

動物用生物学的製剤基準の一部を改正する件 新旧対照表

○動物用生物学的製剤基準（平成 14 年 10 月 3 日農林水産省告示第 1567 号）

次の表により、改正前欄に掲げる規定の傍線を付した部分（以下「傍線部分」という。）でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分があるものは、これを当該傍線部分のように改め、改正後欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正前欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これを加え、改正前欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これを削る。

改正後	改正前
ワクチン（シードロット製剤）の部 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 （略） 2 製法 2.1 製造用株 2.1.1 （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で増殖させ、連続した工程により作製し、</u> 保存用の容器に分注する。 2.1.2.4・2.1.2.5 （略） 2.2 （略） 2.3 原液 2.3.1 （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> 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、 <u>3.6</u> の試験を行う。ただし、濃縮前に保存する場合は、保	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 （略） 2 製法 2.1 製造用株 2.1.1 （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で増殖させ、保存用の容器に分注する。</u> 2.1.2.4・2.1.2.5 （略） 2.2 （略） 2.3 原液 2.3.1 （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>適当と認められた不活化剤を加えて不活化したものを不活化菌液とする。不活化菌液について、3.6の試験を行う。</u> 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、 <u>3.7</u> の試験を行う。ただし、濃縮前に保存する場合は、保

存前の原液について<u>3.6.1</u>及び<u>3.6.3</u>の試験を行う。 2.4 (略) 2.5 小分製品 2.5.1 PCV2ワクチン 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、<u>3.7</u>の試験を行う。 2.5.2 Mhpワクチン 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、<u>3.7</u>の試験を行う。 3 試験法 3.1～3.4 (略) 3.5 培養菌液の試験 3.5.1 暗視野顕微鏡下観察試験 3.5.1.1 (略) 3.5.1.2 試験方法 検体を<u>スライドガラス</u>にとり、暗視野顕微鏡下で鏡検する。 3.5.1.3 (略) 3.5.2・3.5.3 (略) (削る) 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 (略) 3.6.2 不活化試験 3.6.2.1 試験材料	存前の原液について<u>3.7.1</u>及び<u>3.7.3</u>の試験を行う。 2.4 (略) 2.5 小分製品 2.5.1 PCV2ワクチン 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、<u>3.8</u>の試験を行う。 2.5.2 Mhpワクチン 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、<u>3.8</u>の試験を行う。 3 試験法 3.1～3.4 (略) 3.5 培養菌液の試験 3.5.1 暗視野顕微鏡下観察試験 3.5.1.1 (略) 3.5.1.2 試験方法 検体を<u>スライドガラス</u>にとり、暗視野顕微鏡下で鏡検する。 3.5.1.3 (略) 3.5.2・3.5.3 (略) 3.6 不活化菌液の試験 3.6.1 不活化試験 3.6.1.1 試験材料 3.6.1.1.1 試料 検体を<u>適当と認められた方法で中和したものを試料とする。</u> 3.6.1.2 試験方法 <u>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。</u> 3.6.1.3 判定 <u>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。</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 (略) 3.7.2 不活化試験 <u>3.6.1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、検体を試料とする。</u>
--	--

<u>3.6.2.1.1 試料</u> 検体を試料とする。 <u>3.6.2.2 試験方法</u> 不活化前の培養液を陽性対照試料とする。培地に試料又は陽性対照試料を接種し、陽性対照試料を接種した培地のうち、<u>適当と認められた数の培地に試料を追加で接種する。以上の培地を適当と認められた方法で培養し、培地の色調を観察する。</u> <u>3.6.2.3 判定</u> 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。 <u>3.6.3 抗原定量試験</u> <u>3.6.3.1・3.6.3.2</u> (略) <u>3.6.3.3 試験方法</u> 抗体固相化プレートを洗浄液（付記17）で洗浄し、100 μ Lのブロッキング液（付記18）を全ての穴に加える。 試料の100 μ L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100 μ L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100 μ Lのブロッキング液を加える。その他各穴に100 μ Lのモノクローナル抗体（付記19）を加え、35～39℃で約1時間間反応させる。 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20）を、その他の各穴には酵素標識抗体をそれぞれ100 μ L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100 μ Lの基質液を加えて常温で10分間反応させる。反応終了後、全ての穴に100 μ L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<u>相対力価</u>を算出する。 <u>3.6.3.4 判定</u> 検体の相対力価は、<u>1.25</u>以上でなければならない。 <u>3.7 小分製品の試験</u> <u>3.7.1～3.7.3</u> (略) <u>3.7.4 抗原定量試験</u> <u>3.7.4.1 豚サーコウイルス2型感染症抗原定量試験</u> <u>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	<u>3.7.3 抗原定量試験</u> <u>3.7.3.1・3.7.3.2</u> (略) <u>3.7.3.3 試験方法</u> 抗体固相化プレートを洗浄液（付記17）で洗浄し、100 μ Lのブロッキング液（付記18）を全ての穴に加える。 試料の100 μ L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100 μ L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100 μ Lのブロッキング液を加える。その他各穴に100 μ Lのモノクローナル抗体（付記19）を加え、35～39℃で約1時間間反応させる。 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20）を、その他の各穴には酵素標識抗体をそれぞれ100 μ L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100 μ Lの基質液を加えて常温で10分間反応させる。反応終了後、全ての穴に100 μ L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<u>抗原RP</u>を算出する。 <u>3.7.3.4 判定</u> 検体の<u>抗原RP</u>は、<u>所定の値</u>以上でなければならない。 <u>3.8 小分製品の試験</u> <u>3.8.1～3.8.3</u> (略) (新設)
--	---

<u>(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> <u>3.7.4.1.2 試験方法</u> <u>3.7.4.1.2.1 試料の調製</u> <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、段階希釈した各段階の希釈液を試料とする。</u> <u>3.7.4.1.2.2 反応</u> <u>抗PCV2ORF2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。</u> <u>3.7.4.1.2.3 吸光度測定</u> <u>波長450nmで吸光度を測定する。</u> <u>3.7.4.1.3 判定</u> <u>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。</u> <u>3.7.4.2 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</u> <u>Mhpワクチンについて3.6.3を準用して試験するとき、Mhpワクチンの相対力価は1.0～4.6でなければならない。</u> <u>3.7.5 (略)</u> <u>3.7.6 力価試験</u> <u>3.7.6.1 豚サーコウイルス2型感染症力価試験</u> <u>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。</u> <u>3.7.6.1.1 試験材料</u> <u>3.7.6.1.1.1・3.7.6.1.1.2 (略)</u>	<u>3.8.4 (略)</u> <u>3.8.5 力価試験</u> <u>3.8.5.1 豚サーコウイルス2型感染症力価試験</u> <u>3.8.5.1.1 試験材料</u> <u>3.8.5.1.1.1・3.8.5.1.1.2 (略)</u>
--	---

3.7.6.1.1.3 酵素抗体反応用抗原

固相化抗原 1（付記23）を用いる。

3.7.6.1.2 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24）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25）の穴に100 μ Lずつ加え、ブロッキング液のみの穴を血清対照とする。37°C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100 μ Lずつ加え、37°C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100 μ Lずつ加えて反応させた後、各穴に1 mol/L塩酸を100 μ Lずつ加えて反応を停止させ、波長450nmで吸光度を測定する。

3.7.6.1.3 （略）

3.7.6.2 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。

3.7.6.2.1 試験材料

3.7.6.2.1.1・3.7.6.2.1.2 （略）

3.7.6.2.1.3 酵素抗体反応用抗原

固相化抗原 2（付記26）を用いる。

3.7.6.2.2 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27）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28）の穴に100 μ Lずつ加え、ブロッキング液のみの穴を血清対照とする。37°C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100 μ Lずつ加え、37°C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100 μ Lずつ加えて反応させた後、各穴に1 mol/L塩酸を100 μ Lずつ加えて反応を停止させ、波長450nmで吸光度を測

3.8.5.1.1.3 酵素抗体反応用抗原

固相化抗原 1（付記21）を用いる。

3.8.5.1.2 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22）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23）の穴に100 μ Lずつ加え、ブロッキング液のみの穴を血清対照とする。37°C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100 μ Lずつ加え、37°C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100 μ Lずつ加えて反応させた後、各穴に1 mol/L塩酸を100 μ Lずつ加えて反応を停止させ、波長450nmで吸光度を測定する。

3.8.5.1.3 （略）

3.8.5.2 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症力価試験

3.8.5.2.1 試験材料

3.8.5.2.1.1・3.8.5.2.1.2 （略）

3.8.5.2.1.3 酵素抗体反応用抗原

固相化抗原 2（付記24）を用いる。

3.8.5.2.2 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 2（付記26）の穴に100 μ Lずつ加え、ブロッキング液のみの穴を血清対照とする。37°C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100 μ Lずつ加え、37°C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100 μ Lずつ加えて反応させた後、各穴に1 mol/L塩酸を100 μ Lずつ加えて反応を停止させ、波長450nmで吸光度を測

定する。 <u>3.7.6.2.3</u> (略) 4 (略) 付記 1 ～付記 4 (略) 付記 5 抗PCV2ORF2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 ～付記12 (略) 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、<u>相対力価</u>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 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<u>調製する</u>。 付記15 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	定する。 <u>3.8.5.2.3</u> (略) 4 (略) 付記 1 ～付記 4 (略) 付記 5 抗PCV2ORF2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27) で希釈して用いる。 付記 6 ～付記12 (略) 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 (<u>RP</u>) 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、<u>RP</u>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 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<u>調整する</u>。 付記15 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16 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30）で希釈した捕捉抗体2（付記31）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17～付記19 （略） 付記20 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 g 豚血清 50.0 mL 注射用水 残 量 トリスヒドロキシメチル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21 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22 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23 （略）	うに調整する。 付記16 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28）で希釈した捕捉抗体2（付記29）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17～付記19 （略） 付記20 標識抗体希釈液 1,000mL中 トリスヒドロキシメチルアミノエタン 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 g 豚血清 50.0 mL 注射用水 残 量 トリスヒドロキシメチル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。 （新設） （新設） 付記21 （略）
--	--

<u>付記24</u> 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、<u>3.7.6.1</u>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 <u>付記25</u>・<u>付記26</u> (略) <u>付記27</u> 参照陽性血清 2 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、<u>3.7.6.2</u>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28</u>～<u>付記31</u> (略)	<u>付記22</u> 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、<u>3.8.5.1</u>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 <u>付記23</u>・<u>付記24</u> (略) <u>付記25</u> 参照陽性血清 2 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、<u>3.8.5.2</u>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26</u>～<u>付記29</u> (略)
---	---