

動物用生物学的製剤検定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検定基準（平成14年10月3日農林水産省告示第1568号）（抄）

（下線部分は改正部分）

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部 ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎・鶏伝染性ファブリキウス嚢病・産卵低下症候群—1976混合（油性アジュバント加）不活化ワクチン</p> <p>（略）</p> <p>1 小分製品の試験 （削る）</p> <p>（削る）</p> <p><u>1.1 ニューカッスル病力価試験</u> <u>1.1.1 試験材料</u> <u>1.1.1.1 注射材料</u> <u>試験品を注射材料とする。</u> <u>1.1.1.2 試験動物</u> <u>生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の30～35日齢の鶏を用いる。</u> <u>1.1.1.3 （略）</u> <u>1.1.2 試験方法</u> <u>試験動物の10羽を試験群、3羽を対照群とする。</u></p>	<p>ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部 ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎・鶏伝染性ファブリキウス嚢病・産卵低下症候群—1976混合（油性アジュバント加）不活化ワクチン</p> <p>（略）</p> <p>1 小分製品の試験 <u>1.1 無菌試験</u> <u>一般試験法の無菌試験法により試験を行い、これに適合しなければならない。</u> <u>1.2 安全試験</u> <u>1.2.1 試験材料</u> <u>1.2.1.1 注射材料</u> <u>試験品を注射材料とする。</u> <u>1.2.1.2 試験動物</u> <u>生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の30～35日齢の鶏を用いる。</u> <u>1.2.2 試験方法</u> <u>試験動物の10羽を試験群、3羽を対照群とする。注射材料1羽分ずつを試験群の脚部筋肉内に注射し、対照群とともに4週間観察する。</u> <u>1.2.3 判定</u> <u>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。</u> <u>1.3 力価試験</u> <u>1.3.1 ニューカッスル病力価試験</u> <u>1.3.1.1 試験材料</u> （新設） <u>1.3.1.1.1 試験動物</u> <u>1.2の試験に用いた動物を用いる。</u> <u>1.3.1.1.2 （略）</u> <u>1.3.1.2 試験方法</u> <u>1.2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、</u></p>

注射材料 1羽分ずつを試験群の脚部筋肉内に注射し、4週間後に試験群及び対照群から採血する。

得られた各個体の血清について、ニューカッスル病ウイルス赤血球凝集抑制試験を行う。

1.1.3 判定

赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価（以下この項において「HI抗体価」という。）とする。試験群の80%以上がHI抗体価160倍以上でなければならない。この場合、対照群の全てがHI抗体価5倍以下でなければならない。

(削る)

ニューカッスル病ウイルス赤血球凝集抑制試験を行う。

1.3.1.3 判定

赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価（以下「HI抗体価」という。）とする。試験群の80%以上がHI抗体価160倍以上でなければならない。対照群では、すべてHI抗体価5倍以下でなければならない。

1.3.2 鶏伝染性気管支炎力価試験

1.3.2.1 試験材料

1.3.2.1.1 試験動物

1.2の試験に用いた動物を用いる。

1.3.2.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1の9～10日齢の発育鶏卵を用いる。

1.3.2.1.3 中和試験用ウイルス

製造用株を用いる。ただし、そのウイルス量は、生ワクチン製造用材料の規格1.1の9～10日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、ウイルス価を測定するとき、1mL中 $10^{5.0}$ EID以上でなければならない。

1.3.2.2 試験方法

1.2の試験最終日に、試験群及び対照群から得られた血清を非働化し、ウイルス希釈法により中和試験を行う。中和試験用ウイルスをリン酸緩衝食塩液（付記1）で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を3群に分け、第1群には試験群のプール血清を、第2群には対照群のプール血清を、第3群にはウイルス対照としてリン酸緩衝食塩液を、それぞれ等量加えて混合する。これらの混合液を4℃で18～24時間又は37℃で60分間処理する。処理した試料0.1mLずつを5個以上の発育鶏卵に注射し、37℃で7～8日間培養し、観察する。

1.3.2.3 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、EID₅₀を求め、中和指数を算出する。ただし、24時間以内に死亡したものは除外する。試験群の中和指数は、対照群に対し2.0以上でなければならない。この場合、対照群の中和指数は、ウイルス対照に対し1.0以下でなければならない。

1.3.3 鶏伝染性ファブリキウス囊病力価試験

1.3.3.1 試験材料

1.3.3.1.1 試験動物

1.2の試験に用いた動物を用いる。

1.3.3.1.2 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の鶏胚初代細胞で培養した伝染性ファブリキウス囊病ウイルスVNJO-P12-CEP211株を用いる。

(削る)

(削る)

1.3.3.1.3 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に培養し、単層となったものを用いる。

1.3.3.2 試験方法
1.2の試験最終日に試験動物から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100~200PFUを含む中和試験用ウイルス液をそれぞれ等量加えて混合し、37℃で60分間処理する。この各混合液0.1mLずつをそれぞれ2枚の培養細胞に接種し、37℃で60分間静置吸着させた後、第1次重層寒天培地（付記2）を加え、3~4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、観察する。

1.3.3.3 判定
ブラック数を50%減少させる血清の最高希釈倍数を中和抗体価とする。試験群の70%以上が中和抗体価128倍以上でなければならない。この場合、対照群では、すべて4倍以下でなければならない。

1.3.4 産卵低下症候群—1976力価試験

1.3.4.1 試験材料

1.3.4.1.1 試験動物
1.2の試験に用いた試験動物を用いる。

1.3.4.1.2 赤血球凝集抗原
産卵低下症候群—1976ウイルス赤血球凝集抗原（付記4）を用いる。

1.3.4.2 試験方法
1.2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。血清1容に25w/v%カオリン液（付記5）3容を加え、室温で20分間処理した後、2,000rpm、10分間遠心した上清を採取する。これをリン酸緩衝食塩液で2倍階段希釈し、各希釈血清25 μ L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、常温で30分間処理した後、0.5vol%の鶏赤血球浮遊液を50 μ Lずつ加えて振盪混合し、常温で60分間静置した後に、赤血球の凝集の有無を観察する。

1.3.4.3 判定
赤血球凝集が抑制された血清の最高希釈倍数をHI抗体価とする。試験群の80%以上がHI抗体価32倍以上でなければならない。この場合、対照群では、すべてHI抗体価4倍以下でなければならない。

(削る)

付記1 リン酸緩衝食塩液

<u>1,000mL中</u>	
<u>塩化ナトリウム</u>	<u>7.5g</u>
<u>リン酸二水素カリウム</u>	<u>0.54g</u>
<u>無水リン酸水素二ナトリウム</u>	<u>1.33g</u>
<u>水</u>	<u>残量</u>

(削る)

付記2 第1次重層寒天培地

<u>1,000mL中</u>	
<u>イーストエキストラクト</u>	<u>1.0g</u>
<u>ラクトアルブミン</u>	<u>5.0g</u>
<u>牛血清アルブミン</u>	<u>10.0g</u>
<u>牛血清</u>	<u>20mL</u>
<u>寒天</u>	<u>9.0g</u>
<u>アール液</u>	<u>残量</u>
<u>炭酸水素ナトリウムでpHを6.8~7.2に調整する。</u>	
<u>必要最少量の抗生物質を加えてもよい。</u>	

(削る)

付記3 第2次重層寒天培地

<u>1,000mL中</u>	
<u>イーストエキストラクト</u>	<u>1.0g</u>
<u>ラクトアルブミン</u>	<u>5.0g</u>
<u>0.1w/v%ニュートラルレッド</u>	<u>120mL</u>
<u>寒天</u>	<u>9.0g</u>
<u>アール液</u>	<u>残量</u>
<u>炭酸水素ナトリウムでpHを6.8~7.2に調整する。</u>	
<u>必要最少量の抗生物質を加えてもよい。</u>	

(削る)

付記4 産卵低下症候群—1976ウイルス赤血球凝集抗原

産卵低下症候群—1976ウイルスJPA-1株又はこれと同等の株を生ワクチン製造用材料の規格1.3の発育アヒル卵で増殖させて得た尿膜腔液又は生ワクチン製造用材料の規格2.1.3の鶏胚肝初代細胞で増殖させて得た培養上清に0.2vol%になるようにホルマリンを加えて不活化したもの

(削る)

付記5 25w/v%カオリン液

<u>100mL中</u>	
<u>カオリン</u>	<u>25g</u>
<u>リン酸緩衝食塩液</u>	<u>残量</u>
<u>115°Cで15分間高压滅菌又はアジ化ナトリウムを0.01w/v%添加した後、10°C以下に保存する。</u>	