

イリドウイルス病（油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード）

令和3年6月3日(告示第941号)新規追加

1 定義

シードロット規格に適合したマダイイリド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たものに油性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

マダイイリドウイルスRSI05.20.300A株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

本株をブリの腹腔内に注射した場合、体表の黒化及び鰓の貧血を伴い死亡を引き起こす。また、本株はイリドウイルス病に対する免疫原性を有する。

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、スズキの腎臓由来株化細胞（以下この項において「SK-21細胞」という。）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°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、SK-21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°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、SK-21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°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 培養細胞

SK-21細胞又は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。

マスターセルシードは、特定の製造番号または製造記号を付し、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、継代及び保存

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、そ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。

2.3.3 不活化

ウイルス浮遊液を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 原液

不活化ウイルス液を必要に応じて適当と認められた方法で濃縮し、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

原液に適当と認められた油性アジュバントを加え、濃度調整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

検体 1 mLを2.3.3に準じて不活化し、必要に応じて適当と認められた中和剤で中和したものを試料とし、一般試験法の外来性ウイルス否定試験方法の2.1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、培養細胞にはBB細胞及びBF-2細胞を用い、1代目及び2代目の培養は20℃及び28℃で3～4日間、3代目の培養は20℃及び28℃で7日間とする。

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

伝染性膀胱壊死症ウイルス及び伝染性造血器壊死症ウイルスについて、検体 1 mLを2.3.3に準じて不活化し、必要に応じて適当と認められた中和剤で中和したものを試料とし、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の3.1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、培養細胞にはBF-2細胞、EPC細胞及びFHM細胞を用い、培養は15℃、20℃及び28℃で7日間とし、3代継代する。

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及び2.1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、培養細胞にはBB細胞及びBF-2細胞を用い、1代目及び2代目の培養は20℃及び28℃で3～4日間、3代目の培養は20℃及び28℃で7日間とする。

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

伝染性膀胱壊死症ウイルス及び伝染性造血器壊死症ウイルスについて、一般試験法の外来性ウ

ウイルス否定試験法の1.2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。ただし、培養細胞にはBF-2細胞、EPC細胞及びFHM細胞を用い、培養は15℃、20℃及び28℃で7日間とし、3代継代する。

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。

3.2.2 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

検体を適当と認められた培養液で階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.1.1.2 培養細胞

SK-21細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.1.2 試験方法

細胞浮遊液を分注した96穴のプレートに、試料0.1mLずつをそれぞれ10穴に接種し、28℃で7日間培養する。

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^{6.96}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 不活化試験

3.4.1.1 試験材料

3.4.1.1.1 試料

検体5 mLと適当と認められた培養液20mLを混合したものを試料とする。

3.4.2.1.2 培養細胞

SK-21細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.2.2 試験方法

試料の全量を試料1 mLにつき7 cm²以上の培養細胞に接種し、28℃で3～4日間培養する。培養液を採取し、新しい培養液と等量混合したものを、別に新しく培養した培養細胞に接種し、28℃で3～4日間培養する。再び同様に継代し、28℃で7日間培養する。

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。

3.4.2.3 判定

すべての培養細胞にCPE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液体でなければならない、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 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。

3.6.3 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、適当と認められた方法で試験品を処理したものを試料とし、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。

3.6.4 安全試験

3.6.4.1 試験材料

3.6.4.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.6.4.1.2 試験動物

水温24℃で7日間以上飼育し、異常のないことを確認した体重約30g～50gのブリ110尾以上を用いる。

3.6.4.2 試験方法

試験動物は24時間以上餌止めした後、1群55尾以上ずつの試験群と対照群の2群に分ける。試験群に注射材料0.1mLを腹腔内に接種する。対照群も同様の方法でリン酸緩衝食塩液を注射する。その後、それぞれ水温24℃、循環式で飼育し、21日間観察する。試験最終日に試験群及び対照群からそれぞれ10尾取り上げ、注射部位を剖検する。

3.6.4.3 判定

観察期間中、対照群においては臨床的な異常を認めてはならず、試験群においては一過性の摂餌不良を認めることがあつても、その他の臨床的な異常を認めてはならない。また、剖検した時に、注射部位に著しい異常を認めてはならない。

3.6.5 力価試験

3.6.5.1 試験材料

3.6.5.1.1 試験動物

3.6.4の試験に用いた魚を用いる。

3.6.5.1.2 攻撃用ウイルス液

マダイイリドウイルス強毒株（付記）をリン酸緩衝食塩液又は適当と認められた希釈液で希釈し、対照群の死亡率が80%と予測される希釈濃度とそれ以下の適切な3段階の希釈液を攻撃用ウイルス液とする。

3.6.5.1.2 試験方法

3.6.4の試験最終日の前日から24時間以上餌止めした試験群及び対照群それぞれ15尾以上の3群に分ける。各攻撃用ウイルス液を1群ずつ腹腔内に0.1mL注射して攻撃する。攻撃後、飼育水温26℃で21日間観察し各群の生死を調べる。

3.6.5.3 判定

対照群の50%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、試験群の生存率は、対照群のそれより有意に高い値を示さなければならない（Fisherの直接確率計算法、 $P < 0.05$ ）。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後3年7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 マダイイリドウイルス強毒株

マダイイリドウイルスIJF245株又はこれと同等以上の毒力を有する株