

写

28消安第2647号  
平成28年9月30日

動物医薬品検査所長 殿

消費・安全局長

動物用生物学的製剤基準の一部改正等について

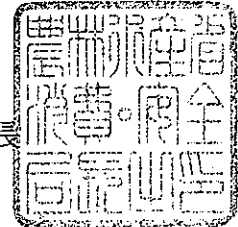
このことについて、別添写しのとおり各都道府県知事宛て通知したので、  
了知されたい。



28消安第2647号  
平成28年9月30日

北海道知事 殿

農林水産省消費・安全局長



動物用生物学的製剤基準の一部改正等について

今般、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）の一部が別紙1のとおり改正されましたので、貴庁に備え置いて縦覧願います。

この改正に伴い、動物用シードロット製剤の品質確保に必要な措置に係る留意点等について（平成21年7月1日付け21消安第2928号農林水産省消費・安全局長通知）の一部を別紙2のとおり改正することとしましたので、御了知願います。

○農林水産省告示第千八百八十九号

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和三十五年法律第百四十五号）第八十三条第一項の規定により読み替えて適用される同法第四十二条第一項の規定に基づき、動物用生物学的製剤基準（平成十四年十月三日農林水産省告示第千五百六十七号）の一部を次のように改正し、公布の日から施行する。

平成二十八年九月三十日

農林水産大臣 山本 有二

（「次のよう」は、省略し、その関係書類を農林水産省消費・安全局畜水産安全管理課及び都道府県庁に備え置いて縦覧に供する。）

附 則

この告示による改正後の一般試験法の無菌試験法の項の規定の適用については、この告示の施行の日から起算して一年を経過する日までの間は、なお従前の例によることができる。

(次のよう)

通則を次のように改める。

## 通 則

- 1 この基準は、医薬品各条に掲げる動物用生物学的製剤（原液、原末又は最終バルクたる製造の中間段階における製品を含む。以下「各条動生剤」という。）について、その製法、性状、品質、貯法等に関する基準を定めたものである。この基準の略名を「動生剤基準」という。
- 2 「日本薬局方」とは、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和35年法律第145号。以下「法」という。）に規定する日本薬局方をいい、「日本工業規格」とは、工業標準化法（昭和24年法律第185号）に規定する日本工業規格をいう。
- 3 「基準名」とは、医薬品各条に掲げる名称をいう。ただし、原液、原末又は最終バルクについては、対応する医薬品各条に掲げる名称にそれぞれ「原液」、「原末」又は「最終バルク」を付けたものを基準名とする。基準名は、法第50条の適用に関しては一般的名称とみなす。
- 4 各条動生剤の適否は、通則、医薬品各条及び一般試験法の規定によって判定する。  
ただし、各条動生剤のうち原液、原末又は最終バルクたる製造の中間段階における製品については、対応する規定のうち原液、原末又は最終バルクまでの項により判定する。
- 5 製法の変更又は試験法の試験項目の変更は、それが規定の方法と同等以上の製品が製造できるものとして法第14条又は第23条の2の5に規定する承認がなされた場合に限り行うことができる。
- 6 基準名に「」を付けたものは、この基準に規定する性状及び品質の規格に適合するものを示す。ただし、医薬品各条の表題ではこれを付けない。  
また、『』は、特定の生物活性を表す物質を示す。
- 7 主な計量の単位については、次の記号を用いる。

センチメートル	cm	キログラム	Kg
ミリメートル	mm	グラム	g
ナノメートル	nm	ミリグラム	mg
平方センチメートル	cm <sup>2</sup>	マイクログラム	μg
リットル	L	モル毎リットル	mol/L
デシリットル	dL	パスカル	Pa
ミリリットル	mL	重力加速度	G
マイクロリットル	μL		
- 8 質量百分率は%、質量対容量百分率はw/v%、体積百分率はvol%、容量対質量百分率はv/v%を用いる。
- 9 温度の表示は、セルシウス氏法によりアラビア数字の右に℃を付ける。
- 10 溶媒名を示さない溶液は、水溶液を示す。
- 11 「溶解用液」とは、添付の溶解用液又は当該製剤の溶解に相当と認められた溶解用液をいう。
- 12 乾燥した製剤及び用時溶解する製剤について、単に「溶解用液で溶解する」と記載した場合は、溶解用液を用い、その動物用生物学的製剤の直接の容器等に記載された方法により溶解するものとする。
- 13 各条動生剤の製造に用いる医薬品又は薬品は、別に規定する場合を除き、日本薬局方に収載されているものにあつては、その規格に適合するものを用い、日本薬局方に収載されず、かつ、日本工業規格に定めのあるものについては、その目的に応じた規格のものを用いる。
- 14 医薬品各条において「相当と認められたものを用いることができる」等とされた不活化剤、安定剤等は、その動物用生物学的製剤の一般的な使用量においては安全であり、かつ、薬効を阻害し、試験に支障を来すものであつてはならない。
- 15 各条動生剤及び添付する溶解用液の実容量は、表示量を正しく採取するに足りる量とする。

- 16 「原株」とは、製造用株として医薬品各条で規定されたウイルス株、菌株又はコクシジウム株をいう。  
「原種ウイルス」、「原種菌」又は「原種コクシジウム」とは、ワクチンを製造する際に、原株を医薬品各条のワクチンの部又は規格で定められた方法で継代したもので、原株と同一の性状を示し、ワクチンの種ウイルス、種菌又は種コクシジウムの製造に用いるものをいう。  
「種ウイルス」、「種菌」又は「種コクシジウム」とは、原株を医薬品各条で定められた方法で継代したもので、原株と同一の性状を示し、直接の製造に用いるものをいう。
- 17 「初代細胞」とは、適当な組織のトリプシン消化等によって得られる培養細胞で、基本的にはオリジナル細胞と同じ性状を持つものをいう。  
「継代細胞」とは、継続的で増殖能力を持つ培養細胞をいう。
- 18 「シードロット」とは、単一培養で得られた特定のウイルス、細菌、細胞等の均一な浮遊液であって、その遺伝的性質が十分に安定した条件で保存されているものをいう。
- 19 「シードロット製剤」とは、シードロットを用いて製造されるワクチンをいう。
- 20 「マスターシード」とは、シードロット製剤の製造用株として医薬品各条に規定され、承認の範囲内で継代したものであって、恒久的に保存されるウイルス株（以下「マスターシードウイルス」という。）、恒久的に保存される菌株（以下「マスターシード菌」という。）又は恒久的に保存されるコクシジウム株（以下「マスターシードコクシジウム」という。）をいう。  
「ワーキングシード」とは、マスターシードに由来し、製品の製造に直接用いないウイルス株（以下「ワーキングシードウイルス」という。）、製品の製造に直接用いない菌株（以下「ワーキングシード菌」という。）又は製品の製造に用いないコクシジウム株（以下「ワーキングシードコクシジウム」という。）をいう。  
「プロダクションシード」とは、ワーキングシードに由来し、製品の製造に直接用いるウイルス株（以下「プロダクションシードウイルス」という。）、製品の製造に直接用いる菌株（以下「プロダクションシード菌」という。）又は製品の製造に直接用いるコクシジウム株（以下「プロダクションシードコクシジウム」という。）をいう。
- 21 「株化細胞」とは、シードロット製剤の製造に用いる、継続的で増殖能力を持つ培養細胞をいう。  
「マスターセルシード」とは、承認の範囲内で継代した株化細胞をいう。  
「ワーキングセルシード」とは、マスターセルシードに由来し、製品の製造に直接用いない株化細胞をいう。  
「プロダクションセルシード」とは、ワーキングセルシードに由来し、製品の製造に直接用いる株化細胞をいう。
- 22 「マスタープライマリーセルシード」とは、動物体内から採取した細胞より5代以内の継代で作出された初代細胞をいう。  
「ワーキングプライマリーセルシード」とは、マスタープライマリーセルシードに由来し、製品の製造に直接用いない初代細胞をいう。  
「プロダクションプライマリーセルシード」とは、ワーキングプライマリーセルシードに由来し、製品の製造に直接用いる初代細胞をいう。
- 23 「原液」とは、単一の有効成分を含有する動物用生物学的製剤であって、そのままでは最終小分容器に分注しないものをいう。
- 24 「原末」とは、原液を乾燥し、調製したものをいう。
- 25 「最終バルク」とは、一容器内に調製され、直ちに分注できる状態にあつて、その内容のいずれの部分をとっても、性状及び品質において均一と認められるものをいう。ただし、その均一の状態を保持するための攪拌操作を行うことは許される。
- 26 「小分製品」とは、小分容器に最終バルクを分注し、必要あれば乾燥して、密封したものをいう。
- 27 「ロット」とは、通常、一つの最終バルクに由来する小分製品の一群をいう。また、医薬品各条

の原液、原末又は最終バルクたる動物用生物学的製剤の「ロット」とは、同一期間内に一連の製造工程により均質性を有するように製造されたものの一群をいう。

- 28 一つのロットに対しては、通常、一つの製造番号又は製造記号を付ける。ただし、一つの最終バルクから、同一とみなし得ない操作によって分注密封された小分製品群（分注量が異なる場合を含む。）又は同一の条件とみなし得ない乾燥操作によって乾燥された小分製品群にあっては、同一の製造番号又は製造記号に分注区分又は乾燥区分ごとの記号を付記する。
- 29 医薬品各条の規定のうち、原液、原末又は最終バルク及び小分製品の試験は、通常、ロットごとに行う。ただし、分注区分又は乾燥区分のある小分製品については、特性試験、無菌試験、生菌数試験、芽胞数試験、夾雑菌否定試験、ウイルス含有量試験、真空度試験、含湿度試験、その他特に規定する試験は各区分ごとに行い、その他の試験は各区分の試験品を等量混合して行う。
- 30 「試験品」とは、試験に使用する小分製品又は小分製品を溶解用液で溶解したものをいう。  
「検体」とは、最終バルク以前の試験の対象のことで、なんらの操作も加えていないものをいう。  
「試料」とは、試験品又は検体に希釈その他の操作を加えたものをいう。
- 31 乾燥した製剤及び用時溶解する各条動生剤の試験は、「真空度試験」、「含湿度試験」、特性試験の「溶解前の乾燥製剤の容器ごとの均一性試験」及び別に規定する場合を除き、通常、溶解用液を用いて直接の容器等に記載された方法に従って溶解又は懸濁したものについて行う。
- 32 「不活化試験」とは、その動物用生物学的製剤の製造に用いた生きた微生物が規定に示す程度以下に、その活性を消失していることを判定する試験である。  
「無毒化試験」とは、その動物用生物学的製剤の製造工程中に存在した特定の毒性成分が規定に示す程度以下に、その毒性を消失していることを判定する試験である。  
「( ) 否定試験」とは、その動物用生物学的製剤中に ( ) に示す物質、微生物等が規定に示す程度には存在していないことを判定する試験である。
- 33 試験は、別に規定する場合を除き、常温において行う。  
常温とは、15～25℃をいう。
- 34 試験を行うときは、別に規定する場合を除き、一般試験法の「試薬・試液等」を用いる。試験において単に「水」と記載した場合の水は、日本薬局方に規定する精製水をいう。
- 35 質量を「正確に量る」とは、規定された数値の質量をそのけた数まで量ることをいう。  
容量を「正確に量る」とは、規定された容量を全量ピペット、メスフラスコ又はビューレットを用いて量ることをいう。  
質量を「精密に量る」とは、量るべき最小単位を考慮し、0.1mg、0.01mg又は0.001mgまで量ることをいう。
- 36 数値を単に記載したものは、通常、その規定値の±5%の範囲の値とする。また、数値に「約」を付けたものは、その規定値の±10%の範囲の値とする。
- 37 一般試験法のうち、理化学試験で、規定された値（以下「規格値」という。）と試験によって得た値（以下「実験値」という。）との比較によって適否の判定を行う場合には、実験値は規格値より1けた多く求め、その多く求めた1けたについて四捨五入し、規格値と比較する。
- 38 試験に用いる動物は、健康なものとする。動物が試験時不測の異常を示したとき、原因がその動物用生物学的製剤によるものでないことが明らかにされない場合は、その動物用生物学的製剤は、その試験に不適合とする。
- 39 動生剤基準に規定する試験法の変更又は試験方法の細部の変更は、それが規定の方法と同等以上の正確さと精密さがある場合には行うことができる。ただし、その結果に基づく判定が規定の方法による判定と異なる場合は、規定の方法で最終判定を行う。
- 40 貯法は、別に規定する場合を除き、遮光して、凍結乾燥製剤にあっては10℃以下、液状製剤にあっては2～10℃とする。ただし、原液、原末又は最終バルクについてはこの規定を適用しない。
- 41 「倉出し」とは、動物用生物学的製剤を製造所等の貯蔵庫から販売又は移送の目的で取り出すこ

- とをいう。動物用生物学的製剤は、倉出し以前においては一定の温度で貯蔵されなければならない。
- 42 使用の期限及び有効期間は、別に規定する場合を除き、製造完了の日の属する月の翌月から起算するものとする。ただし、法第43条第1項に規定する検定を受けるべき動物用生物学的製剤にあっては、検定終了の日を製造完了の日に代えることができる。
- 43 検定を受けるべき動物用生物学的製剤であってやむを得ない事由により動物用医薬品等取締規則（平成16年農林水産省令第107号）第152条第3項の期間内に検定の申請をすることができなかった医薬品その他検定の際、動物医薬品検査所長が特に有効期間を短縮すべき事由があると認める医薬品についての使用の期限は、前項の規定にかかわらず、その検定の際、当該所長が指示する期日とする。
- 44 各条動生剤について法第50条第9号の規定による直接の容器等の記載事項は、別に規定する場合を除き、次のとおりとする。ただし、2 mL以下のアンプル若しくはこれと同等の大きさの直接の容器若しくは被包に収められた医薬品又は記載事項が直接印刷される2 mLを超え10 mL以下のアンプル若しくはこれと同等の大きさの容器でその記載場所が狭いため法第50条各号に掲げる事項が明瞭に記載できないものに収められた医薬品、又は体外診断用医薬品であって外部の容器若しくは外部の被包に「体外診断薬用医薬品」の文字の記載のあるものについては、その外部の容器又は被包にこれらの事項が記載されている場合には、記載することを要しない。
- (1) 貯 法
  - (2) 最終有効年月
  - (3) ワクチンにあっては、生ウイルス若しくは生菌又は不活化ウイルス若しくは死菌等の別
- 45 各条医薬品又は各条医薬品の製造に用いる医薬品が動物に由来するものを原料として製造されるものであるときは、別に規定する場合を除き、当該動物は、原則として健康なものでなければならない。

一般試験法の無菌試験法の項を次のように改める。

## 無菌試験法

別に規定する場合を除き、検体等に次の試験又は日本薬局方一般試験法に規定する無菌試験法によって検出できる微生物（細菌又は真菌）が存在しないことを調べる方法である。

### 1 細菌否定試験

#### 1.1 培地

別に規定する場合を除き、次の組成の液状チオグリコール酸培地を用いる。培地の液量は通常1本当たり15mL以上とする。

##### 1.1.1 液状チオグリコール酸培地

###### 1.1.1.1 組成

L-シスチン	0.5 g
寒天	0.75 g
塩化ナトリウム	2.5 g
ブドウ糖	5.0 g
酵母エキス	5.0 g
カゼイン製ペプトン	15.0 g
チオグリコール酸ナトリウム	0.5 g
0.1w/v% レザズリン液	1.0mL
水	1,000mL

滅菌後のpHが6.9～7.3となるように調整し、121°Cで15分間高圧滅菌し、2～25°Cの暗所に保存する。培地の淡赤色の層が上部1/3を超えたものは使用しない。適当な品質の乾燥製品を用いてもよい。

###### 1.1.1.2 適合性

培地は、次に掲げる試験に適合しなければならない。

###### 1.1.1.2.1 発育試験

*Clostridium sporogenes*、*Pseudomonas aeruginosa*及び*Staphylococcus aureus*のそれぞれ100CFU以下又は*Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus*及び*Clostridium sporogenes*のそれぞれ100CFU以下を接種し、30～35°Cで72時間培養するとき、十分に増殖しなければならない。

###### 1.1.1.2.2 無菌性試験

培地の一部を30～35°Cで14日間培養するとき、微生物の増殖を認めない。

#### 1.2 培養材料

検体及び試験品を用いる。なお、溶解用液が非添付の凍結乾燥製剤では、リン酸緩衝食塩液等の適当な溶解用液で用法及び用量に記載された規定量に溶解したものをを用いる。

#### 1.3 検体等の数量

検体の試験を行う場合は、別に規定する場合を除き、全ての容器から試験を行うに十分な量を採る。試験品の試験を行う場合は、別に規定する場合を除き、7本以上の容器について試験を行う。

#### 1.4 培地への接種量

検体の場合は、各材料ごとに培地4本を用い、2本には1mLずつ、他の2本には0.5mLずつ材料を接種する。

試験品の試験では、小分容器の表示液量と培地への接種量は、表1による。



表1 小分容器の表示液量及び1容器当たりの接種量及び培地数（細菌否定試験）

表示液量	1容器当たりの接種量	1容器当たりの培地数	培地への接種
3mL 未満	1/4 量	1 本	1/4量 1本
3mL以上5mL未満	1 mL	2 本	0.5mL 2本
5mL以上10mL未満	1.5 mL	2 本	1 mL 1本 0.5mL 1本
10mL以上	3 mL	2 本	2 mL 1本 1 mL 1本

### 1.5培養及び観察

検体等を培地に接種後、十分に混和し、30～35℃で14日間以上培養し、その間3～5日目、7～9日目及び14日目に菌の発育の有無を観察する。

ただし、製剤により培地が混濁した場合その他必要な場合は、7日目に新しい培地に植継ぎ、同じ温度で8日間以上培養して観察する。

### 1.6判定

試験の結果、菌の発育を認めないときは、この試験に適合とする。

## 2 真菌否定試験

### 2.1培地

別に規定する場合を除き、液状チオグリコール酸培地を用いる。チメロサルを含まない検体等には、別に規定する場合を除き、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト液状培地を用いる。

培地の液量は、通常1本当たり15mL以上とする。

#### 2.1.1 液状チオグリコール酸培地

##### 2.1.1.1 組成

1.1.1.1を準用する。

##### 2.1.1.2 適合性

培地は、次に掲げる試験に適合しなければならない。

##### 2.1.1.2.1 発育試験

*Aspergillus brasiliensis*、*Bacillus subtilis*及び*Candida albicans*のそれぞれ100CFU以下又は*Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus*、*Aspergillus brasiliensis*及び*Candida albicans*のそれぞれ100CFU以下を接種し、20～25℃で5日間培養するとき、十分に増殖しなければならない。

##### 2.1.1.2.2 無菌性試験

1.1.1.2.2を準用する。ただし、培養温度は20～25℃とする。

#### 2.1.2ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト液状培地

##### 2.1.2.1 組成

カゼイン製ペプトン	17.0 g
大豆製ペプトン	3.0 g
塩化ナトリウム	5.0 g
リン酸水素二カリウム	2.5 g
ブドウ糖	2.3 g
水	1,000mL

滅菌後のpHが7.1～7.5となるように調整し、121℃で15分間高压滅菌し、2～25℃の暗所に保存する。適当な品質の乾燥製品を用いてもよい。

##### 2.1.2.2 適合性

2.1.1.2を準用する。

## 2.2 培養材料

1.2を準用する。

## 2.3 検体等の数量

1.3を準用する。

## 2.4 培地への接種量

検体の場合は、各材料ごとに培地4本を用い、1mLずつ材料を接種する。

試験品の試験では、小分容器の表示液量と培地への接種量は、表2による。

表2 小分容器の表示液量及び1容器当たりの接種量及び培地数（真菌否定試験）

表示液量	1 容器当たりの 接 種 量	1 容器当たりの 培 地 数	培地への接種
3mL 未満	1/2 量	2 本	1/4量 2本
3mL以上5mL未満	1 mL	2 本	0.5mL 2本
5mL以上	2 mL	2 本	1 mL 2本

## 2.5 培養及び観察

検体等を培地に接種後、十分に混和し、20～25℃で14日間以上培養し、その間3～5日目、7～9日目及び14日目に菌の発育の有無を観察する。

ただし、製剤により培地が混濁した場合その他必要な場合には、7日目に新しい培地に植継ぎ、同じ温度で8日間以上培養して観察する。

## 2.6 判定

1.6を準用する。

## 3再試験

試験1 及び 2の結果が疑わしい場合は、新たに 2倍量以上の検体等を用いて試験を反復しなければならない。

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の項を次のように改める。

## 外来性ウイルス否定試験法

マスターシードウイルス、マスターセルシード及びマスターシードコクシジウム中に、検出しようる外来性のウイルスが存在しないことを調べる方法である。

### 1 試料

#### 1.1 マスターシードウイルス

検体 1 mLに免疫血清を加え、37°Cで1時間又は4°Cで一夜処理し、完全に中和させたものを試料とする。

#### 1.2 マスターセルシード

単層となった培養細胞を2群に分けて培養し、1群は凍結融解を3回繰り返す、その凍結融解混合物に残りの1群の培養上清を混合したものを試料とする。

#### 1.3 マスターシードコクシジウム

検体を遠心分離等適当と認められた方法で処理したものを試料とする。

### 2 共通ウイルス否定試験

マスターシードウイルス、マスターセルシード及びマスターシードコクシジウムは、由来動物種に感染する可能性のある適切な範囲のウイルス及びワクチンの対象動物に病原性を持つウイルスを考慮し、2.1及び2.2の試験又はいずれかの試験により行う。

#### 2.1 感受性細胞接種試験

##### 2.1.1 試験材料

##### 2.1.1.1 培養細胞

培養細胞の由来動物種に感染する可能性のある適切な範囲のウイルスに対して感受性が高い細胞及びワクチンの対象動物種に感染する可能性のある適切な範囲のウイルスに対して感受性が高い細胞を用いる。

##### 2.1.2 試験方法

##### 2.1.2.1 培養

試料 1 mLにつき70cm<sup>2</sup>以上の培養細胞に接種し、37°Cで7日間培養し、次代に細胞を継代する。継代した細胞を37°Cで7日間培養した後、更に次代に細胞を継代し、37°Cで7日間培養する。なお、魚由来細胞を用いるときは、ワクチン（シードロット製剤）の部の各項で規定する方法で培養すること。

##### 2.1.2.2 細胞観察

CPEの有無をすべての培養期間中少なくとも2日ごとに観察する。

##### 2.1.2.3 細胞染色

12cm<sup>2</sup>以上の培養細胞について培養最終日にヘマトキシリン-エオジン又はメイグリュンワルド-ギムザで染色し、顕微鏡下でCPE及び封入体その他迷入因子に起因する細胞異常の有無を観察する。

##### 2.1.2.4 赤血球吸着

培養最終日に培養細胞をそれぞれ18cm<sup>2</sup>以上になるように3群に分け、培養細胞表面をリン酸緩衝食塩液で2回洗浄後、モルモット、がちょう及び7日齢以内の鶏の0.1vol%赤血球浮遊液をそれぞれの群に重層し、4°Cで30分間静置後20~25°Cで30分間静置する。その後リン酸緩衝食塩液で洗浄後、顕微鏡下で赤血球吸着の有無を観察する。

##### 2.1.3 判定

観察期間中、培養細胞にCPE及び封入体ほか細胞異常を認めず、かつ、培養細胞に赤血球の吸着

を認めないときは、この試験に適合とする。

## 2.2 発育鶏卵接種試験

### 2.2.1 尿膜腔内接種試験

#### 2.2.1.1 鶏胚観察

##### 2.2.1.1.1 試験方法

生ワクチン製造用材料の規格1.1の9～11日齢の発育鶏卵を用いる。試料0.1mLずつを10個の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37℃で7日間培養する。培養最終日に開卵し、鶏胚の異常の有無を観察する。

##### 2.2.1.1.2 判定

鶏胚が正常に発育し、異常を認めないときは、この試験に適合とする。

### 2.2.1.2 赤血球凝集試験

#### 2.2.1.2.1 試験方法

2.2.1.1.1の培養最終日に採取した尿膜腔液に、0.5vol%の鶏赤血球浮遊液を等量加え、4℃で60分間静置し、赤血球の凝集の有無を観察する。

#### 2.2.1.2.2 判定

尿膜腔液に赤血球の凝集を認めないときは、この試験に適合とする。

### 2.2.2 漿尿膜上接種試験

#### 2.2.2.1 試験方法

生ワクチン製造用材料の規格1.1の10～12日齢の発育鶏卵を用いる。試料0.1mLずつを10個の発育鶏卵の漿尿膜上に接種し、37℃で5日間培養する。培養最終日に開卵し、鶏胚及び漿尿膜の異常の有無を観察する。

#### 2.2.2.2 判定

鶏胚が正常に発育し、漿尿膜に異常を認めないときは、この試験に適合とする。

## 3 特定ウイルス否定試験

マスターシードウイルス、マスターセルシード及びマスターシードコクシジウムは、原則として共通ウイルス否定試験に加え、由来動物種に感染する可能性のある適切な範囲のウイルス及びワクチンの対象動物に病原性を持つウイルスを考慮し、特定ウイルス否定試験を行う。なお、3.2個別ウイルス否定試験において規定されるウイルスについては個別ウイルス否定試験において規定される方法によること。

### 3.1 特定ウイルス否定一般試験

#### 3.1.1 蛍光抗体法

##### 3.1.1.1 試験材料

###### 3.1.1.1.1 培養細胞

培養細胞の由来動物種に感染する可能性のある適切な範囲のウイルスに対して感受性が高い細胞及びワクチンの対象動物種に感染する可能性のある適切な範囲のウイルスに対して感受性が高い細胞を用いる。なお、魚由来細胞を用いるときは、ワクチン（シードロット製剤）の部の各項で規定する方法で培養すること。

##### 3.1.1.2 試験方法

###### 3.1.1.2.1 培養

試料1mLにつき70cm<sup>2</sup>以上の培養細胞に接種し、37℃で7日間培養し、次代に細胞を継代する。継代した細胞を37℃で7日間培養した後、更に次代に細胞を継代し、37℃で7日間培養する。なお、魚由来細胞を用いるときは、ワクチン（シードロット製剤）の部の各項で規定する方法で培養すること。

###### 3.1.1.2.2 蛍光抗体法

培養最終日にワクチン（シードロット製剤）の部の各項で規定するウイルスに対し、それぞれの

抗血清による蛍光抗体法を行い、観察する。

#### 3.1.1.3 判定

培養細胞に特異蛍光抗原を認めないときは、この試験に適合とする。

#### 3.1.2 鶏接種試験

##### 3.1.2.1 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の2週齢以上の鶏を用いる。

##### 3.1.2.2 試験方法

試料1 mLを筋肉内に、0.03 mLを点眼接種又はその他適当と認められた方法で接種し、2週間後に再接種する。初回接種時及び初回接種5週後の血清を採取し、ワクチン（シードロット製剤）の部の各項で規定するウイルスに対する抗体を測定する。

##### 3.1.2.3 判定

初回接種時及び初回接種5週後の血清に特異抗体を認めないときは、この試験に適合とする。

#### 3.2 個別ウイルス否定試験

##### 3.2.1 鶏白血病ウイルス否定試験

###### 3.2.1.1 試験方法

鶏白血病ウイルスに感受性のある生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞を用いる。

試料1 mLにつき培養後24時間以内の70 cm<sup>2</sup>以上の細胞に接種し、37°Cで3～5日間培養した後、次代に細胞を継代する。継代した細胞を37°Cで3～5日間培養した後、更に次代に細胞を継代し、37°Cで3～5日間培養する。

3代目の70 cm<sup>2</sup>以上の培養細胞を洗浄後、培養液の1/20量の1 w/v%ゼラチン加ペロナール緩衝食塩液を加えてかき採った細胞浮遊液を3回凍結融解し、その遠心上清を採って細胞抽出液を作る。これを抗原として鶏白血病ウイルスに特異的なはと、兎又はハムスター血清、3単位の溶血素、4単位のモルモット補体及び2 vol%羊赤血球浮遊液を用いてKolmer法によりCOFAL試験を行う。

###### 3.2.1.2 判定

細胞抽出液がCOFAL試験によって陰性であったときは、この試験に適合とする。

##### 3.2.2 細網内皮症ウイルス否定試験

###### 3.2.2.1 試験方法

鶏白血病ウイルスに感受性のある生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞を用いる。

試料1 mLにつき培養後24時間以内の70 cm<sup>2</sup>以上の細胞に接種し、37°Cで3～5日間培養した初代の細胞浮遊液を、別に新しく培養した鶏胚初代細胞に接種し、37°Cで4日間培養する。その細胞浮遊液を同様の方法で3代目に継代して37°Cで4日間培養した後、抗細網内皮症ウイルス血清による蛍光抗体法を行い、観察する。

###### 3.2.2.2 判定

培養細胞に特異蛍光抗原を認めないときは、この試験に適合とする。

##### 3.2.3 豚コレラウイルス否定試験

次の3.2.3.1又は3.2.3.2により試験を行う。

###### 3.2.3.1 蛍光抗体法

###### 3.2.3.1.1 試験方法

豚腎初代又は継代培養細胞を用いる。

試料4 mLを、1 mLにつき20 cm<sup>2</sup>以上の培養細胞に接種し、37°Cで5日間培養する。

試料接種後5日目の培養上清を採取し、その1 mLを別の3 cm<sup>2</sup>以上の培養細胞に接種し、37°Cで24～48時間培養後、抗豚コレラウイルス血清による蛍光抗体法を行い、観察する。

###### 3.2.3.1.2 判定

培養細胞に特異蛍光抗原を認めないときは、この試験に適合とする。

###### 3.2.3.2 END法及び干渉法

### 3.2.3.2.1 試験方法

豚腎初代又は継代細胞を用いる。

試料 4 mL を、1 mL につき 20cm<sup>2</sup> 以上の培養細胞に接種し、37°C で 5 日間培養する。

試料接種後 5 日目の培養上清を採取し、その 0.1 mL ずつをそれぞれ 20 本（穴）以上の小試験管等に分注し、細胞増殖用培養液に浮遊した豚精巢初代細胞を 0.5 mL ずつ加える。37°C で 4 日間静置培養後、培養細胞を 2 群に分け、END 法及び WEE ウイルスによる干渉法を行う。

### 3.2.3.2.2 判定

培養細胞に豚コレラウイルスを認めないときは、この試験に適合とする。

### 3.2.4 豚サーコウイルス否定試験

#### 3.2.4.1 試験方法

PPK-3F 細胞を用いる。

試料 2 mL を、1 mL につき 20cm<sup>2</sup> 以上の培養細胞に接種し、グルコサミン処理を行い、37°C で 5 日間培養した後、次代に細胞を継代する。継代した細胞を 37°C で 4 日間培養した後、次代に継代し、継代した細胞を 37°C で 3 日間培養した後、抗豚サーコウイルス血清による蛍光抗体法を行い、観察する。

#### 3.2.4.2 判定

培養細胞に特異蛍光抗原を認めないときは、この試験に適合とする。

### 3.2.5 牛ウイルス性下痢-粘膜病ウイルス否定試験

#### 3.2.5.1 試験方法

牛精巢継代細胞を用いる。

試料 2 mL を、1 mL につき 20cm<sup>2</sup> 以上の培養細胞に接種し、34~36°C で 5 日間培養し、CPE の有無を観察した後、細胞を 10 本の小試験管に分注して継代し、5 日間培養し、CPE の有無を観察する。培養液を除き、1 mL 中約 10<sup>6</sup> TCID<sub>50</sub> の牛ウイルス性下痢-粘膜病ウイルス Nose 株を含む維持用培養液 0.5 mL をそれぞれに加え、34~36°C で 7 日間回転培養し、CPE の有無を観察する。

#### 3.2.5.2 判定

観察期間中、牛ウイルス性下痢-粘膜病ウイルス接種前の培養細胞に CPE を認めず、接種後の培養細胞に CPE を認めたときは、この試験に適合とする。

### 3.2.6 犬パルボウイルス又は猫汎白血球減少症ウイルス否定試験

#### 3.2.6.1 試験方法

猫腎初代又は継代細胞を用いる。

試料 2 mL を、1 mL につき 20cm<sup>2</sup> 以上の培養細胞に接種し、36°C で 5 日間培養後、次代に継代し、36°C で 10 日間培養する。

培養最終日の培養液に、0.2w/v% 牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液を等量加える。さらに、この混合液と等量の VAD6.0 液で調製した 0.5vol% の豚赤血球液を加えて、4°C で 18 時間静置後、赤血球凝集の有無を観察する。

#### 3.2.6.2 判定

赤血球の凝集を認めないときは、この試験に適合とする。

### 3.2.7 ロタウイルス否定試験

次の 3.2.7.1 又は 3.2.7.2 により試験を行う。

#### 3.2.7.1 細胞観察

##### 3.2.7.1.1 試験方法

MA104 細胞を用いる。

試料 0.1 mL ずつを 10 本以上の培養細胞に接種し、37°C で 60 分間吸着後、リン酸緩衝食塩液で細胞表面を洗浄し、適量のトリプシンを添加した培養液を加え、37°C で 7 日間回転培養し CPE の有無を観察する。

### 3.2.7.1.2 判定

観察期間中、培養細胞にCPEを認めないときは、この試験に適合とする。

### 3.2.7.2 蛍光抗体法

#### 3.2.7.2.1 試験方法

試料0.1mLを3cm<sup>2</sup>以上の培養細胞に接種し、37℃で48時間培養後、抗ロタウイルス血清による蛍光抗体法を行い、観察する。

#### 3.2.7.2.2 判定

培養細胞に特異蛍光抗原を認めないときは、この試験に適合とする。

### 3.2.8 牛白血病ウイルス否定試験

#### 3.2.8.1 試験方法

体重100～200Kgの健康な牛又は体重30～50Kgの健康な羊を用いる。

試料10mLを1頭の牛又は羊の筋肉内に注射し、2及び3か月目に採血して得た血清について、受身赤血球凝集反応、酵素抗体反応又は寒天ゲル内沈降反応により牛白血病ウイルス抗体の検出を行う。

#### 3.2.8.2 判定

牛白血病ウイルスに対する抗体を認めないとき、この試験に適合とする。

### 3.2.9 日本脳炎ウイルス又は狂犬病ウイルス否定試験法

#### 3.2.9.1 試験方法

3日齢以下のマウスを用いる。

試料0.02mLずつを10匹のマウスの脳内に注射し、5日目に採取した脳の混合乳剤遠心上清を更に10匹のマウスの脳内に注射し、10日間観察する。

#### 3.2.9.2 判定

マウスに死亡又は神経症状を認めないときは、この試験に適合とする。

### 3.2.10 鶏脳脊髄炎ウイルス否定試験

#### 3.2.10.1 試験方法

生ワクチン製造用材料の規格1.1の6日齢の発育鶏卵を用いる。

試料0.1mLずつを10個の発育鶏卵の卵黄嚢内に接種し、37℃で12日間培養する。培養最終日に5個を開卵し、鶏胚の異常を観察する。残りは孵化させ10日間観察する。

#### 3.2.10.2 判定

鶏胚に異常及び鶏に死亡又は神経症状を認めないときは、この試験に適合とする。

### 3.2.11 コイヘルペスウイルス否定試験

次の3.2.11.1又は3.2.11.2により試験を行う。

#### 3.2.11.1 細胞観察試験

##### 3.2.11.1.1 試験方法

KF-1又はCCB細胞を用いる。

試料0.1mLずつを10本以上の培養細胞に接種し、25℃で60分間吸着後、リン酸緩衝食塩液で細胞表面を洗浄し、25℃で21日間培養しCPEの有無を観察する。

##### 3.2.11.1.2 判定

観察期間中、培養細胞にCPEを認めないときは、この試験に適合することとする。

#### 3.2.11.2 蛍光抗体試験

##### 3.2.11.2.1 試験方法

試料0.1mLを3cm<sup>2</sup>以上のKF-1細胞又はCCB細胞に接種し、25℃で7日間培養後、抗コイヘルペスウイルス血清による蛍光抗体法を行い、観察する。

##### 3.2.11.2.2 判定

培養細胞に特異蛍光抗原の発現を認めないときは、この試験に適合することとする。

一般試験法の対象動物を用いた免疫原性試験法の項を次のように改める。

## 対象動物を用いた免疫原性試験法

生ワクチンのマスターシードが継代を経てもワクチン接種対象動物に対する免疫原性を保持していることを確かめる方法である。

### 1 試験材料

#### 1.1 検体

生ウイルスワクチンではマスターシードウイルスを5代継代したもの、生菌ワクチンではマスターシード菌を10代継代したもの、生コクシジウムワクチンではマスターシードコクシジウムを10代継代したものを検体とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数のものを検体とする。

#### 1.2 試験動物

品種及び系統（SPF等）が明らかな適用対象となる健康な動物であって、免疫原性を評価する上で適切なものを用いる。

### 2 試験方法

#### 2.1 試験群（対照群含む）の設定

試験群を2群（ほ乳動物では1群3頭以上、鶏では1群10羽以上）、対照群を1群とする。

#### 2.2 投与方法

臨床適用の投与方法を用いる。ただし、投与回数は原則1回とするが、1回投与で判定できないときは適切な間隔で判定できる回数まで投与できる。

#### 2.3 投与量

臨床適用する推定1用量分を用いる。なお、試験群の各個体に投与する抗原量は同一とする。

#### 2.4 評価方法

承認された方法（抗体応答、細胞性免疫あるいは攻撃試験等による感染防御を確認できる方法）を用い、マスターシードを継代したものの免疫原性を客観的に評価する。

### 3 判定

マスターシードを継代したものに関する免疫原性が適切に評価される方法により判定を行う。



一般試験法の病原性復帰確認試験の項の次に次のように加える。

## 組換え遺伝子等安定性確認試験法

遺伝子組換え技術により作製されたマスターシードについて、改変された核酸及び特性の継代時における安定性を確かめる方法である。

### 1 試験材料

#### 1.1 検体

遺伝子組換えウイルスではマスターシードウイルス及びそれを5代継代したもの、遺伝子組換え細菌ではマスターシード菌及びそれを10代継代したものを検体とする。ただし、試験のために十分な量のマスターシードが利用できない場合は、最も継代数の少ないワーキングシードを検体とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数のものを検体とする。

#### 1.2 培養細胞又は培地

ワクチンシードの製造用材料として使用する培養細胞又は培地を用いる。

### 2 試験方法

#### 2.1 遺伝子安定性確認試験

マスターシード及びそれを継代したものの改変部位の核酸について、存在状態及び塩基配列について承認された試験方法により比較する。

#### 2.2 特性安定性確認試験

マスターシード及びそれを継代したものの核酸を改変したことにより得られた特性について、承認された試験方法により比較し、客観的に評価する。

### 3 判定

#### 3.1 遺伝子安定性確認試験

マスターシード及びそれを継代したものを比較し、改変部位の核酸の存在状態及び塩基配列に差異を認めないときは、この試験に適合することとする。

#### 3.2 特性安定性確認試験

マスターシード及びそれを継代したものを比較し、特性に変化を認めないときは、この試験に適合することとする。

規格のシードロット規格の項を次のように改める。

## シードロット規格

### 1 ワクチンシード

#### 1.1 継代数の範囲

マスターシードより製品までの継代数の範囲はウイルスでは5代以内、細菌では10代以内、コクシジウムでは10代以内とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数以内とする。

#### 1.2 作製方法

承認された作製方法に従い、均一性及び安定性を確保し汚染を防ぐために、一連の操作で行う。マスターシードウイルスは、外来性ウイルス否定試験において抗血清で十分中和可能なウイルス濃度で小分けする。

#### 1.3 保存

承認された条件下で保存する。

#### 1.4 シードの由来並びに規格及び検査方法

##### 1.4.1 由来に関する記録

###### 1.4.1.1 起源

分離方法、分離場所、分離時期、由来動物及び由来動物から分離されたウイルス、細菌等の分離株の性状について記録すること。

また、分与を受けた（又は購入した）ものである場合には、分与元（又は購入先）及び分与（又は購入）時期についても記録する。

遺伝子組換え技術を利用して作製した場合には、遺伝子組換え微生物の特性（宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報、供与核酸に関する情報、ベクターに関する情報、遺伝子組換え微生物の調整方法、遺伝子組換え微生物の識別の方法、宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違等）について記録する。

###### 1.4.1.2 継代歴

分離後の継代について、用いた動物、培養細胞、培地類、クローニング及び弱毒化の方法等について記録すること。また、分与を受けたものである場合には、分与以前及びそれ以降の継代等の過程について記録する。

##### 1.4.2 規格及び検査方法

###### 1.4.2.1 生ウイルスワクチン

###### 1.4.2.1.1 マスターシードウイルス

###### 1.4.2.1.1.1 同定試験

1.4.2.1.1.1.1又は1.4.2.1.1.1.2の試験法を用いる。

###### 1.4.2.1.1.1.1 蛍光抗体試験

検体を接種した培養細胞及び無接種の培養細胞について蛍光標識抗体で細胞を染色し、検体を接種した細胞ではそのウイルスに特徴的な蛍光が認められ、無接種細胞では認められてはならない。

###### 1.4.2.1.1.1.2 血清中和試験

検体を適当な培養細胞を用いて増殖させるとき、ウイルスに特有な細胞変性等を示さなければならず、その増殖は、特異抗血清によって中和されなければならない。

###### 1.4.2.1.1.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

###### 1.4.2.1.1.3 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をするとき、適合しなければならない。

#### 1.4.2.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

#### 1.4.2.1.1.5 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によって試験をするとき、適合しなければならない。

#### 1.4.2.1.1.6 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によって試験をするとき、適合しなければならない。

#### 1.4.2.1.1.7 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によって試験をするとき、適合しなければならない。

#### 1.4.2.1.1.8 組換え遺伝子等安定性確認試験

当該マスターシードウイルスが遺伝子組換え技術を利用して作製されたものである場合には、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をするとき、適合しなければならない。

#### 1.4.2.1.2 ワーキングシードウイルス

##### 1.4.2.1.2.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.1.2.2 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をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.1.3 プロダクションシードウイルス

貯蔵するものについて次の試験を行う。

##### 1.4.2.1.3.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.1.3.2 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をするとき、適合しなければならない。

#### 1.4.2.2 生菌ワクチン

##### 1.4.2.2.1 マスターシード菌

##### 1.4.2.2.1.1 同定試験

適当な形態学的性状試験法、生化学的性状試験法その他の承認された試験法によって菌種同定のための試験を実施するとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.2.1.2 夾雑菌否定試験

ワクチン（シードロット製剤）の部で規定された試験方法によって試験をするとき、適合しなければならない。試験方法がワクチン（シードロット製剤）の部で規定されていない場合は、承認された試験方法に準じる。

##### 1.4.2.2.1.3 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によって試験をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.2.1.4 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確認試験法によって試験をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.2.1.5 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によって試験をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.2.1.6 組換え遺伝子等安定性確認試験

当該マスターシード菌が遺伝子組換え技術を利用して作製されたものである場合には、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をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.2.2 ワーキングシード菌

##### 1.4.2.2.2.1 夾雑菌否定試験

ワクチン（シードロット製剤）の部で規定された試験方法によって試験するとき、適合しなければならない。試験方法がワクチン（シードロット製剤）の部で規定されていない場合は、承認された試験方法に準じる。

#### 1.4.2.2.3 プロダクションシード菌

貯蔵するものについて次の試験を行う。

##### 1.4.2.2.3.1 夾雑菌否定試験

ワクチン（シードロット製剤）の部で規定された試験方法によって試験するとき、適合しなければならない。試験方法がワクチン（シードロット製剤）の部で規定されていない場合は、承認された試験方法に準じる。

#### 1.4.2.3 不活化ウイルスワクチン

##### 1.4.2.3.1 マスターシードウイルス

###### 1.4.2.3.1.1 同定試験

1.4.2.3.1.1.1 又は1.4.2.3.1.1.2の試験法を用いる。

###### 1.4.2.3.1.1.1 蛍光抗体試験

検体を接種した培養細胞及び無接種の培養細胞について蛍光標識抗体で細胞を染色するとき、検体を接種した細胞ではそのウイルスに特徴的な蛍光が認められ、無接種細胞では認められてはならない。

###### 1.4.2.3.1.1.2 血清中和試験

検体を適当な培養細胞を用いて増殖させるとき、ウイルスに特有な細胞変性等を示さなければならない。その増殖は、特異抗血清によって中和されなければならない。

###### 1.4.2.3.1.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

###### 1.4.2.3.1.3 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をするとき、適合しなければならない。

###### 1.4.2.3.1.4 外来性ウイルス否定試験

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

###### 1.4.2.3.1.5 組換え遺伝子等安定性確認試験

当該マスターシードウイルスが遺伝子組換え技術を利用して作製されたものである場合には、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をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.3.2 ワーキングシードウイルス

###### 1.4.2.3.2.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

###### 1.4.2.3.2.2 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をするとき、適合しなければならない。

###### 1.4.2.3.3 プロダクションシードウイルス

貯蔵するものについて次の試験を行う。

###### 1.4.2.3.3.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

###### 1.4.2.3.3.2 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をするとき、適合しなければならない。

#### 1.4.2.4 不活化細菌ワクチン

##### 1.4.2.4.1 マスターシード菌

###### 1.4.2.4.1.1 同定試験

適当な形態学的性状試験法、生化学的性状試験法その他の承認された試験法によって菌種同定のための試験を実施するとき、適合しなければならない。

#### 1.4.2.4.1.2 夾雑菌否定試験

ワクチン（シードロット製剤）の部で規定された試験方法によって試験するとき、適合しなければならない。試験方法がワクチン（シードロット製剤）の部で規定されていない場合は、承認された試験方法に準じる。

#### 1.4.2.4.1.3 組換え遺伝子等安定性確認試験

当該マスターシード菌が遺伝子組換え技術を利用して作製されたものである場合には、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をするとき、適合しなければならない。

#### 1.4.2.4.2 ワーキングシード菌

##### 1.4.2.4.2.1 夾雑菌否定試験

ワクチン（シードロット製剤）の部で規定された試験方法によって試験するとき、適合しなければならない。試験方法がワクチン（シードロット製剤）の部で規定されていない場合は、承認された試験方法に準じる。

##### 1.4.2.4.3 プロダクションシード菌

貯蔵するものについて次の試験を行う。

##### 1.4.2.4.3.1 夾雑菌否定試験

ワクチン（シードロット製剤）の部で規定された試験方法によって試験するとき、適合しなければならない。試験方法がワクチン（シードロット製剤）の部で規定されていない場合は、承認された試験方法に準じる。

#### 1.4.2.5 遺伝子組換えたん白ワクチン

##### 1.4.2.5.1 遺伝子組換えウイルスによる発現系

##### 1.4.2.5.1.1 マスターシードウイルス

##### 1.4.2.5.1.1.1 同定試験

1.4.2.1.1.1を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.5.1.1.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.5.1.1.3 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をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.5.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.5.1.1.5 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をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.5.1.2 ワーキングシードウイルス

##### 1.4.2.5.1.2.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.5.1.2.2 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をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.5.1.3 プロダクションシードウイルス

貯蔵するものについて次の試験を行う。

##### 1.4.2.5.1.3.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.5.1.3.2 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をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.5.2 遺伝子組換え細菌による発現系

##### 1.4.2.5.2.1 マスターシード菌

#### 1.4.2.5.2.1.1 同定試験

適当な形態学的性状試験法、生化学的性状試験法その他の承認された試験法によって菌種同定のための試験を実施するとき、適合しなければならない。

#### 1.4.2.5.2.1.2 夾雑菌否定試験

ワクチン（シードロット製剤）の部で規定された試験方法によって試験するとき、適合しなければならない。試験方法がワクチン（シードロット製剤）の部で規定されていない場合は、承認された試験方法に準じる。

#### 1.4.2.5.2.1.3 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をするとき、適合しなければならない。

#### 1.4.2.5.2.2 ワーキングシード菌

##### 1.4.2.5.2.2.1 夾雑菌否定試験

ワクチン（シードロット製剤）の部で規定された試験方法によって試験するとき、適合しなければならない。試験方法がワクチン（シードロット製剤）の部で規定されていない場合は、承認された試験方法に準じる。

##### 1.4.2.5.2.3 プロダクションシード菌

貯蔵するものについて次の試験を行う。

##### 1.4.2.5.2.3.1 夾雑菌否定試験

ワクチン（シードロット製剤）の部で規定された試験方法によって試験するとき、適合しなければならない。試験方法がワクチン（シードロット製剤）の部で規定されていない場合は、承認された試験方法に準じる。

#### 1.4.2.6 生コクシジウムワクチン

##### 1.4.2.6.1 マスターシードコクシジウム

###### 1.4.2.6.1.1 同定試験

適当な形態学的性状試験法、PCR検査法、酵素電気泳動法その他の承認された試験法によってそのコクシジウム同定のための試験を実施するとき、適合しなければならない。

###### 1.4.2.6.1.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

###### 1.4.2.6.1.3 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をするとき、適合しなければならない。

###### 1.4.2.6.1.4 外来性ウイルス否定試験

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

###### 1.4.2.6.1.5 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によって試験するとき、適合しなければならない。

###### 1.4.2.6.1.6 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によって試験するとき、適合しなければならない。

###### 1.4.2.6.1.7 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によって試験するとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.6.2 ワーキングシードコクシジウム

###### 1.4.2.6.2.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

###### 1.4.2.6.2.2 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をするとき、適合しなければならない。

##### 1.4.2.6.3 プロダクションシードコクシジウム

貯蔵するものについて次の試験を行う。

#### 1.4.2.6.3.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

#### 1.4.2.6.3.2 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をするとき、適合しなければならない。

### 2 セルシード

#### 2.1 株化細胞

##### 2.1.1 継代数の範囲

マスターセルシードよりプロダクションセルシードまで20代以内とする。

浮遊培養を使う場合は細胞数の増加で集団ダブリングタイムの約3倍で継代1代とみなす。ただし、製造用細胞としての適性を保証する試験成績によって農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数以内とする。

##### 2.1.2 作製方法

承認された作製方法に従い、一連の工程を経て1回で作製された細胞浮遊液は均質性の確保及び汚染の防止に配慮し、連続する操作により分注されなければならない。

##### 2.1.3 保存

承認された条件下で保存する。

##### 2.1.4 セルシードの由来並びに規格及び検査方法

###### 2.1.4.1 由来に関する記録

###### 2.1.4.1.1 起源

起源となった動物及び臓器名、樹立の経緯（継代、クローニング、樹立者、時期）について可能な範囲で記録する。

###### 2.1.4.1.2 継代歴

樹立後及び分与受け（又は購入）後の継代歴、クローニング等について記録する。

###### 2.1.4.1.3 培養液

継代、増殖、保存用培養液について記録する。

###### 2.1.4.2 規格及び検査方法

###### 2.1.4.2.1 マスターセルシード

###### 2.1.4.2.1.1 培養性状試験

顕微鏡下における所見、増殖率、酸の産生、形態的特徴、その他株化細胞として正常と判定されるための特徴について観察するとき、適合しなければならない。

###### 2.1.4.2.1.2 起源動物種同定試験

蛍光抗体法で試験するとき、2.1.4.1.1 起源の項で記録された「起源となった動物」の種と一致しなければならない。

###### 2.1.4.2.1.3 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

###### 2.1.4.2.1.4 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をするとき、適合しなければならない。

###### 2.1.4.2.1.5 外来性ウイルス否定試験

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

###### 2.1.4.2.1.6 核学的（染色体）性状試験

次のいずれかの試験法によって試験するとき、適合しなければならない。

###### 2.1.4.2.1.6.1 マスターセルシード及びその継代細胞の試験

マスターセルシード及びその最高継代数の細胞のそれぞれについて、次の試験を行う。

細胞分裂している50個以上の細胞について染色体を検査するとき、最高継代数の細胞におけるモ

ダル数（最頻染色体数）はマスターセルシードにおけるその±15%以内でなければならない。また、マスターセルシードに存在するすべての指標染色体は最高継代数の細胞においても認められなければならない。

#### 2.1.4.2.1.6.2 継代培養細胞の試験

マスターセルシードを継代培養し、シードロット製剤の製造に使用する継代数又はそれ以上継代された4検体以上の細胞について2.1.4.2.1.6.2.1、2.1.4.2.1.6.2.2、2.1.4.2.1.6.2.3、2.1.4.2.1.6.2.4及び2.1.4.2.1.6.2.5の試験をするとき、4検体すべてにおいてマスターセルシードと差が認められないとき、適合とする。

##### 2.1.4.2.1.6.2.1 多倍数性の試験

4検体で計300個以上の細胞について多倍数性を試験する。

##### 2.1.4.2.1.6.2.2 異数性の試験

4検体で計100個以上の細胞について異数性を試験する。

##### 2.1.4.2.1.6.2.3 形態異常の試験

4検体で計100個以上の細胞について染色体の形態異常を試験する。

##### 2.1.4.2.1.6.2.4 染色体の切断の試験

4検体で計100個以上の細胞について染色体の切断の有無を試験する。

##### 2.1.4.2.1.6.2.5 核型分析の試験

4検体のうち、いずれか1検体中の1細胞について核型分析の試験をする。

#### 2.1.4.2.1.7 腫瘍形成性／腫瘍原性試験

当該株化細胞が製造用細胞として用いられたシードロット製剤の対象動物種に対して悪性腫瘍を誘発することが疑われる知見のある場合には、マスターセルシードを継代培養し、シードロット製剤の製造に使用する継代数、又はそれ以上継代された4検体以上の細胞について、次の試験法によって試験するとき、適合しなければならない。

試験には、細胞性免疫能の欠損したマウス（nu/nu）又は免疫抑制したマウスあるいはハムスターを用いる。動物5匹以上に1匹当たり、 $2 \times 10^6$ 個以上の細胞を皮下に注射して、28日間観察する。この間、いずれの動物も腫瘍の形成を認めてはならない。また、対照として造腫瘍性の認められるHeLa細胞を同様の動物5匹以上に1匹当たり、 $2 \times 10^6$ 個以上注射して、28日間観察するとき、80%以上の動物に造腫瘍性を認めなければならない。

#### 2.1.4.2.2 ワーキングセルシード

##### 2.1.4.2.2.1 培養性状試験

顕微鏡下における所見、増殖率、酸の産生、形態的特徴、その他株化細胞として正常と判定されるための特徴について観察するとき、適合しなければならない。

##### 2.1.4.2.2.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

##### 2.1.4.2.2.3 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をするとき、適合しなければならない。

#### 2.1.4.2.3 プロダクションセルシード

貯蔵するものについて次の試験を行う。

##### 2.1.4.2.3.1 培養性状試験

顕微鏡下における所見、増殖率、酸の産生、形態的特徴、その他株化細胞として正常と判定されるための特徴について観察するとき、適合しなければならない。

##### 2.1.4.2.3.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

##### 2.1.4.2.3.3 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をするとき、適合しなければならない。



## 2.2 初代細胞

### 2.2.1 使用の条件

シードロット製剤の製造には、株化細胞を使用する。ただし、2.2.4規格及び検査方法に適合する初代細胞であれば、その限りでない。

### 2.2.2 継代数の範囲

動物体内より採取された細胞からプロダクションプライマリーセルシードまでの継代は10代以内とする。ただし、製造用細胞としての適性を保証する試験成績によって農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数以内とする。

### 2.2.3 保存

承認された条件下で保存する。

### 2.2.4 規格及び検査方法

#### 2.2.4.1 初代細胞が採取される動物

SPF動物規格に適合しなければならない。

#### 2.2.4.2 初代細胞の規格及び検査方法

##### 2.2.4.2.1 マスタープライマリーセルシード

###### 2.2.4.2.1.1 培養性状試験

顕微鏡下における所見、増殖率、酸の産生、形態的特徴、その他初代細胞として正常と判定されるための特徴について観察するとき、適合しなければならない。

###### 2.2.4.2.1.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

###### 2.2.4.2.1.3 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をするとき、適合しなければならない。

##### 2.2.4.2.2 ワーキングプライマリーセルシード

###### 2.2.4.2.2.1 培養性状試験

顕微鏡下における所見、増殖率、酸の産生、形態的特徴、その他初代細胞として正常と判定されるための特徴について観察するとき、適合しなければならない。

###### 2.2.4.2.2.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

###### 2.2.4.2.2.3 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をするとき、適合しなければならない。

##### 2.2.4.2.3 プロダクションプライマリーセルシード

貯蔵するものについて次の試験を行う。

###### 2.2.4.2.3.1 培養性状試験

ワクチン（シードロット製剤）の部に規定される製造用細胞の培養観察を準用して行うとき、適合しなければならない。試験方法がワクチン（シードロット製剤）の部に規定されていない場合は、承認された試験方法に準じる。

###### 2.2.4.2.3.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

###### 2.2.4.2.3.3 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をするとき、適合しなければならない。

## 3 発育卵

### 3.1 発育卵が採取される動物

SPF動物規格に適合しなければならない。

### 3.2 発育卵の規格及び検査方法

#### 3.2.1 孵卵性状試験

対照発育卵を、ワクチンシードを接種することなく、ワクチンシードの培養と同じ条件で培養し、観察するとき、胚に異常を認めてはならない。

#### 4 鶏

##### 4.1 鶏

シードロット製剤の製造に使用するための鶏は、生ワクチン製造用材料1.1に準じたSPF鶏群由来のものでなければならない。

##### 4.2 鶏の規格及び検査方法

###### 4.2.1 発育試験

対照鶏を、ワクチンシードを接種することなく、ワクチンシードの作製時と同じ条件で飼育し、観察するとき、異常を認めてはならない。

##### 5 その他の材料

培地、消化液その他各シードを製造又は維持するために必要な材料については、微生物や異物が迷入していないものを使用する。

## 動物用シードロット製剤の品質確保に必要な措置に係る留意点等について（平成21年7月1日付け21消安第2928号）新旧対照表

改 正 案	現 行
<p>(略)</p> <p>1. 医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和35年法律第145号。以下「法」という。）第43条に規定される検定における動物用シードロット製剤の取扱いについて  法第43条に規定される検定における動物用シードロット製剤の取扱いについては、次のとおりとする。  (1)・(2) (略)  (3) 再審査が終了した動物用シードロット製剤のうち、法定伝染病及び狂犬病以外の疾病（以下「非法定伝染病」という。）を対象とするワクチン  <u>検定の対象から除外することとし、「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律第43条第1項の規定に基づき、農林水産大臣の指定する医薬品を定める等の件」（昭和36年2月1日農林省告示第66号。以下「第66号告示」という。）において検定対象外の製剤として指定する。</u>  (4)・(5) (略)</p> <p>2. 検定対象外の動物用シードロット製剤の品質確保等について  (1)・(2) (略)  (3) 製造販売業者又は選任製造販売業者は、1の(3)に該当する動物用シードロット製剤として製造販売する最初のロットから5ロットまでの製品については、その市場への出荷が可とされた後、各ロットの製造記録及び試験検査記録を様式2により遅滞なく動物医薬品検査所企画連絡室まで提出すること。  なお、1の(4)に該当する動物用シードロット製剤については、従前のおり、動物用医薬品等取締規則（平成16年農林水産省令第107号。以下「規則」という。）第152条第4項に規定する別記様式第78号中の7「製造所における検査年月日及び検査成績」として、非法定伝染病の成分に関しても法定伝染病の成分と同時に提出すること。</p> <p>3. (略)</p>	<p>(略)</p> <p>1. 医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和35年法律第145号。以下「法」という。）第43条に規定される検定における動物用シードロット製剤の取扱いについて  法第43条に規定される検定における動物用シードロット製剤の取扱いについては、次のとおりとする。  (1)・(2) (略)  (3) 再審査が終了した動物用シードロット製剤のうち、法定伝染病及び狂犬病以外の疾病（以下「非法定伝染病」という。）を対象とするワクチン  <u>検定の対象から除外することとし、「薬事法第43条第1項の規定に基づき、農林水産大臣の指定する医薬品を定める等の件」（昭和36年2月1日農林省告示第66号）（以下「第66号告示」という。）において検定対象外の製剤として指定する。</u>  (4)・(5) (略)</p> <p>2. 検定対象外の動物用シードロット製剤の品質確保等について  (1)・(2) (略)  (3) 製造販売業者又は選任製造販売業者は、1の(3)に該当する動物用シードロット製剤として製造販売する最初のロットから5ロットまでの製品については、その市場への出荷が可とされた後、各ロットの製造記録及び試験検査記録を様式2により遅滞なく動物医薬品検査所企画連絡室まで提出すること。  なお、1の(4)に該当する動物用シードロット製剤については、従前のおり、動物用医薬品等取締規則（平成16年農林水産省令第107号。以下「規則」という。）第152条第4項に規定する別記様式第70号中の7「製造所における検査年月日及び検査成績」として、非法定伝染病の成分に関しても法定伝染病の成分と同時に提出すること。</p> <p>3. (略)</p>

4. 動物用シードロット製剤の承認に伴う薬事監視上の留意点について  
今後、動物用シードロット製剤と非動物用シードロット製剤が混在  
して流通するが、両製剤には次のような相違点がある。

(1) 動物用シードロット製剤の場合、直接の容器又は直接の被包に記  
載される一般的名称は、末尾が「(シード)」となること。

(削る。)

(2)・(3) (略)

4. 動物用シードロット製剤の承認に伴う薬事監視上の留意点について  
今後、動物用シードロット製剤と非動物用シードロット製剤が混在  
して流通するが、両製剤には次のような相違点がある。

(1) 動物用シードロット製剤の場合、直接の容器又は直接の被包に記  
載される一般的名称は、末尾が「(シード)」となること。

(「シードロット製剤の承認申請書等における留意事項について」(平  
成20年9月29日付け20動薬第1838号動物医薬品検査所長  
通知))

(2)・(3) (略)