

# 豚インフルエンザ不活化ワクチン（油性アジュバント加溶解用液）

令和3年11月22日（告示第1991号）新規追加

## 1 定義

豚インフルエンザウイルスを培養細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化した後凍結乾燥したもの（以下この項において「乾燥ワクチン」という。）で、使用時に油性アジュバントを含む溶解用液で溶解するワクチンである。

## 2 製法

### 2.1 製造用株

#### 2.1.1 名称

##### 2.1.1.1 豚インフルエンザウイルスA型（H1N1）株

豚インフルエンザウイルスA型A/swine/Iowa/08/00（H1N1）株又はこれと同等と認められた株

##### 2.1.1.2 豚インフルエンザウイルスA型（H3N2）株

豚インフルエンザウイルスA型A/swine/Iowa/06/00（H3N2）株又はこれと同等と認められた株

#### 2.1.2 性状

犬腎継代細胞に接種するとCPEを示して増殖する。また、発育鶏卵の尿膜腔内で増殖し、鶏、モルモット、イヌ、ラット、ガチョウ及びヒト（O型）の赤血球を凝集する。

#### 2.1.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞で継代する。

原株の継代は、種ウイルスの製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行ってはならない。種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は5代以内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、その継代数以内とする。

原株は凍結して $-60^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下、種ウイルスは凍結して $-30^{\circ}\text{C}$ 以下又は凍結乾燥して $5^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

### 2.2 製造用材料

#### 2.2.1 培養細胞

犬腎継代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。

### 2.3 原液

#### 2.3.1 細胞の培養

1回に処理し、培養した細胞を個別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

各株の種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルスの増殖極期に培養液を採取し、各株のウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.1の試験を行う。

### 2.3.3 不活化

各ウイルス浮遊液に適当と認められた不活化剤を加えて攪拌し、不活化した後に、適当と認められた中和剤を加えて中和したものを各株の不活化ウイルス液とする。

不活化ウイルス液について、3.2の試験を行う。

### 2.3.4 原液

各株の不活化ウイルス液を最終バルクを調製するのに十分な濃度になるよう、必要により濃縮したものを各株の原液とする。

### 2.4 最終バルク

各株の原液を混合後、濃度を調整し、最終バルクとする。

このとき、適当と認められた安定剤及び保存剤を添加してもよい。

### 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、3.3の試験を行う。

## 3 試験法

### 3.1 ウイルス浮遊液の試験

#### 3.1.1 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 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 赤血球凝集価測定試験

##### 3.1.3.1 試験材料

###### 3.1.3.1.1 試料

検体を適当と認められた希釈液で階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

###### 3.1.3.2 試験方法

試料に鶏赤血球浮遊液を加えて混合、反応させた後、赤血球凝集の有無を観察する。

###### 3.1.3.3 判定

赤血球凝集を認めた最高希釈倍数を赤血球凝集価とする。

検体0.05mL当たりの赤血球凝集価は、16倍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、その赤血球凝集価とする。

### 3.2 不活化ウイルス液の試験

#### 3.2.1 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。

#### 3.2.2 不活化試験

##### 3.2.2.1 試験材料

###### 3.2.2.1.1 試料

検体を試料とする。

### 3.2.2.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

### 3.2.2.2 試験方法

検体10mL以上を150cm<sup>2</sup>以上の培養細胞に接種し、34～38℃で14～16日間培養する。ただし、当該培養期間中に、接種後の培養細胞について凍結融解したものを継代用試料として2代以上継代を行う。

### 3.2.2.3 判定

試験期間中にCPEを認めず、試験終了時に蛍光抗体法により、各型のウイルスに特異的な蛍光を認めてはならない。

## 3.3 小分製品の試験

### 3.3.1 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。

### 3.3.2 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。

### 3.3.3 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。

### 3.3.4 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、固有の値以下でなければならない。

### 3.3.5 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。

### 3.3.6 不活化試験

#### 3.3.6.1 試験材料

##### 3.3.6.1.1 注射材料

乾燥ワクチンを100mLのリン酸緩衝食塩液で溶解したものを注射材料とする。

##### 3.3.6.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1の10～12日齢のものを用いる。

#### 3.3.6.2 試験方法

注射材料0.2mLずつを4個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、36～37℃で培養し、3日間隔で尿膜腔液を2代まで継代する。2代目の尿膜腔液に0.5vol%の鶏の赤血球浮遊液を等量加え、室温で60分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

ただし、赤血球凝集を示す尿膜腔液があった場合には、その尿膜腔液を等量混合して3代まで継代し、3代目の尿膜腔液について同様の試験を繰り返した後、判定する。

#### 3.3.6.3 判定

赤血球凝集を認めない場合、活性ウイルス陰性と判定する。

試験品に活性ウイルスを認めてはならない。

### 3.3.7 毒性限度確認試験

一般試験法の毒性限度確認試験法1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3.3.8 力価試験

#### 3.3.8.1 試験材料

##### 3.3.8.1.1 注射材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で10倍に希釈したものを注射材料とする。

##### 3.3.8.1.2 試験動物

4週齢のマウスを用いる。

##### 3.3.8.1.3 赤血球凝集抗原

試験品に含まれる各株と同一亜型のウイルスで調製した赤血球凝集抗原（付記）を用いる。

#### 3.3.8.2 試験方法

注射材料0.5mLずつを試験動物20匹の腹腔内に注射した後、4群に分け、14日目に得られた血清を各群ごとにプールして、赤血球凝集抑制試験を行う。

被検血清をRDE及び鶏赤血球処理又は適当と認められた方法で処理する。これをリン酸緩衝食塩液で2倍階段希釈し、各希釈液0.2mLに0.2mL中8単位の赤血球凝集抗原を等量ずつ加え、室温で60分間処理する。これに0.5vol%の鶏の赤血球浮遊液を0.4mLずつ加え、室温に60分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

#### 3.3.8.3 判定

赤血球凝集を抑制した血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価とする。

各群のプール血清の赤血球凝集抑制抗体価は、H1N1亜型及びH3N2亜型で8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2年2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 赤血球凝集抗原

豚インフルエンザウイルスA型A/swine/Iowa/08/00（H1N1）株及びA/swine/Iowa/06/00（H3N2）株又はこれらと同等と認められたウイルス株を用いて、それぞれ調製した赤血球凝集抗原