

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、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
ワクチン（シードロット製剤）の部 鶏伝染性気管支炎生ワクチン（シード） 1 （略） 2 製法 2.1・2.2 （略） 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 の発育鶏卵で培養して、尿膜腔液を採取し、そのろ液、遠心上清又はこれを濃縮したものを原液とする。 <u>原液に相当と認められた必要最少量の抗生物質又は原液に相当と認められた必要最少量の抗生物質及び安定剤を加えてもよい。</u> 原液について 3.4 の試験を行う。 <u>なお、最終バルクについて 3.5 の試験を行う場合は、3.4.2 の試験を行わない。</u> 2.4 最終バルク 原液を混合し、相当と認められた希釈液及び安定剤を加えて調製し、最終バルクとする。この場合、相当と認められた必要最少量の抗生物質を加えてもよい。 小分製品が錠剤である製剤については、原液を混合して凍結乾燥し、相当と認められた賦形剤及び滑沢剤を加えて調製し、最終バルクとする。 <u>小分製品が粒状に凍結乾燥された製剤については、原液を規定量ずつ凍結乾燥させたものを最終バルクとする。</u> <u>粒状に凍結乾燥した最終バルクについて 3.5 の試験を行う。</u> 2.5 小分製品 最終バルクを小分容器に分注して凍結乾燥し、小分製品とする。	ワクチン（シードロット製剤）の部 鶏伝染性気管支炎生ワクチン（シード） 1 （略） 2 製法 2.1・2.2 （略） 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 の発育鶏卵で培養して、尿膜腔液を採取し、そのろ液、遠心上清又はこれを濃縮したものを原液とする。 原液に相当と認められた必要最少量の抗生物質を加えてもよい。 原液について 3.4 の試験を行う。 2.4 最終バルク 原液を混合し、相当と認められた希釈液及び安定剤を加えて調製し、最終バルクとする。この場合、相当と認められた必要最少量の抗生物質を加えてもよい。 小分製品が錠剤である製剤については、原液を混合して凍結乾燥し、相当と認められた賦形剤及び滑沢剤を加えて調製し、最終バルクとする。 2.5 小分製品 最終バルクを小分容器に分注して凍結乾燥し、小分製品とする。

小分製品が錠剤である製剤については、最終バルクを錠剤に成型し、小分製品とする。 <u>小分製品が粒状に凍結乾燥された製剤については、規定量となる分量を小分容器に充填し、小分製品とする。</u> 小分製品について、<u>3.6</u>の試験を行う。 3 試験法 3.1～3.4 (略) <u>3.5 最終バルクの試験</u> <u>3.5.1 ウイルス含有量試験</u> <u>3.5.1.1 試験材料</u> <u>3.5.1.1.1 試料</u> <u>検体を注射用水100mLで溶解し、トリプトース溶液（付記1）で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。</u> <u>3.5.1.1.2 発育鶏卵</u> <u>生ワクチン製造用材料の規格1.1の9～11日齢のものをを用いる。</u> <u>3.5.1.2 試験方法</u> <u>試料0.2mLずつをそれぞれ10個の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37℃で3日間培養する。培養終了後2～8℃に2時間静置した後、尿膜腔液を採取し、酵素抗体反応（以下「ELISA」という。）を行う。</u> <u>試料を注射した発育鶏卵の尿膜腔液と参照陰性対照（付記2）の各50μLを、予めEIA緩衝液（付記3）を50μLずつ加えた抗体固相化プレート（付記4）の各穴に加える。尿膜腔液は1穴、参照陰性対照は6穴とする。参照陽性対照（付記5）は2倍階段希釈になるように、EIA緩衝液で無希釈から128倍まで希釈した100μLを1穴に加える。2穴にはEIA緩衝液の100μLを加える。37℃で1時間反応させた後、洗浄液（付記6）で3回洗浄する。次に、各穴に検出抗体（付記7）を100μL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。次に、酵素標識抗体液（付記8）を100μLずつ加え、45分間反応させた後、洗浄液（付記6）で3回洗浄及び水で1回洗浄する。発色用基質液（付記9）を各穴に100μLずつ加え、10分間反応させた後、2 mol/L硫酸を50μLずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を450nmで測定する。</u> <u>3.5.1.3 判定</u> <u>参照陰性対照の平均吸光度の少なくとも1.5倍の吸光度を示した尿膜腔液を感染とみなし、EID₅₀を算出する。ただし、24時間以内に死亡したものは、除外する。</u>	小分製品が錠剤である製剤については、最終バルクを錠剤に成型し、小分製品とする。 小分製品について、<u>3.5</u>の試験を行う。 3 試験法 3.1～3.4 (略) (新設)
--	--

3.6 小分製品の試験 3.6.1～3.6.8 (略) 3.6.9 力価試験 それぞれのワクチンについて、<u>3.6.9.1</u>の試験又は<u>3.6.9.2</u>の試験のいずれかを行う。 3.6.9.1 (略) 3.6.9.2 抗体量測定試験 3.6.9.2.1 試験材料 3.6.9.2.1.1・3.6.9.2.1.2 (略) 3.6.9.2.1.3 酵素抗体反应用抗原 (略) 3.6.9.2.2 試験方法 試験動物の10羽を試験群、3羽を対照群とする。試験群に、接種材料0.03mLずつを点眼接種し、対照群と共に3～4週間観察する。観察期間中、試験群及び対照群に異常を認めてはならない。 試験終了時、試験群及び対照群から得られた血清についてELISAを行う。各群の血清は、それぞれ等量をプールする。 試験群と対照群のプール血清及び陽性血清(付記11)を血清希釈液(付記12)で50倍に希釈したものを、それぞれELISA用抗原吸着プレート(付記13)の3穴に100μLずつ加える。37℃で60分間反応させた後、洗浄液(付記14)で洗浄する。次に、各穴に酵素標識抗体液(付記15)を100μLずつ加え、37℃で60分間反応させた後、洗浄液(付記14)で洗浄する。発色用基質液(付記9)を各穴に100μLずつ加え、37℃で30分間反応させた後、1 mol/Lリン酸水溶液を100μLずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を450nmで測定する。 3.6.9.2.3 (略) 3.6.10 (略) 4 (略) 付記 1 トリプトース溶液 トリプトース 25 g 水 残 量 121℃で 15～30 分間高圧蒸気滅菌したもの。必要最小限の抗生物質を加えてもよい。	3.5 小分製品の試験 3.5.1～3.5.8 (略) 3.5.9 力価試験 それぞれのワクチンについて、<u>3.5.9.1</u>の試験又は<u>3.5.9.2</u>の試験のいずれかを行う。 3.5.9.1 (略) 3.5.9.2 抗体量測定試験 3.5.9.2.1 試験材料 3.5.9.2.1.1・3.5.9.2.1.2 (略) 3.5.9.2.1.3 酵素抗体反応(以下、ELISAという。)用抗原 (略) 3.5.9.2.2 試験方法 試験動物の10羽を試験群、3羽を対照群とする。試験群に、接種材料0.03mLずつを点眼接種し、対照群と共に3～4週間観察する。観察期間中、試験群及び対照群に異常を認めてはならない。 試験終了時、試験群及び対照群から得られた血清についてELISAを行う。各群の血清は、それぞれ等量をプールする。 試験群と対照群のプール血清及び陽性血清(付記 1)を血清希釈液(付記 2)で50倍に希釈したものを、それぞれELISA用抗原吸着プレート(付記 3)の3穴に100μLずつ加える。37℃で60分間反応させた後、洗浄液(付記 4)で洗浄する。次に、各穴に酵素標識抗体液(付記 5)を100μLずつ加え、37℃で60分間反応させた後、洗浄液で洗浄する。発色用基質液(付記 6)を各穴に100μLずつ加え、37℃で30分間反応させた後、1 mol/Lリン酸水溶液を100μLずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を450nmで測定する。 3.5.9.2.3 (略) 3.5.10 (略) 4 (略) (新設)
---	---

付記 2	<u>参照陰性対照</u> <u>生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合した発育鶏卵から採取した鶏伝染性気管支炎ウイルス陰性の尿膜腔液</u>	(新設)																		
付記 3	<u>EIA 緩衝液</u> <u>1,000mL 中</u> <table> <tr> <td><u>塩化ナトリウム</u></td><td><u>29.22</u></td><td><u>g</u></td></tr> <tr> <td><u>リン酸二水素ナトリウム二水和物</u></td><td><u>2.31</u></td><td><u>g</u></td></tr> <tr> <td><u>リン酸水素二ナトリウム二水和物</u></td><td><u>24.06</u></td><td><u>g</u></td></tr> <tr> <td><u>ポリソルベート 20</u></td><td><u>200.50</u></td><td><u>g</u></td></tr> <tr> <td><u>ウシ血清アルブミン</u></td><td><u>1.00</u></td><td><u>g</u></td></tr> <tr> <td><u>水</u></td><td><u>残</u></td><td><u>量</u></td></tr> </table> <u>孔径 0.22μm のメンブランフィルターでろ過する。</u>	<u>塩化ナトリウム</u>	<u>29.22</u>	<u>g</u>	<u>リン酸二水素ナトリウム二水和物</u>	<u>2.31</u>	<u>g</u>	<u>リン酸水素二ナトリウム二水和物</u>	<u>24.06</u>	<u>g</u>	<u>ポリソルベート 20</u>	<u>200.50</u>	<u>g</u>	<u>ウシ血清アルブミン</u>	<u>1.00</u>	<u>g</u>	<u>水</u>	<u>残</u>	<u>量</u>	(新設)
<u>塩化ナトリウム</u>	<u>29.22</u>	<u>g</u>																		
<u>リン酸二水素ナトリウム二水和物</u>	<u>2.31</u>	<u>g</u>																		
<u>リン酸水素二ナトリウム二水和物</u>	<u>24.06</u>	<u>g</u>																		
<u>ポリソルベート 20</u>	<u>200.50</u>	<u>g</u>																		
<u>ウシ血清アルブミン</u>	<u>1.00</u>	<u>g</u>																		
<u>水</u>	<u>残</u>	<u>量</u>																		
付記 4	<u>抗体固相化プレート</u> <u>製造用株に特異的なモノクローナル抗体産生ハイブリドーマ細胞の培養上清を 0.04mol/L リン酸緩衝食塩液（付記 10）で適当な濃度に希釈し、希釈液を 96 穴プレートの各穴に 100μL ずつ加え、37℃で 3 時間静置して固相化した後、洗浄液で 3 回洗浄したもの</u>	(新設)																		
付記 5	<u>参照陽性対照</u> <u>製造用株を生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合した発育鶏卵の尿膜腔内で培養して採取した尿膜腔液で、EIA 緩衝液（付記 3）で指摘濃度に希釈したもの</u>	(新設)																		
付記 6	<u>洗浄液</u> <u>1,000mL 中</u> <table> <tr> <td><u>塩化ナトリウム</u></td><td><u>37.2</u></td><td><u>g</u></td></tr> <tr> <td><u>塩化カリウム</u></td><td><u>0.2</u></td><td><u>g</u></td></tr> <tr> <td><u>リン酸二水素カリウム</u></td><td><u>0.2</u></td><td><u>g</u></td></tr> <tr> <td><u>リン酸水素二ナトリウム</u></td><td><u>1.15</u></td><td><u>g</u></td></tr> </table>	<u>塩化ナトリウム</u>	<u>37.2</u>	<u>g</u>	<u>塩化カリウム</u>	<u>0.2</u>	<u>g</u>	<u>リン酸二水素カリウム</u>	<u>0.2</u>	<u>g</u>	<u>リン酸水素二ナトリウム</u>	<u>1.15</u>	<u>g</u>	(新設)						
<u>塩化ナトリウム</u>	<u>37.2</u>	<u>g</u>																		
<u>塩化カリウム</u>	<u>0.2</u>	<u>g</u>																		
<u>リン酸二水素カリウム</u>	<u>0.2</u>	<u>g</u>																		
<u>リン酸水素二ナトリウム</u>	<u>1.15</u>	<u>g</u>																		

水	残 量
付記 7 <u>検出抗体</u> <u>製造用株を生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合した発育鶏卵由来の鶏に免疫して得られた血清を EIA 緩衝液（付記 3）で至適濃度に希釈したもの</u>	(新設)
付記 8 <u>酵素標識抗体液</u> <u>山羊抗鶏 IgG ペルオキシダーゼ標識抗体を EIA 緩衝液（付記 3）で至適濃度に希釈したもの</u>	(新設)
付記 9 <u>発色用基質液</u> <u>テトラメチルベンジジン（TMB）を用いる。</u>	(新設)
付記 10 <u>0.04mol/L リン酸緩衝食塩液</u> <u>1000mL 中</u> <u>塩化ナトリウム</u> 37.2 g <u>リン酸二水素ナトリウム二水和物</u> 1.43 g <u>リン酸水素二ナトリウム二水和物</u> 6.02 g <u>水</u> 残 量	(新設)
付記11 <u>陽性血清</u> <u>生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合した発育鶏卵由来の鶏に製造用株を点眼接種して免疫した血清であり、発育鶏卵を用いてウイルス希釈法により中和指数を算出するとき、中和指数は 2.0 以上を示すよう血清希釈液で希釈したもの</u>	付記 1 <u>陽性血清</u> <u>生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合した発育鶏卵由来の鶏に製造用株を点眼接種して免疫した血清であり、発育鶏卵を用いてウイルス希釈法により中和指数を算出するとき、中和指数は 2.0 以上を示すよう血清希釈液で希釈したもの。</u>
付記12 <u>血清希釈液</u> <u>洗浄液（付記14）100mLにスキムミルク 1 gを溶解したもの</u>	付記 2 <u>血清希釈液</u> <u>洗浄液 100mL にスキムミルク 1 g を溶解したもの。</u>
付記13 <u>ELISA用抗原吸着プレート</u> <u>ELISA 用抗原を 0.05mol/L 炭酸重炭酸緩衝液（付記 16）で 1 mL 中</u>	付記 3 <u>ELISA用抗原吸着プレート</u>

10^{5.5}EID₅₀以上となるように25倍以上に希釈したものをプレートにそれぞれ100μLずつ加え、37℃で60分間静置し、固相化する。固相化したプレートを洗浄液で洗浄し、ブロッキング液（付記17）を300μLずつ加え、37℃で60分間反応させた後、洗浄液で<u>洗浄したもの</u> <u>付記14・付記15</u> （略） （削る） <u>付記16</u> 0.05mol/L炭酸重炭酸緩衝液 pH9.6になるように、0.05mol/L炭酸ナトリウム溶液と0.05mol/L炭酸水素ナトリウム溶液を<u>混合したもの</u> 0.05mol/L炭酸ナトリウム溶液 1,000mL中 炭酸ナトリウム 5.3 g 精製水 残 量 0.05mol/L炭酸水素ナトリウム溶液 1,000mL中 炭酸水素ナトリウム 4.2 g 精製水 残 量 <u>付記17</u> ブロッキング液 洗浄液（付記14）100mLにスキムミルク5gを<u>溶解したもの</u>	ELISA 用抗原を0.05mol/L炭酸重炭酸緩衝液（付記7）で1mL中10^{5.5}EID₅₀以上となるように25倍以上に希釈したものをプレートにそれぞれ100μLずつ加え、37℃で60分間静置し、固相化する。固相化したプレートを洗浄液で洗浄し、ブロッキング液（付記8）を300μLずつ加え、37℃で60分間反応させた後、洗浄液で<u>洗浄したもの</u>。 <u>付記4・付記5</u> （略） <u>付記6</u> <u>発色用基質液</u> <u>テトラメチルベンジジン（TMB）を用いる。</u> <u>付記7</u> 0.05mol/L炭酸重炭酸緩衝液 pH9.6になるように、0.05mol/L炭酸ナトリウム溶液と0.05mol/L炭酸水素ナトリウム溶液を<u>混合したもの</u>。 0.05mol/L炭酸ナトリウム溶液 1,000mL中 炭酸ナトリウム 5.3 g 精製水 残 量 0.05mol/L炭酸水素ナトリウム溶液 1,000mL中 炭酸水素ナトリウム 4.2 g 精製水 残 量 <u>pH9.6になるように、0.05mol/L炭酸ナトリウム溶液と0.05mol/L炭酸水素ナトリウム溶液を混合する。</u> <u>付記8</u> ブロッキング液 洗浄液100mLにスキムミルク5gを<u>溶解したもの</u>。
---	--