

病原性復帰確認試験法

接種対象動物において生ワクチンの製造用株の病原性が復帰又は増強しないことを確かめる方法である。

1 試験材料

1.1 検体

出荷時最大量を含むように調整した生ワクチン製造用のマスターシードを検体とする。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。なお、この場合も出荷時最大量を含むように調整する。

1.2 継代材料

検体を投与した試験動物から製造用株に由来する微生物が高頻度に分離される部位等を採取し、調製したものを継代材料とする。適当な方法を用いて、各継代ごとに製造用株に由来する微生物の定量試験を行う。継代材料は実験室内で増殖又は培養を行ってはならない。

1.3 試験動物

試験に適した健康な対象動物を試験動物とする。

2 試験方法

2.1 投与経路

検体を2頭（羽）以上の試験動物に、病原性の復帰又は増強を調査するために適した申請投与経路あるいは自然感染経路を用いて投与する。

2.2 採材

検体の性状に基づいて、適切な時期に試験動物から継代材料の採取を行う。

2.3 継代

初回の投与から第4代継代時まではそれぞれ2頭（羽）以上、最後の第5代継代時には8頭（羽）以上の試験動物を用いる。

製造用株に由来する微生物が継代の途中で回収されなくなった場合、最後に回収された継代材料を用いて、10頭（羽）の試験動物で継代を反復する。継代を反復したときに、製造用株に由来する微生物が1頭（羽）以上の動物から回収された場合、継代を反復したときに回収された材料を次の継代の継代材料として継代を続ける。なお、継代を反復した試験も1継代と換算する。

2.4 試験期間

初回接種から第4代継代時までの試験動物はそれぞれ21日間以内、第5代継代時の試験動物については21日間、それぞれ観察する。

2.5 観察

試験期間中、臨床観察を行う。観察項目には、病原性の復帰又は増強に関連する対象疾病に関する臨床症状等の発現の有無を観察する。

2.6 比較試験

第5代継代の試験動物において、観察期間中に病原性の復帰又は増強に関連する臨床症状等が認められた場合は、検体と最終継代のために用いた継代材料を出荷時最大量に合わせ、1群につき8頭（羽）以上の試験動物に接種し、病原性の復帰又は増強に関連する臨床症状等を比較する。

3 判定

第4代継代までの試験動物については、観察期間中、全ての試験動物において病原性の復帰又は増強に関連する臨床症状等を認めてはならない。また、比較試験において病原性の復帰又は増強に関連する臨床症状等に、検体及び最終継代の材料を接種した動物において差異を認めてはならない。