

ニューカッスル病生ワクチン（シード）

平成 22 年 7 月 12 日 (告示第 1038 号) 新規追加

平成 29 年 10 月 11 日 (告示第 1539 号) 一部改正

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒ニューカッスル病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

弱毒ニューカッスル病ウイルス B 1 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

8 週齢の鶏に $10^{6.0}\text{EID}_{50}$ を点眼接種し、又は総排泄腔に擦入しても病原性を示さない。

10 日齢の発育鶏卵に 1 EID_{50} を注射すると増殖し、半数以上の鶏胚を約 5 日で死亡させる。

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 9～11 日齢のものをを用いる。

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、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。

2.3 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体別発育鶏卵とみなす。

個体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。

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、相当と認められた希釈液及び安定剤を加えて調製し、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。

小分製品が錠剤である製剤については、原液を混合して凍結乾燥し、相当と認められた賦形剤及び滑沢剤を加えて調製し、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て凍結乾燥し、小分製品とする。

小分製品が錠剤である製剤については、最終バルクを錠剤に成型し、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 1.4.2.1.1.1.2 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 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 に規定する試験を実施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 に規定する試験を実施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。

3.1.2 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、0.5vol % 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 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。

3.4.2 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。

3.4.2.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 9 ～ 11 日齢のものをを用いる。

3.4.2.2 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尿膜腔内に注射し、37 °C で 5 日間培養し、観察する。試験最終日に尿膜腔液を採取し、0.5vol % 鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その方法とする。

3.4.2.3 判定

尿膜腔液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、 EID_{50} 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、1 mL 中 $10^{8.8}EID_{50}$ 以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

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液体又は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 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。

3.5.5 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。

3.5.6 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。

3.5.7 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 $10^{5.5} \text{EID}_{50}$ 以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.5.8 マーカー試験

3.5.8.1 試験材料

3.5.8.1.1 試料

試験品をリン酸緩衝食塩液を用いてウイルスが 0.5mL 当たり 1羽分及び 1/10羽分含まれるように調整し、試料とする。

3.5.8.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 9～10 日齢の発育鶏卵の胚から得た細胞を細胞増殖用培養液（付記 1）で浮遊し、約 20cm² 以上のシャーレに分注し、培養し、単層となったものを用いる。

3.5.8.2 試験方法

試料 0.5mL をそれぞれ 2 枚以上の培養細胞に接種し、37℃で 60 分間静置した後、重層寒天培地（付記 2）を重層し、37℃で 4 日間培養し、ブラック形成の有無を観察する。

3.5.8.3 判定

細胞にブラックの形成を認めてはならない。

3.5.9 安全試験

3.5.9.1 試験材料

3.5.9.1.1 接種材料

試験品をリン酸緩衝食塩液を用いてウイルスが 0.03mL 当たり 10羽分含まれるように調整し、接種材料とする。

3.5.9.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 4 日齢の鶏を用いる。

3.5.9.2 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。

3.5.9.3 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。

3.5.10 力価試験

3.5.10.1 試験材料

3.5.10.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

3.5.10.1.2 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。

3.5.10.1.3 攻撃ウイルス

強毒ニューカッスル病ウイルス佐藤株で感染させた尿膜腔液であり、約 40 日齢の鶏の筋肉内に注射し、そのウイルス量を測定するとき、1 mL 中 $10^{6.0}$ 致死量以上を有するものを用いる。

使用時、リン酸緩衝食塩液を用いて、1 mL 中 $10^{4.0}$ 致死量となるように調整する。

3.5.10.2 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 羽分ずつを点鼻接種し、2 週間後に試験群及び対照群の全てに攻撃ウイルス 1 mL を筋肉内に注射して攻撃し、2 週間観察する。

3.5.10.3 判定

試験終了時、試験群は、80 %以上が異常なく耐過しなければならない。この場合、対照群は、100 %発病して死亡しなければならない。

3.5.11 崩壊試験

小分製品が錠剤である製剤について次の試験を行う。

3.5.11.1 試験方法

試験品 1 錠を 15 ～ 25 °C の水 200mL の入ったビーカーに入れ、ガスの発生が終了するまでの時間を測定する。

5 錠についてこの操作を繰り返す。

3.5.11.2 判定

ガスの発生が終了すると、水中において溶解又は分散して粒子の塊を認めない場合を崩壊したものとする。

全てが 6 分以内に崩壊しなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、1 年 6 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

1,000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス

2.95 g

牛血清

30 ～ 50 mL

イーグル MEM

残 量

炭酸水素ナトリウムで pH6.8 ～ 7.2 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 重層寒天培地

1,000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス

2.95 g

牛血清

10 mL

ニュートラルレッド

50 mg

寒天

9 g

イーグル MEM

残 量

炭酸水素ナトリウムで pH6.8 ～ 7.2 に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。