

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）（抄）

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を加える。

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>豚オーエスキー病（g I ー、t k ー）生ワクチン（シード）</b></p> <p>（略）</p> <p><b>豚オーエスキー病（g I ー、t k ー）生ワクチン（トコフェロール酢酸エステルアジュバント加溶解用液）（シード）</b></p> <p>1 定義 <u>シードロット規格に適合した糖たん白 gI 及びチミジンキナーゼを産生しない弱毒オーエスキー病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凍結乾燥したもので、使用時にトコフェロール酢酸エステルアジュバントを含む溶解用液で溶解するワクチンである。</u></p> <p>2 製法</p> <p>2.1 製造用株</p> <p>2.1.1 名称 <u>弱毒オーエスキー病ウイルスベゴニア株又はこれと同等と認められた株</u></p> <p>2.1.2 性状 <u>糖たん白 gI 遺伝子の一部を欠損する。ウイルス性チミジンキナーゼを合成しない。Vero 細胞で CPE を伴って増殖する。豚に対して病原性を示さない。</u></p> <p>2.1.3 マスターシードウイルス</p> <p>2.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数 <u>マスターシードウイルスは、Vero 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、凍結乾燥して－ 20 ℃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。マ</u></p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>豚オーエスキー病（g I ー、t k ー）生ワクチン（シード）</b></p> <p>（略）</p> <p>（新設）</p>

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、Vero 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、凍結乾燥して $-20^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

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、Vero 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、凍結乾燥して $-20^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

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

Vero 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 $-70^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

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には、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 $-70^{\circ}\text{C}$ 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

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。

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。

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、ウイルス増殖極期に個別培養細胞ごとに採取した培養液、そのろ液若しくは遠心上清又はこれらを濃縮したものを原液とする。

## 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、適当と認められた安定剤及び保存剤を加えてもよい。

最終バルクについて、3.3 の試験を行う。

## 2.5 小分製品

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。

小分製品について、3.4 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 1.4.2.1.1.1 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及び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。

#### 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。

#### 3.1.1.5 対象動物を用いた免疫原性試験

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。

#### 3.1.1.6 対象動物を用いた安全性確認試験

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。

#### 3.1.1.7 病原性復帰確認試験

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。

#### 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。

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 及び 2.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

##### 3.2.1.5.2 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及び内源性レトロウイルス（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。

###### 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。

#### 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。

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 最終バルクの試験

### 3.3.1 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。

## 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均質な液体  
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。

### 3.4.2 真空度試験

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。

### 3.4.3 含湿度試験

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。

### 3.4.4 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。

### 3.4.5 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、原液を含む中間工程でマイコプラズマ否定試験  
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。

## 3.4.6 ウイルス含有量試験

### 3.4.6.1 試験材料

#### 3.4.6.1.1 試料

試験品をウイルス増殖用培養液（付記1）で10倍階段希釈し、各段階の希  
釈液を試料とする。

#### 3.4.6.1.2 培養細胞

Vero 細胞又は適当と認められた培養細胞で培養し、単層となったものを用  
いる。

#### 3.4.6.2 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  
分間吸着させた後、ウイルス増殖用培養液 0.5mL を加え、37℃で6～7日間  
培養し、観察する。

#### 3.4.6.3 判定

培養細胞に CPE を認めたものを感染とみなし、TCID<sub>50</sub> を算出する。  
試験品のウイルス含有量は、1 頭分当たり 10<sup>5.5</sup>TCID<sub>50</sub> 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。

### 3.4.7 マーカー試験

#### 3.4.7.1 糖たん白 gI 欠損マーカー試験

##### 3.4.7.1.1 試験材料

3.4.8 の試験終了後、14 日目の血清を用いる。

##### 3.4.7.1.2 試験方法

オーエスキー病ウイルス糖たん白 gI 抗体を識別できる酵素抗体反応キットを用いて酵素抗体反応を行う。

##### 3.4.7.1.3 判定

血清中にオーエスキー病ウイルス糖たん白 gI 抗体を認めてはならない。ただし、原液を含む中間工程で糖たん白 gI 欠損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。

#### 3.4.7.2 チミジンキナーゼ欠損マーカー

##### 3.4.7.2.1 試験材料

###### 3.4.7.2.1.1 試料

試験品を試料とする。

###### 3.4.7.2.1.2 培養細胞

Ltk<sup>-</sup>細胞を細胞増殖用培養液（付記 2）で  $1 \times 10^{5.0}$  個/mL となるように調製した細胞浮遊液の 5 mL を約 25cm<sup>2</sup> の培養瓶に入れ、37 °C で培養し、単層となったものを用いる。

###### 3.4.7.2.1.3 培養液

HAT 培地（付記 3）及びウイルス増殖用培養液を用いる。

##### 3.4.7.2.2 試験方法

試料の 0.2mL ずつを 2 本の培養細胞に接種し、37 °C で 60 分間吸着させた後、3 回洗浄する。HAT 培地又はウイルス増殖用培養液の約 5 mL をそれぞれの培養細胞に加え、37 °C で 3 日間培養する。それぞれの培養細胞について、凍結融解を 1 回行った後、遠心上清のウイルス含有量を 3.4.6 を準用して測定する。

##### 3.4.7.2.3 判定

ウイルス増殖用培養液を用いて培養した細胞の遠心上清中のウイルス含有量は、HAT 培地を用いて培養した細胞の遠心上清中のウイルス含有量と比べて、1,000 倍以上高くない。

### 3.4.8 安全試験

#### 3.4.8.1 試験材料

##### 3.4.8.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

##### 3.4.8.1.2 試験動物

体重 10 ～ 40kg の豚を用いる。

#### 3.4.8.2 試験方法

試験動物 2 頭を試験群、1 頭を対照群とする。試験群に注射材料 1 頭分をそれぞれ筋肉内に注射し、対照群と共に同居飼育し、14 日間観察する。

#### 3.4.8.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に異常を認めてはならない。

#### 3.4.9 力価試験

##### 3.4.9.1 試験材料

###### 3.4.9.1.1 試験動物

3.4.8 の試験に用いた動物を用いる。

###### 3.4.9.1.2 中和試験用ウイルス

Vero 細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖させたオーエスキー病ウイルスベゴニア株又は適当と認められた株を用いる。

###### 3.4.9.1.3 培養細胞

Vero 細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

##### 3.4.9.2 試験方法

3.4.8 の試験終了後、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、ウイルス増殖用培養液で 10 倍に希釈し、更に 2 倍階段希釈する。各希釈血清と 0.2mL 中約 80PFU の中和試験用ウイルス液を等量混合し、37℃で一夜処理する。この各混合液の 0.2mL ずつをそれぞれ 4 枚（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で 60 分間吸着させた後、混合液を除き、第 1 次重層寒天培地（付記 4）を重層し、37℃、5 vol % 炭酸ガス下で 2 日間培養する。培養後、第 2 次重層寒天培地（付記 5）を重層し、更に一夜培養後、ブラック数を測定する。

##### 3.4.9.3 判定

ブラック数がウイルス対照の 50 % 以下に減少した血清の最高希釈倍数を中和抗体価とする。

試験群の中和抗体価は、20 倍以上でなければならない。この場合、対照群の中和抗体価は、10 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 3 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 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

L-グルタミン 0.3 g

牛血清 8 ～ 50mL

イーグル MEM 残量



pHを7.0～7.6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

細胞増殖用培養液

1,000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス

2.95 g

L-グルタミン

0.3 g

牛血清

30～100mL

イーグル MEM

残 量

pHを7.0～7.6に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記3

HAT 培地

1,000mL 中

ヒポキサチン

0.0014 g

アミノプテリン

0.00018 g

チミジン

0.0039 g

トリプトース・ホスフェイト・ブロス

2.95 g

牛血清

0～100mL

イーグル MEM

残 量

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4

第1次重層寒天培地

1,000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス

2.95 g

寒天

10.0 g

牛血清

20 mL

イーグル MEM

残 量

pHを6.8～7.6に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記5

第2次重層寒天培地

1,000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス

2.95 g

寒天

10.0 g

ニュートラルレッド

0.05 g

イーグル MEM

残 量

pHを6.8～7.6に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。



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）（抄）

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を加える。

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>豚丹毒（アジュバント加）不活化ワクチン（シード）</b></p> <p>(略)</p> <p><b><u>豚丹毒（トコフェロール酢酸エステルアジュバント加）不活化ワクチン（シード）</u></b></p> <p><u>1 定義</u> シードロット規格に適合した豚丹毒菌の培養菌液をアルカリ処理して可溶化した抗原液を不活化した後、トコフェロール酢酸エステルアジュバントを添加したワクチンである。</p> <p><u>2 製法</u></p> <p><u>2.1 製造用株</u></p> <p><u>2.1.1 名称</u> 豚丹毒菌 M 2 株（血清型 2 型）又はこれと同等と認められた株</p> <p><u>2.1.2 性状</u> 豚に対する病原性は、注射局所に限局した発赤を示す程度である。</p> <p><u>2.1.3 マスターシード菌</u></p> <p><u>2.1.3.1 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、羊血液寒天培地（付記 1）又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、凍結乾燥して－15℃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。</p> <p><u>2.1.4 ワーキングシード菌</u></p> <p><u>2.1.4.1 増殖、継代及び保存</u> ワーキングシード菌は、平板培地（付記 2）又は適当と認められた培地で</p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>豚丹毒（アジュバント加）不活化ワクチン（シード）</b></p> <p>(略)</p> <p>(新設)</p>

増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して－15℃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、平板培地又は適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して－15℃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 培地

製造に適当と認められた培地を用いる。

## 2.3 原液

### 2.3.1 培養

プロダクションシード菌を適当と認められた液状培地に接種し、培養したものを液状培地に接種し、培養する。さらにそれを液状培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.2の試験を行う。

### 2.3.2 アルカリ処理及び不活化

培養菌液を遠心して得た菌を適量の水に浮遊した後、水酸化ナトリウムを加えてアルカリ処理を行う。これに塩酸又は酢酸を加えてpHを調整し、ホルマリンを加えて不活化した後、適当と認められた希釈液で濃度を調整し、原液とする。

原液について、3.3の試験を行う。

## 2.4 最終バルク

原液を適当と認められた希釈液で濃度を調整し、トコフェロール酢酸エステルアジュバントを加え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、3.4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を準用して試験を実施するとき、適合しなければならない。

##### 3.1.1.2 夾雑菌否定試験

###### 3.1.1.2.1 羊血液寒天培養法

3.1.1.2.1.1 培地

羊血液寒天培地を用いる。

3.1.1.2.1.2 試験方法

検体 0.1mL ずつをそれぞれ 2 枚の羊血液寒天培地に接種し、37℃で 24～48 時間培養する。

3.1.1.2.1.3 判定

豚丹毒菌以外の菌の発育を認めてはならない。

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 培養菌液の試験

3.2.1 夾雑菌否定試験

3.2.1.1 試験材料

3.2.1.1.1 接種材料

検体を接種材料とする。

3.2.1.1.2 培地

平板培地を用いる。

3.2.1.2 試験方法

接種材料の 0.1mL ずつを 2 枚の培地に塗抹し、37℃で 24 時間培養する。

3.2.1.3 判定

豚丹毒菌以外の菌の発育を認めてはならない。

3.3 原液の試験

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。

3.4 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。

3.4.2 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。

3.4.3 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。

3.4.4 ホルマリン定量試験

適当と認められた方法で処理した検体を試料とし、一般試験法のホルマリン定量法により試験するとき、ホルマリンの含有量は、0.15vol%以下でなければならない。

#### 3.4.5 トコフェロール酢酸エステル定量試験

日本薬局方のトコフェロール酢酸エステルの定量法を準用して試験するとき、トコフェロール酢酸エステルの含有量は、1 mL 中 70 ~ 80mg でなければならない。

#### 3.4.6 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。ただし、モルモットの観察期間は10日間とする。

#### 3.4.7 力価試験

##### 3.4.7.1 試験材料

##### 3.4.7.1.1 注射材料

試験品を生理食塩液で2倍希釈したものを注射材料とする。

##### 3.4.7.1.2 試験動物

4週齢のマウスを用いる。

##### 3.4.7.1.3 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3）に接種し、37℃で18～22時間培養する。これを0.1mL 中約100致死量の菌量となるように調整したものを攻撃用菌液とする。

##### 3.4.7.2 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皮下に0.1mL ずつ注射して攻撃した後、7日間観察する。

##### 3.4.7.3 判定

試験群においては、80%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。

#### 4 貯法及び有効期間

有効期間は、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 羊血液寒天培地

1,000mL 中

肉ペプトン

15.0 g

イーストエキス

5.0 g

塩化ナトリウム

5.0 g

肝臓酵素消化物

2.5 g

寒天

15.0 g

水

残量

上記分量を溶解後、pH を 7.2 に調整して、121 °C で 15 分間高圧滅菌する。約 50 °C に冷却後、羊脱繊維血液 50.0mL を加える。

付記 2 平板培地

1,000mL 中

ペプトン 10.0 g

ラブ・レムコ粉末 8.0 g

酵母エキス 4.0 g

ブドウ糖 5.0 g

リン酸水素二カリウム 5.0 g

硫酸マグネシウム七水和物 0.2 g

硫酸マンガン一水和物 0.035 g

ポリソルベート 80 1.0 mL

寒天 17.0 g

水 残量

121 °C で 15 分間高圧滅菌する。

付記 3 攻撃菌用培地

1,000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス 30.0 g

ポリソルベート 80 1.0 mL

水 残量

pH を 7.4 ~ 7.8 に調整して、121 °C で 15 分間高圧滅菌する。

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 10 月 3 日農林水産省告示第 1567 号）（抄）

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を加える。

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>さけ科魚類ビブリオ病2価不活化ワクチン（シード）</b></p> <p>(略)</p> <p><b><u>ひらめストレプトコッカス・パラウベリス（I型・II型）感染症・β溶血性レンサ球菌症混合不活化ワクチン（シード）</u></b></p> <p>1 定義 <u>シードロット規格に適合したストレプトコッカス・パラウベリス I 型菌及び II 型菌並びにストレプトコッカス・イニエの培養菌液を不活化後混合したワクチンである。</u></p> <p>2 製法</p> <p>2.1 製造用株</p> <p>2.1.1 ストレプトコッカス・パラウベリス I 型菌</p> <p>2.1.1.1 名称 <u>ストレプトコッカス・パラウベリス I 型菌 M4Y 株又はこれと同等と認められた株</u></p> <p>2.1.1.2 性状 <u>ストレプトコッカス・パラウベリス I 型菌に一致する生物学的性状を示し、ストレプトコッカス・パラウベリス感染症に対する免疫原性を有する。</u></p> <p>2.1.1.3 マスターシード菌</p> <p>2.1.1.3.1 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。</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 -70℃以下又は凍結乾燥して 5℃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</u></p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>さけ科魚類ビブリオ病2価不活化ワクチン（シード）</b></p> <p>(略)</p> <p>(新設)</p>



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、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℃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、適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して-70℃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 ストレプトコッカス・パラウベリスII型菌

##### 2.1.2.1 名称

ストレプトコッカス・パラウベリスII型菌 M5E 株又はこれと同等と認められた株

##### 2.1.2.2 性状

ストレプトコッカス・パラウベリスII型菌に一致する生物学的性状を示し、ストレプトコッカス・パラウベリス感染症に対する免疫原性を有する。

##### 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、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℃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、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℃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、適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して-70℃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 ストレプトコッカス・イニエ

#### 2.1.3.1 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

#### 2.1.3.2 性状

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

#### 2.1.3.3 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℃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℃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-70℃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 培地

製造に適当と認められた培地を用いる。

### 2.3 原液

#### 2.3.1 ストレプトコッカス・パラウベリス I 型菌原液

##### 2.3.1.1 培養

プロダクションシード菌を培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.2の試験を行う。

##### 2.3.1.2 不活化

培養菌液にホルマリンを加えて不活化したものを不活化菌液とする。

##### 2.3.1.3 原液

不活化菌液を適当と認められた方法で集菌し、適当と認められた溶液で濃度調整したものを原液とする。必要に応じてpHを調整してもよい。

原液について、3.3の試験を行う。

#### 2.3.2 ストレプトコッカス・パラウベリス II 型菌原液

#### 2.3.2.1 培養

プロダクションシード菌を培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.2 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ものを不活化菌液とする。

#### 2.3.2.3 原液

不活化菌液を適当と認められた方法で集菌し、適当と認められた溶液で濃度調整したものを原液とする。必要に応じて pH を調整してもよい。

原液について、3.3 の試験を行う。

#### 2.3.3 ストレプトコッカス・イニエ原液

##### 2.3.3.1 培養

プロダクションシード菌を培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.2 の試験を行う。

##### 2.3.3.2 不活化

培養菌液にホルマリンを加えて不活化したものを不活化菌液とする。

##### 2.3.3.3 原液

不活化菌液を適当と認められた方法で集菌し、適当と認められた溶液で濃度調整したものを原液とする。必要に応じて pH を調整してもよい。

原液について、3.3 の試験を行う。

#### 2.4 最終バルク

それぞれの原液を混合して、適当と認められた溶液で濃度調整し、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、3.4 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 を準用して試験を実施するとき、適合しなければならない。

###### 3.1.1.2 夾雑菌否定試験

###### 3.1.1.2.1 寒天培地法

###### 3.1.1.2.1.1 試験材料

###### 3.1.1.2.1.1.1 試料

検体を試料とする。

###### 3.1.1.2.1.1.2 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。

###### 3.1.1.2.1.2 試験方法

それぞれの試料 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、27℃で24～48時間培養する。

#### 3.1.1.2.1.3 判定

ストレプトコッカス・パラウベリスⅠ型菌又はⅡ型菌の検体は、ストレプトコッカス・パラウベリス以外の菌の発育を認めてはならず、ストレプトコッカス・イニエの検体は、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。

#### 3.1.1.2.2 無菌試験法

一般試験法の無菌試験法の真菌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。

#### 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 培養菌液の試験

##### 3.2.1 夾雑菌否定試験

##### 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

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。

##### 3.2.1.2 試験方法

それぞれの試料 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、27℃で24～48時間培養する。

##### 3.2.1.3 判定

ストレプトコッカス・パラウベリスⅠ型菌又はⅡ型菌の検体は、ストレプトコッカス・パラウベリス以外の菌の発育を認めてはならず、ストレプトコッカス・イニエの検体は、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。

#### 3.3 原液の試験

##### 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

検体を試料とする。

##### 3.3.2.1.2 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。

### 3.3.2.2 試験方法

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

### 3.3.2.3 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。

## 3.3.3 総菌数試験

### 3.3.3.1 試験材料

#### 3.3.3.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液（以下この項において「PBS」という。）又は適当と認められた希釈用液で適度に希釈したものを試料とする。

### 3.3.3.2 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。

### 3.3.3.3 判定

各検体の総菌数は、ストレプトコッカス・パラウベリス I 型菌にあつては 1 mL 中  $2.28 \times 10^{10}$ CFU 以上、ストレプトコッカス・パラウベリス II 型菌にあつては 1 mL 中  $4.03 \times 10^{10}$ CFU 以上、ストレプトコッカス・イニエにあつては 1 mL 中  $2.94 \times 10^{10}$ CFU 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、その総菌数とする。

## 3.3.4 同定試験

### 3.3.4.1 試験材料

#### 3.3.4.1.1 試料

検体 1 mL を遠心した沈殿を試料とする。

#### 3.3.4.1.2 抗血清

ストレプトコッカス・パラウベリス I 型菌及び II 型菌には抗ストレプトコッカス・パラウベリス I 型血清（付記 2。以下この項において「抗 I 型血清」という。）及び抗ストレプトコッカス・パラウベリス II 型血清（付記 3。以下この項において「抗 II 型血清」という。）を、ストレプトコッカス・イニエには抗ストレプトコッカス・イニエ 38 ータイプ血清（付記 4）及び抗ストレプトコッカス・イニエ 38 +タイプ血清（付記 5）を使用する。

### 3.3.4.2 試験方法

試料 1 白金耳ずつとそれぞれの抗血清をスライドグラス上で混合し、急速凝集反応を行う。

### 3.3.4.3 判定

ストレプトコッカス・パラウベリス I 型菌は、抗 I 型血清では凝集し、抗 II 型血清では凝集してはならない。ストレプトコッカス・パラウベリス II 型菌は、抗 II 型血清では凝集し、抗 I 型血清では凝集してはならない。ストレプトコッカス・イニエは、抗ストレプトコッカス・イニエ 38 ータイプ血清では凝集し、抗ストレプトコッカス・イニエ 38 +タイプ血清では凝集してはならない。

### 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。

#### 3.4.2 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。

#### 3.4.3 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。

#### 3.4.4 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、0.3vol %以下でなければならない。

#### 3.4.5 安全試験

##### 3.4.5.1 試験材料

###### 3.4.5.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

###### 3.4.5.1.2 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。

###### 3.4.5.2 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飼育水温を約 1 日かけて 25℃に上昇させる。

###### 3.4.5.3 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。

#### 3.4.6 力価試験

##### 3.4.6.1 ストレプトコッカス・パラウベリス感染症力価試験

###### 3.4.6.1.1 試験材料

###### 3.4.6.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

###### 3.4.6.1.1.2 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 160 尾以上を用いる。

###### 3.4.6.1.1.3 攻撃用菌液

ストレプトコッカス・パラウベリス I 型強毒菌（付記 6）及びストレプトコッカス・パラウベリス II 型強毒菌（付記 7）の液体培養菌液を、それぞれ

対照群の死亡率が 50 %以上と予測される 2 段階に調整したものを攻撃用菌液とする。

#### 3.4.6.1.2 試験方法

試験動物は、24 時間以上餌止めした後、1 群 80 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 °C、循環式で飼育し、注射後 13 日目に飼育水温を約 1 日かけて 25 °C に上昇させる。

注射後 13 日目から 24 時間以上餌止めした試験群及び対照群をそれぞれ 20 尾以上の 4 群ずつに分ける。各 2 群ずつに I 型菌の攻撃用菌液を、他の各 2 群ずつに II 型菌の攻撃用菌液を、それぞれ 0.1mL ずつを腹腔内に注射して攻撃する。攻撃後、飼育水温を 2～4 時間かけて 27 °C に上昇させ、21 日間観察して各群の生死を調べる。

なお、この際、攻撃後 4 日目から 48 時間餌止めし、攻撃後 5 日目から観察期間終了時まで各水槽の溶存酸素量を約 4～5 mg/L となるように調整する。

#### 3.4.6.1.3 判定

それぞれの対照群の 35 %以上が死亡した攻撃用菌液のうち少なくとも 1 段階において、試験群の生残率は、対照群のそれより有意に高い値を示さなければならぬ (Fisher の直接確率計算法、 $P < 0.05$ )。

#### 3.4.6.2 $\beta$ 溶血性レンサ球菌症力価試験

##### 3.4.6.2.1 試験材料

###### 3.4.6.2.1.1 試験動物

3.4.5 の試験に用いた動物を用いる。

###### 3.4.6.2.1.2 攻撃用菌液

ストレプトコッカス・イニエ強毒菌 (付記 8) の液体培養菌液を PBS で希釈し、対照群の死亡率が 80 %以上と予想される希釈菌液を攻撃用菌液とする。

##### 3.4.6.2.2 試験方法

3.4.5 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に、攻撃用菌液 0.1mL ずつを腹腔内に注射して攻撃した後、飼育水温を 2～4 時間かけて 27 °C に上昇させ、14 日間飼育観察して各群の生死を調べる。

##### 3.4.6.2.3 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、対照群は 80 %以上が死亡しなければならない。

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

#### 4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後 3 年 5 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 トッド・ヘビット寒天培地  
1,000mL 中

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

加熱溶解した後、滅菌する。

付記 2 抗ストレプトコッカス・パラウベリス I 型血清  
ストレプトコッカス・パラウベリス I 型菌で免疫した兎の血清で、ス  
トレプトコッカス・パラウベリス I 型菌のみに凝集するもの

付記 3 抗ストレプトコッカス・パラウベリス II 型血清  
ストレプトコッカス・パラウベリス II 型菌で免疫した兎の血清で、ス  
トレプトコッカス・パラウベリス II 型菌のみに凝集するもの

付記 4 抗ストレプトコッカス・イニエ 38 -タイプ血清  
ストレプトコッカス・イニエ 38 -タイプで免疫した兎の血清で、ス  
トレプトコッカス・イニエ 38 -タイプ及び 38 +タイプの両方に凝集する  
もの

付記 5 抗ストレプトコッカス・イニエ 38 +タイプ血清  
ストレプトコッカス・イニエ 38 +タイプで免疫した兎の血清で、ス  
トレプトコッカス・イニエ 38 +タイプのみに凝集するもの

付記 6 ストレプトコッカス・パラウベリス I 型強毒菌  
ストレプトコッカス・パラウベリス M4Y 株又はこれと同等以上の毒  
力を有する株

付記 7 ストレプトコッカス・パラウベリス II 型強毒菌  
ストレプトコッカス・パラウベリス M5E 株又はこれと同等以上の毒力  
を有する株

付記 8 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 CIN 株又はこれと同等以上の毒力を有す  
る株



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）（抄）

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を加える。

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>豚ストレプトコッカス・スイス（2型）感染症 （酢酸トコフェロールアジュバント加）不活化 ワクチン（シード）</b></p> <p>（略）</p> <p><b><u>豚増殖性腸炎生ワクチン（シード）</u></b></p> <p>1 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。</u></p> <p>2 製法</p> <p>2.1 製造用株</p> <p>2.1.1 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。</u></p> <p>2.1.2 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。</u></p> <p>2.1.3 マスターシード菌</p> <p>2.1.3.1 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、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></p> <p>2.1.4 ワーキングシード菌</p> <p>2.1.4.1 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。</u> <u>ワーキングシード菌は、凍結して－35℃以下で保存する。</u> <u>ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。</u></p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>豚ストレプトコッカス・スイス（2型）感染症 （酢酸トコフェロールアジュバント加）不活化 ワクチン（シード）</b></p> <p>（略）</p> <p>（新設）</p>

## 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 °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 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 °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。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。

### 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 °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 の培養液で増殖する。

プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して- 35 °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 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

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。

### 2.3.2 菌の培養

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別培養細胞ごとに採取した培養液を原液とする。

原液について、3.3 の試験を行う。

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。

#### 2.4 最終バルク

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。

#### 2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注して凍結乾燥し、小分製品とする。

小分製品について、3.4 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 1.4.2.2.1.1 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。

###### 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。

###### 3.1.1.3 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 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。

###### 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、その方法によるものとする。

###### 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 1.2、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。

#### 3.1.1.5 対象動物を用いた免疫原性試験

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。

#### 3.1.1.6 対象動物を用いた安全性確認試験

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。

#### 3.1.1.7 病原性復帰確認試験

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。

#### 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

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。

##### 3.1.2.3 生菌数試験

###### 3.1.2.3.1 試料

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。

###### 3.1.2.3.2 培養細胞

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 100  $\mu$  L 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  $^{\circ}$ 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）100  $\mu$  L を加え 2 分間以上固定する。

固定プレートの各穴に 50  $\mu$  L 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  $^{\circ}$ 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）50  $\mu$  L ずつを加え、5 vol %炭酸ガス下、37  $^{\circ}$ C で 30 分間反応させる。水で洗浄後、水分を除去し、各穴に 50  $\mu$  L 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、TCID<sub>50</sub> を算出する。

この場合、陽性対照品は既知の生菌数  $\pm$  10<sup>0.5</sup>TCID<sub>50</sub> 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。

###### 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。

###### 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、その試験法によるものとする。

#### 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。

#### 3.2.2 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 原液の試験

##### 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

3.1.2.3 を準用して試験するとき、検体の生菌数は  $10^{5.0}$ TCID<sub>50</sub>/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  $\pm 10^{0.5}$ TCID<sub>50</sub>/mL の範囲内でなければならない。

##### 3.3.3 同定試験

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。

#### 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 真空度試験

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。

#### 3.4.3 含湿度試験

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。

#### 3.4.4 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。

#### 3.4.5 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  $10^{4.9} \sim 10^{6.1}$  TCID<sub>50</sub> で、陽性対照品は既知の生菌数の  $\pm 10^{0.5}$  TCID<sub>50</sub>/mL の範囲内であればならない。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 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 °C で保存したもの

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  
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

付記 6 蛍光標識抗マウス IgG 抗体  
ヤギ抗マウス免疫グロブリン血清から  $\gamma$ -グロブリンを調製し、これを蛍光色素で標識したもの

付記 7 グリセロール液  
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。

付記 8 ダルベッコ変法イーグル培地／ハム F12  
適当と認められた品質の乾燥品



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）（抄）

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を加える。

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>鶏サルモネラ症（サルモネラ・エンテリティ ディス）（油性アジュバント加）不活化ワクチ ン（シード）</b></p> <p>（略）</p> <p><b><u>鶏サルモネラ症（サルモネラ・インファンテ イス、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）</u></b></p> <p>1 定義</p> <p><u>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、濃縮したものに油性 アジュバントを添加し、混合したワクチンである。</u></p> <p>2 製法</p> <p>2.1 製造用株</p> <p>2.1.1 SI</p> <p>2.1.1.1 名称</p> <p><u>SI I-178 株又はこれと同等と認められた株</u></p> <p>2.1.1.2 性状</p> <p><u>SI 基準株に一致する生物学的性状を示す。</u></p> <p>2.1.1.3 マスターシード菌</p> <p>2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数</p> <p><u>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 より作成し、保存用の容器に分注する。</u></p> <p><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</u></p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>鶏サルモネラ症（サルモネラ・エンテリティ ディス）（油性アジュバント加）不活化ワクチ ン（シード）</b></p> <p>（略）</p> <p>（新設）</p>

して-70℃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、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℃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、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℃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 SE

##### 2.1.2.1 名称

SE E-926株又はこれと同等と認められた株

##### 2.1.2.2 性状

SE基準株に一致する生物学的性状を示す。

##### 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、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成し、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℃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、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℃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、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℃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 ST

### 2.1.3.1 名称

ST T-023 株又はこれと同等と認められた株

### 2.1.3.2 性状

ST 基準株に一致する生物学的性状を示す。

### 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成し、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℃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℃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℃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 培地

製造に適当と認められた培地を用いる。

## 2.3 原液

### 2.3.1 SI原液

#### 2.3.1.1 培養

プロダクションシード菌を培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.2の試験を行う。

#### 2.3.1.2 不活化

培養菌液にホルマリンを加え不活化し、リン酸緩衝食塩液（付記1。以下この項において「PBS」という。）を用いて菌体を洗浄し、濃縮したものを不活化菌液とする。

不活化菌液について、3.3の試験を行う。

#### 2.3.1.3 アジュバントの添加

不活化菌液を必要に応じ濃度調整し、油性アジュバントを添加したものを

原液とする。

原液について、3.4 の試験を行う。

### 2.3.2 SE 原液

#### 2.3.2.1 培養

プロダクションシード菌を培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.2 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不活化し、PBS を用いて菌体を洗浄し、濃縮したものを不活化菌液とする。

不活化菌液について、3.3 の試験を行う。

#### 2.3.2.3 アジュバントの添加

不活化菌液を必要に応じ濃度調整し、油性アジュバントを添加したものを原液とする。

原液について、3.4 の試験を行う。

### 2.3.3 ST 原液

#### 2.3.3.1 培養

プロダクションシード菌を培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.2 の試験を行う。

#### 2.3.3.2 不活化

培養菌液にホルマリンを加え不活化し、PBS を用いて菌体を洗浄し、濃縮したものを不活化菌液とする。

不活化菌液について、3.3 の試験を行う。

#### 2.3.3.3 アジュバントの添加

不活化菌液を必要に応じ濃度調整し、油性アジュバントを添加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

各原液を混合したものを最終バルクとする。

### 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 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 1 を準用して試験するとき、サルモネラ菌以外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

の試験方法とする。

### 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 培養菌液の試験

#### 3.2.1 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。

#### 3.2.2 生菌数試験

##### 3.2.2.1 試験材料

###### 3.2.2.1.1 試料

検体を生理食塩水で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 培地

適当と認められた寒天培地を用いる。

##### 3.2.2.2 試験方法

試料1 mLずつを混釈法によりそれぞれ2枚以上の培地に接種し、37℃で24時間培養した後、集落数を数える。

##### 3.2.2.3 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、SIについては1 mL中 $10^{7.9}$ 個以上、SEについては1 mL中 $10^{8.2}$ 個以上、STについては1 mL中 $10^{7.6}$ 個以上でなければならない。

### 3.3 不活化菌液の試験

#### 3.3.1 不活化試験

##### 3.3.1.1 試験材料

###### 3.3.1.1.1 試料

検体を試料とする。

###### 3.3.1.1.2 培地

適当と認められた液状培地及び適当と認められた寒天培地を用いる。

##### 3.3.1.2 試験方法

液状培地 100mL に試料 1 mL を接種し、37℃で 24 時間培養する。培養液 0.1mL ずつをそれぞれ 2 枚以上の寒天培地に接種して、37℃で 24 時間培養する。

##### 3.3.1.3 判定

いずれの寒天培地上においても、菌の発育を認めてはならない。

#### 3.3.2 総菌数試験

##### 3.3.2.1 試験材料

###### 3.3.2.1.1 試料

検体又は検体を適当と認められた PBS で希釈したものを試料とする。

### 3.3.2.2 試験方法

分光光度計を用い、試料の吸光度を測定する。

### 3.3.2.3 判定

標準検量線、試料の吸光度値及び検体の希釈倍数から総菌数を算出するとき、検体の総菌数は、SIについては1 mL中  $10^{8.2}$  個以上、SEについては  $10^{8.5}$  個以上、STについては  $10^{7.9}$  個以上でなければならない。

## 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。

## 3.5 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。

### 3.5.2 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。

### 3.5.3 ホルマリン定量試験

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、0.2vol%以下でなければならない。

### 3.5.4 安全試験

#### 3.5.4.1 試験材料

##### 3.5.4.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

##### 3.5.4.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合する発育鶏卵由来の5～7週齢の鶏を用いる。

##### 3.5.4.2 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羽分ずつを試験群の背側部皮下に注射し、対照群と共に4週間観察を行い、試験最終日に注射部位を剖検する。

##### 3.5.4.3 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、注射部位に著しい異常を認めてはならない。

### 3.5.5 力価試験

#### 3.5.5.1 SI感染症力価試験

##### 3.5.5.1.1 試験材料

3.5.4 の試験に使用した試験動物を用いる。

3.5.5.1.2 酵素抗体反応（以下この項において「ELISA」という。）抗原  
組換え SI べん毛抗原（付記 2）を用いる。

#### 3.5.5.1.3 試験方法

3.5.4 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、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 3）及び参照陰性血清（付記 4）を希釈・洗浄液（付記 5）で 400 倍希釈し、それぞれ組換え SI べん毛抗原吸着プレート（付記 6）4 穴に 100  $\mu$  L ずつ加える。各プレートに、希釈・洗浄液のみの穴を 3 穴設け、ブランク穴とする。37  $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体（付記 7）を 100  $\mu$  L ずつ加え、37  $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄する。基質液（付記 8）を 100  $\mu$  L ずつ加え、遮光して室温で 15 分間反応させた後、反応停止液（付記 9）を 50  $\mu$  L ずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を波長 492nm で測定する。

#### 3.5.5.1.4 判定

各穴の吸光度からブランク穴の平均吸光度を引いた値を各穴の吸光度値とする。それぞれの血清の 4 穴の吸光度値を比較し、最高値と最低値を除いた 2 穴の平均吸光度値を、それぞれの血清の吸光度値とし、試験群及び対照群の各血清の吸光度値を SI 参照陽性血清の吸光度値で除した値を、それぞれの血清の ELISA 抗体価とする。

試験群の ELISA 抗体価の平均値は、0.25 以上でなければならず、対照群の ELISA 抗体価は、いずれも 0.1 以下でなければならない。また、SI 参照陽性血清の吸光度値は、0.8 ~ 1.2 を示さなければならず、参照陰性血清の吸光度値は、0.1 以下でなければならない。

#### 3.5.5.2 SE 感染症力価試験

##### 3.5.5.2.1 試験材料

3.5.4 の試験に使用した試験動物を用いる。

##### 3.5.5.2.2 ELISA 抗原

SE 精製べん毛抗原（付記 10）を用いる。

##### 3.5.5.2.3 試験方法

3.5.4 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、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希釈・洗浄液で 800 倍希釈し、それぞれ SE 精製べん毛抗原吸着プレート（付記 12）4 穴に 100  $\mu$  L ずつ加える。各プレートに、希釈・洗浄液のみの穴を 3 穴設け、ブランク穴とする。37  $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体を 100  $\mu$  L ずつ加え、37  $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄する。基質液を 100  $\mu$  L ずつ加え、遮光して室温で 15 分間反応させた後、反応停止液を 50  $\mu$  L ずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を波長 492nm で測定する。

#### 3.5.5.2.4 判定

各穴の吸光度からブランク穴の平均吸光度を引いた値を各穴の吸光度値とする。それぞれの血清の4穴の吸光度値を比較し、最高値と最低値を除いた2穴の平均吸光度値を、それぞれの血清の吸光度値とし、試験群及び対照群の各血清の吸光度値をSE参照陽性血清の吸光度値で除した値を、それぞれの血清のELISA抗体価とする。

試験群のELISA抗体価の平均値は、0.25以上でなければならず、対照群のELISA抗体価は、いずれも0.1以下でなければならず、SE参照陽性血清の吸光度値は、0.8～1.2を示さなければならず、参照陰性血清の吸光度値は、0.1以下でなければならず。

#### 3.5.5.3 ST感染症力価試験

##### 3.5.5.3.1 試験材料

3.5.4の試験に使用した試験動物を用いる。

##### 3.5.5.3.2 ELISA抗原

組換えSTべん毛抗原(付記13)を用いる。

##### 3.5.5.3.3 試験方法

3.5.4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、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14)及び参照陰性血清を希釈・洗浄液で400倍希釈し、それぞれ組換えSTべん毛抗原吸着プレート(付記15)4穴に100 $\mu$ Lずつ加える。各プレートに、希釈・洗浄液のみの穴を3穴設け、ブランク穴とする。37 $^{\circ}$ Cで1時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体を100 $\mu$ Lずつ加え、37 $^{\circ}$ Cで1時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄する。基質液を100 $\mu$ Lずつ加え、遮光して室温で15分間反応させた後、反応停止液を50 $\mu$ Lずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を波長492nmで測定する。

##### 3.5.5.3.4 判定

各穴の吸光度からブランク穴の平均吸光度を引いた値を各穴の吸光度値とする。それぞれの血清の4穴の吸光度値を比較し、最高値と最低値を除いた2穴の平均吸光度値を、それぞれの血清の吸光度値とし、試験群及び対照群の各血清の吸光度値をST参照陽性血清の吸光度値で除した値を、それぞれの血清のELISA抗体価とする。

試験群のELISA抗体価の平均値は、0.2以上でなければならず、対照群のELISA抗体価は、いずれも0.1以下でなければならず、ST参照陽性血清の吸光度値は、0.8～1.2を示さなければならず、参照陰性血清の吸光度値は、0.1以下でなければならず。

#### 4 貯法及び有効期間

有効期間は、3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。

#### 5 その他



### 5.1 添付文書等記載事項

- 1 本剤を鶏に使用する場合は、事前に最寄りの家畜保健衛生所に相談の上、指示を受け、標識した無注射鶏を1%程度残す旨
- 2 本剤を投与した鶏はひな白痢の抗体検査で陽性を示す旨
- 3 本剤の投与と併せて、国が定めた鶏卵のサルモネラ総合対策指針に基づき、総合的な衛生管理対策を実施する旨

#### 付記1 リン酸緩衝食塩液

1,000mL 中

塩化ナトリウム 8.0 g

塩化カリウム 0.2 g

リン酸二水素カリウム 0.3 g

リン酸水素二ナトリウム 1.15 g

水 残量

pHを6.8～7.4に調整する。

#### 付記2 組換え SI ベン毛抗原

SI I-178 株の flhC 遺伝子の一部を挿入したプラスミドで形質転換した大腸菌を超音波で破碎し、ベン毛抗原をアフィニティークロマトグラフィーにより精製した後、PBS で透析したもので、-80℃以下で保存する。SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動で分析したとき、35～40kDa の位置にバンドを認める。3.5.5.1 の試験により ELISA を行うとき、SI 参照陽性血清の吸光度値が 0.8～1.2、参照陰性血清の吸光度値が 0.1 以下を示し、使用時のたん白質量が 0.01～0.06 μg/穴になるように炭酸緩衝液（付記16）で調整する。

#### 付記3 SI 参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合する発育鶏卵由来の鶏を SI I-178 株で免疫して得た血清で、3.5.5.1 の試験により ELISA を行うとき、吸光度値が 0.8～1.2 を示し、3.5.5.2 の試験により ELISA を行うとき、吸光度値が 0.25 以下を示し、3.5.5.3 の試験により ELISA を行うとき、吸光度値が 0.2 以下を示す。凍結して-20℃以下で保存する。

#### 付記4 参照陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合する発育鶏卵由来の鶏の血清で、3.5.5.1、3.5.5.2 及び 3.5.5.3 の試験により ELISA を行うとき、いずれの試験においても吸光度値が 0.1 以下を示す。凍結して-20℃以下で保存する。

#### 付記5 希釈・洗浄液

1,000mL 中

塩化ナトリウム	8.0 g
塩化カリウム	0.2 g
リン酸水素二ナトリウム	1.15 g
リン酸二水素カリウム	0.3 g
水	残量

pH を 7.2 に調整後、ポリソルベート 20 を 0.5mL 添加する。

付記 6 組換え SI ベン毛抗原吸着プレート  
組換え SI ベン毛抗原を炭酸緩衝液で希釈し、96 穴プレートの各穴に 100  $\mu$  L ずつ加え、37 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄し、次に、各穴に 1 w/v % スキムミルク加希釈・洗浄液 (付記 17) を 200  $\mu$  L ずつ加え、37 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄したもの

付記 7 酵素標識抗体  
ペルオキシダーゼ標識抗鶏 IgG (H+L) 抗体で、3.5.5.1、3.5.5.2 及び 3.5.5.3 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 参照陽性血清の吸光度値が 0.8 ~ 1.2 を示し、参照陰性血清の吸光度値が 0.1 以下を示すように、希釈・洗浄液又は 1 w/v % スキムミルク加希釈・洗浄液で調整したもの

付記 8 基質液  
 $\sigma$ -フェニレンジアミン二塩酸塩 10mg をリン酸クエン酸緩衝液 (付記 18) 10mL に遮光して溶解し、使用直前に過酸化水素水 10  $\mu$  L を添加したもの

付記 9 反応停止液  
1,000mL 中  

シュウ酸二水和物	28.02 g
水	残量

付記 10 SE 精製ベン毛抗原  
SE E-926 株の培養菌液に塩酸を加えた後、硫酸アンモニウムで沈殿させたベン毛抗原を PBS で透析したもので、- 80 $^{\circ}$ C 以下で保存する。3.5.5.2 の試験により ELISA を行うとき、SE 参照陽性血清の吸光度値が 0.8 ~ 1.2、参照陰性血清の吸光度値が 0.1 以下を示し、使用時のたん白質量が 0.01 ~ 0.2  $\mu$  g/穴になるように炭酸緩衝液で調整する。

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 に適合する発育鶏卵由来の鶏を SE E-926 株で免疫して得た血清で、3.5.5.1 の試験により ELISA を行うとき、吸光度値が 0.25 以下を示し、3.5.5.2 の試験により ELISA を行うとき、

吸光度値が 0.8 ~ 1.2 を示し、3.5.5.3 の試験により ELISA を行うとき、  
吸光度値が 0.2 以下を示す。凍結して - 20 °C 以下で保存する。

付記 12 SE 精製べん毛抗原吸着プレート

SE 精製べん毛抗原を炭酸緩衝液で希釈し、96 穴プレートの各穴に 100  $\mu$  L ずつ加え、37 °C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄し、次に、各穴に 1 w/v % スキムミルク加希釈・洗浄液を 200  $\mu$  L ずつ加え、37 °C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄したもの

付記 13 組換え ST べん毛抗原

ST T-023 株の flhC 遺伝子の一部を挿入したプラスミドで形質転換した大腸菌を超音波で破碎し、べん毛抗原をアフィニティークロマトグラフィーにより精製した後、PBS で透析したもので、- 80 °C 以下で保存する。SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動で分析したとき、35 ~ 40kDa の位置にバンドを認める。3.5.5.3 の試験により ELISA を行うとき、ST 参照陽性血清の吸光度値が 0.8 ~ 1.2、参照陰性血清の吸光度値が 0.1 以下を示し、使用時のたん白質量が 0.01 ~ 0.06  $\mu$  g/穴になるように炭酸緩衝液で調整する。

付記 14 ST 参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合する発育鶏卵由来の鶏を ST T-023 株で免疫して得た血清で、3.5.5.1 及び 3.5.5.2 の試験により ELISA を行うとき、いずれも吸光度値が 0.25 以下を示し、3.5.5.3 の試験により ELISA を行うとき、吸光度値が 0.8 ~ 1.2 を示す。凍結して - 20 °C 以下で保存する。

付記 15 組換え ST べん毛抗原吸着プレート

組換え ST べん毛抗原を炭酸緩衝液で希釈し、96 穴プレートの各穴に 100  $\mu$  L ずつ加え、37 °C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄し、次に、各穴に 1 w/v % スキムミルク加希釈・洗浄液を 200  $\mu$  L ずつ加え、37 °C で 1 時間反応させた後、希釈・洗浄液で洗浄したもの

付記 16 炭酸緩衝液

1,000mL 中

炭酸ナトリウム 1.59 g

炭酸水素ナトリウム 2.93 g

水 残量

pH を 9.6 に調整する。

付記 17 1 w/v % スキムミルク加希釈・洗浄液

希釈・洗浄液にスキムミルクを 1 w/v % となるように加え、溶解した

もの

付記 18 リン酸クエン酸緩衝液  
1,000mL 中  
クエン酸一水和物  
リン酸水素二ナトリウム  
水  
pH を 5.0 に調整する。

10.3 g  
14.5 g  
残 量

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、改正後欄に掲げる規定の傍線部分を加える。

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p style="text-align: center;"><b>鶏伝染性気管支炎生ワクチン（シード）</b></p> <p>1 （略）</p> <p>2 製法</p> <p>2.1～2.3 （略）</p> <p>2.4 最終バルク  <u>原液を混合し、適当と認められた希釈液及び安定剤を加えて調製し、最終バルクとする。この場合、適当と認められた必要最少量の抗生物質を加えてもよい。</u>  <u>小分製品が錠剤である製剤については、原液を混合して凍結乾燥し、適当と認められた賦形剤及び滑沢剤を加えて調製し、最終バルクとする。</u></p> <p>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>小分製品が錠剤である製剤については、最終バルクを錠剤に成型し、小分製品とする。</u>  <u>小分製品について、3.5の試験を行う。</u></p> <p>3 試験法</p> <p>3.1～3.4 （略）</p> <p>3.5 小分製品の試験</p> <p>3.5.1～3.5.9 （略）</p> <p>3.5.10 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></p> <p>3.5.10.1 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、崩壊するまでの時間を測定する。</u>  <u>6錠についてこの操作を繰り返す。</u></p> <p>3.5.10.2 判定  <u>ガスの発生が終了し、水中において溶解又は分散して粒子の塊を認めなくなったとき、崩壊したものとす。</u>  <u>6錠全てがそれぞれ5分以内に崩壊しなければならない。</u></p> <p>4 （略）</p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p style="text-align: center;"><b>鶏伝染性気管支炎生ワクチン（シード）</b></p> <p>1 （略）</p> <p>2 製法</p> <p>2.1～2.3 （略）</p> <p>2.4 最終バルク      原液を混合し、適当と認められた希釈液及び安定剤を加えて調製し、最終バルクとする。この場合、適当と認められた必要最少量の抗生物質を加えてもよい。</p> <p>2.5 小分製品      最終バルクを小分容器に分注して凍結乾燥し、小分製品とする。      小分製品について、3.5の試験を行う。</p> <p>3 試験法</p> <p>3.1～3.4 （略）</p> <p>3.5 小分製品の試験</p> <p>3.5.1～3.5.9 （略）      （新設）</p> <p>4 （略）</p>

付記 1 ～ 8 (略)

付記 1 ～ 8 (略)