

動物用生物学的製剤基準の一部を改正する件 新旧対照表

○動物用生物学的製剤基準（平成 14 年 10 月 3 日農林水産省告示第 1567 号）

次の表により、改正前欄に掲げる規定の傍線を付した部分（以下「傍線部分」という。）でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分があるものは、これを当該傍線部分のように改め、改正後欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正前欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これを加え、改正前欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これを削る。

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部</p> <p><b>ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎 2 価・産卵低下症候群－1976・トリニューモウイルス感染症混合（油性アジュバント加）不活化ワクチン</b></p> <p>1 （略）</p> <p>2 製法</p> <p>2.1 （略）</p> <p>2.2 製造用材料</p> <p>2.2.1 ニューカッスル病ウイルス</p> <p>2.2.1.1 発育鶏卵 2～11 日齢のものを用いる。</p> <p>2.2.2 鶏伝染性気管支炎ウイルス</p> <p>2.2.2.1 発育鶏卵 10～12 日齢のものを用いる。</p> <p>2.2.3 産卵低下症候群－1976 ウイルス</p> <p>2.2.3.1 発育あひる卵 9～10 日齢のものを用いる。</p> <p>2.2.4 （略）</p> <p>2.3 原液</p> <p>2.3.1 ニューカッスル病ウイルス原液 (削る)</p> <p><u>2.3.1.1</u> ウイルスの培養</p>	<p>ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部</p> <p><b>ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎 2 価・産卵低下症候群－1976・トリニューモウイルス感染症混合（油性アジュバント加）不活化ワクチン</b></p> <p>1 （略）</p> <p>2 製法</p> <p>2.1 （略）</p> <p>2.2 製造用材料</p> <p>2.2.1 ニューカッスル病ウイルス</p> <p>2.2.1.1 発育鶏卵 <u>10</u>～11 日齢のものを用いる。</p> <p>2.2.2 鶏伝染性気管支炎ウイルス</p> <p>2.2.2.1 発育鶏卵 <u>11</u>～12 日齢のものを用いる。</p> <p>2.2.3 産卵低下症候群－1976 ウイルス</p> <p>2.2.3.1 発育あひる卵 <u>10</u> 日齢のものを用いる。</p> <p>2.2.4 （略）</p> <p>2.3 原液</p> <p>2.3.1 ニューカッスル病ウイルス原液</p> <p><u>2.3.1.1</u> 発育鶏卵の培養 <u>1 回に処理する発育鶏卵を個別発育鶏卵とみなす。</u></p> <p><u>2.3.1.2</u> ウイルスの培養</p>

種ウイルスを発育鶏卵で培養し、感染増殖させた尿膜腔液のろ液をウイルス浮遊液とする。

#### 2.3.1.2 不活化

ウイルス浮遊液にホルマリンを加えて不活化し、不活化ウイルス浮遊液とする。この不活化ウイルス浮遊液を原液としてもよい。

不活化ウイルス浮遊液について 3.2.1.1 の試験を行う。

#### 2.3.1.3 アジュバントの添加

不活化ウイルス浮遊液に適当と認められた油性アジュバントを添加し、原液とする。ただし、最終バルクの調製時にアジュバントを添加してもよい。

原液について、3.3.1 の試験を行う。

なお、アジュバントを添加しない原液について、必要に応じて 3.3.2.1 の試験を行う。

#### 2.3.2 鶏伝染性気管支炎ウイルス原液 (削る)

##### 2.3.2.1 ウイルスの培養

各株の種ウイルスを発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、感染増殖させた尿膜腔液のろ液を各株のウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.1.1.1 の試験を行う。

##### 2.3.2.2 不活化

各ウイルス浮遊液にホルマリンを加えて不活化したもの又は不活化後に濃縮したものを、それぞれの株の不活化ウイルス浮遊液とする。この不活化ウイルス浮遊液を原液としてもよい。

不活化ウイルス浮遊液について、3.2.1.2 の試験を行う。

##### 2.3.2.3 アジュバントの添加

各株の不活化ウイルス浮遊液に適当と認められた油性アジュバントを添加し、それぞれの株の原液とする。

ただし、最終バルクの調製時にアジュバントを添加してもよい。

原液について、3.3.1 の試験を行う。

#### 2.3.3 産卵低下症候群-1976 ウイルス原液 (削る)

種ウイルスを発育鶏卵で培養し、感染増殖させた尿膜腔液の遠心上清をウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.2.1.1 の試験を行う。

#### 2.3.1.3 不活化

ウイルス浮遊液にホルマリンを加えて不活化し、不活化ウイルス浮遊液とする。この不活化ウイルス浮遊液を原液としてもよい。

不活化ウイルス浮遊液について 3.3.1 及び 3.3.2.1 の試験を行う。

#### 2.3.1.4 アジュバントの添加

不活化ウイルス浮遊液に適当と認められた油性アジュバントを添加し、原液とする。ただし、最終バルクの調製時にアジュバントを添加してもよい。

原液について、3.4.1 の試験を行う。

なお、アジュバントを添加しない原液について、必要に応じて 3.4.2.1 の試験を行う。

#### 2.3.2 鶏伝染性気管支炎ウイルス原液

##### 2.3.2.1 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、3.1.1 の試験を行う。

##### 2.3.2.2 ウイルスの培養

各株の種ウイルスを発育鶏卵で尿膜腔内に注射し、感染増殖させた尿膜腔液の遠心上清を各株のウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.2.1.2 の試験を行う。

##### 2.3.2.3 不活化

各ウイルス浮遊液にホルマリンを加えて不活化し、それぞれの株の不活化ウイルス浮遊液とする。この不活化ウイルス浮遊液を原液としてもよい。

不活化ウイルス浮遊液について、3.3.1 及び 3.3.2.2 の試験を行う。

##### 2.3.2.4 アジュバントの添加

各株の不活化ウイルス浮遊液に適当と認められた油性アジュバントを添加し、それぞれの株の原液とする。

ただし、最終バルクの調製時にアジュバントを添加してもよい。

原液について、3.4.1 の試験を行う。

#### 2.3.3 産卵低下症候群-1976 ウイルス原液

##### 2.3.3.1 発育あひる卵の培養

1回に処理する発育あひる卵を個別発育あひる卵とみなす。

個別発育あひる卵について、3.1.2 の試験を行う

2.3.3.1 (略)

2.3.3.2 不活化

ウイルス浮遊液を農林水産大臣が適当と認めた方法により不活化し、原液とする。

原液について、3.2.1.3、3.3.1 及び 3.3.2.2 の試験を行う。

2.3.4 七面鳥鼻気管炎ウイルス  
(削る)

2.3.4.1 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルスの増殖極期に個別培養細胞ごとに採取した感染細胞を含む培養液を超音波処理したものをウイルス浮遊液とする。

2.3.4.2 不活化

ウイルス浮遊液に  $\beta$ -プロピオラクトンを加えて不活化し、不活化ウイルス浮遊液とする。不活化ウイルス浮遊液を原液としてもよい。

不活化ウイルス浮遊液について、3.2.1.4 の試験を行う。

2.3.4.3 アジュバントの添加

不活化ウイルス浮遊液に農林水産大臣が適当と認めた油性アジュバントを添加し、原液とする。

ただし、最終バルクの調製時にアジュバントを添加してもよい。

原液について、3.3.1 の試験を行う。

なお、アジュバントを添加しない原液について、必要に応じて 3.3.2.3 の試験を行う。

2.4 最終バルク

ニューカッスル病ウイルス原液、鶏伝染性気管支炎ウイルスの各原液、産卵低下症候群-1976 ウイルス原液及び七面鳥鼻気管炎ウイルス原液を混合し、濃度調整したものを最終バルクとする。この場合、適当と認められた保存剤を添加してよい。

2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。

小分製品について、3.4 の試験を行う。

2.3.3.2 (略)

2.3.3.3 不活化

ウイルス浮遊液を製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた方法により不活化し、原液とする。

原液について、3.3.1、3.3.2.3 及び 3.3.3.2 の試験を行う。

2.3.4 七面鳥鼻気管炎ウイルス原液

2.3.4.1 細胞の培養

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、3.1.2 の試験を行う。

2.3.4.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルスの増殖極期に個別培養細胞ごとに採取した培養液のろ過及び超音波処理した感染細胞の遠心上清を混合し、ウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.2.1.4 の試験を行う。

2.3.4.3 不活化

ウイルス浮遊液にホルマリンを加えて不活化し、不活化ウイルス浮遊液とする。不活化ウイルス浮遊液を原液としてもよい。

不活化ウイルス浮遊液について、3.3.1 及び 3.3.2.4 の試験を行う。

2.3.4.4 アジュバントの添加

不活化ウイルス浮遊液に製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた油性アジュバントを添加し、原液とする。

ただし、最終バルクの調製時にアジュバントを添加してもよい。

原液について、3.4.1 の試験を行う。

なお、アジュバントを添加しない原液について、必要に応じて 3.4.2.3 の試験を行う。

2.4 最終バルク

ニューカッスル病ウイルス原液、鶏伝染性気管支炎ウイルスの各原液、鶏伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス原液及び七面鳥鼻気管炎ウイルス原液を混合し、濃度調整したものを最終バルクとする。この場合、適当と認められた保存剤を添加してよい。

2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、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  
(削る)

3.1 ウイルス浮遊液の試験

3.1.1 ウイルス含有量試験  
(削る)

3 試験法

3.1 発育卵、発育あひる卵又は培養細胞の試験

3.1.1 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、これについて次に掲げる試験を行う。

3.1.1.1 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。

3.1.1.2 鶏赤血球凝集試験

3.1.1.1の試験最終日に尿膜腔液を採取し、鶏赤血球浮遊液を等量加え、静置した後観察するとき、赤血球凝集を認めてはならない。

3.1.2 発育あひる卵の試験

個別発育あひる卵の1%以上又は30個以上を対照発育あひる卵とし、これについて次に掲げる試験を行う。

3.1.2.1 培養観察

対照発育あひる卵を、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、あひる胚に異常を認めてはならない。

3.1.2.2 鶏赤血球凝集試験

3.1.2.1の試験最終日に尿膜腔液を採取し、鶏赤血球浮遊液を等量加え、静置した後観察するとき、赤血球凝集を認めてはならない。

3.1.3 培養細胞の試験

個別培養細胞の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。

3.1.3.1 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。

3.1.3.2 鶏赤血球凝集試験

3.1.3.1の試験最終日に培養液を採取し、鶏赤血球浮遊液を等量加え、静置した後観察するとき、赤血球凝集を認めてはならない。

3.2 ウイルス浮遊液の試験

3.2.1 ウイルス含有量試験

3.2.1.1 ニューカッスル病ウイルス

3.2.1.1.1 試験材料

3.2.1.1.1.1 試料

### 3.1.1.1 鶏伝染性気管支炎ウイルス

#### 3.1.1.1.1 試験材料

3.1.1.1.1.1・3.1.1.1.1.2 (略)

3.1.1.1.2 (略)

#### 3.1.1.1.3 判定

鶏胚に死亡又は変性（発育不全又はカーリング）を認めたものを感染とみなし、EID<sub>50</sub>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、M41株の場合は1 mL中10<sup>8.0</sup>EID<sub>50</sub>以上及び249g株の場合は1 mL中10<sup>7.4</sup>EID<sub>50</sub>以上でなければならない。

(削る)

検体をリン酸緩衝食塩液で階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

#### 3.2.1.1.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1の9～11日齢のものを用いる。

#### 3.2.1.1.2 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、鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。

#### 3.2.1.1.3 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<sub>50</sub>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<sup>9.0</sup>ID<sub>50</sub>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。

### 3.2.1.2 鶏伝染性気管支炎ウイルス

#### 3.2.1.2.1 試験材料

3.2.1.2.1.1・3.2.1.2.1.2 (略)

3.2.1.2.2 (略)

#### 3.2.1.2.3 判定

鶏胚に死亡又は変性（発育不全又はカーリング）を認めたものを感染とみなし、EID<sub>50</sub>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、M41株の場合にあっては1 mL中10<sup>8.0</sup>EID<sub>50</sub>以上及び249g株の場合にあっては1 mL中10<sup>7.4</sup>EID<sub>50</sub>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。

### 3.2.1.3 産卵低下症候群－1976ウイルス

#### 3.2.1.3.1 試験材料

##### 3.2.1.3.1.1 試料1

検体をウイルス増殖用培養液（付記1）で階段希釈した後、4倍階段希釈した各段階の希釈液を試料1とする。

##### 3.2.1.3.1.2 試料2

検体をトリプトース・ホスフェイト・ブロス溶液で階段希釈した各段階の希釈液を試料2とする。

##### 3.2.1.3.1.3 培養細胞

96穴マイクロプレートに培養したあひる胚初代細胞を用いる。

##### 3.2.1.3.1.4 発育あひる卵

13～15日齢のEDS－76抗体陰性の発育あひる卵を用いる。

3.2 不活化ウイルス浮遊液の試験  
(削る)

3.2.1.3.2 試験方法

次のいずれかの方法によりウイルス含有量を測定する。

3.2.1.3.2.1 培養細胞接種試験

試料1の0.1mLずつをそれぞれ4穴以上の培養細胞に接種し、37°Cで7日間培養して、CPE形成の有無を観察する。

3.2.1.3.2.2 発育あひる卵接種試験

試料2の0.1mLずつをそれぞれ5個以上の発育あひる卵の尿膜腔内に注射し、37°Cで7日間培養し、観察する。試験最終日に尿膜腔液を採取し、鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。

3.2.1.3.2.3 判定

培養細胞接種試験にあつてはCPEが認められる最高希釈倍数からTCID<sub>50</sub>を、発育あひる卵接種試験にあつては赤血球凝集性を示した最高希釈倍数からEID<sub>50</sub>を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL中10<sup>6.5</sup>EID<sub>50</sub>以上又は1 mL中10<sup>8.5</sup>EID<sub>50</sub>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。

3.2.1.4 七面鳥鼻気管炎ウイルス

3.2.1.4.1 試験材料

3.2.1.4.1.1 試料

検体を細胞増殖用培養液（付記2）で調整した鶏胚初代細胞浮遊液で階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.1.4.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞浮遊液を用いる。

3.2.1.4.2 試験方法

試料200μLずつを、それぞれ96穴組織培養用プレートの5穴以上に接種し、37°Cで5～7日間培養し、観察する。

3.2.1.4.3 判定

培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID<sub>50</sub>を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL中10<sup>6.5</sup>TCID<sub>50</sub>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。

3.3 不活化ウイルス浮遊液の試験

3.3.1 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。

3.2.1 不活化試験

3.2.1.1 ニューカッスル病ウイルス

3.2.1.1.1 試験材料

3.2.1.1.1.1 (略)

3.2.1.1.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 9～12 日齢のものを用いる。

3.2.1.1.2・3.2.1.1.3 (略)

3.2.1.2 鶏伝染性気管支炎ウイルス

3.2.1.2.1 試験材料

3.2.1.2.1.1・3.2.1.2.1.2 (略)

3.2.1.2.2・3.2.1.2.3 (略)

3.2.1.3 産卵低下症候群－1976 ウイルス

3.2.1.3.1 試験材料

3.2.1.3.1.1・3.2.1.3.1.2 (略)

3.2.1.3.2・3.2.1.3.3 (略)

3.2.1.4 七面鳥鼻気管炎ウイルス

3.2.1.4.1 試験材料

3.2.1.4.1.1・3.2.1.4.1.2 (略)

3.2.1.4.2 試験方法

試料の全量を 1 mL につき 20cm<sup>2</sup> 以上の培養細胞に接種し、36～38℃ で 5 日間培養した後、その培養上清 0.1mL を採取し、更に継代し、5 日間培養して観察する。

3.2.1.4.3 (略)

3.3 原液の試験

3.3.1 (略)

3.3.2 抗原含有量試験

3.3.2.1 ニューカッスル病ウイルス

3.3.2.1.1 試験材料

3.3.2.1.1.1 (略)

3.3.2.1.2・3.3.2.1.3 (略)

3.3.2.2 産卵低下症候群－1976 ウイルス

3.3.2.2.1 試験材料

3.3.2.2.1.1 (略)

3.3.2 不活化試験

3.3.2.1 ニューカッスル病ウイルス

3.3.2.1.1 試験材料

3.3.2.1.1.1 (略)

3.3.2.1.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 9～11 日齢のものを用いる。

3.3.2.1.2・3.3.2.1.3 (略)

3.3.2.2 鶏伝染性気管支炎ウイルス

3.3.2.2.1 試験材料

3.3.2.2.1.1・3.3.2.2.1.2 (略)

3.3.2.2.2・3.3.2.2.3 (略)

3.3.2.3 産卵低下症候群－1976 ウイルス

3.3.2.3.1 試験材料

3.3.2.3.1.1・3.3.2.3.1.2 (略)

3.3.2.3.2・3.3.2.3.3 (略)

3.3.2.4 七面鳥鼻気管炎ウイルス

3.3.2.4.1 試験材料

3.3.2.4.1.1・3.3.2.4.1.2 (略)

3.3.2.4.2 試験方法

試料の全量を 1 mL につき 20cm<sup>2</sup> 以上の培養細胞に接種し、37℃ で 5 日間培養した後、その培養上清 0.1mL を採取し、更に継代し、37℃ で 5 日間培養して観察する。

3.3.2.4.3 (略)

3.4 原液の試験

3.4.1 の試験又は 3.4.1 若しくは 3.4.2 の試験を行う。

3.4.1 (略)

3.4.2 抗原含有量試験

3.4.2.1 ニューカッスル病ウイルス

3.4.2.1.1 試験材料

3.4.2.1.1.1 (略)

3.4.2.1.2・3.4.2.1.3 (略)

3.4.2.2 産卵低下症候群－1976 ウイルス

3.4.2.2.1 試験材料

3.4.2.2.1.1 (略)

3.3.2.2.2・3.3.2.2.3 (略)

3.3.2.3 七面鳥鼻気管炎ウイルス

3.3.2.3.1 試験材料

3.3.2.3.1.1 試料

検体をELISA緩衝液 (付記1) で6倍に希釈し、更に1.5倍階段希釈した希釈液を試料とする。

3.3.2.3.2 試験方法

七面鳥鼻気管炎ウイルスを認識するモノクローナル抗体を固相化したELISAプレート (付記2) に試料及びELISA緩衝液で1.5倍階段希釈した七面鳥鼻気管炎ウイルス抗原定量用参照抗原 (付記3) を添加し、37°Cで反応させる。反応終了後、洗浄用緩衝液 (付記4) で洗浄した後、ビオチン標識マウス抗七面鳥鼻気管炎ウイルスモノクローナル抗体 (付記5) を添加し、37°Cで反応させる。反応終了後、洗浄用緩衝液で洗浄した後、アビジン・ペルオキシダーゼコンジュゲートを添加し、37°Cで反応させる。反応終了後、洗浄用緩衝液で洗浄した後、基質液 (付記6) を添加し、37°Cで反応させる。その後、反応停止液 (付記7) を加えて、反応を停止させる。

3.3.2.3.3 判定

波長450nmで吸光度値を測定する。階段希釈した参照抗原の吸光度値から作成した標準曲線より検体の相対抗原量を算出する。

検体の相対抗原量は、1 mL中250EU以上でなければならない。

3.4 小分製品の試験

3.4.1～3.4.3 (略)

3.4.4 安全試験

3.4.4.1 試験材料

3.4.4.1.1・3.4.4.1.2 (略)

3.4.4.2・3.4.4.3 (略)

3.4.5 力価試験

3.4.5.1 ニューカッスル病力価試験

3.4.5.1.1 試験材料

3.4.5.1.1.1 試験動物

3.4.4 の試験に用いた動物を用いる。

3.4.5.1.1.2 (略)

3.4.5.1.2 試験方法

3.4.4 の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、

3.4.2.2.2・3.4.2.2.3 (略)

3.4.2.3 七面鳥鼻気管炎ウイルス

3.4.2.3.1 試験材料

3.4.2.3.1.1 試料

検体を洗浄用緩衝液 (付記3) で2倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.2.3.2 試験方法

七面鳥鼻気管炎ウイルスを認識するモノクローナル抗体を固相化した96穴平底プレートに各試料及び陰性対照を50µLずつ添加し、37°Cで45分間反応させる。反応終了後洗浄用緩衝液で3回洗浄した後、七面鳥鼻気管炎ウイルス抗体陽性鶏血清を50µL添加し、37°Cで30分間反応させる。反応終了後、洗浄用緩衝液で洗浄し、やぎ抗鶏IgGペルオキシダーゼ標識抗体を50µL添加し、37°Cで30分間反応させる。反応終了後、洗浄用緩衝液で洗浄し、基質液 (付記4) を50µLずつ添加し、室温で10分間反応させる。反応終了後、反応停止液 (付記5) を25µL加えて、反応を停止させる。

3.4.2.3.3 判定

波長450nmで吸光度を測定する。陰性対照より2倍以上の吸光度値を示す最終希釈倍数を相対抗原量とする。

検体の抗原量は、250EU/mL以上である。

3.5 小分製品の試験

3.5.1～3.5.3 (略)

3.5.4 安全試験

3.5.4.1 試験材料

3.5.4.1.1・3.5.4.1.2 (略)

3.5.4.2・3.5.4.3 (略)

3.5.5 力価試験

3.5.5.1 ニューカッスル病力価試験

3.5.5.1.1 試験材料

3.5.5.1.1.1 試験動物

3.5.4 の試験に用いた動物を用いる。

3.5.5.1.1.2 (略)

3.5.5.1.2 試験方法

3.5.4 の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清につい



<p>ニューカッスル病ウイルス赤血球凝集抑制試験を行う。</p> <p><u>3.4.5.1.3</u> (略)</p> <p><u>3.4.5.2</u> 鶏伝染性気管支炎力価試験</p> <p><u>3.4.5.2.1</u> 試験材料</p> <p><u>3.4.5.2.1.1</u> 試験動物</p> <p><u>3.4.4</u> の試験に用いた動物を用いる。</p> <p><u>3.4.5.2.1.2</u>・<u>3.4.5.2.1.3</u> (略)</p> <p><u>3.4.5.2.2</u>・<u>3.4.5.2.3</u> (略)</p> <p><u>3.4.5.3</u> 産卵低下症候群－1976 力価試験</p> <p><u>3.4.5.3.1</u> 試験材料</p> <p>(削る)</p> <p><u>3.4.5.3.1.1</u> 試験動物</p> <p><u>3.4.4</u> の試験に用いた動物を用いる。</p> <p><u>3.4.5.3.1.2</u> 赤血球凝集抗原</p> <p>産卵低下症候群－1976 ウイルス赤血球凝集抗原 (<u>付記8</u>) を用いる。</p> <p><u>3.4.5.3.2</u> 試験方法</p> <p><u>3.4.4</u> の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について赤血球凝集抑制試験を行う。</p> <p>血清 1 容に 25w/v%カオリン液 (<u>付記9</u>) 3 容を加え、室温で処理した後、遠心した上清を採取する。これをリン酸緩衝食塩液で階段希釈し、各希釈血清 25μL に等量の 4 単位の産卵低下症候群－1976 ウイルス赤血球凝集抗原を加えて混合し、処理した後、鶏赤血球浮遊液を 50μL ずつ加えて振盪混合し静置した後に赤血球凝集の有無を観察する。</p> <p><u>3.4.5.3.3</u> (略)</p> <p><u>3.4.5.4</u> 七面鳥鼻気管炎力価試験</p> <p><u>3.4.5.4.1</u> 試験材料</p> <p>(削る)</p> <p><u>3.4.5.4.1.1</u> 試験動物</p> <p><u>3.4.4</u> の試験に用いた動物を用いる。</p> <p><u>3.4.5.4.2</u> 試験方法</p> <p><u>3.4.4</u> の試験終了日に試験群及び対照群から採取した各個体の血清について ELISA を行う。</p>	<p>て、ニューカッスル病ウイルス赤血球凝集抑制試験を行う。</p> <p><u>3.5.5.1.3</u> (略)</p> <p><u>3.5.5.2</u> 鶏伝染性気管支炎力価試験</p> <p><u>3.5.5.2.1</u> 試験材料</p> <p><u>3.5.5.2.1.1</u> 試験動物</p> <p><u>3.5.4</u> の試験に用いた動物を用いる。</p> <p><u>3.5.5.2.1.2</u>・<u>3.5.5.2.1.3</u> (略)</p> <p><u>3.5.5.2.2</u>・<u>3.5.5.2.3</u> (略)</p> <p><u>3.5.5.3</u> 産卵低下症候群－1976 力価試験</p> <p><u>3.5.5.3.1</u> 試験材料</p> <p><u>3.5.5.3.1.1</u> 注射材料</p> <p>試験品を注射材料とする。</p> <p><u>3.5.5.3.1.2</u> 試験動物</p> <p><u>3.5.4</u> の試験に用いた動物を用いる。</p> <p><u>3.5.5.3.1.3</u> 赤血球凝集抗原</p> <p>産卵低下症候群－1976 ウイルス赤血球凝集抗原 (<u>付記6</u>) を用いる。</p> <p><u>3.5.5.3.2</u> 試験方法</p> <p><u>3.5.4</u> の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について赤血球凝集抑制試験を行う。</p> <p>血清 1 容に 25w/v%カオリン (<u>付記7</u>) 3 容を加え、室温で処理した後、遠心した上清を採取する。これをリン酸緩衝食塩液で階段希釈し、各希釈血清 25μL に等量の 4 単位の産卵低下症候群－1976 ウイルス赤血球凝集抗原を加えて混合し、処理した後、鶏赤血球浮遊液を 50μL ずつ加えて振盪混合し静置した後に赤血球凝集の有無を観察する。</p> <p><u>3.5.5.3.3</u> (略)</p> <p><u>3.5.5.4</u> 七面鳥鼻気管炎力価試験</p> <p><u>3.5.5.4.1</u> 試験材料</p> <p><u>3.5.5.4.1.1</u> 注射材料</p> <p>試験品を注射材料とする。</p> <p><u>3.5.5.4.1.2</u> 試験動物</p> <p><u>3.5.4</u> の試験に用いた動物を用いる。</p> <p><u>3.5.5.4.2</u> 試験方法</p> <p><u>3.5.4</u> の試験最終日に試験群及び対照群から採取した各個体の血清について ELISA を行う。</p>
---	--

固相化緩衝液（付記 10）で濃度調整した七面鳥鼻気管炎ウイルス抗原（付記 11）を 96 穴平底マイクロプレートに 100 $\mu$ L ずつ分注し、37 $^{\circ}$ C で 3 時間反応後、洗浄用緩衝液で 2 回洗浄した後、乾燥させる。次に被検血清を IB・EIA 緩衝液（付記 12）で 2 倍階段希釈し、固相化プレートに各希釈血清を 100 $\mu$ L ずつ加え、37 $^{\circ}$ C で 30 分間反応させる。反応終了後、洗浄用緩衝液で 2 回洗浄し、ヤギ抗鶏 IgG ペルオキシダーゼ標識抗体（付記 13）を 100 $\mu$ L 加え、37 $^{\circ}$ C で 30 分間反応させる。反応終了後、洗浄用緩衝液で 2 回洗浄し、水切りを行った後、基質液を 100 $\mu$ L 加え、常温で 8 分間反応させる。その後、反応停止液を 50 $\mu$ L 加えて反応を停止させ、波長 450nm で吸光度を測定する。

#### 3.4.5.4.3 判定

参照陰性血清（付記 14）の平均吸光度値の少なくとも 1.5 倍の吸光度値を示す血清の希釈倍数を ELISA 抗体価とすると、試験群の 80%以上が ELISA 抗体価  $2^{9.64}$  倍以上を示さなければならない。この場合、対照群はすべて  $2^{4.64}$  倍未満でなければならない。また、参照陽性血清（付記 15）は、 $2^{6.64}$  倍以上の抗体価を示さなければならない。

4 (略)

(削る)

(削る)

付記 1 ELISA 緩衝液

固相化緩衝液（付記 8）で濃度調整した七面鳥鼻気管炎ウイルス抗原（付記 9）を 96 穴平底プレートに 100 $\mu$ L ずつ分注し、37 $^{\circ}$ C で 3 時間反応後、洗浄用緩衝液で洗浄し、乾燥させる。次に被検血清を IB・EIA 緩衝液（付記 10）で階段希釈し、固相化プレートに各希釈血清を 100 $\mu$ L ずつ加え、37 $^{\circ}$ C で 30 分間反応させる。反応終了後、洗浄用緩衝液で洗浄し、水切りを行った後、ヤギ抗鶏 IgG ペルオキシダーゼ標識抗体（付記 11）を 100 $\mu$ L 加え、37 $^{\circ}$ C で 30 分間反応させる。反応終了後、洗浄用緩衝液で洗浄し、水切りを行った後、基質液を 100 $\mu$ L 加え、常温で 8 分間反応させる。反応終了後、反応停止液を 50 $\mu$ L 加えて、反応を停止させ、波長 450nm で吸光度を測定する。

#### 3.5.5.4.3 判定

参照陰性血清（付記 12）の平均吸光度値の少なくとも 1.5 倍の吸光度値を示す血清の希釈倍数を ELISA 抗体価とすると、試験群の 80%以上は ELISA 抗体価  $2^{9.64}$  倍以上を示さなければならない。この場合、対照群はすべて  $2^{4.64}$  倍未満でなければならない。また、参照陽性血清（付記 13）は  $2^{6.64}$  倍以上の抗体価を示さなければならない。

4 (略)

付記 1 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 2.95g

牛血清 20mL

イーグル MEM 残量

炭酸水素ナトリウムで pH を 7.0~7.4 に調整する。

必要最小量の抗生物質を加えてもよい。

付記 2 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 0.83g

トリプトース 1.00g

ラクトアルブミン水解物 1.25g

炭酸水素ナトリウム 2.45g

牛血清 50ml

イーグル MEM 残量

必要最小量の抗生物質を加えてもよい。

付記 3 洗浄用緩衝液

<p>1,000 mL中  リン酸二ナトリウム十二水和物 71.9 g  塩化ナトリウム 11.69 g  水 残量  pH6.9～7.1に調整した後、ポリソルベート80を0.05vol%となるように添加したもの。</p>	<p>1,000mL 中  リン酸一水素ナトリウム 2.9g  リン酸二水素ナトリウム 0.2g  塩化ナトリウム 37.2g  塩化カリウム 0.2g  Tween20 1.5g  精製水 残量  pH7.0±0.1 に調整する。</p>
<p>付記2 <u>七面鳥鼻気管炎ウイルスを認識するモノクローナル抗体を固相化したELISAプレート</u>  七面鳥鼻気管炎ウイルスBUT1#8544で作製したハイブリドーマの培養上清から得たモノクローナル抗体T32-INTを0.05M重炭酸緩衝液で希釈した希釈液を96穴プレートの各穴に添加して固相化したもの。</p>	<p>(新設)</p>
<p>付記3 <u>七面鳥鼻気管炎ウイルス抗原定量用参照抗原</u>  七面鳥鼻気管炎ウイルス原液をELISA緩衝液で濃度調整したもの。</p>	<p>(新設)</p>
<p>付記4 <u>洗浄用緩衝液</u>  1,000 mL 中  リン酸水素二ナトリウム十二水和物 2.9 g  リン酸二水素カリウム 0.2 g  塩化ナトリウム 37.2 g  塩化カリウム 0.2 g  ポリソルベート 20 1.5 g  水 残量  pH を 6.9～7.1 に調整する。</p>	<p>(新設)</p>
<p>付記5 <u>ビオチン標識マウス抗七面鳥鼻気管炎ウイルスモノクローナル抗体</u>  七面鳥鼻気管炎ウイルスBUT1#8544株で作製したハイブリドーマの培養上清から得たモノクローナル抗体T32-INTをビオチン標識し、カゼインを0.2%となるように添加したELISA緩衝液で希釈したもの。</p>	<p>(新設)</p>
<p>付記6 <u>基質液</u>  TMB 溶液 0.2 mL  UP 緩衝液 1.5 mL</p>	<p>付記4 <u>基質液</u>  TMB 溶液 0.2mL  UP 緩衝液 1.5mL</p>

水 15 mL

TMB 溶液は、DMSO1,000mL に TMB (3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン) を 6 g 溶解したもの。

UP 緩衝液は尿素過酸化物 140mg を TMB 緩衝液 (酢酸ナトリウム三水和物 136g を約 500mL の水に溶解し、1.5mol/L クエン酸で pH5.3~5.7 に調整した後、水を加えて 1,000mL とし、121°C、20 分間高压滅菌したもの) 100mL に溶解したもの。

付記 7 ~ 付記 9 (略)

付記 10 固相化緩衝液

1,000mL 中

リン酸水素二ナトリウム十二水和物 12.10 g

リン酸二水素ナトリウム二水和物 1.43 g

塩化ナトリウム 8.5 g

水 残量

pH を 6.9~7.1 に調整する。

付記 11 七面鳥鼻気管炎ウイルス抗原

製造用株を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、38°C で培養する。

CPE が出現したときに培養上清を採取し、感染細胞は少量の培養液でかきとり、超音波破碎を行う。感染細胞を超音波破碎後遠心 (3,000G、10 分間) し、その遠心上清と製造用株培養上清をプールする。次に 30,000G で 1 時間遠心し、沈渣を少量の滅菌水に再浮遊させる。再浮遊させたものをシヨ糖密度勾配遠心 (53,000G、1 時間) した後、上層を採取し、これを ELISA 抗原とする。

参照陽性血清の 100 倍希釈液の吸光度を測定するときは 0.8 以上、参照陰性血清では 0.2 以下を示すように調製する。

付記 12 IB・EIA 緩衝液

1,000mL 中

リン酸二水素ナトリウム二水和物 2.31 g

精製水 15mL

a:TMB 溶液は DMSO1,000mL に TMB(3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン) を 6 g 溶解したもの。

b:UP 緩衝液は尿素過酸化物 1 錠(140mg) を TMB 緩衝液 100mL に溶解したもの。

c:TMB 緩衝液は酢酸ナトリウム 136g を約 500mL の精製水に溶解し、1.5M クエン酸で pH5.5±0.2 に調整した後、蒸留水を加えて 1,000mL とし高压蒸気滅菌を行う。

付記 5 ~ 付記 7 (略)

付記 8 固相化緩衝液

1,000mL 中

リン酸一水素ナトリウム 12.10g

リン酸二水素ナトリウム 1.43g

塩化ナトリウム 8.5g

精製水 残量

pH7.0±0.1 に調整する。

付記 9 七面鳥鼻気管炎ウイルス抗原

動物用生物学的製剤基準の生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の発育鶏卵を用いて作製した鶏胚線維芽細胞に製造用七面鳥鼻気管炎ウイルスを感染させ、超音波破碎及びシヨ糖ステップ遠心等の加工により得られたもので、参照陽性血清の 100 倍希釈液の吸光度値が 0.8 以上及び参照陰性血清の吸光度値が 0.2 以下を示すもの。

付記 10 IB・EIA 緩衝液

1,000mL 中

リン酸二水素ナトリウム 2.31g

リン酸水素二ナトリウム二水和物	24.06	g
塩化ナトリウム	29.22	g
カオリン処理 30w/v%牛血清アルブミン	3.3	mL
<u>ポリソルベート 20</u>	0.50	g
水		残 量

200nm でろ過滅菌後、スキムミルク 2w/v%及び牛胎児血清 5vol%を加える。

付記 13 ヤギ抗鶏 IgG ペルオキシダーゼ標識抗体

参照陽性血清が規定の抗体価を示すように IB・EIA 緩衝液で調製したもの。

付記 14 参照陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の七面鳥鼻気管炎ウイルスに対する抗体を保有しない鶏血清で、ELISA 抗体価  $2^{4.64}$  倍未満を示すもの。

付記 15 参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の七面鳥鼻気管炎ウイルスに対する抗体陰性の鶏を弱毒七面鳥鼻気管炎ウイルス BUT1 #8544 株の生ウイルスで免疫して得た血清で、ELISA 抗体価  $2^{8.64} \sim 2^{9.64}$  倍を示すもの。

リン酸水素二ナトリウム二水和物	24.06g
塩化ナトリウム	29.22g
カオリン処理 30w/v%牛血清アルブミン	3.3mL
<u>Tween20</u>	0.50g
精製水	残量

ろ過滅菌 (200nm) 後、スキムミルクを 2w/v%及び牛胎児血清を 5vol%加える。

付記 11 やぎ抗鶏 IgG ペルオキシダーゼ標識抗体

参照陽性血清が規定の抗体価を示すように IB・EIA 緩衝液で調整したもの。

付記 12 参照陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の鶏群由来で七面鳥鼻気管炎ウイルスに対する抗体を保有しない鶏血清で、ELISA 抗体価  $2^{4.64}$  倍未満を示すもの。

付記 13 参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の鶏群由来で七面鳥鼻気管炎ウイルスに対する抗体陰性鶏を弱毒七面鳥鼻気管炎ウイルス BUT1#8544 株の生ウイルスで免疫して得た血清で、ELISA 抗体価  $2^{8.64} \sim 2^{9.64}$  倍を示すもの。

動物用生物学的製剤基準の一部を改正する件 新旧対照表

○動物用生物学的製剤基準（平成 14 年 10 月 3 日農林水産省告示第 1567 号）

次の表により、改正前欄に掲げる規定の傍線を付した部分（以下「傍線部分」という。）でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分があるものは、これを当該傍線部分のように改め、改正後欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正前欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これを加える。

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p style="text-align: center;"><b>マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症 （油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード）</b></p> <p>1 （略） 2 製法 2.1 製造用株 2.1.1・2.1.2 （略） 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、適当と認められた液状培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。 分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-20℃以下又は凍結乾燥して5℃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継代数は、10代以内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、その継代数とする。 2.1.4・2.1.5 （略） 2.2 （略） 2.3 原液 2.3.1 （略） 2.3.2 不活化 培養菌液に適当と認められた不活化剤を加えて不活化したもの又はこれを適当と認められた方法で過剰の不活化剤を中和したものを不活化菌液とする。ただし、最終バルクの調製時に過剰の不活化剤を中和してもよい。 不活化菌液について、3.3の試験を行う。 2.3.3 アジュバントの添加</p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p style="text-align: center;"><b>マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症 （油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード）</b></p> <p>1 （略） 2 製法 2.1 製造用株 2.1.1・2.1.2 （略） 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、適当と認められた液状培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。 分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-20℃以下又は凍結乾燥して5℃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継代数は、10代以内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、その継代数とする。 2.1.4・2.1.5 （略） 2.2 （略） 2.3 原液 2.3.1 （略） 2.3.2 不活化 培養菌液に適当と認められた不活化剤を加えて不活化したもの又はこれを適当と認められた方法で過剰の不活化剤を中和したものを不活化菌液とする。ただし、最終バルクの調整時に過剰の不活化剤を中和してもよい。 不活化菌液について、3.3の試験を行う。 2.3.3 アジュバントの添加</p>

<p>不活化菌液又は適当と認められた方法で濃縮した不活化菌液に適量のアジュバントを添加したものを原液とする。この場合、適当と認められた保存剤を添加してもよい。ただし、最終バルクの<u>調製時</u>にアジュバントを添加してもよい。</p> <p>原液について、3.4の試験を行う。</p> <p>2.4・2.5 (略)</p> <p>3 試験法</p> <p>3.1 製造用株の試験</p> <p>3.1.1 マスターシード菌の試験</p> <p>3.1.1.1 (略)</p> <p>3.1.1.2 夾雑菌否定試験</p> <p>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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その<u>試験方法</u>とする。</p> <p>3.1.2・3.1.3 (略)</p> <p>3.2 培養菌液の試験</p> <p>3.2.1 (略)</p> <p>3.2.2 生菌数試験</p> <p>3.2.2.1・3.2.2.2 (略)</p> <p>3.2.2.3 判定</p> <p>培養液を観察し、色調が変化したものをマイコプラズマ陽性とみなし、<u>Color Changing Unit</u> (以下「CCU」という。)を算出する。</p> <p>検体の菌量は、1 mL中 <math>5 \times 10^6</math>CCU以上でなければならない。</p> <p>3.3・3.4 (略)</p> <p>3.5 小分製品の試験</p> <p>3.5.1～3.5.7 (略)</p> <p>3.5.8 力価試験</p> <p>3.5.8.1、3.5.8.2又は3.5.8.3の試験を行う。</p> <p>3.5.8.1 マウス試験法</p> <p>3.5.8.1.1・3.5.8.1.2 (略)</p> <p>3.5.8.1.3 判定</p> <p>血清対照の各穴の吸光度の平均値+0.5以上の<u>吸光度</u>を示した血清の最高希釈倍数を抗体価とする。</p> <p>試験群では、70%以上が抗体価2,560倍以上でなければならない。この場合、対照群では、すべて320倍以下でなければならない。また、参照陽性血清1は、抗体価2,560～5,120倍を示さなければならない。</p> <p>3.5.8.2 ウサギ試験法</p> <p>3.5.8.2.1・3.5.8.2.2 (略)</p>	<p>不活化菌液又は適当と認められた方法で濃縮した不活化菌液に適量のアジュバントを添加したものを原液とする。この場合、適当と認められた保存剤を添加してもよい。ただし、最終バルクの<u>調整時</u>にアジュバントを添加してもよい。</p> <p>原液について、3.4の試験を行う。</p> <p>2.4・2.5 (略)</p> <p>3 試験法</p> <p>3.1 製造用株の試験</p> <p>3.1.1 マスターシード菌の試験</p> <p>3.1.1.1 (略)</p> <p>3.1.1.2 夾雑菌否定試験</p> <p>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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その<u>試験法</u>とする。</p> <p>3.1.2・3.1.3 (略)</p> <p>3.2 培養菌液の試験</p> <p>3.2.1 (略)</p> <p>3.2.2 生菌数試験</p> <p>3.2.2.1・3.2.2.2 (略)</p> <p>3.2.2.3 判定</p> <p>培養液を観察し、色調が変化したものをマイコプラズマ陽性とみなし、<u>CCU</u>を算出する。</p> <p>検体の菌量は、1 mL中 <math>5 \times 10^6</math>CCU以上でなければならない。</p> <p>3.3・3.4 (略)</p> <p>3.5 小分製品の試験</p> <p>3.5.1～3.5.7 (略)</p> <p>3.5.8 力価試験</p> <p>3.5.8.1、3.5.8.2又は3.5.8.3の試験を行う。</p> <p>3.5.8.1 マウス試験法</p> <p>3.5.8.1.1・3.5.8.1.2 (略)</p> <p>3.5.8.1.3 判定</p> <p>血清対照の各穴の吸光度値の平均値+0.5以上の<u>吸光度値</u>を示した血清の最高希釈倍数を抗体価とする。</p> <p>試験群では、70%以上が抗体価2,560倍以上でなければならない。この場合、対照群では、すべて320倍以下でなければならない。また、参照陽性血清1は、抗体価2,560～5,120倍を示さなければならない。</p> <p>3.5.8.2 ウサギ試験法</p> <p>3.5.8.2.1・3.5.8.2.2 (略)</p>
--	---

### 3.5.8.2.3 判定

参照陰性血清の全穴の平均吸光度の2倍以上の吸光度を示した血清の最高希釈倍数を抗体価とする。また、参照陽性血清2及び試験群の血清の各希釈段階における吸光度は、3穴の平均値とする。

試験群では、参照陽性血清2の抗体価以上でなければならない。この場合、対照群では、すべて20倍以下でなければならない。また、参照陰性血清の平均吸光度は0.05～0.11、参照陽性血清2の抗体価は40～160倍を示さなければならない。

### 3.5.8.3 相対力価試験法

#### 3.5.8.3.1 (略)

#### 3.5.8.3.2 試験方法

##### 3.5.8.3.2.1・3.5.8.3.2.2 (略)

#### 3.5.8.3.2.3 反応

ELISAによりOD値を測定する。

試料及び参照品をブロッキング液で適当な濃度に希釈したもの、及びそれらを階段希釈したものを、固相化プレートの各穴に加え、21～25℃で60～75分間反応させる。洗浄した後、希釈した指示抗体(付記19)を各穴に加え、21～25℃で60～75分間反応させる。洗浄した後、基質液3(付記20)を各穴に加え、21～25℃で反応させる。主波長405nm、副波長490nm又は492nmで最低希釈倍率の参照品の平均OD値を測定し、その値が1.5～2.2となった時点で反応終了とし、全ての穴のOD値を測定する。

#### 3.5.8.3.3 判定

各穴のOD値を用いて、参照品中の抗原量を1.0として、試料の抗原量を相対力価(RP)の計算法(付記21)により算出するとき、試験品のRPは1.2以上でなければならない。

#### 4 (略)

#### 付記1 ポリソルベート20抽出抗原1

製造用株又はこれと同等の抗原性を有する株の振とう培養菌液を遠心集菌し、希釈液1に懸濁後、4℃で24時間攪拌して菌体を洗浄する。洗浄菌体をトリス緩衝液(1)に蛋白濃度1mg/mLになるように懸濁後、2vol%ポリソルベート20加トリス緩衝液(2)を等量加え、37℃で30分間振とうしながら加温する。遠心後の上清にジエチルエーテルを等量加えて振とう後、エーテル層を完全に除去したもの。

(1)・(2) (略)

#### 付記2 参照陽性血清1

### 3.5.8.2.3 判定

参照陰性血清の全穴の平均吸光度値の2倍以上の吸光度値を示した血清の最高希釈倍数を抗体価とする。また、参照陽性血清2及び試験群の血清の各希釈段階における吸光度値は、3穴の平均値とする。

試験群では、参照陽性血清2の抗体価以上でなければならない。この場合、対照群では、すべて20倍以下でなければならない。また、参照陰性血清の平均吸光度値は0.05～0.11、参照陽性血清2の抗体価は40～160倍を示さなければならない。

### 3.5.8.3 相対力価試験法

#### 3.5.8.3.1 (略)

#### 3.5.8.3.2 試験方法

##### 3.5.8.3.2.1・3.5.8.3.2.2 (略)

#### 3.5.8.3.2.3 反応

ELISAによりOD値を測定する。

試料及び参照品をブロッキング液で適当な濃度に希釈したもの、及びそれらを階段希釈したものを、固相化プレートの各穴に加え、21～25℃で60～75分間反応させる。洗浄した後、希釈した指示抗体(付記19)を各穴に加え、21～25℃で60～75分間反応させる。洗浄した後、基質液(付記20)を各穴に加え、21～25℃で反応させる。主波長405nm、副波長490nm又は492nmで最低希釈倍率の参照品の平均OD値を測定し、その値が1.5～2.2となった時点で反応終了とし、全ての穴のOD値を測定する。

#### 3.5.8.3.3 判定

各穴のOD値を用いて、参照品中の抗原量を1.0として、試料の抗原量を相対力価(RP)の計算法(付記21)により算出するとき、試験品のRPは1.38以上でなければならない。

#### 4 (略)

#### 付記1 ポリソルベート20抽出抗原1

製造用株又はこれと同等の抗原性を有する株の振とう培養菌液を遠心集菌し、希釈液に懸濁後、4℃で24時間攪拌して菌体を洗浄する。洗浄菌体をトリス緩衝液(1)に蛋白濃度1mg/mLになるように懸濁後、2vol%ポリソルベート20加トリス緩衝液(2)を等量加え、37℃で30分間振とうしながら加温する。遠心後の上清にジエチルエーテルを等量加えて振とう後、エーテル層を完全に除去したもの。

(1)・(2) (略)

#### 付記2 参照陽性血清1



<p>マイコプラズマ・ハイオニューモニエJ株又はこれと同等の免疫原性を有する株で免疫したマウスの血清で、抗体価が2,560～5,120倍となるように<u>調製し</u>、凍結又は凍結乾燥したもの。</p> <p>付記3 (略)</p> <p>付記4 抗原吸着プレート1  マイコプラズマ・ハイオニューモニエJ株又はこれと同等の免疫原性を有する株に対するウサギ免疫血清(付記22)を炭酸緩衝液1(付記23)で100倍に希釈後、<u>96穴プレート</u>の各穴に100<math>\mu</math>Lずつ加え、4<math>^{\circ}</math>Cで18時間反応させる。その後、洗浄液1で3回洗浄する。0.1w/v%ゼラチン液(付記24)を各穴に100<math>\mu</math>Lずつ加え、4<math>^{\circ}</math>Cで18時間反応させる。さらに、洗浄液1で3回洗浄後、ポリソルベート20抽出抗原1を<u>希釈液1</u>で蛋白量12.5<math>\mu</math>g/mLになるように希釈し、各穴に100<math>\mu</math>Lずつ加え、4<math>^{\circ}</math>Cで18時間反応させた後、洗浄液1で3回洗浄したもの。</p> <p>付記5～11 (略)</p> <p>付記12 抗原吸着プレート2  ポリソルベート20抽出抗原2を炭酸緩衝液2(付記27)で蛋白量として10<math>\mu</math>g/mLに調製した抗原液を<u>96穴プレート</u>の各穴に100<math>\mu</math>Lずつ分注し、プレートをシールして室温で18～72時間感作したもの。</p> <p>付記13・14 (略)</p> <p>付記15 基質液2  A液：0.6gの2,2'-アジノビス(3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸)を1,000mLのグリシン緩衝液で溶解したもの。  B液：<u>0.02vol%過酸化水素水溶液</u>  A液とB液を使用時に等量混合する。</p> <p>付記16 参照品  製造用株又はこれと同等の<u>抗原性</u>を有する株の培養菌液又はこれを濃縮したものを不活化し、油性アジュバントを添加したものであり、豚における攻撃試験において肺病変及び抗体価に基づいて有効性が確認されたものであって、動物医薬品検査所が適当と認めたもの。</p>	<p>マイコプラズマ・ハイオニューモニエJ株又はこれと同等の免疫原性を有する株で免疫したマウスの血清で、抗体価が2,560～5,120倍となるように<u>調整し</u>、凍結又は凍結乾燥したもの。</p> <p>付記3 (略)</p> <p>付記4 抗原吸着プレート1  マイコプラズマ・ハイオニューモニエJ株又はこれと同等の免疫原性を有する株に対するウサギ免疫血清(付記22)を炭酸緩衝液1(付記23)で100倍に希釈後、<u>96穴マイクロプレート</u>の各穴に100<math>\mu</math>Lずつ加え、4<math>^{\circ}</math>Cで18時間反応させる。その後、洗浄液1で3回洗浄する。0.1w/v%ゼラチン液(付記24)を各穴に100<math>\mu</math>Lずつ加え、4<math>^{\circ}</math>Cで18時間反応させる。さらに、洗浄液1で3回洗浄後、ポリソルベート20抽出抗原1を<u>希釈液</u>で蛋白量12.5<math>\mu</math>g/mLになるように希釈し、各穴に100<math>\mu</math>Lずつ加え、4<math>^{\circ}</math>Cで18時間反応させた後、洗浄液1で3回洗浄したもの。</p> <p>付記5～11 (略)</p> <p>付記12 抗原吸着プレート2  ポリソルベート20抽出抗原2を炭酸緩衝液2(付記27)で蛋白量として10<math>\mu</math>g/mLに調製した抗原液を<u>マイクロプレート</u>の各穴に100<math>\mu</math>Lずつ分注し、プレートをシールして室温で18～72時間感作したもの。</p> <p>付記13・14 (略)</p> <p>付記15 基質液2  A液：0.6gの2,2'-アジノージ(3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸)を1,000mLのグリシン緩衝液で溶解したもの。  B液：<u>0.02vol%過酸化水素溶液</u>  A液とB液を使用時に等量混合する。</p> <p>付記16 参照品  マイコプラズマ・ハイオニューモニエ製造用株若しくはこれと同等の<u>免疫原性</u>を有する株の培養菌液又はこれを濃縮したものを不活化し、油性アジュバントを添加したものであり、豚における攻撃試験において肺病変及び抗体価に基づいて有効性が確認されたものであって、</p>
--	---

<p>付記17～付記19 (略)</p> <p>付記20 <u>基質液 3</u> <u>2,2'-アジノビス (3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸)</u> (ABTS) 液</p> <p>付記21～付記27 (略)</p>	<p>動物医薬品検査所が適当と認めたもの。</p> <p>付記17～付記19 (略)</p> <p>付記20 <u>基質液</u> <u>2,2'-アジノビス (3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸)</u> (ABTS) 液</p> <p>付記21～付記27 (略)</p>
---	---

動物用生物学的製剤基準の一部を改正する件 新旧対照表

○動物用生物学的製剤基準（平成 14 年 10 月 3 日農林水産省告示第 1567 号）

次の表により、改正前欄に掲げる規定の傍線を付した部分（以下「傍線部分」という。）でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分があるものは、これを当該傍線部分のように改め、改正後欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正前欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これを加える。

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p style="text-align: center;"><b>鶏伝染性ファブリキウス嚢病生ワクチン（ひな用）（シード）</b></p> <p>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、<u>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。</u></p> <p>2 製法</p> <p>2.1 製造用株</p> <p>2.1.1～2.1.3 （略）</p> <p>2.1.4 ワーキングシードウイルス</p> <p>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<u>適当と認められた培養細胞で増殖及び継代させる。</u> ワーキングシードウイルスは、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して 5℃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。</p> <p>2.1.5 プロダクションシードウイルス</p> <p>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<u>適当と認められた培養細胞で増殖させる。</u> 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℃以下又は凍結乾燥して 5℃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。</p> <p>2.2 製造用材料</p> <p>2.2.1 （略）</p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p style="text-align: center;"><b>鶏伝染性ファブリキウス嚢病生ワクチン（ひな用）（シード）</b></p> <p>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<u>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。</u></p> <p>2 製法</p> <p>2.1 製造用株</p> <p>2.1.1～2.1.3 （略）</p> <p>2.1.4 ワーキングシードウイルス</p> <p>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<u>適当と認められた培養細胞で増殖する。</u> ワーキングシードウイルスは、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して 5℃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。</p> <p>2.1.5 プロダクションシードウイルス</p> <p>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<u>適当と認められた培養細胞で増殖する。</u> 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℃以下又は凍結乾燥して 5℃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。</p> <p>2.2 製造用材料</p> <p>2.2.1 （略）</p>

<p>2.2.2 初代細胞を用いる場合</p> <p>2.2.2.1・2.2.2.2 (略)</p> <p>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)</p> <p>2.2.2.3.1 増殖、継代及び保存</p> <p>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<u>増殖させ、継代及び保存しない。</u></p> <p>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。</p> <p>2.3 原液</p> <p>2.3.1・2.3.2 (略)</p> <p>2.3.3 ウイルスの培養</p> <p>2.3.3.1 発育鶏卵を用いる場合</p> <p>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、培養後、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、<u>適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。</u></p> <p>原液について、3.6 の試験を行う。</p> <p><u>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。</u></p> <p>2.3.3.2 (略)</p> <p>2.4 最終バルク</p> <p>原液を混合し、<u>適当と認められた希釈液及び安定剤を加えて調整し、最終バルクとする。</u>この場合、<u>適当と認められた必要最少量の抗生物質を加えてもよい。</u></p> <p>小分製品が錠剤である製剤については、原液を混合して適当と認められた希釈液及び安定剤を加えて凍結乾燥し、<u>適当と認められた賦形剤及び滑沢剤を加えて調整し、最終バルクとする。</u></p> <p><u>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。</u></p> <p><u>粒状に凍結乾燥された最終バルクについて、3.7 の試験を行う。</u></p> <p>2.5 小分製品</p> <p>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。</p> <p>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。</p> <p><u>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。</u></p>	<p>2.2.2 初代細胞を用いる場合</p> <p>2.2.2.1・2.2.2.2 (略)</p> <p>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)</p> <p>2.2.2.3.1 増殖、継代及び保存</p> <p>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<u>増殖し、継代及び保存しない。</u></p> <p>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。</p> <p>2.3 原液</p> <p>2.3.1・2.3.2 (略)</p> <p>2.3.3 ウイルスの培養</p> <p>2.3.3.1 発育鶏卵を用いる場合</p> <p>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、培養後、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、<u>適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。</u></p> <p>原液について、3.6 の試験を行う。</p> <p>2.3.3.2 (略)</p> <p>2.4 最終バルク</p> <p>原液を混合し、<u>適当と認められた希釈液及び安定剤を加えて調整し、最終バルクとする。</u>この場合、<u>適当と認められた必要最少量の抗生物質を加えてもよい。</u></p> <p>小分製品が錠剤である製剤については、原液を混合して適当と認められた希釈液及び安定剤を加えて凍結乾燥し、<u>適当と認められた賦形剤及び滑沢剤を加えて調整し、最終バルクとする。</u></p> <p>2.5 小分製品</p> <p>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、<u>最終バルクを錠剤に成型し、小分製品とする。</u></p> <p>小分製品について、<u>3.7 の試験を行う。</u></p>
---	--

<p>小分製品について、<u>3.8</u>の試験を行う。  <u>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。</u></p> <p>3 試験法  3.1～3.5 (略)  3.6 原液の試験  3.6.1 (略)  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  <u>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。</u>  3.6.2.1.2 (略)  3.6.2.2・3.6.2.3 (略)  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  <u>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。</u>  3.7.1.1.2 培養細胞  <u>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。</u>  3.7.1.2 試験方法  <u>試料0.2mLずつを96穴プレートの10穴以上に加え、37°Cで7日間培養し、観察する。</u>  3.7.1.3 判定  <u>培養細胞にCPEを認めた場合を感染とみなし、TCID<sub>50</sub>を算出する。</u>  3.8 小分製品の試験  3.8.1～3.8.7 (略)  3.8.8 マーカー試験  3.8.8.1 試験材料  3.8.8.1.1 試料  <u>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整したものを試料とする。強毒伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスを0.1mL当たり10<sup>4.0</sup>EID<sub>50</sub>になるように調整したものを対照として用いる。</u></p>	<p>3 試験法  3.1～3.5 (略)  3.6 原液の試験  3.6.1 (略)  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  <u>試験品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。</u>  3.6.2.1.2 (略)  3.6.2.2・3.6.2.3 (略)  (新設)</p> <p>3.7 小分製品の試験  3.7.1～3.7.7 (略)  3.7.8 マーカー試験  3.7.8.1 試験材料  3.7.8.1.1 試料  <u>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整したものを試料とする。強毒伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスを0.1mL当たり10<sup>4.0</sup>EID<sub>50</sub>になるように調整したものを対照として用いる。</u></p>
--	--

<p><u>3.8.8.1.2</u> 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。</p> <p><u>3.8.8.2</u>・<u>3.8.8.3</u> (略)</p> <p><u>3.8.9</u> 安全試験</p> <p><u>3.8.9.1</u> 試験材料</p> <p><u>3.8.9.1.1</u> 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。</p> <p><u>3.8.9.1.2</u> (略)</p> <p><u>3.8.9.2</u>・<u>3.8.9.3</u> (略)</p> <p><u>3.8.10</u> 力価試験</p> <p><u>3.8.10.1</u> 試験材料</p> <p><u>3.8.10.1.1</u> 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。</p> <p><u>3.8.10.1.2</u>~<u>3.8.10.1.4</u> (略)</p> <p><u>3.8.10.2</u>・<u>3.8.10.3</u> (略)</p> <p><u>3.8.11</u> 免疫抑制否定試験</p> <p><u>3.8.11.1</u> 試験材料</p> <p><u>3.8.11.1.1</u> 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。</p> <p><u>3.8.11.1.2</u> (略)</p> <p><u>3.8.11.2</u> 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。</p> <p><u>3.8.11.2.1</u> (略)</p> <p><u>3.8.11.2.2</u> 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 <math>10^{4.0}</math> 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。</p> <p><u>3.8.11.3</u> 判定 <u>3.8.11.2.1</u> 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</p>	<p><u>3.7.8.1.2</u> 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</p> <p><u>3.7.8.2</u>・<u>3.7.8.3</u> (略)</p> <p><u>3.7.9</u> 安全試験</p> <p><u>3.7.9.1</u> 試験材料</p> <p><u>3.7.9.1.1</u> 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整し、接種材料とする。</p> <p><u>3.7.9.1.2</u> (略)</p> <p><u>3.7.9.2</u>・<u>3.7.9.3</u> (略)</p> <p><u>3.7.10</u> 力価試験</p> <p><u>3.7.10.1</u> 試験材料</p> <p><u>3.7.10.1.1</u> 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整したものを接種材料とする。</p> <p><u>3.7.10.1.2</u>~<u>3.7.10.1.4</u> (略)</p> <p><u>3.7.10.2</u>・<u>3.7.10.3</u> (略)</p> <p><u>3.7.11</u> 免疫抑制否定試験</p> <p><u>3.7.11.1</u> 試験材料</p> <p><u>3.7.11.1.1</u> 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整したものを接種材料とする。</p> <p><u>3.7.11.1.2</u> (略)</p> <p><u>3.7.11.2</u> 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。</p> <p><u>3.7.11.2.1</u> (略)</p> <p><u>3.7.11.2.2</u> 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 <math>10^{4.0}</math> 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 1 mL ずつ注射し、14 日間観察する。</p> <p><u>3.7.11.3</u> 判定 <u>3.7.11.2.1</u> 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</p>
---	--

<p>抑制抗体が上昇し、その赤血球凝集抑制抗体価に有意差 (<math>P &lt; 0.05</math>) を認めてはならない。</p> <p><u>3.8.11.2.2</u> 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。</p> <p><u>3.8.12</u> 崩壊試験</p> <p>小分製品が錠剤である製剤について次の試験を行う。</p> <p><u>3.8.12.1</u> (略)</p> <p><u>3.8.12.2</u> 判定</p> <p>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。</p> <p>全てが 10 分以内に崩壊しなければならない。</p> <p>4 (略)</p> <p>付記 1～付記 3 (略)</p>	<p>抑制抗体が上昇し、その赤血球凝集抑制抗体価に有意差 (<math>P &lt; 0.05</math>) を認めてはならない。</p> <p><u>3.5.11.2.2</u> 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。</p> <p><u>3.7.12</u> 崩壊試験</p> <p>小分製品が錠剤である製剤について次の試験を行う。</p> <p><u>3.7.12.1</u> (略)</p> <p><u>3.7.12.2</u> 判定</p> <p>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。</p> <p>全てが 10 分以内に崩壊しなければならない。</p> <p>4 (略)</p> <p>付記 1～付記 3 (略)</p>
--	--

動物用生物学的製剤基準の一部を改正する件 新旧対照表

○動物用生物学的製剤基準（平成 14 年 10 月 3 日農林水産省告示第 1567 号）

次の表により、改正前欄に掲げる規定の傍線を付した部分（以下「傍線部分」という。）でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分があるものは、これを当該傍線部分のように改め、改正後欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正前欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これを加える。

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p style="text-align: center;"><b>鶏伝染性ファブリキウス嚢病生ワクチン(ひな用中等毒) (シード)</b></p> <p>1 (略)</p> <p>2 製法</p> <p>2.1 (略)</p> <p>2.2 製造用材料</p> <p>2.2.1 発育鶏卵</p> <p>SPF 動物規格の 1.1 に適合した <u>7</u>～14 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。</p> <p>2.3 原液</p> <p>2.3.1 (略)</p> <p>2.3.2 ウイルスの培養</p> <p>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、培養後、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、<u>適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。</u> 原液について、3.4 の試験を行う。 <u>なお、最終バルクについて 3.5 の試験を行う場合は、3.4.2 の試験を行わない。</u></p> <p>2.4 最終バルク</p> <p>原液を混合し、<u>適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。</u> <u>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。</u> <u>粒状に凍結乾燥した最終バルクについて、3.5 の試験を行う。</u></p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p style="text-align: center;"><b>鶏伝染性ファブリキウス嚢病生ワクチン(ひな用中等毒) (シード)</b></p> <p>1 (略)</p> <p>2 製法</p> <p>2.1 (略)</p> <p>2.2 製造用材料</p> <p>2.2.1 発育鶏卵</p> <p>SPF 動物規格の 1.1 に適合した <u>11</u>～14 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。</p> <p>2.3 原液</p> <p>2.3.1 (略)</p> <p>2.3.2 ウイルスの培養</p> <p>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、培養後、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、<u>適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。</u> 原液について、3.4 の試験を行う。</p> <p>2.4 最終バルク</p> <p>原液を混合し、<u>適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。</u></p>



## 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。

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、規定量となる量の最終バルクを小分容器に充填し、小分製品とする。

小分製品について、3.6の試験を行う。

なお、粒状に凍結乾燥した最終バルクを小分容器に充填した製剤については、3.6.2の試験を行わない。

## 3 試験法

### 3.1～3.4 (略)

### 3.5 最終バルクの試験

#### 3.5.1 ウイルス含有量試験

##### 3.5.1.1 試験材料

###### 3.5.1.1.1 試料

検体を注射用水で溶解したものを、さらにトリプトース溶液（付記1）で10倍段階希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

###### 3.5.1.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合した 10～11 日齢の発育鶏卵を用いる。

###### 3.5.1.2 試験方法

試料 0.2mL ずつをそれぞれ 8 個の発育鶏卵の漿尿膜上に接種し、37°Cで 6 日間培養する。培養終了後、漿尿膜を採取して乳剤としたものを凍結融解した後、遠心した上清について ELISA を行う。

抗体固相化プレート（付記 2）の各穴に上清又は参照陰性対照（付記 3）を加え、37°Cで 90 分間反応させる。水及び洗浄液（付記 4）で洗浄した後、標識抗体（付記 5）を各穴に加え、37°Cで 45 分間反応させる。反応終了後、洗浄液で洗浄し、TMB 基質液を各穴に加え、15 分間反応させる。その後、2 mol/L 硫酸を各穴に加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を波長 450nm で測定する。

参照陰性対照の平均吸光度値の 2.5 倍以上の吸光度を示す上清を感染とみなし、1 粒当たりの EID<sub>50</sub>を算出する。

## 3.6 小分製品の試験

### 3.6.1～3.6.7 (略)

### 3.6.8 安全試験

#### 3.6.8.1 試験材料

##### 3.6.8.1.1 接種材料

## 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、3.5の試験を行う。

## 3 試験法

### 3.1～3.4 (略)

(新設)

## 3.5 小分製品の試験

### 3.5.1～3.5.7 (略)

### 3.5.8 安全試験

#### 3.5.8.1 試験材料

##### 3.5.8.1.1 接種材料

<p>試験品を溶解用液を用いてウイルスが 0.2mL 中に 5 羽分となるように調整し、接種材料とする。</p> <p><u>3.6.8.1.2</u> (略)</p> <p><u>3.6.8.2</u>・<u>3.6.8.3</u> (略)</p> <p><u>3.6.9</u> 力価試験</p> <p><u>3.6.9.1</u> 試験材料</p> <p><u>3.6.9.1.1</u> 接種材料</p> <p>試験品をリン酸緩衝食塩液で 0.2mL 中 1 羽分になるように調整したものを接種材料とする。</p> <p><u>3.6.9.1.2</u>~<u>3.6.9.1.4</u> (略)</p> <p><u>3.6.9.2</u> 試験方法</p> <p>試験動物の 10 羽を試験群、3 羽を対照群とする。</p> <p>接種材料 0.2mL ずつを試験群にそれぞれ経口接種し、3 週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、対照群は、非接種として、試験群と隔離して飼育し、3 週後に得られた各個体の血清について中和試験を行う。</p> <p>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、37°C で 60 分間又は 4°C で 18~24 時間処理する。</p> <p>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°C で 60 分間静置した後、第 1 次重層寒天培地 (付記 6) を重層し、37°C で 3 日間静置培養する。その後、第 2 次重層寒天培地 (付記 7) を重層し、37°C で更に 24 時間静置培養し、観察する。</p> <p><u>3.6.9.3</u> (略)</p> <p><u>3.6.10</u> 免疫抑制否定試験</p> <p><u>3.6.10.1</u> 試験材料</p> <p><u>3.6.10.1.1</u> 試験動物</p> <p><u>3.6.9</u> の試験終了鶏 (試験品接種 3 週後の鶏) 及び生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合した発育鶏卵由来の 5 週齢の鶏 (試験品非接種鶏) を用いる。</p> <p><u>3.6.10.2</u> 試験方法</p> <p><u>3.6.9</u> の試験終了鶏 10 羽を試験群、試験品非接種鶏 10 羽を対照群とする。</p> <p><u>3.6.9</u> の試験最終日に試験群及び対照群に、B1 株の「ニューカッスル病生ワクチン」1 羽分をそれぞれ点鼻接種した後、3 週後に採血し、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。</p> <p><u>3.6.10.3</u> (略)</p>	<p>試験品を溶解用液を用いてウイルスが 0.2mL 中に 5 羽分となるように調整し、接種材料とする。</p> <p><u>3.5.8.1.2</u> (略)</p> <p><u>3.5.8.2</u>・<u>3.5.8.3</u> (略)</p> <p><u>3.5.9</u> 力価試験</p> <p><u>3.5.9.1</u> 試験材料</p> <p><u>3.5.9.1.1</u> 接種材料</p> <p>試験品をリン酸緩衝食塩液で 0.2mL 中 1 羽分になるように調整したものを接種材料とする。</p> <p><u>3.5.9.1.2</u>~<u>3.5.9.1.4</u> (略)</p> <p><u>3.5.9.2</u> 試験方法</p> <p>試験動物の 10 羽を試験群、3 羽を対照群とする。</p> <p>接種材料 0.2mL ずつを試験群にそれぞれ経口接種し、3 週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、対照群は、非接種として、試験群と隔離して飼育し、3 週後に得られた各個体の血清について中和試験を行う。</p> <p>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、37°C で 60 分間又は 4°C で 18~24 時間処理する。</p> <p>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°C で 60 分間静置した後、第 1 次重層寒天培地 (付記 1) を重層し、37°C で 3 日間静置培養する。その後、第 2 次重層寒天培地 (付記 2) を重層し、37°C で更に 24 時間静置培養し、観察する。</p> <p><u>3.5.9.3</u> (略)</p> <p><u>3.5.10</u> 免疫抑制否定試験</p> <p><u>3.5.10.1</u> 試験材料</p> <p><u>3.5.10.1.1</u> 試験動物</p> <p><u>3.5.9</u> の試験終了鶏 (試験品接種 3 週後の鶏) 及び生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合した発育鶏卵由来の 5 週齢の鶏 (試験品非接種鶏) を用いる。</p> <p><u>3.5.10.2</u> 試験方法</p> <p><u>3.5.9</u> の試験終了鶏 10 羽を試験群、試験品非接種鶏 10 羽を対照群とする。</p> <p><u>3.5.9</u> の試験最終日に試験群及び対照群に、B1 株の「ニューカッスル病生ワクチン」1 羽分をそれぞれ点鼻接種した後、3 週後に採血し、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。</p> <p><u>3.5.10.3</u> (略)</p>
---	---

<p>4・5 (略)</p> <p>付記1 トリプトース溶液  <u>1,000mL 中</u>  トリプトース <u>25 g</u>  水 <u>残 量</u>  <u>121°Cで15~30分間高压蒸気滅菌したもの。</u>  <u>必要最小量の抗生物質を加えてもよい。</u></p> <p>付記2 抗体固相化プレート  <u>弱毒伝染性ファブリキウス囊病ウイルス 228E 株の VP2 に対する中和活性のあるモノクローナル抗体産生ハイブリドーマ細胞 (8-INT) の培養上清から調製したモノクローナル抗体を、96 穴プレートの各穴に加えて固相化したもの。</u>  <u>-20°C以下で保存する。</u></p> <p>付記3 参照陰性対照  <u>生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合した発育鶏卵から採取した漿尿膜を乳剤とした後、遠心して得られた上清で、伝染性ファブリキウス囊病ウイルスが陰性のもの。</u></p> <p>付記4 洗浄液  <u>1,000mL 中</u>  塩化ナトリウム <u>37.2 g</u>  塩化カリウム <u>0.2 g</u>  リン酸水素二ナトリウム二水和物 <u>1.44 g</u>  リン酸二水素カリウム <u>0.2 g</u>  ポリソルベート 20 <u>1.5 g</u>  水 <u>残 量</u></p> <p>付記5 標識抗体  <u>ペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ウサギ IgG</u></p> <p>付記6・付記7 (略)</p>	<p>4・5 (略)</p> <p>(新設)</p> <p>(新設)</p> <p>(新設)</p> <p>(新設)</p> <p>(新設)</p> <p>付記1・付記2 (略)</p>
--	---