

馬鼻肺炎（アジュバント加）不活化ワクチン（シード）

平成24年8月10日（告示第2004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馬鼻肺炎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濃縮した後、不活化して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

馬鼻肺炎ウイルス HH-1 BKS 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

馬に接種すると、軽度の発熱を示すが、呼吸器症状は示さない。

牛腎細胞、馬腎細胞及び豚腎細胞で CPE を伴って増殖し、馬の赤血球を凝集する。

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、EFD-C₁細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖させ、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。

2.1.4 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、EFD-C₁細胞又は適当と認められた培養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。

2.1.5 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、EFD-C₁細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖させる。

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。

2.2 製造用材料

2.2.1 培養細胞

EFD-C₁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。

2.2.3 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て、凍結して－70℃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℃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℃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。ウイルス接種前の培養細胞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 の培養細胞で培養し、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、遠心上清又はこれ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 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適当と認められた不活化剤を加えて不活化し、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。

2.3.4 アジュバントの添加

不活化ウイルス液を混合し適当と認められたアルミニウムゲルアジュバントを加え、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

原液を混合し、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、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法

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

馬伝染性貧血ウイルスについて、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、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 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法

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

馬伝染性貧血ウイルスについて、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、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 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。

3.2.3 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 1）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

MDBK 細胞を小試験管又は 48 穴プレートに 1～2 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 本又は 4 穴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、37℃で 7 日間培養し、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^{8.0}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には、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 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

検体 5 mL を、100 倍量以上のリン酸緩衝液を用い、2～5℃で 1 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

MDBK 細胞を 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、37℃で 60 分間吸着させた後、試料を抜き取り、ウイルス増殖用培養液を加え、37℃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

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 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。

3.6.6 たん白窒素定量試験

一般試験法のたん白窒素定量法を準用して試験するとき、たん白窒素の含有量は、1 mL 中 400 μ g 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、その含有量とする。

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

試験品をリン酸緩衝食塩液で 250、500、1,000 及び 2,000 倍に希釈したものを注射材料とする。

3.6.8.1.2 試験動物

約 6 週齢のハムスターを用いる。

3.6.8.1.3 攻撃ウイルス

ハムスターに馴化させた攻撃用馬鼻肺炎ウイルス KyD 株（付記 2）を用いる。

3.6.8.2 試験方法

試験動物 16 匹を試験群、4 匹を対照群とする。注射材料 1 mL ずつをそれぞれ 4 匹の試験群の腹腔内に注射する。注射後 21 日目に、攻撃ウイルス 1 mL ずつを試験群及び対照群の腹腔内に注射し、7 日間観察する。

3.6.8.3 判定

試験群の生残動物数から試験品の ED₅₀を算出する。

試験品の ED₅₀は、500 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、全て死亡しなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後 1 年 9 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

トリプトース・ホスフェイト・ブロス

2.95 g

牛血清

10 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。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

牛血清 10mL は、やぎ血清 20mL をもって代えることができる。

付記2 攻撃用馬鼻肺炎ウイルス KyD 株

馬鼻肺炎ウイルス KyD 株をハムスターの腹腔内に注射し、感染極期に肝臓を採取し、リン酸緩衝食塩液で 10w/v % 乳剤に調整する。攻撃には、 $10^{4.0}LD_{50}$ を用いる。