

鶏伝染性コリーザ（A・C型）（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）一部改正

1 定義

シードロット規格に適合したヘモフィルス・パラガリナルムA型菌及びC型菌の培養菌液をそれぞれ不活化したものを混合し、アルミニウムゲル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 ヘモフィルス・パラガリナルムA型菌

2.1.1.1 名称

ヘモフィルス・パラガリナルムA型菌 No.221 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

鶏及び発育鶏卵に対して病原性を示す。牛、馬、羊、鶏及びモルモットの赤血球を凝集する。

2.1.2 ヘモフィルス・パラガリナルムC型菌

2.1.2.1 名称

ヘモフィルス・パラガリナルムC型菌 H-18 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

鶏及び発育鶏卵に対して病原性を示す。

原株及び種菌は、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。

2.1.3 マスターシード菌

2.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の5～7日齢の発育鶏卵又は継代用培地（付記1）で増殖させ、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、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。

マスターシード菌について、3.1.1の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10代以内でなければならない。

2.1.4 ワーキングシード菌

2.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の5～7日齢の発育鶏卵又は継代用培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、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。

ワーキングシード菌について、3.1.2の試験を行う。

2.1.5 プロダクションシード菌

2.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の5～7日齢の発育鶏卵又は継代用培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、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菌を保存する場合は、3.1.3の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 発育鶏卵

2.2.1.1 マスターシード菌、ワーキングシード菌及びプロダクションシード菌の増殖、継代及び保存に用いる発育鶏卵

SPF 動物規格の 1.1 に適合した 5～7 日齢のものを用いる。

マスターシード菌及びワーキングシード菌を増殖、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菌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。

2.2.2 培地

製造に相当と認められた培地を用いる。

2.3 原液（ヘモフィルス・パラガリナルムの各型菌原液）

2.3.1 培養

プロダクションシード菌を製造用培地に接種し、培養したもの、又は更に製造用培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.2 の試験を行う。

2.3.2 不活化

培養菌液又はこれを遠心して得た菌を、相当と認められた希釈用液に浮遊させたものにホルマリンを添加し、又は相当と認められた方法により不活化したものを不活化菌液とする。

不活化菌液について、3.3 の試験を行う。

2.3.3 アジュバントの添加

各型菌の不活化菌液又は各型菌の不活化菌液を混合したものに、相当と認められたアルミニウムゲル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、3.4 の試験を行う。

2.4 最終バルク

各型菌原液を混合し濃度調整したもの又は各型菌を混合した原液を濃度調整したものを最終バルクとする。この場合、相当と認められた保存剤を添加してもよい。

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、3.5 の試験を行う。

3 試験法

3.1 製造用株の試験

3.1.1 マスターシード菌の試験

3.1.1.1 同定試験

シードロットの規格 1.4.2.4.1.1 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 夾雑菌否定試験

3.1.1.2.1 液状チオグリコール酸培地培養法

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。

3.1.1.2.2 平板培地培養法

3.1.1.2.2.1 培地

継代用培地又は相当と認められた平板培地を用いる。

3.1.1.2.2.2 試験方法

検体 0.05mL ずつを平板培地 2 枚以上に接種し、37℃で 7 日間培養する。

3.1.1.2.2.3 判定

ヘモフィルス・パラガリナルム A 型菌又はヘモフィルス・パラガリナルム C 型菌以外の菌の発育を認めてはならない。

3.1.2 ワーキングシード菌の試験

3.1.2.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.3 プロダクションシード菌の試験

3.1.3.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2 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 培養菌液の試験

3.3.1 夾雑菌否定試験

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。

3.3.2 生菌数試験

3.4.2 の総菌数試験を実施するものについては、本試験を実施しなくてもよい。

3.3.2.1 試験材料

3.3.2.1.1 試料

検体を普通ブイヨンで 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.2.1.2 培地

継代用培地を用いる。

3.3.2.2 試験方法

各試料 0.1mL ずつをそれぞれ 2 枚以上の継代用培地に接種して培地表面に拡散させ、37 °C、5 vol %炭酸ガス下で 48 時間培養後、集落数を数える。

3.3.2.3 判定

各段階の希釈液ごとの集落数から生菌数を算出する。

検体の生菌数は、1 mL 中 10^8 個以上でなければならない。

3.4 不活化菌液の試験

3.4.1 不活化試験

3.4.1.1 試験材料

3.4.1.1.1 接種材料

検体を接種材料とする。

3.4.1.1.2 培地

継代用培地又は適当と認められた培地を用いる。

3.4.1.2 試験方法

接種材料 0.1mL ずつを 2 枚以上の継代用培地に接種して培地表面に拡散させ、37 °C、5 vol %炭酸ガス下で 48 時間培養後、集落の有無を観察する。

3.4.1.3 判定

接種材料を接種した全ての培地上にヘモフィルス・パラガリナルム A 型菌又はヘモフィルス・パラガリナルム C 型菌の集落を認めてはならない。

3.4.2 総菌数試験

3.3.2 の生菌数試験を実施するものについては、本試験を実施しなくてもよい。

3.4.2.1 試験材料

3.4.2.1.1 試料

検体又は検体をリン酸緩衝食塩液で至適濃度に希釈したものを試料とする。

3.4.2.2 試験方法

試料の濁度を分光光度計で測定する。

3.4.2.3 判定

標準検量線、濁度の測定値及び検体の希釈度から総菌数を算出する。

検体中の総菌数は、1 mL 中 10^8 個以上でなければならない。

3.5 原液の試験

3.5.1 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 小分製品の試験

3.6.1 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。

3.6.2 pH 測定試験

一般試験法の pH 測定試験法を準用して試験するとき、pH は、固有の値を示さなければならない。

3.6.3 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。

3.6.4 チメロサル定量試験

チメロサル添加製剤については、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。

3.6.5 ホルマリン定量試験

ホルマリン添加製剤については、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。

3.6.6 アルミニウム定量試験

一般試験法のアルミニウム定量法を準用して試験するとき、アルミニウムの含有量は、1 mL 中 1.0mg 以下でなければならない。

3.6.7 安全試験

3.6.7.1 試験材料

3.6.7.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.6.7.1.2 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。

3.6.7.2 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 1 羽分ずつを試験群の筋肉内に注射し、対照群と共に 3 週間観察し、試験最終日に注射部位を剖検する。

3.6.7.3 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。また、剖検したとき注射部位に著しい異常を認めてはならない。

3.6.8 力価試験

3.6.8.1 試験材料

3.6.8.1.1 試験動物

3.6.7 の試験に用いた動物を用いる。

3.6.8.1.2 赤血球凝集抗原

「鶏伝染性コリーザ（A 型）診断用赤血球凝集抗原」及び鶏伝染性コリーザ（C 型）赤血球凝集抗原（付記 2）を用いる。

3.6.8.2 試験方法

3.6.7 の試験最終日に試験動物から得られた各個体の血清について、鶏伝染性コリーザ（A型）赤血球凝集抑制試験及び鶏伝染性コリーザ（C型）赤血球凝集抑制試験を行う。

3.6.8.3 判定

赤血球の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。HI 抗体価 5 倍以上を陽性とする。

それぞれの赤血球凝集抑制反応において、試験群の 70 %以上が陽性でなければならない。この場合、対照群では、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、その期間とする。

付記 1 継代用培地

1,000mL 中

ペプトン

1 g

塩化ナトリウム

5 g

寒天

15 g

鶏肉水

残 量

pH を 7.0 ～ 7.4 に調整し、121 °C で 15 分間高圧滅菌する。

約 50 °C に冷却した後、鶏の非働化血清を 3 ～ 5 vol % となるように加える。

なお、適当と認められた V 因子を加えてもよい。

付記 2 鶏伝染性コリーザ（C型）赤血球凝集抗原

ヘモフィルス・パラガリナルム C 型菌を適当な方法で処理し、1 vol % 固定鶏赤血球を用いて反応を行うとき、赤血球凝集価が 80 倍以上のもの。