

産卵低下症候群 - 1976 (アジュバント加) 不活化ワクチン

1 定義

産卵低下症候群 - 1976 ウイルスを発育鶏卵又は発育あひる卵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

産卵低下症候群 - 1976 ウイルス KE-80 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

鶏及びあひるに産卵異常の病原性を示す。10 ~ 14 日齢の発育鶏卵及び発育あひる卵の尿膜腔内に注射すると増殖し、胚を死亡させ、尿膜腔液には鶏赤血球凝集性を認める。

2.1.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の発育鶏卵又は同規格 1.3 の発育あひる卵で継代する。

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 - 40 以下、又は凍結乾燥して 5 以下で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 発育卵

製造に相当と認められた日齢の発育鶏卵又は発育あひる卵を用いる。

2.3 原液

2.3.1 発育卵の培養

1 回に処理する発育鶏卵又は発育あひる卵を個別発育卵とみなす。

個別発育卵について、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又は発育あひる卵で培養し、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、3.2.1 又は 3.2.2 の試験を行う。

2.3.3 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、不活化ウイルス浮遊液とする。

不活化ウイルス浮遊液について、3.3 の試験を行う。

2.3.4 アジュバントの添加

不活化ウイルス浮遊液を混合し、アルミニウムゲルアジュバントを添加し、原液とする。

ただし、最終バルクの調製時にアジュバントを添加してもよい。

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、濃度調整し、最終バルクとする。この場合、相当と認められる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 発育卵の試験

個別発育卵の 1 % 以上又は 30 個以上を対照発育卵とし、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、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 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

検体を適当と認められた希釈液で 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

生ワクチン製造用材料の規格 2.1.3 の鶏胚肝初代細胞を用いる。

3.2.1.2 試験方法

各段階の試料 50 μ L と培養細胞浮遊液 100 μ L を 96 穴マイクロプレート 4 穴以上に分注・混合し、37 $^{\circ}$ C で 8 日間培養し、観察する。観察最終日に各穴の培養液を採取し、0.5vol%鶏赤血球浮遊液を等量加え、60 分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

3.2.1.3 判定

培養細胞に CPE 又は培養液に赤血球凝集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 $10^{8.3}$ TCID₅₀ 以上でなければならない。

3.2.2 赤血球凝集試験

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 倍に希釈し、更にそれを 2 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.2.2 試験方法

U 字型ウエルのマイクロプレートを用いたマイクロタイター法で赤血球凝集試験を行う。試料に 0.5vol % 鶏赤血球浮遊液を等量加え、室温で 60 分間静置した後、赤血球の凝集の有無を観察する。

3.2.2.3 判定

赤血球の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 640 倍以上でなければならない。

3.3 不活化ウイルス浮遊液の試験

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 注射材料

発育卵に接種する場合は検体を注射材料とする。培養細胞を用いる場合は、検体を滅菌した透析チューブに入れ、4 $^{\circ}$ C で 1,000 倍容量以上のリン酸緩衝食塩液中で 24 時間透析し不活化剤を除去した後、これを無菌的に回収して注射材料とする。

3.3.2.1.2 発育卵又は培養細胞

生ワクチン製造用材料規格 1.1 の 7 ~ 9 日齢の発育鶏卵、同規格 1.3 の 9 ~ 14 日齢発育あひる卵又は 5×10^5 個/mL に調整した同規格 2.1.3 の鶏胚肝初代細胞を用いる。

3.3.2.2 試験方法

注射材料を 10 個以上の発育卵の尿膜腔内に 0.1mL ずつ注射し、7 日間培養した後、尿膜腔液を

採取し、更に1代継代し、7日間培養し、胚を観察する。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性の有無を観察する。又は接種材料の0.1mLと鶏胚肝初代細胞浮遊液2.0mLを6穴プレートの5穴に分注、混合し、37℃で8日間培養した後、更に1代継代し8日間培養観察し、CPEの出現を観察する。試験最終日に各穴の培養液を50µLずつ採取し、0.5vol%鶏赤血球浮遊液を等量添加、混合し、1時間感作した後、赤血球凝集の有無を観察する。

3.3.2.3 判定

胚は正常に発育し、尿膜腔液に赤血球凝集を認めない。又は培養細胞にCPEを認めず、培養液に赤血球凝集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 チメロサル定量試験

チメロサル添加製剤については、一般試験法のチメロサル定量法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.5.5 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。

3.5.6 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、1mL中1.5mg以下でなければならない。ただし、特に承認されたものは、その含有量とする。

3.5.7 安全試験

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

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の5～10週齢の鶏を用いる。

3.5.7.2 試験方法

試験動物10羽を試験群、3羽を対照群とする。

注射材料の1羽分を試験群の下腿部筋肉内に注射し、対照群とともに3週間観察する。

3.5.7.3 判定

試験期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。

3.5.8 力価試験

3.5.8.1 試験材料

3.5.8.1.1 試験動物

3.5.7の試験で用いた鶏を用いる。

3.5.8.1.2 赤血球凝集抗原

産卵低下症候群 - 1976 赤血球凝集抗原（付記 1）を用いる。

3.5.8.2 試験方法

3.5.7 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。

血清をリン酸緩衝食塩液で 2 倍階段希釈し、各希釈血清 25 μ L に等量の 4 単位の産卵低下症候群 - 1976 赤血球凝集抗原を加えて混合し、30 分間処理した後、0.5vol % の鶏赤血球浮遊液を 50 μ L ずつ加えて振盪混合し、60 分間静置した後に赤血球凝集の有無を観察する。

3.5.8.3 判定

赤血球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「HI 抗体価」という。）とする。

試験群の 80 % 以上が HI 抗体価 16 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、すべて 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、2 年間とする。ただし、特に承認されたものは、その期間とする。

付記 1 産卵低下症候群 - 1976 赤血球凝集抗原

産卵低下症候群 - 1976 ウイルス JPA-1 株を生ワクチン製造用材料の規格 1.3 の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 の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