

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）

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、これを加える。

改正後	改正前
ワクチン（シードロット製剤）の部 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症 （油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード） 1 （略） 2 製法 2.1 製造用株 2.1.1・2.1.2 （略） 2.1.3 マスターシード菌 2.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数 マスターシード菌は、適当と認められた液状培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。 分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して－20℃以下又は凍結乾燥して 5℃以下で保存する。 マスターシード菌について、3.1.1の試験を行う。 マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの継代数は、10代以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、その継代数とする。 2.1.4・2.1.5 （略） 2.2 （略） 2.3 原液 2.3.1 （略） 2.3.2 不活化 培養菌液に適当と認められた不活化剤を加えて不活化したもの又はこれを適当と認められた方法で過剰の不活化剤を中和したものを不活化菌液とする。ただし、最終バルクの調製時に過剰の不活化剤を中和してもよい。 不活化菌液について、3.3の試験を行う。 2.3.3 アジュバントの添加	ワクチン（シードロット製剤）の部 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症 （油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード） 1 （略） 2 製法 2.1 製造用株 2.1.1・2.1.2 （略） 2.1.3 マスターシード菌 2.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数 マスターシード菌は、適当と認められた液状培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。 分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して－20℃以下又は凍結乾燥して 5℃以下で保存する マスターシード菌について、3.1.1の試験を行う。 マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの継代数は、10代以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、その継代数とする。 2.1.4・2.1.5 （略） 2.2 （略） 2.3 原液 2.3.1 （略） 2.3.2 不活化 培養菌液に適当と認められた不活化剤を加えて不活化したもの又はこれを適当と認められた方法で過剰の不活化剤を中和したものを不活化菌液とする。ただし、最終バルクの調整時に過剰の不活化剤を中和してもよい。 不活化菌液について、3.3の試験を行う。 2.3.3 アジュバントの添加

不活化菌液又は適当と認められた方法で濃縮した不活化菌液に適量のアジュバントを添加したものを原液とする。この場合、適当と認められた保存剤を添加してもよい。ただし、最終バルクの<u>調製時</u>にアジュバントを添加してもよい。 原液について、3.4の試験を行う。 2.4・2.5 (略) 3 試験法 3.1 製造用株の試験 3.1.1 マスターシード菌の試験 3.1.1.1 (略) 3.1.1.2 夾雑菌否定試験 一般試験法の無菌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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その<u>試験方法</u>とする。 3.1.2・3.1.3 (略) 3.2 培養菌液の試験 3.2.1 (略) 3.2.2 生菌数試験 3.2.2.1・3.2.2.2 (略) 3.2.2.3 判定 培養液を観察し、色調が変化したものをマイコプラズマ陽性とみなし、<u>Color Changing Unit</u> (以下「CCU」という。)を算出する。 検体の菌量は、1 mL中 5×10^6CCU以上でなければならない。 3.3・3.4 (略) 3.5 小分製品の試験 3.5.1～3.5.7 (略) 3.5.8 力価試験 3.5.8.1、3.5.8.2又は3.5.8.3の試験を行う。 3.5.8.1 マウス試験法 3.5.8.1.1・3.5.8.1.2 (略) 3.5.8.1.3 判定 血清対照の各穴の吸光度の平均値+0.5以上の<u>吸光度</u>を示した血清の最高希釈倍数を抗体価とする。 試験群では、70%以上が抗体価2,560倍以上でなければならない。この場合、対照群では、すべて320倍以下でなければならない。また、参照陽性血清1は、抗体価2,560～5,120倍を示さなければならない。 3.5.8.2 ウサギ試験法 3.5.8.2.1・3.5.8.2.2 (略)	不活化菌液又は適当と認められた方法で濃縮した不活化菌液に適量のアジュバントを添加したものを原液とする。この場合、適当と認められた保存剤を添加してもよい。ただし、最終バルクの<u>調整時</u>にアジュバントを添加してもよい。 原液について、3.4の試験を行う。 2.4・2.5 (略) 3 試験法 3.1 製造用株の試験 3.1.1 マスターシード菌の試験 3.1.1.1 (略) 3.1.1.2 夾雑菌否定試験 一般試験法の無菌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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その<u>試験法</u>とする。 3.1.2・3.1.3 (略) 3.2 培養菌液の試験 3.2.1 (略) 3.2.2 生菌数試験 3.2.2.1・3.2.2.2 (略) 3.2.2.3 判定 培養液を観察し、色調が変化したものをマイコプラズマ陽性とみなし、<u>CCU</u>を算出する。 検体の菌量は、1 mL中 5×10^6CCU以上でなければならない。 3.3・3.4 (略) 3.5 小分製品の試験 3.5.1～3.5.7 (略) 3.5.8 力価試験 3.5.8.1、3.5.8.2又は3.5.8.3の試験を行う。 3.5.8.1 マウス試験法 3.5.8.1.1・3.5.8.1.2 (略) 3.5.8.1.3 判定 血清対照の各穴の吸光度<u>値</u>の平均値+0.5以上の<u>吸光度値</u>を示した血清の最高希釈倍数を抗体価とする。 試験群では、70%以上が抗体価2,560倍以上でなければならない。この場合、対照群では、すべて320倍以下でなければならない。また、参照陽性血清1は、抗体価2,560～5,120倍を示さなければならない。 3.5.8.2 ウサギ試験法 3.5.8.2.1・3.5.8.2.2 (略)
--	--

3.5.8.2.3 判定

参照陰性血清の全穴の平均吸光度の2倍以上の吸光度を示した血清の最高希釈倍数を抗体価とする。また、参照陽性血清2及び試験群の血清の各希釈段階における吸光度は、3穴の平均値とする。

試験群では、参照陽性血清2の抗体価以上でなければならない。この場合、対照群では、すべて20倍以下でなければならない。また、参照陰性血清の平均吸光度は0.05～0.11、参照陽性血清2の抗体価は40～160倍を示さなければならない。

3.5.8.3 相対力価試験法

3.5.8.3.1 (略)

3.5.8.3.2 試験方法

3.5.8.3.2.1・3.5.8.3.2.2 (略)

3.5.8.3.2.3 反応

ELISAによりOD値を測定する。

試料及び参照品をブロッキング液で適当な濃度に希釈したもの、及びそれらを階段希釈したものを、固相化プレートの各穴に加え、21～25℃で60～75分間反応させる。洗浄した後、希釈した指示抗体（付記19）を各穴に加え、21～25℃で60～75分間反応させる。洗浄した後、基質液3（付記20）を各穴に加え、21～25℃で反応させる。主波長405nm、副波長490nm又は492nmで最低希釈倍率の参照品の平均OD値を測定し、その値が1.5～2.2となった時点で反応終了とし、全ての穴のOD値を測定する。

3.5.8.3.3 判定

各穴のOD値を用いて、参照品中の抗原量を1.0として、試料の抗原量を相対力価（RP）の計算法（付記21）により算出するとき、試験品のRPは1.2以上でなければならない。

4 (略)

付記1 ポリソルベート20抽出抗原1

製造用株又はこれと同等の抗原性を有する株の振とう培養菌液を遠心集菌し、希釈液1に懸濁後、4℃で24時間攪拌して菌体を洗浄する。洗浄菌体をトリス緩衝液（1）に蛋白濃度1mg/mLになるように懸濁後、2vol%ポリソルベート20加トリス緩衝液（2）を等量加え、37℃で30分間振とうしながら加温する。遠心後の上清にジエチルエーテルを等量加えて振とう後、エーテル層を完全に除去したもの。

（1）・（2） (略)

付記2 参照陽性血清1

3.5.8.2.3 判定

参照陰性血清の全穴の平均吸光度値の2倍以上の吸光度値を示した血清の最高希釈倍数を抗体価とする。また、参照陽性血清2及び試験群の血清の各希釈段階における吸光度値は、3穴の平均値とする。

試験群では、参照陽性血清2の抗体価以上でなければならない。この場合、対照群では、すべて20倍以下でなければならない。また、参照陰性血清の平均吸光度値は0.05～0.11、参照陽性血清2の抗体価は40～160倍を示さなければならない。

3.5.8.3 相対力価試験法

3.5.8.3.1 (略)

3.5.8.3.2 試験方法

3.5.8.3.2.1・3.5.8.3.2.2 (略)

3.5.8.3.2.3 反応

ELISAによりOD値を測定する。

試料及び参照品をブロッキング液で適当な濃度に希釈したもの、及びそれらを階段希釈したものを、固相化プレートの各穴に加え、21～25℃で60～75分間反応させる。洗浄した後、希釈した指示抗体（付記19）を各穴に加え、21～25℃で60～75分間反応させる。洗浄した後、基質液（付記20）を各穴に加え、21～25℃で反応させる。主波長405nm、副波長490nm又は492nmで最低希釈倍率の参照品の平均OD値を測定し、その値が1.5～2.2となった時点で反応終了とし、全ての穴のOD値を測定する。

3.5.8.3.3 判定

各穴のOD値を用いて、参照品中の抗原量を1.0として、試料の抗原量を相対力価（RP）の計算法（付記21）により算出するとき、試験品のRPは1.38以上でなければならない。

4 (略)

付記1 ポリソルベート20抽出抗原1

製造用株又はこれと同等の抗原性を有する株の振とう培養菌液を遠心集菌し、希釈液に懸濁後、4℃で24時間攪拌して菌体を洗浄する。洗浄菌体をトリス緩衝液（1）に蛋白濃度1mg/mLになるように懸濁後、2vol%ポリソルベート20加トリス緩衝液（2）を等量加え、37℃で30分間振とうしながら加温する。遠心後の上清にジエチルエーテルを等量加えて振とう後、エーテル層を完全に除去したもの。

（1）・（2） (略)

付記2 参照陽性血清1

マイコプラズマ・ハイオニューモニエJ株又はこれと同等の免疫原性を有する株で免疫したマウスの血清で、抗体価が2,560～5,120倍となるように<u>調製し</u>、凍結又は凍結乾燥したもの。 付記3 (略) 付記4 抗原吸着プレート1 マイコプラズマ・ハイオニューモニエJ株又はこれと同等の免疫原性を有する株に対するウサギ免疫血清（付記22）を炭酸緩衝液1（付記23）で100倍に希釈後、<u>96穴プレート</u>の各穴に100μLずつ加え、4℃で18時間反応させる。その後、洗浄液1で3回洗浄する。0.1w/v%ゼラチン液（付記24）を各穴に100μLずつ加え、4℃で18時間反応させる。さらに、洗浄液1で3回洗浄後、ポリソルベート20抽出抗原1を<u>希釈液1</u>で蛋白量12.5μg/mLになるように希釈し、各穴に100μLずつ加え、4℃で18時間反応させた後、洗浄液1で3回洗浄したもの。 付記5～11 (略) 付記12 抗原吸着プレート2 ポリソルベート20抽出抗原2を炭酸緩衝液2（付記27）で蛋白量として10μg/mLに調製した抗原液を<u>96穴プレート</u>の各穴に100μLずつ分注し、プレートをシールして室温で18～72時間感作したもの。 付記13・14 (略) 付記15 基質液2 A液：0.6gの2,2'-アジノビス（3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸）を1,000mLのグリシン緩衝液で溶解したもの。 B液：<u>0.02vol%過酸化水素水溶液</u> A液とB液を使用時に等量混合する。 付記16 参照品 <u>製造用株</u>又はこれと同等の<u>抗原性</u>を有する株の培養菌液又はこれを濃縮したものを不活化し、油性アジュバントを添加したものであり、豚における攻撃試験において肺病変及び抗体価に基づいて有効性が確認されたものであって、動物医薬品検査所が適当と認めたもの。	マイコプラズマ・ハイオニューモニエJ株又はこれと同等の免疫原性を有する株で免疫したマウスの血清で、抗体価が2,560～5,120倍となるように<u>調整し</u>、凍結又は凍結乾燥したもの。 付記3 (略) 付記4 抗原吸着プレート1 マイコプラズマ・ハイオニューモニエJ株又はこれと同等の免疫原性を有する株に対するウサギ免疫血清（付記22）を炭酸緩衝液1（付記23）で100倍に希釈後、<u>96穴マイクロプレート</u>の各穴に100μLずつ加え、4℃で18時間反応させる。その後、洗浄液1で3回洗浄する。0.1w/v%ゼラチン液（付記24）を各穴に100μLずつ加え、4℃で18時間反応させる。さらに、洗浄液1で3回洗浄後、ポリソルベート20抽出抗原1を<u>希釈液</u>で蛋白量12.5μg/mLになるように希釈し、各穴に100μLずつ加え、4℃で18時間反応させた後、洗浄液1で3回洗浄したもの。 付記5～11 (略) 付記12 抗原吸着プレート2 ポリソルベート20抽出抗原2を炭酸緩衝液2（付記27）で蛋白量として10μg/mLに調製した抗原液を<u>マイクロプレート</u>の各穴に100μLずつ分注し、プレートをシールして室温で18～72時間感作したもの。 付記13・14 (略) 付記15 基質液2 A液：0.6gの2,2'-アジノージ（3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸）を1,000mLのグリシン緩衝液で溶解したもの。 B液：<u>0.02vol%過酸化水素溶液</u> A液とB液を使用時に等量混合する。 付記16 参照品 <u>マイコプラズマ・ハイオニューモニエ製造用株</u>若しくはこれと同等の<u>免疫原性</u>を有する株の培養菌液又はこれを濃縮したものを不活化し、油性アジュバントを添加したものであり、豚における攻撃試験において肺病変及び抗体価に基づいて有効性が確認されたものであって、
--	---

付記17～付記19 （略） 付記20 <u>基質液 3</u> 2,2'-アジノビス <u>(3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸)</u> (ABTS) 液 付記21～付記27 （略）	動物医薬品検査所が適当と認めたもの。 付記17～付記19 （略） 付記20 <u>基質液</u> 2,2'-アジノビス <u>(3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸)</u> (ABTS) 液 付記21～付記27 （略）
--	--