

動物用生物学的製剤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基準（平成14年10月3日農林水産省告示第1567号）（抄）

次の表により、改正前欄に掲げる規定の傍線を付した部分（以下「傍線部分」という。）でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分があるものは、これを当該傍線部分のように改め、改正後欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正前欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これを加え、改正前欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これを削る。

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部  <b>豚繁殖・呼吸障害症候群生ワクチン（シード）</b></p> <p>1（略）                  2 製法                  2.1 製造用株                  2.1.1（略）                  2.1.2 性状  <u>豚に注射しても病原性又は臨床的な異常を示さず、MA-104細胞又は豚肺胞マクロファージでCPEを伴って増殖する。</u>                  2.1.3 マスターシードウイルス                  2.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数                  マスターシードウイルスは、MA104細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。                  分注したマスターシードウイルスは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-60℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。                  マスターシードウイルスについて、3.1.1の試験を行う。                  マスターシードウイルスは、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。                  マスターシードウイルスから小分製品までの最高継代数は、5代以内でなければならない。                  2.1.4 ワーキングシードウイルス                  2.1.4.1 増殖、継代及び保存                  ワーキングシードウイルスは、MA-104細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖及び継代する。                  ワーキングシードウイルスは、凍結して-60℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。                  ワーキングシードウイルスについて、3.1.2の試験を行う。                  2.1.5 プロダクションシードウイルス                  2.1.5.1 増殖及び保存                  プロダクションシードウイルスは、MA-104細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖させる。</p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部  <b>豚繁殖・呼吸障害症候群生ワクチン（シード）</b></p> <p>1（略）                  2 製法                  2.1 製造用株                  2.1.1（略）                  2.1.2 性状                  MA-104細胞でCPEを伴って増殖し、感染価は、1 mL当たり10<sup>6.0</sup>TCID<sub>50</sub>以上に達する。                  2.1.3 マスターシードウイルス                  2.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数                  マスターシードウイルスは、MA104細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用容器に分注する。                  分注したマスターシードウイルスは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-35℃以下で保存する。                    マスターシードウイルスについて、3.1.1の試験を行う。                  マスターシードウイルスは、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。                  マスターシードウイルスから小分製品までの最高継代数は、5代以内でなければならない。                  2.1.4 ワーキングシードウイルス                  2.1.4.1 増殖、継代及び保存                  ワーキングシードウイルスは、MA-104細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖及び継代する。                  ワーキングシードウイルスは、凍結して-35℃以下で保存する。                    ワーキングシードウイルスについて、3.1.2の試験を行う。                  2.1.5 プロダクションシードウイルス                  2.1.5.1 増殖及び保存                  プロダクションシードウイルスは、MA-104細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖させる。</p>

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して $-60^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、3.1.3の試験を行う。

## 2.2 製造用材料

### 2.2.1・2.2.2 (略)

### 2.2.3 マスターセルシード

#### 2.2.3.1 作製、保存及びプロダクションセルシードまでの最高継代数

マスターセルシードは、2.2.2の培養液で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターセルシードは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

マスターセルシードについて、3.2.1の試験を行う。

マスターセルシードは、ワクチンの製造又は試験以外の目的で継代しない。マスターセルシードからプロダクションセルシードまでの最高継代数は、20代以内でなければならない。

### 2.2.4 ワーキングセルシード

#### 2.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.2の培養液で増殖及び継代する。

ワーキングセルシードは、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

ワーキングセルシードについて、3.2.2の試験を行う。

### 2.2.5 プロダクションセルシード

#### 2.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.2の培養液で増殖させる。

プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

プロダクションセルシードを保存する場合は、3.2.3の試験を行う。

## 2.3 原液

### 2.3.1 (略)

### 2.3.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを2.3.1の細胞で培養し、適当と認められた時期に個体別培養細胞ごとに採取し、必要に応じて過及び濃縮した培養液を原液とする。原液に適当と認められた安定剤を加えてもよい。

原液について、3.3の試験を行う。

## 2.4 最終バルク

原液に、必要に応じて、適当と認められた安定剤、希釈液及び保存剤を加え、これを最終バルクとする。

## 2.5 (略)

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して $-35^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、3.1.3の試験を行う。

## 2.2 製造用材料

### 2.2.1・2.2.2 (略)

### 2.2.3 マスターセルシード

#### 2.2.3.1 作製、保存及びプロダクションセルシードまでの最高継代数

マスターセルシードは、2.2.2の培養液で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターセルシードは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

マスターセルシードについて、3.2.1の試験を行う。

マスターセルシードは、ワクチンの製造又は試験以外の目的で継代しない。マスターセルシードからプロダクションセルシードまでの最高継代数は、20代以内でなければならない。

### 2.2.4 ワーキングセルシード

#### 2.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.2の培養液で増殖及び継代する。

ワーキングセルシードは、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

ワーキングセルシードについて、3.2.2の試験を行う。

### 2.2.5 プロダクションセルシード

#### 2.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.2の培養液で増殖させる。

プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して $-70^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。

プロダクションセルシードを保存する場合は、3.2.3の試験を行う。

## 2.3 原液

### 2.3.1 (略)

### 2.3.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを2.3.1の細胞で培養し、適当と認められた時期に個体別培養細胞ごとに採取した培養液を原液とする。

原液について、3.3の試験を行う。

## 2.4 最終バルク

原液に適当と認められた安定剤を加え、これを最終バルクとする。

## 2.5 (略)

### 3 試験法

#### 3.1 製造用株の試験

##### 3.1.1 マスターシードウイルスの試験

###### 3.1.1.1～3.1.1.3 (略)

###### 3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

###### 3.1.1.4.1 (略)

###### 3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験

###### 3.1.1.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験

げっ歯類由来細胞を用いる場合にはリンパ球脈絡髄膜炎ウイルスについて、サル由来細胞を用いる場合には内在性レトロウイルス（C、Dタイプ粒子）について、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1及び3.1.1を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

###### 3.1.1.4.2.2 (略)

###### 3.1.1.5～3.1.1.7 (略)

##### 3.1.1.8 組換え遺伝子等安定性確認試験

マスターシードウイルスが遺伝子組換え技術を利用して作製されたものである場合には、一般試験法の組換え遺伝子等安定性確認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。

###### 3.1.2・3.1.3 (略)

#### 3.2 株化細胞の試験

##### 3.2.1 マスターセルシードの試験

###### 3.2.1.1～3.2.1.4 (略)

###### 3.2.1.5 外来性ウイルス否定試験

###### 3.2.1.5.1 (略)

###### 3.2.1.5.2 特定ウイルス否定試験

###### 3.2.1.5.2.1 特定ウイルス否定一般試験

げっ歯類由来細胞を用いる場合には豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス及びリンパ球脈絡髄膜炎ウイルスについて、サル由来細胞を用いる場合には豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス及び内在性レトロウイルス（C、Dタイプ粒子）について、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2及び3.1.1を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

###### 3.2.1.5.2.2 (略)

###### 3.2.1.6 核学的（染色体）性状試験

シードロット規格の2.1.4.2.1.6を準用して試験するとき、適合しなければならない。

###### 3.2.1.7 (略)

##### 3.2.2 ワーキングセルシードの試験

###### 3.2.2.1 培養性状試験

シードロット規格の2.1.4.2.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3 試験法

#### 3.1 製造用株の試験

##### 3.1.1 マスターシードウイルスの試験

###### 3.1.1.1～3.1.1.3 (略)

###### 3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

###### 3.1.1.4.1 (略)

###### 3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験

###### 3.1.1.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験

内在性レトロウイルス（C、Dタイプ粒子）について、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1及び3.1.1を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

###### 3.1.1.4.2.2 (略)

###### 3.1.1.5～3.1.1.7 (略)

(新設)

###### 3.1.2・3.1.3 (略)

#### 3.2 株化細胞の試験

##### 3.2.1 マスターセルシードの試験

###### 3.2.1.1～3.2.1.4 (略)

###### 3.2.1.5 外来性ウイルス否定試験

###### 3.2.1.5.1 (略)

###### 3.2.1.5.2 特定ウイルス否定試験

###### 3.2.1.5.2.1 特定ウイルス否定一般試験

豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス及び内在性レトロウイルス（C、Dタイプ粒子）について、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2及び3.1.1を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

###### 3.2.1.5.2.2 (略)

###### 3.2.1.6 核学的（染色体）性状試験

シードロット規格の2.1.4.2.1.6.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

###### 3.2.1.7 (略)

##### 3.2.2 ワーキングセルシードの試験

###### 3.2.2.1 培養性状試験

シードロット規格の2.1.4.2.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2.2・3.2.2.3 (略)  
3.2.3 プロダクションセルシードの試験  
3.2.3.1 培養性状試験  
シードロット規格の2.1.4.2.3.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。  
3.2.3.2・3.2.3.3 (略)  
3.3 原液の試験  
3.3.1 (略)  
3.3.2 ウイルス含有量試験  
3.3.2.1 試験材料  
3.3.2.1.1 試料  
検体をウイルス増殖用培養液（付記1）又は適当と認められた培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。  
3.3.2.1.2 (略)  
3.3.2.2 試験方法  
試料0.1mLずつをそれぞれ6穴以上の培養細胞に接種し、37℃で8日間培養し観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。  
3.3.2.3 判定  
培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、 $TCID_{50}$ を算出する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その判定方法とする。  
検体のウイルス含有量は、1 mL中 $10^{6.0}TCID_{50}$ 以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。  
3.4 小分製品の試験  
3.4.1～3.4.5 (略)  
3.4.6 ウイルス含有量試験  
3.3.2を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり $10^{4.9} \sim 10^{6.7}TCID_{50}$ の範囲内でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。  
3.4.7 安全試験  
3.4.7.1 試験材料  
3.4.7.1.1 (略)  
3.4.7.1.2 試験動物  
3～4週齢の豚を用いる。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その週齢とする。  
3.4.7.2・3.4.7.3 (略)  
3.4.8 力価試験  
3.4.8.1 試験材料  
3.4.8.1.1 (略)  
3.4.8.1.2 感染細胞

3.2.2.2・3.2.2.3 (略)  
3.2.3 プロダクションセルシードの試験  
3.2.3.1 培養性状試験  
シードロット規格の2.1.4.2.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。  
3.2.3.2・3.2.3.3 (略)  
3.3 原液の試験  
3.3.1 (略)  
3.3.2 ウイルス含有量試験  
3.3.2.1 試験材料  
3.3.2.1.1 試料  
検体をウイルス増殖用培養液（付記1）で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。  
3.3.2.1.2 (略)  
3.3.2.2 試験方法  
試料0.1mLずつをそれぞれ6穴以上の培養細胞に接種し、37℃で8日間培養し観察する。  
3.3.2.3 判定  
培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、 $TCID_{50}$ を算出する。  
検体のウイルス含有量は、1 mL中 $10^{6.0}TCID_{50}$ 以上でなければならない。  
3.4 小分製品の試験  
3.4.1～3.4.5 (略)  
3.4.6 ウイルス含有量試験  
3.3.2を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり $10^{4.9} \sim 10^{6.7}TCID_{50}$ の範囲内でなければならない。  
3.4.7 安全試験  
3.4.7.1 試験材料  
3.4.7.1.1 (略)  
3.4.7.1.2 試験動物  
3～4週齢の豚を用いる。  
3.4.7.2・3.4.7.3 (略)  
3.4.8 力価試験  
3.4.8.1 試験材料  
3.4.8.1.1 (略)  
3.4.8.1.2 感染細胞

MA-104 細胞を8チャンバースライドに37℃で培養し、単層を形成させたものに豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスJJ1882株を1チャンバー当たり $10^{3.5}$  TCID<sub>50</sub>以上接種する。37℃で1～2日間培養した後、生理食塩液及び蒸留水で洗浄し、乾燥する。その後、冷アセトン・エタノール（1：1）液で固定した後乾燥させたものを感染細胞とし、8℃以下で密封保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その方法で調製した感染細胞を用いる。

#### 3.4.8.2 試験方法

3.4.7の試験終了後7日目に得られた各個体の血清について、蛍光抗体法を行う。

被検血清を生理食塩液で20倍希釈した後、更に2倍階段希釈する。感染細胞に各希釈液を加え、37℃で60分間処理した後、生理食塩液で洗浄し、抗豚IgG蛍光標識抗体（付記2）を加え、37℃で60分間処理した後、生理食塩液で洗浄し、UV励起方式で観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

#### 3.4.8.3 判定

特異蛍光が認められた血清の最高希釈倍数を抗体価とする。

試験動物の抗体価は、40倍以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その抗体価とする。

#### 4 (略)

付記1 ウイルス増殖用培養液

1,000mL 中	
牛胎子血清	20 ~ 50 mL
イーグルMEM	残量

pHを6.8～7.0に調整する。  
必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

(略)

MA-104 細胞を8チャンバースライドに37℃で培養し、単層を形成させたものに豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスJJ1882株を1チャンバー当たり $10^{3.5}$  TCID<sub>50</sub>以上接種する。37℃で1～2日間培養した後、生理食塩液及び蒸留水で洗浄し、乾燥する。その後、冷アセトン・エタノール（1：1）液で固定した後乾燥させたものを感染細胞とし、8℃以下で密封保存する。

#### 3.4.8.2 試験方法

3.4.7の試験終了後7日目に得られた各個体の血清について、蛍光抗体法を行う。

被検血清を生理食塩液で20倍希釈した後、更に2倍階段希釈する。感染細胞に各希釈液を加え、37℃で60分間処理した後、生理食塩液で洗浄し、抗豚IgG蛍光標識抗体（付記2）を加え、37℃で60分間処理した後、生理食塩液で洗浄し、UV励起方式で観察する。

#### 3.4.8.3 判定

特異蛍光が認められた血清の最高希釈倍数を抗体価とする。

試験動物の抗体価は、40倍以上でなければならない。

#### 4 (略)

付記1 ウイルス増殖用培養液

1,000mL 中	
牛胎子血清	20 ~ 50 mL
イーグルMEM	残量

炭酸水素ナトリウムでpHを6.8～7.0に調整する。  
必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

(略)