

鶏伝染性喉頭気管炎凍結生ワクチン（シード）

平成 22 年 7 月 12 日 (告示第 1038 号) 新規追加

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒鶏伝染性喉頭気管炎ウイルスを同規格に適合した初代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 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 2.6 に適合した鶏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。

2.1.4 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 2.6 に適合した鶏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。

2.1.5 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 2.6 に適合した鶏胚初代細胞で増殖する。

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について、3.1.3 の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 初代細胞

SPF 動物規格の 2.6 に適合した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。

2.2.3 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）

2.2.3.1 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 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（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。

2.3 原液

2.3.1 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。ウイルス接種前の個別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、3.3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、適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、3.4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、適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、3.5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1.4.2.1.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.2 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。

3.1.1.5 対象動物を用いた免疫原性試験

一般試験法の対象動物を用いた免疫原性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。

3.1.1.6 対象動物を用いた安全性確認試験

一般試験法の対象動物を用いた安全性確認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。

3.1.1.7 病原性復帰確認試験

一般試験法の病原性復帰確認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 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 初代細胞の試験

3.2.1 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

3.2.1.1 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。

3.2.1.2 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。

3.2.1.3 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。

3.3 培養細胞の試験

静置培養の場合は、個体別培養細胞の 1 % 以上を、ファーメンター培養の場合は、個体別培養細胞の 1 vol % 以上又は 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。

3.3.1 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。

3.3.2 鶏赤血球凝集試験

3.3.1 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。

3.4 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。

3.4.2 ウイルス含有量試験

3.4.2.1 試験材料

3.4.2.1.1 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。

3.4.2.1.2 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。

3.4.2.2 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。

3.4.2.3 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。

3.5 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。

3.5.2 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。

3.5.3 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。

3.5.4 ウイルス含有量試験

3.4.2 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。

3.5.5 マーカー試験

3.5.5.1 試験材料

3.5.5.1.1 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。

3.5.5.1.2 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。

3.5.5.2 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 °C で 5 日間培養し、漿尿膜を観察する。

3.5.5.3 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。

3.5.6 安全試験

3.5.6.1 試験材料

3.5.6.1.1 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。

3.5.6.1.2 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。

3.5.6.2 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。

3.5.6.3 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。

3.5.7 力価試験

3.5.7.1 試験材料

3.5.7.1.1 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。

3.5.7.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 30 ~ 35 日齢の鶏を用いる。

3.5.7.1.3 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。

3.5.7.2 試験方法

試験動物 10 羽を試験群、5 羽を対照群とする。

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。

3.5.7.3 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、製造後 2 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。

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。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。