

ニューカッスル病組織培養生ワクチン

1 定義

弱毒ニューカッスル病ウイルスを豚腎初代細胞で増殖させて得たウイルス液を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 TCND 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

1 日齢の鶏の脳内に $10^{6.0}$ EID₅₀ を注射すると、病原性を示すが、30 日齢の鶏の筋肉内に注射し、又は 8 週齢の鶏に点眼接種し、若しくは総排泄腔に擦入しても病原性を示さない。10 日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に 1 EID₅₀ を注射すると増殖し、鶏胚を約 3 日で死亡させる。また、豚腎初代細胞及び HeLa 細胞で特有の CPE を伴って増殖する。

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 2.6.1 の豚腎初代細胞で継代する。

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 - 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 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 2.6.1 の豚腎初代細胞を用いる。

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、3.1 の試験を行う。

2.3.2 ウイルスの培養

種ウイルスを個別培養細胞で培養し、ウイルスの増殖極期にウイルス浮遊液を採取して混合し、その遠心上清を原液とする。

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、相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、相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。

3 試験法

3.1 個別培養細胞の試験

個別培養細胞の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。

3.1.1 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。

3.1.2 赤血球凝集試験

3.1.1の試験最終日に培養液を採取し、0.5vol%鶏赤血球浮遊液を等量加え、60分間静置し、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 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。

3.2.2 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。

3.2.3 ウイルス含有量試験

3.2.3.1 試験材料

3.2.3.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液を用いて10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.3.1.2 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。

3.2.3.2 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。

死亡した発育鶏卵及び試験最終日まで生存した発育鶏卵の尿膜腔液を採取し、0.5vol%鶏赤血球浮遊液を用いて、赤血球凝集の有無、又は尿膜腔液を豚腎初代細胞若しくはHeLa細胞に接種し、特有のCPEの出現の有無を観察する。

3.2.3.3 判定

尿膜腔液に赤血球凝集を認めたもの又はCPE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、1mL中10^{7.5}EID₅₀以上でなければならない。

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。

3.3.2 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 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。

3.3.5 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。

3.3.6 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、2.2.2、2.3.1及び2.3.2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。

3.3.7 ウイルス含有量試験

3.2.3 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 $10^{4.0}$ EID₅₀ 以上でなければならない。

3.3.8 安全試験

3.3.8.1 試験材料

3.3.8.1.1 注射材料

試験品をリン酸緩衝食塩液を用いてウイルスが 0.2mL 当たり 10羽分含まれるように調整し、注射材料とする。

3.3.8.1.2 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。

3.3.8.2 試験方法

試験動物 10羽を試験群、5羽を対照群とする。

注射材料 0.2mL ずつを試験群の筋肉内に注射し、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。

3.3.8.3 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。

3.3.9 力価試験

3.3.9.1 試験材料

3.3.9.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.3.9.1.2 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。

3.3.9.1.3 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。

3.3.9.2 試験方法

試験動物 10羽を試験群、5羽を対照群とする。

注射材料 1羽分ずつを試験群の筋肉内に注射し、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。

3.3.9.3 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 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 由来の鶏又は豚以外の哺乳動物の血清で、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