



20消安第4841号

平成20年8月5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検定基準の一部改正等について

薬事法（昭和35年法律第145号）第83条第1項の規定により読み替えて適用される同法第14条第1項の規定に基づき動物用生物学的製剤が新たに製造販売承認されること等に伴い、「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）及び「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）の一部が別紙1及び別紙2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）の一部を別紙新旧対照表のとおり改正したので、御了知願います

(別紙1)

○農林水産省告示第千二百六十一号

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。

平成二十年八月五日

農林水産大臣 太田 誠一

(「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。)

ワクチンの部豚サーコウイルス(2型・組換え型)感染症(カルボキシビニルポリマーアジュバント加)不活化ワクチンの次に次の項を加える。

豚サーコウイルス(2型・組換え型)感染症(酢酸トコフェロール・油性アジュバント加)不活化ワクチン

組換え DNA 技術を応用して製造された豚サーコウイルス 2 型オープンリーディングフレーム 2 (以下「PCV2ORF2」という。) 遺伝子を挿入したパキ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、酢酸トコフェロール及び油性アジュバントを添加したワクチンである。

1 小分製品の試験

1.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法により試験を行い、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、注射後の体重測定は 5 日目とする。

1.3 力価試験

1.3.1 試験材料

1.3.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

1.3.1.2 試験動物

体重約 350g のモルモットを用いる。

1.3.2 試験方法

試験動物 10 匹のそれぞれの筋肉内に注射材料を 0.25mL ずつ注射し、注射 28 日後に得られた各個体の血清について ELISA により抗体価を測定する。

抗原吸着プレート(付記 1)の 12 列目を除く各穴に希釈液(付記 2)を 100 μ L ずつ分注し、非働化した各被検血清を 50 μ L 加え、3 倍階段希釈する。希釈液で 5 倍に希釈した参照標準血清(付記 3)を 50 μ L 加え、3 倍階段希釈する。希釈液で 5 倍及び 16 倍に希釈した参照陽性血清(付記 4)及び参照陰性血清(付記 5)をそれぞれ 12 列目の 4 穴に 100 μ L 加える。11 列目の 2 穴をブランク対照とする。37°C で 60 分間反応させた後、洗浄液(付記 6) 300 μ L で 4 回洗浄し、ビオチン標識化 PCV2 特異モノクローナル抗体(付記 7)を各穴に 100 μ L ずつ加え、37°C で 60 分間反応させる。洗浄液 300 μ L で 4 回洗浄し、ペルオキシダーゼ標識アビジン液(付記 8)を各穴に 100 μ L ずつ加え、37°C で 45 分間反応させる。洗浄液 300 μ L で 8 回洗浄し、基質液(付記 9)を各穴に 100 μ L ずつ加え、常温で 15 分間反応させた後、2 mol/L 硫酸液を各穴に 50 μ L ずつ加え、反応を停止させる。波長 450nm で吸光度を測定し、以下の式から被検血清及び参照標準血清の抗体価 (\log_2) を求める。

$$50\% \text{ 阻止吸光度} = (\text{参照陰性血清の吸光度の平均} - \text{参照陽性血清の吸光度の平均}) / 2$$

カットオフ吸光度 = 50% 阻止吸光度 + 参照陽性血清の吸光度の平均

各血清の抗体価 = $\log_2 \{ \text{吸光度 A を示す各血清の希釈倍数} + (\text{カットオフ吸光度} - \text{吸光度 A} / \text{吸光度 B} - \text{吸光度 A}) \times (\text{吸光度 B を示す各血清の希釈倍数} - \text{吸光度 A を示す各血清の希釈倍数}) \}$

吸光度 A 及び吸光度 B: 被検血清及び参照標準血清におけるカットオフ吸光度を挟む 2 点 (吸光度 A < 吸光度 B) の吸光度

1.3.3 判定

試験動物の抗体価の平均値は $6.2 \log_2$ 以上でなければならない。この際、ブランク対照の平均吸光度は 1.000 以上、参照陽性血清の最小吸光度は 0.200 未満、参照陰性血清の最大吸光度は 1.000 以上でなければならない。参照標準血清の抗体価は $8.0 \log_2 \sim 10.0 \log_2$ を示さなければならない。

付記 1 抗原吸着プレート

PCV2 特異的モノクローナル抗体 3/1B4 (付記 10) をモノクローナル抗体希釈液 (付記 11) で蛋白量として 100ng/mL になるように希釈し、96 穴マイクロプレートの各穴に 135 μL ずつ分注し、2~8℃で 16~24 時間静置し、洗浄液 300 μL で 4 回洗浄後、カゼイン緩衝液 (付記 12) を 200 μL ずつ分注し、37℃で 1~2 時間静置し、洗浄液 300 μL で 4 回洗浄する。さらに、PCV2ORF2 抗原 (付記 13) を希釈液で蛋白量として 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ になるように希釈し、100 μL ずつ分注し、37℃で 1 時間静置し、洗浄液 300 μL で 4 回洗浄したもの

付記 2 希釈液

1,000mL 中

リン酸水素二ナトリウム二水和物	35.58 g
塩化ナトリウム	11.69 g
ポリソルベート 80	0.5 g
牛血清アルブミン (カオリン処理済み)	1.0 g
水	残量

pH を 7.0 に調整し、ろ過滅菌する。

付記 3 参照標準血清

豚サーコウイルス (2 型・組換え型) 感染症 (酢酸トコフェロール・油性アジュバント加) 不活化ワクチン (以下「ワクチン」という。) で免疫した SPF 鶏群由来の血清で、PCV2ORF2 に対し抗体陽性のものを非働化したもので、1.3.2 を準用した ELISA (以下「力価試験の ELISA」という。) で測定したとき、抗体価 $8.0 \log_2 \sim 10.0 \log_2$ を示すもの

付記 4 参照陽性血清

ワクチンで免疫した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏から得た血清で、PCV2ORF2 に対し抗体陽性のものを非働化したもので、力価試験の ELISA で測定したとき、吸光度 0.200 未満を示すもの

ワクチンの部ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎 2 価混合（油性アジュバント加）不活化ワクチンの次に次の項を加える。

鶏脳脊髄炎・鶏痘混合生ワクチン

鶏脳脊髄炎ウイルス及び弱毒鶏痘ウイルスをそれぞれ発育鶏卵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 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により試験を行い、これに適合しなければならない。

1.2 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により試験を行い、これに適合しなければならない。

1.3 生菌数限度試験

一般試験法の生菌数限度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。

1.4 鶏脳脊髄炎ウイルス含有量試験

1.4.1 試験材料

1.4.1.1 試料

試験品をリン酸緩衝食塩液で、0.1mL 当たり 1 羽分となるように溶解した後、10 倍段階希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

1.4.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 4～6 日齢のものを用いる。

1.4.2 試験方法

試料 0.1mL をそれぞれ 10 個以上の発育鶏卵の卵黄嚢内に注射して培養し、ふ化させる。ふ化した鶏について、運動失調、ふるえ等の症状の有無を 3 日間観察する。発症した鶏を感染とみなし、EID₅₀ を算出する。

症状の疑わしい鶏がいる場合には、中枢神経の病理組織検査によって感染の有無を判定する。

1.4.3 判定

試験品のウイルス含有量は、1 羽分当たり 10^{2.5} EID₅₀ 以上でなければならない。

1.5 安全試験

1.5.1 試験材料

1.5.1.1 接種材料

試験品を溶解用液（付記 1）を用いて 0.01mL 当たり 10 羽分となるように溶解したものを接種材料とする。

1.5.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 8 週齢の鶏を用いる。

1.5.1.3 試験方法

試験動物 10羽を試験群とし、5羽を対照群とする。

接種材料 0.01mL ずつを試験群の翼膜に穿刺接種し、対照群とともに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する。

1.5.1.4 判定

観察期間中、痘疱の転移や重度の痂皮の形成を認めてはいけない。

対照群においては、試験動物に臨床的な異常を認めてはならず、試験群においては、試験動物に発痘以外の臨床的な異常を認めてはならない。

1.6 鶏脳脊髓炎力価試験

1.6.1 試験材料

1.6.1.1 接種材料

試験品を溶解用液で溶解したものを接種材料とする。

1.6.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の8週齢の鶏を用いる。

1.6.1.3 沈降反応抗原

鶏脳脊髓炎ウイルス沈降反応抗原（付記2）を用いる。

1.6.2 試験方法

試験動物 10羽に接種材料 1羽分ずつをそれぞれ翼膜に穿刺接種し、4週間後に得られた各個体の血清について沈降反応を行う。また、非接種鶏 3羽を対照群とし、接種群と隔離して飼育し、4週間後に得られた各個体の血清について沈降反応を行う。

4単位の沈降反応抗原を寒天ゲル（付記3）の中心の穴に、被験血清、4単位の参照陽性血清（付記4）及び参照陰性血清（付記5）を周囲の穴に分注した後、乾燥を防ぎながら室温で48～72時間反応させ、沈降線の有無を観察する。

1.6.3 判定

抗原と各血清との間に特異的沈降線を認めたものを陽性とし、認めないものを陰性とする。

試験群の血清の80%以上が陽性でなければならず、対照群の血清は全て陰性でなければならない。

1.7 鶏痘発痘試験

1.7.1 試験材料

1.7.1.1 接種材料

試験品を溶解用液で溶解したものを接種材料とする。

1.7.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の8週齢の鶏を用いる。

1.7.2 試験方法

試験動物 10羽を試験群、5羽を対照群とする。

試験群に接種材料 1羽分ずつをそれぞれ翼膜に穿刺接種し、対照群とともに3週間観察する。

1.7.3 判定

試験群は、接種後5～7日で善感発痘し、痘疱は21日以内に完全に消退しなければならない。

付記 1 溶解用液

1000 mL 中

白糖	2.6 g
リン酸二水素カリウム	0.676 g
リン酸二水素ナトリウム二水和物	1.664 g
塩化ナトリウム	7.397 g
水	残 量

付記 2 鶏脳脊髄炎ウイルス沈降反応抗原

鶏脳脊髄炎ウイルス鶏胚馴化 Van Roekel 株に感染した鶏胚脳乳剤を精製濃縮したもの

付記 3 寒天ゲル

寒天及び塩化ナトリウムをそれぞれ 0.9～1.0 w/v%となるようにリン酸緩衝食塩液又はペロナル緩衝食塩液に溶かした後、適当と認められた防腐剤を加える。スライドグラス(26×76mm)にこれを5 mL 注ぎ、固まらせる。固まった後、寒天スライドに直径3 mmの穴を中心に、その周囲に相互に3 mmの間隔で6個の穴をあける。

付記 4 参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏を鶏脳脊髄炎ウイルスで免疫して得血清

付記 5 参照陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏から得た血清

ワクチンの部ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎・産卵低下症候群— 1976・トリニューモウイルス感染症混合（油性アジュバント加）不活化ワクチンの次に次の項を加える。

ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎2価・産卵低下症候群— 1976・トリニューモウイルス感染症混合（油性アジュバント加） 不活化ワクチン

ニューカッスル病ウイルス及び2種類の鶏伝染性気管支炎ウイルスをそれぞれ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及び弱毒七面鳥鼻気管炎（以下「TRT」という。）を培養細胞で増殖させて得たウイルス液をそれぞれ不活化し、混合したものに油性アジュバントを添加したワクチンである。

1 小分製品の試験

1.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法により試験を行い、これに適合しなければならない。

1.2 安全試験

1.2.1 試験材料

1.2.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

1.2.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の4～5週齢の鶏を用いる。

1.2.2 試験方法

試験動物の10羽を試験群、3羽を対照群とする。

注射材料1羽分ずつを試験群の頸部皮下に注射し、対照群とともに4週間観察する。

1.2.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。

1.3 力価試験

1.3.1 ニューカッスル病力価試験

1.3.1.1 試験材料

1.3.1.1.1 試験動物

1.2の試験に用いた動物を用いる。

1.3.1.1.2 赤血球凝集抗原

「ニューカッスル病診断用赤血球凝集抗原」を用いる。

1.3.1.2 試験方法

1.2の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ニューカッスル病ウイルス赤血球凝集抑制試験を行う。

1.3.1.3 判定

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

試験群の80%以上がHI抗体価80倍以上でなければならない。この場合、対照群では、すべてHI抗体価5倍以下でなければならない。

1.3.2 鶏伝染性気管支炎力価試験

1.3.2.1 試験材料

1.3.2.1.1 試験動物

1.2の試験に用いた動物を用いる。

1.3.2.1.2 中和試験用ウイルス

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

1.3.2.1.3 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 9～10 日齢のものを用いる。

1.3.2.2 試験方法

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

それぞれの中和試験用ウイルス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 3 群に分け、第 1 群には試験群のプール血清を、第 2 群には対照群のプール血清を、第 3 群にはウイルス対照としてリン酸緩衝食塩液を、それぞれ等量加えて混合する。これらの混合液を 4℃で 18～24 時間又は 37℃で 60 分間処理する。処理した試料 0.1mL ずつを 5 個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37℃で 7～8 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。

1.3.2.3 判定

鶏胚に死亡又は変性（発育不全又はカーリング）を認めたものを感染とみなし、EID₅₀ を求め、中和指数を算出する。ただし、24 時間以内に死亡したものは除外する。

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

1.3.3 産卵低下症候群-1976 力価試験

1.3.3.1 試験材料

1.3.3.1.1 試験動物

1.2 の試験に用いた動物を用いる。

1.3.3.1.2 赤血球凝集抗原

産卵低下症候群-1976 ウイルス赤血球凝集抗原（付記 1）を用いる。

1.3.3.2 試験方法

1.2 の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について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 2）3 容を加え、室温で 20 分間処理した後、2,000rpm、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 μL に等量の 4 単位の産卵低下症候群-1976 ウイルス赤血球凝集抗原を加えて混合し、30 分間処理した後、0.5vol %の鶏赤血球浮遊液を 50 μL ずつ加えて振盪混合し、60 分間静置した後に赤血球凝集の有無を観察する。

1.3.3.3 判定

赤血球凝集が抑制された血清の最高希釈倍数を HI 抗体価とする。

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

1.3.4 トリニューモウイルス力価試験

1.3.4.1 試験材料

1.3.4.1.1 試験動物

1.2 の試験に用いた動物を用いる。

1.3.4.2 試験方法

1.2 の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、酵素抗体反応

(以下「ELISA」という。)により抗体価を測定する。

固相化緩衝液(付記3)で適当に希釈した TRT 抗原(付記4)をプレート(付記5)に 100 μ L ずつ分注し、37 $^{\circ}$ C で3時間反応後、洗浄用緩衝液(付記6)で2回洗浄した後、乾燥させる。次に被検血清を IB-EIA 緩衝液(付記7)で2倍階段希釈し、固相化プレートに各希釈血清を 100 μ L ずつ加え、37 $^{\circ}$ C で30分間反応させる。反応終了後、洗浄用緩衝液で2回洗浄し、水切りを行った後、山羊抗鶏 IgG ペルオキシダーゼ標識抗体(付記8)を 100 μ L ずつ加え、37 $^{\circ}$ C で30分間反応させる。反応終了後、洗浄用緩衝液で2回洗浄し、水切りを行った後、基質液(付記9)を 100 μ L 加え、常温で8分間反応させる。反応終了後、反応停止液(付記10)を 50 μ L 加えて、反応を停止させ、波長 450nm で吸光度値を測定する。

1.3.4.3 判定

参照陰性血清(付記11)の平均吸光度値の少なくとも1.5倍の吸光度値を示す血清の希釈倍数を ELISA 抗体価とする。

試験群の80%以上が ELISA 抗体価 $2^{6.64}$ 倍以上を示さなければならない。この場合、対照群はすべて $2^{6.64}$ 倍未満でなければならず、参照陽性血清(付記12)は $2^{6.64}$ 倍以上の抗体価を示さなければならない。

付記1 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 ウイルス赤血球凝集抗原 JPA-1 株又は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2 25w/v %カオリン液

1,000mL 中

カオリン

リン酸緩衝食塩液

115 $^{\circ}$ C、15分間高圧滅菌又はアジ化ナトリウムを 0.01mL % 添加した後、2 ~ 10 $^{\circ}$ C に保存する。

付記3 固相化緩衝液

1,000mL 中

リン酸二水素ナトリウム二水和物 1.43 g

リン酸水素二ナトリウム十二水和物 12.10 g

塩化ナトリウム 8.5 g

水 残量

pH7.0 に調整する。

付記4 TRT 抗原

TRT ウイルス弱毒 BUT1 # 8544 株を鶏用生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞に接種し、38 $^{\circ}$ C で培養する。CPE が出現したときに培養上清を採取し、感染細胞は少量の培養液でかきとり、超音波破碎を行う。感染細胞の超音波破碎後遠心(3,000G、10分間)し、その遠心上清と TRT 培養上清をプールする。次に 30,000G、1時間遠心し、沈渣を少量の滅菌水に再浮遊する。再浮遊したものをシュークロースステップ遠心(53,000G、1時間)した後、上層を採取し、これを ELISA 抗原とする。参照陽性血清の100倍希釈液の吸光度値を測定するとき 0.8 以上及び参照陰性血清では 0.2 以下を示すよ

うに調整する。

付記5 プレート

適当と認められた 96 穴平底マイクロプレートを使用する。

付記6 洗浄用緩衝液

1,000mL 中

リン酸水素二ナトリウム十二水和物	2.9 g
無水リン酸二水素カリウム	0.2 g
塩化ナトリウム	37.2 g
塩化カリウム	0.2 g
ポリソルベート 20	1.5 g
水	残 量

pH を 7.0 に調整する。

付記7 IB-EIA 緩衝液

1,000mL 中

リン酸二水素ナトリウム二水和物	2.31 g
リン酸水素二ナトリウム二水和物	24.06 g
塩化ナトリウム	29.22 g
カオリン処理 30w/v%牛血清アルブミン	3.3mL
ポリソルベート 20	0.50 g
水	残 量

濾過滅菌 (200nm) 後、スキムミルク 2 w/v%及び牛胎子血清 5 vol%を加える。

付記8 山羊抗鶏 IgG ペルオキシダーゼ標識抗体

参照陽性血清が規定の抗体価を示すように IB-EIA 緩衝液で調整したもの

付記9 基質液

TMB 溶液	0.2mL
UP 緩衝液	1.5mL
水	15 mL

TMB 溶液は、DMSO 1,000mL に TMB (3,3',5,5'-テトラメチルベンチジン) を 6 g 溶かしたもの

UP 緩衝液は、尿素過酸化物 1 錠 (140 mg) を TMB 緩衝液 (酢酸ナトリウム 136 g を約 500mL の水に溶かし、1.5mol/L クエン酸で pH を 5.3 ~ 5.7 に調整した後、水を加え、1,000mL とし、高圧滅菌 (121 °C、20 分間) したもの) 100mL に溶かしたもの

付記10 反応停止液

硫酸	110 mL
水	1,000 mL

付記11 参照陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の鶏群由来で TRT ウイルスに対する抗体を保有しない鶏血清で、ELISA 抗体価 $2^{4.64}$ 倍未満を示すもの

付記 12 参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の鶏群由来で TRT ウイルスに対する抗体陰性鶏を TRT ウイルス弱毒 BUT 1 # 8544 株の生ウイルスで免疫して得た血清で、ELISA 抗体価 $2^{8.64} \sim 2^{9.64}$ 倍を示すもの

新 旧 対 照 表

動物用生物学的製剤検定基準各条ワクチンの部：豚サ－コウウイルス(2型・組換え型)感染症(酢酸トコフエロール・油性アジュバント加) 不活化ワクチン

改 正 案	現 行
<p style="text-align: center;">豚サ－コウウイルス(2型・組換え型) 感染症(カルボキシビニルポリマーアジュバント加) 不活化ワクチン (略)</p> <p style="text-align: center;">豚サ－コウウイルス(2型・組換え型) 感染症(酢酸トコフエロール・油性アジュバント加) 不活化ワクチン (略)</p> <p>組換え DNA 技術を応用して製造された豚サ－コウウイルス2型オープンリーディングフレーム2 (以下「PCV2ORF2」という。) 遺伝子を挿入したバキエロ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、酢酸トコフエロール及び油性アジュバントを添加したワクチンである。</p> <p>1 小分製品の試験</p> <p>1.1 無菌試験</p> <p>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ぬ。</p> <p>1.2 毒性限度確認試験</p> <p>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ぬ。ただし、注射後の体重測定は5日目とする。</p> <p>1.3 力価試験</p> <p>1.3.1 試験材料</p> <p>1.3.1.1 注射材料</p> <p>試験品を注射材料とする。</p> <p>1.3.1.2 試験動物</p> <p>体重約350gのモルモットを用いる。</p> <p>1.3.2 試験方法</p> <p>試験動物10匹のそれぞれの筋肉内に注射材料を0.25mLずつ注射し、注射28日後に得られた各個体の血清についてELISAにより抗価を測定する。</p> <p>抗原吸着プレート(付記1)の12列目を除く各穴に希釈液(付記2)を100μLずつ分注し、非働化した各被検血清を50μL加え、3倍階段希釈する。希釈液で5倍に希釈した参照標準血清(付記3)を50μL加え、3倍階段希釈する。希釈液で5倍及び16倍に希釈した参照陽性血清(付記4)及び参照</p>	<p style="text-align: center;">豚サ－コウウイルス(2型・組換え型) 感染症(カルボキシビニルポリマーアジュバント加) 不活化ワクチン (略)</p>

陰性血清 (付記5) をそれぞれ12列目の4穴に100 μ L加える。11列目の2穴をブランク対照とする。37 $^{\circ}$ Cで60分間反応させた後、洗浄液 (付記6) 300 μ Lで4回洗浄し、ピオチン標識化PCV2特異モノクローナル抗体 (付記7) を各穴に100 μ Lずつ加え、37 $^{\circ}$ Cで60分間反応させる。洗浄液300 μ Lで4回洗浄し、ペルオキシダーゼ標識アビジン液 (付記8) を各穴に100 μ Lずつ加え、37 $^{\circ}$ Cで45分間反応させる。洗浄液300 μ Lで8回洗浄し、基質液 (付記9) を各穴に100 μ Lずつ加え、常温で15分間反応させた後、2 mol/L 硫酸液を各穴に50 μ Lずつ加え、反応を停止させる。波長450nmで吸光度を測定し、以下の式から被検血清及び参照標準血清の抗体価 ($\log a$) を求める。

50%阻止吸光度 = (参照陰性血清の吸光度の平均 - 参照陽性血清の吸光度の平均) / 2

カットオフ吸光度 = 50%阻止吸光度 + 参照陽性血清の吸光度の平均

各血清の抗体価 = \log_2 {吸光度 A / 示す各血清の希釈倍数 + (カットオフ吸光度 - 吸光度 A) / 吸光度 B - 吸光度 A} \times (吸光度 B / 示す各血清の希釈倍数 - 吸光度 A) / 示す各血清の希釈倍数

吸光度 A 及び吸光度 B : 被検血清及び参照標準血清におけるカットオフ吸光度を採む2点 (吸光度 A < 吸光度 B) の吸光度

1.3.3 判定

試験動物の抗体価の平均値は6.2 log₂ 以上でなければならぬ。この際、ブランク対照の平均吸光度は1.000以上、参照陽性血清の最小吸光度は0.200未満、参照陰性血清の最大吸光度は1.000以上でなければならず、参照標準血清の抗体価は8.0 log₂ ~ 10.0 log₂ を示さなければならぬ。

付記1 抗原吸着プレート

PCV2特異的モノクローナル抗体3/1B4 (付記10) をモノクローナル抗体希釈液 (付記11) で蛋白量として100ng/mLになるように希釈し、96穴マイクロプレート (付記12) の各穴に135 μ Lずつ分注し、2~8 $^{\circ}$ Cで16~24時間静置し、洗浄液300 μ Lで4回洗浄後、カゼイン緩衝液 (付記12) を200 μ Lずつ分注し、37 $^{\circ}$ Cで1~2時間静置し、洗浄液300 μ Lで4回洗浄する。さらに、PCV2ORF2抗原 (付記13) を希釈液で蛋白量として4 μ g/mLになるように希釈し、100 μ Lずつ分注し、37 $^{\circ}$ Cで1時間静置し、洗浄液300 μ Lで4回洗浄したもの

付記2 希釈液

1,000mL中	
リン酸水素二ナトリウム二水和物	35.58 g
塩化ナトリウム	11.69 g
ポリソルベート80	0.5 g
牛血清アルブミン (カオリン処理済み)	1.0 g

残量

水

pHを7.0に調整し、ろ過滅菌する。

付記3 参照標準血清

豚サージューウイルス (2型・組換え型) 感染症 (酢酸トコフエロール・油性アジューバント加) 不活化ワクチン (以下「ワクチン」という。) で免疫した SPF 鶏群由来の血清で、PCV2ORF2 に対し抗体陽性のものを非働化したもので、1.3.2 を選用した ELISA (以下「力価試験の ELISA」という。) で測定したとき、抗体価 $8.0 \log_2 \sim 10.0 \log_2$ を示すもの

付記4 参照陽性血清

ワクチンで免疫した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏から得た血清で、PCV2ORF2 に対し抗体陽性のものを非働化したもので、力価試験の ELISA で測定したとき、吸光度 0.200 未満を示すもの

付記5 参照陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏から得た血清で、PCV2ORF2 に対し抗体陰性のものを非働化したもので、力価試験の ELISA で測定したとき、吸光度 1.000 以上を示すもの

付記6 洗浄液

1,000mL 中	
リン酸水素三ナトリウム、無水	1.15 g
リン酸二水素カリウム	0.2 g
塩化ナトリウム	37.2 g
塩化カリウム	0.2 g
ポリソルベート 20	1.5 g
水	残量

pHを7.0に調整する。

付記7

ビオチン標識化 PCV2 特異モノクローナル抗体 PCV2ORF2 に特異的モノクローナル抗体 5/6H12 をビオチンで標識したもので、希釈液で 1,200 倍に希釈して用いる。

付記8

ペルオキシダーゼ標識アビジン液
ペルオキシダーゼで標識したアビジン液で、希釈液で 2,500 倍に希釈して用いる。

付記9 基質液

UP 緩衝液、0.6w/v % TMB 溶液及び水を 1、0.185 及び 10 の割合で混合したもの

UP 緩衝液：テトラメチルベンジジン基質液（酢酸ナトリウム三水合物 13.6g を 80mL の水に溶解し、1.5mol/L のクエン酸一水和物で pH 5.5 に調整後、水を加えて 100mL としたもの）に尿素過酸化水素 140mg を加えたもの
 0.6w/v % TMB 溶液：テトラメチルベンジジン 6g をジメチルスルホキシド 1,000mL で溶解したもの

付記 10 PCV2 特異モノクローナル抗体 3/IB4
 PCV2ORF2 に特異的なモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ培養細胞の培養上清をアフィニティクロマトグラフィーで精製し、1 mL 中蛋白量として 600 μ g になるように調整したもの

付記 11 モノクローナル抗体希釈液
 1,000mL 中
 リン酸二水素ナトリウム三水合物 1.43 g
 リン酸水素ナトリウム二水和物 6.01 g
 塩化ナトリウム 8.5 g
 水 残量

pH を 7.3 に調整し、ろ過滅菌する。

付記 12 カゼイン緩衝液
 1,000mL 中
 トリス 4.84 g
 スクロース 40.0 g
 Triton X-100 0.5 g
 カゼイン 2.0 g
 水 残量

水約 400mL にトリスを加え、溶解し、pH を 7.3 ~ 7.5 に調整した後、残りの試薬を加え、水で 1,000mL とする。ろ過滅菌する。

付記 13 PCV2ORF2 抗原
 ワクチンと同じ製造方法で製造した PCV2ORF2 蛋白抗原を不活化したもので、ポリアクリルアミドゲル電気泳動した場合 28kD にバンドを認め、1 mL 中蛋白量として 200 μ g になるように調整したもの

豚サーコウイルス（2型）感染症不活化ワクチン（油性アジュバント加懸濁用液）
 （以下略）

豚サーコウイルス（2型）感染症不活化ワクチン（油性アジュバント加懸濁用液）
 （以下略）

新 旧 対 照 表

動物用生物学的製剤規定基準各条ワクチンの部：鶏脳脊髄炎・鶏痘混合生ワクチン

改 正 案	現 行
<p>ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎2価混合 (油性アジュバント加) 不活化ワクチン (略)</p> <p>鶏脳脊髄炎・鶏痘混合生ワクチン</p> <p>鶏脳脊髄炎ウイルス及び弱毒鶏痘ウイルスをそれぞれ発育鶏卵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。</p> <p>1.1 マイコプラズマ否定試験 一般試験法のマイコプラズマ否定試験法により試験を行い、これに適合しなければならぬ。</p> <p>1.2 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により試験を行い、これに適合しなければならぬ。</p> <p>1.3 生菌数限度試験 一般試験法の生菌数限度試験法により試験を行い、これに適合しなければならぬ。</p> <p>1.4 鶏脳脊髄炎ウイルス含有量試験 1.4.1 試験材料 1.4.1.1 試料 試験品をリン酸緩衝食塩液で、0.1mL 当たり 1 羽分となるように溶解した後、10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。</p> <p>1.4.1.2 発育鶏卵 生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 4～6 日齢のものを用いる。</p> <p>1.4.2 試験方法 試料 0.1mL をそれぞれ 10 個以上の発育鶏卵の卵黄嚢内に注射して培養し、ふ化させる。ふ化した鶏について、運動失調、ふるえ等の症状の有無を 3 日間観察する。発症した鶏を感染とみなし、EID₅₀ を算出する。</p> <p>症状の疑わしい鶏がいる場合には、中枢神経の病理組織検査によって感染の有無を判定する。</p> <p>1.4.3 判定 試験品のウイルス含有量は、1 羽分当たり 10^{4.5} EID₅₀ 以上でなければならぬ。</p> <p>1.5 安全試験 1.5.1 試験材料 1.5.1.1 接種材料 試験品を溶解用液 (付記 1) を用いて 0.01mL 当たり 10 羽分となるように溶解したものを接種材料とする。</p> <p>1.5.1.2 試験動物 生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 8 週齢の鶏を用いる。</p> <p>1.5.1.3 試験方法 試験動物 10 羽を試験群とし、5 羽を対照群とする。 接種材料 0.01mL ずつを試験群の翼膜に穿刺接種し、対照群とともに 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する。</p> <p>1.5.1.4 判定</p>	<p>ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎2価混合 (油性アジュバント加) 不活化ワクチン (略)</p>

観察期間中、痘瘡の転移や重度の痂皮の形成を認めてはいけない。
対照群においては、試験動物に臨床的な異常を認めてはならず、試験群においては、試験動物に
発症以外の臨床的な異常を認めてはならない。

1.6 鶏胚脊髄炎力価試験

1.6.1 試験材料

1.6.1.1 接種材料

試験品を接種用液で溶解したものを接種材料とする。

1.6.1.2 試験動物

生フクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 8 週齢の鶏を用いる。

1.6.1.3 沈降反応抗原

鶏胚脊髄炎ウイルス沈降反応抗原（付記 2）を用いる。

1.6.2 試験方法

試験動物 10 羽に接種材料 1 羽分ずつをそれぞれ翼膜に穿刺接種し、4 週間後に得られた各個体の
血清について沈降反応を行う。また、非接種鶏 3 羽を対照群とし、接種群と隔離して飼育し、4 週
間後に得られた各個体の血清について沈降反応を行う。

4 単位の沈降反応抗原を寒天ゲル（付記 3）の中心の穴に、被験血清、4 単位の参照陽性血清（付
記 4）及び参照陰性血清（付記 5）を周囲の穴に分注した後、乾燥を防ぎながら室温で 48~72 時間
反応させ、沈降線の有無を観察する。

1.6.3 判定

抗原と各血清との間に特異的沈降線を認められたものを陽性とし、認めないものを陰性とする。

試験群の血清の 80%以上が陽性でなければならず、対照群の血清は全て陰性でなければならぬ。

1.7 鶏痘発症試験

1.7.1 試験材料

1.7.1.1 接種材料

試験品を溶解用液で溶解したものを接種材料とする。

1.7.1.2 試験動物

生フクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 8 週齢の鶏を用いる。

1.7.2 試験方法

試験動物 10 羽を試験群、5 羽を対照群とする。

試験群に接種材料 1 羽分ずつをそれぞれ翼膜に穿刺接種し、対照群とともに 3 週間観察する。

1.7.3 判定

試験群は、接種後 5~7 日で普感発症し、痘瘡は 21 日以内に完全に消滅しなければならぬ。

付記 1 溶解用液

1000 mL 中

白糖

2.6 g

リン酸二水素カリウム

0.676 g

リン酸二水素ナトリウム二水和物

1.664 g

塩化ナトリウム

7.397 g

水

残量

付記 2 鶏胚脊髄炎ウイルス沈降反応抗原

鶏胚脊髄炎ウイルス鶏胚馴化 Van Roessel 株に感染した鶏胚乳剤を精製濃縮したもの

付記 3 寒天ゲル

寒天及び塩化ナトリウムをそれぞれ 0.9~1.0 w/v% となるようにリン酸緩衝食塩液又はペロ
ナル緩衝食塩液に溶かした後、適当と認められた防腐剤を加える。スライドグラス(26 ×
76mm)にこれを 5 mL 注ぎ、固まらせる。固まった後、寒天スライドに直径 3 mm の穴を中心
に、その周囲に 相互に 3 mm の間隔で 6 個の穴をあける。

付記 4 参照陽性血清
生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏を鶏脳脊髄炎ウイルスで免疫して得た血清

付記 5 参照陰性血清
生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏から得た血清

マレック病 (マレックウイルス2型・七面鳥へ
ルペスウイルス)・鶏痘混合生ワクチン
(以下略)

マレック病 (マレックウイルス2型・七面鳥へ
ルペスウイルス)・鶏痘混合生ワクチン
(以下略)

新 旧 対 照 表

動物用生物学的製剤検定基準各条ワクチンの部：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・トリニューモウイルス感染症混合(油性アジュバント加)不活化ワクチン

改 正 案	現 行
<p>ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎・産卵低下症候群-1976・トリニューモウイルス感染症混合(油性アジュバント加)不活化ワクチン(略)</p> <p>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・トリニューモウイルス感染症混合(油性アジュバント加)不活化ワクチン</p> <p>ニューカッスル病ウイルス及び2種類の鶏伝染性気管支炎ウイルスをそれぞれ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及び弱毒七面鳥鼻気管炎(以下「TRT」という。)を培養細胞で増殖させて得たウイルス液をそれぞれ不活化し、混合したものに油性アジュバントを添加したワクチンである。</p> <p>1 小分製品の試験</p> <p>1.1 無菌試験</p> <p>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ぬ。</p> <p>1.2 安全試験</p> <p>1.2.1 試験材料</p> <p>1.2.1.1 注射材料</p> <p>試験品を注射材料とする。</p> <p>1.2.1.2 試験動物</p> <p>生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の4～5週齢の鶏を用いる。</p> <p>1.2.2 試験方法</p> <p>試験動物の10羽を試験群、3羽を対照群とする。</p> <p>注射材料1羽ずつを試験群の頸部皮下に注射し、対照群とともに4週間観察する。</p> <p>1.2.3 判定</p> <p>観察期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めなければならない。</p> <p>1.3 力価試験</p> <p>1.3.1 ニューカッスル病力価試験</p>	<p>ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎・産卵低下症候群-1976・トリニューモウイルス感染症混合(油性アジュバント加)不活化ワクチン(略)</p>

- 1.3.1.1 試験材料
- 1.3.1.1.1 試験動物
 - 1.2 の試験に用いた動物を用いる。
- 1.3.1.1.2 赤血球凝集抗原
 - 「ニューカッソル病診断用赤血球凝集抗原」を用いる。
- 1.3.1.2 試験方法
 - 1.2 の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ニューカッソル病ウイルス赤血球凝集抑制試験を行う。
- 1.3.1.3 判定
 - 赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価（以下「HI 抗体価」という。）とする。
 - 試験群の 80 % 以上が HI 抗体価 80 倍以上でなければならぬ。この場合、対照群では、すべて HI 抗体価 5 倍以下でなければならぬ。
- 1.3.2 鶏伝染性気管支炎力価試験
- 1.3.2.1 試験材料
- 1.3.2.1.1 試験動物
 - 1.2 の試験に用いた動物を用いる。
- 1.3.2.1.2 中和試験用ウイルス
 - それぞれの製造用株を用いる。ただし、そのウイルス量は、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 9 ~ 10 日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、ウイルス価を測定するとき、1 mL 中 $10^{6.0}$ EID₅₀ 以上でなければならぬ。
- 1.3.2.1.3 発育鶏卵
 - 生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 9 ~ 10 日齢のものを用いる。
- 1.3.2.2 試験方法
 - 1.2 の試験最終日に試験群及び対照群から得られた血清について、ウイルス希釈法により中和試験を行う。血清は、それぞれ等量を各群ごとにブールシ、非働化する。
 - それぞれの中和試験用ウイルス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 3 群に分け、第 1 群には試験群のブール血清を、第 2 群には対照群のブール血清を、第 3 群にはウイルス対照としてリン酸緩衝食塩液を、それぞれ等量加えて混合する。これらの混合液を 4 °C で 18 ~ 24 時間又は 37 °C で 60 分間処理する。処理した試料 0.1 mL ずつを 5 個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37 °C で 7 ~ 8 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。
- 1.3.2.3 判定
 - 鶏胚に死亡又は変性（発育不全又はカーリング）を認めたものを感染とみなし、EID₅₀ を求め、中和指数を算出する。ただし、24 時間以内に死亡したもの以外は除外する。
 - 試験群のそれぞれの株に対する中和指数は、対照群に対して 2.0 以上でなければ

ればならない。この場合、対照群の中和指数は、ウイルス対照に対し1.0以下でなければならない。

1.3.3 産卵低下症候群-1976 力価試験

1.3.3.1 試験材料

1.3.3.1.1 試験動物

1.2 の試験に用いた動物を用いる。

1.3.3.1.2 赤血球凝集抗原

産卵低下症候群-1976 ウイルス赤血球凝集抗原 (付記1) を用いる。

1.3.3.2 試験方法

1.2 の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について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2) 3容を加え、室温で20分間処理した後、2,000rpm、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%の鶏赤血球浮遊液を50 μ Lずつ加えて振盪混合し、60分間静置した後、赤血球凝集の有無を観察する。

1.3.3.3 判定

赤血球凝集が抑制された血清の最高希釈倍数をHI抗体価とする。

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

1.3.4 トリニチューモウイルス力価試験

1.3.4.1 試験材料

1.3.4.1.1 試験動物

1.2 の試験に用いた動物を用いる。

1.3.4.2 試験方法

1.2 の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、酵素抗体反応 (以下「ELISA」という) により抗体価を測定する。

固相化緩衝液 (付記3) で適当に希釈したTRT抗原 (付記4) をプレート (付記5) に100 μ Lずつ分注し、37 $^{\circ}$ Cで3時間反応後、洗浄用緩衝液 (付記6) で2回洗浄した後、乾燥させる。次に被検血清をIB-EIA緩衝液 (付記7) で2倍階段希釈し、固相化プレートに各希釈血清を100 μ Lずつ加え、37 $^{\circ}$ Cで30分間反応させる。反応終了後、洗浄用緩衝液で2回洗浄し、水切りを行った後、山羊抗鶏IgGペルオキシダーゼ標識抗体 (付記8) を100 μ Lずつ加え、37 $^{\circ}$ Cで30分間反応させる。反応終了後、洗浄用緩衝液で2回洗浄し、水切りを行った後、基質液 (付記9) を100 μ L加え、室温で8分間反応させる。反応終了後、反応停止液 (付記10) を50 μ L加えて、反応を停止させ、波長450nmで吸光度値を測定する。

1.3.4.3 判定

参照陰性血清 (付記11) の平均吸光度値の少なくとも1.5倍の吸光度値を

示す血清の希釈倍数を ELISA 抗体価とする。
 試験群の 80 % 以上が ELISA 抗体価 $2^{9.64}$ 倍以上を示さなければならぬ。
 この場合、対照群はすべて $2^{4.64}$ 倍未満でなければならず、参照陽性血清 (付記 12) は $2^{6.64}$ 倍以上の抗体価を示さなければならぬ。

付記 1 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 ウイルス赤血球凝集抗原 JPA-1 株又は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 2 25w/v % カオリン液
 1,000mL 中
 カオリン
 リン酸緩衝食塩液
 115 °C、15 分間高圧滅菌又はアジ化ナトリウムを 0.01mL % 添加した後、
 2 ~ 10 °C に保存する。

付記 3 固相化緩衝液
 1,000mL 中
 リン酸二水素ナトリウム二水和物 1.43 g
 リン酸水素ナトリウム十二水和物 12.10 g
 塩化ナトリウム 8.5 g
 水 残量
 pH7.0 に調整する。

付記 4 TRT 抗原
 TRT ウイルス弱毒 BUTI # 8544 株を鶏用生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞に接種し、38 °C で培養する。CPE が出現したときに培養上清を採取し、感染細胞は少量の培養液でかきとり、超音波破碎を行う。感染細胞の超音波破碎後遠心 (3,000G、10 分間) し、その遠心上清と TRT 培養上清をブールする。次に 30,000G、1 時間遠心し、沈渣を少量の滅菌水に再浮遊する。再浮遊したものをシェーカーローステップ遠心 (53,000G、1 時間) した後、上層を採取し、これを ELISA 抗原とする。参照陽性血清の 100 倍希釈液の吸光度値を測定するとき 0.8 以上及び参照陰性血清では 0.2 以下を示すように調整する。

付記 5 プレート
 適当と認められた 96 穴平底マイクロプレートを使用する。

- 付記 6 洗浄用緩衝液
 1,000mL 中
 リン酸水素二ナトリウム十二水和物 2.9 g
 無水リン酸二水素カリウム 0.2 g
 塩化ナトリウム 37.2 g
 塩化カリウム 0.2 g
 ポリソルベート 20 1.5 g
 水 残量
 pH を 7.0 に調整する。
- 付記 7 IB・EIA 緩衝液
 1,000mL 中
 リン酸二水素ナトリウム十二水和物 2.31 g
 リン酸水素二ナトリウム十二水和物 24.06 g
 塩化ナトリウム 29.22 g
 カオリン処理 30w/v%牛血清アルブミン 3.3mL
 ポリソルベート 20 0.50 g
 水 残量
 濾過滅菌 (200nm) 後、スキムミルク 2 w/v%及び牛胎子血清 5 vol%を
 加える。
- 付記 8 山羊抗鶏 IgG ペルオキシダーゼ標識抗体
 参照陽性血清が規定の抗体価を示すように IB・EIA 緩衝液で調整したも
 の
- 付記 9 基質液
 TMB 溶液 0.2mL
 UP 緩衝液 1.5mL
 水 15 mL
 TMB 溶液は、DMSO 1,000mL に TMB (3,3',5,5'-テトラメチルベンチ
 ジン) を 6 g 溶かしたもの
 UP 緩衝液は、尿素過酸化化物 I 錠 (140 mg) を TMB 緩衝液 (酢酸ナト
 リウム 136 g を約 500mL の水に溶かし、1.5mol/L クエン酸で pH を 5.3
 ~ 5.7 に調整した後、水を加え、1,000mL とし、高圧滅菌 (121 °C、20
 分間) したもの) 100mL に溶かしたもの
- 付記 10 反応停止液
 硫酸 110 mL
 水 1,000 mL

付記 11 参照陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の鶏群由来で TRT ウイルスに対する抗体を保有しない鶏血清で、ELISA 抗体価 $2^{4.64}$ 倍未満を示すもの

付記 12 参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の鶏群由来で TRT ウイルスに対する抗体陰性鶏を TRT ウイルス弱毒 BUT 1 # 8544 株の生ウイルスで免疫して得た血清で、ELISA 抗体価 $2^{9.64} \sim 2^{8.64}$ 倍を示すもの

ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎・鶏伝染性フアブリキウ囊病・産卵低下症候群-1976混合（油性アジュバント加）不活化ワクチン
(以下略)

ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎・鶏伝染性フアブリキウ囊病・産卵低下症候群-1976混合（油性アジュバント加）不活化ワクチン
(以下略)

(別紙2)

○農林水産省告示第千二百六十二号

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五十九条並びに動物用医薬品等取締規則(平成十六年農林水産省令第七号)第一百五十四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。

平成二十年八月五日

農林水産大臣 太田 誠一

表ワクチンの部中

「豚サーコウウイルス(2型・ 組換え型)感染症(カルボ キシビニルポリマーアジコ	225,000	20,300	11	11	2	を
--	---------	--------	----	----	---	---

「	豚サーコウイルス (2型・ 組換え型) 感染症 (カルボ キシビニルポリマーアジユ バント加) 不活化ワクチン	225,000	20,300	11	11	2	」
」	豚サーコウイルス (2型・ 組換え型) 感染症 (酢酸ト コフエロール・油性アジユ バント加) 不活化ワクチン	308,300	20,300	11	10	2	」
「	ニューカッスル病・鶏伝染 性気管支炎 2価混合 (油性 アジユバント加) 不活化ワ	555,200	20,300		10	2	」

を

を

クチン

「ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎2価混合(油性アジュバント加)不活化ワクチン	555,200	20,300	10	2
鶏脳脊髄炎・鶏痘混合生ワクチン	563,100	62,500	13	2

」

「ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎・産卵低下症候群-1976・トリニューモウイルス感染症混合(油性ア	655,300	20,300	12	2
---	---------	--------	----	---

」

ジユバント加) 不活化ワクチン								
「ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎・産卵低下症候群—1976・トリニューモウイルス感染症混合 (油性アジユバント加) 不活化ワクチン	655,300	20,300				12	2	
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・トリニューモウイルス感染症混合 (油	840,600	20,300				14	2	

性アジユメント加) 不活化

ラクチン

改める。

