

# 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）

平成 28 年 1 月 20 日（告示第 96 号）新規追加  
平成 30 年 4 月 27 日（告示第 969 号）一部改正

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。

## 1 小分製品の試験

### 1.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法により試験を行い、これに適合しなければならない。

### 1.2 力価試験

#### 1.2.1 試験材料

##### 1.2.1.1 試験材料

##### 1.2.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

##### 1.2.1.2 試験動物

体重約 350g のモルモットを用いる。

##### 1.2.1.3 中和試験用ウイルス

##### 1.2.1.3.1 アカバネウイルス

HmLu-1 細胞又は適当と認められた細胞で増殖させたアカバネウイルス E-24-KB 株を用いる。

##### 1.2.1.3.2 カスバウイルス

BHK-21（C-13）細胞又は適当と認められた細胞で増殖させたカスバウイルス K-47-KB 株を用いる。

##### 1.2.1.3.3 アイノウイルス

HmLu-1 細胞又は適当と認められた細胞で増殖させたアイノウイルス JaNAr28-KB 株を用いる。

##### 1.2.1.3.4 ピートンウイルス

HmLu-1 細胞又は適当と認められた細胞で増殖させたピートンウイルス NS/3-KB 株を用いる。

##### 1.2.1.4 培養細胞

HmLu-1 細胞及び Vero-T 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。

### 1.2.2 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、ウイルス増殖用培養液（付記 1）で 2 倍階段希釈する。各希釈血清 0.5mL と 0.1mL 中約 200TCID<sub>50</sub> の中和試験用ウイルス液 0.5mL とを等量混合し、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では 37℃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ではそれぞれ 4 本の HmLu-1 細胞に、カスバウイルスではそれぞれ 4 本の Vero-T 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、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℃、アイノウイルスは 34 ～ 36℃で 7 日間回転培養し、観察する。

### 1.2.3 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では中和抗体価16倍以上、カスバウイルスでは中和抗体価32倍以上、アイノウイルスでは中和抗体価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。

## 2 中間製品の試験

### 2.1 不活化試験

#### 2.1.1 試験材料

##### 2.1.1.1 試料

100倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、それぞれ検体5 mLずつを4℃で一夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

##### 2.1.1.2 培養細胞

HmLu-1細胞及びVero-T細胞を培養瓶に1～3日間培養し、単層となったものを用いる。

#### 2.1.2 試験方法

##### 2.1.2.1 不活化アカバネウイルス中間製品、不活化アイノウイルス中間製品及びピートンウイルス中間製品の試験

それぞれの試料の全量を1 mLにつき3 cm<sup>2</sup>以上のHmLu-1細胞に接種し、アカバネウイルス及びピートンウイルスでは37℃で、アイノウイルスでは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、アカバネウイルス及びピートンウイルスでは37℃で、アイノウイルスでは34～36℃で7日間培養し、観察する。

##### 2.1.2.2 不活化カスバウイルス中間製品の試験

試料の全量を1 mLにつき3 cm<sup>2</sup>以上のVero-T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、34～36℃で5日間培養した後、細胞を次代に継代する。単層形成後に培養液を抜き取り、ウイルス増殖用培養液を加え、34～36℃で5日間培養した後、更に次代に継代し、2代目と同様の方法で培養し、観察する。

### 2.1.3 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。

それぞれの検体に活性ウイルスを認めてはならない。

## 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
-------------------	--------

グルタミン酸ナトリウム	5.0 g
-------------	-------

ブドウ糖	1.0 g
------	-------

酵母エキス	0.5 g
-------	-------

牛血清	10～20 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、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。