

牛ロタウイルス感染症卵黄抗体

牛ロタウイルスを産卵鶏に注射して得た卵黄を噴霧乾燥したものである。

1 小分製品の試験

1.1 サルモネラ否定試験

試験品 5 g をリン酸緩衝食塩液（付記 1）20mL で溶解したものを試料とし、一般試験法のサルモネラ否定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。ただし、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト液状培地及びセレナイト培地の液量は、1 本当たり400mL とする。

1.2 一般細菌数試験

1.2.1 試験材料

1.2.1.1 試料

試験品 1 g をリン酸緩衝食塩液 9 mL で溶解したものを10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

1.2.1.2 培地

ハートインフュージョン寒天培地を用いる。

1.2.2 試験方法

直径90mm のシャーレ 4 枚に試料を 1 mL ずつ分注し、50 以下の溶解した寒天培地15mL ずつを加えてよく混和し、固める。4 枚の培地平板のうち 2 枚は35～37 で48時間、他の 2 枚は22～24 で4日間培養し、発育した集落を数える。各段階の希釈液のそれぞれの培養温度ごとに、その平均集落数及び希釈倍数から細菌数を算出する。

1.2.3 判定

いずれの培養温度においても、細菌数は試験品 1 g に対し1,000個以下でなければならない。

1.3 迷入ウイルス否定試験

1.3.1 MA-104細胞接種試験

1.3.1.1 試験材料

1.3.1.1.1 試料

100倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、試験品 2 g をリン酸緩衝食塩液 8 mL で溶解した溶液を 2～5 で一夜透析したものを試料とする。

1.3.1.1.2 培養細胞

MA-104細胞を小試験管に 4～6 日間培養し、単層となったものを用いる。

1.3.1.2 試験方法

試料0.1mL ずつを10本以上の培養細胞に接種し、37 で60分間吸着後、ウイルス増殖用培養液（付記 2）を加え、37 で7日間回転培養し、CPE の有無を観察する。

1.3.1.3 判定

観察期間中、培養細胞に CPE を認めてはならない。

1.4 力価試験

1.4.1 試験材料

1.4.1.1 試料

試験品 2 g をリン酸緩衝食塩液18mL で溶解し、更にリン酸緩衝食塩液で10倍希釈したものを試料とする。

1.4.1.2 中和試験用ウイルス

MA-104細胞で増殖させた牛ロタウイルス島根株及び KK-3株を用いる。

1.4.1.3 培養細胞

MA-104細胞を小試験管に 4～6 日間培養し、単層となったものを用いる。

1.4.2 試験方法

試料をウイルス増殖用培養液で2倍階段希釈する。各希釈液0.5mL と0.1mL 中約200TCID₅₀の中和試験用ウイルス液0.5mL とを混合し、37℃で60分間処理する。この各混合液0.1mL ずつをそれぞれ4本の培養細胞に接種し、37℃で60分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を0.5mL ずつ加え、35～37℃で5日間回転培養し、観察する。

1.4.3 判定

培養細胞の2本以上にCPEの阻止を認めた試験品の最高希釈倍数を中和抗体価とする。
中和抗体価は、いずれの株に対しても6,400倍以上でなければならない。

付記1 リン酸緩衝食塩液

1,000mL 中

塩化ナトリウム

8.0 g

塩化カリウム

0.2 g

無水リン酸水素二ナトリウム

1.15 g

リン酸二水素カリウム

0.2 g

水

残 量

pH を6.8～7.2に調整する。

付記2 ウイルス増殖用培養液

イーグル MEM を用いる。

炭酸水素ナトリウムで pH を7.0～7.4に調整する。

使用時にトリプシン液（付記3）を0.01vol %となるように加える。

付記3 トリプシン液

トリプシン

100 mg

0.001mol/L 塩酸

10 mL

ろ過滅菌する。