

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</p> <p><b>豚サーコウイルス（2型・組換え型）感染症（カルボキシビニルポリマー・アジュバント加）不活化ワクチン・マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症（カルボキシビニルポリマー・アジュバント加）不活化ワクチン</b></p> <p>（略）</p> <p>1 小分製品の試験</p> <p>1.1・1.2 （略）</p> <p>1.3 力価試験 （略）</p> <p>1.3.1 豚サーコウイルス 2 型感染症力価試験</p> <p>1.3.1.1 （略）</p> <p>1.3.1.2 試験方法</p> <p>1.3.1.2.1 酵素抗体反応（以下この項において「ELISA」という。）用固相化プレートの作製 抗 PCV2ORF2 豚 IgG を吸着用緩衝液（付記 7）で希釈したものを <math>100 \mu L</math> ずつ 96 穴 ELISA プレートに分注し、35～39℃で 1 夜静置する。洗浄・希釈液（付記 8）で 3 回洗浄し、ブロッキング液（付記 9）を <math>250 \mu L</math> ずつ加え、35～39℃で 60 分間反応させる。この固相化プレートを洗浄・希釈液で 3 回洗浄し、固相化プレートとする。</p> <p>1.3.1.2.2 （略）</p> <p>1.3.1.2.3 反応 各試料 <math>100 \mu L</math> ずつを固相化プレートの 3 穴に加え、35～39℃で 60 分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・希釈液で 3 回洗浄する。洗浄・希釈液で希釈した抗 PCV2ORF2 モノクローナル抗体を各穴に <math>100 \mu L</math> ずつ分注し、35～39℃で 60 分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・希釈液で 3 回洗浄する。1 vol % ウサギ血清加希釈用緩衝液（付記 10）で希釈した酵素標識抗体を各穴に <math>100 \mu L</math> ずつ分注し、35～39℃で 45 分間反応させる。反応後、洗浄・希釈液で 3 回洗浄する。基質液（付記 11）を <math>100 \mu L</math> ずつ各穴に分注し、室温で反応させる。その後、1 mol/L 塩酸溶液を <math>100 \mu L</math> ずつ各穴に分注し、反応を停止させる。</p> <p>1.3.1.2.4 （略）</p> <p>1.3.2 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症力価試験</p> <p>1.3.2.1 （略）</p> <p>1.3.2.2 試験方法 試験動物の 20 匹を試験群、10 匹を対照群とする。 注射材料 <math>0.1mL</math> ずつを試験群の腹部皮下に注射する。注射後 3 週間に、試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ELISA を行う。 試験群及び対照群の血清並びに参考陽性血清（付記 15）をブロッキング液（付記 16）で 10 倍に希釈したものを、更に同液で 2 倍段階希釈する。これらの血清希釈液を抗原吸着プレート（付記 17）の穴に <math>100 \mu L</math> ずつ加え、ブロッキング液のみの穴を血清対照とする。37℃で 1 時間反応させた後、洗浄液（付記 18）で 3 回洗浄する。次に、ブロッキング液で至適濃度に希釈した酵素標識抗体を各穴に <math>100 \mu L</math> ずつ加え、37℃で 1 時間反応させた後、洗浄液で 3 回洗浄する。その</p>	<p>ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部</p> <p><b>豚サーコウイルス（2型・組換え型）感染症（カルボキシビニルポリマー・アジュバント加）不活化ワクチン・マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症（カルボキシビニルポリマー・アジュバント加）不活化ワクチン</b></p> <p>（略）</p> <p>1 小分製品の試験</p> <p>1.1・1.2 （略）</p> <p>1.3 力価試験</p> <p>1.3.1 豚サーコウイルス 2 型感染症力価試験</p> <p>1.3.1.1 （略）</p> <p>1.3.1.2 試験方法</p> <p>1.3.1.2.1 酵素抗体反応（以下この項において「ELISA」という。）用固相化プレートの作製 抗 PCV2ORF2 豚 IgG を吸着用緩衝液（付記 7）で <u>5,000～6,000 倍</u> に希釈したものを <math>100 \mu L</math> ずつ 96 穴 ELISA プレートに分注し、35～39℃で 1 夜静置する。洗浄・希釈液（付記 8）で 3 回洗浄し、ブロッキング液（付記 9）を <math>250 \mu L</math> ずつ加え、35～39℃で 60 分間反応させる。この固相化プレートを洗浄・希釈液で 3 回洗浄し、固相化プレートとする。</p> <p>1.3.1.2.2 （略）</p> <p>1.3.1.2.3 反応 各試料 <math>100 \mu L</math> ずつを固相化プレートの 3 穴に加え、35～39℃で 60 分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・希釈液で 3 回洗浄する。洗浄・希釈液で <u>300 倍</u> に希釈した抗 PCV2ORF2 モノクローナル抗体を各穴に <math>100 \mu L</math> ずつ分注し、35～39℃で 60 分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・希釈液で 3 回洗浄する。1 vol % ウサギ血清加希釈用緩衝液（付記 10）で <u>5,000～20,000 倍</u> に希釈した酵素標識抗体を各穴に <math>100 \mu L</math> ずつ分注し、35～39℃で 45 分間反応させる。反応後、洗浄・希釈液で 3 回洗浄する。基質液（付記 11）を <math>100 \mu L</math> ずつ各穴に分注し、室温で <u>15 分間</u> 反応させる。その後、1 mol/L 塩酸溶液を <math>100 \mu L</math> ずつ各穴に分注し、反応を停止させる。</p> <p>1.3.1.2.4 （略）</p> <p>1.3.2 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症力価試験</p> <p>1.3.2.1 （略）</p> <p>1.3.2.2 試験方法 試験動物の 20 匹を試験群、10 匹を対照群とする。 注射材料 <math>0.1mL</math> ずつを試験群の腹部皮下に注射する。注射後 3 週間に、試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ELISA を行う。 試験群及び対照群の血清並びに参考陽性血清（付記 15）をブロッキング液（付記 16）で 10 倍に希釈したものを、更に同液で 2 倍段階希釈する。これらの血清希釈液を抗原吸着プレート（付記 17）の穴に <math>100 \mu L</math> ずつ加え、ブロッキング液のみの穴を血清対照とする。37℃で 1 時間反応させた後、洗浄液（付記 18）で 3 回洗浄する。次に、ブロッキング液で至適濃度に希釈した酵素標識抗体を各穴に <math>100 \mu L</math> ずつ加え、37℃で 1 時間反応させた後、洗浄液で 3 回洗浄する。その</p>

<p>後、基質液を各穴に <math>100 \mu L</math> ずつ加えて反応させた後、各穴に <math>1 \text{ mol/L}</math> 塩酸を <math>100 \mu L</math> ずつ加えて反応を停止させ、波長 <math>450\text{nm}</math> で吸光度を測定する。</p> <p>1.3.2.3 (略)</p> <p>付記 1～13 (略)</p> <p>付記 14 固相化抗原 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ製造用株又はこれと同等の免疫原性を有する株の培養菌液を遠心集菌し、菌体を洗浄した後、超音波処理をして調製した抗原。</p> <p>付記 15・16 (略)</p> <p>付記 17 抗原吸着プレート マイコプラズマ固相化抗原をトリス緩衝食塩液（付記 20）で希釈し、96 穴 ELISA プレートの各穴に <math>100 \mu L</math> ずつ加え、<math>37^\circ\text{C}</math> で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。その後、ブロッキング液を各穴に <math>100 \mu L</math> ずつ加え、<math>37^\circ\text{C}</math> で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄したもの。 以下 (略)</p>	<p>後、基質液を各穴に <math>100 \mu L</math> ずつ加えて <u>10 分間</u> 反応させた後、各穴に <math>1 \text{ mol/L}</math> 塩酸を <math>100 \mu L</math> ずつ加えて反応を停止させ、波長 <math>450\text{nm}</math> で吸光度を測定する。</p> <p>1.3.2.3 (略)</p> <p>付記 1～13 (略)</p> <p>付記 14 固相化抗原 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ製造用株又はこれと同等の免疫原性を有する株の培養菌液を遠心集菌し、菌体を洗浄した後、超音波処理をして <u>たん白質濃度が約 <math>173 \mu \text{g/mL}</math></u> となるように調製した抗原。</p> <p>付記 15・16 (略)</p> <p>付記 17 抗原吸着プレート マイコプラズマ固相化抗原をトリス緩衝食塩液（付記 20）で <u>25 倍</u> に希釈し、96 穴 ELISA プレートの各穴に <math>100 \mu L</math> ずつ加え、<math>37^\circ\text{C}</math> で 1 時間反応させた後、洗浄液で <u>3回</u> 洗浄する。その後、ブロッキング液を各穴に <math>100 \mu L</math> ずつ加え、<math>37^\circ\text{C}</math> で 1 時間反応させた後、洗浄液で <u>3回</u> 洗浄したもの。 以下 (略)</p>
---	---