T細胞でCPEを伴って増殖する。

2.1.2.3 マスターシードウイルス

2.1.2.3.1 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℃以下又は凍結乾燥して5℃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。

2.1.2.4 ワーキングシードウイルス

2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、HmLu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℃以下又は凍結乾燥して5℃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。

2.1.2.5 プロダクションシードウイルス

2.1.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、HmLu細胞又は適当と認められた細胞で増殖させる。

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℃以下又は凍結乾燥して5℃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。

2.1.3 アイノウイルス

2.1.3.1 名称

アイノウイルスJaNAr28株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

牛の静脈内に接種すると、ウイルス血症を認めるが、発熱などの臨床症状は認められない。

BHK-21細胞、HmLu-1細胞、HmLu-SC細胞及びVero細胞でCPEを伴って増殖する。

2.1.3.3 マスターシードウイルス

2.1.3.3.1 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℃以下又は凍結乾燥して5℃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

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。

2.1.3.4 ワーキングシードウイルス

2.1.3.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、**HmLu**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°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。

2.1.3.5 プロダクションシードウイルス

2.1.3.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、**HmLu**細胞又は適当と認められた細胞で増殖させる。

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。

2.1.4 ピートンウイルス

2.1.4.1 名称

ピートンウイルスNS/3株又はこれと同等と認められた株

2.1.4.2 性状

牛の静脈内に接種すると、ウイルス血症を認めるが、発熱などの臨床症状は認められない。

BHK-21細胞、**HmLu-1**細胞、**HmLu-SC**細胞及び**Vero**細胞でCPEを伴って増殖する。

2.1.4.3 マスターシードウイルス

2.1.4.3.1 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**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°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。

2.1.4.4 ワーキングシードウイルス

2.1.4.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、**HmLu**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°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。

2.1.4.5 プロダクションシードウイルス

2.1.4.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、**HmLu**細胞又は適当と認められた細胞で増殖させる。

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細胞又は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は、保存しない。

2.3 原液

2.3.1 アカパネウイルス原液

2.3.1.1 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。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。

2.3.1.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを2.3.1.1の細胞で培養し、適当と認められた時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、3.3.1及び3.3.2.1の試験を行う。

2.3.1.3 不活化

ウイルス浮遊液に適当と認められた不活化剤を加え、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、3.4.1.1の試験を行う。

2.3.1.4 原液

不活化ウイルス液を適当と認められた方法により濃縮したものを原液とする。

原液について、3.5の試験を行う。

2.3.2 カスバウイルス原液

2.3.2.1 プロダクションセルシードの培養

1回処理し、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。

2.3.2.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを2.3.2.1の細胞で培養し、適当と認められた時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、3.3.1及び3.3.2.2の試験を行う。

2.3.2.3 不活化

ウイルス浮遊液に適当と認められた不活化剤を加え、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、3.4.1.2の試験を行う。

2.3.2.4 原液

不活化ウイルス液を適当と認められた方法により濃縮したものを原液とする。

原液について、3.5の試験を行う。

2.3.3 アイノウイルス原液

2.3.3.1 プロダクションセルシードの培養

1回処理し、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。

2.3.3.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを2.3.3.1の細胞で培養し、適当と認められた時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、3.3.1及び3.3.2.3の試験を行う。

2.3.3.3 不活化

ウイルス浮遊液に適当と認められた不活化剤を加え、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、3.4.1.3の試験を行う。

2.3.3.4 原液

不活化ウイルス液を適当と認められた方法により濃縮したものを原液とする。

原液について、3.5の試験を行う。

2.3.4 ピートンウイルス原液

2.3.4.1 プロダクションセルシードの培養

1回処理し、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。

2.3.4.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを2.3.4.1の細胞で培養し、適当と認められた時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、3.3.1及び3.3.2.4の試験を行う。

2.3.4.3 不活化

ウイルス浮遊液に相当と認められた不活化剤を加え、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、3.4.1.4の試験を行う。

2.3.4.4 原液

不活化ウイルス液を相当と認められた方法により濃縮したものを原液とする。

原液について、3.5の試験を行う。

2.4 最終バルク

アカバネウイルス原液、カスバウイルス原液、アインウイルス原液及びピートンウイルス原液の抗原量を調整して混合し、さらにアルミニウムゲルアジュバント又は相当と認められたアジュバントを加えて混合したものを最終バルクとする。

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、3.6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

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

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を準用して試験するとき、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。

3.3 ウイルス浮遊液の試験

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 ウイルス含有量試験

3.3.2.1 アカバネウイルス

3.3.2.1.1 試験材料

3.3.2.1.1.1 試料

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

3.3.2.1.1.2 培養細胞

HmLu-1細胞を用いる。

3.3.2.1.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ4本(穴)以上の培養細胞に接種し、37°Cで60分間静置吸着させた後、適当と認められた培養液を1.0mLずつ加え、37°Cで7日間培養し、観察する。

3.3.2.1.3 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、1 mL中10^{6.5}TCID₅₀以上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は、そのウイルス含有量とする。

3.3.2.2 カスバウイルス

3.3.2.2.1 試験材料

3.3.2.2.1.1 試料

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

3.3.2.2.1.2 培養細胞

Vero-T細胞を用いる。

3.3.2.2.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ4本(穴)以上の培養細胞に接種し、36°Cで60分間静置吸着させた後、適当と認められた培養液を1.0mLずつ加え、37°Cで7日間培養し、観察する。

3.3.2.2.3 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^{7.5}TCID₅₀以上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は、そのウイルス含有量とする。

3.3.2.3 アイノウイルス

3.3.2.3.1 試験材料

3.3.2.3.1.1 試料

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

3.3.2.3.1.2 培養細胞

HmLu-1細胞を用いる。

3.3.2.3.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ4本(穴)以上の培養細胞に接種し、36°Cで60分間静置吸着させた後、適当と認められた培養液を1.0mLずつ加え、37°Cで7日間培養し、観察する。

3.3.2.3.3 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^{6.5}TCID₅₀以上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は、そのウイルス含有量とする。

3.3.2.4 ピー トンウイルス

3.3.2.4.1 試験材料

3.3.2.4.1.1 試料

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

3.3.2.4.1.2 培養細胞

HmLu-1細胞を用いる。

3.3.2.4.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ4本(穴)以上の培養細胞に接種し、37°Cで60分間静置吸着させた後、適当と認められた培養液を1.0mLずつ加え、37°Cで7日間培養し、観察する。

3.3.2.4.3 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^{7.5}TCID₅₀以上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は、そのウイルス含有量とする。

3.4 不活化ウイルス液の試験

3.4.1 不活化試験

3.4.1.1 アカバネウイルス

3.4.1.1.1 試験材料

3.4.1.1.1.1 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°Cで一夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

3.4.1.1.1.2 培養細胞

HmLu-1細胞を培養し、単層となったものを用いる。

3.4.1.1.2 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°Cで60分間静置吸着させた後、適当と認められた培養液を加え、37°Cで7日間培養し、観察する。

3.4.1.1.3 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。

3.4.1.2 カスバウイルス

3.4.1.2.1 試験材料

3.4.1.2.1.1 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°Cで一夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

3.4.1.2.1.2 培養細胞

Vero-T細胞を培養し、単層となったものを用いる。

3.4.1.2.2 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°Cで60分間静置吸着させた後、適当と認められた培養液を加え、34~36°Cで5日間培養後、細胞を次代に継代する。細胞層形成後に培養液を抜き取り、適当と認められた培養液を加え、34~36°Cで5日間培養後、更に次代へ継代し、2代目と同様の方法で培養し、観察する。

3.4.1.2.3 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。

3.4.1.3 アイノウイルス

3.4.1.3.1 試験材料

3.4.1.3.1.1 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。

3.4.1.3.1.2 培養細胞

HmLu-1細胞を培養し、単層となったものを用いる。

3.4.1.3.2 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、適当と認められた培養液を加え、34～36℃ で 7 日間培養し、観察する。

3.4.1.3.3 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。

3.4.1.4 ピートンウイルス

3.4.1.4.1 試験材料

3.4.1.4.1.1 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。

3.4.1.4.1.2 培養細胞

HmLu-1細胞を培養し、単層となったものを用いる。

3.4.1.4.2 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、適当と認められた培養液を加え、34～36℃ で 7 日間培養し、観察する。

3.4.1.4.3 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ない。異物及び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。

3.6.2 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

ホルマリンにより不活化する製剤にあつては、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、0.05vol%以下でなければならない。

3.6.5 アルミニウム定量試験

一般試験法のアルミニウム定量試験を準用して試験するとき、アルミニウムの含有量は、固有の値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、その試験方法とする。

3.6.6 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。

3.6.7 力価試験

3.6.7.1 試験材料

3.6.7.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.6.7.1.2 試験動物

体重約350gのモルモットを用いる。

3.6.7.1.3 中和試験用ウイルス

3.6.7.1.3.1 アカバネウイルス

HmLu細胞で増殖させたアカバネウイルスJaGAr39株又はこれと同等の株を用いる。

3.6.7.1.3.2 カスバウイルス

BHK-21細胞で増殖させたカスバウイルスK-47株又はこれと同等の株を用いる。

3.6.7.1.3.3 アイノウイルス

HmLu細胞で増殖させたアイノウイルスJaNAr28株又はこれと同等の株を用いる。

3.6.7.1.3.4 ピートンウイルス

HmLu細胞で増殖させたピートンウイルスNS/3株又はこれと同等の株を用いる。

3.6.7.1.4 培養細胞

HmLu-1細胞及びVero-T細胞を用いる。

3.6.7.2 試験方法

注射材料0.5mLずつを5匹の試験動物に3週間隔で2回筋肉内注射し、第2回目の注射後10日目
に得られた各個体の血清について中和試験を行う。

被検血清を非働化した後、適当と認められた培養液で2倍階段希釈する。各希釈血清と0.1mL中
約200TCID₅₀の中和試験用ウイルス液を等量混合し、37°Cで60分間、カスバウイルスでは90分間処
理する。この各混合液0.1mLずつをアカバネウイルス、アイノウイルス及びピートンウイルスは
HmLu-1細胞、カスバウイルスではVero-T細胞のそれぞれ4本(穴)の培養細胞に接種し、37°Cで60
分間静置吸着させた後、適当と認められた培養液を1.0mLずつ加え、アカバネウイルス、カスバウ
イルス及びピートンウイルスは37°C、アイノウイルスは34~36°Cで、7日間培養し、観察する。

3.6.7.3 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。

アカバネウイルス及びピートンウイルスは中和抗体価16倍以上、カスバウイルスでは中和抗体
価32倍以上、アイノウイルスは中和抗体価8倍以上を中和抗体陽性とする。

試験動物の中和抗体陽性率は、それぞれのウイルスに対して、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。