

鶏脳脊髄炎生ワクチン（シード）

平成 23 年 5 月 11 日（告示第 939 号） 新規追加

平成 25 年 1 月 22 日（告示第 257 号） 一部改正

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鶏脳脊髄炎ウイルスを同規格に適合した発育鶏卵で増殖させて得たウイルス液を調製した液状ワクチン又は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

鶏脳脊髄炎ウイルス 0596 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

1～4日齢の鶏に経口接種すると発症する。5週齢以上の鶏に筋肉内接種又は経口接種しても発症しない。

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℃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℃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－70℃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 発育鶏卵

SPF 動物規格の 1.1 に適合した4～6日齢のものを用いる。

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鶏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鶏卵について、3.2 の試験を行う。

2.3 原液

2.3.1 発育鶏卵の培養

1 回に処理する発育鶏卵を個別発育鶏卵とみなす。

個別発育鶏卵について、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 の発育鶏卵で培養した後、生存している感染鶏胚又は感染鶏胚の脳及び肝臓を採取し、乳剤を作り、ろ過、遠心又は精製処理して原液とする。原液に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。

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、相当と認められた安定剤を加えて調製し、最終バルクとする。最終バルクに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、乾燥製剤の場合は凍結乾燥して、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 1.4.2.1.1.1 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 個別ウイルス否定試験

鶏白血病ウイルス及び細網内皮症ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.1、3.2.1 及び 3.2.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.5 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 発育鶏卵の試験

3.2.1 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。

3.3 個体別発育鶏卵の試験

個体別発育鶏卵の 1 % 以上又は 30 個以上を対照発育鶏卵とし、これについて次に掲げる試験を行う。

3.3.1 培養観察

対照発育鶏卵を、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、鶏胚に異常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。

3.4 原液の試験

3.4.1 生菌数限度試験

一般試験法の生菌数限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。

3.4.2 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 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合した 4 ~ 6 日齢の発育鶏卵を用いる。

3.4.2.1.3 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 1 ~ 4 日齢の鶏を用いる。

3.4.2.2 試験方法

次のいずれかの方法によりウイルス量を測定する。

3.4.2.2.1 発育鶏卵接種試験

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 10 個以上の発育鶏卵の卵黄嚢内に注射して培養し、ふ化させる。ふ化した鶏について、運動失調、震え等の症状の有無を 9 日間観察する。発症した鶏を感染とみなし、EID₅₀ を算出する。

症状の疑わしい鶏がいる場合には、中枢神経の病理組織検査によって感染の有無を判定する。

3.4.2.2.2 鶏接種試験

試料を、それぞれ 10 羽の鶏のそ嚢内にあつては 1.0mL ずつを、脳内にあつては 0.1mL ずつを注射し、3 週間観察する。

運動失調、震え等の症状を示した鶏を感染とみなし、CID₅₀ を算出する。

症状の疑わしい鶏がいる場合には、中枢神経の病理組織検査によって感染の有無を判定する。

3.4.2.3 判定

検体のウイルス含有量は、1 mL 中 10^{4.0}EID₅₀ 以上又は 1 mL 中 10^{4.0}CID₅₀ 以上でなければならない。

3.5 小分製品の試験

次に掲げる試験を行う。ただし、液状製剤の場合には、3.5.2 及び 3.5.3 の試験を行わない。

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、乾燥製剤にあつては、固有の色調を有する乾燥物でなければならない。液状製剤又は乾燥製剤を溶解したものは、固有の色調を有する均質な懸

濁液でなければならず、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。

3.5.2 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。

3.5.3 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。

3.5.4 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。

3.5.5 サルモネラ否定試験

一般試験法のサルモネラ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。

3.5.6 生菌数限度試験

一般試験法の生菌数限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。

3.5.7 ウイルス含有量試験

3.4.2.2.1 を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、経口投与の用法及び用量で溶解した場合、1羽分当たり $10^{3.0}EID_{50}$ 以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス量とする。

3.4.2.2.2 を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、経口投与の用法及び用量で溶解した場合、1羽分当たり $10^{3.0}CID_{50}$ 以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス量とする。

3.5.8 安全試験

3.5.8.1 試験材料

3.5.8.1.1 接種材料

試験品をリン酸緩衝食塩液を用いて2 mL 当たり 10羽分含まれるように調整したものを接種材料とする。

3.5.8.1.2 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4～5週齢の鶏を用いる。

3.5.8.2 試験方法

試験動物 10羽を試験群とし、5羽を対照群とする。

接種材料 2 mL ずつを試験群に経口接種し、対照群と共に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。

3.5.8.3 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。

3.5.9 力価試験

3.5.9.1 試験材料

3.5.9.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

3.5.9.1.2 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4～5週齢の鶏を用いる。

3.5.9.1.3 沈降反応抗原

鶏脳脊髄炎ウイルス沈降反応抗原（付記1）を用いる。

3.5.9.2 試験方法

試験動物の 10羽を試験群、3羽を対照群とする。

接種材料 1羽分ずつを試験群にそれぞれ経口接種し、4週後に得られた各個体の血清について沈降反応を行う。また、非接種鶏 3羽を対照群として、試験群と隔離して飼育し、4週後に得られた各個体の血清について沈降反応を行う。

4 単位の沈降反応抗原を寒天ゲル（付記 2）の中心の穴に、被検血清、4 単位の参照陽性血清（付記 3）及び参照陰性血清（付記 4）を周囲の穴に分注した後、乾燥を防ぎながら室温で 48 ～ 72 時間反応させ、沈降線の有無を観察する。

3.5.9.3 判定

抗原と各血清との間に特異的沈降線を認めたものを陽性とし、認めないものを陰性とする。

試験群の血清の 80 %以上が陽性でなければならず、対照群の血清は全て陰性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 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、その有効期間とする。

5 その他

5.1 添付文書等記載事項

- 1 10 週齢未満の鶏に接種してはならない旨
- 2 種鶏においては、投与後少なくとも 4 週間は種卵を採取してはならない旨
- 3 強制経口投与するワクチンでは、ワクチン接種鶏は、鶏群全体に分布させる旨

付記 1 鶏脳脊髄炎ウイルス沈降反応抗原

鶏脳脊髄炎ウイルス鶏胚馴化 Van Roekel 株又はこれと同等と認められた株に感染した鶏胚脳乳剤を精製濃縮したもの

付記 2 寒天ゲル

寒天及び塩化ナトリウムをそれぞれ 0.9 ～ 1.0w/v %及び 12 ～ 15w/v %となるようにリン酸緩衝食塩液又はペロナール緩衝食塩液に溶かした後、適当と認められた防腐剤を加える。スライドグラス（26×76mm）にこれを 5 mL 注ぎ、固まらせる。固まった後、寒天スライドに直径 3 mm の穴を中心に、その周囲に相互に 3 mm の間隔で 6 個の穴を空ける。

付記 3 参照陽性血清

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鶏を鶏脳脊髄炎ウイルスで免疫して得た血清

付記 4 参照陰性血清

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鶏から得た血清