

トリレオウイルス感染症生ワクチン

平成 21 年 3 月 26 日（告示第 420 号） 新規追加

1 定義

弱毒トリレオウイルスを培養細胞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

弱毒トリレオウイルス P100 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

鶏胚初代細胞に接種すると、CPE を伴って増殖する。

33℃及び37℃では増殖するが、41℃では増殖しない。

2.1.3 継代及び保存

原株及び原種ウイルスは、生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞で継代する。

原株の継代は、原種ウイルスの製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行ってはならない。

原種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は3代以内でなければならない。

種ウイルスは、原種ウイルスから2代以内に製造しなければならない。

原株及び原種ウイルスは、凍結して-70℃又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

種ウイルスは、原種ウイルスからワクチンの製造ごとに用時調製する。

2.2 製造用材料

2.2.1 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞又は製造に相当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.3 原液

2.3.1 細胞の培養

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、3.1 の試験を行う。

2.3.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞に接種し、培養後、ウイルスの増殖極期の個別培養細胞ごとに採取した培養液のろ液又は遠心上清を原液とする。この場合、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、3.2 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。

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、3.3 の試験を行う。

3 試験法

3.1 培養細胞の試験

個体別培養細胞の1%以上を対照培養細胞とし、これについて次の試験を行う。

3.1.1 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。

3.1.2 鶏赤血球凝集試験

3.1.1の試験最終日に培養液を採取し、0.5vol%鶏赤血球液を等量加え、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。

3.2 原液の試験

3.2.1 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。

3.2.2 ウイルス含有量試験

3.2.2.1 試験材料

3.2.2.1.1 試料

検体を5～10×10⁵個/mLに調整した生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞浮遊液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.2.2 試験方法

試料の0.2mLずつをそれぞれ96穴マイクロプレートの10穴に入れた後、37℃5vol%炭酸ガス下で5～7日間培養し、観察する。

3.2.2.3 判定

培養細胞に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、1mL中10^{6.0}TCID₅₀以上でなければならない。

3.3 小分製品の試験

3.3.1 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。

3.3.2 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。

3.3.3 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。

3.3.4 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。

3.3.5 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。

3.3.6 迷入ウイルス否定試験

一般試験法の迷入ウイルス否定試験法1.1、2.1.1、2.1.2、2.2.1及び2.2.2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、中和用血清は、抗トリレオウイルス血清（付記1）を非働化したものを用いる。

3.3.7 ウイルス含有量試験

3.3.7.1 試験材料

3.3.7.1.1 試料

検体を細胞増殖用培養液（付記2）で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.7.1.2 細胞浮遊液

生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞を細胞増殖用培養液で1×10⁶個/mLに調整

したものを用いる。

3.3.7.2 試験方法

試料の 0.1mL ずつをそれぞれ 96 穴マイクロプレートの 5 穴に入れた後、細胞浮遊液を 0.1mL ずつ加えて、37℃ 5 vol %炭酸ガス下で 7 日間培養し、観察する。

3.2.7.3 判定

培養細胞に CPE を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。

試験品のウイルス含有量は、1 羽分当たり 10^{3.5}TCID₅₀ 以上 10^{6.5}TCID₅₀ 未満でなければならない。

3.3.8 安全試験

3.3.8.1 試験材料

3.3.8.1.1 注射材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で溶解し、0.2mL 当たり 10 羽分となるように調整したものを注射材料とする。

3.3.8.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 1 日齢の鶏を用いる。

3.3.8.2 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 ずつを試験群の頸部皮下に注射し、対照群とともに 5 週間観察する。

3.3.8.3 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。

3.3.9 力価試験

3.3.9.1 試験材料

3.3.9.1.1 注射材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で溶解し、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。

3.3.9.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 35 日齢の鶏を用いる。

3.3.9.1.3 中和試験用ウイルス

トリレオウイルス P100 株を生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞に接種し、37℃ で 72 時間培養したものをを用いる。

3.3.9.1.4 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞を細胞増殖用培養液で 1 × 10⁶ 個/mL に調整したものをを用いる。

3.3.9.2 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 0.2mL ずつ頸部皮下に注射し、4 週後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、血清希釈法により中和試験を行う。

血清を非働化し、適当と認められる希釈液で 2 倍階段希釈する。各希釈血清と 0.1mL 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 24 時間処理する。各混合液 0.1mL ずつをそれぞれ 96 穴マイクロプレートの 4 穴に入れた後、細胞浮遊液を 0.1mL ずつ加えて、37℃ 5 vol %炭酸ガス下で 5 日間培養し、観察する。

3.3.9.3 判定

培養細胞の 2 穴以上に CPE の阻止を示し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 2 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、すべて 2 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。

付記1 抗トリレオウイルス血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏をトリレオウイルス P100 株又適当と認められた株で免疫して得た血清で、試験品中のワクチンウイルスを完全に中和する力価を有するもの

付記2 細胞増殖用培養液

1,000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス 2.95 g

牛胎子血清 50 mL

イーグル MEM 残量

炭酸水素ナトリウムで pH7.8 ~ 8.2 に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。