

ニューカッスル病診断用赤血球凝集抗原

平成20年6月6日(告示第913号) 一部改正

1 定義

ニューカッスル病ウイルスを発育鶏卵で増殖させて得たウイルス液を不活化し、調製した赤血球凝集抑制反応用抗原である。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

ニューカッスル病ウイルス石井株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

9～11日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に接種すると増殖し、その尿膜腔液には鶏赤血球凝集性を認める。

2.1.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、生ワクチン製造用材料の規格1.1の発育鶏卵で継代する。

継代は、原株では3代以内、種ウイルスでは2代以内でなければならない。

原株及び種ウイルスは、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1の9～11日齢の発育鶏卵を用いる。

2.3 原液

2.3.1 ウイルスの培養

種ウイルスを発育鶏卵の尿膜腔内に接種し、3～5日間培養後、採取した尿膜腔液の遠心上清をウイルス浮遊液とする。

2.3.2 不活化

ウイルス浮遊液にジエチルエーテルを等量加え、37℃で処理後、遠心し、水層を採取する。これに1/25mol/L過ヨウ素酸カリウム液を等量加え、37℃で60分間処理した後、10w/v%ブドウ糖液を等量加え、原液とする。

原液について、3.1の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液を混合し、最終バルクとする。

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、3.2の試験を行う。

3 試験法

3.1 原液の試験

3.1.1 不活化試験

3.1.1.1 試験材料

検体及び生ワクチン製造用材料の規格1.1の9～11日齢の発育鶏卵並びに2羽以上の6～18週齢の鶏から血液を採取し、混合し、生理食塩液で3回洗浄後、0.5vol%となるように調整した赤血球浮遊液を用いる。

3.1.1.2 試験方法

検体0.1mL ずつを5個の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37℃で5日間培養後、尿膜腔液を採取する。同様の方法で更に1代継代し、それぞれの尿膜腔液に鶏赤血球浮遊液を等量加え、赤血球凝集試験を行う。

3.1.1.3 判定

尿膜腔液に、鶏赤血球凝集を認めてはならない。

3.1.2 特異性試験

3.1.2.1 試験材料

検体、参照抗原（付記1）、参照陽性血清（付記2）、陰性血清（付記3）及び3.1.1.1の鶏赤血球浮遊液を用いる。

3.1.2.2 試験方法

検体及び参照抗原の濃度が0.2mL中4単位となるように抗原液を調整する。参照陽性血清3例、陰性血清3例をそれぞれ5倍に希釈し、更に2倍階段希釈する。希釈血清0.2mL ずつに等量の抗原液を加えて混合し、10分間処理した後、鶏赤血球浮遊液を0.4mL ずつ加えて振盪混合し、60分間静置後、判定する。

3.1.2.3 判定

検体及び参照抗原により参照陽性血清は、いずれも所定の赤血球凝集抑制抗体価を示さなければならず、陰性血清の抗体価は、10倍未満でなければならない。

3.1.3 力価試験

3.1.3.1 試験材料

検体及び参照抗原を生理食塩液1 mL で溶解したもの及び3.1.1.1の鶏赤血球浮遊液を用いる。

3.1.3.2 試験方法

検体及び参照抗原をそれぞれ生理食塩液で10倍に希釈し、更に2倍階段希釈して試料とする。試料0.4mL ずつに等量の鶏赤血球浮遊液を加えて振盪混合し、60分間静置後、判定する。

3.1.3.3 判定

赤血球が完全凝集を示す最高希釈倍数を抗原価とするとき、検体の抗原価は、640倍以上でなければならない。この場合、参照抗原は、所定の抗原価を示さなければならない。

3.2 小分製品の試験

溶解用液として生理食塩液を用いる。

3.2.1 特性試験

一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、固有の色調を有する乾燥物でなければならない。溶解したものは、固有の色調を有する液体でなければならない。異物又は異臭を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

3.2.2 真空度試験

一般試験法の真空度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。

3.2.3 含湿度試験

一般試験法の含湿度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。

3.2.4 特異性試験

3.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.5 力価試験

3.1.3を準用して試験するとき、試験品の抗原価は、640倍以上でなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は1年間とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その期間とする。

5 その他

5.1 指示陽性血清

抗体価を明示した指示陽性血清を添付すること。

付記1 参照抗原

動物医薬品検査所が配布するもの

付記2 参照陽性血清

動物医薬品検査所が配布するもので、ニューカッスル病ウイルスで生ワクチン製造用材料の規格

1.1 由来の鶏を免疫して得た血清で、1 mLずつ分注し、凍結乾燥したもの

参照抗原を用いて赤血球凝集抑制反応を行うとき、抗体価が、それぞれ160 ~ 320 倍、40~80 倍及び10~20倍のもの

付記3 陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格1.1 由来の鶏血清で、1 mL ずつ分注し、凍結乾燥したもの

参照抗原を用いて赤血球凝集抑制反応を行うとき、抗体価が、10 倍未満のもの