

鶏伝染性喉頭気管炎生ワクチン（シード）

平成22年7月12日（告示第1038号）新規追加
平成24年3月13日（告示第675号）一部改正
令和2年12月11日（告示第2406号）一部改正

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒鶏伝染性喉頭気管炎ウイルスを同規格に適合した発育鶏卵又は初代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

弱毒鶏伝染性喉頭気管炎ウイルスCE株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

30日齢の鶏に点鼻又は点眼接種すると、一過性の呼吸器症状及び結膜の充血を呈することがある。10日齢の発育鶏卵の漿尿膜上に接種すると、特有のポックを形成する。

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又は同規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞、鶏胚腎初代細胞若しくは鶏胚肝初代細胞で増殖させ、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又は同規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞、鶏胚腎初代細胞若しくは鶏胚肝初代細胞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又は同規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞、鶏胚腎初代細胞若しくは鶏胚肝初代細胞で増殖させる。

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°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は、3.1.3の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 発育鶏卵を用いる場合

SPF動物規格の1.1に適合した8～10日齢のものを用いる。

マスターシードウイルス及び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。

2.2.2 初代細胞を用いる場合

2.2.2.1 初代細胞

SPF動物規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞又は鶏胚肝初代細胞を用いる。

2.2.2.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.2.3 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）

2.2.2.3.1 増殖、継代及び保存

マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）は、2.2.2.2の培養液で増殖し、継代及び保存しない。

マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）について、3.3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、3.4の試験を行う。

2.3.2 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）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。ウイルス接種前のマスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）に異常を認めてはならない。

個別培養細胞について、3.5の試験を行う。

2.3.3 ウイルスの培養

2.3.3.1 発育鶏卵を用いる場合

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て、尿膜腔液を採取し、そのろ液、遠心上清又はこれを濃縮したものを原液とする。この場合、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、3.6の試験を行う。

2.3.3.2 培養細胞を用いる場合

プロダクションシードウイルスを2.3.2の細胞で培養し、相当と認められた時期に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、相当と認められた安定剤又は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、3.6の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液を混合し、相当と認められた希釈液及び安定剤を加えて、最終バルクとする。この場合、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、凍結乾燥し、小分製品とする。

小分製品について、3.7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 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1.1及び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に規定する製剤については、本試験を実施しなくてもよい。

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1.1、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に規定する製剤については、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の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。

3.1.1.8 マーカー試験

小分製品において、マーカー試験を実施する場合には、本試験の実施を省略することができる。

3.1.1.8.1 試験材料

3.1.1.8.1.1 試料

検体のウイルス含有量を0.1mL当たり1/100羽分となるように適当と認められた希釈液で調

整したものを試料とする。

3.1.1.8.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1の11～12日齢のものを用いる。

3.1.1.8.2 試験方法

試料0.1mLずつを5個の発育鶏卵の漿尿膜上に接種し、37℃で5日間培養し、漿尿膜を観察する。

3.1.1.8.3 判定

漿尿膜上に固有のポックの形成を認めなければならない。

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 初代細胞の試験

3.3.1 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）の試験

3.3.1.1 培養性状試験

シードロット規格の2.2.4.2.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3.1.2 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。

3.3.1.3 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。

3.4 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。

3.4.1 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。

3.4.2 鶏赤血球凝集試験

3.4.1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。

3.5 個体別培養細胞の試験

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。

3.5.1 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。

3.5.2 鶏赤血球凝集試験

3.5.1の試験最終日に培養液を採取し、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。

3.6 原液の試験

3.6.1 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。

3.6.2 ウイルス含有量試験

3.6.2.1 試験材料

3.6.2.1.1 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。

3.6.2.1.2 発育鶏卵又は培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格1.1の9～11日齢の発育鶏卵又は小試験管に3～5日間培養し、単層となった同規格2.2.1の鶏腎初代細胞を用いる。

3.6.2.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ5個以上の発育鶏卵の漿尿膜上に接種し、37℃で5日間培養し、観察する。あるいは、試料0.1mLずつそれぞれ4本以上の培養細胞に接種し、37℃で60分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液（付記）0.5mLずつを加え、37℃で7日間回転培養し、観察する。

3.6.2.3 判定

漿尿膜に特有のポックを認めた場合又は培養細胞にCPEを認めた場合を感染とみなし、EID₅₀又はTCID₅₀を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL中10^{5.5}EID₅₀又は10^{6.5}TCID₅₀以上でなければならない。

3.7 小分製品の試験

3.7.1 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。

3.7.2 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。

3.7.3 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。

3.7.4 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。

3.7.5 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。

3.7.6 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。

3.7.7 ウイルス含有量試験

3.6.2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 $10^{3.5}EID_{50}$ 又は $10^{4.0}TCID_{50}$ 以上でなければならない。

3.7.8 マーカー試験

3.1.1.8を準用して試験するとき、適合しなければならない。マスターシードウイルスにおいて、マーカー試験を実施する場合には、本試験の実施を省略することができる。

3.7.9 安全試験

3.7.9.1 試験材料

3.7.9.1.1 接種材料

試験品を溶解用液を用いて0.03mL当たり5羽分となるように濃度を調整し、接種材料とする。

3.7.9.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の4～5週齢の鶏を用いる。

3.7.9.2 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0.03mLずつを試験群に点眼接種し、対照群と共に14日間観察する。

試験開始時及び試験終了時に体重を測定する。

3.7.9.3 判定

観察期間中、対照群においては、臨床的な異常を認めてはならず、試験群においては、一過性の呼吸器症状及び結膜の充血を呈することがあっても、その他の異常を認めてはならない。

3.7.10 力価試験

3.7.10.1 試験材料

3.7.10.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

3.7.10.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の4～5週齢の鶏を用いる。

3.7.10.1.3 攻撃ウイルス

強毒鶏伝染性喉頭気管炎ウイルスNS-175株を用いる。攻撃ウイルス量は、約40日齢の鶏の気管内に0.1mLを接種した場合、接種鶏の50%以上が発症する量の100倍量とする。

3.7.10.2 試験方法

試験動物10羽を試験群、5羽を対照群とする。

試験群に接種材料1羽分ずつ点眼接種する。14日後に試験群及び対照群に攻撃ウイルス0.1mLずつを気管内に接種して攻撃し、10日間観察する。

3.7.10.3 判定

試験終了時、試験群は、60%以上異常なく耐過しなければならない。この場合、対照群は、80%以上発症しなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後1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 ウイルス増殖用培養液

1,000mL中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス

2.95 g

牛血清

25 mL

イーグルMEM

残 量

pHを7.2～7.6に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。