

産卵低下症候群－1976（油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード）

平成 24 年 3 月 13 日（告示第 675 号） 新規追加
平成 28 年 4 月 18 日（告示第 1020 号） 一部改正

1 定義

シードロット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発育あひる卵、発育鶏卵又は培養細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化し、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 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

2.1.2 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。

2.1.3 マスターシードウイルス

2.1.3.1 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、同規格の 1.3 に適合した発育あひる卵、同規格の 2.6 に適合した鶏胚肝初代細胞又は同規格の 2.6 に適合した鶏胚腎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－40℃以下又は凍結乾燥して 5℃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 ワーキングシードウイルス

2.1.4.1 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、同規格の 1.3 に適合した発育あひる卵、同規格の 2.6 に適合した鶏胚肝初代細胞又は同規格の 2.6 に適合した鶏胚腎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－40℃以下又は凍結乾燥して 5℃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。

2.1.5 プロダクションシードウイルス

2.1.5.1 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、同規格の 1.3 に適合した発育あひる卵、同規格の 2.6 に適合した鶏胚肝初代細胞又は同規格の 2.6 に適合した鶏胚腎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－40℃以下又は凍結乾燥して 5℃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 初代細胞を用いる場合

2.2.1.1 初代細胞

SPF 動物規格の 2.6 に適合した鶏胚肝初代細胞又は鶏胚腎初代細胞を用いる。

2.2.1.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.1.3 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）

2.2.1.3.1 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、2.2.2.2 の培養液で増殖し、継代及び保存しない。

マスターシードウイルス、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）又は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）について、3.2 の試験を行う。

2.2.2 発育卵を用いる場合

SPF 動物規格の 1.1 に適合した発育鶏卵又は同規格の 1.3 に適合した発育あひる卵を用いる。

マスターシードウイルス、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卵又は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卵について、3.3 の試験を行う。

2.2.3 原液の製造に用いる発育卵

製造に相当と認められた発育卵を用いる。

2.3 原液

2.3.1 発育卵の培養

1 回に処理する発育卵を個別発育卵とみなす。

個別発育卵について、3.4 の試験を行う。

2.3.2 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 の発育卵で培養し、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、3.5.1 又は 3.5.2 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。この場合、相当と認められた保存剤を添加してもよい。ただし、最終バルクの調製時に保存剤を添加してもよい。

不活化ウイルス浮遊液について、3.6 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、相当と認められた油性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、3.7 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。

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 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

3.2.1 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。

3.2.2 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。

3.2.3 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 発育卵の試験

3.3.1 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。

3.4 個体別発育卵の試験

個体別発育卵の 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。

3.4.1 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。

3.4.2 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、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。

3.5 ウイルス浮遊液の試験

3.5.1 又は 3.5.2 のいずれかの試験を行う。

3.5.1 ウイルス含有量試験

3.5.1.1 試験材料

3.5.1.1.1 試料

検体を適当と認められた希釈液で希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.5.1.1.2 培養細胞又は発育卵

適当と認められた培養細胞又は発育卵を用いる。

3.5.1.2 試験方法

培養細胞を用いる場合は、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。観察終了日に各穴の培養液を採取し、0.5vol %鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集の有無を観察する。

発育卵を用いる場合は、試料 100 μ L ずつをそれぞれ 5 個以上の発育卵の尿膜腔内に注射し、37 $^{\circ}$ C で 7 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の有無を観察する。

3.5.1.3 判定

培養細胞を用いる場合は、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^{7.3}TCID₅₀ 以上でなければならない。

発育卵を用いる場合は、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、1 mL 中 10^{8.0}EID₅₀ 以上でなければならない。

3.5.2 赤血球凝集試験

3.5.2.1 試験材料

3.5.2.1.1 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。

3.5.2.2 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、60 分間静置した後、赤血球凝集の有無を観察する。

3.5.2.3 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、640 倍以上でなければならない。

3.6 不活化ウイルス浮遊液の試験

3.6.1 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。

3.6.2 不活化試験

3.6.2.1 試験材料

3.6.2.1.1 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。培養細胞を用いて接種する場合は、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するか、不活化剤を中和した後、これを無菌的に回収して注射材料とする。

3.6.2.1.2 発育卵又は培養細胞

適当と認められた発育卵又は培養細胞を用いる。

3.6.2.2 試験方法

発育卵を用いる場合は、注射材料を 10 個以上の発育卵の尿膜腔内に 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、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の有無を観察する。

培養細胞を用いる場合は、接種材料の 100 μ L と鶏胚肝初代細胞 2.0mL を 6 穴プレートの 5 穴に分注、混合し、37 $^{\circ}$ C で 5 日間以上培養した後、1 代以上継代し 5 日間以上培養観察し、CPE の有無を観察する。試験最終日に各穴の培養液を 50 μ L ずつ採取し、鶏赤血球浮遊液を加え、60 分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

3.6.2.3 判定

胚については、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。

培養細胞については、CPE を認めず、培養液に赤血球凝集を認めてはならない。

3.7 原液の試験

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。

3.8 小分製品の試験

3.8.1 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、静置すれば下底に水層の分離を生じる場合があるが、振とうすれば白色の均一な液体でなければならない、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。

3.8.2 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。

3.8.3 チメロサル定量試験

チメロサル添加製剤については、適当と認められた方法で試験品を処理したものを試料とし、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。

3.8.4 ホルマリン定量試験

ホルマリン添加製剤については、適当と認められた方法で試験品を処理したものを試料とし、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。

3.8.5 安全試験

3.8.5.1 試験材料

3.8.5.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.8.5.1.2 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 4 ~ 10 週齢の鶏を用いる。

3.8.5.2 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頸部皮下又は脚部筋肉内に注射し、対照群と共に 3 週間又は 4 週間観察する。

3.8.5.3 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。

3.8.6 力価試験

3.8.6.1 試験材料

3.8.6.1.1 試験動物

3.8.5 の試験で用いた鶏を用いる。

3.8.6.1.2 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）を用いる。

3.8.6.2 試験方法

3.8.5 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 3 容を加え、20 分間処理した後、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 25 μ L 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、30 分間処理した後、0.5vol %の鶏赤血球浮遊液を 50 μ L ずつ加えて振とう混合し、60 分間静置した後に赤血球凝集の有無を観察する。

3.8.6.3 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 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、製造後 3 年 3 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。

5 その他

付記 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 株又は適当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。