ニューカッスル病生ワクチン

平成２２年４月２２日（告示第６４６号）　一部改正

1 定義

弱毒ニューカッスル病ウイルスを発育鶏卵で増殖させて得たウイルス液を凍結又は凍結乾燥したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

弱毒ニューカッスル病ウイルスＢ１株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

８週齢の鶏に $10^{6.0}EID_{50}$ を点眼接種し、又は総排泄腔に擦入しても病原性を示さない。

10 日齢の発育鶏卵に１ EID_{50} を注射すると増殖し、半数以上の鶏胚を約５日で死亡させる。

2.1.3 継代及び保存

原株及び原種ウイルスは、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の発育鶏卵で継代する。

原株の継代は、原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。

原種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は３代以内でなければならない。

種ウイルスは、原種ウイルスから２代以内に製造しなければならない。

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

種ウイルスは、原種ウイルスからワクチンの製造ごとに用時調製する。

2.2 製造用材料

2.2.1 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の９～ 12 日齢のものを用いる。

2.3 原液

2.3.1 発育鶏卵の培養

１回に処理する発育鶏卵を個体別発育鶏卵とみなす。

個体別発育鶏卵について、3.1 の試験を行う。

2.3.2 ウイルスの培養

種ウイルスを発育鶏卵で培養して、尿膜腔液を採取し、そのろ液、遠心上清又はこれを濃縮したものを原液とする。

原液に適当と認められた必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

原液について、3.2 の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液を混合し、適当と認められた希釈液及び安定剤を加えて調製し、最終バルクとする。この場合、適当と認められた必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注して凍結製剤の場合は凍結し、乾燥製剤の場合は凍結乾燥し、小分製品とする。

小分製品について、3.3 の試験を行う。ただし、凍結製剤の場合は、3.3.2 及び 3.3.3 の試験は行わない。

3 試験法

3.1 発育鶏卵の試験

個体別発育鶏卵の 1 %以上又は 30 個以上を対照発育鶏卵とし、これについて次の試験を行う

3.1.1 培養観察

対照発育鶏卵を、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、鶏胚に異常を認めてはならない。

3.1.2 鶏赤血球凝集試験

3.1.1 の試験最終日に尿膜腔液を採取し、0.5vol %鶏赤血球浮遊液を等量加え、60 分間静置し、観察するとき、赤血球凝集を認めてはならない。

3.2 原液の試験

3.2.1 生菌数限度試験

一般試験法の生菌数限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。

3.2.2 ウイルス含有量試験

3.2.2.1 試験材料

3.2.2.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.2.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 9 ～ 11 日齢のものを用いる。

3.2.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 5 個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37 ℃で 5 日間培養し、観察する。試験最終日に尿膜腔液を採取し、0.5vol %鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。

3.2.2.3 判定

尿膜腔液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、EID_{50} を算出する。ただし、24 時間以内に死亡したものは除外する。検体のウイルス含有量は、1 mL 中 $10^{8.8}EID_{50}$ 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 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凍結物又は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液体又は均質な懸濁液でなければならず、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。

3.3.2 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。

3.3.3 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、適合しなければならない。

3.3.4 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。

3.3.5 サルモネラ否定試験

一般試験法のサルモネラ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。

3.3.6 生菌数限度試験

一般試験法の生菌数限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。

3.3.7 迷入ウイルス否定試験

一般試験法の迷入ウイルス否定試験法 1.1、2.1.1、2.1.2、2.2.1 及び 2.2.2 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、中和用血清は、抗ニューカッスル病ウイルス血清（付記１）を非働化したものを用いる。

3.3.8 ウイルス含有量試験

3.2.2 を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、１羽分当たり $10^{5.5}EID_{50}$ 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。

3.3.9 マーカー試験

3.3.9.1 試験材料

3.3.9.1.1 試料

試験品をリン酸緩衝食塩液を用いてウイルスが 0.5mL 当たり１羽分及び 1/10 羽分含まれるように調整し、試料とする。

3.3.9.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の９～10 日齢の発育鶏卵の胚から得た細胞を細胞増殖用培養液（付記２）で浮遊し、約 20cm^2 以上のシャーレに分注し、培養し、単層となったものを用いる。

3.3.9.2 試験方法

試料 0.5mL をそれぞれ２枚以上の培養細胞に接種し、37 ℃で 60 分間静置した後、重層寒天培地（付記３）を重層し、37℃で４日間培養し、プラック形成の有無を観察する。

3.3.9.3 判定

細胞にプラックの形成を認めてはならない。

3.3.10 安全試験

3.3.10.1 試験材料

3.3.10.1.1 接種材料

試験品をリン酸緩衝食塩液を用いてウイルスが 0.03mL 当たり 10 羽分含まれるように調整し、接種材料とする。

3.3.10.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の４日齢の鶏を用いる。

3.3.10.2 試験方法

試験動物 10 羽を試験群、５羽を対照群とする。

接種材料 0.03mL ずつを試験群に点眼接種し、対照群とともに３週間観察する。

試験開始時及び試験終了時に体重を測定する。

3.3.10.3 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、一過性の呼吸器症状及び結膜の充血を呈することがあっても、その他の異常を認めてはならない。

3.3.11 力価試験

3.3.11.1 試験材料

3.3.11.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

3.3.11.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の４～５週齢の鶏を用いる。

3.3.11.1.3 攻撃ウイルス

強毒ニューカッスル病ウイルス佐藤株で感染させた尿膜腔液であり、約 40 日齢の鶏の筋肉内に注射し、そのウイルス量を測定するとき、１ mL 中 $10^{6.0}$ 致死量以上を有するものを用いる。

使用時、リン酸緩衝食塩液を用いて、１ mL 中 $10^{4.0}$ 致死量となるように調整する。

3.3.11.2 試験方法

試験動物 10 羽を試験群、５羽を対照群とする。

試験群に接種材料１羽分ずつを点鼻接種し、２週間後に試験群及び対照群のすべてに攻撃ウイル

ス１ mL を筋肉内に注射して攻撃し、２週間観察する。

3.3.11.3 判定

試験終了時、試験群は、80 ％以上が異常なく耐過しなければならない。この場合、対照群は、100 ％発病して死亡しなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、１年６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１　抗ニューカッスル病ウイルス血清

製造用株で免疫した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏又は哺乳動物の血清で、試験品中のウイルスを完全に中和する力価を有するもの

付記２　細胞増殖用培養液

1,000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス	2.95 g
牛血清	30 ～ 50 mL
イーグル MEM	残　量

炭酸水素ナトリウムで pH6.8 ～ 7.2 に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記３　重層寒天培地

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 mL
ニュートラルレッド	50 mg
寒天	9 g
イーグル MEM	残　量

炭酸水素ナトリウムで pH6.8 ～ 7.2 に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。