

鶏伝染性ファブリキウス嚢病生ワクチン（ひな用）（シード）

平成 22 年 3 月 3 日（告示第 394 号）新規追加
令和 2 年 12 月 11 日（告示第 2406 号）一部改正
令和 7 年 4 月 4 日（告示第 542 号）一部改正

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスを、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、初生ひなを含むひなに適用するワクチンである。

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 D78 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

1 日齢の鶏に皮下又は経口接種しても臨床症状及び免疫抑制作用を示さない。

鶏胚初代細胞に接種すると CPE を伴って増殖する。

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、同規格の 2.6 に適合した鶏胚初代細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖させ、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、同規格の 2.6 に適合した鶏胚初代細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖及び継代させる。

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、同規格の 2.6 に適合した鶏胚初代細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖させる。

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 発育鶏卵を用いる場合

2.2.1.1 発育鶏卵

SPF 動物規格の 1.1 に適合した 10～12 日齢のものを用いる。

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製造に相当と認められた細胞を用いる。

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 の培養液で増殖させ、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。ウイルス接種前の個別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、3.5 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 の発育鶏卵の卵黄嚢内又は尿膜腔内に接種し、増殖後、感染鶏胚を採取して乳剤とし、そ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。

なお、最終バルクについて 3.7 の試験を行う場合は、3.6.2 の試験を行わない。

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、そ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、原液を混合して相当と認められた希釈液及び安定剤を加えて凍結乾燥し、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。

粒状に凍結乾燥したものを小分製品とする製剤については、原液を規定量ずつ凍結乾燥させたものを最終バルクとする。

粒状に凍結乾燥した最終バルクについて、3.7 の試験を行う。

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。

粒状に凍結乾燥したものを小分製品とする製剤については、規定量となる分量を小分容器に充填し、小分製品とする。

小分製品について、3.8 の試験を行う。

なお、粒状に凍結乾燥された最終バルクを小分容器に充填した製剤について、3.8.2 の試験を行わない。

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 1.4.2.1.1.2 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 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 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 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、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 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 培養細胞の試験

静置培養の場合は、個体別培養細胞の 1 % 以上を、フアーメンター培養の場合は、個体別培養細胞の 1 vol% 以上又は 500mL 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%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又は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。

3.6.2 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、各階段の希釈液を試料とする。

3.6.2.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞で、単層となったものを用いる。

3.6.2.2 試験方法

試料の 0.2mL ずつを 4 枚以上の培養細胞に接種し、37℃で 60 分間静置吸着させた後、細胞維持用培養液（付記 1）を加え、37℃で 6 日間培養し、観察する。

3.6.2.3 判定

培養細胞に CPE を認めた場合を感染とみなし、TCID₅₀を算出する。検体のウイルス含有量は、1 mL 中 10^{6.8}TCID₅₀ 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

ウイルス含有量とする。

3.7 最終バルクの試験

3.7.1 ウイルス含有量試験

3.7.1.1 試験材料

3.7.1.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で溶解したものを、鶏胚初代細胞浮遊液で 10 倍階段希釈し、各階段の希釈液を試料とする。

3.7.1.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞の細胞浮遊液を用いる。

3.7.1.2 試験方法

試料の 0.2mL ずつを 96 穴プレートの 10 穴以上に加え、37℃で 7 日間培養し、観察する。

3.7.1.3 判定

培養細胞に CPE を認めた場合を感染とみなし、TCID₅₀を算出する。

3.8 小分製品の試験

3.8.1 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。

3.8.2 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。

3.8.3 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。

3.8.4 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。

3.8.5 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。

3.8.6 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。

3.8.7 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羽当たり 10^{4.0}TCID₅₀ 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。

3.8.8 マーカー試験

3.8.8.1 試験材料

3.8.8.1.1 試料

試験品をリン酸緩衝食塩液を用いてウイルスが 0.1mL 中 1 羽分となるように調製したものを試料とする。強毒伝染性ファブリキウス囊病ウイルスを 0.1mL 当たり 10^{4.0}EID₅₀ になるように調製したものを対照として用いる。

3.8.8.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞で、単層となったものを用いる。

3.8.8.2 試験方法

試料及び対照の 0.1mL ずつをそれぞれ 4 枚以上の培養細胞に接種し、37℃で 5～7 日間観察する。

3.8.8.3 判定

培養細胞に CPE を認めなければならない。この場合、対照を接種した培養細胞では、CPE を認めてはならない。

3.8.9 安全試験

3.8.9.1 試験材料

3.8.9.1.1 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 0.2mL 当たり 5 羽分含まれるように調製し、接種材料とする。

3.8.9.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 1 ～ 4 日齢の鶏を用いる。

3.8.9.2 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 0.2mL ずつを試験群に経口接種し、対照群とともに 5 週間観察し、試験最終日にファブリキウス嚢を剖検する。

3.8.9.3 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嚢の著しい萎縮を認めてはならない。

3.8.10 力価試験

3.8.10.1 試験材料

3.8.10.1.1 接種材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で 0.2mL 中 1 羽分となるように調製したものを接種材料とする。

3.8.10.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 1 ～ 4 日齢の鶏を用いる。

3.8.10.1.3 中和試験用ウイルス

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、培養した伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス D78 株又は適当と認められた株を用いる。

3.8.10.1.4 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞をシャーレで培養し、単層となったものを用いる。

3.8.10.2 試験方法

試験動物 10 羽に接種材料 0.2mL ずつを経口接種し、3 週間後に得られた各個体の血清について中和試験を行う。また非接種動物 3 羽を対照として、接種群と隔離して飼育し、3 週間後に得られた各個体の血清について中和試験を行う。

血清を非働化し、リン酸緩衝食塩液で 2 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℃で 18～24 時間処理する。各混合液 0.1mL ずつをそれぞれ 2 枚の培養細胞に接種し、37℃で 60 分間静置した後、第 1 次重層寒天培地（付記 2）を重層し、37℃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℃で更に 24 時間静置培養し、観察する。

3.8.10.3 判定

プラック数を 50%減少させる血清の最高血清希釈倍数で中和抗体価とする。

試験群の 80%以上が中和抗体価 200 倍以上でなければならない。この場合、対照群の中和抗体価は 10 倍以下でなければならない。

3.8.11 免疫抑制否定試験

3.8.11.1 試験材料

3.8.11.1.1 接種材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で 0.2mL 中 5 羽分となるように調製したものを接種材料とする。

3.8.11.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 1 ～ 4 日齢の鶏を用いる。

3.8.11.2 試験方法

試験動物 10 羽を試験群、10 羽を対照群とし、次のいずれかの試験を行う。

3.8.11.2.1 赤血球凝集抑制試験

接種材料 0.2mL ずつを試験群に皮下接種し、接種後 7 日目に B1 株の「ニューカッスル病生ワクチン」1 羽分を対照群と共に点鼻接種し、21 日目に採血し、ニューカッスル病ウイルスに対する赤血球凝集抑制反応を行う。

3.8.11.2.2 攻撃試験

接種材料 0.2mL ずつを試験群に経口接種し、接種後 14 日目に B1 株の「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する。点鼻接種後 21 日目に 1 mL 中 $10^{4.0}$ 致死量となるように調製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 1 mL ずつ注射し、14 日間観察する。

3.8.11.3 判定

3.8.11.2.1 の赤血球凝集抑制反応試験では、試験群及び対照群ともに赤血球凝集抑制抗体が上昇し、その赤血球凝集抑制抗体価に有意差 ($P < 0.05$) を認めてはならない。

3.8.11.2.2 の攻撃試験では、試験終了時、試験群及び対照群ともに 80% 以上が異常なく耐過しなければならない。

3.8.12 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。

3.8.12.1 試験方法

試験品 1 錠を 15～25℃ 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。

6 錠についてこの操作を繰り返す。

3.8.12.2 判定

ガスの発生が終了し、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 10 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 細胞維持用培養液

1,000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス	2.95 g
-------------------	--------

牛血清	適 量
-----	-----

イーグル MEM	残 量
----------	-----

pH を 7.0～7.4 に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 2 第 1 次重層寒天培地

1,000mL 中

寒天	8～10 g
----	--------

トリプトース・ホスフェイト・ブロス	2.95 g
-------------------	--------

牛血清	0～20 mL
-----	---------

イーグル MEM	残 量
----------	-----

pH を 7.0～7.4 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%ニューラルレッド液を2 vol%となるように加えたもの。