



29消安第3802号

平成29年11月7日

動物医薬品検査所長 殿

消費・安全局長

動物用生物学的製剤基準の一部改正等について（通知）

このことについて、別添写しのとおり各都道府県知事宛て通知したので、
了知されたい。

写

29消安第3802号

平成29年11月7日

都道府県知事 殿

農林水産省消費・安全局長

動物用生物学的製剤基準の一部改正等について（通知）

今般、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）、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）、動物用医薬品の検定手数料並びに試験品及び出願者の保存用品として抜き取るべき数量（平成25年6月18日農林水産省告示第2009号）及び医薬品、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（昭和36年2月1日農林省告示第66号）の一部が別紙1から別紙4までのとおり改正されましたので、貴庁に備え置いて縦覧願います。

これらの改正に伴い、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関係事務の取扱いについて（平成12年3月31日付け12畜A第729号農林水産省畜産局長通知）の一部を別紙5のとおりに改正することとしたので、御了知願います。

(別紙1)

○農林水産省告示第千七百一号

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（平成十四年十月三日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。

平成二十九年十一月七日

農林水産大臣 齋藤 健

（「次のよう」は、省略し、その関係書類を農林水産省消費・安全局畜水産安全管理課及び都道府県庁に備え置いて縦覧に供する。）

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部の豚オーエスキー病（g1-、g5-）（油性アジュバント加）不活化ワクチンの項の次に次のように加える。

豚サーコウイルス（2型）感染症（1型－2型キメラ） （デキストリン誘導体アジュバント加）不活化ワクチン

1 定義

組換え DNA 技術を応用して製造された豚サーコウイルス 1 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「PCV1ORF2」という。）遺伝子を 2 型ウイルスの ORF2 に置換したウイルス（以下この項において「cPCV1-2」という。）を培養細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化し、デキストリン誘導体アジュバントを添加したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

1 型-2 型キメラ豚サーコウイルス cPCV1-2 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

1 型-2 型キメラ豚サーコウイルス特異的 PCR により同定される。豚サーコウイルス 2 型カプシドたん白を発現する。豚に接種してもウイルス血症を起こさない。

2.1.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、PK-15 細胞又は適当と認められた培養細胞で継代する。

原株の継代は、種ウイルスの製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行ってはならない。種ウイルスは直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は 5 代以内でなければならない。

原株及び種ウイルスは、凍結して -50℃以下又は凍結乾燥して 7℃以下で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 培養細胞

PK-15 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。

2.3 原液

2.3.1 細胞の培養

1 回に処理し、培養した細胞を個体別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。

2.3.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルスの培養極期に培養液を採取しウイルス培養液とする。

ウイルス培養液について、3.1 の試験を行う。

2.3.3 ウイルスの不活化

ウイルス培養液を濃縮し、適当と認められ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、水素イオン濃度を調整したものを原液とする。

原液について、3.2 の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液に、適量のアジュバント、保存剤及び溶剤を添加し、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、小分製品とする。

小分製品について、3.3 の試験を行う。

3 試験法

3.1 ウイルス培養液の試験

3.1.1 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。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。

3.2 原液の試験

3.2.1 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。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。

3.2.2 不活化試験

3.2.2.1 試験材料

3.2.2.1.1 試料

検体 10mL を試料とする。

3.2.2.1.2 培養細胞

NLST-1 細胞を 150cm² 培養フラスコで培養し、単層になったものを用いる。

3.2.2.2 試験方法

3.2.2.2.1 培養

培養細胞に試料 10mL を接種する。cPCV1-2 ウイルス浮遊液 10mL を接種したものを陽性対照とし、非接種培養細胞を陰性対照とする。接種後、各フラスコを 36 ± 2 °C で 4 ～ 6 日間培養する。接種後 2 日目に培地交換を行ってもよい。培養後拡張継代し、36 ± 2 °C で 4 ～ 6 日間培養する。拡張継代は 5 回行う。5 代目の拡張継代時に 48 穴プレートに試験品、陽性対照、あるいは陰性対照ごとに 6 穴ずつ継代し、36 ± 2 °C、4 ～ 6 vol % 炭酸ガス下で 4 ～ 6 日間培養する。

3.2.2.2.2 間接蛍光抗体反応

48 穴プレートに培養した培養細胞をアセトンで固定後、リン酸緩衝食塩液 A (付記 1) で希釈した検出抗体 (付記 2) を各穴に加え、15 ～ 30 °C で 60 ～ 90 分間感作させる。精製水で 3 回以上洗浄し、リン酸緩衝食塩液 A で希釈した二次抗体 A (付記 3) を各穴に加え、15 ～ 30 °C で 60 ～ 90 分間感作させる。精製水で 3 回以上洗浄し、蛍光顕微鏡下で観察する。

3.2.2.3 判定

培養細胞に特異蛍光抗原を認めてはならない。

3.2.3 ウイルス抗原含有量試験

3.2.3.1 試験材料

参照ワクチン (付記 4)、プラセボワクチン (付記 5) 及び検体をリン酸緩衝食塩液 B (付記 6) で希釈し、超音波処理後、検体処理液 (付記 7) をポリソルベート 20 の最終濃度が 0.3vol % となるように添加したものをそれぞれ処理参照ワクチン、処理プラセボワクチン及び処理検体とする。

3.2.3.2 試験方法

3.2.3.2.1 固相化プレートの作製

捕獲抗体 (付記 8) を吸着用緩衝液 (付記 9) で希釈し、100μL ずつ 96 穴 ELISA プレートに分注し、2 ～ 7 °C で 16 時間以上静置する。洗浄・希釈液 (付記 10) で洗浄し、ブロッキング液 (付記 11) を 200μL ずつ加え、37 ± 2 °C で 60 ± 5 分間反応させる。このプレートを洗浄・希釈液で洗浄し、固相化プレートとする。

3.2.3.2.2 ELISA

処理参照ワクチン及び処理検体を洗浄・希釈液で階段希釈したものと処理プラセボワクチンを固相化プレートの各穴に 100μL ずつ移し、37 ± 2 °C で 16 ± 2 時間振とうする。洗浄・希釈液で 4 回洗浄後、抗体希釈用緩衝液 (付記 12) で希釈した検出抗体を各穴に 100μL ずつ加え、37 ± 2 °C で 60

± 5 分間反応させる。洗浄・希釈液で洗浄後、2 vol % 正常兔血清加希釈液（付記 13）で希釈した二次抗体 B（付記 14）を 100μL ずつ分注し 37 ± 2℃ で 60 ± 5 分間反応させる。洗浄・希釈液で 4 回洗浄後、基質液（付記 15）を各穴に 100μL ずつ分注し、37 ± 2℃ で 20 ± 2 分間反応させる。プラセボワクチンをブランクとして、主波長 650nm、副波長 490nm で吸光度を測定する。

3.2.3.3 判定

相対力価（Relative Potency。以下この項において「RP」という。）の計算法（付記 16）により参照ワクチンに対する RP を算出する。

原液の RP は 0.7 以上でなければならない。

試験成立条件として、処理参照ワクチン及び処理プラセボワクチンの吸光度は、それぞれ 1.4 ～ 2.0 及び 0.1 以下でなければならない。

3.3 小分製品の試験

3.3.1 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、静置の状態では浮遊物又はその沈殿物が認められる場合があるが、混和後は乳桃色から乳白色の不透明な液体で異物及び異臭を認めてはならない。また、小分容器ごとの性状は均一でなければならない。

3.3.2 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、これに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。

3.3.3 チメロサル定量試験

一般試験法のチメロサル定量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、その試験法によるものとする。

3.3.4 安全試験

3.3.4.1 試験材料

3.3.4.1.1 注射材料

試験品を用いる。

3.3.4.1.2 試験動物

3 ～ 5 週齢の豚を用いる。

3.3.4.2 試験方法

注射材料を試験動物 2 頭の頸部筋肉内に左右 1 用量ずつ計 2 用量を注射し、21 日間観察する。

3.3.4.3 判定

観察期間中、注射数日後より認められる場合のある腫脹、硬結、一過性の体温の上昇を除き臨床的な異常が認められてはならない。また、腫脹及び硬結は観察期間中に無視しうる程度にならなければならない。

3.3.5 不活化試験

3.3.5.1 試験材料

3.3.5.1.1 試料

100 倍量以上の透析・吸着用液（付記 17）を用い、検体 15mL を 2 ～ 7℃ で 24 ± 4 時間透析したものを試料とする。

3.3.5.1.2 培養細胞

PK-15 細胞を増殖用培養液（付記 18）に浮遊させ、150 cm² 培養フラスコで培養し、単層となったものを用いる。

3.3.5.2 試験方法

3.3.5.2.1 試料の接種及び継代

培養細胞に透析・吸着用液を 10mL 加えた後、試料 10mL を接種し、36 ± 2℃ で 2 時間 ± 15 分間吸着後、透析・吸着用液で洗浄する。増殖用培養液を 100mL 加え 36 ± 2℃ で 60 ～ 96 時間又は培養

細胞が単層形成するまで培養する。培養後、リン酸緩衝食塩液 A で洗浄した後、拡張継代し、 $36 \pm 2^\circ\text{C}$ で 60 ～ 96 時間又は培養細胞が単層形成するまで培養する。拡張継代は 4 回行う。4 回目の拡張継代時にチャンバースライドに継代し、 $36 \pm 2^\circ\text{C}$ 、4 ～ 6 vol % 炭酸ガス下で 60 ～ 96 時間又は培養細胞が単層形成するまで培養する。

3.3.5.2.2 間接蛍光抗体反応

チャンバースライドに培養した培養細胞をアセトンで固定後、リン酸緩衝食塩液 A で希釈した検出抗体を各穴に加え、 $36 \pm 2^\circ\text{C}$ で 60 分間以上感作させる。炭酸緩衝液（付記 19）で洗浄し、リン酸緩衝食塩液 A で希釈した二次抗体 A を各穴に加え、 $36 \pm 2^\circ\text{C}$ で 60 分間以上感作させる。炭酸緩衝液で洗浄し、蛍光顕微鏡下で観察する。

3.3.5.3 判定

培養細胞に特異蛍光抗原を認めてはならない。

3.3.6 力価試験

3.2.3 を準用して試験するとき、試験品の RP は 1.0 以上でなければならない。

付記 1 リン酸緩衝食塩液 A

1,000mL 中	
塩化ナトリウム	8.5g
リン酸水素二ナトリウム	0.22g
リン酸二水素ナトリウム	1.19g
水	残量
pH を 7.3 ± 0.2 に調整する。	

付記 2 検出抗体

cPCV1-2 に対する中和活性のあるモノクローナル抗体

付記 3 二次抗体 A

マウス IgG で免疫した山羊の血清を精製し、フルオレセインイソチオシアネートで標識したもの。

付記 4 参照ワクチン

豚サーコウイルス（2 型）感染症（1 型－2 型キメラ）（デキストリン誘導体アジュバント加）不活化ワクチン（以下この項において「ワクチン」という。）で、動物医薬品検査所が適当と認めたもの。

付記 5 プラセボワクチン

ウイルスを接種しないでワクチンの製造方法で製造されたもの。

付記 6 リン酸緩衝食塩液 B

1,000mL 中	
塩化ナトリウム	8.5g
リン酸二水素ナトリウム	0.253g
リン酸水素二ナトリウム	1.19g
水	残量
pH を 7.1 ～ 7.3 に調整する。	

付記 7 検体処理液

1,000mL 中

ポリソルベート 20

180mL

リン酸緩衝食塩液 B (付記 6)

残量

15 ~ 30 °C で保存する。

付記 8 捕獲抗体

豚サーコウイルス 2 型抗原で免疫して得た兔血清を、3.2.3 ウイルス抗原含有量試験を準用して試験したとき、処理参照ワクチンの吸光度が 1.4 ~ 2.0 を示すように吸着用緩衝液 (付記 9) で希釈したもの。

付記 9 吸着用緩衝液

1,000mL 中

炭酸ナトリウム

1.59g

炭酸水素ナトリウム

2.93g

水

残量

pH を 7.1 ~ 7.3 に調整する。

付記 10 洗浄・希釈液

リン酸緩衝食塩液にポリソルベート 20 を 0.3vol % となるように加えたもの。

付記 11 ブロッキング液

吸着用緩衝液に脱脂粉乳を 1.15 w/v % となるように加えたもの。

付記 12 抗体希釈用緩衝液

洗浄・希釈液に脱脂粉乳を 1.15 w/v % となるように加えたもの。

付記 13 2 vol % 正常兔血清加希釈液

抗体希釈用緩衝液に兔正常血清を 2 vol % となるように加えたもの。

付記 14 二次抗体 B

ペルオキシダーゼ標識した抗マウス IgG (H+L) 山羊血清

付記 15 基質液

A 液: テトラメチルベンチジン 0.4g を 26vol % *N.N.*-ジメチルホルムアミド 1,000mL で溶解したもの。

B 液: 0.02w/v % 過酸化水素溶液

使用時に A 液と B 液を等量混合して用いる。

付記 16 RP の計算法

動物医薬品検査所が適当と認めたもの。

付記 17 透析・吸着用液

1,000mL 中

ラクトアルブミン水解物

0.5g

MEM 又はイーグル MEM 残量
 炭酸水素ナトリウム、塩酸又は水酸化ナトリウムで pH6.9 ～ 7.1 に調整する。
 必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 18 増殖用培養液

1,000mL 中
 ラクトアルブミン水解物 0.5g
 牛胎子血清 20 ～ 50mL
 MEM 又はイーグル MEM 残量
 炭酸水素ナトリウム、塩酸又は水酸化ナトリウムで pH6.9 ～ 7.1 に調整する。
 必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 19 炭酸緩衝液

1,000mL 中
 塩化ナトリウム 0.85g
 炭酸ナトリウム 2.28g
 炭酸水素ナトリウム 6.72g
 ポリソルベート 80 0.5mL
 水 残量

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部の豚パルボウイルス感染症不活化ワクチンの項の次に次のように加える。

豚パルボウイルス感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチン

1 定義

豚パルボウイルスを培養細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化し、油性アジュバントを添加したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

豚パルボウイルスK22 MF15 ST94/626株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

豚腎継代細胞及び豚精巣継代細胞で増殖し、モルモット及び鶏の赤血球を凝集する。

2.1.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、豚精巣継代細胞又は適当と認められた培養細胞で継代する。

継代は、原株では3代以内、種ウイルスでは2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。

原株及び種ウイルスは、凍結して -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その保存温度とする。

2.2 製造用材料

2.2.1 培養細胞

豚精巣継代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。

2.3 原液

2.3.1 細胞の培養

1回に処理し、培養した細胞を個体別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。

個体別培養細胞について、3.1の試験を行う。ただし、2.3.1と2.3.2を同時に実施する場合には、本試験の実施を省略することができる。

2.3.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルスの増殖極期に個体別培養細胞ごとに採取した培養液をウイルス浮遊液とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その培養方法とする。

ウイルス浮遊液について、3.2の試験を行う。

2.3.3 不活化

ウイルス浮遊液にエチレンイミン又は製造に適当と認められた不活化剤を加えて不活化し、不活化ウイルス液とする。

不活化ウイルス液について、3.3の試験を行う。

2.3.4 原液

不活化ウイルス液を濃縮及び遠心し、生理食塩液に再浮遊したものを原液とする。

この場合、製造に適当と認められた保存剤を加えてもよい。

原液について、3.4の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液に適量のアジュバントを添加し、最終バルクとする。

この場合、製造に相当と認められた保存剤を加えてもよい。

2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。

小分製品について、3.5の試験を行う。

3 試験法

3.1 培養細胞の試験

個体別培養細胞の1%以上を対照培養細胞とし、これについて次の試験を行う。

3.1.1 培養観察

対照培養細胞を、ウイルスを接種することなく、ウイルスの培養と同じ条件で培養する。

対照培養細胞をプールし、4本以上の培養びんに継代し、7日間培養し、観察するとき、CPEを認めてはならない。

3.1.2 赤血球吸着試験

3.1.1の試験最終日に培養びんの培養液を除き、リン酸緩衝食塩液で細胞表面を2回洗浄後、3群に分け、モルモット、がちょう及び7日齢以内の鶏の赤血球浮遊液を重層し、静置後、赤血球吸着の有無を観察するとき、培養細胞に赤血球吸着を認めてはならない。

3.2 ウイルス浮遊液の試験

3.2.1 ウイルス含有量試験

3.2.1.1 試験材料

3.2.1.1.1 試料

検体をウイルス増殖用培養液で階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その希釈倍数とする。

3.2.1.1.2 培養細胞

豚精巢継代細胞その他相当と認められた細胞浮遊液を用いる。

3.2.1.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ4穴以上に分注し、細胞浮遊液を加え、37℃で9日間培養し、観察する。

3.2.1.3 判定

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。

検体のウイルス含有量は、1 mL中10^{6.5}TCID₅₀以上でなければならない。

3.3 不活化ウイルス液の試験

3.3.1 不活化試験

3.3.1.1 試験材料

3.3.1.1.1 試料

限外濾過により20倍に濃縮した不活化ウイルス液を試料とする。

3.3.1.1.2 培養細胞

豚精巢継代細胞をローラーボトルで培養し、単層となったものを用いる。

3.3.1.2 試験方法

試料を2本のローラーボトルに接種し、37℃で6日間培養後、細胞を観察し、-20℃以下で凍結する。融解した継代材料を同様に培養細胞に接種し、37℃で6日間培養後、細胞を観察し、-20℃以下で凍結する。融解した継代材料0.1mLを5穴以上の豚精巢継代細胞に接種し、37℃で4日間培養後、抗豚パルボウイルス血清（付記1）及び抗豚IgG蛍光標識抗体（付記2）による蛍光抗体法を行う。

3.3.1.3 判定

培養細胞にCPE及び特異蛍光抗原を認めてはならない。

3.4 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は、その試験方法とする。

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。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

3.5.2 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は、その試験方法とする。

3.5.3 毒性限度確認試験

一般試験法の毒性限度確認試験法 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、注射量は0.4mLとする。

3.5.4 力価試験

3.5.4.1又は3.5.4.2の試験を行う。

3.5.4.1 力価試験 1

3.5.4.1.1 試験材料

3.5.4.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.4.1.1.2 試験動物

約6～8週齢のモルモットを用いる。

3.5.4.1.1.3 赤血球凝集抗原

豚パルボウイルスK22 MF15 ST94/626株を豚精巢継代細胞で増殖させた培養上清を用いる。

3.5.4.1.2 試験方法

注射材料 2 mLずつを、5匹の試験動物の筋肉内に注射し、21日目に得られた各個体の血清について、赤血球凝集抑制試験を行う。

被検血清をホウ酸緩衝食塩液（付記3）で4倍に希釈し、等量の25w/v%カオリン液1（付記4）を加え、室温で処理する。遠心後の上清にモルモットの赤血球を加え、37℃で処理し、再度遠心し、上清を採取する。これを希釈液（付記5）で階段希釈し、各段階の希釈液に4単位の赤血球凝集抗原を等量加え、室温で60分間反応後、モルモット赤血球浮遊液を加えて4℃で一夜処理し、赤血球凝集の有無を観察する。

3.5.4.1.3 判定

赤血球凝集を阻止した血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価とする。

試験動物の赤血球凝集抑制抗体価の幾何平均は80倍以上でなければならない。

3.5.4.2 力価試験 2

3.5.4.2.1 試験材料

3.5.4.2.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.4.2.1.2 試験動物

体重約300gのモルモットを用いる。

3.5.4.2.1.3 赤血球凝集抗原

豚パルボウイルス90HS株又は適当と認められた株を用いて調製した赤血球凝集抗原（付記6）を用いる。

3.5.4.2.2 試験方法

注射材料 2 mLずつを、5匹の試験動物の皮下に注射し、28日目に得られた各個体の血清について、赤血球凝集抑制試験を行う。

被検血清をベロナール緩衝食塩液（以下この項において「VBS⁻」という。（付記7））で5倍に希釈し、等量の25w/v%カオリン液2（付記8）を加え、室温で20分間処理する。遠心後の上清に鶏又はモルモットの赤血球を加え、室温で処理し、再度遠心し、上清を採取する。これをVBS⁻で段階希釈し、各段階の希釈液に8単位の赤血球凝集抗原を等量加え、4℃で一夜処理する。これにVBS⁻で調製した鶏又はモルモットの赤血球浮遊液を加え、室温で静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

3.5.4.2.3 判定

赤血球凝集を阻止した血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価とする。

試験動物の赤血球凝集抑制抗体価の幾何平均は、80倍以上でなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、3年間とする。ただし、特に承認されたものは、その期間とする。

付記1 抗豚パルボウイルス血清

豚パルボウイルスで免疫した豚の血清で、豚パルボウイルスに特異的に反応するもの。

付記2 抗豚IgG蛍光標識抗体

豚のγ-グロブリンに対するウサギのγ-グロブリンを蛍光色素で標識したもの。

付記3 ホウ酸緩衝食塩液（pH9.0）

1,000mL中

塩化ナトリウム	7.01 g
ホウ酸	3.09 g
水酸化ナトリウム	0.96 g
水	残 量

付記4 25w/v%カオリン液1（pH8.5±0.5）

カオリンを精製水で3回洗浄後、ホウ酸緩衝食塩液で最終濃度25w/v%に調製したもの。

付記5 希釈液

牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液（付記9）を生理食塩液（pH7.15）で100倍に希釈したもの。

付記6 赤血球凝集抗原

豚パルボウイルス90HS株又は適当と認められた株を用いて調製した赤血球凝集抗原で、赤血球凝集価は64倍以上のもの。

付記7 ベロナール緩衝食塩液（pH7.2）

1,000mL中

バルビタール	0.575 g
バルビタールナトリウム	0.375 g
塩化ナトリウム	8.5 g
水	残 量

付記 8 25w/v%カオリン液 2 (pH7.2)

カオリンをリン酸緩衝食塩液で3回洗浄後、ホウ酸緩衝食塩液で最終濃度25w/v%に調製したもの。

付記 9 緩衝食塩液 (pH8.95±0.2)

1,000mL中

塩化ナトリウム

7.01 g

ホウ酸

3.09 g

水酸化ナトリウム

0.96 g

牛血清アルブミン

4.0 g

水

残 量

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部のイリドウイルス病不活化ワクチンの項を次のように改める。

イリドウイルス病不活化ワクチン

1 定義

マダイイリドウイルスを培養細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

マダイイリドウイルス Ehime-1/GF14株又はこれと同等の免疫原性を有すると認められた株

2.1.2 性状

GF細胞でCPEを伴って増殖、イリドウイルス感染症に対する免疫原性を有する。

2.1.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、GF細胞又は適当と認められた培養細胞で継代する。

継代は、原株では2代以内、種ウイルスでは3代以内でなければならない。

原株及び種ウイルスは、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 培養細胞

GF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。

2.3 原液

2.3.1 細胞の培養

1回に処理し、培養した細胞を個体別培養細胞とする。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。

個体別培養細胞について3.1の試験を行う。

2.3.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、個体別培養細胞ごとに採取した培養液の遠心上清をウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.2の試験を行う。

2.3.3 不活化

ウイルス浮遊液にホルマリン又は製造に適当と認められた不活化剤を加えて、不活化したものを不活化ウイルス液とする。不活化ウイルス液を原液としてもよい。

不活化ウイルス液について、3.3の試験を行う。

2.3.4 原液

不活化ウイルス液を原液としなかったものについて、複数の不活化ウイルス液を混合したものを原液とする。

原液について、3.4の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液又は複数の原液を混合したものを濃度調整して最終バルクとする。

2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。

小分製品について、3.5の試験を行う。

3 試験法

3.1 培養細胞の試験

個体別培養細胞の5%以上を対照培養細胞とし、これについて次の試験を行う。

3.1.1 培養観察

対照培養細胞を、ウイルスを接種することなく、25℃で7日間隔で2代まで継代培養し、観察するとき、いずれの継代においてもCPEを認めてはならない。

3.2 ウイルス浮遊液の試験

3.2.1 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。

3.2.2 ウイルス含有量試験

3.2.2.1 試験材料

3.2.2.1.1 試料

検体をウイルス含有量試験用培養液（付記1）又は細胞培養用培地（付記2）で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.2.1.2 培養細胞

GF細胞をウイルス含有量試験用培養液に約20万個/mLの濃度で浮遊させ、24穴のプレートに1 mLずつ、又は96穴プレートに0.1 mLずつ接種したものをを用いる。

3.2.2.2 試験方法

試料0.1 mLずつを、それぞれ4穴以上の培養細胞に接種し、25℃で14日間培養して、CPEの有無を観察する。

3.2.2.3 判定

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。

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。

3.3 不活化ウイルス液の試験

3.3.1 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。

3.3.2 不活化試験

3.3.2.1 試験材料

3.3.2.1.1 試料

100倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、検体5 mLを4℃で一夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

3.3.2.1.2 培養細胞

GF細胞を細胞培養用培地に約20万個/mLの濃度で浮遊させたものをを用いる。

3.3.2.2 試験方法

試料の全量を100 mL以上の培養細胞に接種し、25℃で7日間培養した後、その培養細胞をEDTA・トリプシン液で処理して細胞を分散し、細胞培養用培地に再浮遊し、更に25℃で7日間培養する。

3.3.2.3 判定

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。

3.4 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。

3.4.2 不活化試験

3.3.2を実施するものについては、本試験を実施しなくてもよい。

3.4.2.1 試験材料

3.4.2.1.1 試料

100倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、検体 5 mL を 4℃ で一夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

3.4.2.1.2 培養細胞

GF細胞を不活化試験用培養液（付記 3）に約 20 万個/mL の濃度で浮遊させたものを用いる。

3.4.2.2 試験方法

試料の全量を 100 mL 以上の培養細胞に接種し、25℃ で 7 日間培養した後、その培養細胞を EDTA・トリプシン液で処理して細胞を分散し、不活化試験用培養液に再浮遊し、更に 25℃ で 7 日間培養する。

3.4.2.3 判定

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。

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均質な液剤でなければならない。異物又は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。

3.5.2 pH 測定試験

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。

3.5.3 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。

3.5.4 ホルマリン定量試験

一般試験法のホルマリン定量法を準用して試験するとき、ホルマリンの含有量は、0.1 vol% 以下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、そのホルマリン含有量以下とする。

3.5.5 安全試験

3.5.5.1 又は 3.5.5.2 のいずれかの試験を行う。

3.5.5.1 安全試験 1

3.5.5.1.1 試験材料

3.5.5.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.5.1.1.2 試験動物

水温 22～28℃、循環式で 7 日間以上飼育し、異常のないことを確認した体重 5～15g のまだい 180 尾以上を用いる。

3.5.5.1.2 試験方法

試験動物は 24 時間餌止めした後、1 群 90 尾以上ずつの 2 群に分ける。1 群の試験動物に、注射材料 0.1 mL ずつを腹腔内に注射し、試験群とする。他の 1 群を対照群とする。それぞれ水温 22～28℃、循環式で飼育し、10 日間観察する。

3.5.5.1.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。

3.5.5.2 安全試験 2

3.5.5.2.1 試験材料

3.5.5.2.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.5.2.1.2 試験動物

水温22～28℃、循環式で7日間以上飼育し、異常のないことを確認した体重5～50gのまだい180尾以上を用いる。

3.5.5.2.2 試験方法

試験動物は24時間以上餌止めした後、1群90尾以上ずつの2群に分ける。1群の試験動物に、注射材料0.1mLずつを筋肉内に注射し、試験群とする。他の1群は対照群とし、試験群と同様の方法でリン酸緩衝食塩液を注射する。それぞれ水温22～28℃、循環式で飼育し、10日間観察する。

3.5.5.2.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。

3.5.6 力価試験

3.5.6.1 試験材料

3.5.6.1.1 試験動物

3.5.5.1又は3.5.5.2の試験に用いた動物を用いる。

3.5.6.1.2 攻撃用ウイルス液

マダイリドウイルス強毒株（付記4）の培養ウイルス液を希釈液（付記5）で10倍階段希釈し、対照群の死亡率が80%と予測される希釈とその前後の希釈の3段階の希釈ウイルス液を攻撃用ウイルス液とする。

3.5.6.2 試験方法

3.5.5.1又は3.5.5.2の試験最終日の前日から24時間餌止めした試験群及び対照群をそれぞれ30尾以上の3群ずつに分け、それぞれの攻撃用ウイルス液0.1mLを腹腔内に注射して攻撃し、14日間観察して各群の生死を調べる。

3.5.6.3 判定

対照群の60%以上が死亡した攻撃用ウイルスの希釈段階のうち、少なくとも1段階において試験群の生残率が対照群のそれより40%以上高い値を示さなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は1年6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 ウイルス含有量試験用培養液

1,000mL中	
牛胎子血清	100mL
MEM 非必須アミノ酸溶液（100倍濃縮液）	10mL
イーグルMEM	残量
炭酸水素ナトリウムでpHを7.8～8.6に調整する。	
必要最小量の抗生物質を加えてもよい。	

付記2 細胞培養用培地

1,000mL中	
牛胎子血清	50～100mL
イーグル ダルベッコMEM	残量
炭酸水素ナトリウムでpHを7.0～7.6に調整する。	
必要最小量の抗生物質を加えてもよい。	

付記3 不活化試験用培養液

1,000mL中	
牛胎子血清	100mL

MEM 非必須アミノ酸溶液（100倍濃縮液） 10mL
イーグルMEM 残 量
炭酸水素ナトリウムでpHを7.0～7.8に調整する。
必要最小量の抗生物質を加えてもよい。

付記 4 マダイイリドウイルス強毒株
マダイイリドウイルスEhime-1/CV株又はこれと同等以上の毒力を有する株

付記 5 希釈液
1,000mL中
牛胎子血清 100mL
イーグルMEM 残 量
炭酸水素ナトリウムでpHを7.2～7.6に調整する。

(別紙2)

○農林水産省告示第千七百二号

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施行令（昭和三十六年政令第十一号）第八十三条の規定により読み替えて適用される同令第六十条第一項の規定に基づき、動物用生物学的製剤検定基準（平成十四年十月三日農林水産省告示第千五百六十八号）の一部を次のように改正し、公布の日から施行する。

平成二十九年十一月七日

農林水産大臣 齋藤 健

（「次のよう」は、省略し、その関係書類を農林水産省消費・安全局畜水産安全管理課及び都道府県庁に備え置いて縦覧に供する。）

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部の豚丹毒（アジュバント加）ワクチン（組換え型）の項の次に次のように加える。

豚丹毒（油性アジュバント加）ワクチン（組換え型）

組換えブレヴィバチルス・チョーシネンシスで産生される豚丹毒菌の表層防御抗原たん白を精製したものに、油性アジュバントを添加したワクチンである。

1 小分製品の試験

1.1 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。

1.2 異常毒性否定試験

一般試験法の異常毒性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。

1.3 力価試験

1.3.1 試験材料

1.3.1.1 注射材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で 30 倍に希釈したものを注射材料とする。

1.3.1.2 試験動物

4 週齢のマウスを用いる。

1.3.1.3 攻撃用菌液

豚丹毒菌藤沢株又はこれと同等の毒力を有する株を攻撃菌用培地（付記 1）に接種し、37℃で 18 ～ 24 時間培養する。これを普通ブイヨンで 1 mL 中 10^3 個の菌量になるように希釈したものを攻撃用菌液とする。

1.3.2 試験方法

試験動物 10 匹を試験群とし、10 匹を対照群とする。

注射材料 0.5mL ずつを試験群の内股部皮下に注射する。注射後 3 週目に、攻撃用菌液を試験群及び対照群の内股部皮下に 0.1mL ずつ注射して攻撃した後、7 日間観察する。

1.3.3 判定

試験群においては、70 %以上が耐過生存しなければならない。この場合、対照群においては、90 %以上が死亡しなければならない。

付記 1 攻撃菌用培地

1,000mL 中

ブレインハートインフュージョン 37 g

トリスヒドロキシメチルアミノメタン 3 g

ポリソルベート 80 1 mL

水 残 量

pH を 7.6 に調整して、121℃で 15 分間高圧滅菌する。

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部のニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎 3 価・産卵低下症候群－ 1976・鶏伝染性コリーザ（A・C 型）・マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症混合（油性アジュバント加）不活化ワクチンの項の次に次のように加える。

ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎 2 価・産卵低下症候群－1976・鶏サルモネラ症（サルモネラ・インファンティス抽出抗原・サルモネラ・エンテリティディス抽出抗原・サルモネラ・ティフィムリウム抽出抗原）・鶏伝染性コリーザ（A・C 型組換え融合抗原）・マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症混合（油性アジュバント加）不活化ワクチン

ニューカッスル病ウイルス及び血清型のそれぞれ異なる 2 種類の鶏伝染性気管支炎ウイルスを発育鶏卵で増殖させて得たウイルス液、産卵低下症候群－ 1976 ウイルスを培養細胞で増殖させたウイルス液並びにマイコプラズマ・ガリセプチカムの培養菌液をそれぞれ不活化したもの、サルモネラ・インファンティス（以下この項において「SI」という。）、サルモネラ・エンテリティディス（以下この項において「SE」という。）及びサルモネラ・ティフィムリウム（以下この項において「ST」という。）のそれぞれの培養菌液を不活化し、濃縮した後、破碎処理して得た抽出抗原並びにヘモフィルス・パラガリナルム（A 型菌及び C 型菌）の組換え融合抗原産生大腸菌に発現させた組換えたん白質の可溶化溶液に油性アジュバントを添加し、混合したワクチンである。

1 小分製品の試験

1.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法により試験を行い、これに適合しなければならない。

1.2 安全試験

1.2.1 試験材料

1.2.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

1.2.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 5 ～ 7 週齢の鶏を用いる。

1.2.2 試験方法

試験動物の 10 羽を試験群、3 羽を対照群とする。

注射材料の 1 羽分ずつを試験群の脚部筋肉内に注射し、対照群と共に 4 週間観察する。

1.2.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。

1.3 力価試験

1.3.1 ニューカッスル病力価試験

1.3.1.1 試験材料

1.3.1.1.1 試験動物

1.2 の試験に用いた動物を用いる。

1.3.1.1.2 赤血球凝集抗原

「ニューカッスル病診断用赤血球凝集抗原」を用いる。

1.3.1.2 試験方法

1.2 の試験最終日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、ニューカッスル病ウイルス赤血球凝集抑制試験を行う。

1.3.1.3 判定

赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価（以下この項において「HI 抗体価」という。）とする。

試験群の 80 % 以上が HI 抗体価 80 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 HI 抗体価 5 倍未満でなければならない。

1.3.2 鶏伝染性気管支炎力価試験

1.3.2.1 試験材料

1.3.2.1.1 試験動物

1.2 の試験に用いた動物を用いる。

1.3.2.1.2 中和試験用ウイルス

それぞれの製造用株を用いる。ただし、そのウイルス量は、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 9 ～ 10 日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、ウイルス価を測定するとき、1 mL 中 $10^{5.0}$ EID₅₀ 以上でなければならない。

1.3.2.1.3 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 9 ～ 10 日齢のものを用いる。

1.3.2.2 試験方法

1.2 の試験最終日に試験群及び対照群から得られた血清について、ウイルス希釈法により中和試験を行う。血清は、それぞれ各群ごとに等量プールし、非働化する。

それぞれの中和試験用ウイルスを牛血清アルブミン加リン酸緩衝食塩液（付記 1）で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を 3 群に分け、第 1 群には試験群のプール血清を、第 2 群には対照群のプール血清を、第 3 群にはウイルス対照として牛血清アルブミン加リン酸緩衝食塩液を、それぞれ等量加えて混合する。これらの混合液を 2 ～ 10 °C で 18 ～ 24 時間、又は 37 °C で 60 分間処理する。処理した試料 0.1 mL ずつを 5 個以上の発育鶏卵に注射し、37 °C で 7 ～ 8 日間培養し、観察する。

1.3.2.3 判定

鶏胚に死亡又は変性（発育不全、カーリング）を認めたものを感染したものとみなし、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。

試験群のそれぞれの株に対する中和指数は、対照群に対し 2.0 以上でなければならない。この場合において、対照群の中和指数は、ウイルス対照に対し 1.0 以下でなければならない。

1.3.3 産卵低下症候群－1976 力価試験

1.3.3.1 試験材料

1.3.3.1.1 試験動物

1.2 の試験に用いた動物を用いる。

1.3.3.1.2 赤血球凝集抗原

産卵低下症候群－1976 ウイルス赤血球凝集抗原（付記 2）を用いる。

1.3.3.2 試験方法

1.2 の試験最終日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、産卵低下症候群-1976 ウイルス赤血球凝集抑制試験を行う。

血清 1 容に 25w/v % カオリン液（付記 3）3 容を加えて 20 分間処理した後、遠心した上清を採取する。これを生理食塩液で 2 倍階段希釈し、各希釈血清 25 μL に等量の 4 単位の産卵低下症候群－1976 ウイルス赤血球凝集抗原を加えて混合し反応させた後、鶏赤血球浮遊液を 50 μL ずつ加

えて振とう混合し、静置した後に、赤血球凝集の有無を観察する。

1.3.3.3 判定

赤血球凝集が抑制された血清の最高希釈倍数を HI 抗体価とする。

試験群の 80 % 以上が HI 抗体価 32 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、全て HI 抗体価 4 倍以下でなければならない。

1.3.4 鶏サルモネラ症 (SI) 力価試験

1.3.4.1 試験材料

1.3.4.1.1 試験動物

1.2 の試験に使用した試験動物を用いる。

1.3.4.1.2 酵素抗体反応 (以下この項において「ELISA」という。) 用抗原

SI LPS-ELISA 抗原 (付記 4) を用いる。

1.3.4.2 試験方法

1.2 の試験最終日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各血清、SI 参照陽性血清 (付記 5) 及び参照陰性血清 (付記 6) を検体希釈液 (付記 7) で 400 倍に希釈し、それぞれ SI LPS-ELISA 抗原吸着プレート (付記 8) 2 穴に 50 μ L ずつ加え、25 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、洗浄液 (付記 9) で洗浄する。各穴に酵素標識抗体 (付記 10) を 50 μ L ずつ加え、25 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。基質液 (付記 11) を 100 μ L ずつ加え、遮光して 25 $^{\circ}$ C で反応させた後、反応停止液 (付記 12) を 100 μ L ずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長 450nm 及び副波長 650nm で測定し、これらの差を ELISA 値とする。

1.3.4.3 判定

各血清の ELISA 値の平均値を SI 参照陽性血清の ELISA 値の平均値で除したものを、各血清の ELISA 抗体価とする。

試験群の ELISA 抗体価の平均値は 1.231 以上でなければならない。対照群の ELISA 抗体価はいずれも 0.200 未満でなければならない。また、SI 参照陽性血清の ELISA 値の平均値は 0.800 ~ 1.300 を示さなければならない。参照陰性血清の ELISA 値の平均値は 0.200 未満でなければならない。

1.3.5 鶏サルモネラ症 (SE) 力価試験

1.3.5.1 試験材料

1.3.5.1.1 試験動物

1.2 の試験に使用した試験動物を用いる。

1.3.5.1.2 ELISA 用抗原

SE LPS-ELISA 抗原 (付記 13) を用いる。

1.3.5.2 試験方法

1.2 の試験最終日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各血清、SE 参照陽性血清 (付記 14) 及び参照陰性血清を SE 検体前処理液 (付記 15) で 100 倍希釈し、2 ~ 10 $^{\circ}$ C で一夜反応させる。SE 検体前処理液で処理した血清を検体希釈液で 4 倍に希釈し、それぞれ SE LPS-ELISA 抗原吸着プレート (付記 16) 2 穴に 50 μ L ずつ加え、25 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体を 50 μ L ずつ加え、25 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。基質液を 100 μ L ずつ加え、遮光して 25 $^{\circ}$ C で反応させた後、反応停止液を 100 μ L ずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長 450nm 及び副波長 650nm で測定し、これらの差を ELISA 値とする。

1.3.5.3 判定

各血清の ELISA 値を SE 参照陽性血清の ELISA 値の平均値で除したものを、各血清の ELISA 抗体価とする。

試験群の ELISA 抗体価の平均値は 1.139 以上でなければならない。対照群の ELISA 抗体価はいず

れも 0.200 未満でなければならない。また、SE 参照陽性血清の ELISA 値の平均値は 0.800 ～ 1.300 を示さなければならない、参照陰性血清の ELISA 値の平均値は 0.200 未満でなければならない。

1.3.6 鶏サルモネラ症 (ST) 力価試験

1.3.6.1 試験材料

1.3.6.1.1 試験動物

1.2 の試験に使用した試験動物を用いる。

1.3.6.1.2 ELISA 用抗原

ST LPS-ELISA 抗原 (付記 17) を用いる。

1.3.6.2 試験方法

1.2 の試験最終日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各血清、ST 参照陽性血清 (付記 18) 及び参照陰性血清を ST 検体前処理液 (付記 19) で 100 倍希釈し、2 ～ 10 °C で一夜反応させる。ST 検体前処理液で処理した血清を検体希釈液で 4 倍に希釈し、それぞれ ST LPS-ELISA 抗原吸着プレート (付記 20) 2 穴に 50 μ L ずつ加え、25 °C で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体を 50 μ L ずつ加え、25 °C で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。基質液を 100 μ L ずつ加え、遮光して 25 °C で反応させた後、反応停止液を 100 μ L ずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長 450nm 及び副波長 650nm で測定し、これらの差を ELISA 値とする。

1.3.6.3 判定

各血清の ELISA 値を ST 参照陽性血清の ELISA 値の平均値で除したものを、各血清の ELISA 抗体価とする。

試験群の ELISA 抗体価の平均値は 1.244 以上でなければならない、対照群の ELISA 抗体価はいずれも 0.200 未満でなければならない。また、ST 参照陽性血清の ELISA 値の平均値は 0.800 ～ 1.300 を示さなければならない、参照陰性血清の ELISA 値の平均値は 0.200 未満でなければならない。

1.3.7 鶏伝染性コリーザ (A・C型) 力価試験

1.3.7.1 A型力価試験

1.3.7.1.1 試験材料

1.3.7.1.1.1 試験動物

1.2 の試験に用いた動物を用いる。

1.3.7.1.2 試験方法

1.2 の試験最終日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。精製組換え A 型 ELISA 抗原 (付記 21) を 96 穴プレートの各穴に 50 μ L ずつ加え、2 ～ 10 °C で一夜反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴にブロッキング溶液 (付記 22) を 300 μ L ずつ加え、20 ～ 30 °C で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。試験群の血清、対照群の血清及び A・C 参照陽性血清 (付記 23) を検体希釈液で 100 倍に希釈したものをそれぞれ 2 穴に 50 μ L ずつ加え、20 ～ 30 °C で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体を 50 μ L ずつ加え、20 ～ 30 °C で 30 分間反応させた後、洗浄液で洗浄する。基質液を 100 μ L ずつ加え、遮光して 20 ～ 30 °C で反応させた後、反応停止液を 100 μ L ずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長 450nm 及び副波長 650nm で測定し、これらの差を ELISA 値とする。

1.3.7.1.3 判定

被検血清の ELISA 値を A・C 参照陽性血清の ELISA 値で除したものを各被検血清の抗体価とするとき、試験群の 80 % 以上が抗体価 0.300 以上でなければならない。この場合において、対照群の全てが抗体価 0.300 未満でなければならない。

1.3.7.2 C型力価試験

1.3.7.2.1 試験材料

1.3.7.2.1.1 試験動物

1.2 の試験に用いた動物を用いる。

1.3.7.2.2 試験方法

1.2 の試験最終日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。精製組換え C 型 ELISA 抗原（付記 24）を 96 穴プレートの各穴に 50 μ L ずつ加え、2 ～ 10 $^{\circ}$ C で一夜反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴にブロッキング溶液を 300 μ L ずつ加え、20 ～ 30 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。試験群の血清、対照群の血清及び A・C 参照陽性血清を検体希釈液で 100 倍に希釈したものをそれぞれ 2 穴に 50 μ L ずつ加え、20 ～ 30 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体を 50 μ L ずつ加え、20 ～ 30 $^{\circ}$ C で 30 分間反応させた後、洗浄液で洗浄する。基質液を 100 μ L ずつ加え、遮光して 20 ～ 30 $^{\circ}$ C で反応させた後、反応停止液を 100 μ L ずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長 450nm 及び副波長 650nm で測定し、これらの差を ELISA 値とする。

1.3.7.2.3 判定

被検血清の ELISA 値を A・C 参照陽性血清の ELISA 値で除したものを各被検血清の抗体価とすると、試験群の 80 % 以上が抗体価 0.300 以上でなければならない。この場合において、対照群の全てが抗体価 0.300 未満でなければならない。

1.3.8 マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症力価試験

1.3.8.1 試験材料

1.3.8.1.1 試験動物

1.2 の試験に用いた動物を用いる。

1.3.8.1.2 赤血球凝集抗原

マイコプラズマ・ガリセプチカム赤血球凝集抗原（付記 25）を用いる。

1.3.8.2 試験方法

1.2 の試験最終日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、マイコプラズマ・ガリセプチカム赤血球凝集抑制試験を行う。

血清をリン酸緩衝食塩液（以下この項において「PBS」という。）で 2 倍階段希釈し、各希釈血清 25 μ L に等量の 4 単位のマイコプラズマ・ガリセプチカム赤血球凝集抗原を加えて混合し、15 ～ 20 分間処理した後、0.25vol % の鶏赤血球浮遊液を 50 μ L ずつ加えて振とう混合し、2 ～ 10 $^{\circ}$ C で一夜又は室温で 120 分間処理した後、赤血球凝集の有無を観察する。

1.3.8.3 判定

赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数を HI 抗体価とする。

試験群の HI 抗体価の幾何平均値は、0.90 を超えなければならない。この場合において、対照群は、全て HI 抗体価 4 倍未満でなければならない。

なお、HI 抗体価の幾何平均値は、HI 抗体価の常用対数の平均値とする。

付記 1 牛血清アルブミン加リン酸緩衝食塩液

PBS に 5.5w/v % 牛血清アルブミン溶液を 3 ～ 5 vol % になるように添加したもの。

付記 2 産卵低下症候群－1976 ウイルス赤血球凝集抗原

産卵低下症候群－1976 ウイルス JPA-1 株又はこれと同等と認められた株を生ワクチン製造用材料の規格 1.3 の発育あひる卵で増殖させて得た尿膜腔液又は生ワクチン製造用材料の規格 2.1.3 の鶏胚肝初代細胞で増殖させて得た培養上清に 0.2vol % になるようにホルマリンを加えて不活化したもの。

付記 3 25w/v % カオリン液

100mL 中

カオリン

25 g

PBS

残 量

121℃で15分間高压滅菌し、2～10℃に保存する。

付記4 SI LPS-ELISA 抗原

SI I-178 株又はこれと同等の抗原性を有する株の不活化菌液にフェノールを添加し、遠心によりたん白質を除去した LPS 抗原であり、PBS で透析したもの。本抗原を用いて 1.3.4.2 の試験により ELISA を行うとき、SI 参照陽性血清の ELISA 値の平均値が 0.800 ～ 1.300 を示す。使用時のエンドトキシン量が 2,500 ～ 10,000 EU/穴になるように PBS で調整する。

付記5 SI 参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏を SI 菌体抽出抗原で免疫して得られた血清で、1.3.4.2 の試験により ELISA を行うとき、ELISA 値の平均値が 0.800 ～ 1.300 を示すもの。

付記6 参照陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、1.3.4.2、1.3.5.2 及び 1.3.6.2 の試験により ELISA を行うとき、ELISA 値の平均値が 0.200 未満を示すもの。

付記7 検体希釈液

精製水にスキムミルクを 10w/v%、ポリソルベート 20 を 0.1vol% となるように加え、溶解したもの。

付記8 SI LPS-ELISA 抗原吸着プレート

SI LPS-ELISA 抗原を 96 穴プレートの各穴に 50 μ L ずつ加え、25℃で1時間反応させた後、洗浄液で洗浄し、次に、各穴に 5 w/v %スキムミルク溶液を 300 μ L ずつ加え、25℃で1時間反応させた後、洗浄液で洗浄したもの。

付記9 洗浄液

PBS1,000mL にポリソルベート 20 を 0.5mL 添加したもの。

付記10 酵素標識抗体

ペルオキシダーゼ標識抗鶏 IgG (H+L) 抗体。1.3.4.2、1.3.5.2 及び 1.3.6.2 の試験に使用する場合は、SI 参照陽性血清、SE 参照陽性血清及び ST 参照陽性血清のそれぞれの ELISA 値の平均値が 0.800 ～ 1.300 を示すように 5 w/v %スキムミルク溶液にて希釈して用いる。

また、1.3.7.1.2 及び 1.3.7.2.2 の試験に使用する場合は、A・C参照陽性血清の ELISA 値が A型に対しては 0.800 ～ 1.350、C型に対しては 0.750 ～ 1.350 を示すように標識抗体希釈液(付記 26) で希釈して用いる。

付記11 基質液

市販のテトラメチルベンチジン (TMB) 基質液を用いる。

付記12 反応停止液

1,000mL 中

硫酸

55 mL

精製水

残 量

付記 13 SE LPS-ELISA 抗原

SE E-926 株又はこれと同等の抗原性を有する株の不活化菌液にフェノールを添加し、遠心によりたん白質を除去した LPS 抗原であり、PBS で透析したもの。本抗原を用いて 1.3.5.2 の試験により ELISA を行うとき、SE 参照陽性血清の ELISA 値の平均値が 0.800 ～ 1.300 を示す。使用時のエンドトキシン量が 2,500 ～ 10,000 EU/穴になるように PBS で調整する。

付記 14 SE 参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏を SE 菌体抽出抗原で免疫して得られた血清で、1.3.5.2 の試験により ELISA を行うとき、ELISA 値の平均値が 0.800 ～ 1.300 を示すもの。

付記 15 SE 検体前処理液

ST T-023 株又はこれと同等の抗原性を有する株の菌体抽出抗原液をエンドトキシン量が 50,000 EU/mL になるように PBS で調整したもの。

付記 16 SE LPS-ELISA 抗原吸着プレート

SE LPS-ELISA 抗原を 96 穴プレートの各穴に 50 μ L ずつ加え、25 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄し、次に、各穴に 5 w/v % スキムミルク溶液を 300 μ L ずつ加え、25 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄したもの。

付記 17 ST LPS-ELISA 抗原

ST T-023 株又はこれと同等の抗原性を有する株の不活化菌液にフェノールを添加し、遠心によりたん白質を除去した LPS 抗原であり、PBS で透析したもの。本抗原を用いて 1.3.6.2 の試験により ELISA を行うとき、ST 参照陽性血清の ELISA 値の平均値が 0.800 ～ 1.300 を示す。使用時のエンドトキシン量が 2,500 ～ 10,000 EU/穴になるように PBS で調整する。

付記 18 ST 参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏を ST 菌体抽出抗原で免疫して得られた血清で、1.3.6.2 の試験により ELISA を行うとき、ELISA 値の平均値が 0.800 ～ 1.300 を示すもの。

付記 19 ST 検体前処理液

SE E-926 株又はこれと同等の抗原性を有する株の菌体抽出抗原液をエンドトキシン量が 50,000 EU/mL になるように PBS で調整したもの。

付記 20 ST LPS-ELISA 抗原吸着プレート

ST LPS-ELISA 抗原を 96 穴プレートの各穴に 50 μ L ずつ加え、25 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄し、次に、各穴に 5 w/v % スキムミルク溶液を 300 μ L ずつ加え、25 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄したもの。

付記 21 精製組換え A 型 ELISA 抗原

ヘモフィルス・パラガリナリム A 型菌 No.221 株由来の遺伝子を保有する組換え大腸菌の培養菌液を超音波破碎後、尿素で可溶化した溶液をアフィニティクロマトグラフィーで精製し、PBS で透析したもので、たん白質量が 0.1 μ g/穴になるように PBS で調整した本抗原を用いて、1.3.7.1.2 により ELISA を行うとき、A・C 参照陽性血清の ELISA 値が 0.800 ～ 1.350 を示すもの。

付記 22 ブロッキング溶液

PBS にスキムミルクを 5 w/v % となるように加え、溶解したもの。

付記 23 A・C 参照陽性血清

組換え大腸菌発現ヘモフィルス・パラガリナルム AC 融合抗原液で免疫した、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、1.3.7.1.2 及び 1.3.7.2.2 により ELISA を行うとき、ELISA 値が A 型に対して 0.800 ~ 1.350、C 型に対して 0.750 ~ 1.350 を示さなければならない。

付記 24 精製組換え C 型 ELISA 抗原

ヘモフィルス・パラガリナルム C 型菌 53-47 株由来の遺伝子を保有する組換え大腸菌の培養菌液を超音波破碎後、尿素で可溶化した溶液をアフィニティクロマトグラフィーで精製し、PBS で透析したもので、たん白質量が $0.1 \mu\text{g}/\text{穴}$ になるように PBS で調整した本抗原を用いて、1.3.7.2.2 により ELISA を行うとき、A・C 参照陽性血清の ELISA 値が 0.750 ~ 1.350 を示すもの。

付記 25 マイコプラズマ・ガリセプチカム赤血球凝集抗原

製造用株を培養し、ホルマリンを加えて不活化した菌液を遠心洗浄後、再浮遊し、これにグリセリンを等量加え、 -20°C 以下に保存したもの。

付記 26 標識抗体希釈液

1,000mL 中

スキムミルク

50 g

ポリソルベート 20

1 mL

水

残 量

ワクチン（シードロット製剤）の部の鶏サルモネラ症（サルモネラ・インファンティス・サルモネラ・エンテリティディス・サルモネラ・ティフィムリウム）（油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード）の項の次に次のように加える。

鶏サルモネラ症（サルモネラ・インファンティス抽出抗原・サルモネラ・エンテリティディス抽出抗原・サルモネラ・ティフィムリウム抽出抗原）（油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード）

シードロット規格に適合したサルモネラ・インファンティス（以下この項において「SI」という。）、サルモネラ・エンテリティディス（以下この項において「SE」という。）及びサルモネラ・ティフィムリウム（以下この項において「ST」という。）のそれぞれの培養菌液を不活化し、濃縮した後、破碎処理して得た抽出抗原に油性アジュバントを添加したものを混合したワクチンである。

1 小分製品の試験

1.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法により試験を行い、これに適合しなければならない。

1.2 力価試験

1.2.1 鶏サルモネラ症（SI）力価試験

1.2.1.1 試験材料

1.2.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

1.2.1.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 5～7 週齢の鶏を用いる。

1.2.1.1.3 酵素抗体反応（以下この項において「ELISA」という。）用抗原

SI LPS-ELISA 抗原（付記 1）を用いる。

1.2.1.2 試験方法

試験動物の 10 羽を試験群、3 羽を対照群とする。

注射材料 1 羽分ずつを試験群の脚部筋肉内に注射し、対照群と共に 4 週間飼育する。

試験最終日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各血清、SI 参照陽性血清（付記 2）及び参照陰性血清（付記 3）を検体希釈液（付記 4）で 400 倍に希釈し、それぞれ SI LPS-ELISA 抗原吸着プレート（付記 5）2 穴に 50μL ずつ加え、25℃で 1 時間反応させた後、洗浄液（付記 6）で洗浄する。各穴に酵素標識抗体（付記 7）を 50μL ずつ加え、25℃で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。基質液（付記 8）を 100μL ずつ加え、遮光して 25℃で反応させた後、反応停止液（付記 9）を 100μL ずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長 450nm 及び副波長 650nm で測定し、これらの差を ELISA 値とする。

1.2.1.3 判定

各血清の ELISA 値の平均値を SI 参照陽性血清の ELISA 値の平均値で除したものを、各血清の ELISA 抗体価とする。

試験群の ELISA 抗体価の平均値は 1.600 以上でなければならない。対照群の ELISA 抗体価はいずれも 0.200 未満でなければならない。また、SI 参照陽性血清の ELISA 値の平均値は 0.800～1.300 を示さなければならない。参照陰性血清の ELISA 値の平均値は 0.200 未満でなければならない。

1.2.2 鶏サルモネラ症（SE）力価試験

1.2.2.1 試験材料

1.2.2.1.1 試験動物

1.2.1 の試験に使用した試験動物を用いる。

1.2.2.1.2 ELISA 用抗原

SE LPS - ELISA 抗原 (付記 10) を用いる。

1.2.2.2 試験方法

1.2.1 の試験において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各血清、SE 参照陽性血清 (付記 11) 及び参照陰性血清を SE 検体前処理液 (付記 12) で 100 倍希釈し、2 ～ 10 ℃ で一夜反応させる。SE 検体前処理液で処理した血清を検体希釈液で 4 倍に希釈し、それぞれ SE LPS-ELISA 抗原吸着プレート (付記 13) 2 穴に 50μL ずつ加え、25 ℃ で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体を 50μL ずつ加え、25 ℃ で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。基質液を 100μL ずつ加え、遮光して 25 ℃ で反応させた後、反応停止液を 100μL ずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長 450nm 及び副波長 650nm で測定し、これらの差を ELISA 値とする。

1.2.2.3 判定

各血清の ELISA 値を SE 参照陽性血清の ELISA 値の平均値で除したものを、各血清の ELISA 抗体価とする。

試験群の ELISA 抗体価の平均値は 1.347 以上でなければならず、対照群の ELISA 抗体価はいずれも 0.200 未満でなければならない。また、SE 参照陽性血清の ELISA 値の平均値は 0.800 ～ 1.300 を示さなければならず、参照陰性血清の ELISA 値の平均値は 0.200 未満でなければならない。

1.2.3 鶏サルモネラ症 (ST) 力価試験

1.2.3.1 試験材料

1.2.3.1.1 試験動物

1.2.1 の試験に使用した試験動物を用いる。

1.2.3.1.2 ELISA 用抗原

ST LPS - ELISA 抗原 (付記 14) を用いる。

1.2.3.2 試験方法

1.2.1 の試験において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各血清、ST 参照陽性血清 (付記 15) 及び参照陰性血清を ST 検体前処理液 (付記 16) で 100 倍希釈し、2 ～ 10 ℃ で一夜反応させる。ST 検体前処理液で処理した血清を検体希釈液で 4 倍に希釈し、それぞれ ST LPS-ELISA 抗原吸着プレート (付記 17) 2 穴に 50μL ずつ加え、25 ℃ で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体を 50μL ずつ加え、25 ℃ で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。基質液を 100μL ずつ加え、遮光して 25 ℃ で反応させた後、反応停止液を 100μL ずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長 450nm 及び副波長 650nm で測定し、これらの差を ELISA 値とする。

1.2.3.3 判定

各血清の ELISA 値を ST 参照陽性血清の ELISA 値の平均値で除したものを、各血清の ELISA 抗体価とする。

試験群の ELISA 抗体価の平均値は 1.302 以上でなければならず、対照群の ELISA 抗体価はいずれも 0.200 未満でなければならない。また、ST 参照陽性血清の ELISA 値の平均値は 0.800 ～ 1.300 を示さなければならず、参照陰性血清の ELISA 値の平均値は 0.200 未満でなければならない。

付記 1 SI LPS-ELISA 抗原

SI I-178 株又はこれと同等の抗原性を有する株の不活化菌液にフェノールを添加し、遠心によりたん白質を除去した LPS 抗原であり、リン酸緩衝食塩液 (以下この項において「PBS」と

いう。)で透析したもの。本抗原を用いて 1.3.1.2 の試験により ELISA を行うとき、SI 参照陽性血清の ELISA 値の平均値が 0.800 ~ 1.300 を示す。使用時のエンドトキシン量が 2,500 ~ 10,000 EU/穴になるように PBS で調整する。

付記 2 SI 参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏を SI 菌体抽出抗原で免疫して得られた血清で、1.3.1.2 の試験により ELISA を行うとき、ELISA 値の平均値が 0.800 ~ 1.300 を示すもの。

付記 3 参照陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、1.3.1.2、1.3.2.2 及び 1.3.3.2 の試験により ELISA を行うとき、ELISA 値の平均値が 0.200 未満を示すもの。

付記 4 検体希釈液

精製水にスキムミルクを 10w/v%、ポリソルベート 20 を 0.1vol% となるように加え、溶解したもの。

付記 5 SI LPS-ELISA 抗原吸着プレート

SI LPS-ELISA 抗原を 96 穴プレートの各穴に 50 μ L ずつ加え、25℃で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄し、次に、各穴に 5 w/v %スキムミルク溶液を 300 μ L ずつ加え、25℃で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄したもの。

付記 6 洗浄液

PBS1,000mL にポリソルベート 20 を 0.5mL 添加したもの。

付記 7 酵素標識抗体

ペルオキシダーゼ標識抗鶏 IgG (H+L) 抗体。1.3.1.2、1.3.2.2 及び 1.3.3.2 の試験により ELISA を行うとき、SI 参照陽性血清、SE 参照陽性血清及び ST 参照陽性血清のそれぞれの ELISA 値の平均値が 0.800 ~ 1.300 を示すように 5 w/v %スキムミルク溶液にて希釈して用いる。

付記 8 基質液

市販のテトラメチルベンチジン (TMB) 基質液を用いる。

付記 9 反応停止液

1,000mL 中

硫酸

55 mL

精製水

残 量

付記 10 SE LPS-ELISA 抗原

SE E-926 株又はこれと同等の抗原性を有する株の不活化菌液にフェノールを添加し、遠心によりたん白質を除去した LPS 抗原であり、PBS で透析したもの。本抗原を用いて 1.3.2.2 の試験により ELISA を行うとき、SE 参照陽性血清の ELISA 値の平均値が 0.800 ~ 1.300 を示す。使用時のエンドトキシン量が 2,500 ~ 10,000 EU/穴になるように PBS で調整する。

付記 11 SE 参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏を SE 菌体抽出抗原で免疫して得られた血清で、

1.3.2.2 の試験により ELISA を行うとき、ELISA 値の平均値が 0.800 ～ 1.300 を示すもの。

付記 12 SE 検体前処理液

ST T-023 株又はこれと同等の抗原性を有する株の菌体抽出抗原液をエンドトキシン量が 50,000 EU/mL になるように PBS で調整したもの。

付記 13 SE LPS-ELISA 抗原吸着プレート

SE LPS-ELISA 抗原を 96 穴プレートの各穴に 50 μ L ずつ加え、25℃で1時間反応させた後、洗浄液で洗浄し、次に、各穴に 5 w/v %スキムミルク溶液を 300 μ L ずつ加え、25℃で1時間反応させた後、洗浄液で洗浄したもの。

付記 14 ST LPS-ELISA 抗原

ST T-023 株又はこれと同等の抗原性を有する株の不活化菌液にフェノールを添加し、遠心によりたん白質を除去した LPS 抗原であり、PBS で透析したもの。本抗原を用いて 1.3.3.2 の試験により ELISA を行うとき、ST 参照陽性血清の ELISA 値の平均値が 0.800 ～ 1.300 を示す。使用時のエンドトキシン量が 2,500 ～ 10,000 EU/穴になるように PBS で調整する。

付記 15 ST 参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏を ST 菌体抽出抗原で免疫して得られた血清で、1.3.3.2 の試験により ELISA を行うとき、ELISA 値の平均値が 0.800 ～ 1.300 を示すもの。

付記 16 ST 検体前処理液

SE E-926 株又はこれと同等の抗原性を有する株の菌体抽出抗原液をエンドトキシン量が 50,000 EU/mL になるように PBS で調整したもの。

付記 17 ST LPS-ELISA 抗原吸着プレート

ST LPS-ELISA 抗原を 96 穴プレートの各穴に 50 μ L ずつ加え、25℃で1時間反応させた後、洗浄液で洗浄し、次に、各穴に 5 w/v %スキムミルク溶液を 300 μ L ずつ加え、25℃で1時間反応させた後、洗浄液で洗浄したもの。

診断液の部の鳥インフルエンザ診断用酵素標識抗体反応キットの項の次に次のように加える。

鳥インフルエンザ診断用酵素標識抗体反応キット（競合法）

鳥インフルエンザウイルスを不活化した抗原をプレートに吸着させ、競合酵素抗体法により鳥インフルエンザウイルス抗体を検出するためのキットである。

1 小分製品の試験

1.1 吸光度試験

1.1.1 試験材料

キットを用いる。

1.1.2 試験方法

抗原吸着プレートの2穴に指示陽性血清及び指示陰性血清をそれぞれ100 μ Lずつ分注し18～26℃で60 $\pm$ 5分間反応させた後、約350 μ Lの洗浄液を用いて、抗原吸着プレートを5回洗浄する。コンジュゲートを100 μ Lずつ分注し18～26℃で30 $\pm$ 2分間反応させた後、約350 μ Lの洗浄液を用いて、抗原吸着プレートを5回洗浄する。TMB溶液を100 μ Lずつ分注し18～26℃で15 $\pm$ 1分間反応させた後、反応停止液を100 μ Lずつ分注する。波長650nmで吸光度を測定する。

1.1.3 判定

指示陰性血清の平均OD値は0.600以上、指示陽性血清の平均OD値と指示陰性血清の平均OD値の比は、0.50未満でなければならない。

1.2 力価試験

1.2.1 試験材料

1.2.1.1 被検材料

キットを用いる。

1.2.1.2 参照血清

3種類の参照血清（パネルA～C）（付記1）を用いる。

1.2.2 試験方法

抗原吸着プレートの2穴に3種類の参照血清（パネルA～C）及び指示陰性血清をそれぞれ100 μ Lずつ分注し18～26℃で60 $\pm$ 5分間反応させた後、約350 μ Lの洗浄液を用いて、抗原吸着プレートを5回洗浄する。コンジュゲートを100 μ Lずつ分注し18～26℃で30 $\pm$ 2分間反応させた後、約350 μ Lの洗浄液を用いて、抗原吸着プレートを5回洗浄する。TMB溶液を100 μ Lずつ分注し18～26℃で15 $\pm$ 1分間反応させた後、反応停止液を100 μ Lずつ分注する。波長650nmで吸光度を測定し、各参照血清の平均吸光度をS、指示陰性血清の平均吸光度をNとし、S/N比を算出する。

1.2.3 判定

パネルAのS/N比は0.70以上1.30以下、パネルBのS/N比は0.05以上0.50以下、パネルCのS/N比は0.40以下でなければならない。

付記1 参照血清

抗A型インフルエンザウイルス抗体陽性鶏血清（SPF鶏をA型インフルエンザウイルス（H9N2 Turkey/Wisconsin/1966）株で免疫して得られた血清で1.2の試験を準用して試験を行うとき、S/N比が0.30以下を示すもの）及び抗A型インフルエンザウイルス抗体陰性鶏血清

(抗 A 型インフルエンザウイルス抗体陰性が確認されている鶏血清で 1.1 の試験を準用して試験を行うとき、OD 値が 0.900 ～ 1.500 を示すもの) を用いて製する血清である。－ 20 ℃以下で保存する。

- パネル A 抗 A 型インフルエンザウイルス抗体陰性鶏血清を用いて、1.2 の試験を準用して試験を行うとき、S/N 比が 0.70 ～ 1.30 を示すもの。
- パネル B 1.2 の試験を準用して試験を行うとき、S/N 比が 0.05 ～ 0.50 を示すように抗 A 型インフルエンザウイルス抗体陽性鶏血清を抗 A 型インフルエンザウイルス抗体陰性鶏血清で希釈したもの。
- パネル C 1.2 の試験を準用して試験を行うとき、S/N 比が 0.40 以下を示すように抗 A 型インフルエンザウイルス抗体陽性鶏血清を抗 A 型インフルエンザウイルス抗体陰性鶏血清で希釈したもの。

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部豚サーコウイルス（2型）感染症（1型-2型キメラ）（デキストリン誘導体アジュバント加）不活化ワクチンの項を次のように改める。

豚サーコウイルス（2型）感染症（1型－2型キメラ） （デキストリン誘導体アジュバント加）不活化ワクチン

動生剤基準の豚サーコウイルス（2型）感染症（1型-2型キメラ）（デキストリン誘導体アジュバント加）不活化ワクチンの3.3.2、3.3.4、3.3.5及び3.3.6に規定するところにより、これらに規定する試験を行うものとする。

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の豚パルボウイルス感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチンの項を次のように改める。

豚パルボウイルス感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチン

動生剤基準の豚パルボウイルス感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチンの 3.5.2、3.5.3 及び 3.5.4.2 に規定するところにより、これらに規定する試験を行うものとする。

また、小分製品について次の試験を行うものとする。

1 不活化試験

1.1 試験材料

1.1.1 試料

試験品 10mL に等量のクロロホルムを加え、よく混和後、遠心分離した水層の 5 mL を約 100 倍量以上のリン酸緩衝食塩液で 4℃ で一夜透析したものを試料とする。

1.1.2 培養細胞

PK-15 細胞を培養びんで培養し、単層となったものを用いる。

1.2 試験方法

試料の全量を 1 mL につき 3 cm² 以上の培養細胞に接種し、37℃ で 60 分間静置吸着させる。試料を抜き取り、ウイルス増殖用培養液（付記 1）を加え、37℃ で 10 日間培養後、培養上清にペロナール緩衝食塩液（付記 2）で調製した 0.5vol % の非凝集性の鶏又はモルモットの赤血球浮遊液を等量加え、室温で 60 分間静置した後、赤血球凝集の有無を観察する。

1.3 判定

赤血球の凝集を認めない場合、活性ウイルス陰性と判定する。

試料に活性ウイルスを認めてはならない。

付記 1 ウイルス増殖用培養液

1,000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス 2.95 g

牛胎子血清又は牛血清アルブミン 20mL 又は 1.1 g

イーグル MEM 残 量

炭酸水素ナトリウムで pH を 7.2 ～ 7.6 に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 2 ペロナール緩衝食塩液（pH7.2）

1,000mL 中

バルビタール 0.575 g

バルビタールナトリウム 0.375 g

塩化ナトリウム 8.5 g

水 残 量

ワクチン（（シードロット製剤を除く。））の部のイリドウイルス病不活化ワクチンの項を次のように改める。

イリドウイルス病不活化ワクチン

動生剤基準のイリドウイルス病不活化ワクチンの3.5.3、3.5.5及び3.5.6に規定するところにより、これらに規定する試験を行うものとする。

(別紙3)

○農林水産省告示第千七百三号

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施行令（昭和三十六年政令第十一号）第八十三条の規定により読み替えて適用される同令第五十八条及び動物用医薬品等取締規則（平成十六年農林水産省令第百七号）第百五十四条第一項の規定に基づき、動物用医薬品の検定手数料並びに試験品及び出願者の保存用品として抜き取らせるべき数量（平成二十五年六月十八日農林水産省告示第二千九号）の一部を次のように改正し、公布の日から施行する。

平成二十九年十一月七日

農林水産大臣 齋藤 健

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。

送 出 額					振 出 名 額						
医薬品の種 類	手数料 (単位 円)	分注区分	試験品の抜取数 (単位 本、包、 組又は箱)		保存 用品の抜 取数 (単 位 本、包、組又は箱)	医薬品の種 類	手数料 (単位 円)	分注区分	試験品の抜取数 (単位 本、包、 組又は箱)		保存 用品の抜 取数 (単 位 本、包、組又は箱)
			最終 小分 容器 1本 の内 容量 が5 mL未 満の 場合	最終 小分 容器 1本 の内 容量 が5 mL以 上20 mL未 満の 場合					最終 小分 容器 1本 の内 容量 が5 mL未 満の 場合	最終 小分 容器 1本 の内 容量 が20 mL以 上の 場合	
(血清の部 (略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(血清の部 (略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
(ワクチン (シードロ ット製剤を 除く。)の 部) (略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(ワクチン (シードロ ット製剤を 除く。)の 部) (略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
豚丹毒 (ア ジュバント	181,600	23,800	10	9	2	豚丹毒 (ア ジュバント	181,600	23,800	10	9	2

加) ワクチン (組換え型)	10	2	加) ワクチン (組換え型)	10	2	(新設)	(新設)	(新設)	(新設)
豚丹毒 (油性アジュバント加) ワクチン (組換え型)	23,800	181,700	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎 3 価・産卵低下症候群—1976・鶏伝染性コリザ (A・C型)・マイコプラズマ・ガラセプチカラム感染症混合 (油性アジュバント加) ワクチン	23,800	1,046,700	(略)	(略)	(略)	1,046,700	23,800	8	2
ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎 2 価・	23,800	1,140,400	(略)	(略)	(略)	(新設)	(新設)	(新設)	(新設)

(別紙4)

○農林水産省告示第千七百四号

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
二月一日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。

平成二十九年十一月七日

農林水産大臣 齋藤 健

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	動物用生物学的製剤。ただし、次に掲げるもの(6)から(99)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) (115) (略) (116) 豚アクチノバシラス・ブルロニューモニエ感染症診断用抗原 (117) (119) (略) (120) (147) (略)
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(99)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) (115) (略) (116) (新設) (略) (117) (118) (略) (120) (119) 豚ヘルペスウイルス感染症診断用抗原 (147) (略)

「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関係事務の取扱いについて」(平成12年3月31日付け12畜A第729号農林水産省畜産局長通知)(別紙5)
(下線部分は改正部分)

改 正 後		現 行	
別表第3 動物用医薬品の検定に関する標準処理期間		別表第3 動物用医薬品の検定に関する標準処理期間	
製 剤	標準処理期間(日)	製 剤	標準処理期間(日)
(ワクチン(シードロット製剤を除く。))の部 (略) 豚丹毒(アジュバント加) ワクチン(組換え型) 豚丹毒(油性アジュバント加) ワクチン(組換え型) (略)	70 70	(ワクチン(シードロット製剤を除く。))の部 (略) 豚丹毒(アジュバント加) ワクチン(組換え型) (新設) (略)	70 (新設)
ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎3価・産卵低下症候群—1976・鶏伝染性コリ—ザ(A・C型)・マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症混合(油性アジュバント加) 不活化ワクチン	90	ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎3価・産卵低下症候群—1976・鶏伝染性コリ—ザ(A・C型)・マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症混合(油性アジュバント加) 不活化ワクチン (新設)	90 (新設)
ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎2価・産卵低下症候群—1976・鶏サルモネラ症(サルモネラ・インフアンティス抽出抗原・サルモネラ・エンテリテイデイス抽出抗原・サルモネラ・ティフイムウム抽出抗原)・鶏伝染性コリ—ザ(A・C型組換え融合抗原)・マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症混合(油性アジュバント加) 不活化ワクチン (略)	80		
(ワクチン(シードロット製剤)の部) (略) 鶏サルモネラ症(サルモネラ・インフアンティス・サルモネラ・エンテリテイデイス・サルモネラ・ティフイムウム)(油性アジュバント加) 不活化ワクチン(シード) 鶏サルモネラ症(サルモネラ・インフアンティス抽出抗原・サルモネラ・エンテリテイデイス抽出抗原・サルモネラ・ティフイムウム抽出抗原)(油性アジュバント加) 不活化ワクチン(シード) (略)	70 70	(ワクチン(シードロット製剤)の部) (略) 鶏サルモネラ症(サルモネラ・インフアンティス・サルモネラ・エンテリテイデイス・サルモネラ・ティフイムウム)(油性アジュバント加) 不活化ワクチン(シード) (新設) (略)	70 (新設)
(診断液の部) (略)		(診断液の部) (略)	

鳥インフルエンザ診断用酵素標識抗体反応キット 鳥インフルエンザ診断用酵素標識抗体反応キット (競合 法) (略)	40 30	鳥インフルエンザ診断用酵素標識抗体反応キット (新設) (略)	40 (新設)
--	-------------------	--	---------------------