

鶏伝染性ファブリキウス嚢病(抗血清加)生ワクチン

平成 21 年 11 月 12 日 (告示第 1569 号) 新規追加

1 定義

弱毒伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスを発育鶏卵で増殖させて得たウイルス液と伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスで免疫した鶏血清を混合し、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

弱毒伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス 2512G-61 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

原株は 9 ～ 11 日齢の発育鶏卵の漿尿膜上に接種すると増殖し、その鶏胚は 3 ～ 7 日後に死亡又は全身性の出血等の変化を示す。

2.1.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の発育鶏卵で継代する。

原株の継代は、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。

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 2 代以内でなければならない。

原株及び種ウイルスは、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。

2.2 製造用材料

2.2.1 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 9 ～ 11 日齢のものを用いる。

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。

ウイルス接種前の発育鶏卵について 3.1 の試験を行う。

2.3.2 ウイルスの培養

種ウイルスを発育鶏卵の羊膜腔内に接種し、ウイルスの増殖極期の感染鶏胚、漿尿膜及び羊膜液を採取する。採取したものに安定剤を加えて乳化し、濾過後、保存剤を添加し原液とする。

原液について 3.2 の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液、抗伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス鶏血清、安定剤及び保存剤を混合し、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 発育鶏卵の試験

個別発育鶏卵の 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。

3.1.1 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。

3.1.2 鶏赤血球凝集試験

3.1.1 の試験最終日に尿膜腔液を採取し、0.5vol%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。

3.2 原液の試験

3.2.1 ウイルス含有量試験

3.2.1.1 試験材料

3.2.1.1.1 試料

検体をトリプトース・ホスフェイト・ブロスで 5 倍に希釈した後、10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.1.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 9～11 日齢の発育鶏卵を用いる。

3.2.1.2 試験方法

試料 0.2 mL ずつをそれぞれ 7 個以上の発育鶏卵の漿尿膜上に接種し、37 °C で 7 日間培養し、観察する。

3.2.1.3 判定

鶏胚の特徴的な病変を認めたもの及び鶏胚の死亡を感染とみなし、EID₅₀ を算出する。ただし、24 時間以内に死亡したものは除外する。

検体のウイルス含有量は、1mL 中 10^{4.7} ～ 10^{6.0}EID₅₀ 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、抗伝染性ファブリキウス囊病ウイルス血清（付記 1）を非働化したものを用いる。

3.3.7 鶏胚感受性試験

3.3.7.1 試験材料

3.3.7.1.1 試料

試験品を生理食塩液で 0.2mL 中 1 羽分となるように調製したものを試料とする。

3.3.7.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 9～11 日齢の発育鶏卵を用いる。

3.3.7.1.3 試験方法

試料の 0.2mL ずつをそれぞれ 10 個の発育鶏卵の漿尿膜上に接種し、37 °C で 7 日間培養し死亡の

有無を観察する。

3.3.7.3 判定

鶏胚は 5 日目までに死亡してはならず、7 日目までの死亡率は 50 %以下でなければならない。ただし、24 時間以内に死亡したものは除外する。

3.3.8 安全試験

3.3.8.1 試験材料

3.3.8.1.1 接種材料

試験品を生理食塩液で 0.2mL 中 10 羽分となるように調整したものを接種材料とする。

3.3.8.1.2 接種動物

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。接種材料 0.2mL ずつを試験群の頸部皮下接種し、対照群とともに 7 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。また、剖検したときファブリキウス囊の著しい萎縮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 接種材料

試験品を生理食塩液で 0.2mL 中 1 羽分となるように調整したものを接種材料とする。

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 1 日齢の鶏を用いる。

3.3.9.1.3 中和試験用ウイルス

弱毒伝染性ファブリキウス囊病ウイルス 2512G-87 株を生ワクチン製造用材料の規格 2.2.1 の鶏胚初代細胞に接種し、37 °C で 72 時間培養したものをを用いる。培養液中のウイルス含有量は、1mL 中 $10^{6.0}$ PFU 以上でなければならない。

3.3.9.1.4 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の発育鶏卵の鶏胚から作成した鶏胚初代細胞をシャーレで培養し、単層となったものをを用いる。

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。接種材料 0.2mL ずつを試験群に頸部皮下接種し、4 週間後の血清について中和試験を行う。

血清を非働化し、適当と認められた希釈液で 4 倍階段希釈する。各希釈血清と 0.1mL 中に 100 ~ 200PFU を含む中和試験用ウイルス液を等量混合し、4 °C で 18 ~ 24 時間処理する。各混合液 0.1mL ずつをそれぞれ 2 枚以上の培養細胞に接種し、37 °C で 60 分間吸着した後、第 1 次重層寒天培地（付記 2）を重層し、37 °C で 2 ~ 3 日間静置培養する。その後、第 2 次重層寒天培地（付記 3）を重層し、37 °C でさらに 24 時間静置培養し、観察する。

3.3.9.3 判定

ブラック数を 50 %減少させる血清の最高希釈倍数で中和抗体価を表すとき、試験群の 80 %以上が 1,000 倍以上でなければならない。この場合、対照群は、すべて 10 倍以下でなければならない。

3.3.10 免疫抑制否定試験

3.3.10.1 試験材料

3.3.10.1.1 接種材料

試験品を生理食塩液で 0.2mL 中 10 羽分となるように調整したものを接種材料とする。

3.3.10.1.2 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。

3.3.10.2 試験方法

試験動物 10 羽を試験群、10 羽を対照群とする。接種材料 0.2mL ずつを試験群に頸部皮下接種し、14 日目に B1 株で製造された「ニューカッスル病生ワクチン」1 羽分を対照群とともに点鼻接種し、21 日目に 1mL 中 $10_{4.0}$ 致死量となるように調整した強毒ニューカッスル病ウイルス佐藤株を全羽数の筋肉内に 1mL ずつ接種し、14 日間観察する。

3.3.10.3 判定

試験終了時、試験群及び対照群ともに 80 %以上耐過しなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は 3 年間とする。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 抗伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス血清

伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスで免疫した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、試験品中のウイルスを完全に中和する力価を有するもの

付記 2 第 1 次重層寒天培地

1,000mL 中

寒天	10.0 g
トリプトース・ホスフェイト・ブロス	2.95 g
牛血清	0.0 ~ 10.0 mL
イーグル MEM	残 量

炭酸水素ナトリウムで pH7.0 ~ 7.4 に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 3 第 2 次重層寒天培地

第 1 次重層寒天培地に 0.5w/v% ニュートラルレッド液を 2vol% となるように加えたもの