

鶏貧血ウイルス感染症生ワクチン（シード）

平成 22 年 3 月 3 日（告示第 394 号） 新規追加

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒鶏貧血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

弱毒鶏貧血ウイルス 26P4 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

MDCC-MSB1 細胞で CPE を伴って増殖する。

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 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°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 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°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 1.1 に適合した発育鶏卵で増殖する。

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 発育鶏卵

SPF 動物規格の 1.1 に適合した 2 日齢の発育鶏卵を用いる。

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鶏卵又はプロダクションシードウイルスを増殖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 の発育鶏卵の卵黄嚢内に接種し、ウイルスの増殖極期の感染鶏胚を採取し、乳剤とし、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、凍結乾燥し、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 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 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 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、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 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、これについて次の試験を行う。

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、0.5 vol % の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

検体を細胞増殖用培養液（付記 1）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

MDCC-MSB1 細胞浮遊液を用いる。

3.4.2.2 試験方法

細胞増殖用培養液で 4×10^5 /mL に調整した細胞浮遊液を 96 穴細胞培養用プレートに 100 μ L 分注後、試料 100 μ L ずつをそれぞれ 5 穴に加え、39 °C 5 vol % 炭酸ガス下で培養する。培養開始後 2 日目に細胞培養液 20 μ L を採取し、細胞増殖用培養液 180 μ L を小分けした 96 穴組織培養用プレートに移して培養する。この継代を 6 回繰り返す、7 日目継代後 2 日目に細胞を観察する。

3.4.2.3 判定

対照細胞は涙滴状ないし楕円形を示して増殖し、その培養液は黄色を呈しているとき、細胞が消失又は激減し、破片状を示す CPE 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 $10^{6.2}$ 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均質な懸濁液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。

3.5.2 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 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。

3.5.5 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。

3.5.6 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 $10^{3.0}$ TCID₅₀ 以上でなければならない。

3.5.7 安全試験

3.5.7.1 試験材料

3.5.7.1.1 注射材料

試験品を溶解用液を用いてウイルスが 0.2 mL 当たり 10 羽分含まれるように調整し、注射材料とする。

3.5.7.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 4～5 週齢の鶏を用いる。

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。

注射材料 0.2 mL ずつを試験群の胸部筋肉内に注射し、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。

3.5.7.3 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。

3.5.8 力価試験

3.5.8.1 試験材料

3.5.8.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.8.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 4～5 週齢の鶏を用いる。

3.5.8.1.3 中和試験用ウイルス

MDCC-MSB1 細胞で増殖させた鶏貧血ウイルス 26P4 株を用いる。

3.5.8.1.4 培養細胞

MDCC-MSB1 細胞浮遊液を用いる。

3.5.8.2 試験方法

試験動物 10 羽を試験群、3 羽を対照群とする。

注射材料 0.2 mL を試験群の胸部筋肉内に注射し、対照群とともに 3 週間観察する。

試験終了時、試験群及び対照群から得られた各個体の血清について血清希釈法により中和試験を行う。

血清を非働化し、細胞増殖用培養液で 2 倍階段希釈する。各希釈血清と 100 μ L 中に約 200 TCID₅₀ を含む中和試験用ウイルスを等量混合し、4℃で 18～24 時間処理する。各混合液 20 μ L ずつをそれぞれ 96 穴組織培養用プレートの 4 穴に分注する。これに細胞増殖用培養液で 2×10^5 /mL に調整した細胞浮遊液 180 μ L ずつを加えて 39℃ 5 vol % 炭酸ガス下で培養する。培養開始後 2 日目に培養液 20 μ L を採取し、細胞増殖用培養液 180 μ L を小分けした 96 穴組織培養用プレートに加え、継代し、培養する。この継代を 6 回繰り返す、7 代目継代後 2 日目に細胞を観察する。

3.5.8.3 判定

培養細胞 4 穴中 2 穴以上に CPE の阻止を認めた血清の最高希釈倍数を血清の中和抗体価とする。

試験群の 80 % 以上が中和抗体価 256 倍以上でなければならない。この場合、対照群はすべて 16 倍未満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 4 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 細胞増殖用培養液

1,000 mL 中

牛胎子血清

100 mL

RPMI-1640 (付記 2)

残 量

炭酸水素ナトリウムで pH を 7.8 ~ 8.2 に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 2 RPMI-1640

適当と認められた品質の液体製品