乳濁細胞培養インフルエンザＨＡワクチン（Ｈ５Ｎ１株）

1　本質及び性状

本剤は、不活化したインフルエンザウイルス（Ｈ５Ｎ１株）(以下「ウイルス」という。)のヘムアグルチニン（以下「ＨＡ」という。)を含む抗原製剤（澄明又はわずかに白濁した液剤）に、免疫補助剤である専用混和液（白色～淡黄白色の乳濁液）を混和させた白色の均質な乳濁剤である。

2　製法

2．1　抗原製剤

2．1．1　原材料

2．1．1．1　ウイルス・シードロット

別に定めるウイルス株を用いる。その株を用いてシードロットを作製する。ただし、定められた培養条件の下で継代を行い、かつ、その継代数が所定の継代数を超えてはならない。

2．1．1．2　セル・バンク

本剤の製造に適当と認められた細胞株を用いてセル・バンクを作製する。ただし、定められた培養条件の下で継代を行い、かつ、その継代数が所定の継代数を超えてはならない。

2．1．1．3　培養液

細胞培養及びウイルス培養に使用する培地には、適当な細胞増殖因子、0.002ｗ／ｖ％以下のフェノールレッド及び必要最少量の抗生物質を加えることができる。ただし、ペニシリン及び他のβ―ラクタム系抗生物質を加えてはならない。

2．1．2　原液

2．1．2．1　細胞培養

細胞培養は、セル・バンクから行い、継代数が所定の継代数を超えてはならない。培養細胞について、３．１の試験を行う。

2．1．2．2　ウイルス浮遊液

培養細胞にウイルス・シードを接種し、適当な培養条件でウイルスを増殖させ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、３．２の試験を行う。

2．1．2．3　不活化及び精製

ウイルス浮遊液を適当な方法で不活化及び精製したものを原液とする。

原液について、３．３の試験を行う。

2．1．3　最終バルク

原液を緩衝性の生理食塩液等で希釈し、最終バルクを作る。適当な保存剤及び安定剤等を用いることができる。

2．2　専用混和液

スクワレン及びトコフェロールと緩衝液を混合した乳濁液を乳剤バルクとし、乳剤バルクを集めて専用混和液の最終バルクとする。

3　試験

3．1　培養細胞の試験

培養細胞500mL以上に相当する量を対照培養細胞とし、ウイルスを接種することなく、ウイルス培養と同等の条件で培養するとき、細胞変性を認めてはならない。また､培養終了時に､モルモット又はニワトリ血球を添加するとき、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

一般試験法の無菌試験法及びマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、それぞれに適合しなければならない。

3．3　原液の試験

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

発育鶏卵を用いた不活化試験又は培養細胞を用いた不活化試験を行う。

3．3．2．1　発育鶏卵を用いた不活化試験

10～12日齢の発育鶏卵６個以上を用い、１個当たり検体0.2mLを尿膜腔内に注射して34±１℃において３日間置いた後、それぞれの卵の尿膜腔液を集め、これを試料として再び同様に操作する。

試料を注射した卵の尿膜腔液についてニワトリ赤血球凝集試験を行うとき、いずれも陰性でなければならない。ただし、陽性の卵がある場合には、その尿膜腔液を等量ずつ混合し、その0.2mLずつを卵６個以上の尿膜腔内に注射して34±１℃において３日間置いた後、その尿膜腔液についてニワトリ赤血球凝集試験を行うとき、いずれも陰性でなければならない。

3．3．2．2　培養細胞を用いた不活化試験

検体を製造に用いる細胞に接種し、７日間培養する。この培養上清を集め、これを１代目試料とする。１代目試料を細胞に接種し、７日間培養した後、培養上清を集め、これを２代目試料とする。

これらの試料について赤血球凝集試験を行うとき、２代目試料の赤血球凝集価は、１代目試料と比較して、増加してはならない。なお、本試験には、同等の感受性のある他の適当な培養細胞を用いることができる。

3．3．3　力価試験

一元放射免疫拡散試験又はＨＡ含量試験を行う。

3．3．3．1　一元放射免疫拡散試験

標準抗原及び参照抗インフルエンザＨＡ抗血清を用いてＨＡの含量（相当値）を測定する。

3．3．3．1．1　材料

検体、標準インフルエンザＨＡ抗原（一元放射免疫拡散試験用)(以下「標準抗原」という。)及び本剤に含まれるウイルス株に対応する特定量の参照抗インフルエンザＨＡ抗血清を含むアガロースゲル（以下「ＳＲＤプレート」という。)を用いる。

3．3．3．1．2　試験

検体及び標準抗原は、適当な界面活性剤により前処理を行う。

0.05ｗ／ｖ％アジ化ナトリウム加Dulbeccoリン酸塩緩衝塩化ナトリウム液（pH7.4）を用いて、検体及び標準抗原についてそれぞれ適当な希釈列を作り、ＳＲＤプレート上に調製されたウエルに適当な一定量ずつ分注してＳＲＤプレートが乾燥しないように湿った容器中に20～25℃で18時間以上置く。次いで、ＳＲＤプレートを水洗し、乾燥させた後染色処理をし、染色された拡散円の直径を測定する。

3．3．3．1．3　判定

試験の成績を統計学的に処理して検体中のＨＡの含量（相当値）を求めるとき、承認された判定基準に適合しなければならない。

3．3．3．2　ＨＡ含量試験

一元放射免疫拡散試験法の標準抗原又は参照インフルエンザＨＡ抗血清が利用できない場合に行う。

3．3．3．2．1　試験

一般試験法のたん白質定量法により求めたたん白質含量に別に定める方法により求めたＨＡ含有率を乗じることによりＨＡの含量（相当値）を求める。

3．3．3．2．2　判定

3．3．3．2．1で求めたＨＡの含量（相当値）は承認された判定基準に適合しなければならない。