２６消安第３４７０号
平成２６年１１月６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

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。

２６消安第３４７０号
平成２６年１１月６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」（平成２５年６月１８日農林水産省告示第２００９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）

○農林水産省告示第千五百五十四号

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。

平成二十六年十一月六日

農林水産大臣　西川　公也

（「次のように」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。）の部の牛ロタウイルス感染症３価・牛コロナウイルス感染症・牛大腸菌性下痢症（K99 精製線毛抗原）混合（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。

ウエストナイルウイルス感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチン

1 定義

ウエストナイル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

ウエストナイルウイルス VM-2 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

ウエストナイルウイルスに対する鳥の特異抗血清を用いた蛍光抗体法により、特異蛍光を認める。

2.1.3 継代及び保存

原株及び原種ウイルスは、Vero 細胞で継代する。

原株の継代は、原種ウイルスの製造又は原株の恒久的な維持の目的以外で行ってはならない。原種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は、４代以内でなければならない。

種ウイルスは、原種ウイルスから１代以内に製造しなければならない。

原株ウイルス、原種ウイルス及び種ウイルスは、凍結して－70 ℃以下に保存する。

種ウイルスは、原種ウイルスからワクチンの製造ごとに用時調製する。

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。

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、3.2 の試験を行う。

2.3.3 不活化

ウイルス浮遊液に 0.1vol ％となるようホルマリンを加えて不活化する。さらに 0.1vol ％のホルマリンを加えて不活化する。２段階の不活化後、これを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

不活化ウイルス液に適当と認められた油性アジュバントを加え、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て小分製品とする。

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し、観察するとき、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 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地で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.1.1.2 培養細胞

Vero 細胞を用いる。

3.2.1.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ５穴（本）以上の培養細胞に接種し、36 ±２℃で５～７日間培養する。

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、$TCID_{50}$ を算出する。

検体のウイルス含有量は、１ mL 当り $1 \times 10^7 TCID_{50}$ 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 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。

3.3.2 不活化試験

3.3.2.1 培養細胞による試験方法

3.3.2.1.1 試験材料

3.3.2.1.1.1 試料

不活化ウイルス液を試料とする。

3.3.2.1.1.2 培養細胞

Vero 細胞を培養し、単層となったものを用いる。

3.3.2.1.2 試験方法

不活化剤を中和した試料２ mL につき培養面積 $75cm^2$ のフラスコに単層となった細胞に対して 50mL のウイルス増殖用培養液と共に加え、36 ±２℃で７日間培養し、観察する。

培養後の細胞を培養液と共に凍結融解し、これを第２回観察試料とする。この試料２ mL につき培養面積 $75cm^2$ のフラスコに単層となった細胞に対して 50 mL のウイルス増殖用培養液と共に加え、36 ±２℃で７日間培養し、観察する。

培養後の細胞を培養液と共に凍結融解し、これを第３回観察試料とする。この試料１ mL につき、６ cm^2 以上の培養細胞に接種し、６～７日間培養し観察する。

3.3.2.1.3 判定

培養細胞に特異な CPE を認めないとき、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。

3.3.2.2 マウスによる試験方法

3.3.2.2.1 試験材料

3.3.2.2.1.1 試料

不活化ウイルス液を試料とする。

3.3.2.2.1.2 試験動物

体重 12 ～ 16 g の Non-Swiss Albino (NSA) 系マウスを 8 匹使用する。

3.3.2.2.2 試験方法

試験材料 0.03 mL をマウスの脳内に接種し、28 日間観察する。

3.3.2.2.3 判定方法

異常を示した動物を認めない場合、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。

3.3.3 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、ホルマリンの含有量は、0.2vol ％以下でなければならない。

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。

3.4.2 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 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、0.2vol ％以下でなければならない。

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 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。

3.4.6 不活化試験

3.4.6.1 試験材料

3.4.6.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.6.1.2 試験動物

３週齢のマウスを用いる。

3.4.6.2 試験方法

注射材料 0.5mL を 10 匹の試験動物の腹腔内に注射し、14 日間観察する。

3.4.6.3 判定

脳炎症状又は麻痺を示した動物を認めないとき、活性ウイルス陰性と判定する。

試験品に活性ウイルスを認めてはならない。

3.4.7 力価試験

3.4.7.1 試験材料

3.4.7.1.1 試料

試験品を試料とする。

3.4.7.2 試験方法

試料、参照品（付記１）、陰性対照（付記２）を PBS1（付記３）で４倍希釈したものを０℃条件下で、８～ 10 ワット、105 秒間超音波破壊する。これらに PBS2（付記４）を添加してポリソルベート濃

度を 0.3 %に調整し、96 穴マイクロプレートに 350 μ L ずつ分注して各 10 段階の２倍階段希釈液を作製する。最終のウェルには陰性対照を 150 μ L 分注する。固相化プレート（付記５）のウェルに各希釈液を 100 μ L ずつ分注して 37 ℃で 60 分間振とう後、４℃で 18 時間反応させ、PBS3（付記６）で洗浄する。希釈液（付記７）で希釈した検出抗体（付記８）を各ウェルに 100 μ L ずつ分注して 37 ℃で 60 分間振とうし、PBS3 で洗浄する。２ vol %正常山羊血清加希釈液（付記９）で希釈した標識抗体（付記 10）を 100 μ L ずつ各ウェルに分注して 37 ℃で 60 分間振とうし、PBS3 で洗浄する。テトラメチルベンチジン（TMB）基質液（付記 11）を各ウェルに 100 μ L ずつ分注し、37 ℃で 20 分間反応させた後、主波長 650 nm、副波長 490 nm で測定する。

3.4.7.3 判定

参照品の力価を 1.0 として、試験品の相対力価を統計学的計算法（付記 12）により算出するとき、試験品の相対力価は、1.0 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、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　参照品

動物医薬品検査所が適当と認めたもの。

付記２　陰性対照

ワクチンウイルスを接種しない培養細胞について、ワクチンの製造方法と同様に不活化処理及びアジュバントの添加を行った培養液であって、－ 70 ℃以下に保存したもの。

付記３　PBS1（0.01mol/L リン酸緩衝食塩液）

1,000 mL 中

塩化ナトリウム	8.5 g
リン酸二水素ナトリウム	0.253 g
リン酸水素ナトリウム	1.19 g
精製水	残　量

pH を 7.2 ± 0.1 に調整する。

付記４　PBS2（18vol %ポリソルベート 20 加 PBS）

1,000 mL 中

ポリソルベート 20	180 mL
PBS1	820 mL

付記５　固相化プレート

捕捉用レクチン（付記 13）を 96 穴マイクロプレートの各ウェルに 100 μ L ずつ分注し、２～７℃で 18 時間反応させる。PBS3 で洗浄した後、各ウェルにブロッキング試液（付記 14）を 200 μ L ずつ分注し、37 ℃で振とうしながら 60 分間反応させ、PBS3 で洗浄する。

付記６　PBS3（0.3vol %ポリソルベート 20 加 PBS）

1,000 mL 中

ポリソルベート 20	2 mL
PBS1	1,000 mL

付記７　希釈液

脱脂粉乳 1.15g を 100mL の PBS3 に溶解させた後、ろ紙フィルター又は同等品でろ過する。

付記 8　検出抗体

抗ウエストナイルウイルスマウスモノクローナル抗体を希釈液で希釈したもの。

付記 9　2 vol %正常山羊血清加希釈液

希釈液に 2 vol %の正常山羊血清を加えたもの。

付記 10　標識抗体

ペルオキシダーゼ標識抗マウス IgG 山羊血清を 2 vol %正常山羊血清加希釈液で希釈したもの。

付記 11　テトラメチルベンチジン（TMB）基質液

A 液：0.4g の TMB を 1,000mL の 26vol % N,N-ジメチルホルムアミドに溶解したもの。

B 液：0.02vol %過酸化水素水

A 液と B 液を使用時に等量混合する。

付記 12　統計学的計算方法

動物用医薬品検査所が適当と認めたもの。

付記 13　捕捉用レクチン

精製レクチンをコーティング緩衝液（付記 15）で 4 μ g/mL となるよう希釈したもの。

付記 14　ブロッキング試液

1 g のカゼインを 0.15M の塩化ナトリウムを含む 0.1M リン酸ナトリウム緩衝液（pH7.4）100mL に溶解したもの。

付記 15　コーティング緩衝液

1,000 mL 中

炭酸ナトリウム	1.59 g
炭酸水素ナトリウム	2.93 g
精製水	残　量

pH 9.7 ± 0.1 に調整する。

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部の鶏コクシジウム感染症（ネカトリックス）生ワクチンの項を次のように改める。

鶏コクシジウム感染症（ネカトリックス）生ワクチン

1 定義

弱毒アイメリア・ネカトリックスを鶏腸管内で増殖させて得たオーシストを調製した生ワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

アイメリア・ネカトリックス Nn-P125 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

主要な増殖部位は、鶏の小腸及び盲腸である。

平飼いの条件においてオーシストを飼料中に混合して若齢鶏に投与したとき、臨床症状を発現せず、発育に悪影響を与えない。

2.1.3 継代及び保存

原株、原種及び種オーシストは、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の１～８週齢の鶏で継代する。

原株の継代は、原種オーシスト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。

原種オーシストは、直接原株からの連続した工程により製造し、その継代数は、３代以内でなければならない。種オーシストは、原種オーシストから５代以内に製造しなければならない。

原株は凍結して－70℃以下で、種オーシストは５℃以下で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 鶏

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の１～８週齢の鶏を用いる。

2.3 原液

2.3.1 種オーシスト及び原液の調製

原株を解凍した後、リン酸緩衝食塩液で増量して鶏に経口投与し、一定期間糞便を採取する。糞便からオーシストを収集し、胞子形成させた後、洗浄及び数量調整を行い、鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便からオーシストを収集して種オーシストとし、鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便を洗剤液で増量してろ過した後、遠心して得た沈渣を飽和食塩液に混合し、遠心して上清を採取する。これを洗浄してオーシストを収集した後、２ w/v％重クロム酸カリウム溶液に混合し加温して胞子形成させる。さらに精製した後、ソルビン酸加エタノールを添加した滅菌アルセバーを加えオーシスト数を調整し、原液とする。

原液について、3.1 の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液に滅菌アルセバー及びソルビン酸加エタノールを加えてよく混合し、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、密栓して小分製品とする。

小分製品について、3.2 の試験を行う。

3 試験法

3.1 原液の試験

3.1.1 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。

3.1.2 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 オーシスト含有量試験

3.1.3.1 試験材料

検体又は検体を水で希釈したものを試料とする。

3.1.3.2 試験方法

試料に含まれる胞子形成オーシスト数を顕微鏡下で計数する。

3.1.3.3 判定

検体 1 mL 中に $2.5 \times 10^4 \sim 2.5 \times 10^5$ 個の胞子形成オーシストが含まれていなければならない。

3.2 小分製品の試験

3.2.1 特性試験

一般試験法の特性試験を準用して試験するとき、固有の色調で少量の沈殿を認めるが、振とうすると固有の色調の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。

3.2.2 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。

3.2.3 サルモネラ否定試験

一般試験法のサルモネラ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。

3.2.4 生菌数限度試験

一般試験法の生菌数限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。

3.2.5 オーシスト含有量試験

3.1.3 を準用して試験するとき、試験品 1 mL 中に $2.5 \times 10^3 \sim 2.5 \times 10^4$ 個の胞子形成オーシストが含まれていなければならない。

3.2.6 迷入ウイルス否定試験

試験品を適当と認められた方法で処理したものを試料とする。

一般試験法の迷入ウイルス否定試験法 2.1、2.2.1 及び 2.2.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.7 安全試験

3.2.7.1 試験材料

3.2.7.1.1 投与材料

試験品を投与材料とする。

3.2.7.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 6 日齢鶏を用いる。

3.2.7.2 試験方法

試験動物の 15 羽ずつを試験群及び対照群とする。

試験群には投与材料 150 羽分を 75g の実験動物幼雛用飼料に混合して経口投与し、対照群には 75g の実験動物用幼雛用飼料のみを与える。試験開始翌日からは両群とも不断給餌し、共に 4 週間観察する。

試験開始時及び試験終了時に体重を測定し、下式により個体別に増体率を算出した後、群ごとに平均増体率を算出する。

なお、試験動物は、試験開始の前夜から約半日間断餌した後使用する。

$$\text{増体率（\%）} = \frac{\text{（試験終了時の体重）} - \text{（試験開始時の体重）}}{\text{（試験開始時の体重）}} \times 100$$

3.2.7.3 判定

試験期間中、試験群及び対照群に臨床的異常を認めてはならず、試験群の平均増体率は、対照群のそれの 80 %以上でなければならない。

3.2.8 力価試験

3.2.8.1 試験材料

3.2.8.1.1 投与材料

試験品を投与材料とする。

3.2.8.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 6 日齢鶏を用いる。

3.2.8.1.3 攻撃オーシスト

強毒アイメリア・ネカトリックス株を用いる。

攻撃オーシスト量は、1 羽当たり 5×10^4 個とする。

3.2.8.2 試験方法

試験動物の 10 羽を試験群、20 羽を対照群とする。

試験群には投与材料の 10 羽分を 50g の実験動物幼雛用飼料に混合して経口投与し、対照群には 100g の実験動物用幼雛用飼料のみを与える。試験開始翌日からは両群とも不断給餌し、4 週間後に両群の 10 羽ずつに攻撃オーシストを経口投与して攻撃する。対照群の残り 10 羽は非攻撃対照群とする。攻撃後臨床観察を行い、試験群と攻撃対照群の死亡数を算出する。また、攻撃日及び攻撃後 8 日目に試験動物の体重を測定し、下式により個体別に増体率を算出した後、各群ごとに平均増体率を算出する。

$$\text{増体率（\%）} = \frac{\text{（試験終了時の体重）} - \text{（攻撃日の体重）}}{\text{（攻撃日の体重）}} \times 100$$

3.2.8.3 判定

Fisher の直接確率計算法により有意水準 5 %で試験群の死亡数が攻撃対照群のそれより有意に少ない場合には、適合とする。

両群間の死亡数に有意差が認められない場合には、平均増体率により評価する。

試験群の平均増体率は、攻撃対照群のそれを上回らなければならない。この場合、攻撃対照群における平均増体率は非攻撃対照群のそれよりも有意に低くなければならない（t 検定、有意水準 5 %）。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、9 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。

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部の鶏コクシジウム感染症（アセルブリナ・テネラ・マキシマ）混合生ワクチンの項を次のように改める。

鶏コクシジウム感染症（アセルブリナ・テネラ・マキシマ）混合生ワクチン

1 定義

弱毒アイメリア・アセルブリナ、弱毒アイメリア・テネラ及び弱毒アイメリア・マキシマをそれぞれ鶏腸管内で増殖させて得たオーシストを混合したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 アイメリア・アセルブリナ株

2.1.1.1 名称

アイメリア・アセルブリナ Na-P75 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

主要な増殖部位は、鶏の十二指腸及び空腸の粘膜上皮細胞である。平飼い条件においてオーシストを飼料中に混合して５日齢の鶏に投与したとき、臨床症状を発現せず、発育に悪影響を与えない。

2.1.1.3 継代及び保存

原株及び原種オーシストは、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の３～８週齢までの鶏で継代する。

原株の継代は、原種オーシスト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。

原種オーシストは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は、３代以内でなければならない。種オーシストは、原種オーシストから５代以内に製造しなければならない。

原株は凍結して－70℃以下で、種オーシストは５℃以下で保存する。

2.1.2 アイメリア・テネラ株

2.1.2.1 名称

アイメリア・テネラ Nt-P110 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

主要な増殖部位は、鶏の盲腸粘膜上皮及び固有層の細胞である。平飼い条件においてオーシストを飼料中に混合して５日齢の鶏に投与したとき、臨床症状を発現せず、発育に悪影響を与えない。

2.1.2.3 継代及び保存

原株及び原種オーシストは、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の３～８週齢までの鶏で継代する。

原株の継代は、原種オーシスト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。

原種オーシストは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は、３代以内でなければならない。種オーシストは、原種オーシストから５代以内に製造しなければならない。

原株は凍結して－70℃以下で、種オーシストは５℃以下で保存する。

2.1.3 アイメリア・マキシマ株

2.1.3.1 名称

アイメリア・マキシマ Nm-P102 株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

主要な増殖部位は、鶏の十二指腸、空腸及び回腸の粘膜上皮細胞である。平飼い条件においてオーシストを飼料中に混合して５日齢の鶏に投与したとき、臨床症状を発現せず、発育に悪影響を与えない。

2.1.3.3 継代及び保存

原株及び原種オーシストは、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の３～８週齢までの鶏で継代する。

原株の継代は、原種オーシスト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。

原種オーシストは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は、３代以内でなければならない。種オーシストは、原種オーシストから５代以内に製造しなければならない。

原株は凍結して－70℃以下で、種オーシストは５℃以下で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 鶏

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の３～８週齢までの鶏を用いる。

2.3 原液

2.3.1 アイメリア・アセルブリナ株原液

2.3.1.1 種オーシスト及び原液の調製

原株を解凍した後、リン酸緩衝食塩液で増量して鶏に経口投与し、一定期間糞便を採取する。糞便からオーシストを収集し、胞子形成させた後、洗浄及び数量調整を行い、鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便からオーシストを収集して種オーシストとし、鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便を洗剤液で増量してろ過した後、遠心して得た沈渣を飽和食塩液に混合し、遠心して上清を採取する。これを洗浄してオーシストを収集した後、２ w/v％重クロム酸カリウム溶液（付記１）に混合し加温して胞子形成させる。さらに、精製した後、ソルビン酸加エタノール（付記２）を添加した滅菌リン酸緩衝食塩液に混合し、オーシスト数を調整してアイメリア・アセルブリナ株原液とする。

ただし、原液の調製工程でオーシストを保存する場合には、農林水産大臣が認めた期間とする。

アイメリア・アセルブリナ株原液について、3.1 の試験を行う。

2.3.2 アイメリア・テネラ株原液

2.3.2.1 種オーシスト及び原液の調製

原株を解凍した後、リン酸緩衝食塩液で増量して鶏に経口投与し、一定期間糞便を採取する。糞便からオーシストを収集し、胞子形成させた後、洗浄及び数量調整を行い、鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便からオーシストを収集して種オーシストとし、鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便を洗剤液で増量してろ過した後、遠心して得た沈渣を飽和食塩液に混合し、遠心して上清を採取する。これを洗浄してオーシストを収集した後、２ w/v％重クロム酸カリウム溶液に混合し加温して胞子形成させる。さらに、精製した後、ソルビン酸加エタノールを添加した滅菌リン酸緩衝食塩液に混合し、オーシスト数を調整してアイメリア・テネラ株原液とする。

ただし、原液の調製工程でオーシストを保存する場合には、農林水産大臣が認めた期間とする。

アイメリア・テネラ株原液について、3.1 の試験を行う。

2.3.3 アイメリア・マキシマ株原液

2.3.3.1 種オーシスト及び原液の調製

原株を解凍した後、リン酸緩衝食塩液で増量して鶏に経口投与し、一定期間糞便を採取する。糞便からオーシストを収集し、胞子形成させた後、洗浄及び数量調整を行い、鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便からオーシストを収集して種オーシストとし、鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便を洗剤液で増量してろ過した後、遠心して得た沈渣を飽和食塩液に混合し、遠心して上清を採取する。これを洗浄してオーシストを収集した後、２ w/v％重クロム酸カリウム溶液に混合し加温して胞子形成させる。さらに、精製した後、ソルビン酸加エタノールを添加した滅菌リン酸緩衝食塩液に混合し、オーシスト数を調整してアイメリア・マキシマ株原液とする。

ただし、原液の調製工程でオーシストを保存する場合には、農林水産大臣が認めた期間とする。

アイメリア・マキシマ株原液について、3.1 の試験を行う。

2.4 最終バルク

各株の原液を混合し、滅菌リン酸緩衝食塩液及びソルビン酸加エタノールを加えて各オーシスト数を調整し、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、密栓して小分製品とする。

小分製品について、3.2 の試験を行う。

3 試験法

3.1 原液の試験

3.1.1 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。

3.1.2 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 オーシスト含有量試験

3.1.3.1 試験材料

検体又は検体を水で希釈したものを試料とする。

3.1.3.2 試験方法

試料に含まれる胞子形成オーシスト数を顕微鏡下で計数する。

3.1.3.3 判定

検体 1 mL 中に次の数の胞子形成オーシストが含まれていなければならない。

アイメリア・アセルブリナ株	$1.5 \times 10^6 \sim 1.5 \times 10^7$ 個
アイメリア・テネラ株	$6 \times 10^5 \sim 6 \times 10^6$ 個
アイメリア・マキシマ株	$3 \times 10^5 \sim 3 \times 10^6$ 個

3.2 小分製品の試験

3.2.1 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、固有の色調で少量の沈殿を認めるが、振とうすると固有の色調の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。

3.2.2 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。

3.2.3 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。

3.2.4 サルモネラ否定試験

一般試験法のサルモネラ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。

3.2.5 生菌数限度試験

一般試験法の生菌数限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。

3.2.6 オーシスト含有量試験

3.1.3 を準用して試験するとき、試験品 1 mL 中に胞子形成オーシストは総数で $8 \times 10^4 \sim 8 \times 10^5$ 個、そのうち長径 25 μm 以上の胞子形成オーシストは $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ 個含まれていなければならない。

3.2.7 迷入ウイルス否定試験

試験品を適当と認められた方法で処理したものを試料とする。

一般試験法の迷入ウイルス否定試験法 2.1、2.2.1 及び 2.2.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.8 安全試験

3.2.8.1 試験材料

3.2.8.1.1 投与材料

試験品を投与材料とする。

3.2.8.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 5 日齢の鶏を用いる。

3.2.8.2 試験方法

試験動物の 15 羽ずつを試験群及び対照群とする。

試験群には投与材料の 150 羽分を 75g の実験動物幼雛用飼料に混合して経口投与し、対照群には 75g の実験動物幼雛用飼料のみを投与する。試験開始翌日からは両群とも不断給餌し、共に 3 週間観察する。試験開始時及び試験終了時に体重を測定し、下式により個体別に増体率を算出した後、群ごとに平均増体率を算出する。

なお、試験動物は試験開始の前夜から約半日間断餌した後使用する。

$$\text{増体率}(\%) = \frac{(\text{試験終了時の体重}) - (\text{試験開始時の体重})}{(\text{試験開始時の体重})} \times 100$$

3.2.8.3 判定

試験期間中、試験群及び対照群に臨床的異常を認めてはならず、試験群の平均増体率は、対照群のそれの 80%以上でなければならない。

3.2.9 力価試験

3.2.9.1 試験材料

3.2.9.1.1 投与材料

試験品を投与材料とする。

3.2.9.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 5 日齢の鶏を用いる。

3.2.9.1.3 攻撃オーシスト

強毒のアイメリア・アセルブリナ株、アイメリア・テネラ株及びアイメリア・マキシマ株を用いる。

攻撃オーシスト量は、それぞれ 1 羽当たり 4×10^5/0.3mL、1×10^5/0.3mL 及び 4×10^5/0.3mL とする。

3.2.9.2 試験方法

試験動物の 30 羽を試験群、40 羽を対照群とする。

試験群には投与材料の 30 羽分を 150g の実験動物幼雛用飼料に混合して経口投与し、対照群には 200g の実験動物幼雛用飼料のみを与える。試験開始翌日からは両群とも不断給餌し、3 週間後に両群の 10 羽ずつにそれぞれの攻撃オーシストを経口投与して攻撃する。対照群の残り 10 羽は非攻撃対照群とする。

攻撃後臨床観察を行い、試験群と攻撃対照群の各攻撃株に対する死亡数を算出する。また、攻撃日及びアイメリア・アセルブリナ株攻撃群では攻撃後 6 日目、アイメリア・テネラ株及びアイメリア・マキシマ株攻撃群では攻撃後 7 日目に体重を測定する。下式により個体別に増体率を算出した後、各群ごとに平均増体率を算出する。

$$\text{増体率}(\%) = \frac{(\text{試験終了日の体重}) - (\text{攻撃日の体重})}{(\text{攻撃日の体重})} \times 100$$

3.2.9.3 判定

各攻撃株について Fisher の直接確率計算法により有意水準 5 %で試験群の死亡数が攻撃対照群のそれより有意に少ない場合には、適合とする。

両群間の死亡数に有意差が認められない場合には、平均増体率により評価する。

各攻撃株について試験群の平均増体率は、攻撃対照群のそれを上回らなければならない。この場合、各攻撃株の攻撃対照群における平均増体率は非攻撃対照群のそれよりも有意に低くなければならない（t検定、有意水準５％）。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、１年２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　２ w/v％重クロム酸カリウム溶液

重クロム酸カリウム２ｇに水を加えて100mLとしたもの

付記２　ソルビン酸加エタノール

100mL中

ソルビン酸	10.0 g
エタノール	残　量

付記３　オーシストの鑑別点

アイメリア・アセルブリナ株オーシスト：長径 14.6 ～ 21.9 μm、短径 12.2 ～ 17.1 μm、無色、オーシスト壁は薄く、卵形から楕円形を示す。

アイメリア・テネラ株オーシスト：長径 19.5 ～ 24.4 μm、短径 12.2 ～ 17.1 μm、無色、オーシスト壁は比較的厚く卵円形から卵形を示す。

アイメリア・マキシマ株オーシスト：長径 24.4 ～ 34.2 μm、短径 19.5 ～ 29.3 μm、やや茶褐色味を呈し、オーシスト壁は厚く、卵円形～卵形を示す。

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部の鶏コクシジウム感染症（アセルブリナ・テネラ・マキシマ）混合生ワクチンの項の次に次のように加える。

鶏コクシジウム感染症（アセルブリナ・テネラ・マキシマ・ミチス）混合生ワクチン

1 定義

弱毒アイメリア・アセルブリナ、弱毒アイメリア・テネラ、弱毒アイメリア・マキシマ及び弱毒アイメリア・ミチスをそれぞれ鶏腸管内で増殖させて得たオーシストを混合したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 アイメリア・アセルブリナ株

2.1.1.1 名称

アイメリア・アセルブリナ HP 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

主要な増殖部位は、鶏の十二指腸及び空腸の粘膜上皮細胞である。

SPF 鶏に経口投与したとき、臨床症状を発現せず、発育に悪影響を与えない。

2.1.1.3 継代及び保存

原株、原種オーシスト及び種オーシストは、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の約５週齢の鶏で継代する。

原株の継代は、原種オーシスト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。

原種オーシストは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は、１代以内でなければならない。種オーシストは、原種オーシストから３代以内に製造しなければならない。

原株は凍結して－ 100 ℃以下で、原種オーシスト及び種オーシストは２～８℃で保存する。

2.1.2 アイメリア・テネラ株

2.1.2.1 名称

アイメリア・テネラ HP 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

主要な増殖部位は、鶏の盲腸粘膜上皮及び固有層の細胞である。

SPF 鶏に経口投与したとき、臨床症状を発現せず、発育に悪影響を与えない。

2.1.2.3 継代及び保存

原株、原種オーシスト及び種オーシストは、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の約５週齢の鶏で継代する。

原株の継代は、原種オーシスト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。

原種オーシストは、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。種オーシストは、原種オーシストから３代以内に製造しなければならない。

原株は凍結して－ 100 ℃以下で、原種オーシスト及び種オーシストは２～８℃で保存する。

2.1.3 アイメリア・マキシマ株

2.1.3.1 名称

アイメリア・マキシマ CP 株及び MFP 株又はこれらと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

主要な増殖部位は、鶏の空腸及び回腸の粘膜上皮細胞である。

SPF 鶏に経口投与したとき、臨床症状を発現せず、発育に悪影響を与えない。

2.1.3.3 継代及び保存

原株、原種オーシスト及び種オーシストは、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の約５週齢の鶏で継代する。

原株の継代は、原種オーシスト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。

原種オーシストは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は、１代以内でなければならない。種オーシストは、原種オーシストから３代以内に製造しなければならない。

原株は凍結して－100℃以下で、原種オーシスト及び種オーシストは２～８℃で保存する。

2.1.4 アイメリア・ミチス株

2.1.4.1 名称

アイメリア・ミチス HP 株又はこれと同等と認められた株

2.1.4.2 性状

主要な増殖部位は、鶏の十二指腸及び空腸の粘膜上皮細胞である。

SPF 鶏に経口投与したとき、臨床症状を発現せず、発育に悪影響を与えない。

2.1.4.3 継代及び保存

原株、原種オーシスト及び種オーシストは、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の約５週齢の鶏で継代する。

原株の継代は、原種オーシスト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。

原種オーシストは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は、１代以内でなければならない。種オーシストは、原種オーシストから３代以内に製造しなければならない。

原株は凍結して－100℃以下で、原種オーシスト及び種オーシストは２～８℃で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 鶏

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の約５週齢の鶏を用いる。

2.3 原液

2.3.1 オーシストの増殖

2.3.1.1 アイメリア・アセルブリナ株

種オーシストを鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便に水を加えて均一化し、ろ過した後、遠心して得た沈渣を飽和食塩液に混合し、遠心して上清を採取する。これを洗浄してオーシストを収集した後、１ w/v％二クロム酸カリウム溶液（付記１）に浮遊させ、アイメリア・アセルブリナ株オーシスト浮遊液とする。

アイメリア・アセルブリナ株オーシスト浮遊液について、3.1.1 の試験を行う。

2.3.1.2 アイメリア・テネラ株

種オーシストを鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便に水を加えて均一化し、ろ過した後、遠心して得た沈渣を飽和食塩液に混合し、遠心して上清を採取する。これを洗浄してオーシストを収集した後、１ w/v％二クロム酸カリウム溶液に浮遊させ、アイメリア・テネラ株オーシスト浮遊液とする。

アイメリア・テネラ株オーシスト浮遊液について、3.1.1 の試験を行う。

2.3.1.3 アイメリア・マキシマ株

各種オーシストを鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便に水を加えて均一化し、ろ過した後、遠心して得た沈渣を飽和食塩液に混合し、遠心して上清を採取する。これを洗浄してオーシストを収集した後、１ w/v％二クロム酸カリウム溶液に浮遊させ、アイメリア・マキシマ各株オーシスト浮遊液とする。

アイメリア・マキシマ各株オーシスト浮遊液について、3.1.1 の試験を行う。

2.3.1.4 アイメリア・ミチス株

種オーシストを鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便に水を加えて均一化し、ろ過した後、遠心して得た沈渣を飽和食塩液に混合し、遠心して上清を採取する。これを洗浄してオーシ

ストを収集した後、1 w/v %二クロム酸カリウム溶液に浮遊させ、アイメリア・ミチス株オーシスト浮遊液とする。

アイメリア・ミチス株オーシスト浮遊液について、3.1.1 の試験を行う。

2.3.2 胞子形成

各株のオーシスト浮遊液を、それぞれ 25 ～ 30 ℃で 2 ～ 3 日間通気して胞子を形成させ、各株の胞子形成オーシスト液とする。

各株の胞子形成オーシスト液について、3.2 の試験を行う。

2.3.3 除菌

各株の胞子形成オーシスト液を適当と認められた方法によりオーシストの除菌及び洗浄を行い、滅菌リン酸緩衝食塩液に再浮遊させたものを、各株の原液とする。

各株の原液について、3.3 の試験を行う。

2.4 最終バルク

各株の原液を濃度調整し、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、密栓して小分製品とする。

小分製品について、3.4 の試験を行う。

3 試験法

3.1 オーシスト浮遊液の試験

3.1.1 オーシスト含有量試験

3.1.1.1 試験材料

検体を試料とする。

3.1.1.2 試験方法

試料に含まれるオーシスト数を顕微鏡下で計数し、製造に用いた SPF 鶏 1 羽当たりの排泄オーシスト数を算出する。

3.1.1.3 判定

製造に用いた SPF 鶏 1 羽当たりの排泄オーシスト数は、以下の範囲内でなければならない。

アイメリア・アセルブリナ株	6×10^5 ～ 6×10^8 個
アイメリア・テネラ株	2×10^6 ～ 2×10^8 個
アイメリア・マキシマ株	7×10^5 ～ 7×10^7 個
アイメリア・マキシマ株	4×10^5 ～ 4×10^7 個
アイメリア・ミチス株	3×10^5 ～ 3×10^8 個

3.2 胞子形成オーシスト液の試験

3.2.1 胞子形成オーシスト率試験

3.2.1.1 試験材料

検体を試料とする。

3.2.1.2 試験方法

試料に含まれるオーシスト数及び胞子形成オーシスト数を顕微鏡下で計数し、次式により胞子形成オーシスト率を算出する。

胞子形成オーシスト率（%）＝（胞子形成オーシスト数）／（オーシスト数）× 100

3.2.1.3 判定

検体中に含まれる胞子形成オーシスト率は、以下の値でなければならない。

アイメリア・アセルブリナ株	60 %以上
アイメリア・テネラ株	65 %以上
アイメリア・マキシマ株	55 %以上
アイメリア・マキシマ株	50 %以上

アイメリア・ミチス株　　65％以上

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 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。

3.3.3 迷入ウイルス否定試験

試験品を必要に応じて適当と認められた方法で処理したものを試料とする。

一般試験法の迷入ウイルス否定試験法 2.1 及び 2.2.2 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、これらの試験を 3.4.6 において実施する製剤については、本試験を実施しなくてもよい。

3.4 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、固有の色調で少量の沈殿を認めるが、振とうすると固有の色調の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 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により試験するとき、これに適合しなければならない。

3.4.4 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。

3.4.5 オーシスト含有量試験

3.4.5.1 試験材料

試験品を水で希釈したものを試料とする。

3.4.5.2 試験方法

試料に含まれる胞子形成オーシスト数を顕微鏡下で計数する。

3.4.5.3 判定

試験品 1 mL 当たりに含まれる胞子形成オーシスト数の総数は 4.6×10^5 個以上、そのうち大きさ 30 μm 以上の胞子形成オーシスト数は 4.0×10^4 個以上でなければならない。

3.4.6 迷入ウイルス否定試験

試験品を適当と認められた方法で処理したものを試料とする。

一般試験法の迷入ウイルス否定試験法 2.1、2.2.1 及び 2.2.2 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、3.3.3 を実施する製剤については、一般試験法の迷入ウイルス否定試験法 2.1 及び 2.2.2 を準用して実施する試験を実施しなくてもよい。

3.4.7 安全試験

3.4.7.1 試験材料

3.4.7.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

3.4.7.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 0 ～ 1 日齢の鶏を用いる。

3.4.7.2 試験方法

試験動物の 15 羽ずつを試験群及び対照群とする。

試験群には接種材料 150 羽分を 75g の実験動物用幼雛用飼料に混合して経口投与し、対照群には

75g の実験動物用幼雛用飼料のみを投与する。試験開始翌日からは両群とも不断給餌し、共に3週間観察する。試験開始時及び試験終了時に体重を測定し、下式により個体別に増体率を算出した後、群ごとの平均増体率を算出する。

なお、試験動物は、試験開始の前夜から約半日間断餌した後使用する。

$$\text{増体率（\%）} = \frac{\text{（試験終了時の体重）} - \text{（試験開始時の体重）}}{\text{（試験開始時の体重）}} \times 100$$

3.4.7.3 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ず、試験群の個体の平均増体率は、対照群の個体の平均増体率の 80 %以上でなければならない。

3.4.8 力価試験

3.4.8.1 試験材料

3.4.8.1.1 接種材料

試験品を水で 0.1mL 中 1 羽分となるように調整したものを接種材料とする。

3.4.8.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 0 ～ 1 日齢の鶏を用いる。

3.4.8.2 試験方法

試験動物の 15 羽を試験群、 5 羽を対照群とする。

接種材料 0.1mL ずつを試験群に経口投与する。投与後 96 ～ 168 時間に排泄される糞便を 24 時間ごとに全量回収し、排泄オーシスト数を計数する。

3.4.8.3 判定

投与後 96 ～ 120、120 ～ 144 及び 144 ～ 168 時間に排泄される総オーシスト数は、それぞれ 1 羽当たり 5×10^5、6×10^5 及び 6×10^5 個以上でなければならない。この場合、対照群ではオーシストの排泄を認めてはならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後 11 か月間とする。

付記 1　1 w/v %二クロム酸カリウム溶液

二クロム酸カリウム 1 g に水を加えて 100mL としたもの

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２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

1 定義

ニューカッスル病ウイルス及び３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 ウイルスを発育あひる卵で増殖させて得たウイルス液並びにヘモフィルス・パラガリナルム（Ａ型菌及びＣ型菌）及びマイコプラズマ・ガリセプチカムの培養菌液をそれぞれ不活化したものを混合し、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 ニューカッスル病ウイルス

2.1.1.1 名称

ニューカッスル病ウイルス石井株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

10 日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に注射すると、増殖し、その尿膜腔液には鶏赤血球凝集性を認める。

2.1.1.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の発育鶏卵で継代する。

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。

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。

2.1.2 鶏伝染性気管支炎ウイルス

2.1.2.1 名称

鶏伝染性気管支炎ウイルス滋賀株、AO-27 株及び GN-58 株、又は製造に適当と認められた３種類の株

2.1.2.2 性状

10 日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に注射すると、鶏胚に特徴的な病変を伴って増殖する。

2.1.2.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の発育鶏卵で継代する。

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。

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。

2.1.3 産卵低下症候群－ 1976 ウイルス

2.1.3.1 名称

産卵低下症候群－ 1976 ウイルス台畜株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

10 ～ 12 日齢の発育あひる卵の尿膜腔内に注射すると、増殖し、その尿膜腔液に鶏赤血球凝集性を認める。

2.1.3.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、あひる胚肝細胞で継代する。
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。
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。
2.1.4 ヘモフィルス・パラガリナルムＡ型菌
2.1.4.1 名称
ヘモフィルス・パラガリナルムＡ型菌 No.221 株又はこれと同等と認められた株
2.1.4.2 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。
2.1.4.3 継代及び保存
原株及び種菌は、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の発育鶏卵で継代する。
継代は、原株では３代以内、種菌では２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。
2.1.5 ヘモフィルス・パラガリナルムＣ型菌
2.1.5.1 名称
ヘモフィルス・パラガリナルムＣ型菌 KA 株又はこれと同等と認められた株
2.1.5.2 性状
鶏及び発育鶏卵に対して病原性を示す。
2.1.5.3 継代及び保存
原株及び種菌は、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の発育鶏卵で継代する。
継代は、原株では３代以内、種菌では２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。
2.1.6 マイコプラズマ・ガリセプチカム
2.1.6.1 名称
マイコプラズマ・ガリセプチカム TK 株又はこれと同等と認められた株
2.1.6.2 性状
鶏に対して病原性を示す。
2.1.6.3 継代及び保存
原株及び種菌は、適当と認められた培地で継代する。
継代は、原株では３代以内、種菌では２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 ニューカッスル病ウイルス
2.2.1.1 発育鶏卵
９～11 日齢のものを用いる。
2.2.2 鶏伝染性気管支炎ウイルス
2.2.2.1 発育鶏卵
９～11 日齢のものを用いる。
2.2.3 産卵低下症候群－1976 ウイルス
2.2.3.1 発育あひる卵
10～12 日齢のものを用いる。
2.2.4 ヘモフィルス・パラガリナルムの各型菌
2.2.4.1 培地
製造に適当と認められた培地を用いる。
2.2.5 マイコプラズマ・ガリセプチカム
2.2.5.1 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 ニューカッスル病ウイルス原液

2.3.1.1 発育鶏卵の培養

1回に処理する発育鶏卵を個体別発育鶏卵とみなす。

個体別発育鶏卵について、3.1.1 の試験を行う。

2.3.1.2 ウイルスの培養

種ウイルスを発育鶏卵で培養し、感染増殖させた尿膜腔液の遠心上清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、3.2.1.1 の試験を行う。

2.3.1.3 不活化

ウイルス浮遊液にホルマリンを加えて不活化し、原液とする。

原液について、3.5.1 及び 3.5.2.1 の試験を行う。

2.3.2 鶏伝染性気管支炎ウイルスの各株原液

2.3.2.1 発育鶏卵の培養

1回に処理する発育鶏卵を個体別発育鶏卵とみなす。

個体別発育鶏卵について、3.1.1 の試験を行う。

2.3.2.2 ウイルス培養

各株の種ウイルスを発育鶏卵で培養し、感染増殖させた尿膜腔液の遠心上清を適当と認められた方法で濃縮したものをそれぞれのウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.2.1.2 の試験を行う。

2.3.2.3 不活化

各株のウイルス浮遊液にホルマリンを加えて不活化し、それぞれの株の原液とする。

原液について、3.5.1 及び 3.5.2.2 の試験を行う。

2.3.3 産卵低下症候群－1976 ウイルス原液

2.3.3.1 発育あひる卵の培養

1回に処理する発育あひる卵を個体別発育あひる卵とみなす。

個体別発育あひる卵について、3.1.2 の試験を行う。

2.3.3.2 ウイルスの培養

種ウイルスを発育あひる卵で培養し、感染増殖させた尿膜腔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、3.2.1.3 の試験を行う。

2.3.3.3 不活化

ウイルス浮遊液にホルマリンを加え、不活化したものを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、3.4 の試験を行う。

不活化ウイルス浮遊液を適当と認められた方法で濃縮したものを原液とする。

原液について、3.5.1 及び 3.5.3 の試験を行う。

2.3.4 ヘモフィルス・パラガリナルムの各型菌原液

2.3.4.1 培養

種菌を製造用培地に接種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。

2.3.4.2 不活化

培養菌液を適当と認められた方法で濃縮したものにホルマリンを加え、不活化したものを原液とする。

原液について、3.5.1、3.5.2.3 及び 3.5.4 の試験を行う。

2.3.5 マイコプラズマ・ガリセプチカム原液

2.3.5.1 培養

種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・継代し、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。

2.3.5.2 不活化

培養菌液を適当と認められた方法で濃縮したものにホルマリンを加え、不活化したものを原液とする。

原液について、3.5.1 及び 3.5.2.4 の試験を行う。

2.4 最終バルク

ニューカッスル病ウイルス原液、鶏伝染性気管支炎ウイルス各株原液、産卵低下症候群－ 1976 ウイルス原液、ヘモフィルス・パラガリナルム各型菌原液及びマイコプラズマ・ガリセプチカム原液をそれぞれ濃度調整して混合し、適当と認められた油性アジュバントを添加したものを最終バルクとする。この場合、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、3.6 の試験を行う。

3 試験法

3.1 発育卵の試験

3.1.1 発育鶏卵の試験

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

3.1.1.1 培養観察

対照発育鶏卵を、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、鶏胚に異常を認めてはならない。

3.1.1.2 鶏赤血球凝集試験

3.1.1.1 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。

3.1.2 発育あひる卵の試験

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

3.1.2.1 培養観察

対照発育あひる卵を、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、あひる胚に異常を認めてはならない。

3.1.2.2 鶏赤血球凝集試験

3.1.2.1 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。

3.2 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 ニューカッスル病ウイルス

3.2.1.1.1 試験材料

3.2.1.1.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.1.1.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 9 ～ 11 日齢のものを用いる。

3.2.1.1.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ5個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37 ℃で5日間培養し、観察する。試験最終日に尿膜腔液を採取し、0.5vol %鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。

3.2.1.1.3 判定

尿膜腔液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、EID_{50} 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。

検体のウイルス含有量は、1 mL 中 $10^{9.0}EID_{50}$ 以上でなければならない。

3.2.1.2 鶏伝染性気管支炎ウイルスの各株

3.2.1.2.1 試験材料

3.2.1.2.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.1.2.1.2 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。

3.2.1.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ5個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37 ℃で7日間培養し、観察する。試験最終日に鶏胚の変化を観察する。

3.2.1.2.3 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とみなし、EID_{50} 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。

検体のウイルス含有量は、1 mL 中 $10^{8.0}EID_{50}$ 以上でなければならない。

3.2.1.3 産卵低下症候群－1976 ウイルス

3.2.1.3.1 試験材料

3.2.1.3.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.1.3.1.2 発育あひる卵

12 日齢のものを用いる。

3.2.1.3.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ5個以上の発育あひる卵の尿膜腔内に注射し、37 ℃で7日間培養し、観察する。試験最終日に尿膜腔液を採取し、0.5vol %鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。

3.2.1.3.3 判定

尿膜腔液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、EID_{50} 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。

検体のウイルス含有量は、1 mL 中 $10^{8.0}EID_{50}$ 以上でなければならない。

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 マイコプラズマ・ガリセプチカム

3.3.2.1.1 試験材料

3.3.2.1.1.1 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。

3.3.2.1.1.2 培地

適当と認められた培地を用いる。

3.3.2.1.2 試験方法

各試料 0.1mL ずつをそれぞれ２枚以上の培地に接種して培養し、37 ℃、5 vol %炭酸ガス下で 14 日間培養後、集落数を数える。

3.3.2.1.3 判定

各段階の希釈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 $10^{8.0}$ 個以上でなければならない。

3.4 不活化ウイルス浮遊液の試験

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 注射材料

検体を注射材料とする。

3.4.2.1.2 発育あひる卵

12 日齢のものを用いる。

3.4.2.2 試験方法

注射材料 0.2mL ずつを 10 個以上の発育あひる卵の尿膜腔内に注射し、37 ℃で 7 日間培養し、観察する。

試験最終日に尿膜腔液を採取し、0.5vol %鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。

3.4.2.3 判定

あひる胚は、正常に発育しなければならず、尿膜腔液に赤血球凝集を認めてはならない。

3.4.3 赤血球凝集価測定試験

3.4.3.1 試験材料

3.4.3.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で２倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.3.2 試験方法

試料と等量の 0.5vol %鶏赤血球浮遊液を混合し、60 分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

3.4.3.3 判定

赤血球凝集を認めた試料の最高希釈倍数を赤血球凝集価とする。

検体の赤血球凝集価は、所定の値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 不活化試験

3.5.2.1 ニューカッスル病ウイルス

3.5.2.1.1 試験材料

3.5.2.1.1.1 注射材料

検体を注射材料とする。

3.5.2.1.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の９～11 日齢のものを用いる。

3.5.2.1.2 試験方法

注射材料 0.1mL ずつを 10 個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37 ℃で 5 日間培養した後、尿膜腔液を採取し、更に１代継代し、37 ℃で５日間培養し、観察する。

試験最終日に尿膜腔液を採取し、0.5vol %鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。

3.5.2.1.3 判定

鶏胚は、正常に発育しなければならず、尿膜腔液に赤血球凝集を認めてはならない。

3.5.2.2 鶏伝染性気管支炎ウイルスの各株

3.5.2.2.1 試験材料

3.5.2.2.1.1 注射材料

検体を注射材料とする。

3.5.2.2.1.2 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。

3.5.2.2.2 試験方法

注射材料 0.1mL ずつを 10 個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37 ℃で 5 日間培養した後、尿膜腔液を採取し、更に 1 代継代し、37 ℃で 5 日間培養し、観察する。

3.5.2.2.3 判定

鶏胚は、正常に発育しなければならない。

3.5.2.3 ヘモフィルス・パラガリナルムの各型菌

3.5.2.3.1 試験材料

3.5.2.3.1.1 接種材料

検体を接種材料とする。

3.5.2.3.1.2 培地

適当と認められた培地を用いる。

3.5.2.3.2 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 時間培養後、集落の有無を観察する。

3.5.2.3.3 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。

3.5.2.4 マイコプラズマ・ガリセプチカム

3.5.2.4.1 試験材料

3.5.2.4.1.1 接種材料

検体を接種材料とする。

3.5.2.4.1.2 培地

適当と認められた培地を用いる。

3.5.2.4.2 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 10 日間培養する。

3.5.2.4.3 判定

接種材料を接種した全ての培地上にマイコプラズマ・ガリセプチカムの集落を認めてはならない。

3.5.3 赤血球凝集価測定試験

3.4.3 を準用して試験するとき、検体の赤血球凝集価は、不活化ウイルス浮遊液のそれの 10 倍の値を示さなければならない。

3.5.4 総菌数試験

3.5.4.1 試験材料

検体又は検体をリン酸緩衝食塩液で適度に希釈したものを試験材料とする。

3.5.4.2 試験方法

試験材料の濁度を分光光度計で測定する。

3.5.4.3 判定

標準検量線、濁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 $10^{9.0}$ 個以上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。

3.6.2 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

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、0.12vol %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 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 羽分ずつを試験群の脚部筋肉内に注射し、対照群と共に 5 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、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 ニューカッスル病力価試験

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

「ニューカッスル病診断用赤血球凝集抗原」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、ニューカッスル病ウイルス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。

試験群から得られた 80 %以上の個体の血清が HI 抗体価 160 倍以上でなければならない。この場合、対照群から得られた全ての個体の血清が HI 抗体価 5 倍以下でなければならない。

3.6.5.2 鶏伝染性気管支炎力価試験

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 中和試験用ウイルス

各製造用株又は適当と認められた株を用いる。

3.6.5.2.1.3 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 2.2.1 の鶏腎初代細胞をシャーレで培養し、単層となったものを用いる。

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血清について、血清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。

血清を細胞増殖用培養液（付記１）で 20 倍に希釈した後、更に５倍階段希釈し、各段階の希釈液に 0.4mL 中 200PFU となるように濃度を調整した中和試験用ウイルス液を等量混合し、４℃で 18 ～ 24 時間又は 37 ℃で 60 分間処理する。処理した液 0.4mL ずつをそれぞれ４枚以上の培養細胞に接種し、37 ℃、５ vol ％炭酸ガス下で 60 分間吸着させ第１次重層寒天培地（付記２）を重層し、２日後更に第２次重層寒天培地（付記３）を重層し、24 ～ 48 時間培養し、プラックの出現を観察する。

3.6.5.2.3 判定

各希釈系列のプラック平均数から 50 ％プラック減少を示す血清希釈倍数を求め、中和抗体価を算出する。

中和試験用ウイルス各株に対する試験群の中和抗体価は、それぞれ 100 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、20 倍以下でなければならない。

3.6.5.3 産卵低下症候群－ 1976 力価試験

3.6.5.3.1 試験材料

3.6.5.3.1.1 試験動物

3.6.4 の試験に用いた動物を用いる。

3.6.5.3.1.2 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４）を用いる。

3.6.5.3.2 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、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５）３容を加え、20 分間処理した後、1,000G、10 分間遠心した上清を採取する。これ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 ％鶏赤血球浮遊液を 50 μ L ずつ加えて振とう混和し、60 分間静置した後に、赤血球凝集の有無を観察する。

3.6.5.3.3 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。

試験群から得られた 80 ％以上の個体の血清が HI 抗体価 32 倍以上でなければならない。この場合、対照群から得られた全ての個体の血清が HI 抗体価４倍未満でなければならない。

3.6.5.4 鶏伝染性コリーザ（Ａ・Ｃ型）力価試験

3.6.5.4.1 試験材料

3.6.5.4.1.1 試験動物

3.6.4 の試験に用いた動物を用いる。

3.6.5.4.1.2 赤血球凝集抗原

「鶏伝染性コリーザ（Ａ型）診断用赤血球凝集抗原」及び鶏伝染性コリーザ（Ｃ型）赤血球凝集抗原（付記６）を用いる。

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

3.6.5.4.3 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。

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、試験群から得られた 70 %以上の個体の血清が陽性でなければならない。この場合、対照群から得られた全ての個体の血清が陰性でなければならない。

3.6.5.5 マイコプラズマ・ガリセプチカム力価試験

3.6.5.5.1 試験材料

3.6.5.5.1.1 試験動物

3.6.4の試験に用いた動物を用いる。

3.6.5.5.1.2 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7）を用いる。

3.6.5.5.2 試験方法

3.6.4 の試験の注射後4週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、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℃で一夜処理した後、赤血球凝集の有無を観察する。

3.6.5.5.3 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。

試験群から得られた各個体の血清の HI 抗体価の幾何平均値は、37 倍を超えなければならない。この場合、対照群から得られた各個体の血清は、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、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。

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　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
牛血清	50 mL
イーグル MEM	残　量

炭酸水素ナトリウムで pH を 6.8 ～ 7.2 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　第1次重層寒天培地

1,000mL 中

酵母エキス	1 g
ラクトアルブミン	5 g
牛血清アルブミン	10 g
牛血清	20 mL
寒天	9 g
アール液	残　量

炭酸水素ナトリウムでpHを6.8～7.2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　第2次重層寒天培地

1,000mL中

酵母エキス	1 g
ラクトアルブミン	5 g
ニュートラルレッド	120 mg
寒天	9 g
アール液	残　量

炭酸水素ナトリウムでpHを6.8～7.2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　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5　25w/v％カオリン液

100mL中

カオリン	25 g
リン酸緩衝食塩液	残　量

付記6　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7　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℃以下に保存したもの。

一般試験法の迷入ウイルス否定試験法の 2.8.1.1.1 中「牛白血病ウイルス寒天ゲル内沈降反応抗原を用いて寒天ゲル内沈降反応」を「受身赤血球凝集反応、酵素抗体反応又は寒天ゲル内沈降反応により牛白血病ウイルス抗体の検出」に改め、2.8.1.1.2 中「被検血清と抗原の間に、抗牛白血病ウイルス血清と抗原の間に認められる沈降線と融合する沈降線」を「牛白血病ウイルスに対する抗体」に改める。

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 3.2.8.1 中「牛白血病ウイルス寒天ゲル内沈降反応抗原を用いて寒天ゲル内沈降反応」を「受身赤血球凝集反応、酵素抗体反応又は寒天ゲル内沈降反応により牛白血病ウイルス抗体の検出」に改め、3.2.8.2 中「被検血清と抗原の間に、抗牛白血病ウイルス血清と抗原の間に認められる沈降線と融合する沈降線」を「牛白血病ウイルスに対する抗体」に改める。

（別紙２）

○農林水産省告示第千五百五十五号

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。

平成二十六年十一月六日

農林水産大臣　西川　公也

（「次のように」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。）の部のウエストナイルウイルス感染症（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。

ウエストナイルウイルス感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチン

動生剤基準のウエストナイルウイルス感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチンの 3.4.2、3.4.5、3.4.6 及び 3.4.7 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。）の部の鶏コクシジウム感染症（アセルブリナ・テネラ・マキシマ・ミチス）混合生ワクチンの項を次のように改める。

鶏コクシジウム感染症（アセルブリナ・テネラ・マキシマ・ミチス）混合生ワクチン

動生剤基準の鶏コクシジウム感染症（アセルブリナ・テネラ・マキシマ・ミチス）混合生ワクチンの3.4.3、3.4.4、3.4.5、3.4.6（迷入ウイルス否定試験法2.1及び2.2.2を除く。）及び3.4.7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を次のように改める。

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

動生剤基準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）不活化ワクチンワクチンの 3.6.2、3.6.4 及び 3.6.5 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）の部の牛レプトスピラ病（アジュバント加）不活化ワクチン（シード）の項を次のように改める。

牛レプトスピラ病（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レプトスピラ・ボルグピータセニイ血清型ハージョ（以下この項において「レプトスピラ・ハージョ」という。）の培養菌液を不活化し、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。

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 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、体重測定は4日目に行う。

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10倍希釈したものを注射材料とする。

1.3.1.2 試験動物

体重約300gのモルモットを用いる。

1.3.1.3 凝集反応用菌液

レプトスピラ凝集反応用菌液（付記1）を用いる。

1.3.2 試験方法

注射材料1 mLずつを10匹のモルモットの頸部皮下に7日間隔で2回注射する。2回目注射後14日目に得られた各個体の血清について、レプトスピラ・ハージョに対する凝集抗体価を、レプトスピラ凝集反応用菌液を用いて、マイクロプレート生菌凝集反応により測定する。

被検血清、参照陽性血清（付記2）及び参照陰性血清（付記3）を56℃で30分間処理する。これを96穴平底マイクロプレートを用いて、力価試験用EMJH基礎培地（付記4）で2倍階段希釈し、各段階の希釈液50μLに凝集反応用菌液を等量ずつ加え、30℃で2～4時間処理する。

1.3.3 判定

プレートの各穴を暗視野顕微鏡で観察し、菌の凝集を認めた血清の最高希釈倍数を凝集抗体価とする。凝集抗体価が32倍以上のとき、凝集抗体陽性とする。

試験動物の凝集抗体陽性率は、70％以上でなければならない。また、参照血清は、所定の抗体価を示さなければならない。

付記1　レプトスピラ凝集反応用菌液

レプトスピラ・ハージョ凍結保存菌液（付記5）から調製したものを新鮮生菌浮遊液とする。

凍結保存菌液を速やかに融解し、変法EMJH培地（付記6）に接種し、30℃、40回転/分で振とう培養する。必要に応じて継代した後、培養後4～8日目の培養液を265Gで10分間遠心した上清を採取し、波長600nmで透過率を測定する。力価試験用EMJH基礎培地で透過率87～88 T％（約2×10^8個/mL）に調整したものを生菌浮遊液とする。

レプトスピラ凝集反応用菌液及び凍結保存菌液は、病原性レプトスピラであるレプトスピラ・ボルグピータセニイに分類される菌株の浮遊液であり、試験者の安全性を確保し、また、環

境への漏出を防止するため、取扱いには注意すること。

付記２　参照陽性血清

レプトスピラ・ハージョ 181 株又はこれと同等の抗原性を示す株をモルモットに免疫して得られた血清であって、レプトスピラ・ハージョ 181 株又はこれと同等の抗原性を示す株に対して凝集価 32 倍を示すように濃度を調整したもの。小分け後に凍結乾燥して保存する。

付記３　参照陰性血清

非免疫のモルモット血清であって、レプトスピラ・ハージョに対する凝集抗体価が 2 倍未満のもの。小分け後に凍結乾燥して保存する。

付記４　力価試験用 EMJH 基礎培地

900 mL 中

レプトスピラ・メディウムベース　EMJH	2.3 g
水	残　量

pH を 7.5 ± 0.2 に調整した後、121 ℃で 15 分間高圧滅菌する。

付記５　レプトスピラ・ハージョ凍結保存菌液

レプトスピラ・ハージョ 181 株又はこれと同等の抗原性を示す株を変法 EMJH 培地で培養した培養菌液にグリセリンを 10 %加えたもの。小分けして-70 ℃以下で保存する。

付記６　変法 EMJH 培地

1,000 mL 中

EMJH 基礎培地（付記７）	750 mL
１ w/v %牛血清アルブミン溶液（付記８）	200 mL
水	残　量

ろ過滅菌する。

付記７　EMJH 基礎培地

1,000 mL 中

N-トリス（ヒドロキシメチル）メチル-2-アミノエタンスルホン酸	1.2 g
塩化アンモニウム	0.255 g
塩化ナトリウム	0.9 g
グリセリン	0.1 g
リン酸二水素カリウム	0.1 g
ピルビン酸ナトリウム	0.2 g
エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム	0.036 g
塩化カルシウム	0.12 g
塩化マグネシウム	0.186 g
硫酸亜鉛	0.0027 g
硫酸マンガン	0.0012 g
塩酸チアミン	0.005 g
ビタミン B12	0.0002 g
水	残　量

付記８　１ w/v ％牛血清アルブミン溶液

1,000 mL 中

牛血清アルブミン	10.0 g
ポリソルベート 80	1.5 g
硫酸鉄	0.027 g
水	残　量

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

犬レプトスピラ病（カニコーラ・コペンハーゲニー・ヘブドマディス・オータムナリス・オーストラリス）不活化ワクチン（シード）

シードロット規格に適合したレプトスピラ・カニコーラ、レプトスピラ・コペンハーゲニー、レプトスピラ・ヘブドマディス、レプトスピラ・オータムナリス及びレプトスピラ・オーストラリスの培養菌液を不活化した後、混合したワクチンである。

I 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 異常毒性否定試験

一般試験法の異常毒性否定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。

（別紙3）

○農林水産省告示第千五百五十六号

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。

平成二十六年十一月六日

農林水産大臣　西川　公也

表ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部中

「

鶏コクシジウム感染症（アセルブリナ・テネラ・マキシマ・ミチス）混合生ワクチン	491,500	124,400	17	2

」を

「	鶏コクシジウム感染症（アセルブリナ・テネラ・マキシマ・ミチス）混合生ワクチン	271,300	125,200	15		15	2	に

を

「	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）	27,300	20,300	37			5

「	犬レプトスピラ病（カニコ	27,300	20,300	37			5

を加える。

犬レプトスピラ病（カニコーラ・イクテロヘモラジー

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）						」
犬レプトスピラ病（カニコーラ・コペンハーゲニー・ヘブドマディス・オータムナリス・オーストラリス）不活化ワクチン（シード）	39,200	20,300	22		5	

（別紙４）

○農林水産省告示第千五百五十七号

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。

平成二十六年十一月六日

農林水産大臣　西川　公也

(141)を(143)とし、(137)から(140)までを二ずつ繰り下げ、(136)を(137)とし、(137)の次に次のように加える。

(138)　犬パルボウイルス感染症診断用抗体・ジアルジア症診断用抗体複合キット

(135)を(136)とし、(132)から(134)までを一ずつ繰り下げ、(131)の次に次のように加える。

(132)　狂犬病診断用抗原

別紙５

「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）

（下線部分は改正部分）

改　正　後

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）
（血清の部）	
（略）	（略）
（ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部）	
（略）	（略）
（ワクチン（シードロット製剤）の部）	
（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・コペンハーゲニー・ヘブドマディス・オータムナリス・オーストラリス）不活化ワクチン（シード）	50
（略）	（略）
（診断液の部）	
（略）	（略）

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

製　　剤	標準処理期間（日）
（血清の部）	
（略）	（略）
（ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部）	
（略）	（略）
（ワクチン（シードロット製剤）の部）	
（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
（略）	（略）
（診断液の部）	
（略）	（略）