

# ニューカッスル病・マレック病（ニューカッスル病ウイルス由来F蛋白遺伝子導入マレック病ウイルス1型）凍結生ワクチン

令和元年9月19日（告示第909号）一部改正

## 1 小分製品の試験

### 1.1 ウイルス含有量試験

#### 1.1.1 試験材料

##### 1.1.1.1 試料

試験品を細胞維持用培養液（付記1）で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

##### 1.1.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞又は2代継代細胞を細胞増殖用培養液（付記2）に浮遊させたものを用いる。

#### 1.1.2 試験方法

試料0.2mLずつをそれぞれ4枚以上のシャーレに入れ、培養細胞浮遊液を加えて37℃で1～2日間培養後、細胞培養液を除き、メチルセルロース溶液（付記3）を重層して更に12～14日間培養し、観察する。

#### 1.1.3 判定

シャーレ当たり平均10個以上のプラックが検出された試料の希釈倍数及びその平均プラック数からウイルス含有量を算出する。試験品のウイルス含有量は、1羽分当たり $10^3$ PFU以上でなければならない。

## 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 2.95g

牛血清 3～10mL

イーグルMEM又はF10培地 残量

炭酸水素ナトリウムでpHを7.0～7.4に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えても良い。

## 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 2.95g

牛血清 50mL

イーグルMEM又はF10培地 残量

炭酸水素ナトリウムでpHを7.0～7.4に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えても良い。

付記3 メチルセルロース溶液

1,000mL中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス 2.95g

4,000CPSメチルセルロース 20g

牛血清 10mL

イーグルMEM又はF10培地 残量

炭酸水素ナトリウムでpHを7.0~7.4に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えても良い。