

アカバネ病（アジュバント加）不活化ワクチン

令和 7 年 3 月 14 日（告示第 414 号）新規追加

1 定義

アカバネ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、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

アカバネウイルスKN-06株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

生後 2 日以内の乳のみマウスの脳内に接種するとマウスは 3 日以内に死亡する。

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

2.1.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、HmLu-1細胞で継代する。

継代は、原株では 3 代以内、種ウイルスでは 2 代以内でなければならない。

原株及び種ウイルスは、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して 5℃以下で保存する。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

HmLu-1細胞又は製造に相当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.2 培養液

製造に相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、培養した細胞を個体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。

個体別培養細胞について、3.1の試験を行う。

2.3.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルスの増殖極期に個体別培養細胞ごとに採取した培養液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、3.2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を0.1vol%となるように加える方法又はその他の相当と認められた方法により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、3.3の試験を行う。

2.3.4 原液

不活化ウイルス液に相当と認められたアルミニウムゲルアジュバントを添加し、原液とする。

原液について、3.4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。この場合、相当と認められた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、小分製品とする。

小分製品について、3.5の試験を行う。

3 試験法

3.1 個体別培養細胞の試験

個体別培養細胞の1%以上又は500mL以上を対照培養細胞とし、これについて次の試験を行う。

3.1.1 培養観察

対照培養細胞を、ウイルスを接種することなく、ウイルスの培養と同じ条件で培養し、観察するとき、CPEを認めてはならない。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。

3.1.2 赤血球吸着試験

3.1.1の試験最終日に培養液を除き、リン酸緩衝食塩液で細胞表面を2回洗浄後、2群に分け、生理食塩液で調製した0.1vol%のモルモット及びがちょうの赤血球浮遊液を重層し、60分間静置後、赤血球吸着の有無を観察するとき、培養細胞に赤血球吸着を認めてはならない。

3.2 ウイルス浮遊液の試験

3.2.1 ウイルス含有量試験

3.2.1.1 試験材料

3.2.1.1.1 試料

検体をウイルス増殖用培養液（付記1）又は相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。

3.2.1.1.2 培養細胞

HmLu-1細胞又は相当と認められた培養細胞を用いる。

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、34～36℃で7日間培養し、観察する。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。

3.2.1.3 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 $10^{6.0}$ 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。

3.3 不活化ウイルス液の試験

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 不活化試験

3.3.2.1 試験材料

3.3.2.1.1 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℃で 1 夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

3.3.2.1.2 培養細胞

HmLu-1細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.2.2 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、34～36℃で 7 日間培養し、観察する。

3.3.2.3 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 原液の試験

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。

3.5 小分製品の試験

3.5.1 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。異物又は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。

3.5.2 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。

3.5.3 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。

3.5.4 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、0.1vol%以下でなければならない。

3.5.5 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 mg以下でなければならない。

3.5.6 毒性限度確認試験

一般試験法の毒性限度確認試験法2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、試験動物の死亡時には剖検を実施し、腸重積等の注射に起因すると推察される腸管の局所的な病変を確認した場合は、当該試験動物を除外する。なお、除外可能な試験動物数は2匹までとする。

3.5.7 力価試験

3.5.7.1 試験材料

3.5.7.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.7.1.2 試験動物

体重約350gのモルモットを用いる。

3.5.7.1.3 中和試験用ウイルス

アカバネウイルスJaGAr39株又は適当と認められたアカバネウイルス株を用いる。

3.5.7.1.4 培養細胞

HmLu-1細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.5.7.2 試験方法

注射材料0.16mL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、ウイルス増殖用培養液又は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とを等量混合し、37℃で60分間処理する。この各混合液0.1mLずつを4本（穴）の培養細胞に接種し、34～36℃で7日間培養し、観察する。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。

3.5.7.3 判定

培養細胞の2本（穴）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。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、80%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、その判定方法とする。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後1年11か月間とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、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 10～20 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。