

鶏伝染性喉頭気管炎凍結生ワクチン

1 定義

弱毒鶏伝染性喉頭気管炎ウイルスを培養細胞で増殖させて得た感染細胞浮遊液を凍結したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

弱毒鶏伝染性喉頭気管炎ウイルス CE 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

30 日齢の鶏に点鼻又は点眼接種すると一過性の呼吸器症状及び結膜の充血を呈することがある。
10 日齢の発育鶏卵の漿尿膜上に接種すると特有のポックを形成する。

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 2.1.1 の鶏胚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 2.1.1 の鶏胚初代細胞を用いる。

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。

2.3.3 ウイルスの培養

種ウイルスを鶏胚初代細胞に接種し、ウイルス増殖の極期に個別培養細胞ごとに感染細胞を集め、遠心し、相当と認められた安定剤を含む浮遊用液で再浮遊したものを原液とする。

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、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、凍結し、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 培養細胞の試験

3.1.1 培養細胞の試験

静置培養の場合は、個別培養細胞の 1 % 以上を、ファーメンター培養の場合は、個別培養細胞

胞の 1 vol % 又は 500mL 以上を対照培養細胞とし、これについて次の試験を行う。

3.1.1.1 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。

3.1.1.2 鶏赤血球凝集試験

3.1.1.1 の試験最終日に採取した培養液に 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 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 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 2.2.1 の鶏腎初代細胞を小試験管に 3 ~ 5 日間培養し、単層となったものを用いる。

3.2.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、37 で 60 分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液（付記 1）0.5mL ずつを加え、37 で 7 日間培養し、観察する。

3.2.2.3 判定

培養細胞に CPE を認めた場合を感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。検体のウイルス含有量は、1 mL 中 10^{5.9}TCID₅₀ 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凍結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均質な懸濁液でなければならない。細胞塊以外の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 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。

3.3.3 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。

3.3.4 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、試験品を溶解用液で溶解し、20KHz で 1 分間超音波処理し、抗鶏伝染性喉頭気管炎ウイルス血清（付記 2）を非働化したもので中和したものを用いる。

3.3.5 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^{3.5}TCID₅₀ 以上でなければならない。

3.3.6 マーカー試験

3.3.6.1 試験材料

3.3.6.1.1 試料

試験品を溶解用液で 0.1mL 当たり 1/100 羽分となるように調整したものを、試料とする。

3.3.6.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 11 ~ 12 日齢のものを用いる。

3.3.6.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを 5 個の発育鶏卵の漿尿膜上に接種し、37℃ で 5 日間培養し、漿尿膜を観察する。

3.3.6.3 判定

漿尿膜上に固有のポックの形成を認めなければならない。

3.3.7 安全試験

3.3.7.1 試験材料

3.3.7.1.1 注射材料

試験品を溶解用液を用いて 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。

3.3.7.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 1 ~ 4 日齢の鶏を用いる。

3.3.7.2 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 ずつを試験群に皮下に注射し、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し、剖検する。

3.3.7.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群には臨床的及び剖検的な異常を認めてはならない。

3.3.8 力価試験

3.3.8.1 試験材料

3.3.8.1.1 注射材料

試験品を溶解用液で 0.2mL 当たり 1 羽分となるように調整したものを注射材料とする。

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 30 ~ 35 日齢の鶏を用いる。

3.3.8.1.3 攻撃ウイルス

強毒鶏伝染性喉頭気管炎ウイルス NS-175 株を用いる。攻撃ウイルス量は、約 40 日齢の鶏の気管内に 0.1mL を接種した場合、接種鶏の 50 % 以上が発症する量の 100 倍量とする。

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。

試験群に注射材料 0.2mL ずつを皮下に注射し、対照群とともに 14 日間観察する。14 日後に試験群及び対照群に攻撃ウイルス 0.1mL ずつを気管内に接種して攻撃し、10 日間観察する。

3.3.8.3 判定

試験終了時、試験群は、60 % 以上異常なく耐過しなければならない。この場合、対照群は、80 % 以上発症しなければならない。

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 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 2.95 g

牛血清 25 mL

イーグル MEM 残量

炭酸水素ナトリウムで pH を 7.2 ~ 7.6 に調整する。

必要最小量の抗生物質を加えてもよい。

付記2 抗鶏伝染性喉頭気管炎ウイルス血清

製造用株で免疫した生ワクチンの製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、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