

事 務 連 絡
令和8年9月18日

動物医薬品検査所 御中

農林水産省消費・安全局
畜水産安全管理課課長補佐
(薬事審査管理班担当)

動物用生物学的製剤基準の一部改正等について

このことについて、別添写しのとおり各都道府県宛に通知したので、御了知
ください。



事 務 連 絡
令和 8 年 9 月 18 日

各都道府県畜産主務課 御中

農林水産省消費・安全局
畜水産安全管理課課長補佐
(薬事審査管理班担当)

動物用生物学的製剤基準の一部改正等について

今般、動物用生物学的製剤基準（平成14年農林水産省告示第1567号）及び昭和36年農林省告示第66号（医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律第43条第1項の規定に基づき、農林水産大臣の指定する医薬品を定める等の件）について別紙のとおり一部改正しました。

今回の改正内容は下記のとおりですので、参考としてください。

記

1 動物用生物学的製剤基準の一部改正

(1) 医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和35年法律第145号。以下「法」という。）第14条の4第1項に基づき、再審査が終了した動物用生物学的製剤について、製法等に係る基準を新設。

・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）
・豚繁殖・呼吸障害症候群・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）混合ワクチン（シード）

(2) 法第14条第13項に基づき、承認事項の変更承認を受ける動物用生物学的製剤について、製法等に係る基準を一部改正する。なお、ローソニア・イントラセルラリス感染症生ワクチン（シード）は既存の名称が豚増殖性腸炎生ワクチン（シード）であるが、元の製剤において馬の効能が加わることにより名称変更を受けるため、これを反映するとともに記載順序を改める。

・ローソニア・イントラセルラリス感染症生ワクチン（シード）
・豚サーコウイルス（2型・組換え型）感染症・マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症混合（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（シード）

・ニューカッスル病生ワクチン（シード）

2 医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律第43条第1項の規定に基づき、農林水産大臣の指定する医薬品を定める等の件の一部改正

(1) シードロット製剤として法第14条の4の第1項の再審査が終了した以下の動物用生物学的製剤については、検定の対象外とする。

・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）・豚繁殖・呼吸障害症候群・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）混合ワクチン（シード）

(2) 豚増殖性腸炎生ワクチン（シード）については、承認事項の変更承認を受け、名称が以下に変更されることから、告示においても名称を改める。

・ローソニア・イントラセルラリス感染症生ワクチン（シード）

3 施行期日

令和8年9月18日

○農林水産省告示第千四百五十七号

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和三十五年法律第百四十五号）
第八十三条第一項の規定により読み替えて適用される同法第四十二条第一項の規定に基づき、動物用生物学的製剤基準（平成十四年農林水産省告示第千五百六十七号）の一部を次のように改正し、公布の日から施行する。

令和八年九月十八日

農林水産大臣 籾 和生

（「次のよう」は、省略し、その関係書類を農林水産省のホームページに掲載する。）

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 年農林水産省告示第 1567 号）

次の表により、改正後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。）を加える。

改正後	改正前
ワクチン（シードロット製剤）の部 日本脳炎・ゲタウイルス感染症混合不活化ワクチン（シード） （略） <u>ローソニア・イントラセルラリス感染症生ワクチン（シード）</u> 1 <u>定義</u> <u>シードロット規格に適合したローソニア・イントラセルラリスを同規格に適合した株化細胞で増殖させて得た菌液を凍結乾燥したワクチンである。</u> 2 <u>製法</u> 2.1 <u>製造用株</u> 2.1.1 <u>名称</u> <u>ローソニア・イントラセルラリスB3903株又はこれと同等と認められた株</u> 2.1.2 <u>性状</u> <u>豚に注射しても病原性を示さず、McCoy細胞（付記 1）で増殖する。</u> 2.1.3 <u>マスターシード菌</u> 2.1.3.1 <u>作製、保存及び小分製品までの最高継代数</u> <u>マスターシード菌は、McCoy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。</u> <u>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－35℃以下で保存する。</u> <u>マスターシード菌について、3.1.1の試験を行う。</u> <u>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最高継代数は、10代以内でなければならない。</u>	ワクチン（シードロット製剤）の部 日本脳炎・ゲタウイルス感染症混合不活化ワクチン（シード） （略） （新設）

2.1.4 ワーキングシード菌

2.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、McCoy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。

ワーキングシード菌は、凍結して－35℃以下で保存する。

ワーキングシード菌について、3.1.2の試験を行う。

2.1.5 プロダクションシード菌

2.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、McCoy細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して－35℃以下で保存する。

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。

2.2 製造用材料

2.2.1 培養細胞

McCoy細胞又は製造に適当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

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－35℃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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その継代数とする。

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－35℃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。

<u>プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して－35℃以下で保存する。</u> <u>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。</u> 2.3 原液 2.3.1 ワーキングセルシード（プロダクションセルシード）の培養 <u>1 回に処理し、培養した細胞を個体別培養細胞とみなす。菌接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。</u> 2.3.2 菌の培養 <u>ワーキングシード菌（プロダクションシード菌）を2.3.1の細胞で培養し、菌が感染した細胞の割合が60%以上に達したときに個体別培養細胞ごとに採取した培養液を原液とする。</u> <u>原液について、3.3の試験を行う。</u> <u>3.3.2の生菌数試験の結果、原液の生菌数が規定の濃度に達していないときは、適当と認められた方法により濃縮を行う。</u> 2.4 最終バルク <u>原液に適当と認められた安定剤及び血清を含まない培養液を加えて濃度調整し、最終バルクとする。</u> 2.5 小分製品 <u>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。</u> <u>小分製品について、3.4の試験を行う。</u> 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 同定試験 <u>シードロット規格の1.4.2.2.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法によるものとする。</u> 3.1.1.2 夾雑菌否定試験 <u>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。</u> 3.1.1.3 マイコプラズマ否定試験 <u>一般試験法のマイコプラズマ否定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。</u> 3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験 3.1.1.4.1 共通ウイルス否定試験 <u>一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の2.1及び2.2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</u>	
--	--

合には、その試験方法によるものとする。 <u>3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験</u> <u>3.1.1.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験</u> 豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス及び馬伝染性貧血ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の3.1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には、その試験方法によるものとする。 <u>3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験</u> 豚熱ウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7及び3.2.9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には、その試験方法によるものとする。 <u>3.1.1.5 対象動物を用いた免疫原性試験</u> 一般試験法の対象動物を用いた免疫原性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。 <u>3.1.1.6 対象動物を用いた安全性確認試験</u> 一般試験法の対象動物を用いた安全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。 <u>3.1.1.7 病原性復帰確認試験</u> 一般試験法の病原性復帰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。 <u>3.1.2 ワーキングシード菌の試験</u> <u>3.1.2.1 夾雑菌否定試験</u> 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。 <u>3.1.2.2 マイコプラズマ否定試験</u> 一般試験法のマイコプラズマ否定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。 <u>3.1.2.3 生菌数試験</u> <u>3.1.2.3.1 試料</u> 検体を25ゲージ乳化用針付き注射器を用いて乳化した後、増殖用培養液（付記2）で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。陽性対照品（付記3）を同様に希釈し、各段階の希釈液を陽性対照試料とする。 <u>3.1.2.3.2 培養細胞</u> McCoy細胞を96穴プレートに培養し、20～30%単層形成したものを用いる。	
--	--

3.1.2.3.3 試験方法

試料及び陽性対照試料の100μLずつをそれぞれ6穴の培養細胞に接種する。80vol%窒素・10vol%炭酸ガス・10vol%水素の混合ガス下で、37°Cで6日間培養後、培養液を除き、冷アセトン・メタノール液（付記4）100μLを加え2分間以上固定する。

固定プレートの各穴に50μLのローソニア・イントラセルラリス特異モノクローナル抗体（付記5）を加え、5 vol%炭酸ガス下、37°Cで30分間反応させる。リン酸緩衝食塩液で洗浄後、各穴に蛍光標識抗マウスIgG抗体（付記6）50μLずつを加え、5 vol%炭酸ガス下、37°Cで30分間反応させる。水で洗浄後、水分を除去し、各穴に50μLのグリセロール液（付記7）を加え、蛍光顕微鏡下で観察する。

3.1.2.3.4 判定

細胞内又は細胞膜上に付着した5個以上の典型的な蛍光を示す細胞が1個以上認められた穴を感染とみなし、TCID₅₀を算出する。

この場合、陽性対照品は既知の生菌数±10^{0.5}TCID₅₀/mLの範囲内でなければならない。

3.1.3 プロダクションシード菌の試験

3.1.3.1 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。

3.1.3.2 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定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。

3.1.3.3 生菌数試験

3.1.2.3を準用して試験するとき、適合しなければならない。

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 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。

3.2.1.2 起源動物種同定試験

シードロット規格の2.1.4.2.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.3 無菌試験

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。

3.2.1.4 マイコプラズマ否定試験

<u>一般試験法のマイコプラズマ否定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。</u> <u>3.2.1.5 外来性ウイルス否定試験</u> <u>3.2.1.5.1 共通ウイルス否定試験</u> <u>一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2、2.1及び2.2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には、その試験方法によるものとする。</u> <u>3.2.1.5.2 特定ウイルス否定試験</u> <u>3.2.1.5.2.1 特定ウイルス否定一般試験</u> <u>豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス及び馬伝染性貧血ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の3.1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には、その試験方法によるものとする。</u> <u>3.2.1.5.2.2 個別ウイルス否定試験</u> <u>豚熱ウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7及び3.2.9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には、その試験方法によるものとする。</u> <u>3.2.1.6 核学的（染色体）性状試験</u> <u>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。</u> <u>3.2.1.7 腫瘍形成性／腫瘍原性試験</u> <u>シードロット規格の2.1.4.2.1.7を準用して試験するとき、適合しなければならない。</u> <u>3.2.2 ワーキングセルシードの試験</u> <u>3.2.2.1 培養性状試験</u> <u>シードロット規格の2.1.4.2.2.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。</u> <u>3.2.2.2 無菌試験</u> <u>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。</u> <u>3.2.2.3 マイコプラズマ否定試験</u> <u>一般試験法のマイコプラズマ否定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。</u> <u>3.2.3 プロダクションセルシードの試験</u> <u>3.2.3.1 培養性状試験</u>	
---	--

<u>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。</u> <u>3.2.3.2 無菌試験</u> <u>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。</u> <u>3.2.3.3 マイコプラズマ否定試験</u> <u>一般試験法のマイコプラズマ否定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。</u> <u>3.3 原液の試験</u> <u>3.3.1 夾雑菌否定試験</u> <u>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。</u> <u>3.3.2 生菌数試験</u> <u>3.1.2.3を準用して試験するとき、検体の生菌数は$10^{5.0}$TCID₅₀/mL以上でなければならない。また、陽性対照品の生菌数は既知の菌数の$\pm 10^{0.5}$TCID₅₀/mLの範囲内でなければならない。</u> <u>3.3.3 同定試験</u> <u>3.3.2の生菌数試験において、試料がローソニア・イントラセルラリス特異モノクローナル抗体に反応し、陰性対照に反応が認められない場合、ローソニア・イントラセルラリスと判定する。</u> <u>3.4 小分製品の試験</u> <u>3.4.1 特性試験</u> <u>一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、固有の色調を有する乾燥物でなければならない。溶解したものは、固有の色調を有する懸濁液でなければならない。異物及び異臭を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。</u> <u>3.4.2 真空度試験</u> <u>一般試験法の真空度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。</u> <u>3.4.3 含湿度試験</u> <u>一般試験法の含湿度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には、その試験方法によるものとする。</u> <u>3.4.4 夾雑菌否定試験</u> <u>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。</u> <u>3.4.5 マイコプラズマ否定試験</u>	
--	--

一般試験法のマイコプラズマ否定試験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には、その試
験方法によるものとする。

3.4.6 生菌数試験

試験品を添付の溶解用液で溶解し、3.1.2.3を準用して試験する。ただし、
試料を接種する培養細胞は、単層形成率が20～40%となったものを用いる
。試験の結果、試験品の生菌数は1頭当たり $10^{4.9} \sim 10^{6.1}$ TCID₅₀で、陽性対照
品は既知の生菌数の $\pm 10^{0.5}$ TCID₅₀/mLの範囲内でなければならない。また、
陰性対照にはローソニア・イントラセルラリスの感染が認められてはなら
ない。

3.4.7 同定試験

3.4.6の生菌数試験において、試料がローソニア・イントラセルラリス特
異モノクローナル抗体に反応し、陰性対照に反応しない場合、ローソニア
・イントラセルラリスと判定する。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後2年3か月間とする。ただし、農林水産大臣が特に
認めた場合には、その期間とする。

付記1 McCoy細胞

マウス線維芽細胞由来の株化細胞

付記2 増殖用培養液

1,000mL中

ダルベッコ変法イーグル培地／ハムF12（付記8） 12.0 g

重炭酸ナトリウム 2.44 g

水 残 量

ダルベッコ変法イーグル培地／ハムF12を適量の水で溶解した後、重
炭酸ナトリウムを加える。pHを6.8～7.2に調整後、水を加えて1,000mL
とし、ろ過滅菌する。その後、非働化していない滅菌済みの新生子牛
血清又は牛胎子血清20～100mLを無菌的に加える。

付記3 陽性対照品

ローソニア・イントラセルラリスN343株の培養菌液を凍結したもの
で、生菌数試験の精度管理用として用いる。

付記4 冷アセトン・メタノール液

アセトン1容にメタノール2容を混合した液で、－30～－10℃で保

<u>存したもの</u> 付記5 <u>ローソニア・イントラセルラリス特異モノクローナル抗体</u> <u>ローソニア・イントラセルラリスの27kDaの外膜蛋白を特異的に認識するモノクローナル抗体</u> 付記6 <u>蛍光標識抗マウスIgG抗体</u> <u>ヤギ抗マウス免疫グロブリン血清からγ-グロブリンを調製し、これを蛍光色素で標識したもの</u> 付記7 <u>グリセロール液</u> <u>グリセリン1容に水2容を混合した液で、室温で保存する。</u> 付記8 <u>ダルベッコ変法イーグル培地／ハムF12</u> <u>適当と認められた品質の乾燥品</u>	
--	--

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部分を削る。

改正後	改正前
ワクチン（シードロット製剤）の部 (削る)	ワクチン（シードロット製剤）の部 <u>豚増殖性腸炎生ワクチン（シード）</u> 1 <u>定義</u> シードロット規格に適合したローソニア・イントラセルラリスを同規格に適合した株化細胞で増殖させて得た菌液を凍結乾燥したワクチンである。 2 <u>製法</u> 2.1 <u>製造用株</u> 2.1.1 <u>名称</u> ローソニア・イントラセルラリスB3903株又はこれと同等と認められた株 2.1.2 <u>性状</u> 豚に注射しても病原性を示さず、McCoy細胞（付記 1）で増殖する。 2.1.3 <u>マスターシード菌</u> 2.1.3.1 <u>作製、保存及び小分製品までの最高継代数</u> マスターシード菌は、McCoy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菌は、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最高継代数は、10代以内でなければならない。 2.1.4 <u>ワーキングシード菌</u> 2.1.4.1 <u>増殖、継代及び保存</u> ワーキングシード菌は、McCoy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。 ワーキングシード菌は、凍結して－35℃以下で保存する。 ワーキングシード菌について、3.1.2の試験を行う。 2.1.5 <u>プロダクションシード菌</u>

	<u>2.1.5.1 増殖及び保存</u> <u>プロダクションシード菌は、McCoy細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖させる。</u> <u>プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して－35℃以下で保存する。</u> <u>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。</u> <u>2.2 製造用材料</u> <u>2.2.1 培養細胞</u> <u>McCoy細胞又は製造に適当と認められた培養細胞を用いる。</u> <u>2.2.2 培養液</u> <u>製造に適当と認められた培養液を用いる。</u> <u>2.2.3 マスターセルシード</u> <u>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</u> <u>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。</u> <u>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－35℃以下で保存する。</u> <u>マスターセルシードについて、3.2.1の試験を行う。</u> <u>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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その継代数以内とする。</u> <u>2.2.4 ワーキングセルシード</u> <u>2.2.4.1 増殖、継代及び保存</u> <u>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。</u> <u>ワーキングセルシードは凍結して－35℃以下で保存する。</u> <u>ワーキングセルシードについて、3.2.2の試験を行う。</u> <u>2.2.5 プロダクションセルシード</u> <u>2.2.5.1 増殖及び保存</u> <u>プロダクションセルシードは、2.2.2の培養液で増殖する。</u> <u>プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して－35℃以下で保存する。</u> <u>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。</u> <u>2.3 原液</u> <u>2.3.1 ワーキングセルシード（プロダクションセルシード）の培養</u> <u>1回に処理し、培養した細胞を個体別培養細胞とみなす。菌接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。</u>
--	--

	<u>2.3.2 菌の培養</u> <u>ワーキングシード菌（プロダクションシード菌）を2.3.1の細胞で培養し、菌が感染した細胞の割合が60%以上に達したときに個体別培養細胞ごとに採取した培養液を原液とする。</u> <u>原液について、3.3の試験を行う。</u> <u>3.3.2の生菌数試験の結果、原液の生菌数が規定の濃度に達していないときは、適当と認められた方法により濃縮を行う。</u> <u>2.4 最終バルク</u> <u>原液に適当と認められた安定剤、及び血清を含まない培養液を加えて濃度調整し、最終バルクとする。</u> <u>2.5 小分製品</u> <u>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。</u> <u>小分製品について、3.4の試験を行う。</u> <u>3 試験法</u> <u>3.1 製造用株の試験</u> <u>3.1.1 マスターシード菌の試験</u> <u>3.1.1.1 同定試験</u> <u>シードロット規格の1.4.2.2.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法によるものとする。</u> <u>3.1.1.2 夾雑菌否定試験</u> <u>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。</u> <u>3.1.1.3 マイコプラズマ否定試験</u> <u>一般試験法のマイコプラズマ否定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。</u> <u>3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験</u> <u>3.1.1.4.1 共通ウイルス否定試験</u> <u>一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の2.1及び2.2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には、その試験法によるものとする。</u> <u>3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験</u> <u>3.1.1.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験</u> <u>豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス及びリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の3.1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には、その試験法によるものとする。</u>
--	---

	<u>3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験</u> <u>豚熱ウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7及び3.2.9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には、その試験法によるものとする。</u> <u>3.1.1.5 対象動物を用いた免疫原性試験</u> <u>一般試験法の対象動物を用いた免疫原性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。</u> <u>3.1.1.6 対象動物を用いた安全性確認試験</u> <u>一般試験法の対象動物を用いた安全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。</u> <u>3.1.1.7 病原性復帰確認試験</u> <u>一般試験法の病原性復帰確認試験を準用して試験するとき、適合しなければならない。</u> <u>3.1.2 ワーキングシード菌の試験</u> <u>3.1.2.1 夾雑菌否定試験</u> <u>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。</u> <u>3.1.2.2 マイコプラズマ否定試験</u> <u>一般試験法のマイコプラズマ否定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。</u> <u>3.1.2.3 生菌数試験</u> <u>3.1.2.3.1 試料</u> <u>検体を25ゲージ乳化用針付き注射器を用いて乳化した後、増殖用培養液（付記2）で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。陽性対照品（付記3）を同様に希釈し、各段階の希釈液を陽性対照試料とする。</u> <u>3.1.2.3.2 培養細胞</u> <u>McCoy細胞を96穴プレートに培養し、20～30%単層形成したものをを用いる。</u> <u>3.1.2.3.3 試験方法</u> <u>試料及び陽性対照試料の100μLずつをそれぞれ6穴の培養細胞に接種する。80vol%窒素・10vol%炭酸ガス・10vol%水素の混合ガス下で、37℃で6日間培養後、培養液を除き、冷アセトン・メタノール液（付記4）100μLを加え2分間以上固定する。</u> <u>固定プレートの各穴に50μLのローソニア・イントラセルラリス特異モノクローナル抗体（付記5）を加え、5 vol%炭酸ガス下、37℃で30分間反応</u>
--	---

	させる。リン酸緩衝食塩液で洗浄後、各穴に蛍光標識抗マウスIgG抗体（付記6）50μLずつを加え、5 vol%炭酸ガス下、37℃で30分間反応させる。水で洗浄後、水分を除去し、各穴に50μLのグリセロール液（付記7）を加え、蛍光顕微鏡下で観察する。 3.1.2.3.4 判定 細胞内又は細胞膜上に付着した5個以上の典型的な蛍光を示す細胞が1個以上認められた穴を感染とみなし、TCID₅₀を算出する。 この場合、陽性対照品は既知の生菌数±10^{0.5}TCID₅₀/mLの範囲内でなければならない。 3.1.3 プロダクションシード菌の試験 3.1.3.1 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。 3.1.3.2 マイコプラズマ否定試験 一般試験法のマイコプラズマ否定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。 3.1.3.3 生菌数試験 3.1.2.3を準用して試験するとき、適合しなければならない。 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 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。 3.2.1.2 起源動物種同定試験 シードロット規格の2.1.4.2.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。 3.2.1.3 無菌試験 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。 3.2.1.4 マイコプラズマ否定試験 一般試験法のマイコプラズマ否定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。 3.2.1.5 外来性ウイルス否定試験 3.2.1.5.1 共通ウイルス否定試験 一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2、2.1及び2.2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には、その試験法によるものとする。
--	--

	<u>3.2.1.5.2 特定ウイルス否定試験</u> <u>3.2.1.5.2.1 特定ウイルス否定一般試験</u> <u>豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス及びリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の3.1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には、その試験法によるものとする。</u> <u>3.2.1.5.2.2 個別ウイルス否定試験</u> <u>豚熱ウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7及び3.2.9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には、その試験法によるものとする。</u> <u>3.2.1.6 核学的（染色体）性状試験</u> <u>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。</u> <u>3.2.2 ワーキングセルシードの試験</u> <u>3.2.2.1 培養性状試験</u> <u>シードロット規格の2.1.4.2.2.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。</u> <u>3.2.2.2 無菌試験</u> <u>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。</u> <u>3.2.2.3 マイコプラズマ否定試験</u> <u>一般試験法のマイコプラズマ否定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。</u> <u>3.2.3 プロダクションセルシードの試験</u> <u>3.2.3.1 培養性状試験</u> <u>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。</u> <u>3.2.3.2 無菌試験</u> <u>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。</u> <u>3.2.3.3 マイコプラズマ否定試験</u> <u>一般試験法のマイコプラズマ否定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。</u> <u>3.3 原液の試験</u> <u>3.3.1 夾雑菌否定試験</u>
--	---

	<u>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。</u> 3.3.2 生菌数試験 <u>3.1.2.3を準用して試験するとき、検体の生菌数は$10^{5.0}$TCID₅₀/mL以上でなければならない。また、陽性対照品の生菌数は既知の菌数の$\pm 10^{0.5}$TCID₅₀/mLの範囲内でなければならない。</u> 3.3.3 同定試験 <u>3.3.2の生菌数試験において、試料がローソニア・イントラセルラリス特異モノクローナル抗体に反応し、陰性対照に反応が認められない場合、ローソニア・イントラセルラリスと判定する。</u> 3.4 小分製品の試験 3.4.1 特性試験 <u>一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、固有の色調を有する乾燥物でなければならない。溶解したものは、固有の色調を有する懸濁液でなければならない。異物及び異臭を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。</u> 3.4.2 真空度試験 <u>一般試験法の真空度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。</u> 3.4.3 含湿度試験 <u>一般試験法の含湿度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には、その試験法とする。</u> 3.4.4 夾雑菌否定試験 <u>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。</u> 3.4.5 マイコプラズマ否定試験 <u>一般試験法のマイコプラズマ否定試験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には、その試験法とする。</u> 3.4.6 生菌数試験 <u>試験品を添付の溶解用液で溶解し、3.1.2.3を準用して試験する。ただし、試料を接種する培養細胞は、単層形成率が20～40%となったものを用いる。試験の結果、試験品の生菌数は1頭当たり$10^{4.9} \sim 10^{6.1}$TCID₅₀で、陽性対照品は既知の生菌数の$\pm 10^{0.5}$TCID₅₀/mLの範囲内でなければならない。また、陰性対照にはローソニア・イントラセルラリスの感染が認められてはならない。</u>
--	---

	<u>3.4.7 同定試験</u> <u>3.4.6の生菌数試験において、試料がローソニア・イントラセルラリス特異モノクローナル抗体に反応し、陰性対照に反応しない場合、ローソニア・イントラセルラリスと判定する。</u> <u>4 貯法及び有効期間</u> <u>有効期間は、製造後2年3か月間とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その期間とする。</u> <u>付記1 McCoy細胞</u> <u>マウス線維芽細胞由来の株化細胞</u> <u>付記2 増殖用培養液</u> <u>1,000mL中</u> <u>ダルベッコ変法イーグル培地／ハムF12（付記8） 12 g</u> <u>重炭酸ナトリウム 2.44 g</u> <u>水 残 量</u> <u>ダルベッコ変法イーグル培地／ハムF12を適量の水で溶解した後、重炭酸ナトリウムを加える。pHを6.8～7.2に調整後、水を加えて1,000mLとし、ろ過滅菌する。その後、非働化していない滅菌済みの新生子牛血清又は牛胎子血清20～100mLを無菌的に加える。</u> <u>付記3 陽性対照品</u> <u>ローソニア・イントラセルラリスN343株の培養菌液を凍結したもので、生菌数試験の精度の精度管理用として用いる。</u> <u>付記4 冷アセトン・メタノール液</u> <u>アセトン1容にメタノール2容を混合した液で、－30～－10℃で保存したもの</u> <u>付記5 ローソニア・イントラセルラリス特異モノクローナル抗体</u> <u>ローソニア・イントラセルラリスの27kDaの外膜蛋白を特異的に認識するモノクローナル抗体</u> <u>付記6 蛍光標識抗マウスIgG抗体</u> <u>ヤギ抗マウス免疫グロブリン血清からγ-グロブリンを調製し、これを蛍光色素で標識したもの</u>
--	---

	<u>付記 7</u> <u>グリセロール液</u> <u>グリセリン 1 容に水 2 容を混合した液で、室温で保存する。</u> <u>付記 8</u> <u>ダルベッコ変法イーグル培地／ハムF12</u> <u>適当と認められた品質の乾燥品</u>
--	--

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 豚サーコウイルス（2型・組換え型）感染症・マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症混合（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（シード） 1 定義 シードロット規格に適合した組換え豚サーコウイルス 2 型オープンリーディングフレーム 2（以下この項において「PCV2ORF2」という。）遺伝子挿入バキュロウイルスを同規格に適合した培養細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化し、カルボキシビニルポリマーアジュバントを添加したワクチン（以下この項において「PCV2ワクチン」という。）と同規格に適合したマイコプラズマ・ハイオニューモニエの培養菌液を不活化し、カルボキシビニルポリマーアジュバントを添加したワクチン（以下この項において「Mhpワクチン」という。）を使用時に混合するワクチンである。 2 製法 2.1 製造用株 2.1.1 PCV2ORF2 遺伝子挿入バキュロウイルス 2.1.1.1 （略） 2.1.1.2 性状 バキュロウイルスに感受性のある培養細胞で CPE を伴って増殖する。<u>PCV2ORF2 抗原</u>を発現する。 2.1.1.3～2.1.1.5 （略） 2.1.2 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ 2.1.2.1・2.1.2.2 （略） 2.1.2.3 マスターシード菌 2.1.2.3.1 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、<u>適当と認められた液状培地</u>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。	ワクチン（シードロット製剤）の部 豚サーコウイルス（2型・組換え型）感染症・マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症混合（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（シード） 1 定義 シードロット規格に適合した組換え豚サーコウイルス 2 型オープンリーディングフレーム 2（以下この項において「PCV2ORF2」という。）遺伝子挿入バキュロウイルスを同規格に適合した培養細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化し、カルボキシビニルポリマーアジュバントを添加したワクチン（以下この項において「PCV2ワクチン」という。）と<u>シードロット規格</u>に適合したマイコプラズマ・ハイオニューモニエの培養菌液を不活化し、カルボキシビニルポリマーアジュバントを添加したワクチン（以下この項において「Mhpワクチン」という。）を使用時に混合するワクチンである。 2 製法 2.1 製造用株 2.1.1 PCV2ORF2 遺伝子挿入バキュロウイルス 2.1.1.1 （略） 2.1.1.2 性状 バキュロウイルスに感受性のある培養細胞で CPE を伴って増殖する。<u>PCV2ORF2 たん白抗原</u>を発現する。 2.1.1.3～2.1.1.5 （略） 2.1.2 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ 2.1.2.1・2.1.2.2 （略） 2.1.2.3 マスターシード菌 2.1.2.3.1 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、<u>適当と認められた液状培地</u>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菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して－40℃以下で保存する。 マスターシード菌について、3.1.4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最高継代数は、<u>10代以内</u>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。 2.1.2.4・2.1.2.5 (略) 2.2 (略) 2.3 原液 2.3.1 PCV2ORF2遺伝子挿入バキュロウイルス原液 2.3.1.1 プロダクションセルシードの培養 1回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の<u>個別培養細胞</u>に異常を認めてはならない。 2.3.1.2 (略) 2.3.1.3 不活化 ウイルス培養液をろ過し、農林水産大臣が<u>適当と認めた</u>不活化剤を加えて攪拌し不活化した後に、中和剤を加えて中和し、必要に応じて濃縮したものを原液とする。 原液について、3.4の試験を行う。 2.3.1.4 (略) 2.3.2 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ原液 2.3.2.1 (略) 2.3.2.2 不活化 培養菌液に農林水産大臣が<u>適当と認めた</u>不活化剤を加えて不活化したものを不活化菌液とする。 2.3.2.3 原液 適当と認められた方法で不活化剤を中和し、必要に応じて濃縮したものを原液とする。 原液について、3.6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 共通ウイルス否定試験	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－40℃以下で保存する。 マスターシード菌について、3.1.4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最高継代数は、<u>12代以内</u>でなければならない。 2.1.2.4・2.1.2.5 (略) 2.2 (略) 2.3 原液 2.3.1 PCV2ORF2遺伝子挿入バキュロウイルス原液 2.3.1.1 プロダクションセルシードの培養 1回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の<u>培養細胞</u>に異常を認めてはならない。 2.3.1.2 (略) 2.3.1.3 不活化 ウイルス培養液をろ過し、<u>製剤ごとに</u>農林水産大臣が<u>適当と認めた</u>不活化剤を加えて攪拌し不活化した後に、中和剤を加えて中和し、必要に応じて濃縮したものを原液とする。 原液について、3.4の試験を行う。 2.3.1.4 (略) 2.3.2 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ原液 2.3.2.1 (略) 2.3.2.2 不活化 培養菌液に<u>適当と認められた</u>不活化剤を加えて不活化したものを不活化菌液とする。 2.3.2.3 原液 適当と認められた方法で不活化剤を中和し、必要に応じて濃縮したものを原液とする。 原液について、3.6の試験を行う。<u>ただし、濃縮前に保存する場合は、保存前の原液について3.6.1及び3.6.3の試験を行う。</u> 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 共通ウイルス否定試験
--	---

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、2.1及び2.2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には、その<u>試験方法</u>によるものとする。 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 豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスについて、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には、その<u>試験方法</u>によるものとする。 3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験 豚熱ウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7及び3.2.9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には、その<u>試験方法</u>によるものとする。 3.1.1.5 (略) 3.1.2・3.1.3 (略) 3.1.4 マスターシード菌の試験 3.1.4.1 (略) 3.1.4.2 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には、その<u>試験方法</u>によるものとする。 3.1.5 ワーキングシード菌の試験 3.1.5.1 夾雑菌否定試験 <u>一般試験法の無菌試験法</u>を準用して試験するとき、適合しなければならない。 3.1.6 プロダクションシード菌の試験 3.1.6.1 夾雑菌否定試験 <u>一般試験法の無菌試験法</u>を準用して試験するとき、適合しなければならない。 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 共通ウイルス否定試験 一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2、2.1及び2.2を準用して試験す	一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、2.1及び2.2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には、その<u>試験法</u>とする。 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 豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスについて、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には、その<u>試験法</u>とする。 3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験 豚熱ウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7及び3.2.9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には、その<u>試験法</u>とする。 3.1.1.5 (略) 3.1.2・3.1.3 (略) 3.1.4 マスターシード菌の試験 3.1.4.1 (略) 3.1.4.2 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には、その<u>試験法</u>とする。 3.1.5 ワーキングシード菌の試験 3.1.5.1 夾雑菌否定試験 <u>3.1.4.2</u>を準用して試験するとき、適合しなければならない。 3.1.6 プロダクションシード菌の試験 3.1.6.1 夾雑菌否定試験 <u>3.1.4.2</u>を準用して試験するとき、適合しなければならない。 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 共通ウイルス否定試験 一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2、2.1及び2.2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には、その<u>試験方法</u>によるものとする。 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には、その<u>試験方法</u>によるものとする。 3.2.1.5.2.2 個別ウイルス否定試験 豚熱ウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7及び3.2.9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には、その<u>試験方法</u>によるものとする。 3.2.1.6・3.2.1.7 (略) 3.2.2・3.2.3 (略) 3.3 (略) 3.4 PCV2ORF2遺伝子挿入バキュロウイルス原液の試験 3.4.1 無菌試験 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には、その<u>試験方法</u>によるものとする。 3.4.2 (略) 3.4.3 抗原定量試験 3.4.3.1 試験材料 検体、参照抗原 1（付記 2）、陰性対照抗原（付記 3）、陽性対照抗原 1（付記 4）、<u>抗PCV2ORF2抗原豚IgG</u>（付記 5）、<u>抗PCV2ORF2抗原モノクローナル抗体</u>（付記 6）及び酵素標識抗体（付記 7）を用いる。 3.4.3.2 試験方法 3.4.3.2.1 (略) 3.4.3.2.2 反応 <u>抗PCV2ORF2抗原豚IgG</u>を固相したプレートを用いる。固相プレートにブロッキング緩衝液（付記 9）を250μLずつ加え、35～39℃で約60分間反応させた後、洗浄・希釈液で洗浄する。各試料100μLずつをプレートの 3 穴に加え、35～39℃で約60分間反応させる。反応後、プレートを洗浄液で洗浄する。洗浄・希釈液で300倍に希釈した<u>抗PCV2ORF2抗原モノクローナル抗体</u>を各穴に100μLずつ分注し、35～39℃で約60分間反応させる。反応後、各穴	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には、その<u>試験法</u>とする。 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には、その<u>試験法</u>とする。 3.2.1.5.2.2 個別ウイルス否定試験 豚熱ウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7及び3.2.9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には、その<u>試験法</u>とする。 3.2.1.6・3.2.1.7 (略) 3.2.2・3.2.3 (略) 3.3 (略) 3.4 PCV2ORF2遺伝子挿入バキュロウイルス原液の試験 3.4.1 無菌試験 一般試験法の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。 3.4.2 (略) 3.4.3 抗原定量試験 3.4.3.1 試験材料 検体、参照抗原 1（付記 2）、陰性対照抗原（付記 3）、陽性対照抗原 1（付記 4）、<u>抗PCV2ORF2豚IgG</u>（付記 5）、<u>抗PCV2ORF2モノクローナル抗体</u>（付記 6）及び酵素標識抗体（付記 7）を用いる。 3.4.3.2 試験方法 3.4.3.2.1 (略) 3.4.3.2.2 反応 <u>抗PCV2ORF2豚IgG</u>を固相したプレートを用いる。固相プレートにブロッキング緩衝液（付記 9）を250μLずつ加え、35～39℃で約60分間反応させた後、洗浄・希釈液で洗浄する。各試料100μLずつをプレートの 3 穴に加え、35～39℃で約60分間反応させる。反応後、プレートを洗浄液で洗浄する。洗浄・希釈液で300倍に希釈した<u>抗PCV2ORF2モノクローナル抗体</u>を各穴に100μLずつ分注し、35～39℃で約60分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・
---	--

を洗浄・希釈液で洗浄する。1 vol% 兔血清加希釈用緩衝液（付記10）で5,000～20,000倍に希釈した酵素標識抗体を各穴に100μLずつ分注し、35～39℃で約45分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・希釈液で洗浄する。基質液（付記11）を100μL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100μLずつ各穴に分注し、反応を停止させる。 3.4.3.2.3 （略） 3.4.3.3 （略） 3.5 （略） 3.6 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ原液の試験 3.6.1 無菌試験 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には、その<u>試験方法</u>によるものとする。 3.6.2 （略） 3.6.3 抗原定量試験 3.6.3.1 試験材料 （略） 3.6.3.1.1 （略） 3.6.3.2 （略） 3.6.3.3 （略） 3.7 小分製品の試験 3.7.1・3.7.2 （略） 3.7.3 無菌試験 <u>PCV2ワクチン及びMhpワクチンそれぞれについて</u>、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。 3.7.4 抗原定量試験 3.7.4.1 豚サーコウイルス 2 型感染症抗原定量試験 3.7.4.1.1 試験材料 <u>PCV2ワクチン、参照抗原 2（付記21）、陰性対照抗原、陽性対照抗原 2（付記22）、抗PCV2ORF2抗原豚IgG、抗PCV2ORF2抗原モノクローナル抗体及び酵素標識抗体を用いる。</u> 3.7.4.1.2 試験方法 3.7.4.1.2.1 （略） 3.7.4.1.2.2 反応 <u>抗PCV2ORF2抗原豚IgG</u>を固相したプレートを用いる。固相プレートにブロッキング緩衝液を250μLずつ加え、35～39℃で約60分間反応させた後、洗浄・希釈液で洗浄する。各試料100μLずつをプレートの 3 穴に加え、35～39℃で約60分間反応させる。反応後、プレートを洗浄液で洗浄する。洗浄・	希釈液で洗浄する。1 vol% 兔血清加希釈用緩衝液（付記10）で5,000～20,000倍に希釈した酵素標識抗体を各穴に100μLずつ分注し、35～39℃で約45分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・希釈液で洗浄する。基質液（付記11）を100μL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100μLずつ各穴に分注し、反応を停止させる。 3.4.3.2.3 （略） 3.4.3.3 （略） 3.5 （略） 3.6 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ原液の試験 3.6.1 無菌試験 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には、その<u>試験法</u>とする。 3.6.2 （略） 3.6.3 抗原定量試験 3.6.3.1 試験材料 （略） 3.6.3.2 （略） 3.6.3.3 （略） 3.6.3.4 （略） 3.7 小分製品の試験 3.7.1・3.7.2 （略） 3.7.3 無菌試験 <u>混合ワクチンについて</u>、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。 3.7.4 抗原定量試験 3.7.4.1 豚サーコウイルス 2 型感染症抗原定量試験 3.7.4.1.1 試験材料 <u>PCV2ワクチン、参照抗原 2（付記21）、陰性対照抗原、陽性対照抗原 2（付記22）、抗PCV2ORF2豚IgG、抗PCV2ORF2モノクローナル抗体及び酵素標識抗体を用いる。</u> 3.7.4.1.2 試験方法 3.7.4.1.2.1 （略） 3.7.4.1.2.2 反応 <u>抗PCV2ORF2豚IgG</u>を固相したプレートを用いる。固相プレートにブロッキング緩衝液を250μLずつ加え、35～39℃で約60分間反応させた後、洗浄・希釈液で洗浄する。各試料100μLずつをプレートの 3 穴に加え、35～39℃で約60分間反応させる。反応後、プレートを洗浄液で洗浄する。洗浄・希釈
---	--

希釈液で300倍に希釈した抗PCV2ORF2抗原モノクローナル抗体を各穴に100μLずつ分注し、35～39℃で約60分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・希釈液で洗浄する。1 vol% 兎血清加希釈用緩衝液で5,000～20,000倍に希釈した酵素標識抗体を各穴に100μLずつ分注し、35～39℃で約45分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・希釈液で洗浄する。基質液を100μL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100μLずつ各穴に分注し、反応を停止させる。 3.7.4.1.2.3 (略) 3.7.4.1.3 判定 参照抗原2の力価を1.0として、PCV2ワクチンの相対力価を統計学的計算方法により算出する。このとき、PCV2ワクチンの相対力価は、1.0～3.75でなければならない。また、陽性対照抗原2の480倍希釈液の平均吸光度は0.988～2.500であり、陰性対照抗原の30倍希釈液の平均吸光度は0.124以下でなければならない。 3.7.4.2 (略) 3.7.5・3.7.6 (略) 4 (略) 付記1～付記4 (略) 付記5 <u>抗PCV2ORF2抗原豚IgG</u> ワクチンで免疫したCDCD(帝王切開由来初乳未摂取)豚血清から精製した抗PCV2ORF2抗原豚IgGであって、間接蛍光抗体価が1,500倍以上のもの。 吸着用緩衝液(付記29)で希釈して用いる。 付記6 <u>抗PCV2ORF2抗原モノクローナル抗体</u> PCV2ORF2抗原に特異的なモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞の培養上清 付記7～付記11 (略) 付記12 統計学的計算方法 農林水産大臣が適当と認めたもの 付記13 参照品 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ不活化抗原と同じ製造方法に	液で300倍に希釈した抗PCV2ORF2モノクローナル抗体を各穴に100μLずつ分注し、35～39℃で約60分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・希釈液で洗浄する。1 vol% 兎血清加希釈用緩衝液で5,000～20,000倍に希釈した酵素標識抗体を各穴に100μLずつ分注し、35～39℃で約45分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・希釈液で洗浄する。基質液を100μL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100μLずつ各穴に分注し、反応を停止させる。 3.7.4.1.2.3 (略) 3.7.4.1.3 判定 参照抗原2の力価を1.0として、PCV2ワクチンの相対力価を統計学的計算方法により算出する。このとき、PCV2ワクチンの相対力価は、1.0～3.75でなければならない。また、陽性対照抗原2の480倍希釈液の平均吸光度は0.988～2.500であり、陰性対照抗原の30倍希釈液の平均吸光度は0.124下でなければならない。 3.7.4.2 (略) 3.7.5・3.7.6 (略) 4 (略) 付記1～付記4 (略) 付記5 <u>抗PCV2ORF2豚IgG</u> ワクチンで免疫したCDCD(帝王切開由来初乳未摂取)豚血清から精製した抗PCV2ORF2豚IgGであって、間接蛍光抗体価が1,500倍以上のもの。 吸着用緩衝液(付記29)で希釈して用いる。 付記6 <u>抗PCV2ORF2モノクローナル抗体</u> PCV2ORF2に特異的なモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞の培養上清 付記7～付記11 (略) 付記12 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13 参照品 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ不活化抗原と同じ製造方法に
--	---

より製造されたワクチンで、豚での攻撃試験により有効性が確認されたもので相対力価が約1.0のもの。参照品が更新される際には、同じ製造方法により製造され、相対力価が1.0になるように調整した後、豚での攻撃試験で現行参照品と同等の有効性が担保されなければならない。 付記14～付記22 （略） 付記23 固相化抗原 1 適当と認められたクロマトグラフィーによって精製したPCV2ORF2 抗原画分 付記24～付記31 （略） <u>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）・豚繁殖・呼吸障害症候群・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）混合ワクチン（シード）</u> 1 定義 シードロット規格に適合した組換え豚サーコウイルス2型オープンリーディングフレーム2（以下この項において「PCV2ORF2」という。）遺伝子挿入バキュロウイルスを同規格に適合した培養細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化し、カルボキシビニルポリマーアジュバントを添加したワクチン（以下この項において「PCV2ワクチン」という。）、同規格に適合した弱毒豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスを同規格に適合した培養細胞で増殖させて得たウイルス液を凍結乾燥したワクチン（以下この項において「PRRSワクチン」という。）及び同規格に適合したマイコプラズマ・ハイオニューモニエの培養菌液を不活化し、カルボキシビニルポリマーアジュバントを添加したワクチン（以下この項において「Mhpワクチン」という。）を使用時に混合するワクチンである。 2 製法 2.1 製造用株	より製造されたワクチンで、豚での攻撃試験により有効性が確認されたもので相対力価が約1.0のもの。参照品が更新される際には、同じ製造方法により製造され、相対力価が1.0になるように調整した後、豚での攻撃試験で現行参照品と同等の有効性が担保されなければならない。 付記14～付記22 （略） 付記23 固相化抗原 1 適当と認められたクロマトグラフィーによって精製したPCV2ORF2 画分 付記24～付記31 （略） （新設）
--	---

2.1.1 PCV2ORF2遺伝子挿入バキュロウイルス

2.1.1.1 名称

PCV2ORF2遺伝子挿入オートグラフア核多角体ウイルス (AcNPV) N120-058W株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

バキュロウイルスに感受性のある培養細胞でCPEを伴って増殖する。
PCV2ORF2抗原を発現する。

2.1.1.3 マスターシードウイルス

2.1.1.3.1 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、Sf細胞（付記1）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℃以下又は凍結乾燥して5℃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。

2.1.1.4 ワーキングシードウイルス

2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、Sf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℃以下又は凍結乾燥して5℃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。

2.1.1.5 プロダクションシードウイルス

2.1.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、Sf細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖させる。

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℃以下又は凍結乾燥して5℃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。

2.1.2 豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス

2.1.2.1 名称

豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスJJ1882株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 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>	
<u>2.1.2.3 マスターシードウイルス</u>	
<u>2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数</u>	
<u>マスターシードウイルスは、MA-104細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。</u>	
<u>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。</u>	
<u>マスターシードウイルスについて、3.1.1の試験を行う。</u>	
<u>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。</u>	
<u>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。</u>	
<u>2.1.2.4 ワーキングシードウイルス</u>	
<u>2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存</u>	
<u>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。</u>	
<u>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。</u>	
<u>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。</u>	
<u>2.1.2.5 プロダクションシードウイルス</u>	
<u>2.1.2.5.1 増殖及び保存</u>	
<u>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。</u>	
<u>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℃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。</u>	
<u>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。</u>	
<u>2.1.3 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ</u>	
<u>2.1.3.1 名称</u>	
<u>マイコプラズマ・ハイオニューモニエJ株B-3745又はこれと同等と認められた株</u>	
<u>2.1.3.2 性状</u>	
<u>マイコプラズマ・ハイオニューモニエ基準株に一致する生物学的性状を示す。</u>	
<u>2.1.3.3 マスターシード菌</u>	
<u>2.1.3.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数</u>	

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、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菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して－40℃以下で保存する。

マスターシード菌について、3.1.4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最高継代数は、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。

2.1.3.4 ワーキングシード菌

2.1.3.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、適当と認められた液状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－40℃以下で保存する。

ワーキングシード菌について、3.1.5の試験を行う。

2.1.3.5 プロダクションシード菌

2.1.3.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、適当と認められた液状培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して－40℃以下で保存する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.6の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 PCV2ORF2遺伝子挿入バキュロウイルス

2.2.1.1 培養細胞

Sf細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.1.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

2.2.1.3 マスターセルシード

2.2.1.3.1 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、2.2.1.2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℃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

<u>、20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。</u> <u>2.2.1.4 ワーキングセルシード</u> <u>2.2.1.4.1 増殖、継代及び保存</u> <u>ワーキングセルシードは、2.2.1.2の培養液で増殖及び継代する。</u> <u>ワーキングセルシードは、凍結して－70℃以下で保存する。</u> <u>ワーキングセルシードについて、3.2.2の試験を行う。</u> <u>2.2.1.5 プロダクションセルシード</u> <u>2.2.1.5.1 増殖及び保存</u> <u>プロダクションセルシードは、2.2.1.2の培養液で増殖させる。</u> <u>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℃以下で保存する。</u> <u>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。</u> <u>2.2.2 豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス</u> <u>2.2.2.1 培養細胞</u> <u>MA-104細胞又は製造に相当と認められた株化細胞を用いる。</u> <u>2.2.2.2 培養液</u> <u>製造に相当と認められた培養液を用いる。</u> <u>2.2.2.3 マスターセルシード</u> <u>2.2.2.3.1 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</u> <u>マスターセルシードは、2.2.2.2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。</u> <u>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℃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。</u> <u>マスターセルシードについて、3.2.1の試験を行う。</u> <u>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。</u> <u>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。</u> <u>2.2.2.4 ワーキングセルシード</u> <u>2.2.2.4.1 増殖、継代及び保存</u> <u>ワーキングセルシードは、2.2.2.2の培養液で増殖及び継代する。</u> <u>ワーキングセルシードは、凍結して－70℃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。</u> <u>ワーキングセルシードについて、3.2.2の試験を行う。</u> <u>2.2.2.5 プロダクションセルシード</u>	
--	--

<u>2.2.2.5.1 増殖及び保存</u> <u>プロダクションセルシードは、2.2.2.2の培養液で増殖させる。</u> <u>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℃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。</u> <u>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。</u> <u>2.2.3 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ</u> <u>2.2.3.1 培地</u> <u>製造に相当と認められた液状培地を用いる。</u> <u>2.3 原液</u> <u>2.3.1 PCV2ORF2遺伝子挿入バキュロウイルス原液</u> <u>2.3.1.1 プロダクションセルシードの培養</u> <u>1 回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の個別培養細胞に異常を認めてはならない。</u> <u>2.3.1.2 ウイルスの培養</u> <u>プロダクションシードウイルスを2.3.1.1の細胞で培養し、ウイルスの増殖極期に個別培養細胞ごとに採取した培養液をウイルス培養液とする。</u> <u>ウイルス培養液について、3.3の試験を行う。</u> <u>2.3.1.3 不活化</u> <u>ウイルス培養液をろ過し、農林水産大臣が相当と認めた不活化剤を加えて攪拌し不活化した後に、中和剤を加えて中和し、必要に応じて濃縮したものを原液とする。</u> <u>原液について、3.4の試験を行う。</u> <u>2.3.1.4 原液の調製</u> <u>原液を混合し、混合原液とする場合がある。</u> <u>混合原液について、3.4.2の試験を行う。</u> <u>2.3.2 豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス原液</u> <u>2.3.2.1 プロダクションセルシードの培養</u> <u>1 回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の個別培養細胞に異常を認めてはならない。</u> <u>2.3.2.2 ウイルスの培養</u> <u>プロダクションシードウイルスを2.3.2.1の細胞で培養し、相当と認められた時期に個別培養細胞ごとに採取し、必要に応じてろ過及び濃縮した培養液を原液とする。</u> <u>原液について、3.5の試験を行う。</u> <u>2.3.3 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ原液</u> <u>2.3.3.1 培養</u>	
---	--

<u>プロダクションシード菌を培地に接種して培養し、更に培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。</u> <u>培養菌液について、3.6の試験を行う。</u> <u>2.3.3.2 不活化</u> <u>培養菌液に農林水産大臣が適当と認めた不活化剤を加えて不活化したものを不活化菌液とする。</u> <u>2.3.3.3 原液</u> <u>適当と認められた方法で不活化剤を中和し、必要に応じて濃縮したものを原液とする。</u> <u>原液について、3.7の試験を行う。</u> <u>2.4 最終バルク</u> <u>2.4.1 PCV2ORF2遺伝子挿入バキュロウイルスバルク</u> <u>原液又は混合原液に、必要に応じて生理食塩液及び適量のアジュバントを添加し、最終バルクとする。</u> <u>2.4.2 豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスバルク</u> <u>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。</u> <u>2.4.3 マイコプラズマ・ハイオニューモニエバルク</u> <u>原液に適量のアジュバントを添加し、必要に応じて生理食塩液を添加して最終バルクとする。</u> <u>2.5 小分製品</u> <u>2.5.1 PCV2ワクチン</u> <u>最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。</u> <u>小分製品について、3.8の試験を行う。</u> <u>2.5.2 PRRSワクチン</u> <u>最終バルクを小分容器に分注し、凍結乾燥し、小分製品とする。</u> <u>小分製品について、3.8の試験を行う。</u> <u>2.5.3 Mhpワクチン</u> <u>最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。</u> <u>小分製品について、3.8の試験を行う。</u> <u>3 試験法</u> <u>3.1 製造用株の試験</u> <u>3.1.1 マスターシードウイルスの試験</u> <u>3.1.1.1 同定試験</u> <u>シードロット規格の1.4.2.3.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。</u> <u>3.1.1.2 無菌試験</u>	
--	--

<u>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。</u> <u>3.1.1.3 マイコプラズマ否定試験</u> <u>一般試験法のマイコプラズマ否定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。</u> <u>3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験</u> <u>3.1.1.4.1 共通ウイルス否定試験</u> <u>一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、2.1及び2.2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には、その試験方法によるものとする。</u> <u>3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験</u> <u>3.1.1.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験</u> <u>SI細胞を用いる場合には、豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスについて、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には、その試験方法によるものとする。</u> <u>3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験</u> <u>豚熱ウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7及び3.2.9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には、その試験方法によるものとする。</u> <u>3.1.1.5 対象動物を用いた免疫原性試験</u> <u>豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスについて、一般試験法の対象動物を用いた免疫原性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。</u> <u>3.1.1.6 対象動物を用いた安全性確認試験</u> <u>豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスについて、一般試験法の対象動物を用いた安全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。</u> <u>3.1.1.7 病原性復帰確認試験</u> <u>豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスについて、一般試験法の病原性復帰確認試験を準用して試験するとき、適合しなければならない。</u> <u>3.1.1.8 組換え遺伝子等安定性確認試験</u> <u>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。</u>	
--	--

3.1.2 ワーキングシードウイルスの試験

3.1.2.1 無菌試験

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。

3.1.2.2 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定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。

3.1.3 プロダクションシードウイルスの試験

3.1.3.1 無菌試験

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。

3.1.3.2 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定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。

3.1.4 マスターシード菌の試験

3.1.4.1 同定試験

シードロット規格の1.4.2.4.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.4.2 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には、その試験方法によるものとする。

3.1.5 ワーキングシード菌の試験

3.1.5.1 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。

3.1.6 プロダクションシード菌の試験

3.1.6.1 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。

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 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。

3.2.1.2 起源動物種同定試験

シードロット規格の2.1.4.2.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

ならない。 <u>3.2.1.3 無菌試験</u> 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。 <u>3.2.1.4 マイコプラズマ否定試験</u> 一般試験法のマイコプラズマ否定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。 <u>3.2.1.5 外来性ウイルス否定試験</u> <u>3.2.1.5.1 共通ウイルス否定試験</u> 一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2、2.1及び2.2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には、その試験方法によるものとする。 <u>3.2.1.5.2 特定ウイルス否定試験</u> <u>3.2.1.5.2.1 特定ウイルス否定一般試験</u> SI細胞を用いる場合には、豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスについて、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1.2及び3.1.1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には、その試験方法によるものとする。 <u>3.2.1.5.2.2 個別ウイルス否定試験</u> 豚熱ウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7及び3.2.9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には、その試験方法によるものとする。 <u>3.2.1.6 核学的（染色体）性状試験</u> 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。 <u>3.2.1.7 腫瘍形成性/腫瘍原性試験</u> シードロット規格の2.1.4.2.1.7を準用して試験するとき、適合しなければならない。 <u>3.2.2 ワーキングセルシードの試験</u> <u>3.2.2.1 培養性状試験</u> シードロット規格の2.1.4.2.2.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。 <u>3.2.2.2 無菌試験</u> 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。	
---	--

ない。 <u>3.2.2.3 マイコプラズマ否定試験</u> <u>一般試験法のマイコプラズマ否定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。</u> <u>3.2.3 プロダクションセルシードの試験</u> <u>3.2.3.1 培養性状試験</u> <u>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。</u> <u>3.2.3.2 無菌試験</u> <u>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。</u> <u>3.2.3.3 マイコプラズマ否定試験</u> <u>一般試験法のマイコプラズマ否定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。</u> <u>3.3 PCV2ORF2遺伝子挿入バキュロウイルス培養液の試験</u> <u>3.3.1 マイコプラズマ否定試験</u> <u>一般試験法のマイコプラズマ否定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。</u> <u>3.4 PCV2ORF2遺伝子挿入バキュロウイルス原液の試験</u> <u>3.4.1 無菌試験</u> <u>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。</u> <u>3.4.2 不活化試験</u> <u>3.4.2.1 試験材料</u> <u>3.4.2.1.1 試料</u> <u>検体を試料とする。</u> <u>3.4.2.1.2 培養細胞</u> <u>SI細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。</u> <u>3.4.2.2 試験方法</u> <u>検体を培養細胞に接種し、25～29℃で7日間培養し、次代に継代する。</u> <u>2代目の細胞を25～29℃で7日間培養する。</u> <u>3.4.2.3 判定</u> <u>培養細胞にCPEを認めない場合、活性ウイルス陰性と判定する。検体に活性ウイルスを認めてはならない。</u> <u>3.4.3 抗原定量試験</u> <u>3.4.3.1 試験材料</u> <u>検体、参照抗原1（付記2）、陰性対照抗原（付記3）、陽性対照抗原</u>	
--	--

1（付記4）、抗PCV2ORF2抗原豚IgG（付記5）、抗PCV2ORF2抗原モノクローナル抗体（付記6）及び酵素標識抗体（付記7）を用いる。 3.4.3.2 試験方法 3.4.3.2.1 試料の調製 検体、参照抗原1、陰性対照抗原及び陽性対照抗原1を洗浄・希釈液（付記8）でそれぞれ30倍から3倍階段希釈した各段階の希釈液を試料とする。 3.4.3.2.2 反応 抗PCV2ORF2抗原豚IgGを固相したプレートを用いる。固相プレートにブロッキング緩衝液（付記9）を250μLずつ加え、35～39℃で約60分間反応させた後、洗浄・希釈液で洗浄する。各試料100μLずつをプレートの3穴に加え、35～39℃で約60分間反応させる。反応後、プレートを洗浄液で洗浄する。洗浄・希釈液で300倍に希釈した抗PCV2ORF2抗原モノクローナル抗体を各穴に100μLずつ分注し、35～39℃で約60分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・希釈液で洗浄する。1 vol% 兔血清加希釈用緩衝液（付記10）で5,000～20,000倍に希釈した酵素標識抗体を各穴に100μLずつ分注し、35～39℃で約45分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・希釈液で洗浄する。基質液（付記11）を100μL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100μLずつ各穴に分注し、反応を停止させる。 3.4.3.2.3 吸光度測定 波長450nmで吸光度を測定する。 3.4.3.3 判定 参照抗原1の力価を1.0として、検体の相対力価を統計学的計算方法（付記12）により算出する。このとき、検体の相対力価は、1.0以上でなければならない。また、陽性対照抗原1の270倍希釈液の平均吸光度は0.838以上であり、陰性対照抗原の30倍希釈液の平均吸光度は0.2以下でなければならない。 3.5 豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス原液の試験 3.5.1 無菌試験 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。 3.5.2 ウイルス含有量試験 3.5.2.1 試験材料 3.5.2.1.1 試料 検体をウイルス増殖用培養液（付記13）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。 3.5.2.1.2 細胞	
--	--

<u>MA-104細胞又は適当と認められた培養細胞を96穴プレートに培養し、単層となったものを用いる。</u> <u>3.5.2.2 試験方法</u> <u>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、その試験方法によるものとする。</u> <u>3.5.2.3 判定</u> <u>培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID₅₀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。</u> <u>検体のウイルス含有量は、1 mL中10^{6.0}TCID₅₀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。</u> <u>3.6 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ培養菌液の試験</u> <u>3.6.1 暗視野顕微鏡下観察試験</u> <u>3.6.1.1 試験材料</u> <u>検体を用いる。</u> <u>3.6.1.2 試験方法</u> <u>検体をスライドガラスにとり、暗視野顕微鏡下で鏡検する。</u> <u>3.6.1.3 判定</u> <u>マイコプラズマ・ハイオニューモニエ様菌（球状又は球桿状から短桿状の菌）以外の菌を検出してはならない。</u> <u>3.6.2 染色試験</u> <u>3.6.2.1 試験材料</u> <u>検体を用いる。</u> <u>3.6.2.2 試験方法</u> <u>検体をスライドガラスにとり、グラム染色し、鏡検する。</u> <u>3.6.2.3 判定</u> <u>グラム陰性のマイコプラズマ・ハイオニューモニエ様菌（球状又は球桿状から短桿状の菌）以外の菌を検出してはならない。</u> <u>3.6.3 DNA含有量試験</u> <u>3.6.3.1 試験材料</u> <u>検体を用いる。</u> <u>3.6.3.2 試験方法</u> <u>検体を適当と認められた方法で処理した後、蛍光分光光度計を用いてDNA量を測定する。</u> <u>3.6.3.3 判定</u> <u>検体のDNA含有量は、所定の値以上でなければならない。</u>	
---	--

3.7 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ原液の試験

3.7.1 無菌試験

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には、その試験方法によるものとする。

3.7.2 不活化試験

3.7.2.1 試験材料

3.7.2.1.1 試料

検体を試料とする。

3.7.2.2 試験方法

不活化前の培養液を陽性対照試料とし、培地に試料、陽性対照試料並びに試料及び陽性対照試料を接種して、適当と認められた方法で培養し、培地の色調を観察する。

3.7.2.3 判定

試料を接種した培地に色調の変化を認めてはならない。また、陽性試料を接種した培地並びに試料及び陽性対照試料を接種した培地には、赤色から黄色への色調の変化を認めなければならない。

3.7.3 抗原定量試験

3.7.3.1 試験材料

検体、参照品（付記14）、陽性対照（付記15）、陰性対照（付記16）及び抗体固相化プレート（付記17）を用いる。

3.7.3.1.1 試料

検体、参照品、陽性対照及び陰性対照を－80～－60℃で凍結処理した後、35～39℃の恒温槽で融解したものを試料とする。

3.7.3.2 試験方法

抗体固相化プレートを洗浄液（付記18）で洗浄し、100μLのブロッキング液（付記19）を全ての穴に加える。

試料の100μLずつを該当するプレートの各穴に加え、ピペッティングにより混和した後、最後の列から混合液を100μLずつ除去し、プレートを35～39℃で約1時間反応させる。

プレートを洗浄液で洗浄し、ブランクとなる各穴に100μLのブロッキング液を加える。その他各穴に100μLのモノクローナル抗体（付記20）を加え、35～39℃で約1時間反応させる。

プレートを洗浄液で洗浄し、ブランクの各穴には標識抗体希釈液（付記21）を、その他の各穴には酵素標識抗体をそれぞれ100μL加え、35～39℃で約1時間反応させる。反応終了後、プレートを洗浄液で洗浄し、全ての穴に100μLの基質液を加えて常温で10分間反応させる。反応終了後、全ての穴

<u>に100μLの1 mol/L塩酸を加えて反応を停止させ、波長450nmで吸光度を測定する。得られた吸光度について、解析ソフトを用い、参照品に対する検体の抗原RPを算出する。</u>	
<u>3.7.3.3 判定</u> <u>検体の抗原RP値は、1.25以上でなければならない。</u>	
<u>3.8 小分製品の試験</u>	
<u>3.8.1 特性試験</u> <u>PCV2ワクチンとMhpワクチンを等量混合したものでPRRSワクチンを溶解したもの（以下この項において「混合ワクチン」という。）について、一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、固有の色調を有する液体でなければならない、異物及び異臭を認めてはならない。</u> <u>また、小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。</u>	
<u>3.8.2 pH測定試験</u> <u>混合ワクチンについて、一般試験法のpH測定試験法を準用して試験するとき、pHは固有の値を示さなければならない。</u>	
<u>3.8.3 真空度試験</u> <u>PRRSワクチンについて、一般試験法の真空度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。</u>	
<u>3.8.4 含湿度試験</u> <u>PRRSワクチンについて、一般試験法の含湿度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。</u>	
<u>3.8.5 無菌試験</u> <u>PCV2ワクチン、PRRSワクチン及びMhpワクチンそれぞれについて、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。</u>	
<u>3.8.6 豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス含有量試験</u> <u>豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスについて、3.5.2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$10^{4.9}$～$10^{6.7}$TCID₅₀の範囲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。</u>	
<u>3.8.7 抗原定量試験</u>	
<u>3.8.7.1 豚サーコウイルス2型感染症抗原定量試験</u>	
<u>3.8.7.1.1 試験材料</u> <u>PCV2ワクチン、参照抗原2（付記22）、陰性対照抗原、陽性対照抗原2（付記23）、抗PCV2ORF2抗原豚IgG、抗PCV2ORF2抗原モノクローナル抗体及び酵素標識抗体を用いる。</u>	
<u>3.8.7.1.2 試験方法</u>	
<u>3.8.7.1.2.1 試料の調製</u>	

PCV2ワクチン、参照抗原 2、陰性対照抗原及び陽性対照抗原 2 を洗浄・希釈液でそれぞれ30倍から 3 倍階段希釈した各段階の希釈液を試料とする

3.8.7.1.2.2 反応

抗PCV2ORF2抗原豚IgGを固相したプレートを用いる。固相プレートにブロッキング緩衝液を250μLずつ加え、35～39℃で約60分間反応させた後、洗浄・希釈液で洗浄する。各試料100μLずつをプレートの 3 穴に加え、35～39℃で約60分間反応させる。反応後、プレートを洗浄液で洗浄する。洗浄・希釈液で300倍に希釈した抗PCV2ORF2抗原モノクローナル抗体を各穴に100μLずつ分注し、35～39℃で約60分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・希釈液で洗浄する。1 vol% 兔血清加希釈用緩衝液で5,000～20,000倍に希釈した酵素標識抗体を各穴に100μLずつ分注し、35～39℃で約45分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・希釈液で洗浄する。基質液を100μL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100μLずつ各穴に分注し、反応を停止させる。

3.8.7.1.2.3 吸光度測定

波長450nmで吸光度を測定する。

3.8.7.1.3 判定

参照抗原 2 の力価を1.0として、PCV2ワクチンの相対力価を統計学的計算方法により算出する。このとき、PCV2ワクチンの相対力価は、1.0～3.75でなければならない。また、陽性対照抗原 2 の480倍希釈液の平均吸光度は0.988～2.500であり、陰性対照抗原の30倍希釈液の平均吸光度は0.124以下でなければならない。

3.8.7.2 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症抗原定量試験

Mhpワクチンについて3.7.3を準用して試験するとき、Mhpワクチンの抗原RP値は1.0～4.6でなければならない。

3.8.8 安全試験

3.8.8.1 試験材料

3.8.8.1.1 注射材料

混合ワクチンを注射材料とする。

3.8.8.1.2 試験動物

3 ～ 5 週齢の豚を用いる。

3.8.8.2 試験方法

注射材料 1 頭分ずつを 2 頭の試験動物の筋肉内に注射し、21日間観察する。

3.8.8.3 判定

観察期間中、試験動物に臨床的な異常を認めてはならない。

3.8.9 力価試験

3.8.9.1 豚サーコウイルス 2 型感染症力価試験

小分製品において、豚サーコウイルス 2 型感染症抗原定量試験を実施する場合には、本試験の実施を省略することができる。

3.8.9.1.1 試験材料

3.8.9.1.1.1 注射材料

混合ワクチンを適当と認められた希釈液で希釈したものを注射材料とする。

3.8.9.1.1.2 試験動物

6 ～ 7 週齢のSPFのddY系雌マウスを用いる。

3.8.9.1.1.3 酵素抗体反応用抗原

固相化抗原 1（付記24）を用いる。

3.8.9.1.2 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0.2mLずつを試験群の腹部皮下に注射する。注射後 4 週間目に、試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、酵素抗体反応を行う。

試験群及び対照群の血清並びに参照陽性血清 1（付記25）をブロッキング液で10倍に希釈したものを、更に同液で 2 倍階段希釈する。これらの血清希釈液を抗原吸着プレート 1（付記26）の穴に100μL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100μLずつ加え、37℃で60分間反応させた後、洗浄液で 3 回洗浄する。その後、基質液を各穴に100μLずつ加えて反応させた後、各穴に 1 mol/L 塩酸を100μLずつ加えて反応を停止させ、波長450nmで吸光度を測定する。

3.8.9.1.3 判定

血清対照の各穴の吸光度値の平均値に0.5を加えた値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。

試験群では、70%以上が抗体価640倍以上でなければならない。この場合において、対照群では、全て抗体価20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640～1280倍でなければならない。

3.8.9.2 豚繁殖・呼吸障害症候群力価試験

小分製品において、豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス含有量試験を実施する場合には、本試験の実施を省略することができる。

3.8.9.2.1 試験材料

3.8.9.2.1.1 試験動物

3.8.8の試験に用いた動物を用いる。

3.8.9.2.1.2 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 $10^{3.5}$ TCID₅₀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。

3.8.9.2.2 試験方法

3.8.8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27）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。

3.8.9.2.3 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。

3.8.9.3 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症力価試験

小分製品において、マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症抗原定量試験を実施する場合には、本試験の実施を省略することができる。

3.8.9.3.1 試験材料

3.8.9.3.1.1 注射材料

混合ワクチンをワクチン希釈液で90倍に希釈した後、更に生理食塩液で2倍に希釈したものを注射材料とする。

3.8.9.3.1.2 試験動物

6～7週齢のSPFのddY系雌マウスを用いる。

3.8.9.3.1.3 酵素抗体反应用抗原

固相化抗原2（付記28）を用いる。

3.8.9.3.2 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0.2mLずつを試験群の腹部皮下に注射する。注射後3週間目に、試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、酵素抗体反応を行う。

試験群及び対照群の血清並びに参照陽性血清2（付記29）をブロッキング液で10倍に希釈したものを、更に同液で2倍階段希釈する。これらの血清希釈液を抗原吸着プレート2（付記30）の穴に100μL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。その後、基質液を各穴に100μLずつ加えて反応させた後、各穴に1 mol/L塩酸を100μLずつ加えて反応を停止させ、波長450nmで吸光度を測定する。

3.8.9.3.3 判定

血清対照の各穴の吸光度値の平均値に0.5を加えた値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。

試験群では、70%以上が抗体価320倍以上でなければならない。この場合において、対照群では、全て抗体価20倍以下でなければならない。また、参照陽性血清2は、抗体価320～640倍でなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後2年間とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その期間とする。

付記1 Sf細胞

Spodoptera frugiperda 卵巣由来細胞

付記2 参照抗原1

ワクチンの製造方法で製造されたもので、PCV2ORF2抗原として約8 μg/mL含むもの。

更新する場合には、元の参照抗原1に対する相対力価を求めておき、原液の相対力価測定時には元の参照抗原1と同等の抗原量となるよう調製する。

付記3 陰性対照抗原

Sf細胞培養液にワクチンのアジュバントを20vol%含むもの

付記4 陽性対照抗原1

ワクチンの製造方法で製造されたもので、参照抗原1に対する相対力価4.45のPCV2ORF2抗原液31mLに対して生理食塩液9 mLを加えたもの。

更新する場合には、元の陽性対照抗原1との相対力価が統計的に同等になるよう調製する。

付記5 抗PCV2ORF2抗原豚IgG

ワクチンで免疫したCDCD（帝王切開由来初乳未摂取）豚血清から精製した抗PCV2ORF2抗原豚IgGであって、間接蛍光抗体価が1,500倍以上のもの。

	<u>吸着用緩衝液（付記31）で希釈して用いる。</u>		
付記6	<u>抗PCV2ORF2抗原モノクローナル抗体</u> <u>PCV2ORF2抗原に特異的なモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞の培養上清</u>		
付記7	<u>酵素標識抗体</u> <u>ペルオキシダーゼ標識した抗マウスIgG（H+L）山羊血清</u>		
付記8	<u>洗浄・希釈液</u> 1,000mL中 塩化ナトリウム 8.0 g 塩化カリウム 0.2 g 無水リン酸水素二ナトリウム 1.15 g リン酸二水素カリウム 0.2 g ポリゾルベート20 0.5 mL 水 残 量 <u>pHを7.2～7.4に調整する。</u>		
付記9	<u>ブロッキング緩衝液</u> <u>洗浄・希釈液にスキムミルクを5.0w/v%になるように加えたもの</u>		
付記10	<u>1 vol% 兔血清加希釈用緩衝液</u> <u>洗浄・希釈液に兔正常血清を 1 vol%になるように加えたもの</u>		
付記11	<u>基質液</u> <u>3,3',5,5'-テトラメチルベンジジンを含むペルオキシダーゼ基質液</u>		
付記12	<u>統計学的計算方法</u> <u>農林水産大臣が適当と認めたもの</u>		
付記13	<u>ウイルス増殖用培養液</u> 1,000mL中 牛胎子血清 20～50 mL イーグルMEM 残 量 <u>pHを6.8～7.0に調整する。</u> <u>必要最少量の抗生物質を加えてもよい。</u>		

付記14 参照品

マイコプラズマ・ハイオニューモニエ不活化抗原と同じ製造方法により製造されたワクチンで、豚での攻撃試験により有効性が確認されたもので相対力価（RP）が約1.0のもの。参照品が更新される際には、同じ製造方法により製造され、RPが1.0になるように調製した後、豚での攻撃試験で現行参照品と同等の有効性が担保されなければならない

。

付記15 陽性対照

マイコプラズマ・ハイオニューモニエ不活化抗原と同じ方法により製造されたワクチンで、抗原定量試験における吸光度は0.542～1.578のもの。陽性対照を更新する場合は、マイコプラズマ・ハイオニューモニエ不活化抗原と同じ方法により製造し、抗原定量試験における吸光度が0.542～1.578を示すように調製する。

付記16 陰性対照

マイコプラズマ・ハイオニューモニエ不活化抗原の製造用培地にアジュバントを加えて調製されたもので、抗原定量試験における吸光度は0.081以下を示す。陰性対照を更新する場合は、元の陰性対照と同じ方法により製造し、抗原定量試験における吸光度が0.081以下を示すように調製する。

付記17 抗体固相化プレート

96穴平底プレートにトリス緩衝食塩液（付記32）で希釈した捕捉抗体2（付記33）を加えて35～39℃で約1時間静置した後、洗浄液で洗浄後、ブロッキング液を加えて2～8℃で16～24時間静置したもの

付記18 洗浄液

0.5mLのポリソルベート20をトリス緩衝食塩液に加えて1,000mLとする。

付記19 ブロッキング液

50gのスキムミルクに洗浄液を加えて1,000mLとしたもの

付記20 モノクローナル抗体

マイコプラズマ・ハイオニューモニエp44抗原に対するマウス由来の

モノクローナル抗体

付記21 標識抗体希釈液

1,000mL中

トリスヒドロキシメチルアミノメタン 2.42 g

塩化ナトリウム 8.766 g

スキムミルク 50.0 g

ポリソルベート20 0.5 mL

豚血清 50.0 mL

注射用水 残 量

トリスヒドロキシアミノメタンと塩化ナトリウムを適量の注射用水に溶かし、pHを7.2～7.4に調整する。残りの原料を加え、分散させた後、注射用水を加えて1,000mLとする。

付記22 参照抗原 2

ワクチンの製造方法で製造された、参照陽性抗原 1 に対する相対力価4.45のPCV2ORF2抗原52容に、ワクチンのアジュバントを20容及び生理食塩液を28容加えたもの。

更新する場合には、元の参照抗原 2 に対する相対力価が1.0となり、豚への免疫原性が、元の参照抗原 2 のそれと同等となるよう調製する。

付記23 陽性対照抗原 2

ワクチンの製造方法で製造された、参照抗原 1 に対する相対力価4.45のPCV2ORF2抗原液 8 容にワクチンのアジュバントを 2 容加えたもの。

更新する場合には、元の陽性対照抗原 2 との相対力価が統計的に同等になるよう調製する。

付記24 固相化抗原 1

適当と認められたクロマトグラフィーによって精製したPCV2ORF2抗原画分

付記25 参照陽性血清 1

混合ワクチンで免疫したddY系マウスの血清であって、3.8.9.1の試験により抗体価が640～1280倍となるように濃度を調整したもの

付記26	<u>抗原吸着プレート 1</u> <u>固相化抗原 1 をトリス緩衝食塩液で希釈し、96穴ELISAプレートの各穴に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。その後、ブロッキング液を各穴に100μLずつ加え、37℃で1時間反応させた後、洗浄液で3回洗浄したもの</u>
付記27	<u>抗豚IgG蛍光標識抗体</u> <u>抗豚IgG血清からγ-グロブリンを調製し、これを蛍光色素で標識したもの</u>
付記28	<u>固相化抗原 2</u> <u>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</u>
付記29	<u>参照陽性血清 2</u> <u>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不活化した抗原で免疫したマウスの血清であって、3.8.9.3の試験により抗体価が320～640倍となるように濃度を調整したもの</u>
付記30	<u>抗原吸着プレート 2</u> <u>固相化抗原 2 をトリス緩衝食塩液で希釈し、96穴ELISAプレートの各穴に100μLずつ加え、37℃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100μLずつ加え、37℃で1時間反応させた後、洗浄液で洗浄したもの</u>
付記31	<u>吸着用緩衝液</u> <u>1,000mL中</u> <u>炭酸水素ナトリウム 2.93 g</u> <u>炭酸ナトリウム 1.59 g</u> <u>水 残 量</u> <u>pHを9.5～9.7に調整する。</u>
付記32	<u>トリス緩衝食塩液</u> <u>1,000mL中</u> <u>トリスヒドロキシメチルアミノメタン 2.42 g</u>

<u>塩化ナトリウム</u> <u>8.77</u> g <u>水</u> <u>残</u> 量 <u>pHを7.2～7.4に調整する。</u>	
<u>付記33</u> <u>捕捉抗体 2</u> <u>マイコプラズマ・ハイオニューモニエ不活化抗原の製造用株で免疫したウサギ血清をアフィニティークロマトグラフィーで精製したポリクローナル抗体</u>	

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 ニューカッスル病生ワクチン（シード） 1 （略） 2 製法 2.1 製造用株 2.1.1～2.1.4 （略） 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、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で <u>増殖させる</u> 。 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－70℃以下又は凍結乾燥して5℃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について、3.1.3の試験を行う。 2.2～2.5 （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 3.1.1.1～3.1.1.7 （略） 3.1.1.8 マーカー試験 小分試験において、マーカー試験を実施する場合には、本試験の実施を省略することができる。 3.1.1.8.1 試験材料	ワクチン（シードロット製剤）の部 ニューカッスル病生ワクチン（シード） 1 （略） 2 製法 2.1 製造用株 2.1.1～2.1.4 （略） 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、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で <u>増殖する</u> 。 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－70℃以下又は凍結乾燥して5℃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について、3.1.3の試験を行う。 2.2～2.5 （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 3.1.1.1～3.1.1.7 （略） 3.1.1.8 マーカー試験 小分試験において、マーカー試験を実施する場合には、本試験の実施を省略することができる。 3.1.1.8.1 試験材料

3.1.1.8.1.1 試料 <u>検体をリン酸緩衝食塩液を用いてウイルス含有量が0.5mL当たり小分製品における1羽分及び1/10羽分と同量含まれるように調製したものを試料とする。</u> 3.1.1.8.1.2 (略) 3.1.1.8.2・3.1.1.8.3 (略) 3.1.2・3.1.3 (略) 3.2・3.3 (略) 3.4 原液の試験 3.4.1 (略) 3.4.2 ウイルス含有量試験 3.4.2.1 (略) 3.4.2.2 試験方法 試料0.1mLずつをそれぞれ5個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37℃で5日間培養し、観察する。試験最終日に尿膜腔液を採取し、0.5vol%鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その<u>試験方法</u>によるものとする。 3.4.2.3 (略) 3.5 小分製品の試験 3.5.1 特性試験 一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、固有の色調を有する乾燥物でなければならない。<u>完全に</u>溶解したものは、固有の色調を有する液体又は均質な懸濁液でなければならない、<u>異物及び異臭</u>を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。 3.5.2～3.5.7 (略) 3.5.8 マーカー試験 3.1.1.8を準用して試験するとき、適合しなければならない。マスターシードウイルスにおいて、マーカー試験を実施する場合には、本試験の実施を省略することができる。 (削る)	3.1.1.8.1.1 試料 <u>検体のウイルス含有量を0.5mL当たり1羽分及び1/10羽分含まれるように適当と認められた希釈液で調整したものを試料とする。</u> 3.1.1.8.1.2 (略) 3.1.1.8.2・3.1.1.8.3 (略) 3.1.2・3.1.3 (略) 3.2・3.3 (略) 3.4 原液の試験 3.4.1 (略) 3.4.2 ウイルス含有量試験 3.4.2.1 (略) 3.4.2.2 試験方法 試料0.1mLずつをそれぞれ5個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37℃で5日間培養し、観察する。試験最終日に尿膜腔液を採取し、0.5vol%鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その<u>方法</u>とする。 3.4.2.3 (略) 3.5 小分製品の試験 3.5.1 特性試験 一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、固有の色調を有する乾燥物でなければならない。溶解したものは、固有の色調を有する液体又は均質な懸濁液でなければならない、<u>異物又は異臭</u>を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。 3.5.2～3.5.7 (略) 3.5.8 マーカー試験 3.1.1.8を準用して試験するとき、適合しなければならない。マスターシードウイルスにおいて、マーカー試験を実施する場合には、本試験の実施を省略することができる。 <u>3.5.8.1 試験材料</u>
---	--

(削る) (削る) 3.5.9 安全試験 3.5.9.1 試験材料 3.5.9.1.1 接種材料 試験品をリン酸緩衝食塩液を用いて<u>ウイルス含有量</u>が0.03mL当たり10羽分含まれるように<u>調製</u>し、接種材料とする。 3.5.9.1.2 (略) 3.5.9.2・3.5.9.3 (略) 3.5.10 力価試験 3.5.10.1 試験材料 3.5.10.1.1・3.5.10.1.2 (略) 3.5.10.1.3 攻撃ウイルス 強毒ニューカッスル病ウイルス佐藤株で感染させた尿膜腔液であり、約40日齢の鶏の筋肉内に注射し、そのウイルス量を測定するとき、1 mL中$10^{6.0}$致死量以上を有するものを用いる。 使用時、リン酸緩衝食塩液を用いて、1 mL中$10^{4.0}$致死量となるように<u>調製</u>する。 3.5.10.2・3.5.10.3 (略)	3.5.8.1.1 試料 試験品をリン酸緩衝食塩液を用いてウイルスが0.5mL当たり1羽分及び1/10羽分含まれるように調整し、試料とする。 3.5.8.1.2 培養細胞 生ワクチン製造用材料の規格1.1の9～10日齢の発育鶏卵の胚から得た細胞を細胞増殖用培養液（付記1）で浮遊し、約20cm²以上のシャーレに分注し、培養し、単層となったものを用いる。 3.5.8.2 試験方法 試料0.5mLをそれぞれ2枚以上の培養細胞に接種し、37℃で60分間静置した後、重層寒天培地（付記2）を重層し、37℃で4日間培養し、<u>ブラック形成の有無を観察する。</u> 3.5.8.3 判定 <u>細胞にブラックの形成を認めてはならない。</u> 3.5.9 安全試験 3.5.9.1 試験材料 3.5.9.1.1 接種材料 試験品をリン酸緩衝食塩液を用いて<u>ウイルス</u>が0.03mL当たり10羽分含まれるように<u>調整</u>し、接種材料とする。 3.5.9.1.2 (略) 3.5.9.2・3.5.9.3 (略) 3.5.10 力価試験 3.5.10.1 試験材料 3.5.10.1.1・3.5.10.1.2 (略) 3.5.10.1.3 攻撃ウイルス 強毒ニューカッスル病ウイルス佐藤株で感染させた尿膜腔液であり、約40日齢の鶏の筋肉内に注射し、そのウイルス量を測定するとき、1 mL中$10^{6.0}$致死量以上を有するものを用いる。 使用時、リン酸緩衝食塩液を用いて、1 mL中$10^{4.0}$致死量となるように<u>調整</u>する。 3.5.10.2・3.5.10.3 (略)
--	---

(削る)	3.5.11 崩壊試験 <u>小分製品が錠剤である製剤について次の試験を行う。</u>
	3.5.11.1 試験方法 <u>試験品 1 錠を15～25℃の水200mLの入ったビーカーに入れ、ガスの発生が終了するまでの時間を測定する。</u> <u>5 錠についてこの操作を繰り返す。</u>
	3.5.11.2 判定 <u>ガスの発生が終了すると、水中において溶解又は分散して粒子の塊を認めない場合を崩壊したものとする。</u> <u>全てが 6 分以内に崩壊しなければならない。</u>
4 (略)	4 (略)
付記 1・付記 2 (略)	付記 1・付記 2 (略)

○農林水産省告示第千四百五十八号

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和三十五年法律第百四十五号）
第八十三条第一項の規定により読み替えて適用される同法第四十三条第一項の規定に基づき、昭和三十六年
農林省告示第六十六号（医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律第四十三条第
一項の規定に基づき、農林水産大臣の指定する医薬品を定める等の件）の一部を次のように改正し、公布の
日から施行する。

令和八年九月十八日

農林水産大臣 築 和生

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
動物用生物学的製剤。ただし、次に掲げるもの（⁽⁶⁾から⁽¹³³⁾までに掲げるものにあつては、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律第八十三条第一項の規定により読み替えて適用される同法第十四条の四第一項の規定により行われる再審査において、同法第八十三条第一項の規定により読み替えて適用される同法第十四条第二項第三号イからハまでのいずれにも該当しないことが確認されたものに限る。）を除く。 (1) $\sim$ (25) (略) (26) $\sim$ (52) (略) (27) $\sim$ (52) (略) (53) $\sim$ (74) (略) (75) $\sim$ (185) (略) 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）・豚繁殖・呼吸障害症候群・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）混合ワクチン（シード）	動物用生物学的製剤。ただし、次に掲げるもの（⁽⁶⁾から⁽¹³²⁾までに掲げるものにあつては、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律第八十三条第一項の規定により読み替えて適用される同法第十四条の四第一項の規定により行われる再審査において、同法第八十三条第一項の規定により読み替えて適用される同法第十四条第二項第三号イからハまでのいずれにも該当しないことが確認されたものに限る。）を除く。 (1) $\sim$ (25) (略) (新設) (26) $\sim$ (51) (略) (52) $\sim$ (51) (略) (53) $\sim$ (74) (略) (新設) (75) $\sim$ (184) (略) 豚増殖性腸炎生ワクチン（シード）