

鶏大腸菌症生ワクチン（シード）

令和5年1月27日（告示第134号） 新規追加

1 定義

シードロット規格に適合したサイクリック AMP レセプターたん白質をコードする遺伝子（*crp* 遺伝子）の一部を欠損した大腸菌（血清型 O78）の培養菌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

大腸菌 AESN1331 株（血清型 O78）又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

欠損型 *crp* 遺伝子を有する。本株を噴霧投与された鶏は臨床症状を示さない。

2.1.3 マスターシード菌

2.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、適当と認められた培地で増殖させ、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菌は、適当と認められた安定剤を添加し、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して 10℃以下で保存する。

マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10代以内でなければならない。

2.1.4 ワーキングシード菌

2.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、適当と認められた培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して -60℃以下又は凍結乾燥して 10℃以下で保存する。

ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。

2.1.5 プロダクションシード菌

2.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌は、保存しない。

2.2 製造用材料

2.2.1 培地

製造に適当と認められた寒天培地及び液状培地を用いる。

2.3 原液

2.3.1 培養

寒天培地で培養したプロダクションシード菌の集落を液状培地に接種し、培養する。これを更に液状培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.2 の試験を行う。

2.3.2 原液

培養菌液を遠心して得た菌を液状培地に再浮遊し、濃度調整したものを原液とする。

原液について、3.3 の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液に相当と認められた安定剤を添加して混合したものを最終バルクとする。

2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、凍結乾燥したものを小分製品とする。

小分製品について、3.4 の試験を行う。

3 試験法

3.1 製造用株の試験

3.1.1 マスターシード菌の試験

3.1.1.1 同定試験

シードロット規格の 1.4.2.2.1.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.2 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、製造用株以外の菌の発育を認めてはならない。

3.1.1.3 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。

3.1.1.4 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。

3.1.1.5 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。

3.1.1.6 組換え遺伝子等安定性確認試験

一般試験法の組換え遺伝子等安定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。

3.1.2 ワーキングシード菌の試験

3.1.2.1 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、製造用株以外の菌の発育を認めてはならない。

3.2 培養菌液の試験

3.2.1 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、製造用株以外の菌の発育を認めてはならない。

3.2.2 生菌数試験

3.2.2.1 試験材料

3.2.2.1.1 試料

検体を相当と認められた希釈液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.2.1.2 培地

相当と認められた寒天培地を用いる。

3.2.2.2 試験方法

各試料 0.1mL ずつを、それぞれ 2 枚以上の培地に接種し、37℃で 24 時間培養後、発育した集落数を数える。

3.2.2.3 判定

集落数が 30 以上 300 以下の範囲に入る平板培地の集落数を計測し、その平均値、希釈倍数及び培地への接種量から生菌数を算出するとき、検体の菌数は 1 mL 中 2.5×10^8 CFU 以上でなければならない。

3.3 原液の試験

3.3.1 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、製造用株以外の菌の発育を認めてはならない。

3.3.2 生菌数試験

3.2.2 を準用して試験するとき、生菌数は 1 mL 中 $5.0 \times 10^9 \sim 5.0 \times 10^{11}$ CFU でなければならない。

い。

3.4 小分製品の試験

3.4.1 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。

3.4.2 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。

3.4.3 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。

3.4.4 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、製造用株以外の菌の発育を認めてはならない。

3.4.5 生菌数試験

試験品を 1,000 羽分当たり 300mL の滅菌生理食塩液で溶解し、3.2.2 を準用して試験するとき、生菌数は 1 mL 中 $3.3 \times 10^7 \sim 3.3 \times 10^9$ CFU でなければならない。

3.4.6 安全試験

3.4.6.1 試験材料

3.4.6.1.1 接種材料

試験品 1,000 羽分を 300mL の滅菌生理食塩液に溶解したものを接種材料とする。

3.4.6.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合する発育鶏卵由来の 4 日齢の鶏を用いる。

3.4.6.2 試験方法

試験群及び対照群共に 10 羽以上とする。

接種材料の 1 羽分ずつを試験群に 4 週間隔で 2 回噴霧投与し、対照群と共に第 2 回投与後 2 週間観察する。

3.4.6.3 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。

3.4.7 力価試験

3.4.7.1 試験材料

3.4.7.1.1 試験動物

3.4.6 の試験に用いた動物を用いる。

3.4.7.1.2 攻撃用菌液

大腸菌 J46 株（血清型 O78）又はこれと同等の毒力を有する株を培養し、滅菌生理食塩液で適宜希釈したものを攻撃用菌液とする。

3.4.7.2 試験方法

3.4.6 の試験最終日に、攻撃用菌液を試験群及び対照群の翼下静脈に 0.5mL ずつ注射して攻撃した後、7 日間観察する。

3.4.7.3 判定

試験群では、70 %以上が耐過生存しなければならない。この場合、対照群では、80 %以上が死亡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 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。