

ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎2価・鶏伝染性ファブリキウス嚢病・産卵低下症候群－1976混合（油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード）

平成29年10月11日（告示第1539号）新規追加

1 定義

シードロット規格に適合したニューカッスル病ウイルス、2種類の鶏伝染性気管支炎ウイルス及び鶏伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスを同規格に適合した発育鶏卵で増殖させて得たウイルス液並びに同規格に適合した産卵低下症候群－1976ウイルスを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それぞれ不活化し、混合したものに油性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 ニューカッスル病ウイルス

2.1.1.1 名称

ニューカッスル病ウイルス石井株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

10日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に注射すると、増殖し、その尿膜腔液には鶏赤血球凝集性を認める。

2.1.1.3 マスターシードウイルス

2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシードウイルスは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

マスターシードウイルスについて、3.1.1の試験を行う。

マスターシードウイルスは、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシードウイルスから小分製品までの最高継代数は、5代以内でなければならない。

2.1.1.4 ワーキングシードウイルス

2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖及び継代する。

ワーキングシードウイルスは、凍結して -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

ワーキングシードウイルスについて、3.1.2の試験を行う。

2.1.1.5 プロダクションシードウイルス

2.1.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させる。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、3.1.3の試験を行う。

2.1.2 鶏伝染性気管支炎ウイルス

2.1.2.1 名称

鶏伝染性気管支炎ウイルス石田株及び宮崎株又は製造に相当と認められた2種類の株

2.1.2.2 性状

10日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に注射すると、鶏胚に特徴的な病変を伴って増殖する。

2.1.2.3 マスターシードウイルス

2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシードウイルスは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

マスターシードウイルスについて、3.1.1の試験を行う。

マスターシードウイルスは、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシードウイルスから小分製品までの最高継代数は、5代以内でなければならない。

2.1.2.4 ワーキングシードウイルス

2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖及び継代する。

ワーキングシードウイルスは、凍結して -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

ワーキングシードウイルスについて、3.1.2の試験を行う。

2.1.2.5 プロダクションシードウイルス

2.1.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させる。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、3.1.3の試験を行う。

2.1.3 鶏伝染性ファブリキウス囊病ウイルス

2.1.3.1 名称

伝染性ファブリキウス囊病ウイルスI・Q株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

鶏胚又はうずら胚細胞でCPEを伴って増殖する。

2.1.3.3 マスターシードウイルス

2.1.3.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードウイルスは、SPF動物規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞又は同規格の2.7に適合したうずら胚初代細胞で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシードウイルスは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

マスターシードウイルスについて、3.1.1の試験を行う。

マスターシードウイルスは、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシードウイルスから小分製品までの最高継代数は、5代以内でなければならない。

2.1.3.4 ワーキングシードウイルス

2.1.3.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、SPF動物規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞又は同規格の2.7に適合したうずら胚初代細胞で増殖及び継代する。

ワーキングシードウイルスは、凍結して -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

ワーキングシードウイルスについて、3.1.2の試験を行う。

2.1.3.5 プロダクションシードウイルス

2.1.3.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、SPF動物規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞又は同規格の2.7に適合したうずら胚初代細胞で増殖させる。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、3.1.3の試験を行う。

2.1.4 産卵低下症候群-1976ウイルス

2.1.4.1 名称

産卵低下症候群-1976ウイルスBK-87株又はこれと同等と認められた株

2.1.4.2 性状

7～11日齢の発育鶏卵又は9～15日齢の発育あひる卵の尿膜腔内に注射すると、増殖し、その尿膜腔液には、鶏赤血球凝集性を認める。

2.1.4.3 マスターシードウイルス

2.1.4.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシードウイルスは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して -40°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

マスターシードウイルスについて、3.1.1の試験を行う。

マスターシードウイルスは、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシードウイルスから小分製品までの最高継代数は、5代以内でなければならない。

2.1.4.4 ワーキングシードウイルス

2.1.4.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖及び継代する。

ワーキングシードウイルスは、凍結して -40°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

ワーキングシードウイルスについて、3.1.2の試験を行う。

2.1.4.5 プロダクションシードウイルス

2.1.4.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させる。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して -40°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、3.1.3の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 ニューカッスル病ウイルス

2.2.1.1 発育鶏卵

2.2.1.1.1 マスターシードウイルス、ワーキングシードウイルス及びプロダクションシードウイルスの増殖、継代及び保存に用いる発育鶏卵

SPF動物規格の1.1に適合した9～11日齢のものを用いる。

マスターシードウイルス及びワーキングシードウイルスを増殖、継代及び保存する場合の発育鶏卵並びにプロダクションシードウイルスを増殖及び保存する場合の発育鶏卵について、3.2の試験を行う。

2.2.1.1.2 原液の製造に用いる発育鶏卵

適当と認められる8～14日齢のものを用いる。

2.2.2 鶏伝染性気管支炎ウイルスの各株

2.2.2.1 発育鶏卵

2.2.2.1.1 マスターシードウイルス、ワーキングシードウイルス及びプロダクションシードウイルスの増殖、継代及び保存に用いる発育鶏卵

SPF動物規格の1.1に適合した10～13日齢のものを用いる。

マスターシードウイルス及びワーキングシードウイルスを増殖、継代及び保存する場合の発育鶏卵

並びにプロダクションシードウイルスを増殖及び保存する場合の発育鶏卵について、3.2の試験を行う。

2.2.2.1.2 原液の製造に用いる発育鶏卵

10～13日齢のものを用いる。

2.2.3 鶏伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス

2.2.3.1 初代細胞

SPF動物規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞、同規格の2.7に適合したうずら胚初代細胞又は製造に相当と認められた細胞を用いる。

2.2.3.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.3.3 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）

2.2.3.3.1 増殖、継代及び保存

マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）は、2.2.3.2の培養液で増殖し、継代及び保存しない。

マスタープライマリーセルシードについて、3.3の試験を行う。

2.2.4 産卵低下症候群－1976ウイルス

2.2.4.1 発育鶏卵

2.2.4.1.1 マスターシードウイルス、ワーキングシードウイルス及びプロダクションシードウイルスの増殖、継代及び保存に用いる発育鶏卵

SPF動物規格の1.1に適合した7～9日齢のものを用いる。

マスターシードウイルス及びワーキングシードウイルスを増殖、継代及び保存する場合の発育鶏卵並びにプロダクションシードウイルスを増殖及び保存する場合の発育鶏卵について、3.2の試験を行う。

2.2.4.1.2 原液の製造に用いる発育鶏卵

製造に相当と認められた7～9日齢のものを用いる。

2.3 原液

2.3.1 ニューカッスル病ウイルス原液

2.3.1.1 発育鶏卵の培養

1回に処理する発育鶏卵を個別別発育鶏卵とみなす。

個別別発育鶏卵について、3.4の試験を行う。

2.3.1.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを2.3.1.1の発育鶏卵で培養し、感染増殖させた尿膜腔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、3.6.1.1の試験を行う。

2.3.1.3 不活化

ウイルス浮遊液を相当と認められた方法により不活化し、原液とする。

原液について、3.7.1及び3.7.2.1の試験を行う。

2.3.2 鶏伝染性気管支炎ウイルスの各株原液

2.3.2.1 発育鶏卵の培養

1回に処理する発育鶏卵を個別別発育鶏卵とみなす。

個別別発育鶏卵について、3.4の試験を行う。

2.3.2.2 ウイルスの培養

各株のプロダクションシードウイルスをそれぞれ2.3.2.1の発育鶏卵で培養し、感染増殖させた尿膜腔液のろ液又は遠心上清を各株のウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.6.1.2の試験を行う。

2.3.2.3 不活化

各株のウイルス浮遊液を相当と認められた方法により不活化し、各株の原液とする。

原液について、3.7.1及び3.7.2.2の試験を行う。

2.3.3 鶏伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス原液

2.3.3.1 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）の培養

1回に処理し、培養した細胞を個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。

個別培養細胞について、3.5の試験を行う。

2.3.3.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを培養細胞で培養し、ウイルスの増殖極期に個別培養細胞ごとに採取した培養液のろ液、遠心上清又はこれらを濃縮し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、3.6.1.3の試験を行う。

2.3.3.3 不活化

ウイルス浮遊液を適当と認められた方法により不活化し、原液とする。

原液について、3.7.1及び3.7.2.3の試験を行う。

2.3.4 産卵低下症候群-1976ウイルス原液

2.3.4.1 発育鶏卵の培養

1回に処理する発育鶏卵を個別発育鶏卵とみなす。

個別発育鶏卵について、3.4の試験を行う。

2.3.4.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを2.3.4.1の発育鶏卵で培養し、感染増殖させた尿膜腔液の遠心上清又はろ液をウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.6.1.4の試験を行う。

2.3.4.3 不活化

ウイルス浮遊液を適当と認められた方法により不活化し、原液とする。

原液について、3.7.1及び3.7.2.4の試験を行う。

2.4 最終バルク

ニューカッスル病ウイルス原液、鶏伝染性気管支炎ウイルス各株の原液、鶏伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス原液及び産卵低下症候群-1976ウイルス原液を濃度調整して混合した後、適当と認められた油性アジュバントを添加したものを最終バルクとする。

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、3.8の試験を行う。

3 試験法

3.1 製造用株の試験

3.1.1 マスターシードウイルスの試験

3.1.1.1 同定試験

シードロット規格の1.4.2.3.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.2 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。

3.1.1.3 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。

3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

3.1.1.4.1 共通ウイルス否定試験

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、2.1及び2.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験

3.1.1.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験

鶏脳脊髄炎ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1及び3.1.2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、鶏脳脊髄炎ウイルスについて3.1.1.4.2.2に規定する試験を実施する製剤については、本試験を実施しなくてもよい。

3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

鶏白血病ウイルス、細網内皮症ウイルス及び鶏脳脊髄炎ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、3.2.1、3.2.2及び3.2.10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、鶏脳脊髄炎ウイルスについて3.1.1.4.2.1に規定する試験を実施する製剤については、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の3.2.10の試験を実施しなくてもよい。

3.1.2 ワーキングシードウイルスの試験

3.1.2.1 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。

3.1.2.2 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 プロダクションシードウイルスの試験

3.1.3.1 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。

3.1.3.2 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。

3.2 発育鶏卵の試験

3.2.1 孵卵性状試験

シードロット規格の3.2.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3 初代細胞の試験

3.3.1 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）の試験

3.3.1.1 培養性状試験

シードロット規格の2.2.4.2.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3.1.2 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。

3.3.1.3 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。

3.4 個体別発育鶏卵の試験

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。

3.4.1 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。

3.4.2 鶏赤血球凝集試験

3.4.1の試験最終日に尿膜腔液を採取し、鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集の有無を観察するとき、赤血球凝集を認めてはならない。

3.5 個体別培養細胞の試験

個体別培養細胞の1%以上を対照培養細胞とし、これについて次の試験を行う。

3.5.1 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。

3.5.2 鶏赤血球凝集試験

3.5.1の観察最終日に培養液を採取し、鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集の有無を観察するとき、

赤血球凝集を認めてはならない。

3.6 ウイルス浮遊液の試験

3.6.1 ウイルス含有量試験

3.6.1.1 ニューカッスル病ウイルス

3.6.1.1.1 試験材料

3.6.1.1.1.1 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。

3.6.1.1.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した9～11日齢のものを用いる。

3.6.1.1.2 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°C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、鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。

3.6.1.1.3 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、EID₅₀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、濃縮予定倍率を乗じた値が1 mL中10^{9.44}EID₅₀以上でなければならない。

3.6.1.2 鶏伝染性気管支炎ウイルス

3.6.1.2.1 試験材料

3.6.1.2.1.1 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。

3.6.1.2.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した9～10日齢のものを用いる。

3.6.1.2.2 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°Cで7～8日間培養し、観察する。試験最終日に鶏胚の変化を観察する。

3.6.1.2.3 判定

鶏胚に死亡又は変性（発育不全、カーリング）を認めたものを感染とみなし、EID₅₀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、濃縮予定倍率を乗じた値が1 mL中10^{8.84}EID₅₀以上でなければならない。

3.6.1.3 鶏伝染性ファブリキウス囊病ウイルス

3.6.1.3.1 試験材料

3.6.1.3.1.1 試料

検体をウイルス増殖用培養液（付記1）で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.6.1.3.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞で、単層となったものを用いる。

3.6.1.3.1.3 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ4枚の培養細胞に接種し、37°Cで60分間静置吸着させる。第1次重層寒天培地（付記2）を加え3～4日間培養した後、第2次重層寒天培地（付記3）を重層し、観察する。

3.6.1.3.1.4 判定

試料の各希釈段階の平均ブラック数からウイルス含有量を算出する。

検体のウイルス含有量は、濃縮予定倍率を乗じた値が1 mL中10^{6.64}PFU以上でなければならない。

3.6.1.4 産卵低下症候群-1976ウイルス

3.6.1.4.1 試験材料

3.6.1.4.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.6.1.4.2 試験方法

マイクロタイター法で赤血球凝集試験を行う。試料に鶏赤血球浮遊液を加え、静置した後、赤血球凝集の有無を観察する。

3.6.1.4.3 判定

赤血球凝集が観察された検体の最高希釈倍数を赤血球凝集単位とする。

検体の赤血球凝集単位は、濃縮予定倍率を乗じた値が7168倍以上でなければならない。

3.7 不活化ウイルス浮遊液の試験

3.7.1 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。

3.7.2 不活化試験

3.7.2.1 ニューカッスル病ウイルス

3.7.2.1.1 試験材料

3.7.2.1.1.1 注射材料

検体を注射材料とする。

3.7.2.1.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した9～11日齢のものを用いる。

3.7.2.1.2 試験方法

注射材料0.1mLずつを10個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37°Cで5日間培養した後、尿膜腔液を採取し、更に1代継代し、37°C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、鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。

3.7.2.1.3 判定

鶏胚は、正常に発育しなければならない。尿膜腔液に赤血球凝集を認めてはならない。

3.7.2.2 鶏伝染性気管支炎ウイルス

3.7.2.2.1 試験材料

3.7.2.2.1.1 注射材料

検体を注射材料とする。

3.7.2.2.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した9～10日齢のものを用いる。

3.7.2.2.2 試験方法

注射材料0.1mLずつを10個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37°Cで5日間培養した後、尿膜腔液を採取し、更に1代継代し、37°Cで5日間培養し、観察する。

3.7.2.2.3 判定

鶏胚は、正常に発育しなければならない。

3.7.2.3 鶏伝染性ファブリキウス囊病ウイルス

3.7.2.3.1 試験材料

3.7.2.3.1.1 試料

100倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、検体5mLを透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

3.7.2.3.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞で、単層となったものを用いる。

3.7.2.3.2 試験方法

試料の全量を、1mLにつき20cm²以上の培養細胞に接種し、37°Cで5日間培養した後、その培養上清5mLを採取し、更に1代継代し、5日間培養し、観察する。

3.7.2.3.3 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。

3.7.2.4 産卵低下症候群—1976ウイルス

3.7.2.4.1 試験材料

3.7.2.4.1.1 注射材料

検体を注射材料とする。

3.7.2.4.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した7～9日齢のものを用いる。

3.7.2.4.2 試験方法

注射材料を10個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に100 μ Lずつ注射し、7日間培養した後、尿膜腔液を採取し、更に1代以上継代し、7日間培養し、鶏胚を観察する。試験最終日に、尿膜腔液を採取し、鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集の有無を観察する。

3.7.2.4.3 判定

鶏胚は、正常に発育しなければならず、尿膜腔液に赤血球凝集を認めてはならない。

3.8 原液の試験

3.8.1 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。

3.9 小分製品の試験

3.9.1 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ず、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。

3.9.2 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。

3.9.3 ホルマリン定量試験

ホルマリン添加製剤については、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、0.2vol%以下でなければならない。ただし、ホルマリンを適当と認められた方法で中和した製剤については、本試験を行わなくてもよい。

3.9.4 安全試験

3.9.4.1 試験材料

3.9.4.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.9.4.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した発育鶏卵由来の5週齢の鶏を用いる。

3.9.4.2 試験方法

試験動物の10羽を試験群、3羽を対照群とする。

注射材料1羽分ずつを試験群の脚部筋肉内に注射し、対照群と共に4週間観察し、試験最終日に注射部位を剖検する。

3.9.4.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。

3.9.5 力価試験

3.9.5.1 ニューカッスル病力価試験

3.9.5.1.1 試験材料

3.9.5.1.1.1 試験動物

3.9.4の試験に用いた動物を用いる。

3.9.5.1.1.2 赤血球凝集抗原

「ニューカッスル病診断用赤血球凝集抗原」を用いる。

3.9.5.1.2 試験方法

3.9.4の試験最終日に、試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ニューカッスル病ウイルス赤血球凝集抑制試験を行う。

3.9.5.1.3 判定

赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価（以下この項において「HI抗体価」という。）とする。

試験群の80%以上が、HI抗体価160倍以上でなければならない。この場合、対照群では、全てHI抗体価5倍未満でなければならない。

3.9.5.2 鶏伝染性気管支炎力価試験

3.9.5.2.1 試験材料

3.9.5.2.1.1 試験動物

3.9.4の試験に用いた動物を用いる。

3.9.5.2.1.2 中和試験用ウイルス

それぞれの製造用株を用いる。ただし、そのウイルス量は、生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した9～10日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、ウイルス価を測定するとき、1 mL中 $10^{5.0}$ EID₅₀以上でなければならない。

3.9.5.2.1.3 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した9～10日齢のものを用いる。

3.9.5.2.2 試験方法

3.9.4の試験最終日に試験動物及び対照群から得られた血清について、ウイルス希釈法により中和試験を行う。血清は、それぞれ等量を各群ごとにプールし、非働化する。

それぞれの中和試験用ウイルス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3群に分け、第1群には試験群のプール血清を、第2群には対照群のプール血清を、第3群にはウイルス対照としてリン酸緩衝食塩液を、それぞれ等量加えて混合する。これらの混合液を4℃で18～24時間又は37℃で60分間処理する。処理した試料0.1mLずつを5個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37℃で7～8日間培養し、観察する。試験最終日に鶏胚の変化を観察する。

3.9.5.2.3 判定

鶏胚に死亡又は変性（発育不全、カーリング）を認めたものを感染とみなし、EID₅₀を求め、中和指数を算出する。ただし、24時間以内に死亡したものは、除外する。

試験群のそれぞれの株に対する中和指数は、対照群に対し2.0以上でなければならない。この場合、対照群の中和指数は、ウイルス対照に対し1.0以下でなければならない。

3.9.5.3 鶏伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス力価試験

3.9.5.3.1 試験材料

3.9.5.3.1.1 試験動物

3.9.4の試験に用いた鶏を用いる。

3.9.5.3.1.2 中和試験用ウイルス

生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞に接種し、培養した伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスI・Q株又は適当と認められた株を用いる。

3.9.5.3.1.3 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞で、単層となったものを用いる。

3.9.5.3.2 試験方法

3.9.4の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について中和試験を行う。

血清を非働化し、リン酸緩衝食塩液で2倍階段希釈する。各希釈血清と0.1mL中100～200PFUを

含む中和試験用ウイルス液をそれぞれ等量加えて混合し、37°Cで60分間処理する。この各混合液0.1mLずつをそれぞれ2枚の培養細胞に接種し、37°Cで静置吸着させた後、第1次重層寒天培地を加え、3～4日間静置培養する。その後、第2次重層寒天培地を重層し、観察する。

3.9.5.3.3 判定

プラック数を50%減少させる血清の最高希釈倍数を中和抗体価とする。

試験群の70%以上が中和抗体価128倍以上でなければならない。この場合、対照群は、全て4倍以下でなければならない。

3.9.5.4 産卵低下症候群－1976ウイルス力価試験

3.9.5.4.1 試験材料

3.9.5.4.1.1 試験動物

3.9.4の試験で用いた鶏を用いる。

3.9.5.4.1.2 赤血球凝集抗原

産卵低下症候群－1976ウイルス赤血球凝集抗原（付記4）を用いる。

3.9.5.4.2 試験方法

3.9.4の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について赤血球凝集抑制試験を行う。

血清1容に25w/v%カオリン液（付記5）3容を加えて処理した後、遠心した上清を採取する。これをリン酸緩衝食塩液で2倍階段希釈し、各希釈血清25μLに等量の4単位の産卵低下症候群－1976ウイルス赤血球凝集抗原を加えて混合し反応させた後、鶏赤血球浮遊液を50μLずつ加えて振とう混合し、静置した後に赤血球凝集の有無を観察する。

3.9.5.4.3 判定

試験群の80%以上がHI抗体価32倍以上でなければならない。この場合、対照群では、全てHI抗体価4倍以下でなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、3年間とする。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 2.95g

牛血清 20mL

イーグルMEM 残量

炭酸水素ナトリウムでpHを7.0～7.4に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記2 第1次重層寒天培地

1,000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス 2.95g

牛血清 20mL

寒天 4～10g

イーグルMEM 残量

炭酸水素ナトリウムでpHを6.8～7.2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 第2次重層寒天培地

1,000mL中	
トリプトース・ホスフェイト・ブロス	2.95g
牛血清	20mL
寒天	4~10g
0.5w/v%ニュートラルレッド液	10mL
イーグルMEM	残 量
炭酸水素ナトリウムでpHを6.8~7.2に調整する。	
必要最少量の抗生物質を加えてもよい。	

付記4 産卵低下症候群-1976ウイルス赤血球凝集抗原

産卵低下症候群-1976ウイルスJPA-1株又はこれと同等と認められた株を生ワクチン製造用材料の規格1.3に適合した発育あひる卵で増殖させて得た尿膜腔液又は生ワクチン製造用材料の規格2.1.3に適合した鶏胚肝初代細胞で増殖させて得た培養上清に0.2vol%になるようにホルマリンを加えて不活化したもの。赤血球凝集（HA）価を測定するとき、HA価は640倍以上のもの。

付記5 25w/v%カオリン液

1,000mL中	
カオリン	250g
リン酸緩衝食塩液	残 量
115°C、15分間高压滅菌又はアジ化ナトリウムを0.01w/v%添加した後、2~10°Cに保存する。	