

動薬協会発 38号

平成25年5月9日

公益社団法人日本動物用医薬品協会
会 員 各 位

公益社団法人日本動物用医薬品協会
理事長 福 井 邦 顯
(公 印 省 略)

動物用生物学的製剤基準の一部改正について

当協会の業務運営につきましては、日頃からご支援、ご協力を頂きお礼申し上げます。
さて、標記のことについて、農林水産省消費・安全局長より通知がありましたのでお知らせします。



25消安第109号
平成25年5月7日

公益社団法人 日本動物用医薬品協会理事長 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

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、御了知願います。また、貴会会員に対する周知方よろしく願います。



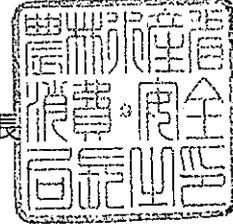


25消安第109号

平成25年5月7日

北海道知事 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

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らせるべき数量を定める等の件」（平成17年3月18日農林水産省告示第516号）及び「薬事法第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」（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、「薬事法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ましたので、御了知願います。

(別紙1)

○農林水産省告示第千四百九十五号

薬事法（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。

平成二十五年五月七日

農林水産大臣 林 芳正

（以下のように）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。）の部の牛サルモネラ症（サルモネラ・ダブリン・サルモネラ・ティフィムリウム）（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。

牛サルモネラ症（サルモネラ・ダブリン・サルモネラ・ティフィムリウム）（アジュバント加）不活化ワクチン

1 定義

サルモネラ・ダブリン及びサルモネラ・ティフィムリウムをそれぞれ液状培地で培養し、不活化した後、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。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 サルモネラ・ダブリン

2.1.1.1 名称

サルモネラ・ダブリン 17636 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

子牛に経口投与すると、下痢、発熱、元気消失又は菌血症等の臨床症状を呈し、接種菌数によっては死に至る。

サルモネラ・ダブリンの感染による発病を防御する免疫原性を有する。

2.1.1.3 継代及び保存

原株及び種菌は、継代用培地（付記1）又は適当と認められた培地で継代する。

原株及び種菌の継代は、ともに3代以内でなければならない。

原株及び種菌は、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。

2.1.2 サルモネラ・ティフィムリウム

2.1.2.1 名称

サルモネラ・ティフィムリウム 81 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

子牛に経口投与すると、下痢、発熱、元気消失又は菌血症等の臨床症状を呈し、接種菌数によっては死に至る。

サルモネラ・ティフィムリウムの感染による発病を防御する免疫原性を有する。

2.1.2.3 継代及び保存

原株及び種菌は、継代用培地又は適当と認められた培地で継代する。

原株及び種菌の継代は、ともに3代以内でなければならない。

原株及び種菌は、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。

2.2 製造用材料

2.2.1 培地

液状培地（付記2）、サルモネラ・ダブリン用液状培地（付記3）、サルモネラ・ティフィムリウム用液状培地（付記4）又は適当と認められた液状培地を用いる。

2.3 サルモネラ・ダブリン及びサルモネラ・ティフィムリウムの原液

2.3.1 培養

液状培地又は適当と認められた液状培地で培養した各菌株の種菌を、サルモネラ・ダブリンにあつてはサルモネラ・ダブリン用液状培地又は適当と認められた液状培地で培養したものを培養菌液とし、サルモネラ・ティフィムリウムにあつてはサルモネラ・ティフィムリウム用液状培地又は適当と認められた液状培地で培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.1の試験を行う。

2.3.2 不活化

培養菌液にホルマリン若しくは適当と認められた不活化剤を加えて感作したもの、又は感作後集菌したものを、不活化菌液とする。

不活化菌液について、3.2の試験を行う。

2.3.3 アジュバントの添加

不活化菌液の菌濃度をリン酸緩衝食塩液又は適当と認められた希釈溶液で所定の濃度となるよう調整した後、アジュバントを添加したものを原液とする。

適当と認められた保存剤を添加してもよい。

原液について、3.3の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液を混合したものを最終バルクとする。

適当と認められた保存剤を添加してもよい。

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、3.4の試験を行う。

3 試験法

3.1 培養菌液の試験

3.1.1 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法1を準用して試験するとき、サルモネラ・ダブリン及びサルモネラ・ティフィムリウム以外の菌の発育を認めてはならない。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。

3.1.2 生菌数試験

3.1.2.1 試験材料

検体を階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.1.2.2 試験方法

試料を2枚以上の試験用培地1(付記5)又は適当と認められた寒天培地に接種し、37℃で48時間培養した後、生じたサルモネラ菌の集落を数える。希釈段階ごとの平均値、希釈倍率及び培地への接種量から、生菌数を算出する。

3.1.2.3 判定

検体の生菌数は、1 mL 当たり 10^9 個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、その生菌数とする。

3.2 不活化菌液の試験

3.2.1 不活化試験

3.2.1.1 試験材料

3.2.1.1.1 試料

検体を試料とする。

3.2.1.1.2 培地

0.5w/v % ビーフエキスを含有する液体チオグリコール酸培地又は 0.5w/v % ビーフエキスを含有しない液体チオグリコール酸培地、及びソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地をそれぞれ試験管10本ずつ用いる。

3.2.1.2 試験方法

試料1 mL をそれぞれの試験管に接種し、液体チオグリコール酸培地にあつては30～35℃で14日間、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地にあつては20～25℃で14日間培養して観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法とする。

3.2.1.3 判定

いずれの試験管にも菌の増殖を認めてはならない。

3.2.2 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、3.3.1の試験を行うときは、本試験を実施しなくてもよい。

3.3 原液の試験

3.3.1 無菌試験

3.2.1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、3.2.2の試験を行うときは、本試験を実施しなくてもよい。

3.4 小分製品の試験

3.4.1 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ず、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。

3.4.2 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。

3.4.3 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。

3.4.4 チメロサール定量試験

一般試験法のチメロサー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。

3.4.5 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、0.3vol %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、その含有量とする。

3.4.6 アルミニウム定量試験

一般試験法のアルミニウム定量法を準用して試験するとき、アルミニウムの含有量は、1 mL 中 1.8 mg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、その含有量とする。

3.4.7 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、注射後の体重測定は、4日目に行う。

3.4.8 力価試験

3.4.8.1 試験材料

3.4.8.1.1 注射材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で4倍及び16倍に希釈したものを注射材料とする。

3.4.8.1.2 試験動物

約4週齢のICR系マウス60匹以上を用いる。

3.4.8.1.3 攻撃菌液

サルモネラ・ティフィムリウム菌株（付記6）及びサルモネラ・ダブリン菌株（付記7）を用いる。凍結乾燥保存した各菌株を試験用培地2（付記8）で溶解した後、それぞれ試験用培地1に移植し、37℃で18時間増殖させ、スムーズ型のコロニー1個を釣菌して試験用培地2に移植し、37℃で18時間静置培養する。

攻撃直前に、沈殿菌を除いた培養菌液を培地総量の約1/20量となるように試験用培地2に移植し、培養菌液のOD値（600nm）が約0.5になるまで、37℃で振とう培養したものを攻撃菌液とする。

3.4.8.2 試験方法

試験動物40匹を試験群とし、20匹を対照群とする。

注射材料を4倍又は16倍希釈したものを、0.5mLずつ各20匹の試験群のマウスに腹腔内注射す

る。注射後3週目に、0.01w/v %ゼラチン加里ン酸緩衝食塩液（付記9）で濃度を約 200LD₅₀/mL に調整したサルモネラ・ティフィムリウムの攻撃株又はサルモネラ・ダブリンの攻撃株を、各希釈1群10匹ずつ及び対照群1群10匹の計30匹に0.5mLずつ腹腔内接種し、2週間観察する。なお、攻撃菌については、試験用培地1を用い、生菌数を測定して攻撃菌数が約100LD₅₀/匹であることを確認する。

3.4.8.3 判定

対照群においては80%以上のマウスが死亡し、試験群においては各2群のうち1群以上のマウスが80%以上生残しなければならない。

3.4.9 エンドトキシン定量試験

日本薬局方の一般試験法のエンドトキシン試験法を準用するとき、エンドトキシンの含有量は、10,000EU/mL以下でなければならない。

3.4.10 C3H/HeN マウスを用いた安全試験

3.4.10.1 試験材料

3.4.10.1.1 注射材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で5倍、50倍及び500倍に希釈する。希釈した試験品と40mg/mLガラクトサミン水溶液を等量混合したものを注射材料とする。

3.4.10.1.2 試験動物

約10週齢のC3H/HeN系の雌マウス30匹以上を用いる。

3.4.10.2 試験方法

注射材料を0.5mLずつ各10匹のマウスに腹腔内注射する。

注射後3日間マウスの生死を観察する。

3.4.10.3 判定

試験動物の死亡数からLD₅₀(log)を計算し、LD₅₀が2.0以下となるか、1,000倍希釈ワクチン注射マウスが全て生残しなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、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 継代用培地

1,000mL中

ブレイン・ハート・インフュージョン培地 37g

普通寒天 15g

精製水 残量

pHを7.2に調整した後、121℃で15分間高圧滅菌する。

付記2 液状培地

1,000mL中

トリプトース 20g

塩化ナトリウム 5g

グルコース 1g

精製水 残量

pHを6.8～7.2に調整した後、121℃で20分間高圧滅菌する。

付記3 サルモネラ・ダブリン用液状培地

1,000mL中

トリプトン 17g

ソイトン	3 g
グルコース	2.5 ~ 10 g
塩化ナトリウム	5 g
リン酸水素ナトリウム	2.5 g
精製水	残 量

pH を 6.8 ~ 7.2 に調整した後、121 °C で 20 分間高圧滅菌する。

付記 4 サルモネラ・ティフィムリウム用液状培地

1,000 mL 中

ビーフエキストラクト	6 g
ラクトアルブミン	10 g
塩化ナトリウム	5 g
グルコース	5 g
精製水	残 量

pH を 6.8 ~ 7.2 に調整した後、121 °C で 20 分間高圧滅菌する。

付記 5 試験用培地 1

市販のソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地を 121 °C で 15 分間高圧滅菌したもの。

付記 6 サルモネラ・ティフィムリウム菌株

サルモネラ・ティフィムリウム岩手株又は適当と認められた菌株を、試験用培地 1 で 2 代継代した後、凍結乾燥して 5 °C 以下又は凍結して - 70 °C 以下に保存したもの。

付記 7 サルモネラ・ダブリン菌株

サルモネラ・ダブリン大栄株又は適当と認められた菌株を試験用培地 1 で 2 代継代した後、凍結乾燥して 5 °C 以下又は凍結して - 70 °C 以下に保存したもの。

付記 8 試験用培地 2

市販のソイビーン・カゼイン・ダイジェスト液状培地を 121 °C で 15 分間高圧滅菌したもの。

付記 9 0.01w/v %ゼラチン加リン酸緩衝食塩液

1,000mL 中

リン酸二水素ナトリウム二水和物	0.45 g
リン酸水素二ナトリウム十二水和物	2.53 g
塩化ナトリウム	6.00 g
ゼラチン	0.10 g
精製水	残 量

pH を 7.2 に調整した後、ろ過滅菌して用いる。
使用直前に調製する。

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部のさけ科魚類ビブリオ病不活化ワクチンの項の次に次のように加える。

ひらめβ溶血性レンサ球菌症不活化ワクチン

1 定義

ストレプトコッカス・イニエの培養菌液を不活化した後、濃縮したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

ストレプトコッカス・イニエ F2K 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

ストレプトコッカス・イニエ 38 ータイプに一致する性状を示し、β溶血性レンサ球菌症に対する免疫原性を有する。

2.1.3 継代及び保存

原株及び種菌は、継代に相当と認められた培地により継代する。

継代は、原株では3代以内、種菌では5代以内でなければならない。

原株及び種菌は、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 培地

製造に相当と認められた培地を用いる。

2.3 原液

2.3.1 培養

培地で培養した種菌を製造用培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.1の試験を行う。

2.3.2 不活化

培養菌液にホルマリンを添加し、不活化したものを不活化菌液とする。

2.3.3 原液

不活化菌液を遠心して濃縮した菌を相当と認められた希釈用液に浮遊し濃度調整したものを、必要に応じて相当と認められたpH調整液でpHを調整し、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

原液を混合し、濃度調整し、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 培養菌液の試験

3.1.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.1 試験材料

3.1.1.1.1 試料

検体又は検体をリン酸緩衝食塩液（以下この項において「PBS」という。）で10倍階段希釈した各段階の希釈液を試料とする。

3.1.1.1.2 培地

トッド・ヘビット寒天培地（付記1）又は適当と認められた培地を用いる。

3.1.1.2 試験方法

各試料 0.1mL ずつを培地 2 枚以上に接種して培地表面に拡散させたものを、25～27℃で 24 時間培養する。

3.1.1.3 判定

、ストレプトコッカス・イニエ以外の菌の発育を認めてはならない。

3.1.2 生菌数試験

3.2.3 の総菌数試験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。

3.1.2.1 試験材料

3.1.2.1.1 試料

検体を PBS で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.1.2.1.2 培地

トッド・ヘビット寒天培地又は適当と認められた培地を用いる。

3.1.2.2 試験方法

各試料 0.1mL ずつを培地 2 枚以上に接種して培地表面に拡散させたものを、25～27℃で 24 時間培養した後、生じた集落を数える。

3.1.2.3 判定

各試料ごとの集落数から生菌数を算出する。

検体中の生菌数は、1 mL 中 10^9 個以上でなければならない。

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。

3.2.2 不活化試験

3.2.2.1 試験材料

3.2.2.1.1 接種材料

検体を接種材料とする。

3.2.2.1.2 培地

トッド・ヘビット寒天培地又は適当と認められた培地を用いる。

3.2.2.2 試験方法

接種材料 0.1mL ずつを培地 5 枚に接種して培地表面に拡散させたものを、25～27℃で 5～7 日間培養した後、集落の有無を観察する。

3.2.2.3 判定

接種したいずれの培地にも集落を認めてはならない。

3.2.3 総菌数試験

3.1.2 の生菌数試験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。

3.2.3.1 試験材料

検体を PBS で適度に希釈したものを試料とする。

3.2.3.2 試験方法

分光光度計を用い、試料の濁度を測定する。その数値をあらかじめ作成した標準検量線に挿入し、希釈倍率から検体の総菌数を算出する。

3.2.3.3 判定

総菌数は、1 mL 中 10^9 個以上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、固有の色調を有する均質な懸濁液でなければ

ならず、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。

3.3.2 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。

3.3.3 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。

3.3.4 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、ホルマリンの量は、0.3vol %以下でなければならない。

3.3.5 安全試験

3.3.5.1 試験材料

3.3.5.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.3.5.1.2 試験動物

水温 20℃、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 30～150g のひらめ 40尾以上を用いる。

3.3.5.2 試験方法

試験動物は、24 時間以上餌止めした後、1 群 20 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 を腹腔内に注射し、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 PBS を注射する。その後、それぞれ水温 20℃、循環式で飼育し、14 日間観察する。ただし、安全試験最終日の前日から約 1 日かけて飼育水温を 25℃に上昇させる。

3.3.5.3 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。

3.3.6 力価試験

3.3.6.1 試験材料

3.3.6.1.1 試験動物

3.3.5 の試験に用いた動物を用いる。

3.3.6.1.2 攻撃用菌液

3.3.6.1.2.1 浸漬攻撃用菌液

ストレプトコッカス・イニエ強毒菌（付記 2）の液体培養菌液を人工海水で希釈し、対照群の死亡率が 60 %以上の希釈菌液を攻撃用菌液とする。

3.3.6.1.2.2 腹腔内注射攻撃用菌液

ストレプトコッカス・イニエ強毒菌の液体培養菌液を PBS で希釈し、対照群の死亡率が 80 %以上の希釈菌液を攻撃用菌液とする。

3.3.6.2 試験方法

浸漬法又は腹腔内注射法によって行う。

3.3.6.2.1 浸漬法

3.3.5 の試験最終日の前日から 24 時間以上餌止めした試験群及び対照群それぞれ 20 尾以上を、浸漬攻撃用菌液に通気しながら 30 分間浸漬して攻撃した後、飼育水温 25℃を 2～4 時間かけて 27℃に上昇させ、14 日間飼育観察して各群の生死を調べる。

3.3.6.2.2 腹腔内注射法

3.3.5 の試験最終日の前日から 24 時間以上餌止めした試験群及び対照群それぞれ 20 尾の腹腔内に、腹腔内注射攻撃用菌液を 0.1mL ずつ注射して攻撃した後、飼育水温 25℃を 2～4 時間かけて 27℃に上昇させ、14 日間飼育観察して各群の生死を調べる。

3.3.6.3 判定

次式により試験品の有効率を求めるとき、有効率は、60 %以上でなければならない。この場合、

浸漬法における対照群は 60 %以上、腹腔内注射法における対照群は 80 %以上が死亡しなければならぬ。

$$\text{有効率 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{試験群の死亡率}}{\text{対照群の死亡率}} \right) \times 100$$

4 貯法及び有効期間

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

付記1 トッド・ヘビット寒天培地

1,000mL 中

牛心臓浸出物	3.1 g
ネオペプトン	20.0 g
ブドウ糖	2.0 g
塩化ナトリウム	2.0 g
リン酸水素二ナトリウム	0.4 g
炭酸ナトリウム	2.5 g
寒天	15.0 g
水	残量

加熱溶解した後、pH を 7.8 に調整し、121 °C 15 分間高圧滅菌する。

付記2 ストレプトコッカス・イニエ強毒菌

ストレプトコッカス・イニエ強毒菌 CIN 株又はこれと同等以上の毒力を有する株

ワクチン（シードロット製剤）の部の牛クロストリジウム感染症5種混合（アジュバント加）トキシソイド（シード）の項の3.5.6中「適合しなければならない。」の次に「ただし、注射後の体重測定は、4日目に行う。」を加える。

ワクチン（シードロット製剤）の部の豚伝染性胃腸炎濃縮生ワクチン（母豚用）（シード）の項の次に次のように加える。

豚伝染性胃腸炎（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豚伝染性胃腸炎ウイルスを同規格に適合した株化細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化し、アルミニウムゲル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

弱毒豚伝染性胃腸炎ウイルス h-5 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

豚腎初代若しくは継代細胞又は豚精巢初代細胞で CPE を伴って増殖する。

2.1.3 マスターシードウイルス

2.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードウイルスは、MPK-III a 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 -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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。

2.1.4 ワーキングシードウイルス

2.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、MPK-III a 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 -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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。

2.1.5 プロダクションシードウイルス

2.1.5.1 増殖、継代及び保存

プロダクションシードウイルスは、MPK-III a 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 -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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。

2.2 製造用材料

2.2.1 培養細胞

MPK-III a 細胞又は製造に適当と認められた株化細胞を用いる。

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 -70°C 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。

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 -70°C 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、継代及び保存

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。

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°C 以下で保存する。

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。

2.3 原液

2.3.1 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。ウイルス接種前のプロダクションセルシードに異常を認めてはならない。

2.3.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを2.3.1の細胞で培養し、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のろ液、遠心上清又はこれらを適当と認められた方法で濃縮したものをウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.3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、3.4の試験を行う。

2.3.4 原液

不活化ウイルス液を混合し、適当と認められたアルミニウムゲルアジュバントを加え、原液とする。

原液について、3.5の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液を混合し、最終バルクとする。

この場合、適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、3.6の試験を行う。

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 同定試験

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。

3.1.1.2 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。

3.1.1.3 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。

3.1.1.4 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。

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。

3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

豚コレラウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢-粘膜病ウイルス、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。

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。

3.2 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。

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。

3.2.1.5.2.2 個別ウイルス否定試験

豚コレラウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢-粘膜病ウイルス、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。

3.2.1.6 核学的（染色体）性状試験

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。

3.2.1.7 腫瘍形成性／腫瘍原性試験

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。

3.2.2 ワーキングセルシードの試験

3.2.2.1 培養性状試験

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。

3.2.2.2 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。

3.2.2.3 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。

3.2.3 プロダクションセルシードの試験

3.2.3.1 培養性状試験

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。

3.2.3.2 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、適合しなければならない。

3.2.3.3 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。

3.3 ウイルス浮遊液の試験

3.3.1 ウイルス含有量試験

3.3.1.1 試験材料

3.3.1.1.1 試料

検体をウイルス増殖用培養液（付記）又は適当と認められた希釈液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.1.1.2 培養細胞

豚精巢初代細胞又は適当と認められた細胞を小試験管に培養し、単層となったものを用いる。

3.3.1.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で 60 分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液 0.5mL を加え、37℃で 7 日間培養し、観察する。

3.3.1.3 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^{5.3}TCID₅₀ 以上でなければならない。

3.4 不活化ウイルス液の試験

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

3.4.2.1 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 1 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

豚精巢初代細胞又は適当と認められた細胞を培養瓶に培養し、単層となったものを用いる。

3.4.2.2 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 90 分間静置吸着させた後、試料を抜き取り、ウイルス増殖用培養液を加え、37℃で 7 日間培養し、観察する。

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 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。

3.6 小分製品の試験

3.6.1 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。

3.6.2 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。

3.6.3 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。

3.6.4 ホルマリン定量試験

ホルマリン添加製剤については、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、0.2vol % 以下でなければならない。

3.6.5 アルミニウム定量試験

一般試験法のアルミニウム定量法を準用して試験するとき、アルミニウムの含有量は、1 mL 中 3.46mg 以下でなければならない。

3.6.6 マクロゴール定量試験

マクロゴール添加製剤については、一般試験法のマクロゴール定量法を準用して試験するとき、マクロゴールの含有量は、1 mL 中 1.0mg 以下でなければならない。

3.6.7 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。

3.6.8 力価試験

3.6.8.1 試験材料

3.6.8.1.1 注射材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で 10 倍に希釈したものを注射材料とする。

3.6.8.1.2 試験動物

約 4 週齢のハムスターを用いる。

3.6.8.1.3 中和試験用ウイルス

豚伝染性胃腸炎ウイルス h-5 株又は適当と認められた株を用いる。

3.6.8.1.4 培養細胞

豚精巢初代細胞又は適当と認められた細胞を培養し、単層となったものを用いる。

3.6.8.2 試験方法

注射材料 1 mL ずつを 5 匹の試験動物の腹腔内に注射し、14 日目に得られた各個体の血清について中和試験を行う。

被検血清を非働化した後、等量混合し、ウイルス増殖用培養液で 2 倍階段希釈する。各希釈血清 0.5mL と 0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液 0.5mL とを混合し、37℃で 90 分間処理する。この各混合液 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）の培養細胞に接種し、37℃で 90 分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液 0.5mL ずつを加え、37℃で 7 日間培養し、観察する。

3.6.8.3 判定

培養細胞 2 本（穴）以上に CPE の阻止を認めた血清の最高希釈倍数を中和抗体価とする。

試験動物の中和抗体価は、16 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、製造後 1 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 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・プロス 2.95 g

又はラクトアルブミン水解物 5.0 g

牛血清又はやぎ血清 50 ~ 100 mL

イーグル MEM 又はアール液 残 量

炭酸水素ナトリウムで pH を 7.0 ~ 7.4 に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

ワクチン（シードロット製剤）の部の鶏痘生ワクチン（シード）の項の次に次のように加える。

産卵低下症候群－1976（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産卵低下症候群－1976 ウイルスを同規格に適合した発育鶏卵又は発育あひる卵で増殖させて得たウイルス液を不活化し、アルミニウムゲル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

産卵低下症候群－1976 ウイルス BK-87 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

鶏及びあひるに対して産卵異常の病原性を示す。10～14日齢の発育鶏卵及び発育あひる卵の尿膜腔内に注射すると、増殖し、胚を死亡させ、尿膜腔液には鶏赤血球凝集性を認める。

2.1.3 マスターシードウイルス

2.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵又は同規格の1.3に適合した発育あひる卵で増殖させ、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－40℃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。

2.1.4 ワーキングシードウイルス

2.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵又は同規格の1.3に適合した発育あひる卵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－40℃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。

2.1.5 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又は同規格の1.3に適合した発育あひる卵で増殖させる。

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－40℃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。

2.2 製造用材料

2.2.1 発育卵

2.2.1.1 マスターシードウイルス、ワーキングシードウイルス及びプロダクションシードウイルスの増殖、継代及び保存に用いる発育卵

SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵又は同規格の1.3に適合した発育あひる卵を用いる。

マスターシードウイルス、ワーキングシードウイルスを増殖、継代及び保存する場合の発育卵又

はプロダクションシードウイルスを増殖及び保存する場合の発育卵について、3.2 の試験を行う。

2.2.1.2 原液の製造に用いる発育卵

製造に相当と認められた発育卵を用いる。

2.3 原液

2.3.1 発育卵の培養

1 回に処理する発育鶏卵又は発育あひる卵を個別発育卵とみなす。

個別発育卵について、3.3 の試験を行う。

2.3.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを 2.3.1 の発育卵で培養し、感染増殖させた尿膜腔液のろ液又は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、3.4 の試験を行う。

2.3.3 不活化

ウイルス浮遊液を相当と認められた方法により不活化し、不活化ウイルス浮遊液とする。

不活化ウイルス浮遊液について、3.5 の試験を行う。

2.3.4 アジュバントの添加

不活化ウイルス浮遊液を混合し、アルミニウムゲルアジュバントを添加し、原液とする。

ただし、最終バルクの調製時にアジュバントを添加してもよい。

原液について、3.6 の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液を混合し、濃度調整し、最終バルクとする。この場合、相当と認められた保存剤を添加してもよい。

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、3.7 の試験を行う。

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 同定試験

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。

3.1.1.2 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。

3.1.1.3 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。

3.1.1.4 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。

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

鶏脳脊髄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 1.1 及び 3.1.2 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、鶏脳脊髄炎ウイルスについて 3.1.1.4.2.2 に規定する試験を実施する製剤については、本試験を実施しなくてもよい。

3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

鶏白血病ウイルス、細網内皮症ウイルス及び鶏脳脊髄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 1.1、3.2.1、3.2.2 及び 3.2.10 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

ない。ただし、鶏脳脊髄炎ウイルスについて3.1.1.4.2.1に規定する試験を実施する製剤については、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の3.2.10の試験を実施しなくてもよい。

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。

3.2 発育卵の試験

3.2.1 孵卵性状試験

シードロット規格の3.2.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3 個体別発育卵の試験

個体別発育卵の1%以上又は30個以上を対照発育卵とし、これについて次の試験を行う。

3.3.1 培養観察

対照発育卵を、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し、観察するとき、胚に異常を認めてはならない。

3.3.2 鶏赤血球凝集試験

3.3.1の試験最終日に尿膜腔液を採取し、0.5vol%鶏赤血球浮遊液を等量加え、60分間静置し、観察するとき、赤血球凝集を認めてはならない。

3.4 ウイルス浮遊液の試験

3.4.1又は3.4.2のいずれかの試験を行う。

3.4.1 ウイルス含有量試験

3.4.1.1 試験材料

3.4.1.1.1 試料

検体を適当と認められた希釈液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.1.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格2.1.3に適合した鶏胚肝初代細胞を用いる。

3.4.1.2 試験方法

各段階の試料50 μ Lと培養細胞浮遊液100 μ Lを96穴マイクロプレートの4穴以上に分注した後、混合し、37 $^{\circ}$ Cで8日間培養し、観察する。観察最終日に各穴の培養液を採取し、0.5vol%鶏赤血球浮遊液を等量加え、60分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

3.4.1.3 判定

培養細胞にCPE又は培養液に赤血球凝集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^{8.3} TCID₅₀以上でなければならない。

3.4.2 赤血球凝集試験

3.4.2.1 試験材料

3.4.2.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で10倍に希釈し、更にそれを2倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.2.2 試験方法

U字型ウエルのマイクロプレートを用いたマイクロタイター法で赤血球凝集試験を行う。試料に

0.5vol%鶏赤血球浮遊液を等量加え、60分間静置した後、赤血球の凝集の有無を観察する。

3.4.2.3 判定

赤血球凝集が観察された検体の最高希釈倍数を赤血球凝集単位とする。

検体の赤血球凝集単位は、640倍以上でなければならない。

3.5 不活化ウイルス浮遊液の試験

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 不活化試験

3.5.2.1 試験材料

3.5.2.1.1 接種材料

発育卵に接種する場合は、検体を接種材料とする。

培養細胞を用いて接種する場合は、検体を滅菌した透析チューブに入れ、4℃で1,000倍容量以上のリン酸緩衝食塩液中で24時間透析し不活化剤を除去した後、これを無菌的に回収して接種材料とする。

3.5.2.1.2 発育卵又は培養細胞

生ワクチン製造用材料規格 1.1 に適合した7～9日齢の発育鶏卵、同規格 1.3 に適合した9～14日齢発育あひる卵又は同規格 2.1.3 に適合した鶏胚肝初代細胞を用いる。

3.5.2.2 試験方法

発育卵を用いる場合は、接種材料を10個以上の発育卵の尿膜腔内に0.1mLずつ注射し、37℃で7日間培養した後、尿膜腔液を採取し、更に1代継代し、37℃で7日間培養し、胚を観察する。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性の有無を観察する。

培養細胞を用いる場合は、接種材料の0.1mLと鶏胚肝初代細胞浮遊液2.0mLを6穴プレートの5穴に分注した後、混合し、37℃で8日間培養した後、更に1代継代し、37℃で8日間培養観察し、CPEの有無を観察する。試験最終日に各穴の培養液を50μLずつ採取し、0.5vol%鶏赤血球浮遊液を等量添加した後、混合し、60分間感作した後、赤血球凝集の有無を観察する。

3.5.2.3 判定

発育卵を用いる場合は、胚が正常に発育し、尿膜腔液に赤血球凝集を認めてはならない。

培養細胞を用いる場合は、培養細胞にCPEを認めず、培養液に赤血球凝集を認めてはならない。

3.6 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。

3.7 小分製品の試験

3.7.1 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。

3.7.2 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。

3.7.3 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。

3.7.4 チメロサル定量試験

チメロサル添加製剤については、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。

3.7.5 ホルマリン定量試験

ホルマリン添加製剤については、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、0.2vol %以下でなければならない。

3.7.6 アルミニウム定量試験

一般試験法のアルミニウム定量法を準用して試験するとき、アルミニウムの含有量は、1 mL 中 1.5mg 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、その含有量とする。

3.7.7 安全試験

3.7.7.1 試験材料

3.7.7.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.7.7.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合した発育鶏卵由来の 5～10 週齢の鶏を用いる。

3.7.7.2 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 羽分を試験群の下腿部筋肉内に注射し、対照群と共に 3 週間観察する。

3.7.7.3 判定

試験期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。

3.7.8 力価試験

3.7.8.1 試験材料

3.7.8.1.1 試験動物

3.7.7 の試験で用いた鶏を用いる。

3.7.8.1.2 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）を用いる。

3.7.8.2 試験方法

3.7.7 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、赤血球凝集抑制試験を行う。

血清をリン酸緩衝食塩液で 2 倍階段希釈し、各希釈血清 25 μ L 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、30 分間処理した後、0.5vol %の鶏赤血球浮遊液を 50 μ L ずつ加えて振とう混合し、60 分間静置した後に赤血球凝集の有無を観察する。

3.7.8.3 判定

赤血球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 16 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。

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 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 株を生ワクチン製造用材料の規格 1.3 に適合した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 に適合した鶏胚肝初代細胞で増殖させて得た培養上清に、最終濃度が 0.2vol %になるようにホルマリンを加えて不活化したもの。

ワクチン（シードロット製剤）の部のマイコプラズマ・ガリセプチカム感染症（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（アジュバント・油性アジュバント 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ヘモフィルス・パラガリナルムA型菌及びC型菌の培養菌液をそれぞれ不活化し、アルミニウムゲルアジュバントを添加したもの並びに同規格に適合したマイコプラズマ・ガリセプチカムの培養菌液を不活化し、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。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 ヘモフィルス・パラガリナルムA型菌

2.1.1.1 名称

ヘモフィルス・パラガリナルムA型菌 No.221 株又はこれと同様と認められた株

2.1.1.2 性状

鶏及び発育鶏卵に対して病原性を示す。牛、馬、羊、鶏及びモルモットの赤血球を凝集する。

2.1.1.3 マスターシード菌

2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、SPF 動物規格の 1.1 に適合した発育鶏卵で増殖させ、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 -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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。

2.1.1.4 ワーキングシード菌

2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、SPF 動物規格の 1.1 に適合した発育鶏卵で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、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。

ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。

2.1.1.5 プロダクションシード菌

2.1.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、SPF 動物規格の 1.1 に適合した発育鶏卵で増殖する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、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。

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。

2.1.2 ヘモフィルス・パラガリナルムC型菌

2.1.2.1 名称

ヘモフィルス・パラガリナルムC型菌 G-1 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

鶏及び発育鶏卵に対して病原性を示す。

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、SPF 動物規格の 1.1 に適合した発育鶏卵で増殖させ、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 -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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。

2.1.2.4 ワーキングシード菌

2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、SPF 動物規格の 1.1 に適合した発育鶏卵で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、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。

ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。

2.1.2.5 プロダクションシード菌

2.1.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、SPF 動物規格の 1.1 に適合した発育鶏卵で増殖する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、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。

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。

2.1.3 マイコプラズマ・ガリセプチカム

2.1.3.1 名称

マイコプラズマ・ガリセプチカム SAS 株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

鶏に対して病原性を示す。

2.1.3.3 マスターシード菌

2.1.3.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、適当と認められた培地で増殖させ、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 -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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。

2.1.3.4 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 -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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。

2.1.3.5 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、適当と認められた培地で増殖する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、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。

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 ヘモフィルス・パラガリナルムの各型菌

2.2.1.1 発育鶏卵

2.2.1.1.1 マスターシード菌、ワーキングシード菌及びプロダクションシード菌の増殖、継代及び保存に用いる発育鶏卵

SPF 動物規格の 1.1 に適合した 5～7 日齢のものを用いる。

マスターシード菌及びワーキングシード菌を増殖、継代及び保存する場合の発育鶏卵並びにプロダクションシード菌を増殖及び保存する場合の発育鶏卵について、3.2 の試験を行う。

2.2.1.2 培地

2.2.1.2.1 原液の製造に用いる培地

製造に相当と認められた培地を用いる。

2.2.2 マイコプラズマ・ガリセプチカム

2.2.2.1 培地

製造に相当と認められた培地を用いる。

2.3 原液

2.3.1 ヘモフィルス・パラガリナルムの各型菌原液

2.3.1.1 培養

プロダクションシード菌を製造用培地で培養したものを更に製造用培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.3 の試験を行う。

2.3.1.2 不活化

培養菌液を相当と認められた界面活性剤で処理した後、遠心して得た菌をリン酸緩衝食塩液に浮遊させたものに、チメロサル又は相当と認められた不活化剤を添加し、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、3.4.1.1 及び 3.4.2.1 の試験を行う。

2.3.1.3 アジュバントの添加

不活化菌液を濃度調整し、相当と認められたアルミニウムゲルアジュバントを添加し、原液とする。ただし、最終バルクの調製時にアジュバントを添加してもよい。

原液について、3.5 の試験を行う。

2.3.2 マイコプラズマ・ガリセプチカム原液

2.3.2.1 培養

プロダクションシード菌を製造用培地で培養したものを更に製造用培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.3.1 の試験を行う。

2.3.2.2 不活化

培養菌液にホルマリンを加えて不活化した後、遠心し、相当と認められた希釈用液に浮遊したものを不活化菌液とする。

不活化菌液について、3.4.1.2 及び 3.4.2.2 の試験を行う。

2.3.2.3 アジュバントの添加

不活化菌液を濃度調整し、相当と認められた油性アジュバントを添加し、原液とする。ただし、最終バルクの調製時にアジュバントを添加してもよい。

原液について、3.5.1 の試験を行う。

2.4 最終バルク

ヘモフィルス・パラガリナルム A 型菌原液及びヘモフィルス・パラガリナルム C 型菌原液並びにマイコプラズマ・ガリセプチカム原液を混合したものを最終バルクとする。この場合、相当と認め

られた保存剤を添加してもよい。

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、3.6の試験を行う。

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

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。

3.1.1.2 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.2 ワーキングシード菌の試験

3.1.2.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.3 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

3.1.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2 発育鶏卵の試験

3.2.1 孵卵性状試験

シードロット規格の3.2.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3 培養菌液の試験

3.3.1 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。

3.3.2 生菌数試験

3.3.2.1 ヘモフィルス・パラガリナルム

3.4.2.1の総菌数試験を実施するものについては、この試験を行わなくてもよい。

3.3.2.1.1 試験材料

3.3.2.1.1.1 試料

検体を普通ブイヨンで10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.2.1.1.2 培地

鶏血清加寒天培地（付記1）を用いる。

3.3.2.1.2 試験方法

各試料 0.1mL ずつをそれぞれ2枚以上の試験用培地に接種して培地表面に拡散させ、37℃、5 vol%炭酸ガス下で48時間培養した後、集落数を数える。

3.3.2.1.3 判定

各段階の希釈液ごとの集落数から生菌数を算出する。

検体の生菌数は、1 mL 中 10^8 個以上でなければならない。

3.4 不活化菌液の試験

3.4.1 不活化試験

3.4.1.1 ヘモフィルス・パラガリナルム

3.4.1.1.1 試験材料

3.4.1.1.1.1 接種材料

検体を接種材料とする。

3.4.1.1.1.2 培地

鶏血清加寒天培地又は適当と認められた培地を用いる。

3.4.1.1.2 試験方法

接種材料 0.1mL ずつを2枚以上の培地に接種して培地表面に拡散させ、37℃、5 vol %炭酸ガス下で48時間培養した後、集落の有無を観察する。

3.4.1.1.3 判定

接種材料を接種した全ての培地上に、ヘモフィルス・パラガリナルムA型菌又はヘモフィルス・パラガリナルムC型菌の集落を認めてはならない。

3.4.1.2 マイコプラズマ・ガリセプチカム

3.4.1.2.1 試験材料

3.4.1.2.1.1 接種材料

検体を試料とする。

3.4.1.2.1.2 培地

適当と認められた液体培地及び寒天平板培地を用いる。

3.4.1.2.2 試験方法

液体培地 100mL に試料 1 mL を接種し、37℃で14日間培養する。培養中に増殖の徴候が認められたときは、寒天平板培地に塗抹し、37℃で7日間培養し、マイコプラズマ・ガリセプチカムの発育の有無を調べる。

3.4.1.2.3 判定

増殖の徴候が認められないとき又は増殖の徴候があっても寒天培地でマイコプラズマ・ガリセプチカムの発育が認められないときは、この試験に適合とする。

3.4.2 総菌数試験

3.4.2.1 ヘモフィルス・パラガリナルム

3.3.2.1の生菌数試験を実施するものについては、この試験を行わなくてもよい。

3.4.2.1.1 試験材料

3.4.2.1.1.1 試料

検体又は検体をリン酸緩衝食塩液で至適濃度に希釈したものを試料とする。

3.4.2.1.2 試験方法

試料の吸光度を分光光度計で測定する。

3.4.2.1.3 判定

標準検量線、吸光度の測定値及び検体の希釈度から総菌数を算出する。

検体の総菌数は、1 mL 中 8×10^9 個以上でなければならない。

3.4.2.2 マイコプラズマ・ガリセプチカム

3.4.2.2.1 試験材料

3.4.2.2.1.1 試料

検体又は検体をリン酸緩衝食塩液で至適濃度に希釈したものを試料とする。

3.4.2.2.2 試験方法

試料の吸光度を分光光度計で測定する。

3.4.2.2.3 判定

標準検量線、吸光度の測定値及び検体の希釈度から総菌数を算出する。

検体の総菌数は、1 mL 中 5.6×10^9 個以上でなければならない。

3.5 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 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 チメロサル定量試験

チメロサル添加製剤については、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。

3.5.4 アルミニウム定量試験

一般試験法のアルミニウム定量法を準用して試験するとき、アルミニウムの含有量は、1 mL 中 1.0mg 以下でなければならない。

3.6 小分製品の試験

3.6.1 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。

3.6.2 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。

3.6.3 ホルマリン定量試験

ホルマリン添加製剤については、適当と認められた方法で試験品を処理したものを試料とし、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、0.25vol % 以下でなければならない。

3.6.4 安全試験

3.6.4.1 試験材料

3.6.4.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.6.4.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合した発育鶏卵由来の 30 ~ 35 日齢の鶏を用いる。

3.6.4.2 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 週間観察し、試験最終日に注射部位を剖検する。

3.6.4.3 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。また、剖検したときに注射部位に著しい異常を認めてはならない。

3.6.5 力価試験

3.6.5.1 鶏伝染性コリザ (A・C型) 力価試験

3.6.5.1.1 試験材料

3.6.5.1.1.1 試験動物

3.6.4 の試験に用いた動物を用いる。

3.6.5.1.1.2 赤血球凝集抗原

「鶏伝染性コリザ (A型) 診断用赤血球凝集抗原」及び鶏伝染性コリザ (C型) 赤血球凝集抗原 (付記 2) を用いる。

3.6.5.1.2 試験方法

3.6.4 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、鶏伝染性コリザ (A型) 赤血球凝集抑制試験及び鶏伝染性コリザ (C型) 赤血球凝集抑制試験を行う。

3.6.5.1.3 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。HI 抗体価 5 倍以上を陽性とする。

それぞれの赤血球凝集抑制試験において、試験群の 70 % 以上が陽性でなければならない。この場合、対照群では、全て陰性でなければならない。

3.6.5.2 マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症力価試験

3.6.5.2.1 試験材料

3.6.5.2.1.1 試験動物

3.6.4 の試験に用いた動物を用いる。

3.6.5.2.1.2 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3）を用いる。

3.6.5.2.2 試験方法

3.6.4 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 %鶏赤血球浮遊液を 50 μ L ずつ加えて振とう混合し、4℃で1夜静置した後、赤血球凝集の有無を観察する。

3.6.5.2.3 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 70 %以上が HI 抗体価 4倍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は、その幾何平均値とする。この場合、対照群では、全て HI 抗体価 4倍未満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は、その期間とする。

5 その他

5.1 添付文書等記載事項

1 肉用鶏には使用しない旨

2 採卵鶏又は種鶏を廃鶏として食鳥処理場へ出荷する前の所定の期間は使用しない旨

付記1 鶏血清加寒天培地

1,000mL 中

ペプトン

1 g

塩化ナトリウム

5 g

寒天

15 g

鶏肉水

残量

pHを7.0～7.4に調整し、121℃で15分間高圧滅菌する。

約50℃に冷却した後、鶏の非働化血清を3～5 vol %となるように加える。

なお、適当と認められたV因子を加えてもよい。

付記2 鶏伝染性コリーザ（C型）赤血球凝集抗原

ヘモフィルス・パラガリナルムC型菌を適当な方法で処理し、1 vol %固定鶏赤血球を用いて反応を行うとき、赤血球凝集価が80倍以上のもの。

付記3 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した後、再浮遊し、これにグリセリンを等量加え、-20℃以下に保存したもの。

(別紙2)

○農林水産省告示第千四百九十六号

薬事法施行令(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。

平成二十五年五月七日

農林水産大臣 林 芳正

「(一)次のよう」は、省略し、その関係書類を農林水産省消費・安全用蓄水産安全管理課及び都道府県庁は備を置いて縦覧は供する。」

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部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）不活化ワクチンの項の1.2.1.1中「3 mL」を「15mL」に改め、1.2.2中「2 mL」を「10mL」に改める。

ワクチン（シードロット製剤）の部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（シード）の項の次に次のように加える。

豚繁殖・呼吸障害症候群 2 価生ワクチン（シード）

2 種類の弱毒豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスをそれぞれ培養細胞で増殖させて得たウイルス液を混合し、凍結乾燥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 ウイルス含有量試験

1.2.1 試験材料

1.2.1.1 試料

試験品を抗豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス血清（付記 1）のそれぞれの血清で中和したものをウイルス増殖用培養液（付記 2）で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液をそれぞれ試料とする。

1.2.1.2 培養細胞

MARC145 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。

1.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 10 穴以上の培養細胞に接種し、37℃で 8 日間培養し観察する。

1.2.3 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。

試験品のそれぞれのウイルス含有量は、1 頭分当たり 10^{3.0}TCID₅₀ 以上でなければならない。

1.3 安全試験

1.3.1 試験材料

1.3.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

1.3.1.2 試験動物

3～4 週齢の豚を用いる。

1.3.2 試験方法

注射材料 1 頭分ずつを 3 頭の試験動物の頸部筋肉内に注射し、14 日間観察する。

1.3.3 判定

観察期間中、異常を認めてはならない。

1.4 力価試験

1.4.1 試験材料

1.4.1.1 試験動物

1.3 の試験に用いた動物を用いる。

1.4.1.2 中和試験用ウイルス

MARC145 細胞で増殖させた弱毒豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス KKM-33 株及び KCI-97137 株を用いる。

1.4.1.3 培養細胞

MARC145 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。

1.4.2 試験方法

1.3 の試験終了後 28 日目に得られた各個体の血清について、補体要求性中和試験を行う。

各被検血清を非働化した後、ウイルス増殖用培養液で 2 倍階段希釈する。各段階の希釈血清 100

μ L と、10vol %モルモット新鮮血清を加えたウイルス増殖用培養液（以下この項において「モルモット血清加ウイルス増殖用培養液」という。）で200TCID₅₀/50 μ Lに調整したそれぞれの中和試験用ウイルス液 100 μ Lを混合し、2～5℃で24時間処理する。この各混合液 50 μ Lずつを4穴の培養細胞に接種し、37℃で1時間吸着後、リン酸緩衝食塩液で細胞を一回洗浄し、モルモット血清加ウイルス増殖用培養液を 50 μ Lずつ加え、37℃、5 vol %炭酸ガス下で5日間培養する。

1.4.3 判定

培養細胞の2穴以上にCPEの阻止を認めた血清の最高希釈倍数を中和抗体価とする。

試験動物の両ウイルス株に対する中和抗体価は、3頭中2頭以上で両株とも2倍以上でなければならない。

付記1 抗豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス血清

弱毒豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス KKM-33 株及び KCI-97137 株でそれぞれ免疫した豚の血清であって、それぞれ 10^{2.0}TCID₅₀/mL の KKM-33 株及び KCI-97137 株のウイルスを 37℃、1時間の感作で完全に中和する力価を有するもの。

ただし、免疫に用いる豚は、適当と認められた規格の豚を用いる。

付記2 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

牛血清アルブミン

2.0 g

イーグル MEM

残量

炭酸水素ナトリウムで pH を 7.2～7.5 に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

ワクチン（シードロット製剤）の部の犬レプトスピラ病（カニコーラ・イクテロヘモラジー・グリッポチフォーサ・ポモナ）不活化ワクチン（アジュバント加溶解用液）（シード）の項の次に次のように加える。

犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬ボルデテラ感染症（部分精製赤血球凝集素）混合不活化ワクチン（シード）

シードロット規格に適合した犬アデノウイルス（2型）及び犬パラインフルエンザウイルスを同規格に適合した株化細胞で増殖させて得たウイルス液をそれぞれ不活化したものを、シードロット規格に適合したボルデテラ・ブロンキセプチカの培養菌体から部分精製して得た赤血球凝集素と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 不活化試験

1.2.1 試験材料

1.2.1.1 試料

試験品 2 mL を 100 倍量以上のリン酸緩衝食塩液（以下この項において「PBS」という。）（付記 1）を用いて 2～5℃ で一夜以上透析したものを試料とする。

1.2.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞を用いる。

1.2.2 試験方法

試料を 25cm² 以上の培養細胞 2 本に 1 mL ずつ接種し、37℃ で 1 時間吸着させた後、細胞表面を PBS で洗浄する。ウイルス増殖用培養液を加え、37℃ で 7 日間培養後、接種した培養細胞を継代し、更に 37℃ で 7 日間培養する。培養最終日に、培養液を除き、PBS で洗浄・調整した 0.1vol % モルモット赤血球浮遊液を重層し、1 時間静置する。その後、細胞表面を PBS で洗浄し、顕微鏡下で赤血球吸着の有無を確認する。

1.2.3 判定

培養細胞に CPE を認めてはならず、かつ、赤血球吸着を認めてはならない。

1.3 毒性限度確認試験

一般試験法の毒性限度確認試験法 1 により試験を行い、これに適合しなければならない。ただし、注射後の体重測定は、5 日目とする。

1.4 力価試験

1.4.1 犬アデノウイルス（2型）力価試験

1.4.1.1 試験材料

1.4.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

1.4.1.1.2 試験動物

約 5 週齢のラットを用いる。

1.4.1.1.3 中和試験用ウイルス

犬アデノウイルス（2型）225 株（付記 2）又は適当と認められた犬アデノウイルス（2型）を用いる。

1.4.1.1.4 培養細胞

犬腎継代細胞を用いる。

1.4.1.2 試験方法

試験動物 5 匹を試験群、2 匹を対照群とする。

注射材料 0.5mL を 21 日間隔で 2 回、試験群の両後肢筋肉内に半量ずつ注射する。第 2 回目注射後 7 日目に試験群及び対照群から採血し、血清を採取する。得られた各個体の血清について、56 °C で 30 分間加温して非働化した後、ウイルス増殖用培養液（付記 3）で、2 倍階段希釈する。次に、各希釈血清と 0.1mL 中 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルスを含む液を等量混合し、37 °C で 1 時間処理する。各混合液 0.1mL ずつを単層形成した培養細胞の 4 穴ずつに接種し、37 °C で 1 時間吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を加える。37 °C で 10 日間培養し、観察する。

1.4.1.3 判定

培養細胞の半数以上の穴に CPE の阻止を認めた血清の最高希釈倍数を中和抗体価とする。試験群では、80 % 以上が中和抗体価 8 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、全て中和抗体価 2 倍以下でなければならない。

1.4.2 犬パラインフルエンザ力価試験

1.4.2.1 試験材料

1.4.2.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

1.4.2.1.2 試験動物

体重約 300g のモルモットを用いる。

1.4.2.1.3 中和試験用ウイルス

犬パラインフルエンザウイルス T2/KS4 株（付記 4）又は適当と認められた犬パラインフルエンザウイルスを用いる。

1.4.2.1.4 培養細胞

犬腎継代細胞を用いる。

1.4.2.2 試験方法

試験動物 5 匹を試験群、2 匹を対照群とする。

注射材料 0.5mL を 21 日間隔で 2 回、試験群の両後肢筋肉内に半量ずつ注射する。第 2 回目注射後 7 日目に試験群及び対照群から採血し、血清を採取する。得られた各個体の血清について、56 °C で 30 分間加温して非働化した後、ウイルス増殖用培養液で、2 倍階段希釈する。次に、各希釈血清と 0.1mL 中 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルスを含む液を等量混合し、37 °C で 1 時間処理する。各混合液 0.1mL ずつを単層形成した培養細胞の 4 穴ずつに接種し、37 °C で 1 時間吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を加える。37 °C で 7 日間培養後、各穴の培養液を採取して 96 穴 V 底マイクロプレートの各 1 穴ずつに 50 μL ずつ分注し、更に PBS で洗浄・調整した 0.4vol % モルモット赤血球浮遊液を等量加えた後、1 時間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

1.4.2.1.6 判定

培養細胞の半数以上の穴において、赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数を中和抗体価とする。

試験群では、80 % 以上が中和抗体価 16 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、全て中和抗体価 2 倍以下でなければならない。

1.4.3 ボルデテラ・ブロンキセプチカ力価試験

1.4.3.1 試験材料

1.4.3.1.1 試験動物

1.4.2 の試験に用いた動物を用いる。

1.4.3.1.2 赤血球凝集（以下この項において「HA」という。）抗原

ボルデテラ・ブロンキセプチカ HA 抗原（付記 5）を用いる。

1.4.3.2 試験方法

1.4.2.2 の試験で得られた各個体の血清について、56 °C で 30 分間加温して非働化した後、マイクロタイター法で赤血球凝集抑制（以下この項において「HI」という。）試験を行う。

非働化血清 1 容に、25w/v %カオリン加 PBS 2 容及び PBS 1 容を加え、30 分間転倒混和した後、遠心上清を採取する（4 倍希釈血清）。4 倍希釈血清を PBS で 2 倍階段希釈した後、各希釈液 25 μ L ずつを 96 穴 V 底マイクロプレートの 2 穴以上に分注する。各希釈血清に 8 単位の HA 抗原を 25 μ L ずつ加えて、37 °C で 1 時間静置する。これに 0.5vol % グルタルアルデヒド固定牛赤血球（付記 6）を 50 μ L ずつ加え、37 °C で 2 時間反応させた後、赤血球の凝集の有無を観察する。

1.4.3.3 判定

半数以上の穴において、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。

試験群では、80%以上が HI 抗体価 16 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。

付記 1 リン酸緩衝食塩液

1,000mL 中

塩化ナトリウム	8.00 g
塩化カリウム	0.20 g
リン酸水素二ナトリウム（無水）	1.15 g
リン酸二水素ナトリウム（無水）	0.20 g
水	残 量

pH を 7.0 ~ 7.4 に調整して、121 °C 15 分間高圧滅菌する。

付記 2 犬アデノウイルス（2 型）225 株

犬腎継代細胞で継代した犬アデノウイルス（2 型）で、犬腎継代細胞を用いて測定するときのウイルス含有量が 10^5 TCID₅₀/mL 以上のもの。

付記 3 ウイルス増殖用培養液

1,000mL 中

牛胎子血清	20 mL
トリプトースフォスフェイト・ブロス	2.95 g
イーグル MEM	残 量

炭酸水素ナトリウムで pH7.0 ~ 7.4 に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 4 犬パラインフルエンザウイルス T2/KS4 株

犬腎継代細胞で継代した犬パラインフルエンザウイルスで、犬腎継代細胞を用いて測定するときのウイルス含有量が 10^5 TCID₅₀/mL 以上のもの。

付記 5 ボルデテラ・ブロンキセプチカ HA 抗原

牛赤血球に対して強い凝集活性を有するボルデテラ・ブロンキセプチカ I 相菌の菌体から遊離させた赤血球凝集素を濃縮後、HA 価が約 128 倍になるように濃度を調整し、保存剤を加えたもの。

付記 6 0.5vol % グルタルアルデヒド固定牛赤血球

牛赤血球をグルタルアルデヒドで固定した後、10vol % 赤血球液となるように濃度を調整

し、使用時に 0.01w/v %ゼラチン加 PBS で 0.5vol %赤血球液となるように希釈したもの。

(別紙3)

○農林水産省告示第千四百九十七号

薬事法施行令(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、平成十七年三月十八日農林水産省告示第五百十六号(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らせるべき数量を定める等の件)の一部を次のように改正し、公布の日から施行する。

平成二十五年五月七日

農林水産大臣 林 芳正

表ワクチン(シードロット製剤)の部中

「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(シード)」	276,300	20,300	12	12	2
「豚パルボウイルス感染症(シード)」	276,300	20,300	12	12	2

油性アジュバント加) 不活化ワクチン (シード)									
豚繁殖・呼吸障害症候群 2 価生ワクチン (シード)	543,200	85,800				13		2	に
「 犬レプトスピラ病 (カニコ ーラ・イクテロヘモラジ ー・グリッポチフォーサ・ポ モナ) 不活化ワクチン (ア ジュバント加溶解用液) (シ ード)	28,400	20,300	37					5	を
「 犬レプトスピラ病 (カニコ ーラ・イクテロヘモラジ	28,400	20,300	37					5	

・グリッポチフォーサ・ポ
モナ) 不活化ワクチン (ア
ジュバント加溶解用液) (
シード)

犬アデノウイルス (2型)
感染症・犬パラインフルエ
ンザ・犬ボルデテラ感染症
(部分精製赤血球凝集素)
混合不活化ワクチン (シー
ド)

454,300

20,300

65

5

21

(別紙4)

○農林水産省告示第千四百九十八号

薬事法(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(薬事法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。

平成二十五年五月七日

農林水産大臣 林 芳正

ただし書中「(88)まで」を「(91)まで」に改め、(132)を(135)とし、(78)から(131)までの三ずつ繰り下げ、(77)を(79)とし、(79)の次に次のように加える。

(80) 鶏伝染性コリナーザ(A・C型)・マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症混合(アジュバント・油性アジュバント加)不活化ワクチン(シード)

ただし書中(76)を(78)とし、(54)から(75)までを二ずつ繰り下げ、(53)を(54)とし、(54)の次に次のように加える。

- (55) 産卵低下症候群―1976 (アジュバント加) 不活化ワクチン (シード)
- ただし書中(52)を(53)とし、(25)から(51)までを一ずつ繰り下げ、(24)の次に次のように加える。
- (25) 豚伝染性胃腸炎 (アジュバント加) 不活化ワクチン (シード)

改正後		現行	
別表第4 動物用医薬品の検定に関する標準処理期間		別表第4 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)
(血清の部)		(血清の部)	
(略)	(略)	(略)	(略)
(ワクチン(シードロット製剤を除く。))の部		(ワクチン(シードロット製剤を除く。))の部	
(略)	(略)	(略)	(略)
(ワクチン(シードロット製剤)の部)		(ワクチン(シードロット製剤)の部)	
(略)	(略)	(略)	(略)
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(シード)	70	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(シード)	70
<u>豚繁殖・呼吸障害症候群2価生ワクチン(シード)</u>	<u>110</u>		
(略)	(略)	(略)	(略)
犬レプトスピラ病(カニコーラ・イクテロヘモラジー・グリッポチフォーサ・ポモナ)不活化ワクチン(アジュバント加溶解用液)(シード)	50	犬レプトスピラ病(カニコーラ・イクテロヘモラジー・グリッポチフォーサ・ポモナ)不活化ワクチン(アジュバント加溶解用液)(シード)	50
<u>犬アデノウイルス(2型)感染症・犬パラインフルエンザ・犬ボルデテラ感染症(部分精製赤血球凝集素)混合不活化ワクチン(シード)</u>	<u>80</u>		
(略)	(略)	(略)	(略)

(略)	(略) (診断液の部)	(略)	(略) (診断液の部)
-----	----------------	-----	----------------