

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）

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>マンヘミア・ヘモリチカ（1型）感染症不活化ワクチン（油性アジュバント加溶解用液）（シード）</b></p> <p>1 (略)</p> <p>2 製法</p> <p>2.1 製造用株</p> <p>2.1.1・2.1.2 (略)</p> <p>2.1.3 マスターしード菌</p> <p>2.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数 マスターしード菌は、適當と認められた培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。 分注したマスターしード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して 2～7℃で保存する。 マスターしード菌について、3.1.1 の試験を行う。 マスターしード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターしード菌から小分製品までの最高継代数は、10 代以内でなければならない。 <u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数以内とする。</u></p> <p>2.1.4 (略)</p> <p>2.1.4.1 増殖、継代及び保存 ワーキングシード菌は、適當と認められた培地で増殖及び継代する。 ワーキングシード菌は、凍結して <u>−30</u>℃以下又は凍結乾燥して 2～7℃で保存する。 ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。</p> <p>2.1.5 プロダクションシード菌</p> <p>2.1.5.1 増殖及び保存 プロダクションシード菌は、適當と認められた培地で増殖させる。 プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して <u>−30</u>℃以下又は凍結乾燥して 2～7℃で保存する。 プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。</p> <p>2.2～2.5 (略)</p> <p>3 試験法</p> <p>3.1 (略)</p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>マンヘミア・ヘモリチカ（1型）感染症不活化ワクチン（油性アジュバント加溶解用液）（シード）</b></p> <p>1 (略)</p> <p>2 製法</p> <p>2.1 製造用株</p> <p>2.1.1・2.1.2 (略)</p> <p>2.1.3 マスターしード菌</p> <p>2.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数 マスターしード菌は、適當と認められた培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。 分注したマスターしード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して 2～7℃で保存する。 マスターしード菌について、3.1.1 の試験を行う。 マスターしード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターしード菌から小分製品までの最高継代数は、10 代以内でなければならない。</p> <p>2.1.4 (略)</p> <p>2.1.4.1 増殖、継代及び保存 ワーキングシード菌は、適當と認められた培地で増殖及び継代する。 ワーキングシード菌は、凍結して <u>−60</u>℃以下又は凍結乾燥して 2～7℃で保存する。 ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。</p> <p>2.1.5 プロダクションシード菌</p> <p>2.1.5.1 増殖及び保存 プロダクションシード菌は、適當と認められた培地で増殖させる。 プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して <u>−60</u>℃以下又は凍結乾燥して 2～7℃で保存する。 プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。</p> <p>2.2～2.5 (略)</p> <p>3 試験法</p> <p>3.1 (略)</p>

3.2 培養菌液の試験	3.2 培養菌液の試験
3.2.1 染色試験	3.2.1 染色試験
3.2.1.1 (略)	3.2.1.1 (略)
3.2.1.2 試験方法	3.2.1.2 試験方法
検体をグラム染色して標本を作製し、観察する。	検体 <u>0.01mL</u> をスライドグラス上の <u>1 cm<sup>2</sup></u> の区画に塗抹し、乾燥させた後に火焔固定し、グラム染色して標本を作製する。標本を顕微鏡下で約 1,000 倍に拡大し、 <u>30 視野以上</u> を観察する。
3.2.1.3 (略)	3.2.1.3 (略)
3.2.2・3.2.3 (略)	3.2.2・3.2.3 (略)
3.3 不活化菌液の試験	3.3 不活化菌液の試験
3.3.1 不活化試験	3.3.1 不活化試験
3.3.1.1 試験材料	3.3.1.1 試験材料
検体を用いる。	検体を用いる。
3.3.1.2 試験方法	3.3.1.2 試験方法
検体を <u>100mL</u> の液体培地に <u>1 mL</u> 、 <u>5 vol %</u> 羊血液寒天培地に <u>0.2mL</u> を接種し培養する。寒天培地については <u>33～37 ℃</u> で <u>48 時間以上</u> 培養後に菌の発育の有無を観察する。液体培地については <u>36～38 ℃</u> で培養後 <u>7 日目</u> に菌の発育の有無を観察した後、新しい <u>100mL</u> の液体培地に <u>10mL</u> 、 <u>5 vol %</u> 羊血液寒天培地に <u>0.2mL</u> をそれぞれ継代し、寒天培地については継代後 <u>3～7 日目</u> に、液体培地については継代後 <u>7 日目</u> に菌の発育を観察する。	5 枚の <u>5 vol %</u> 羊血液トリプチケース・ダイズ・寒天培地に検体 <u>0.2mL</u> ずつを接種し、 <u>36～38 ℃</u> で <u>48 時間以上</u> 培養する。
3.3.1.3 判定	3.3.1.3 判定
菌の <u>発育</u> を認めてはならない。	菌の <u>増殖</u> を認めてはならない。
3.4 小分製品の試験	3.4 小分製品の試験
3.4.1～3.4.7 (略)	3.4.1～3.4.7 (略)
3.4.8 力価試験	3.4.8 力価試験
3.4.8.1 ロイコトキソイド力価試験	3.4.8.1 ロイコトキソイド力価試験
3.4.8.1.1 (略)	3.4.8.1.1 (略)
3.4.8.1.2 試験方法	3.4.8.1.2 試験方法
希釈液（付記 7）で試料及び参照品（付記 8）の階段希釈液を作製し、その希釈液を抗体固相化プレート（付記 9）の穴に <u>100 μ L</u> ずつ加え、 <u>37 ℃</u> で <u>60 分</u> 間反応させる。洗浄液（付記 10）で洗浄した後、マンヘミア・ヘモリチカロイコトキソイドに対するマウスモノクローナル抗体（付記 11）を各穴に <u>100 μ L</u> ずつ加え、 <u>37 ℃</u> で <u>60 分</u> 間反応させる。洗浄液で洗浄した後、標識抗体 1（付記 12）を各穴に <u>100 μ L</u> ずつ加え、 <u>37 ℃</u> で <u>60 分</u> 間反応させる。洗浄液で洗浄した後、基質液（付記 13）を各穴に <u>100 μ L</u> ずつ加え、常温で反応させる。参照品の <u>規定の</u> 希釈倍率の希釈液を加えた穴の吸光度を主波長 <u>405nm</u> 、副波長 <u>490nm</u> で測定し、その値が参照品ごとに規定された値となつたときに全ての穴の吸光度を測定する。	希釈液（付記 7）で試料及び参照品（付記 8）の各 <u>5</u> 段階の <u>2 倍</u> 階段希釈液を作製し、その希釈液を抗体固相化プレート（付記 9）の穴に <u>100 μ L</u> ずつ加え、 <u>37 ℃</u> で <u>60 分</u> 間反応させる。洗浄液（付記 10）で洗浄した後、マンヘミア・ヘモリチカロイコトキソイドに対するマウスモノクローナル抗体（付記 11）を各穴に <u>100 μ L</u> ずつ加え、 <u>37 ℃</u> で <u>60 分</u> 間反応させる。洗浄液で洗浄した後、標識抗体 1（付記 12）を各穴に <u>100 μ L</u> ずつ加え、 <u>37 ℃</u> で <u>60 分</u> 間反応させる。洗浄液で洗浄した後、基質液（付記 13）を各穴に <u>100 μ L</u> ずつ加え、常温で反応させる。参照品の <u>最低</u> 希釈倍率の希釈液を加えた穴の吸光度を主波長 <u>405nm</u> 、副波長 <u>490nm</u> で測定し、その値が <u>0.8～1.2</u> となつたときに全ての穴の吸光度を測定する。
3.4.8.1.3 (略)	3.4.8.1.3 (略)
3.4.8.2 荚膜抗原力価試験	3.4.8.2 荚膜抗原力価試験

### 3.4.8.2.1 試験材料

3.4.8.2.1.1 (略)

### 3.4.8.2.2 試験方法

希釈・洗浄液(付記15)で試料及び参照品の階段希釈液を作製し、96穴マイクロプレートの各穴に $100\ \mu\text{L}$ ずつ加えて4°Cで1晩反応させる。希釈・洗浄液で洗浄した後、ブロッキング液1(付記16)を加え、常温で1時間反応させる。希釈・洗浄液で洗浄した後、マンヘミア・ヘモリチカ莢膜抗原に対するモノクローナル抗体(付記17)を $100\ \mu\text{L}$ ずつ加え、37°Cで1時間反応させる。洗浄液で洗浄した後、標識抗体2(付記18)を各穴に $100\ \mu\text{L}$ ずつ分注し、37°Cで1時間反応させる。洗浄液で洗浄した後、基質液を各穴に $100\ \mu\text{L}$ ずつ加え、常温で反応させる。参照品の規定の希釈倍率の希釈液を加えた穴の吸光度を主波長405nm、副波長490nmで測定し、その値が参照品ごとに規定された値となったときに全ての穴の吸光度を測定する。

3.4.8.2.3 (略)

4 (略)

付記1・2 (略)

付記3 白血球浮遊液

健康な牛から採取した血液から白血球を調製し、細胞数が $1 \times 10^7$ 個/mLとなるようにRPMI-1640培地に浮遊させたもの。

付記4~8 (略)

付記9 抗体固相化プレート

0.38w/v%四ホウ酸ナトリウム溶液で適当な濃度に希釈したマンヘミア・ヘモリチカロイコトキソイドに対する牛ポリクローナル抗体(付記20)を $100\ \mu\text{L}$ ずつ96穴プレートに分注し、4°Cで16時間反応させる。内容液を捨て、ブロッキング液2(付記21)を加え、37°Cで30分間反応させた後、希釈・洗浄液で1回洗浄したもの。

付記10~12 (略)

付記13 基質液

A液：0.3gの2,2'-アジノ-ジ(3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホ酸)を1,000mLのグリシン緩衝液で溶解したもの。

B液：0.02vol%過酸化水素水

A液とB液を使用時に等量混合したもの。

付記14 統計学的計算方法

動物医薬品検査所が適当と認めたもの。

付記15・16 (略)

付記17 マンヘミア・ヘモリチカ 莢膜抗原に対するモノクローナル抗体

マンヘミア・ヘモリチカから精製した莢膜多糖体、リボ多糖体及びロイコトキシンを用いて間接ELISAを行った場合、莢膜多糖体にのみ特異的に反応するモノクローナル抗体であって、ブロッキング液1で適当な

### 3.4.8.2.1 試験材料

3.4.8.2.1.1 (略)

### 3.4.8.2.2 試験方法

希釈・洗浄液(付記15)で試料及び参照品の各5段階の2倍階段希釈液を作製し、96穴マイクロプレートの各穴に $100\ \mu\text{L}$ ずつ加えて4°Cで1晩反応させる。希釈・洗浄液で洗浄した後、ブロッキング液1(付記16)を各穴に $200\ \mu\text{L}$ ずつ加えて常温で1時間反応させる。希釈・洗浄液で洗浄した後、マンヘミア・ヘモリチカ莢膜抗原に対するモノクローナル抗体(付記17)を $100\ \mu\text{L}$ ずつ加え、37°Cで1時間反応させる。洗浄液で洗浄した後、標識抗体2(付記18)を各穴に $100\ \mu\text{L}$ ずつ分注し、37°Cで1時間反応させる。洗浄液で洗浄した後、基質液を各穴に $100\ \mu\text{L}$ ずつ加え、常温で反応させる。参照品の最低希釈倍率の希釈液を加えた穴の吸光度を主波長405nm、副波長490nmで測定し、その値が0.8~1.2となったときに全ての穴の吸光度を測定する。

3.4.8.2.3 (略)

4 (略)

付記1・2 (略)

付記3 白血球浮遊液

健康な牛から採取した血液から白血球を調製し、細胞数が $1 \times 10^7$ 個/mLとなるようにRPMI-1640培地に浮遊させたもの

付記4~8 (略)

付記9 抗体固相化プレート

0.38w/v%四ホウ酸ナトリウム溶液で適当な濃度に希釈したマンヘミア・ヘモリチカロイコトキソイドに対する牛ポリクローナル抗体(付記20)を $100\ \mu\text{L}$ ずつ96穴プレートに分注し、4°Cで16時間反応させる。内容液を捨て、ブロッキング液2(付記21)を $100\ \mu\text{L}$ ずつ加え、37°Cで30分間反応させた後、希釈・洗浄液で1回洗浄したもの。

付記10~12 (略)

付記13 基質液

A液：0.6gの2,2'-アジノ-ジ(3-エチルベンゾチアゾリンスルホネート)を1,000mLのグリシン緩衝液で溶解したもの。

B液：0.02vol%過酸化水素水

A液とB液を使用時に等量混合したもの。

付記14 統計学的計算方法

動物医薬品検査所が適当と認めたもの

付記15・16 (略)

付記17 マンヘミア・ヘモリチカ 莢膜抗原に対するモノクローナル抗体

マンヘミア・ヘモリチカから精製した莢膜多糖体、リボ多糖体及びロイコトキシンを用いて間接ELISAを行った場合、莢膜多糖体にのみ特異的に反応するモノクローナル抗体であって、ブロッキング液1で適

希釈倍率に希釈したもの。

付記 18・19 (略)

付記 20 マンヘミア・ヘモリチカ ロイコトキソイドに対する牛ポリクローナル抗体

マンヘミア・ヘモリチカに対する牛ポリクローナル血清で、ロイコトキソイドに対する反応の特異性が間接的に確認され、参考品に対する用量反応性等が証明されたもの。

付記 21 (略)

付記 22 50vol %グリセリン溶液

滅菌精製水にグリセリンを等量混合したもの。

当な希釈倍率に希釈したもの。

付記 18・19 (略)

付記 20 マンヘミア・ヘモリチカ ロイコトキソイドに対する牛ポリクローナル抗体

マンヘミア・ヘモリチカ NADC615-8 株又は同等の抗原性を有する株の培養菌液を気管内投与し、2週間後に得られた牛血清であって、ロイコトキシンに対する中和抗体価が 128 ~ 256 倍になるように濃度を調整したもの。

付記 21 (略)

付記 22 50vol %グリセリン溶液

滅菌精製水にグリセリンを等量混合したもの