

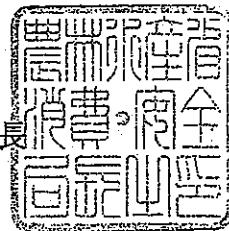


等

20消安第7002号
平成20年10月28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

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）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から別紙3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。

また、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)

○農林水産省告示第千五百六十三号

薬事法（昭和三十五年法律第二百四十五号）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。

平成二十年十月二十八日

農林水産大臣 石破 茂

（「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総覽に供する。）

ワクチンの部トリニューモウイルス感染症生ワクチンの項を次のように改める。

トリニューモウイルス感染症生ワクチン

1 定義

弱毒七面鳥鼻気管炎ウイルス又は弱毒鶏由来トリニューモウイルスを培養細胞で増殖させて得たウイルス液を凍結乾燥したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 七面鳥鼻気管炎ウイルス株

2.1.1.1 名称

弱毒七面鳥鼻気管炎ウイルス BUT1 № 8544 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

7日齢の鶏に点鼻又は点眼接種しても病原性を示さない。鶏胚初代細胞、鶏腎初代細胞又はVero 細胞に接種すると、CPE を伴って増殖する。6～12日齢の発育鶏卵の卵黄嚢内及び尿膜腔内に接種しても、鶏胚に異常を示さない。

2.1.1.3 繙代及び保存

原株及び原種ウイルスは、生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞又は適当と認められた細胞で継代する。

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以外の目的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、3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2代以内に製造しなければならない。

原株及び原種ウイルスは、凍結して-70℃又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

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。

2.1.2 鶏由来トリニューモウイルス株

2.1.2.1 名称

弱毒鶏由来トリニューモウイルス PL21 VERO 1060 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

1日齢の鶏に点鼻又は点眼接種しても、病原性を示さない。Vero 細胞に接種すると、CPE を伴って増殖する。

2.1.2.3 繙代及び保存

原株及び原種ウイルスは、Vero 細胞又は適当と認められた細胞で継代する。

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以外の目的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、3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2代以内に製造しなければならない。

原株及び原種ウイルスは、凍結して-70℃又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

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 七面鳥鼻気管炎ウイルス

2.2.1.1 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞又は製造に適当と認められた細胞を用いる。

2.2.1.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

2.2.2 鶏由来トリニューモウイルス

2.2.2.1 培養細胞

Vero 細胞又は製造に適当と認められた細胞を用いる。

2.2.2.2 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 ウィルスの培養

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及び超音波処理した感染細胞の遠心上清を混合したもの、又は培養液のろ液若しくは遠心上清を原液とする。原液に適当と認められた凍害防止剤を加えてよい。

原液について、3.2.1 及び 3.2.2 の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液を混合し、適当と認められた安定剤を加えて調整し、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、凍結乾燥し、小分製品とする。

小分製品について、3.3 の試験を行う。

3 試験法

3.1 培養細胞の試験

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。

3.1.2 鶏赤血球凝集試験

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

3.2 原液の試験

3.2.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2 ウィルス含有量試験

3.2.2.1 又は 3.2.2.2 のいずれかの試験を行う。

3.2.2.1.1 鶏胚初代細胞接種試験

3.2.2.1.1.1 試験材料

3.2.2.1.1.1.1 試料

検体を細胞増殖用培養液（付記 1）で調整した鶏胚初代細胞浮遊液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.2.1.1.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞浮遊液を用いる。

3.2.2.1.2 試験方法

試料 0.2mL ずつを、それぞれ 96 穴組織培養用プレートの 5 穴以上に接種し、37 °C で 5~7 日間培養し、観察する。

3.2.2.1.3 判定

培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL 中 10^{6.5} TCID₅₀ 以上でなければならない。

3.2.2.2 Vero 細胞接種試験法

3.2.2.2.1 試験材料

3.2.2.2.1.1 試料

検体を細胞維持用培養液（付記2）で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.2.2.1.2 培養細胞

Vero細胞を96穴組織培養プレートに培養し、単層となったものを用いる。

3.2.2.2.2 試験方法

試料0.2mLずつを、それぞれ5穴以上の培養細胞に接種し、37℃で7～9日間培養し、観察する。

3.2.2.2.3 判定

培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL 中 10^{6.0} TCID₅₀ 以上でなければならない。

3.3 小分製品の試験

3.3.1 特性試験

一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、固有の色調を有する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懸濁液でなければならない。異物又は異臭を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

3.3.2 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。

3.3.3 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。

3.3.4 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。

3.3.5 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。

3.3.6 迷入ウイルス否定試験

一般試験法の迷入ウイルス否定試験法 1.1、2.1.1、2.1.2、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、中和用血清は、抗七面鳥鼻氣管炎ウイルス血清（付記3）又は抗鶏由来トリニューモウイルス血清（付記4）を非凍化したもの要用いる。

3.3.7 ウイルス含有量試験

3.2.2.1 を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、1羽分当たり 10^{3.0} TCID₅₀ 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。

3.2.2.2 を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、1羽分当たり 10^{2.5} TCID₅₀ 以上でなければならない。

3.3.8 安全試験

3.3.8.1 又は 3.3.8.2 のいずれかの試験を行う。

3.3.8.1 7日齢鶏接種試験

3.3.8.1.1 試験材料

3.3.8.1.1.1 接種材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で0.03mL 中 10 羽分となるように調整したもの接種材料とする。

3.3.8.1.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 7 日齢の鶏を用いる。

3.3.8.1.2 試験方法

試験動物の 10 羽を試験群、5 羽を対照群とする。

接種材料 0.03mL ずつを試験群に点眼接種し、対照群とともに、3 週間観察する。ただし、体重については、試験開始時及び試験終了時に測定する。

3.3.8.1.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。

3.3.8.2 4 日齢鶏接種試験

3.3.8.2.1 試験材料

3.3.8.2.1.1 接種材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で 0.03mL 中 10 羽分となるように調整したものを探種材料とする。

3.3.8.2.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 4 日齢の鶏を用いる。

3.3.8.2.2 試験方法

試験動物の 10 羽を試験群とし、5 羽を対照群とする。

接種材料 0.03mL ずつを試験群に点鼻接種し、対照群とともに、3 週間観察する。ただし、体重については、試験開始時及び試験終了時に測定する。

3.3.8.2.3 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。

3.3.9 力価試験

3.3.9.1 又は 3.3.9.2 のいずれかの試験を行う。

3.3.9.1 酵素抗体反応（以下「ELISA」という。）法 A 法

3.3.9.1.1 試験材料

3.3.9.1.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

3.3.9.1.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 7 日齢の鶏を用いる。

3.3.9.1.2 試験方法

試験動物の 10 羽を試験群とし、5 羽を対照群とする。

接種材料 1 羽分ずつを試験群に点眼接種し、3 週間後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 により抗体価を測定する。

七面鳥鼻気管炎ウイルス参照陽性血清（付記 5）、七面鳥鼻気管炎ウイルス参照陰性血清（付記 6）及び試験群及び対照群の被験血清を IB・EIA 緩衝液（付記 7）で 2 倍階段希釈し、七面鳥鼻気管炎ウイルス抗原固相化プレート（付記 8）に各希釈血清を $100 \mu L$ 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（付記 9）で 2 回洗浄し、山羊抗鶏 IgG ペルオキシダーゼ標識抗体（付記 10）を $100 \mu L$ ずつ加え、 $37^\circ C$ で 30 分間反応させる。反応終了後、反応停止液（付記 12）を $50 \mu L$ ずつ加えて反応を停止させ、波長 $450nm$ で吸光度値を測定する。

3.3.9.1.3 判定

七面鳥鼻気管炎ウイルス参照陰性血清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 70 % 以上が ELISA 抗体価 $2^{6.64}$ 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、七面鳥鼻気管炎ウイルス参照陽性血清は $2^{6.64}$ 倍以上の抗体価を示さなければならぬ。

3.3.9.2 ELISA B 法

3.3.9.2.1 試験材料

3.3.9.2.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

3.3.9.2.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 7 日齢の鶏を用いる。

3.3.9.2.2 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 1 羽分ずつを試験群に点鼻接種し、4 週間後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 抗体価を測定する。

鶏由来トリニューモウイルス抗原固相化プレート（付記 13）にブロッキング液（付記 14）を 100 μ L ずつ分注し、37 °C で 60 分間反応後、洗浄用希釈液（付記 15）で 3 回洗浄する。次に、鶏由来トリニューモウイルス参照陽性血清（付記 16）、鶏由来トリニューモウイルス参照陰性血清（付記 17）及び試験群及び対照群の被験血清を、それぞれ洗浄用希釈液で 50 倍に希釈する。各希釈血清 100 μ L を固相化プレートの 2 穴ずつに加え、37 °C で 60 分間反応させる。ブランクとして 2 穴を設ける。反応終了後、洗浄用希釈液で 3 回洗浄し、ウサギ抗鶏 IgG ペルオキシダーゼ標識抗体（付記 18）を 100 μ L ずつ加え、37 °C で 60 分間反応させる。反応終了後、洗浄用希釈液で 3 回洗浄し、鶏由来トリニューモウイルス用基質液（付記 19）を 100 μ L ずつ加え、遮光して 10 分間反応させる。反応終了後、0.5mol/L 硫酸を 50 μ L ずつ加えて、反応を停止させ、波長 490nm で吸光度値を測定する。

3.3.9.2.3 判定

各血清の平均読み取り値からブランクの平均読み取り値を差し引いた値を、各血清の平均吸光度値として、次式により S/P 値を算出する。

$$S/P \text{ 値} = (\text{被験血清の平均吸光度値} / \text{参照陽性血清の平均吸光度値}) \times 100$$

試験群の平均 S/P 値は 30 以上、対照群の平均 S/P 値は 10 未満でなければならない。この場合、鶏由来トリニューモウイルス参照陽性血清の平均吸光度値は 1.2 ~ 1.8、鶏由来トリニューモウイルス参照陰性血清の S/P 値は 5 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 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 細胞増殖用培養液

1,000mL 中	
トリプトース・ホスフェイト・プロス	0.83 g
トリプトース	1.00 g
ラクトアルブミン水解物	1.25 g
炭酸水素ナトリウム	2.45 g
牛血清	50 mL
イーグル MEM	残量

必要最少量の抗生物質を加えてよい。

付記 2 細胞維持用培養液

1,000mL 中	
牛血清	0 ~ 20 mL
イーグル MEM 又は F10 培地	残量

炭酸水素ナトリウムでpHを6.8～7.4に調整する
必要最少量の抗生物質を加えてよい。

付記3 抗七面鳥鼻気管炎ウイルス血清

弱毒七面鳥鼻気管炎ウイルスで免疫した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清
で、試験品中のウイルスを完全に中和する力値を有するもの

付記4 抗鶏由来トリニューモウイルス血清

鶏由来トリニューモウイルス製造用株で免疫した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の
鶏の血清で、試験品中のウイルスを完全に中和する力値を有するもの

付記5 七面鳥鼻気管炎ウイルス参照陽性血清

弱毒七面鳥鼻気管炎ウイルスで免疫した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清
で、ELISA 抗体価 $2^{8.64}$ ~ $2^{9.64}$ 倍を示すもの

付記6 七面鳥鼻気管炎ウイルス参照陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、ELISA 抗体価 $2^{4.64}$ 倍未満を示すも
の

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	3.3 mL
ポリソルベート 20	0.50 g
水	残 量

200nm でろ過滅菌をした後、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 七面鳥鼻気管炎ウイルス抗原固相化プレート

製造用株を生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞で増殖させて得られたウイ
ルス液及び感染細胞の超音波処理後の遠心上清をプールし、超遠心後の上層を七面鳥鼻気管
炎ウイルス抗原とする。

七面鳥鼻気管炎ウイルス抗原を七面鳥鼻気管炎ウイルス用固相化緩衝液（付記 20）で、
七面鳥鼻気管炎ウイルス参照陽性血清の 100 倍希釈液の吸光度値が 0.8 以上及び七面鳥鼻気
管炎ウイルス参照陰性血清が 0.2 以下を示すように濃度調整し、96 穴平底マイクロプレー
トに $100 \mu L$ ずつ分注して 37 °C で 3 時間静置した後、洗浄用緩衝液で 3 回洗浄した後、乾
燥させたものである。

付記9 洗浄用緩衝液

1,000mL 中	
無水リン酸水素二ナトリウム	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 6.9 ~ 7.1 に調整する。

付記 10 山羊抗鶏 IgG ペルオキシダーゼ標識抗体
七面鳥鼻気管炎ウイルス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 11 七面鳥鼻気管炎ウイルス用基質液

TMB 溶液	0.2 mL
UP 緩衝液	1.5 mL
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 140mg を TMB 緩衝液 (酢酸ナトリウム 136g を約 500mL の水に溶かし、1.5mol/L クエン酸で pH5.3 ~ 5.7 に調整した後、水を加え、1,000mL としたもの) 100mL に溶かしたもの

付記 12 反応停止液

硫酸	110 mL
水	1,000 mL

付記 13 鶏由来トリニューモウイルス抗原固相化プレート

製造用株を Vero 細胞で増殖させて得られたウイルス液及び細胞を、凍結融解し、超遠心処理を行った後、界面活性剤及び超音波処理して鶏由来トリニューモウイルス抗原とする。鶏由来トリニューモウイルス抗原を、鶏由来トリニューモウイルス用固相化緩衝液（付記 21）でたん白濃度が約 2 μ g/mL となるように濃度調整し、96 穴平底マイクロプレートに 100 μ L ずつ分注して 4 °C で一夜静置後、洗浄用希釀液で 3 回洗浄した後、乾燥させたものであり、- 20 °C で保存する。

付記 14 ブロッキング液

1,000mL 中	
牛血清アルブミン	10 g
リン酸緩衝食塩液	残量

付記 15 洗浄用希釀液

1,000mL 中	
塩化ナトリウム	58.45 g
リン酸水素二ナトリウム十二水和物	2.69 g
リン酸二水素ナトリウム二水和物	0.39 g
ポリソルベート 20	0.5 mL
水	残量

付記 16 鶏由来トリニューモウイルス参照陽性血清

鶏由来トリニューモウイルス製造用株で免疫した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の

鶏の血清であって、中和抗体価 640 ~ 2560 倍を示すもの

付記 17 鶏由来トリニューモウイルス参考陰性血清

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あって、鶏由来トリニューモウイルスの ELISA 法で測定した場合には、S/P 値が 5 以下を示すもの

付記 18 ウサギ抗鶏 IgG ペルオキシダーゼ標識抗体

鶏由来トリニューモウイルス参考陽性血清の平均吸光度値が 1.2 ~ 1.8、鶏由来トリニューモウイルス参考陰性血清の S/P 値が 5 以下を示すように調整したもの

付記 19 鶏由来トリニューモウイルス用基質液

1,000mL 中	
o-フェニレンジアミン二塩酸塩	0.26 g
30vol %過酸化水素水	0.3 mL
基質緩衝液	残 量
基質緩衝液は、0.1mol/L クエン酸液 243mL と 0.2mol/L リン酸水素二ナトリウム 257mL を混合したものに、水を加えて 1,000mL としたもの	

付記 20 七面鳥鼻気管炎ウイルス用固相化緩衝液

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	8.50 g
水	残 量
pH を 6.9 ~ 7.1 に調製する。	

付記 21 鶏由来トリニューモウイルス用固相化緩衝液

1,000mL 中	
炭酸ナトリウム	1.5 g
炭酸水素ナトリウム	2.93 g
水	残 量

ワクチンの部マレック病（マレック病ウイルス2型・七面鳥ヘルペスウイルス）・鶏痘混合生ワクチンの項を次のように改める。

マレック病（マレック病ウイルス2型・七面鳥ヘルペスウイルス）・鶏痘混合生ワクチン

1 定義

弱毒マレック病ウイルス（2型）及び七面鳥ヘルペスウイルスをそれぞれ培養細胞で増殖させて得た感染細胞浮遊液を混合し、凍結したマレック病2価ワクチンと弱毒鶏痘ウイルスを発育鶏卵又は培養細胞で増殖させて得たウイルス液を凍結乾燥した鶏痘ワクチンを組み合わせたものである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 マレック病ウイルス2型株

2.1.1.1 名称

弱毒マレック病ウイルスSB-1株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

1日齢の鶏の皮下、筋肉内又は腹腔内に注射しても病原性を示さない。鶏胚初代細胞に接種すると、CPEを伴って増殖する。

2.1.1.3 繼代及び保存

原株及び原種ウイルスは、生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞又は適当と認められた細胞で継代する。

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以外の目的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3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2代以内に製造しなければならない。

原株及び原種ウイルスは、凍結して-100℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

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。

2.1.2 七面鳥ヘルペスウイルス株

2.1.2.1 名称

七面鳥ヘルペスウイルスFC126株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

1日齢の鶏の皮下、筋肉内又は腹腔内に注射しても病原性を示さない。鶏、うずら又はあひるの発育卵の胚初代細胞に接種すると、CPEを伴って増殖する。

2.1.2.3 繼代及び保存

原株及び原種ウイルスは、生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞、2.3.1のうずら胚初代細胞、2.4.1のあひる胚初代細胞又は適当と認められた細胞で継代する。

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以外の目的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3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2代以内に製造しなければならない。

原株及び原種ウイルスは、凍結して-100℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

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。

2.1.3 鶏痘ウイルス株

2.1.3.1 名称

弱毒鶏痘ウイルスボーデット株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

鶏の翼膜に穿刺又は外股部の毛のうに擦入すると、5～7日で善感発痘する。

12日齢発育鶏卵の漿尿膜上に接種すると増殖し、特徴的なポックを形成する。

2.1.3.3 繼代及び保存

原株及び原種ウイルスは、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の発育鶏卵又は生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞で継代する。

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以外の目的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3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2代以内に製造しなければならない。

原株及び原種ウイルスは、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

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 マレック病ウイルス 2型

2.2.1.1 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞又は製造に適当と認められた細胞を用いる。

2.2.1.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

2.2.2 七面鳥ヘルペスウイルス

2.2.2.1 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞又は製造に適当と認められた細胞を用いる。

2.2.2.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

2.2.3 鶏痘ウイルス

2.2.3.1 発育鶏卵又は培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の9～13日齢の発育鶏卵又は生ワクチン製造用材料の規格

2.1.1 の鶏胚初代細胞若しくは製造に適当と認められた細胞を用いる。

2.2.3.2 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 マレック病ウイルス 2型原液

2.3.1.1 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見なす。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、3.1.1.1 の試験を行う。

2.3.1.2 ウィルスの培養

種ウイルスを培養細胞又は細胞浮遊液に接種して培養し、ウイルスの増殖極期の感染細胞を個体別培養細胞ごとに採取して遠心し、混合して原液とする。原液に適当と認められた安定剤を加えてもよい。

原液について、3.2.1 の試験を行う。

2.3.2 七面鳥ヘルペスウイルス原液

2.3.2.1 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見なす。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、3.1.1.1 の試験を行う。

2.3.2.2 ウィルスの培養

種ウイルスを培養細胞又は細胞浮遊液に接種して培養し、ウィルスの増殖極期の感染細胞を個体別培養細胞ごとに採取して遠心し、混合して原液とする。原液に適當と認められた安定剤を加えてもよい。

原液について、3.2.1 の試験を行う。

2.3.3 鶏痘ウィルス原液

2.3.3.1 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見なす。

個体別発育鶏卵について、3.1.2 の試験を行う。

2.3.3.2 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見なす。ウィルス接種前の培養細胞に異常を認めてもはならない。

個体別培養細胞について、3.1.1.2 の試験を行う。

2.3.3.3 ウィルスの培養

2.3.3.3.1 発育鶏卵を用いる培養

種ウイルスを発育鶏卵で培養し、漿尿膜を採取して乳剤とし、そのろ液又は遠心上清を原液とする。

この場合、適當と認められた必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

原液について、3.2.2 の試験を行う。

2.3.3.3.2 培養細胞を用いる培養

種ウイルスを鶏胚初代細胞又は適當と認められた培養細胞に接種して培養し、培養後の細胞を凍結融解し、その遠心上清を原液とする。

原液について、3.2.2 の試験を行う。

2.4 最終バルク

2.4.1 マレック病ウイルス 2型及び七面鳥ヘルペスウイルス

マレック病ウイルス 2型原液及び七面鳥ヘルペスウイルス原液を混合し、適當と認められた希釈液で濃度調整し、適當と認められた凍害防止剤を加え、最終バルクとする。

この場合、適當と認められた必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

2.4.2 鶏痘ウイルス

鶏痘ウイルス原液を混合し、適當と認められた安定剤を加え、最終バルクとする。この場合、適當と認められた必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

2.5 小分製品

2.5.1 マレック病 2価ワクチン

最終バルクを小分容器に分注し、凍結し、小分製品とする。

小分製品について、3.3 の試験を行う。

2.5.2 鶏痘ワクチン

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、3.3 の試験を行う。

3 試験法

3.1 培養細胞又は発育鶏卵の試験

3.1.1 培養細胞の試験

3.1.1.1 マレック病ウイルス培養細胞の試験

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。

3.1.1.1.1 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。

3.1.1.1.2 迷入ウイルス否定試験

3.1.1.1.1 の試験最終日に対照培養細胞のそれぞれの容器から細胞及び培養液を探り、混合したものを試料とし、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。

3.1.1.1.3 鶏注射試験

3.1.1.1.3.1 試験材料

3.1.1.1.3.1.1 注射材料

3.1.1.1.1 の試験最終日に対照培養細胞のそれぞれの容器から細胞及び培養液を探り、混合したものを注射材料とする。

3.1.1.1.3.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 1 ~ 4 日齢の鶏を用いる。

3.1.1.1.3.2 試験方法

注射材料 0.2mL ずつを 10 羽の鶏の皮下に注射し、5 週間観察する。

観察最終日に剖検する。

3.1.1.1.3.3 判定

観察期間中、試験動物に臨床的な異常を認めてはならない。また、剖検したときに異常を認めてはならない。

3.1.1.2 鶏痘ウイルス培養細胞の試験

3.1.1.2.1 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。

3.1.1.2.1.1 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。

3.1.1.2.1.2 鶏赤血球凝集試験

3.1.1.2.1.1 の試験最終日に培養液を採取し、0.5vol%鶏赤血球浮遊液を等量加え、60 分間静置し、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。

3.1.2.1 培養観察

対照発育鶏卵に、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。

3.1.2.2 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 原液の試験

3.2.1 マレック病ウイルス原液の試験

3.2.1.1 ウイルス含有量試験

3.2.1.1.1 試験材料

3.2.1.1.1.1 試料

検体を細胞維持用培養液（付記 1）で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.1.1.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞又は 2 代継代細胞を 25cm² 以上のシャーレに培養し、単層となつたものを用いる。

3.2.1.1.2 試験方法

試料 0.2mL ずつをそれぞれ 4 枚以上の培養細胞に接種し、37 °C で 60 分間静置吸着させた後、細胞維持用培養液を加え、37 °C で 4 ~ 7 日間培養し、観察する。

3.2.1.1.3 判定

シャーレ当たり平均 20 個以上検出された試料の希釈倍数及びその平均プラック数又は平均フォーカス数からウイルスの含有量を算出する。

検体のウイルス含有量は 1 mL 中それぞれ $10^{6.0}$ PFU 又は $10^{6.0}$ FFU 以上でなければならない。

3.2.2 鶏痘ウイルス原液の試験

3.2.2.1 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。

3.2.2.2 ウイルス含有量試験

3.2.2.2.1 発育鶏卵を用いる試験

3.2.2.2.1.1 試験材料

3.2.2.2.1.1.1 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 11 ~ 13 日齢のものを用いる。

3.2.2.2.1.1.2 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。

3.2.2.2.1.2 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漿尿膜上に接種し、37 °C で 5 日間培養し、観察する。試験最終日に漿尿膜を検査してポック発現の有無を観察する。

3.2.2.2.1.3 判定

漿尿膜にポックの出現したものを感じとみなし、 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 $10^{6.0} EID_{50}$ 以上でなければならない。

3.2.2.2.2 培養細胞を用いる試験

3.2.2.2.2.1 試験材料

3.2.2.2.2.1.1 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞を培養したものを用いる。

3.2.2.2.2.1.2 試料

検体を細胞維持用培養液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.2.2.2.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを 5 枚以上の培養細胞に接種し、37 °C で 60 分吸着させた後、細胞維持用培養液を加え、37 °C で 5 日間培養し、観察する。

3.2.2.2.2.3 判定

培養細胞に CPE を認めた場合を感じとみなし、 $TCID_{50}$ を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL 中 $10^{5.0} TCID_{50}$ 以上でなければならない。

3.3 小分製品の試験

3.3.1 特性試験

一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、マレック病 2 價ワクチンにあっては固有の色調を有する凍結物でなければならず、鶏痘ワクチンにあっては、固有の色調を有する乾燥物でなければならない。両ワクチンを溶解し、混合したものは、固有の色調を有する均質な懸濁液でなければならない。異物又は異臭を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

3.3.2 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、鶏痘ワクチンは、適合しなければならない。

3.3.3 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、鶏痘ワクチンは、適合しなければならない。

3.3.4 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。

ただし、マレック病2価ワクチン及び鶏痘ワクチンのそれぞれ1本を50mLの溶解用液（付記2）に溶解したものを小分容器ごとの試料とする。

3.3.5 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、マレック病2価ワクチン及び鶏痘ワクチンのそれぞれ1本を50mLの溶解用液に溶解したものと小分容器ごとの試料とする。

3.3.6 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、鶏痘ワクチンは、適合しなければならない。

3.3.7 迷入ウイルス否定試験

一般試験法の迷入ウイルス否定試験法1.1、2.1.1、2.1.2、2.2.1及び2.2.2を準用して試験するとき、マレック病2価ワクチンは、適合しなければならない。

ただし、試験品を溶解用液で0.1mL当たり10羽分となるように調整し、20KHzで1分間超音波処理し、抗マレック病ウイルス血清（付記3）を非働化したもので中和したものを試料とする。

3.3.8 ウィルス含有量試験

3.3.8.1 マレック病ウイルス

マレック病2価ワクチンを細胞維持用培養液で10倍階段希釈し、各階段の希釈液を試料とする。

3.2.1.1を準用し、両ウイルス株のCPEの形態学的相違による鑑別法でそれぞれのブラック数又はフォーカス数を測定するとき、試験品のウイルス含有量は、1羽分当たり両ウイルス株ともに $10^{3.0}$ PFU又は $10^{3.0}$ FFU以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、そのウイルス含有量とする。また、CPEの形態学的相違による鑑別法で十分に測定できないときは、モノクローナル抗体を用いた免疫染色法により測定する。

3.3.8.2 鶏痘ウイルス

3.2.2.2を準用して試験するとき、鶏痘ワクチンのウイルス含有量は、1羽分当たり $10^{2.0}$ ～ $10^{4.0}$ EID₅₀又は $10^{1.5}$ ～ $10^{2.5}$ TCID₅₀でなければならない。

3.3.9 安全試験

3.3.9.1 試験材料

3.3.9.1.1 注射材料

マレック病2価ワクチン及び鶏痘ワクチンを溶解用液で0.2mL中10羽分となるように調整したものを、注射材料とする。

3.3.9.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格1.1由來の1～4日齢の鶏を用いる。

3.3.9.2 試験方法

試験動物10羽を試験群、5羽を対照群とする。

注射材料0.2mLずつを試験群の皮下に注射し、対照群とともに5週間臨床観察を行い、観察終了時に体重を測定し、剖検する。

3.3.9.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に、臨床的な異常を認めてはならない。また、剖検したときに異常を認めてはならない。

3.3.10 マレック病力価試験

3.3.10.1 試験材料

3.3.10.1.1 注射材料

マレック病 2 価ワクチン及び鶏痘ワクチンを溶解用液で 0.2 mL 中 1 羽分となるように調整したものを注射材料とする。

3.3.10.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 1 ~ 4 日齢の鶏を用いる。

3.3.10.2 試験方法

試験動物 10 羽を試験群、 3 羽を対照群とする。

注射材料の 1 羽分ずつを試験群の皮下に注射し、 対照群とともに 3 週間観察する。

観察最終日に得られた各個体の血清について、 蛍光抗体法により両ウイルス株に対する抗体価を測定する。

血清をリン酸緩衝食塩液で 20 倍に希釈し、 更に 2 倍階段希釈する。 感染細胞（付記 4）に各希釈液を加え、 37 °C で 45 ~ 60 分間処理した後、 リン酸緩衝食塩液で 3 回洗浄し、 風乾後、 4 単位の抗鶏 IgG 蛍光標識抗体（付記 5）を加え、 37 °C で 45 ~ 60 分間処理した後、 リン酸緩衝食塩液で 3 回洗浄し、 UV 励起法で観察する。

3.3.10.3 判定

特異蛍光が認められる血清の最高希釈倍数を抗体価とする。

抗体価は、 試験群の 80 % 以上が両ウイルス株に対してそれぞれ 40 倍以上でなければならない。

この場合、 対照群では、 すべて 20 倍以下でなければならない。

3.3.11 鶏痘発痘試験

3.3.11.1 試験材料

3.3.11.1.1 接種材料

マレック病 2 価ワクチン及び鶏痘ワクチンを溶解用液で 0.01mL 中 1 羽分となるように調整したものを受けた接種材料とする。

3.3.11.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 1 ~ 4 日齢の鶏を用いる。

3.3.11.2 試験方法

試験動物の 10 羽の翼膜に接種材料の 0.01mL ずつをそれぞれ穿刺接種し、 3 週間観察する。

3.3.11.3 判定

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。

4 貯法及び有効期間

マレック病 2 価ワクチンは -140 °C 以下の液体窒素容器内で、 鶏痘ワクチンは 2 ~ 5 °C で保存する。

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 細胞維持用培養液

1,000mL 中		
トリプトース・ホスフェイト・プロス	2.95g	
牛血清	適量	
イーグル MEM 又は F10 培地		残量
炭酸水素ナトリウムで pH を 7.0 ~ 7.4 に調整する。		
必要最少量の抗生素質を加えてよい。		

付記 2 溶解用液

1,000mL 中		
塩化ナトリウム	8.0 g	
無水リン酸水素二ナトリウム		1.2 g

リン酸二水素カリウム	0.19 g
フェノールレッド	0.025g
水	残量

付記3 抗マレック病ウイルス血清

マレック病ウイルス SB-1 株又はこれと同等と認められた株及び七面鳥ヘルペスウイルス FC126 株又はこれと同等と認められた株で免疫した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、試験品中のウイルスを完全に中和する力値を有するもの

付記4 感染細胞

生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞を 37 °C 5vol%炭酸ガス下で培養し、カバーガラスに単層を形成させたものにマレック病ウイルス SB-1 株又はこれと同等と認められた株、及び七面鳥ヘルペスウイルス FC126 株又はこれと同等と認められた株をそれぞれ接種し、2～4 日間培養したもので、特異抗原を有するもの

付記5 抗鶏 IgG 蛍光標識抗体

抗鶏 IgG 血清から γ -グロブリンを調製し、これを蛍光色素で標識したもので、8 単位以上を含むもの

ワクチンの部マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチンの項を次のように改める。

マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症（油性アジュバント加） 不活化ワクチン

1 定義

マイコプラズマ・ガリセプチカムの培養菌液を不活化し、油性アジュバントを添加したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

マイコプラズマ・ガリセプチカム R-980 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

鶏に対して病原性を示す。

2.1.3 繙代及び保存

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。ただし、特に承認されたものは、その継代数以内とする。

原株及び種菌は凍結して-40℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 培地

製造に適当と認められた培地を用いる。

2.3 原液

2.3.1 培養

培養した種菌を製造用培地に接種し、培養したものとを培養菌液とする。

培養菌液について、3.1 の試験を行う。

2.3.2 不活化

培養菌液にホルマリンを加えて不活化後、適当と認められた希釀用液で遠心洗浄し、適量の希釀用液に再浮遊させたもの又は培養菌液にホルマリンを加えて不活化後、適当と認められた方法で濃縮したものを不活化菌液とする。

不活化菌液について、3.2 の試験を行う。

2.3.3 アジュバントの添加

不活化菌液を適当と認められた希釀用液で濃度調整し、油性アジュバントを添加したものと原液とする。この場合、適当と認められた保存剤を添加してもよい。

ただし、アジュバントは最終バルクの調製時に添加してもよい。

原液について、3.3 の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液を混合し、濃度調整し、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 培養菌液の試験

3.1.1 夾雜菌否定試験

一般試験法の無菌試験法1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.2 生菌数試験

適當と認められた方法で試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2 の総菌数試験を実施するものについては、本試験を実施しなくてもよい。

3.2 不活化菌液の試験

3.2.1 不活化試験

適當と認められた方法で試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2 総菌数試験

適當と認められた方法で試験するとき、適合しなければならない。

3.1.2 の生菌数試験を実施するものについては、本試験を実施しなくてもよい。また、原液の調製時に本試験を行ってもよい。

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均質な懸濁液でなければならず、異物又は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 チメロサール定量試験

チメロサール添加製剤については、適當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。

3.4.4 ホルマリン定量試験

ホルマリン添加製剤については、適當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。

3.4.5 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

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の4~7週齢の鶏を用いる。

3.4.5.2 試験方法

試験動物10羽を試験群、3羽を対照群とする。

注射材料1羽分を試験群の頸部皮下又は脚部筋肉内に注射し、対照群とともに4週間観察する。

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 試験材料

3.4.6.1.1 試験動物

3.4.5の試験に用いた鶏を用いる。

3.4.6.1.2 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1）を用いる。

3.4.6.2 試験方法

3.4.5 の試験最終日に試験動物から得られた各個体の血清について、赤血球凝集抑制試験を行う。血清をリン酸緩衝食塩液で2倍階段希釈し、各希釈血清 $25 \mu\text{L}$ 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 %の鶏赤血球浮遊液を $50 \mu\text{L}$ ずつ加えて振盪混合し、4℃で一夜処理した後、赤血球凝集の有無を観察する。

3.4.6.3 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HI抗体価の幾何平均値は、40倍を超えないなければならない。ただし、特に承認されたものは、その幾何平均値とする。この場合、対照群は全てHI抗体価4倍未満でなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、1年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。

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 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

新目次对照表

現	現	現	現
改 正	案	鳥インフルエンザ（油性アジュバント）不活化ワクチン (略)	トリニューモウイルス感染症生ワクチン (略)
1. 定義 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス又は弱毒鶴由來トリニューモウイルスを培養細胞で増殖させて得たウイルス液を用い、不活化ワクチンである。	1. 定義 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス又は弱毒鶴由來トリニューモウイルスを培養細胞で増殖させて得たウイルス液を用い、不活化ワクチンである。	2. 質法 2.1.1. 培養用株 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス株 2.1.1.1. 株名 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス BUT1 # 8544 株又はこれと同等と認められた株 2.1.1.2. 性状 7 日齢の鶏に点鼻又は点眼接種しても病原性を示さない。鶏胚初代細胞、鶏脣初代細胞又は Vero 細胞に接種すると、CPE を伴つて増殖する。	2.1.1. 培養用株 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス株 2.1.1.1. 株名 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス BUT1 # 8544 株又はこれと同等と認められた株 2.1.1.2. 性状 7 日齢の鶏に点鼻又は点眼接種しても病原性を示さない。鶏胚初代細胞、鶏脣初代細胞又は Vero 細胞に接種すると、CPE を伴つて増殖する。6~12 日齢の発育鶏卵の卵黄囊内及び尿膜腔内に接種しても、Vero 細胞に異常を示さない。
2.1.3. 繩代及び保存 原株及び原種ウイルスは、原種ウイルスの製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行つてはならぬ。原株の繩代は、直接原株から連続した工程により製造する。原種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造する。	2.1.3. 繩代及び保存 原株及び原種ウイルスは、原種ウイルスの恒久的な維持以外の目的で行つてはならぬ。原株の繩代は、直接原株から連続した工程により製造する。原種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造する。	2.1.1. 培養用株 弱毒鶴由來トリニューモウイルス PL21 VERO 1060 株又はこれと同等と認められた株 2.1.1.1. 株名 弱毒鶴由來トリニューモウイルス PL21 VERO 1060 株又はこれと同等と認められた株 2.1.1.2. 性状 1 日齢の鶏に点鼻又は点眼接種しても、CPE を伴つて増殖する。	2.1.1. 培養用株 弱毒鶴由來トリニューモウイルス PL21 VERO 1060 株又はこれと同等と認められた株 2.1.1.1. 株名 弱毒鶴由來トリニューモウイルス PL21 VERO 1060 株又はこれと同等と認められた株 2.1.1.2. 性状 1 日齢の鶏に点鼻又は点眼接種しても、CPE を伴つて増殖する。
2.2. 培養用材料 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス 2.2.1.1. 培養細胞 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス 2.2.1.2. 培養液 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス液を用いる。	2.2. 培養用材料 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス 2.2.1.1. 培養細胞 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス 2.2.1.2. 培養液 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス液を用いる。	2.2. 培養用材料 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス 2.2.1.1. 培養細胞 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス 2.2.1.2. 培養液 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス液を用いる。	2.2. 培養用材料 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス 2.2.1.1. 培養細胞 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス 2.2.1.2. 培養液 弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス液を用いる。

- | | |
|---|--|
| 3.3.1 特性試験 | 特性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ぬ。一般的試験法のものは、固有ごとの色調を有する均質な粉砕物でなければならない。 |
| 3.3.2 一般試験法 | 一般的試験法のものは、固有ごとの性状は、均一でなければならない。 |
| 3.3.3 真空度試験 | 一般的試験法の真空度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粉砕物でなければならない。 |
| 3.3.4 含温度試験 | 一般的試験法の含温度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粉砕物でなければならない。 |
| 3.3.5 無菌試験 | 一般的試験法の無菌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粉砕物でなければならない。 |
| 3.3.6 迷入ウイルス否定試験 | 一般的試験法の迷入ウイルス否定試験法1.1、2.1.1、2.1.2、2.2.1 及び2.2.2 を準用して試験するとき、中和用血清(付記4)を非効化したものと見なし得る。 |
| 3.3.7 安全試験 | 一般的試験法の安全試験法を準用して試験するとき、抗鳥類由来トリニキューモバイルス含有量は、1羽分当たり 10^{10} TCID ₅₀ 以上でなければならぬ。 |
| 3.3.8 安全試験 | 一般的試験法の安全試験法を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、1羽分当たり 10^{10} TCID ₅₀ 以上でなければならぬ。 |
| 3.3.9.1.1 鳥類接種試験 | 3.3.9.1.1 鳥類接種試験 |
| 3.3.9.1.2 試験材料 | 3.3.9.1.2 試験材料 |
| 3.3.9.1.3 接種材料 | 3.3.9.1.3 接種材料 |
| 3.3.9.1.4 試験動物 | 3.3.9.1.4 試験動物 |
| 3.3.9.1.5 試験方法 | 3.3.9.1.5 試験方法 |
| 3.3.9.1.6 試験結果 | 3.3.9.1.6 試験結果 |
| 3.3.9.1.7 日齢の鶏を用いる。 | 3.3.9.1.7 日齢の鶏を用いる。 |
| 3.3.9.2.1 試験材料 | 3.3.9.2.1 試験材料 |
| 3.3.9.2.2 試験方法 | 3.3.9.2.2 試験方法 |
| 3.3.9.2.3 判定 | 3.3.9.2.3 判定 |
| 3.3.9.2.4 試験期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。 | 3.3.9.2.4 試験期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。 |
| 3.3.9.2.5 安全試験 | 3.3.9.2.5 安全試験 |
| 3.3.9.2.6 1.1 鳥類接種試験 | 3.3.9.2.6 1.1 鳥類接種試験 |
| 3.3.9.2.7 試験材料 | 3.3.9.2.7 試験材料 |
| 3.3.9.2.8 接種材料 | 3.3.9.2.8 接種材料 |
| 3.3.9.2.9 試験動物 | 3.3.9.2.9 試験動物 |
| 3.3.9.2.10 試験方法 | 3.3.9.2.10 試験方法 |
| 3.3.9.2.11 試験結果 | 3.3.9.2.11 試験結果 |
| 3.3.9.2.12 日齢の鶏を用いる。 | 3.3.9.2.12 日齢の鶏を用いる。 |
| 3.3.9.3.1 試験材料 | 3.3.9.3.1 試験材料 |
| 3.3.9.3.2 試験方法 | 3.3.9.3.2 試験方法 |
| 3.3.9.3.3 判定 | 3.3.9.3.3 判定 |
| 3.3.9.3.4 試験期間中、飼育期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。 | 3.3.9.3.4 試験期間中、飼育期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。 |
| 3.3.9.3.5 安全試験 | 3.3.9.3.5 安全試験 |
| 3.3.9.3.6 1.1 酸銅銹衛食塩波 | 3.3.9.3.6 1.1 酸銹衛食塩波 |
| 3.3.9.3.7 2.1 試験動物 | 3.3.9.3.7 2.1 試験動物 |
| 3.3.9.3.8 3.1 判定 | 3.3.9.3.8 3.1 判定 |
| 3.3.9.3.9.1.1 鳥類接種試験 | 3.3.9.3.9.1.1 鳥類接種試験 |
| 3.3.9.3.9.1.2 試験材料 | 3.3.9.3.9.1.2 試験材料 |
| 3.3.9.3.9.1.3 接種材料 | 3.3.9.3.9.1.3 接種材料 |
| 3.3.9.3.9.1.4 試験動物 | 3.3.9.3.9.1.4 試験動物 |
| 3.3.9.3.9.1.5 試験方法 | 3.3.9.3.9.1.5 試験方法 |
| 3.3.9.3.9.1.6 試験結果 | 3.3.9.3.9.1.6 試験結果 |
| 3.3.9.3.9.1.7 日齢の鶏を用いる。 | 3.3.9.3.9.1.7 日齢の鶏を用いる。 |
| 3.3.9.3.9.2.1 試験材料 | 3.3.9.3.9.2.1 試験材料 |
| 3.3.9.3.9.2.2 試験方法 | 3.3.9.3.9.2.2 試験方法 |
| 3.3.9.3.9.2.3 判定 | 3.3.9.3.9.2.3 判定 |
| 3.3.9.3.9.2.4 試験期間中、飼育期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。 | 3.3.9.3.9.2.4 試験期間中、飼育期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。 |
| 3.3.9.3.9.2.5 安全試験 | 3.3.9.3.9.2.5 安全試験 |
| 3.3.9.3.9.2.6 1.1 酸銹衛食塩波 | 3.3.9.3.9.2.6 1.1 酸銹衛食塩波 |
| 3.3.9.3.9.2.7 2.1 試験動物 | 3.3.9.3.9.2.7 2.1 試験動物 |
| 3.3.9.3.9.2.8 3.1 判定 | 3.3.9.3.9.2.8 3.1 判定 |
| 3.3.9.3.9.2.9.1.1 鳥類接種試験 | 3.3.9.3.9.2.9.1.1 鳥類接種試験 |
| 3.3.9.3.9.2.9.1.2 試験材料 | 3.3.9.3.9.2.9.1.2 試験材料 |
| 3.3.9.3.9.2.9.1.3 接種材料 | 3.3.9.3.9.2.9.1.3 接種材料 |
| 3.3.9.3.9.2.9.1.4 試験動物 | 3.3.9.3.9.2.9.1.4 試験動物 |
| 3.3.9.3.9.2.9.1.5 試験方法 | 3.3.9.3.9.2.9.1.5 試験方法 |
| 3.3.9.3.9.2.9.1.6 試験結果 | 3.3.9.3.9.2.9.1.6 試験結果 |
| 3.3.9.3.9.2.9.1.7 日齢の鶏を用いる。 | 3.3.9.3.9.2.9.1.7 日齢の鶏を用いる。 |

3.9.1.3 即ち、7面鳥氣管炎ウイルス参照陰性血清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が希釈倍数をELISA 抗体価とすると、抗体価 $2^{(n-1)}$ 倍以上がELISA 抗体価。この場合、対照群は試験群の70%以上がELISA 抗体価 $2^{(n-1)}$ 倍以上でなければならない。² すなはち、上面鳥氣管炎ウイルス参照陽性血清を $2^{(n-1)}$ 倍で希釈すれば、上面鳥氣管炎ウイルス参照陽性血清を示す。

3. 3.9.2.3 判定は各血清を用いてS/P値を算出し、(被検血清のS/P値)/(对照血清のS/P値)×100が1.2以上である場合を陽性と判定する。この場合に陰性と判定する場合は、そのS/P値は5以下である。

付記1	細胞増殖用培養液
1,000mL 中	1,000mL 中
トリプトース・ホスフェイト・プロス	0.83 g
トリプトース	1.00 g
トリプトアルブミン水解物	1.25 g
ラクトアルブミン水素ナトリウム	2.45 g
炭酸水素ナトリウム	50 mL
牛血清	50 mL
イニグルMEM	残量

0.83 g
1.00 g
1.25 g
2.45 g
5.0 mL

1,000mL 中 ホスフエイト・ブロス
トリプトース・ホスフエイト・ブロス
タウリジン水解物
タウリジン
硫酸ナトリウム
硫酸ナトリウム

0.83 g
1.00 g
1.25 g
2.45 g
50 mL

付記1 純増量用培養液
1,000ml 中
トリプトース・ホスファイト・プロス
トリアトルアルミニン水解物
クレブ水素ナトリウム
酸性水素ナトリウム

付記

付記2 細胞維持用培養液

1,000mL 中
牛血清
イークルMEM 又はF10 培地
炭酸水素ナトリウムでpH を6.8 ～ 7.4 に調整する
必要量
残量

付記3 抗七面鳥鼻氣管炎ウイルス血清

弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルスで免疫した生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、試験品中のウイルスを完全に中和する力値を有するもの
弱毒由来トリニューモウイルス製造用株で免疫した生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、試験品中のウイルスを有するもの

付記4 抗鶏由来トリニューモウイルス血清

弱毒由来トリニューモウイルス製造用株で免疫した生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、試験品中のウイルスを完全に中和する力値を有するもの

付記5 抗七面鳥鼻氣管炎ウイルス参照陽性血清

弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス製造用株で免疫した生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、ELISA 抗体価2^{4.0}倍未満を示すもの

付記6 七面鳥鼻氣管炎ウイルス参照陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、ELISA 抗体価2^{4.0}倍未満を示すもの
200nm でろ過滅菌をした後、スキムミルク 2 w/v及び牛胎児血清 5 vol%を加える。

付記7 IB・EIA 緩衝液

1,000mL 中	2.31 g	残量
リン酸二水素ナトリウム十二水和物	24.06 g	
リン酸二水素ナトリウム	29.22 g	
塩化ナトリウム	3.3 ml	
カオリソルベート20	0.50 g	残量
ボリソルベート20		
水		

200nm でろ過滅菌をした後、スキムミルク 2 w/v及び牛胎児血清 5 vol%を加える。

付記8 七面鳥鼻氣管炎ウイルス抗原相化ブレート

製造用株を生ワクチン製造用材料の規格2.1.1 の鶏胚初代細胞で増殖させて得られたウイルス液及び感染細胞の超音波処理後の遠心上清をブールし、超遠心後の上層を七面鳥鼻氣管炎ウイルス抗原とし、7面鳥鼻氣管炎ウイルス用固相化緩衝液（付記20）で、七面鳥鼻氣管炎ウイルス抗原を七面鳥鼻氣管炎ウイルス用吸光度値が0.8 以上及び七面鳥鼻氣管炎ウイルス抗原を七面鳥鼻氣管炎ウイルス用吸光度値が0.100倍未満のマスクロアートに100μl ブル注入して37°Cで3 時間静置した後、乾燥させたものである。

付記9 洗浄用緩衝液

1,000mL 中	2.9 g	残量
無水リソルビド二水素カリウム	0.2 g	
無水リソルビド二水素カリウム	37.2 g	
塩化カリウム	0.2 g	
ボリソルベート20	1.5 g	残量
水		

pH を6.9 ～ 7.1 に調整する。

付記10 山羊抗鶏IgG ベルオキシダーゼ標識抗体

七面鳥鼻氣管炎ウイルス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である。

付記11 七面鳥鼻氣管炎ウイルス用基質液

付記2 細胞維持用培養液

1,000mL 中
牛血清
イークルMEM 又はF10 培地
炭酸水素ナトリウムでpH を6.8 ～ 7.4 に調整する
必要量
残量

付記3 抗七面鳥鼻氣管炎ウイルス血清

七面鳥鼻氣管炎ウイルス製造用株で免疫した生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、試験品中のウイルスを完全に中和する力値を有するもの

付記4 抗鶏由来トリニューモウイルス血清

鶏由来トリニューモウイルス製造用株で免疫した生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、試験品中のウイルスを有するもの

付記5 抗七面鳥鼻氣管炎ウイルス参照陽性血清

弱毒七面鳥鼻氣管炎ウイルス製造用株で免疫した生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、ELISA 抗体価2^{4.0}倍未満を示すもの

付記6 七面鳥鼻氣管炎ウイルス参照陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、ELISA 抗体価2^{4.0}倍未満を示すもの

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
リン酸二水素ナトリウム

付記8 七面鳥鼻氣管炎ウイルス抗原

ウイルス液及び感染細胞の超音波処理後の遠心上清をブールし、超遠心後の上層を七面鳥鼻氣管炎ウイルス抗原とし、7面鳥鼻氣管炎ウイルス用吸光度値が0.8 以上及び七面鳥鼻氣管炎ウイルス抗原を七面鳥鼻氣管炎ウイルス用吸光度値が0.100倍未満のマスクロアートに100μl ブル注入して37°Cで3 時間静置した後、乾燥させる。

付記9 洗浄用緩衝液

1,000mL 中
無水リソルビド二水素カリウム
無水リソルビド二水素カリウム

付記10 山羊抗鶏IgG ベルオキシダーゼ標識抗体

七面鳥鼻氣管炎ウイルス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である。

付記11 七面鳥鼻氣管炎ウイルス用基質液

塩化ナトリウム
水 pH を 6.9 ~ 7.1 に調整する。
付記21 鶏由来トリニューモウイルス用固相化緩衝液
1,000ml 中
炭酸ナトリウム
炭酸水素ナトリウム
水

塩化ナトリウム

8.50 g
残量

pH を 6.9 ~ 7.1 に調整する。

付記21 鶏由来トリニューモウイルス用固相化緩衝液
1,000ml 中
炭酸ナトリウム
炭酸水素ナトリウム
水

トリニューモウイルス感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチン
(以下略)

8.50 g
残量

pH を 6.9 ~ 7.1 に調整する。

付記21 鶏由来トリニューモウイルス用固相化緩衝液
1,000ml 中
炭酸ナトリウム
炭酸水素ナトリウム
水

トリニューモウイルス感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチン
(以下略)

1.5 g
2.93 g
残量

付記21 鶏由来トリニューモウイルス用固相化緩衝液
1,000ml 中
炭酸ナトリウム
炭酸水素ナトリウム
水

トリニューモウイルス感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチン
(以下略)

1.5 g
2.93 g
残量

付記21 鶏由来トリニューモウイルス用固相化緩衝液
1,000ml 中
炭酸ナトリウム
炭酸水素ナトリウム
水

トリニューモウイルス感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチン
(以下略)

8.50 g
残量

pH を 6.9 ~ 7.1 に調整する。

付記21 鶏由来トリニューモウイルス用固相化緩衝液
1,000ml 中
炭酸ナトリウム
炭酸水素ナトリウム
水

トリニューモウイルス感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチン
(以下略)

1.5 g
2.93 g
残量

付記21 鶏由来トリニューモウイルス用固相化緩衝液
1,000ml 中
炭酸ナトリウム
炭酸水素ナトリウム
水

トリニューモウイルス感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチン
(以下略)

新

旧 対 照 表

動物用生物学的製剤基準各条ワクチンの部：マレック病ウイルス（マレック病ウイルス2型・七面鳥ヘルペスウイルス2型・七面鳥ヘルペスウイルス）・鶏痘混合生ワクチン

改 正 案	現 行
ニユートカッスル病・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 マレック病（マレック病ウイルス2型・七面鳥ヘルペスウイルス）・鶏痘混合生ワクチン	ニユートカッスル病・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 マレック病（マレック病ウイルス2型・七面鳥ヘルペスウイルス）・鶏痘混合生ワクチン
1 定義 弱毒マレック病ウイルス（2型）及び七面鳥ヘルペスウイルスをそれぞれ培養細胞で増殖させ得た感染細胞浮遊液を混合し、凍結乾燥した鶏痘ワクチンを組み合わせたものである。	1 定義 弱毒マレック病ウイルス（2型）及び七面鳥ヘルペスウイルスをそれぞれ培養細胞で増殖させ得た感染細胞浮遊液を混合し、凍結乾燥した鶏痘ワクチンを組み合わせたものである。
2 製法 2.1 製造用株 2.1.1 マレック病ウイルス SB-1 株又はこれと同等と認められた株 2.1.1.1 名称 弱毒マレック病ウイルス SB-1 株又はこれと同等と認められた株 2.1.1.2 性状 1 日齢の鶏の皮下、筋肉内又は腹腔内に注射しても病原性を示さない。鶏胚初代細胞に接種すると、CPE を伴つて増殖する。	2 製法 2.1 製造用株 2.1.1 マレック病ウイルス 2 型株 2.1.1.1 名称 弱毒マレック病ウイルス SB-1 株又はこれと同等と認められた株 2.1.1.2 性状 1 日齢の鶏の皮下、筋肉内又は腹腔内に注射しても病原性を示さない。鶏胚初代細胞に接種すると、CPE を伴つて増殖する。
2.1.2 性状 原株及び原種ウイルスは、生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞又は適当と認められた細胞で保存する。原株の継代は、原株の恒久的な維持以外の目的で行つてはならない。原株の継代は、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。 原種ウイルスは、原種ウイルスから 2 代以内に製造しなければならない。原種ウイルスは、直接乾燥して 5°C 以下で保存する。	2.1.2 性状 原株及び原種ウイルスは、生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞又は適当と認められた細胞で保存する。原株の継代は、原株の恒久的な維持以外の目的で行つてはならない。原株の継代は、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。 原種ウイルスは、原種ウイルスから 2 代以内に製造しなければならない。原種ウイルスは、直接乾燥して 5°C 以下で保存する。
2.1.3 鮮度 原株及び原種ウイルスは、原種ウイルスからワクチンの製造ごとに用時調製する。	2.1.3 鮮度 原株及び原種ウイルスは、原種ウイルスからワクチンの製造ごとに用時調製する。
2.1.3.1 名称 弱毒鶏痘ワクチン	2.1.3.1 名称 弱毒鶏痘ワクチン
2.1.3.2 性状	2.1.3.2 性状

3.1.1.2.1.1 の試験最終日に精液波を採取し、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、赤血球凝集を認めなければならない。

3.1.2 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。

3.1.2.1 培養卵殻膜試験

対照発育鶏卵に、ウイルスを接種することなく、ウイルスの増殖と同じ条件で培養し、観察するとき、発育鶏卵に異常を認めてはならない。

3.1.2.2 鶏赤血球浮遊液集試験

3.1.2.1 の試験最終日に尿膜腔波を採取し、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、赤血球凝集を認めなければならない。

3.2 原液の試験

3.2.1 マレック病ウイルス原液の試験

3.2.1.1 ウイルス含有量試験

3.2.1.1.1 試験材料

3.2.1.1.1.1 植物細胞を細胞維持用培養液 (付記 1) で 10 倍階段希釈し、各段階の希臘液を試料とする。

3.2.1.1.1.2 培養細胞

3.2.1.1.1.3 判定

検体を細胞維持用培養液 (付記 1) で 10 倍階段希釈し、各段階の希臘液を試料とする。

3.2.1.1.2 培養細胞

3.2.1.1.2.1 培養細胞の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞又は 2 代離代細胞を 25cm² 以上のシャーレに培養し、单層となつたものを用いる。

3.2.1.1.2.2 試験方法

試料 0.2mLずつをそれぞれ 4 枚以上の培養細胞に接種し、37 °C で 60 分間静置吸着させた後、細胞維持用培養液を加え、37 °C で 4 ～ 7 日間培養し、観察する。

3.2.1.1.3 判定

シヤーレ当たり平均 20 個以上検出された試料の希臘倍数及びその平均ブラック数又は平均ブーカス数からウイルスの含有量を算出する。1 mL 中それぞれ 10⁶PFU 又は 10⁶FFU 以上でなければならない。

3.2.1.2 生菌数試験

3.2.1.2.1 生菌数限度試験法

3.2.1.2.2 ウィルス含有量試験

3.2.1.2.2.1 発育鶏卵を用いる試験

3.2.1.2.2.1.1 鶏胚鶏卵

3.2.1.2.2.1.2 発育鶏卵

3.2.1.2.2.1.3 判定

検体をリソング酸緩衝食塩液で 10 倍階段希釈し、各段階の希臘液を試料とする。

3.2.1.2.3 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胚膜上に接種し、37 °C で 5 日間培養し、観察する。試験最終日に胚膜を検査してボック発現の有無を観察する。

3.2.1.2.4 判定

試験最終日にボックの出現したもののみを感染とみなし、EID₅₀ を算出する。ただし、24 時間以内に死亡したもののは除外する。検体のウイルス含有量は、1 mL 中 10⁶EID₅₀ 以上でなければならない。

3.2.1.2.4.1 植養細胞を用いる試験

3.2.1.2.4.1.1 植養細胞

3.2.1.2.4.1.2 試験材料

3.2.1.2.4.1.3 判定

生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞を培養したものを用いる。

3.2.1.2.5 試験方法

検体を細胞維持用培養液で 10 倍階段希釈し、各段階の希臘液を試料とする。

3.2.1.2.6 判定

試験最終日にボックの出現したもののみを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。検体のウイルス含有量は、1 mL 中 10⁶TCID₅₀ 以上でなければならない。

3.2.1.2.7 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、マレック病 2 抗ワクチンにあつては固有の

3.1.2.2 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。

3.1.2.2.1 培養卵殻膜試験

対照発育鶏卵に、ウイルスを接種することなく、ウイルスの増殖と同一条件で培養し、観察するとき、発育鶏卵に異常を認めてはならない。

3.1.2.2.2 鶏赤血球浮遊液を採取し、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、赤血球凝集を認めなければならない。

3.2 原液の試験

3.2.1 マレック病ウイルス原液の試験

3.2.1.1 ウイルス含有量試験

3.2.1.1.1 試験材料

3.2.1.1.1.1 植養細胞

3.2.1.1.1.2 培養細胞

3.2.1.1.1.3 判定

検体を細胞維持用培養液 (付記 1) で 10 倍階段希釈し、各段階の希臘液を試料とする。

3.2.1.1.2 培養細胞

3.2.1.1.2.1 培養細胞の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞又は 2 代離代細胞を 25cm² 以上のシャーレに培養し、单層となつたものを用いる。

3.2.1.1.2.2 試験方法

試料 0.2mLずつをそれぞれ 4 枚以上の培養細胞に接種し、37 °C で 60 分間静置吸着させた後、細胞維持用培養液を加え、37 °C で 4 ～ 7 日間培養し、観察する。

3.2.1.1.3 判定

シヤーレ当たり平均 20 個以上検出された試料の希臘倍数及びその平均ブラック数又は平均ブーカス数からウイルスの含有量を算出する。1 mL 中それぞれ 10⁶PFU 又は 10⁶FFU 以上でなければならない。

3.2.1.2 生菌数試験

3.2.1.2.1 生菌数限度試験法

3.2.1.2.2 ウィルス含有量試験

3.2.1.2.2.1 発育鶏卵を用いる試験

3.2.1.2.2.1.1 鶏胚鶏卵

3.2.1.2.2.1.2 発育鶏卵

3.2.1.2.2.1.3 判定

検体をリソング酸緩衝食塩液で 10 倍階段希釈し、各段階の希臘液を試料とする。

3.2.1.2.3 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胚膜上に接種し、37 °C で 5 日間培養し、観察する。試験最終日に胚膜を検査してボック発現の有無を観察する。

3.2.1.2.4 判定

試験最終日にボックの出現したもののみを感染とみなし、EID₅₀ を算出する。ただし、24 時間以内に死

亡したもののは除外する。検体のウイルス含有量は、1 mL 中 10⁶EID₅₀ 以上でなければならない。

3.2.1.2.4.1 植養細胞を用いる試験

3.2.1.2.4.1.1 植養細胞

3.2.1.2.4.1.2 試験材料

3.2.1.2.4.1.3 判定

生ワクチン製造用材料の規格 2.1.1 の鶏胚初代細胞を培養したものを用いる。

3.2.1.2.5 試験方法

検体を細胞維持用培養液で 10 倍階段希釈し、各段階の希臘液を試料とする。

3.2.1.2.6 判定

試験最終日にボックの出現したもののみを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。検体のウイルス含有量は、1 mL 中 10⁶TCID₅₀ 以上でなければならない。

3.2.1.2.7 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、マレック病 2 抗ワクチンにあつては固有の

3.3 小分製品の試験

3.3.1 情性試験

一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、マレック病 2 抗ワクチンにあつては固有の

色調を有する凍結物でなければならず、鷄痘ワクチンにあつては、固有の色調を有する乾燥物でなければならず、両ワクチンを溶解し、混合したものは、固有ごとの性状は、均一でなければならない。

3.3.2 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、鷄痘ワクチンは、適合しなければならぬ。

3.3.3 含温湿度試験

一般試験法の含温湿度試験法を準用して試験するとき、鷄痘ワクチンは、適合しなければならぬ。

3.3.4 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、鷄痘ワクチン及び鷄痘ワクチンのそれを1本を50mLの溶解用液(付記2)に溶解し、そのものを小分容器ごとの試料とする。

3.3.5 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ2価ワクチン及び鷄痘ワクチンのそれを1本を50mLの溶解用液(付記2)に溶解し、そのものを小分容器ごとの試料とする。

3.3.6 サルモネラ否定試験

一般試験法のサルモネラ2価ワクチンを準用して試験するとき、鷄痘ワクチンは、適合しなければならぬ。

3.3.7 逃入ウイルス否定試験

一般試験法の逃入ウイルス2価ワクチンは、適合しなければならぬ。ただし、試験品を溶解用液で0.1mL当たり10羽分となるように調整し、20KHzで1分間超音波処理し、抗マレック病ワイルス血清(付記3)を非飼化したものの中和したもので中和したものと試料とする。

3.3.8.1 ワイルス含有量試験

マレック病2価ワクチンを細胞維持培養液で10倍階段希釈し、各階段の希釀液を試料とする。

3.3.8.2 ワイルス含有量試験

マレック病2価ワクチンをCPEの形態学的相違による鑑別法でそれをのブランク数又はアボーカー数を測定するとき、試験品のワイルス含有量は、1羽分当たり10¹⁰PFU又は10¹⁰TCID₅₀である。また、CPEの形態学的相違による鑑別法で十方に測定できないときは、モノクローナル抗体を用いた免疫染色法により測定する。

3.3.8.3 鷄痘ワイルス含有量試験

3.3.8.4 鷄痘ワイルス含有量試験

3.3.8.5 鷄痘ワイルス含有量試験

3.3.8.6 鷄痘ワイルス含有量試験

3.3.8.7 鷄痘ワイルス含有量試験

3.3.8.8 鷄痘ワイルス含有量試験

3.3.8.9 鷄痘ワイルス含有量試験

3.3.8.10 鷄痘ワイルス含有量試験

3.3.8.11 鷄痘ワイルス含有量試験

3.3.8.12 鷄痘ワイルス含有量試験

3.3.8.13 鷄痘ワイルス含有量試験

3.3.8.14 鷄痘ワイルス含有量試験

3.3.8.15 鷄痘ワイルス含有量試験

3.3.8.16 鷄痘ワイルス含有量試験

3.3.8.17 鷄痘ワイルス含有量試験

3.3.8.18 鷄痘ワイルス含有量試験

3.3.8.19 鷄痘ワイルス含有量試験

3.3.8.20 鷄痘ワイルス含有量試験

色調を有する凍結物でなければならず、鷄痘ワクチンには、固有の色調を有する乾燥物でなければならず、異物又は異臭を認めることはならぬ。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

3.3.2 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、鷄痘ワクチンは、適合しなければならぬ。

3.3.3 含温湿度試験

一般試験法の含温湿度試験法を準用して試験するとき、鷄痘ワクチンは、適合しなければならぬ。

3.3.4 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、鷄痘ワクチン及び鷄痘ワクチンのそれを1本を50mLの溶解用液(付記2)に溶解し、そのものを小分容器ごとの試料とする。

3.3.5 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ2価ワクチン及び鷄痘ワクチンのそれを1本を50mLの溶解用液(付記2)に溶解し、そのものを小分容器ごとの試料とする。

3.3.6 サルモネラ否定試験

一般試験法のサルモネラ2価ワクチンを準用して試験するとき、鷄痘ワクチンは、適合しなければならぬ。

3.3.7 逃入ウイルス否定試験

一般試験法の逃入ウイルス2価ワクチンは、適合しなければならぬ。ただし、試験品を溶解用液で0.1mL当たり10羽分となるよう調整し、抗マレック病ワイルス血清(付記3)を非飼化したものと試料とする。

3.3.8 ワイルス含有量試験

マレック病2価ワクチンを細胞維持培養液で10倍階段希釈し、各階段の希釀液を試料とする。

3.3.9 安全試験

3.3.9.1 試験材料

3.3.9.1.1 注射材料

3.3.9.1.2 試験動物

3.3.9.2 試験方法

試験動物10羽を試験群、5羽を対照群とする。注射材料0.2mLずつを試験群の皮下に注入し、対照群とともに5週間臨床観察を行い、観察終了時に体重を測定し、剖検する。

3.3.9.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に、臨床的な異常を認めてはならない。また、剖検したときに異常を認めてもはならない。

3.3.10 マレック病力価試験

3.3.10.1 試験材料

3.3.10.1.1 注射材料

3.3.10.1.2 試験動物

抗鶏 IgG 血清から γ -グロブリンを調製し、これを蛍光色素で標識したもので、8単位以上を含むもの

ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎2価・鶏伝染性ファンリキウス混合（油性アジユバント加）不活化ワクチン
(以下略)

抗鶏 IgG 血清から γ -グロブリンを調製し、これを蛍光色素で標識したもので、8単位以上を含むもの

ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎2価・鶏伝染性ファンリキウス混合（油性アジユバント加）不活化ワクチン
(以下略)

新旧対照表

動物用生物学的試験基準各条ワクチンの部：マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチン

改 正 案	現 行
マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症（アジュバント加） 不活化ワクチン マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症（油性アジュバント加） 不活化ワクチン	マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症（アジュバント加） 不活化ワクチン マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症（油性アジュバント加） 不活化ワクチン
<p>1 定義 マイコプラズマ・ガリセプチカムの培養菌液を不活化し、油性アジュバントを添加したワクチンである。</p> <p>2 製造</p> <p>2.1 製造用株</p> <p>2.1.1 名称 マイコプラズマ・ガリセプチカム R-980 株又はこれと同等と認められた株</p> <p>2.1.2 性状</p> <p>2.1.3 繰代及び保存 原株及び種菌は、適当と認められた培地で継代する。原株では 3 代以内、種菌では 2 代以内でなければならぬ。ただし、特に承認されたものは、その繰代数以内とする。</p> <p>2.1.4 培養及び種菌は、原株及び種菌は凍結して -40 ℃ 以下又は凍結乾燥して 5 ℃ 以下で保存する。</p> <p>2.2 製造用材料</p> <p>2.2.1 培地 製造に適当と認められた培地を用いる。</p> <p>2.3 原液</p> <p>2.3.1 培養 培養した種菌を製造用培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。</p> <p>2.3.2 不活化 培養菌液にホルマリンを加えて不活化後、適当と認められた希釀用液に再浮遊させたものを不活化菌液とする。</p> <p>2.3.3 アジュバントの添加 不活化菌液を適当と認められた希釀用液で濃度調整し、油性アジュバントを添加したものと原液と不活化菌液を適当と認められた希釀用液で濃度調整し、油性アジュバントを添加したものと原液と不活化菌液を適当と認められたホルマリンを加えて不活化後、適当と認められた方法で濃縮したものを不活化菌液とする。</p> <p>2.3.4 ホルマリンの添加 不活化菌液を適当と認められた希釀用液で濃度調整し、油性アジュバントを添加してもよい。</p> <p>2.4 最終バルブ 原液について、3.3 の試験を行う。</p> <p>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。</p> <p>3 試験法</p> <p>3.1 培養菌液の試験</p> <p>3.1.1 水難菌否定試験</p>	

有効期間は、1年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。

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 業用鶏又は瓶鶏を屠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 マイコプラズマ・ガリセプチカム赤球凝集抗原
製造用株を培養し、ホルマリンを加えて不活性化した菌液を透心洗浄後、再浮遊し、これにグリセリンを等量加え、-20°C以下に保存したもの

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

(以下略)

有効期間は、1年9か月間とする。ただし、特に承認されたものは、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 業用鶏又は瓶鶏を屠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 マイコプラズマ・ガリセプチカム赤球凝集抗原
製造用株を培養し、ホルマリンを加えて不活性化した菌液を透心洗浄後、再浮遊し、これにグリセリンを等量加え、-20°C以下に保存したもの

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

(以下略)

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 業用鶏又は瓶鶏を屠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 マイコプラズマ・ガリセプチカム赤球凝集抗原
製造用株を培養し、ホルマリンを加えて不活性化した菌液を透心洗浄後、再浮遊し、これにグリセリンを等量加え、-20°C以下に保存したもの

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

(以下略)

(別紙2)

○農林水産省告示第千五百六十四号

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。

平成二十年十月二十八日

農林水産大臣 石破 茂

（「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総覧に供する。）

ワクチンの部豚パルボウイルス感染症不活化ワクチンの次に次の項を加える。

豚パルボウイルス感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチン

豚パルボ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。

1 小分製品の試験

1.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法により試験を行い、これに適合しなければならない。

1.2 不活化試験

1.2.1 試験材料

1.2.1.1 試料

試験品 10mL に等量のクロロホルムを加え、よく混和後、遠心分離した水層の 5mL を約 100 倍量以上のリン酸緩衝食塩液で 4℃で一夜透析したものを試料とする。

1.2.1.2 培養細胞

PK-15 細胞を培養びんで培養し、単層となったものを用いる。

1.2.2 試験方法

試料の全量を 1 mL につき 3 cm²以上の培養細胞に接種し、37℃で 60 分間静置吸着させる。試料を抜き取り、ウイルス増殖用培養液（付記 1）を加え、37℃で 10 日間培養後、培養上清にペロナール緩衝食塩液（以下「VBS⁻」という。（付記 2））で調製した 0.5vol % の非凝集性の鶏又はモルモットの赤血球浮遊液を等量加え、室温で 60 分間静置した後、赤血球凝集の有無を観察する。

1.2.3 判定

赤血球の凝集を認めない場合、活性ウイルス陰性と判定する。

試料に活性ウイルスを認めてはならない。

1.3 毒性限度確認試験

一般試験法の毒性限度確認試験法 1 により試験を行い、これに適合しなければならない。ただし、注射量は 0.4mL とする。

1.4 力価試験

1.4.1 試験材料

1.4.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

1.4.1.2 試験動物

体重約 300g のモルモットを用いる。

1.4.1.3 赤血球凝集抗原

豚パルボウイルス 90HS 株又は適当と認められた株を用いて調製した赤血球凝集抗原（付記 3）を用いる。

1.4.2 試験方法

注射材料 2 mL ずつを、5 匹の試験動物の皮下に注射し、28 日目に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。

被検血清を VBS⁻で 5 倍に希釈し、等量の 25w/v% カオリン液を加え、室温で 20 分間処理する。遠心後の上清に鶏又はモルモットの赤血球を加え、室温で 15 分間処理し、再度遠心し、上清を採取する。これを VBS⁻で 2 倍階段希釈し、各段階の希釈液に 8 単位の赤血球凝集抗原を等量加え、4℃で一夜処理する。これに VBS⁻で調製した 0.5vol % の非凝集性の鶏又はモルモットの赤血球浮

通則の2を次のように改める。

2 この基準による検定については、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。以下「動生剤基準」という。）の通則中7から11まで、26、30から34まで及び36から38まで、医薬品各条中各医薬品に係る定義、一般試験法並びに規格中生ワクチン製造用材料の規定を準用するものとする。

ワクチンの部鶏サルモネラ症（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）（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。

鶏サルモネラ症（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）（アジュバント加）不活化ワクチン

サルモネラ・エンテリティディス（以下「SE」という。）及びサルモネラ・ティフィムリウム（以下「ST」という。）の培養菌液をそれぞれ不活化したもの、又は培養菌液をそれぞれ不活化し、濃縮したものを混合し、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 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 5 週齢の鶏を用いる。

1.2.1.2 試験方法

試験動物の 10 羽以上を試験群、3 羽以上を対照群とする。

注射材料 1 羽分ずつを試験群の脚部筋肉内に注射し、対照群とともに 4 週間観察し、試験最終日に注射部位を剖検する。

1.2.1.3 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。ただし、一過性の跛行が認められることがあるが、3 日以内に消失する。

また、剖検したとき、注射局所に著しい異常を認めてはならない。

1.3 力価試験

1.3.1.1 及び 1.3.2.1 の試験、又は 1.3.1.2 及び 1.3.2.2 の試験のいずれかを行う。

1.3.1 鶏サルモネラ症（SE）力価試験

1.3.1.1 SE 力価試験 1

1.3.1.1.1 試験材料

1.3.1.1.1.1 試験動物

1.2 の試験に使用した試験動物を用いる。

1.3.1.1.1.2 酵素抗体反応（以下「ELISA」という。）用抗原

SE 精製べん毛抗原 1（付記 1）を用いる。

1.3.1.1.2 試験方法

1.2 の試験の 2 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、ELISA を行う。

試験群と対照群の血清、SE 参照陽性血清 1（付記 2）及び参考陰性血清 1（付記 3）を 5 w/v% スキムミルク加洗浄液（付記 4）で 100 倍に希釀したものを SE 抗原固相化プレート 1（付記 5）

遊液を加え、室温で60分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

1.4.3 判定

赤血球凝集を阻止した血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価とする。

試験動物の赤血球凝集抑制抗体価の幾何平均は、80倍以上でなければならない。

付記1 ウィルス増殖用培養液

1,000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・プロス 2.95 g

牛胎子血清又は牛血清アルブミン 20mL 又は 1.1 g

イーグル MEM 残量

炭酸水素ナトリウムで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よい。

付記2 ベロナール緩衝食塩液 (pH7.2)

1,000mL 中

バルビタール 0.575 g

バルビタールナトリウム 0.375 g

塩化ナトリウム 8.5 g

水 残量

付記3 赤血球凝集抗原

豚パルボウィルス 90HS 株又は適当と認められた株を用いて調製した赤血球凝集抗原で、赤血球凝集価は64倍以上のもの

のそれぞれ4穴に50 μLずつ加え、37 °Cで1時間反応させた後、洗浄液1（付記6）で洗浄する。各穴に酵素標識抗体1（付記7）を50 μLずつ加え、37 °Cで1時間反応させた後、洗浄液1で洗浄する。基質液1（付記8）を100 μLずつ加え、遮光して25 °Cで30分間反応させた後、反応停止液1（付記9）を50 μLずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長492nm、副波長630nmで測定する。

1.3.1.1.3 判定

4穴の吸光度の最高値と最低値を除いた2穴の値の平均値を吸光度値としたとき、試験群の70%以上が、試験群血清の吸光度値／SE参考陽性血清1の吸光度値≥1でなければならない。この場合、対照群では、すべてSE参考陽性血清1の吸光度値／対照群血清の吸光度値≥2でなければならない。また、SE参考陽性血清1は、吸光度値0.3～0.7の値を示さなければならず、参考陰性血清1は、吸光度値0.1以下を示さなければならない。

1.3.1.2 SE力価試験2

1.3.1.2.1 試験材料

1.3.1.2.1.1 試験動物

1.2の試験に使用した試験動物を用いる。ただし、試験群は10羽以上、対照群は5羽とする。

1.3.1.2.1.2 ELISA用抗原

SEペん毛抗原2（付記10）を用いる。

1.3.1.2.2 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各個体の血清について、ELISAを行う。

希釈用緩衝液（付記11）を用い、試験群の血清及びSE参考陽性血清2（付記12）を400倍に、対照群の血清及び参考陰性血清2（付記13）を50倍に希釈する。SE標準陽性血清（付記14）を希釈用緩衝液で100、200、400、800、1600、3200及び6400倍に希釈する。希釈した各血清をSE抗原固相化プレート2（付記15）のそれぞれ2穴に100 μLずつ加え、37 °Cで1時間反応させた後、洗浄液2（付記16）で洗浄する。各穴に酵素標識抗体2（付記17）を100 μLずつ加え、37 °Cで1時間反応させた後、洗浄液2で洗浄する。基質液2（付記18）を100 μLずつ加え、遮光して2.5分間反応させた後、反応停止液2（付記19）を50 μLずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を波長450nmで測定する。

1.3.1.2.3 判定

SE標準陽性血清の希釈列の吸光度より作成したSigmoid曲線から、試験群及び対照群の血清、並びにSE参考陽性血清2及び参考陰性血清2のELISA抗体価を算出する。

試験群の70%以上がELISA抗体価 $2^{8.9}$ 倍以上でなければならない、ELISA抗体価の幾何平均値は $2^{8.9}$ 倍以上でなければならない。この場合、対照群のELISA抗体価の幾何平均値は、 $2^{6.64}$ 倍未満でなければならない。また、SE参考陽性血清2は $2^{8.9}$ 倍以上、参考陰性血清2は $2^{6.64}$ 倍以下のELISA抗体価を示さなければならない。

1.3.2 鶏サルモネラ症(ST)力価試験

1.3.2.1 ST力価試験1

1.3.2.1.1 試験材料

1.3.2.1.1.1 試験動物

1.2の試験に使用した試験動物を用いる。

1.3.2.1.1.2 ELISA用抗原

ST 精製べん毛抗原 1 (付記 20) を用いる。

1.3.2.1.2 試験方法

1.2 の試験の 2 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、ELISA を行う。

試験群と対照群の血清、ST 参照陽性血清 1 (付記 21) 及び参考陰性血清 1 を 5 w/v%スキムミルク加洗浄液で 100 倍に希釈したものを ST 抗原固相化プレート 1 (付記 22) のそれぞれ 4 穴に $50 \mu L$ ずつ加え、37 °C で 1 時間反応させた後、洗浄液 1 で洗浄する。各穴に酵素標識抗体 1 を $50 \mu L$ ずつ加え、37 °C で 1 時間反応させた後、洗浄液 1 で洗浄する。基質液 1 を $100 \mu L$ ずつ加え、遮光して 25 °C で 30 分間反応させた後、反応停止液 1 を $50 \mu L$ ずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長 492nm、副波長 630nm で測定する。

1.3.2.1.3 判定

4 穴の吸光度の最高値と最低値を除いた 2 穴の値の平均値を吸光度値としたとき、試験群の 70%以上が、試験群血清の吸光度値 / ST 参照陽性血清 1 の吸光度値 ≥ 1 でなければならぬ。この場合、対照群では、すべて ST 参照陽性血清 1 の吸光度値 / 対照群血清の吸光度値 ≥ 3 でなければならない。また、ST 参照陽性血清 1 は、吸光度値 0.3 ~ 0.7 の値を示さなければならず、参考陰性血清 1 は、吸光度値 0.1 以下を示さなければならぬ。

1.3.2.2 ST 力価試験 2

1.3.2.2.1 試験材料

1.3.2.2.1.1 試験動物

1.2 の試験に使用した試験動物を用いる。ただし、試験群は 10 羽以上、対照群は 5 羽とする。

1.3.2.2.1.2 ELISA 用抗原

ST べん毛抗原 2 (付記 23) を用いる。

1.3.2.2.2 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各個体の血清について、ELISA を行う。

希釈用緩衝液を用い、試験群の血清及び ST 参照陽性血清 2 (付記 24) を 400 倍に、対照群の血清及び参考陰性血清 2 を 50 倍に希釈する。ST 標準陽性血清 (付記 25) を希釈用緩衝液で 100、200、400、800、1600、3200 及び 6400 倍に希釈する。希釈した各血清を ST 抗原固相化プレート 2 (付記 26) のそれぞれ 2 穴に $100 \mu L$ ずつ加え、37 °C で 1 時間反応させた後、洗浄液 2 で洗浄する。各穴に酵素標識抗体 2 を $100 \mu L$ ずつ加え、37 °C で 1 時間反応させた後、洗浄液 2 で洗浄する。基質液 2 を $100 \mu L$ ずつ加え、遮光して 2.5 分間反応させた後、反応停止液 2 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 450nm で測定する。

1.3.2.2.3 判定

ST 標準陽性血清の希釈列の吸光度より作成した Sigmoid 曲線から、試験群及び対照群の血清、並びに ST 参照陽性血清 2 及び参考陰性血清 2 の ELISA 抗体価を算出する。

試験群の 65 % 以上が ELISA 抗体価 $2^{7.8}$ 倍以上でなければならず、ELISA 抗体価の幾何平均値は $2^{7.8}$ 倍以上でなければならない。この場合、対照群の ELISA 抗体価の幾何平均値は、 $2^{6.64}$ 倍未満でなければならない。また、ST 参照陽性血清 2 は $2^{7.8}$ 倍以上、参考陰性血清 2 は $2^{6.64}$ 倍以下の ELISA 抗体価を示さなければならない。

付記 1 SE 精製べん毛抗原 1

SE NT991 株の培養菌液から作製したべん毛抗原を、ゲルろ過及びイオン交換クロマトグラ

フイーにより精製し、リン酸緩衝食塩液で透析したもので、-20°C以下に保存する。本抗原を用いて1.3.1.1.2の試験によりELISAを実施するとき、SE参考陽性血清1の吸光度値が0.3～0.7、参考陰性血清1の吸光度値が0.1以下を示し、使用時の蛋白質量は0.04～0.34μg/mLとなるように炭酸緩衝液（付記27）で調整する。

付記2 SE参考陽性血清1

SE NT991株で免疫した生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、1.3.1.1.2の試験によりELISAを実施するとき、吸光度値が0.3～0.7を示す。凍結して-20°C以下で保存する。

付記3 参照陰性血清1

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、1.3.1.1.2及び1.3.2.1.2の試験によりELISAを実施するとき、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°C以下で保存する。

付記4 5w/v%スキムミルク加洗浄液

洗浄液1にスキムミルクを5w/v%となるように加え、溶解したもの

付記5 SE抗原固相化プレート1

SE精製ペん毛抗原1を炭酸緩衝液で希釈し、96穴プレートの各穴に50μLずつ加え、37°Cで1時間反応させた後、洗浄液1で洗浄する。各穴に5w/v%スキムミルク加洗浄液を200μLずつ加え、37°Cで1時間反応させた後、洗浄液1で洗浄したものを用いる。

付記6 洗浄液1

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	0.2 g
リン酸水素二ナトリウム十二水和物	2.89 g
ポリソルベート20	0.5 mL
水	残量

pHを7.2～7.4に調整する。

付記7 酵素標識抗体1

ペルオキシダーゼ標識抗ニワトリIgG(H+L)抗体で、1.3.1.1.2及び1.3.2.1.2の試験によりELISAを実施するとき、SE参考陽性血清1及びST参考陽性血清1の吸光度値が0.3～0.7を示し、参考陰性血清1の吸光度値が0.1以下を示すように5w/v%スキムミルク加洗浄液で調整する。

付記8 基質液1

o-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 28）25mL に遮光して溶解し、使用直前に過酸化水素水を 10 μ L 添加する。

付記 9 反応停止液 1

1,000mL 中	112.2 mL
硫酸	
水	残量

付記 10 SE べん毛抗原 2

SE P125/109 株の培養菌液から作製したもので、SDS-PAGE では分子量 40 ~ 50Kd のバンドを認める。本抗原を用いて 1.3.1.2.2 の試験により ELISA を実施するとき、100 倍から 6400 倍まで 2 倍階段希釈した SE 標準陽性血清の吸光度が、 $1.3 \geq 100$ 倍希釈液吸光度 > 200 倍希釈液吸光度 > 400 倍希釈液吸光度 > 800 倍希釈液吸光度 > 1600 倍希釈液吸光度 > 3200 倍希釈液吸光度 > 6400 倍希釈液吸光度 ≥ 0.05 を示す場合を 1 単位とし、抗原濃度を決定する。抗原濃度が 1 単位となるように調整した SE 抗原固相化プレート 2 を作製し、1.3.1.2.2 の試験により ELISA を実施するとき、SE 標準陽性血清は ELISA 抗体価 $2^{8.9} \sim 11.0$ 倍を示し、ST 標準陽性血清は ELISA 抗体価 $2^{6.64}$ 倍以下を示す。

付記 11 希釀用緩衝液

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	0.2 g
無水リン酸水素二ナトリウム	1.15 g
水	残量

pH を 7.4 ~ 7.6 に調整後、カゼイン 10.0 g を加えて溶解する。

付記 12 SE 参照陽性血清 2

SE P125/109 株の不活化抗原で免疫あるいは強毒株を接種した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、1.3.1.2.2 の試験により ELISA を実施するとき、ELISA 抗体価 $2^{8.8}$ 倍以上を示す。

付記 13 参照陰性血清 2

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、1.3.1.2.2 及び 1.3.2.2.2 の試験により ELISA を実施するとき、いずれの試験においても ELISA 抗体価 $2^{6.64}$ 倍以下を示す。

付記 14 SE 標準陽性血清

SE P125/109 株の不活化抗原で免疫あるいは強毒株を接種した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、1.3.1.2.2 の試験により ELISA を実施するとき、100 倍から 6400 倍まで 2 倍階段希釈した SE 標準陽性血清の吸光度は、 $1.3 \geq 100$ 倍希釈液吸光度 > 200 倍希釈液吸

光度 > 400 倍希釈吸光度 > 800 倍希釈吸光度 > 1600 倍希釈吸光度 > 3200 倍希釈吸光度 > 6400 倍希釈吸光度 ≥ 0.05 を示し、Sigmoid 曲線に当てはめた場合に相関係数 R^2 が 0.9 以上を示すように調整（1000 単位 SE 陽性血清）したもの。また、1.3.1.2.2 及び 1.3.2.2.2 の試験により ELISA を実施するとき、1.3.1.2.2 の試験では ELISA 抗体価 $2^{8.9} \sim 11.0$ 倍を示し、1.3.2.2.2 の試験では ELISA 抗体価 $2^{6.64}$ 倍以下を示す。

付記 15 SE 抗原固相化プレート 2

SE べん毛抗原 2 を炭酸緩衝液で 1 単位となるように希釈し、96 穴平底プレートの各穴に $100 \mu\text{L}$ ずつ加え、4°Cで一夜反応させた後、洗浄液 2 で洗浄したもの。

付記 16 洗浄液 2

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	0.2 g
無水リン酸水素二ナトリウム	1.15 g
水	残 量

pH を 7.4 ~ 7.6 に調整後、ポリソルベート 20 を 0.5mL 添加する。

付記 17 酵素標識抗体 2

ペルオキシダーゼ標識抗ニワトリ IgG ヤギ抗体で、1.3.1.2.2 及び 1.3.2.2.2 の試験により ELISA を実施するとき、1.3.1.2.2 の試験では SE 参照陽性血清 2 は ELISA 抗体価 $2^{8.9}$ 倍以上、1.3.2.2.2 の試験では ST 参照陽性血清 2 は ELISA 抗体価 $2^{7.8}$ 倍以上を示し、いずれの試験においても参考陰性血清は ELISA 抗体価 $2^{6.64}$ 倍以下を示すように、牛胎子血清を 5 vol % となるように添加した洗浄液 2 で調整する。

付記 18 基質液 2

TMB 溶液	0.2 mL
UP 緩衝液	1.5 mL
水	15.0 mL

TMB 溶液は、ジメチルスルホキシド 1,000mL に TMB (3,3', 5,5'テトラメチルベンチジン) 6 g を溶かしたもの

UP 緩衝液は、尿素過酸化物 140mg を TMB 緩衝液（酢酸ナトリウム 136g を約 500mL の水に溶かし、1.5mol/L クエン酸で pH5.3 ~ 5.7 に調整した後、水を加え、1,000mL としたもの）100mL に溶かしたもの

付記 19 反応停止液 2

硫酸	110 mL
水	1,000 mL

付記 20 ST 精製べん毛抗原 1

ST A723 株の培養菌液から作製したべん毛抗原を、ゲルろ過及びイオン交換クロマトグラフィーにより精製し、リン酸緩衝食塩液で透析したもので、-20 ℃以下に保存する。本抗原を用いて 1.3.2.1.2 の試験により ELISA を実施するとき、ST 参照陽性血清 1 の吸光度値が 0.3 ~ 0.7、参照陰性血清 1 の吸光度値が 0.1 以下を示し、使用時の蛋白質量は 0.07 ~ 0.36 μ g/mL となるように炭酸緩衝液で調整する。

付記 21 ST 参照陽性血清 1

ST A723 株で免疫した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、1.3.2.1.2 の試験方法により ELISA を実施するとき、吸光度値が 0.3 ~ 0.7 を示す。凍結して -20 ℃以下で保存する。

付記 22 ST 抗原固相化プレート 1

ST 精製べん毛抗原 1 を炭酸緩衝液で希釈し、96 穴プレートの各穴に 50 μ L ずつ加え、37 ℃で 1 時間反応させた後、洗浄液 1 で洗浄する。各穴に 5 w/v%スキムミルク加洗浄液を 200 μ L ずつ加え、37 ℃で 1 時間反応させた後、洗浄液 1 で洗浄したものを用いる。

付記 23 ST べん毛抗原 2

ST S7886/96 株の培養菌液から作製したもので、SDS-PAGE では分子量 40 ~ 50Kd のバンドを認める。本抗原を用いて 1.3.2.2.2 の試験により ELISA を実施するとき、100 倍から 6400 倍まで 2 倍階段希釈した ST 標準陽性血清の吸光度が、 $1.3 \geq 100$ 倍希釈液吸光度 > 200 倍希釈液吸光度 > 400 倍希釈液吸光度 > 800 倍希釈液吸光度 > 1600 倍希釈液吸光度 > 3200 倍希釈液吸光度 > 6400 倍希釈液吸光度 ≥ 0.05 を示す場合を 1 単位とし、抗原濃度を決定する。抗原濃度が 1 単位となるように調整した ST 抗原固相化プレート 2 を作製し、1.3.2.2.2 の試験により ELISA を実施するとき、ST 標準陽性血清は ELISA 抗体価 $2^{7.8} \sim 11.0$ 倍を示し、SE 標準陽性血清は ELISA 抗体価 $2^{6.64}$ 倍以下を示す。

付記 24 ST 参照陽性血清 2

ST S7886/96 株の不活化抗原で免疫あるいは強毒株を接種した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、1.3.2.2.2 の試験により ELISA を実施するとき、ELISA 抗体価 $2^{7.8}$ 倍以上を示す。

付記 25 ST 標準陽性血清

ST S7886/96 株の不活化抗原で免疫あるいは強毒株を接種した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、1.3.2.2.2 の試験により ELISA を実施するとき、100 倍から 6400 倍まで 2 倍階段希釈した ST 標準陽性血清の吸光度は、 $1.3 \geq 100$ 倍希釈液吸光度 > 200 倍希釈液吸光度 > 400 倍希釈液吸光度 > 800 倍希釈液吸光度 > 1600 倍希釈液吸光度 > 3200 倍希釈液吸光度 > 6400 倍希釈液吸光度 ≥ 0.05 を示し、Sigmoid 曲線に当てはめた場合に相関係数 R^2 が 0.9 以上を示すように調整（1000 単位 ST 陽性血清）したもの。また、1.3.1.2.2 及び 1.3.2.2.2 の試験によ

診断液の部牛白血病診断用受身赤血球凝集反応抗原の次に次の項を加える。

牛白血病診断用酵素抗体反応キット

牛白血病ウイルスを不活化及び可溶化後、牛白血病ウイルスgp51蛋白に対するモノクローナル抗体を用いて精製した抗原をマイクロストリップに吸着させ、酵素抗体法により牛白血病ウイルス抗体を検出するためのキットである。

1 小分製品の試験

1.1 吸光度試験

1.1.1 試験材料

1.1.1.1 被検材料

指示陽性血清及び指示陰性血清を用いる。

1.1.1.2 反応用抗原

抗原吸着マイクロストリップを用いる。

1.1.1.3 標識抗体

抗体希釈用液で100倍に希釈したペルオキシダーゼ標識プロテインG溶液（以下「標識抗体」という。）を用いる。

1.1.2 試験方法

抗原吸着マイクロストリップの保存液を捨て、抗原陽性穴及び抗原陰性穴の各3穴に指示陽性血清及び指示陰性血清をそれぞれ $100\text{ }\mu\text{L}$ ずつ加える。また、2穴をプランクとする。マイクロストリップを密閉して 37°C で60分間反応させる。血清を除去した後、濃縮洗浄液を水で10倍に希釈した洗浄液 $300\text{ }\mu\text{L}$ ずつで4回洗浄する。洗浄したマイクロストリップの各穴及びプランクとした2穴に標識抗体 $100\text{ }\mu\text{L}$ ずつを加え、密閉して 37°C で30分間反応させる。標識抗体を除去した後、洗浄液 $300\text{ }\mu\text{L}$ ずつで4回洗浄する。発色基質液 $100\text{ }\mu\text{L}$ ずつを各穴に加え、室温で12分間反応させる。反応終了後直ちに、反応停止液を $50\text{ }\mu\text{L}$ ずつ加え、速やかに 450nm の波長で各穴の吸光度値を測定する。

1.1.3 判定

被検材料の平均吸光度を付記1により算出する。

指示陽性血清の抗原陽性穴における平均吸光度値から抗原陰性穴における平均吸光度値を引いた値（以下「平均差引吸光度値」という。）は 0.60 以上でなければならず、指示陰性血清の平均差引吸光度値を指示陽性血清のそれで除した値は、 0.30 未満でなければならない。

1.2 特異性試験

1.2.1 試験材料

1.2.1.1 被検材料

抗原吸着マイクロストリップを用いる。

1.2.1.2 対照血清

交差反応試験血清（付記2）、参照陽性血清（付記3）及び参照陰性血清（付記4）を用いる。

1.2.1.3 指示血清

指示陽性血清を用いる。

1.2.1.4 標識抗体

1.1.1.3 の標識抗体を用いる。

1.2.2 試験方法

抗原吸着マイクロストリップの保存液を捨て、抗原陽性穴及び抗原陰性穴の各4穴に血清希釈用液でそれぞれ50倍に希釈した対照血清を $100\text{ }\mu\text{L}$ ずつ加え、1.1.2の試験方法を準用して試験を行

り ELISA を実施するとき、1.3.1.2.2 の試験では ELISA 抗体価 2^{6.64} 倍以下を示し、1.3.2.2.2 の試験では ELISA 抗体価 2^{7.8} ~ ^{11.0} 倍を示す。

付記 26 ST 抗原固相化プレート 2

ST べん毛抗原 2 を炭酸緩衝液で 1 単位となるように希釈し、96 穴平底プレートの各穴に 100 μ L ずつ加え、4 °C で一夜反応させた後、洗浄液 2 で洗浄したもの。

付記 27 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。アジ化ナトリウム 0.2 g を添加する場合もある。

付記 28 リン酸クエン酸緩衝液

1,000mL 中	
クエン酸（無水）	4.67 g
リン酸水素二ナトリウム十二水和物	19.95 g
水	残 量

pH を 5.0 に調整する。

う。

1.2.3 判定

指示陽性血清の平均差引吸光度値を分母にした交差反応試験血清及び参考陰性血清のS/P値（付記5）は、いずれも0.30未満でなければならず、参考陽性血清の平均差引吸光度値は、0.60以上でなければならない。

1.3 効価試験

1.3.1 試験材料

1.3.1.1 被検材料

抗原吸着マイクロストリップを用いる。

1.3.1.2 対照血清

参考陽性血清及び参考陰性血清を用いる。

1.3.1.3 標識抗体

1.1.1.3 の標識抗体を用いる。

1.3.2 試験方法

抗原吸着マイクロストリップの保存液を捨て、抗原陽性穴及び抗原陰性穴の各8穴に血清希釈用液でそれぞれ50倍に希釈した対照血清を $100 \mu\text{L}$ ずつ加え、1.1.2 の試験方法を準用して試験を行う。

1.3.3 判定

参考陽性血清の平均差引吸光度値は、0.60以上でなければならない、参考陽性血清の平均差引吸光度値を分母にした参考陰性血清のS/P値は、0.30未満でなければならない。

付記1 平均吸光度値

平均吸光度値は、下記の計算式により算出する。

$$\text{対照血清の平均吸光度値} = \frac{\text{対照血清の抗原陽性穴又は陰性穴での吸光度値の合計}}{\text{穴数}}$$

付記2 交差反応試験血清

牛白血病ウイルスに対する抗体を保有しない牛を以下のウイルスで免疫して得られた血清で、各々以下の抗体価を示すもの

牛伝染性鼻気管炎ウイルス

中和抗体価16倍以上

牛ウイルス性下痢一粘膜病ウイルス

中和抗体価16倍以上

牛RSウイルス

中和抗体価4倍以上

牛流行熱ウイルス

中和抗体価40倍以上

牛アデノウイルス7型

赤血球凝集抑制抗体価20倍以上

牛パラインフルエンザ3型ウイルス

赤血球凝集抑制抗体価40倍以上

付記3 参照陽性血清

牛白血病ウイルスで免疫した牛の血清で、1.3 の試験を準用して試験を行うとき、抗原陽性穴における平均吸光度値から抗原陰性穴における平均吸光度値を引いた値が 0.60 以上を示すもの

付記4 参照陰性血清

牛白血病ウイルスに対する抗体陰性の牛の血清で、1.3 の試験を準用して試験を行うとき、S

/P値が0.30未満を示すもの

付記5 S/P値

参考又は指示陽性血清の抗原陽性穴における平均吸光度値をPC(P)、抗原陰性穴における平均吸光度値をPC(N)、対照血清の抗原陽性穴における平均吸光度値をS(P)、抗原陰性穴における平均吸光度値をS(N)として、S/P値は下記の計算式により算出する。

$$S/P\text{値} = \frac{S(P) - S(N)}{PC(P) - PC(N)}$$

診断液の部牛海綿状脳症診断用酵素抗体反応キット（ワンステップ測定法）の項を次のように改める。

牛海綿状脳症診断用酵素抗体反応キット(ワンステップ測定法)

プリオン蛋白に対するモノクローナル抗体を固相化したプレートに、処理された検体と標識抗体を同時に添加し、酵素抗体法により牛海綿状脳症の異常プリオン蛋白を検出するためのキットである。

1 小分製品の試験

1.1 吸光度試験

1.1.1 試験材料

試験品を用いる。

1.1.2 試験方法

抗体固相マイクロプレートの1穴に陽性コントロールを、2穴に陰性コントロールをそれぞれ $100 \mu L$ ずつ加える。直ちに酵素標識抗体液を $50 \mu L$ ずつ各穴に加え、 $37^\circ C$ で1時間反応させる。洗浄液でプレートを洗浄し、各穴に基質液を $100 \mu L$ ずつ加える。プレートを遮光し、 $20 \sim 30^\circ C$ で30分間反応させた後、反応停止液を $100 \mu L$ ずつ加える。各穴の吸光度を、主波長 $450nm$ 、副波長 $630nm$ で測定する。

1.1.3 判定

陽性コントロールの吸光度値が1.0以上、陰性コントロールの吸光度値の平均が0.1以下でなければならない。

1.2 特異性試験及び力価試験

1.2.1 試験材料

試験品、非感染牛延髄（付記1）及び参照陽性検体（付記2）を用いる。

1.2.2 試験方法

1.2.2.1 陰性検体の作製

非感染牛延髄 $0.2g$ に、 $800 \mu L$ のホモジネート用調製試薬1（付記3）を加えてホモジナイズし、20%脳乳剤とする。20%脳乳剤 $250 \mu L$ に、調製試薬2（付記4）を $300 \mu L$ 加え、 $37^\circ C$ で30分間反応させる。反応終了後、調製試薬3（付記5）を $150 \mu L$ 加え $15,000G$ 、 $25^\circ C$ で10分間遠心する。上清を除去し、可溶化液を $50 \mu L$ 加え、 $100^\circ C$ で5分間加熱して沈殿を懸濁する。検体希釈液を $100 \mu L$ 加え陰性検体とする。

1.2.2.2 酵素抗体反応

抗体固相マイクロプレートの3穴に陰性検体を、3穴に参照陽性検体を、1穴に陽性コントロールを、2穴に陰性コントロールをそれぞれ $100 \mu L$ ずつ加える。直ちに酵素標識抗体液を $50 \mu L$ ずつ各穴に加え、 $37^\circ C$ で1時間反応させる。洗浄液でプレートを洗浄し、各穴に基質液を $100 \mu L$ ずつ加える。プレートを遮光し、 $20 \sim 30^\circ C$ で30分間反応させた後、各穴にそれぞれ $100 \mu L$ の反応停止液を加える。各穴の吸光度を、主波長 $450nm$ 、副波長 $630nm$ で測定する。

1.2.3 判定

陽性コントロールの吸光度値が1.0以上、陰性コントロールの吸光度値の平均が0.1以下のとき、試験が成立するものとする。検体の吸光度がカットオフ値（付記6）未満の場合を陰性、カットオフ値以上の場合を陽性と判定する。

陰性検体は陰性、参照陽性検体は陽性でなければならない。また、参照陽性検体の吸光度値は、0.2以上1.0未満でなければならない。

付記1 非感染牛延髄

牛海綿状脳症に感染していない牛の延髄

付記2 参照陽性検体

組換え牛正常プリオントロールで溶解したもの

付記3 ホモジネート用調製試薬1

ホモジネート液1 mLに対し DNase I 溶液を 8 μ L、コラゲナーゼ溶液を 50 μ Lを加えたもの

付記4 調製試薬2

界面活性剤液 1.7mLに対しプロテイナーゼK溶液を 100 μ Lを加えたもの

付記5 調製試薬3

濃縮液 3 mLに対しプロテイナーゼK反応停止液を 100 μ Lを加えたもの

付記6 カットオフ値

陰性コントロール2穴の平均値に 0.15 を加えた値

新旧対照表

動物用生物学的製剤検定基準通則

改正案	現行
則	則
1 この基準は、医薬品各条に掲げる動物用生物学的製剤の検定の基準である。	1 この基準は、医薬品各条に掲げる動物用生物学的製剤の検定の基準である。
2 この基準による検定については、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。以下「動物用生物学的製剤基準」という。）の通則中7から11まで、26、30から34まで及び36から38まで、医薬品各条中各医薬品に係る定義、一般試験法並びに規格中生ワクチン製造用材料の規定を準用するものとする。	2 この基準による検定については、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。以下「動物用生物学的製剤基準」という。）の通則中7から11まで、21、25から29まで及び31から33までの通則中各医薬品に係る定義、一般試験法並びに規格中生ワクチン製造用材料の規定を準用するものとする。
3 「中間製品」とは、動物用医薬品等取締規則（平成16年農林水産省令第107号）第156条に規定する「被検定中間製品」をいう。	3 「中間製品」とは、動物用医薬品等取締規則（平成16年農林水産省令第107号）第156条に規定する「被検定中間製品」をいう。
4 小分製品の試験は、通常、同一の製造番号又は製造記号ごとに実施する。ただし、分注区分のある小分製品について、無菌試験（マコブラズマ否定試験及びサルモネラ否定試験を除く。）、生菌数試験、芽胞数試験、夾雜菌否定試験、ワイルス含有量試験、その他の試験は各区分ごとに実施する。試験は各区分ごとに各区分の試験品を等量混合して行う。	4 小分製品の試験は、通常、同一の製造番号又は製造記号ごとに実施する。ただし、分注区分のある小分製品について、無菌試験（マコブラズマ否定試験及びサルモネラ否定試験を除く。）、生菌数試験、芽胞数試験、夾雜菌否定試験、ワイルス含有量試験、その他の試験は各区分ごとに各区分の試験品を等量混合して行う。

(以下略)

表

新旧対照

動物用生物学的製剤検定基準各条ワクチンの部：豚パルボウイルス感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチン

改正案	現行
<p>豚パルボウイルス感染症不活化ワクチン (略)</p> <p>豚パルボウイルス感染症（油性アジュバント加）</p> <p>豚パルボ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。</p>	<p>豚パルボウイルス感染症不活化ワクチン (略)</p> <p>豚パルボウイルス感染症（油性アジュバント加）</p> <p>豚パルボ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。</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ない。</p> <p>1.2 不活化試験</p> <p>1.2.1 試験材料</p> <p>試験品 10mL に等量のクロロホルムを加え、よく混和後、遠心分離した水層の 5mL を約 100 倍量以上のリン酸緩衝食塩波で 4°C で一夜透析したものと試料とする。</p> <p>1.2.2 培養細胞</p> <p>PK-15 細胞を培養びんで培養し、单層となつたものを用いる。</p> <p>1.2.3 試験方法</p> <p>試験料の全量を 1 mL につき 3 cm²以上の培養細胞に接種し、37 °C で 60 分間静置育着させる。試料を抜き取り、ウイルス液用培養液（付記 1）を加え、37 °C で 10 日間培養後、培養上清にペロナル酸緩衝食塩波（以下「VBS」という。（付記 2））で調製した 0.5vol % の非凝集性の鶏又はモルモットの赤血球浮遊液を等量加え、室温で 60 分間静置した後、赤血球凝集の有無を観察する。</p> <p>1.2.4 判定</p> <p>赤血球の凝集を認めない場合、活性ウイルス陰性と判定する。 試料に活性ウイルスを認めてはならない。</p> <p>1.3 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ない。ただし、注射量は 0.4mL とする。</p> <p>1.4 力価試験</p> <p>1.4.1 試験材料</p> <p>試験品を注射材料とする。</p> <p>1.4.2 試験動物</p> <p>体重約 300g のモルモットを用いる。</p> <p>1.4.3 赤血球凝集抗原</p> <p>豚パルボウイルス 90HS 株又は適当と認められた株を用いて調製した赤血球凝集抗原（付記 3）を用いる。</p> <p>1.4.4 試験方法</p>	

注射材料 2 mL ずつを、5 匹の試験動物の皮下に注射し、28 日目に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ふ。
被検血清を VBS⁻で 5 倍に希釈し、等量の 25w/v% カオリソウ波を加え、室温で 20 分間処理する。遠心後の上清に鶴又モルモットの赤血球を加え、室温で 15 分間処理し、再度遠心し、上清を採取する。これを VBS⁻で 2 倍階級希釈し、各段階の希釈液に 8 単位の赤血球凝集抗原を等量加え、4°C で一夜処理する。これに VBS⁻で調製した 0.5v0l % の非凝集性の鶴又モルモットの赤血球浮遊液を加え、室温で 60 分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

14.3 判定
赤血球凝集を阻止した血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価とする。
試験動物の赤血球凝集抑制抗体価の幾何平均は、80 倍以上でなければならない。

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・プロス
牛胎子血清又は牛血清アルブミン
イーグル MEM
炭酸水素ナトリウムで 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よい。

付記 2 ベロナール緩衝食塩液 (pH7.2)

1.000mL 中
ベルビタル
ベルビタルナトリウム
塩化ナトリウム
水

付記 3 赤血球凝集抗原
豚パルボウイルス 90HS 株又は適当と認められた株を用いて調製した赤血球凝集抗原で、赤血球凝集価は 64 倍以上のもの

豚繁殖・呼吸障害症候群生ワクチン (以下略)

豚繁殖・呼吸障害症候群生ワクチン (以下略)

新 旧 对 照 表

動物用生物学的製剤基準各条ワクチンの部：鶏サルモネラ症（サルモネラ・エンテリティディス・サルモネラ・エンテリティディス）不活化ワクチン

現 行	行 使
<p>鶏サルモネラ症（サルモネラ・エンテリティディス）（油性アジユバント加）不活化ワクチン (略)</p> <p>鶏サルモネラ症（サルモネラ・エンテリティディス・サルモネラ・ティファイムリウム）（アジュバント加）不活化ワクチン (略)</p> <p>鶏サルモネラ症（サルモネラ・エンテリティディス・サルモネラ・ティファイムリウム）（アジュバント加）不活化ワクチン （以下「SE」という。）及びサルモネラ・ティファイムリウム（以下「ST」という。）の培養菌液をそれ自身不活化し、濃縮したものを混合し、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。</p> <p>1. 小分製品の試験</p> <p>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。</p> <p>1.2 安全試験</p> <p>1.2.1 試験材料 1.2.1.1 試験品を注射材料とする。</p> <p>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 5 週齢の鶏を用いる。</p> <p>1.2.1.3 試験方法 試験動物の 10 羽を試験群、3 羽を对照群とする。3 羽を对照群とともに 4 週間観察し、試験最終日に注射材料 1 羽分ずつを試験群の脚部筋肉内に注射し、対照群とともに 4 週間観察し、試験最終日に注射部位を剖検する。</p> <p>1.2.1.4 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ではない。また、剖検したとき、注射部位に著しい異常を認めない。</p> <p>1.3 力価試験</p> <p>1.3.1 鶏サルモネラ症（SE）力価試験</p> <p>1.3.1.1 試験材料 1.3.1.1.1 実験動物 1.2 の試験に使用した試験動物を用いる。 1.3.1.1.2 酵素抗体反応（以下「ELISA」という。）用抗原 1.3.1.1.3 SE 精製ゼン毛抗原（付記 1）を用いる。</p> <p>1.3.1.2 試験方法 1.1.2 の試験と对照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。 試験群と对照群の血清、SE 参照陽性血清（付記 2）及び参照陰性血清（付記 3）を 5 w/v% シュミルク加洗浄液（付記 4）で 100 倍に希釈したもの（付記 5）を SE 抗原固定化ブレード（付記 6）で洗浄する。それを 4 瓶に 50 μ L ずつ加え、37 °C で 1 時間反応させた後、洗浄（付記 6）で洗浄する。基質液（付記 7）を 50 μ L ずつ加え、37 °C で 1 時間反応させた後、洗浄（付記 6）で洗浄する。基質液（付記 8）を 100 μ L ずつ加え、遮光して 25 °C で 30 分間反応させた後、反応停止液（付記 9）を 50 μ L ずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長 492nm、副波長 630nm を測定する。</p> <p>1.3.1.3 判定 4 瓶の吸光度の最高値と最低値を除いた 2 瓶の値の平均値を吸光度値としたとき、試験群の 70% 以上が、試験群血清の吸光度値／SE 参照陽性血清の吸光度値 1 でなければならない。この場合、</p>	<p>鶏サルモネラ症（サルモネラ・エンテリティディス）（油性アジユバント加）不活化ワクチン (略)</p> <p>鶏サルモネラ症（サルモネラ・エンテリティディス・サルモネラ・ティファイムリウム）（アジュバント加）不活化ワクチン (略)</p> <p>鶏サルモネラ症（サルモネラ・エンテリティディス・サルモネラ・ティファイムリウム）（アジュバント加）不活化ワクチン （以下「SE」という。）及びサルモネラ・ティファイムリウム（以下「SB」という。）及びサルモネラ・ティファイムリウム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 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。</p> <p>1.2 安全試験</p> <p>1.2.1 試験材料 1.2.1.1 試験品を注射材料とする。</p> <p>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 5 週齢の鶏を用いる。</p> <p>1.2.1.3 試験方法 試験動物の 10 羽を試験群、3 羽を对照群とする。3 羽を对照群とともに 4 週間観察し、試験最終日に注射部位を剖検する。</p> <p>1.2.1.4 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ではない。また、剖検したとき、注射部位に著しい異常を認めない。</p> <p>1.3 力価試験</p> <p>1.3.1 鶏サルモネラ症（SE）力価試験</p> <p>1.3.1.1 試験材料 1.3.1.1.1 実験動物 1.2 の試験に使用した試験動物を用いる。 1.3.1.1.2 酵素抗体反応（以下「ELISA」という。）用抗原 1.3.1.1.3 SE 精製ゼン毛抗原（付記 1）を用いる。</p> <p>1.3.1.2 試験方法 1.1.2 の試験と对照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。 試験群と对照群の血清、SE 参照陽性血清（付記 2）及び参照陰性血清（付記 3）を 5 w/v% シュミルク加洗浄液（付記 4）で 100 倍に希釈したもの（付記 5）を SE 抗原固定化ブレード（付記 6）で洗浄する。それを 4 瓶に 50 μ L ずつ加え、37 °C で 1 時間反応させた後、洗浄（付記 6）で洗浄する。基質液（付記 7）を 50 μ L ずつ加え、37 °C で 1 時間反応させた後、洗浄（付記 6）で洗浄する。基質液（付記 8）を 100 μ L ずつ加え、遮光して 25 °C で 30 分間反応させた後、反応停止液（付記 9）を 50 μ L ずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長 492nm、副波長 630nm を測定する。</p> <p>1.3.1.3 判定 4 瓶の吸光度の最高値と最低値を除いた 2 瓶の値の平均値を吸光度値としたとき、試験群の 70% 以上が、試験群血清の吸光度値／SE 参照陽性血清の吸光度値 1 でなければならない。この場合、</p>

合、対照群では、すべて SE 参照陽性血清 1 の吸光度値 1 / 対照群血清の吸光度値 2 でなければならぬ。また、SE 参照陽性血清は、吸光度値 0.3 ~ 0.7 の値を示さなければならぬ。

1.3.1.2 吸光度値 0.1 以下を示さなければならない。

1.3.1.2.1 試験動物

1.2 の試験に使用した試験動物を用いる。ただし、試験群は 10 羽以上、対照群は 5 羽とする。

1.3.1.2.1.1 ELISA 用抗原

1.3.1.2.1.2 SE ベンモ抗体原 2 (付記 10) を用いる。

1.3.1.2.2 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各個体の血清について、ELISA を行う。
希釈用緩衝液 (付記 11) を用い、試験群の血清及び SE 参照陽性血清 2 (付記 12) を 400 倍に希釈する。ST 参照陽性血清 1 (付記 13) を 50 倍に希釈する。SE 標準陽性血清 (付記 14) を希釈する。各血清を 1 時間反応させた後、原液化アート 2 (付記 15) のそれぞれ 2 分に 100 μ L ずつ加え、37 °C で 1 時間反応させた後、で洗浄液 2 (付記 16) で洗浄する。各穴に酵素標識抗体 2 (付記 17) を 100 μ L ずつ加え、遮光して 2.5 分間反応させた後、洗浄液 2 で洗浄する。基質液 2 (付記 18) を 100 μ L ずつ加え、各穴の吸光度を波長 450 nm で測定する。

1.3.1.2.3 判定
SE 標準陽性血清の希釈倍数より作成した Sigmoid 曲線及び対照群の血清、並びに SE 参照陽性血清 2 及び参考陽性血清 2 の ELISA 抗体価を算出する。ELISA 抗体価の幾何平均値は 2 倍以上でなければならぬ。この場合、対照群の ELISA 抗体価の幾何平均値は 2.2 倍以下でなければならぬ。また、SE 参照陽性血清 2 は 2.2 倍以下の ELISA 抗体価を示さなければならぬ。

1.3.2 鶏サルモネラ症 (ST) 力価試験

1.3.2.1 試験材料

1.2 の試験に使用した試験動物を用いる。

1.3.2.1.1 ST 精製ヘム毛抗原 (付記 10) を用いる。

1.3.2.1.2 ST 精製ヘム毛抗原 1 (付記 20) を用いる。

1.3.2.1.3 試験方法

1.2 の試験の 2 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、ELISA を行う。
試験群と対照群の血清、ST 参照陽性血清 1 (付記 21) 及び参考陽性血清 1 を 5 w/v% キムミルク加温溶解で 100 倍に希釈したものと ST 抗原固定用アーティスト (付記 12) のそれを 4 穴に 50 μ L ずつ加え、37 °C で 1 時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体 1 を 50 μ L ずつ加え、遮光して 25 °C で 30 分間反応させた後、洗浄液で洗浄する。基質液を 100 μ L ずつ加え、各穴の吸光度を主波長 492 nm、副波長 630 nm で測定する。

1.3.2.1.4 判定
4 穴の吸光度の最高値と最低値を除いた 2 穴の値の平均値を吸光度値としたとき、試験群の 70% 以上が、試験群血清の吸光度値 / ST 参照陽性血清の吸光度値 1 / 対照群血清の吸光度値 3 でなければならぬ。この場合、対照群では、すべて ST 参照陽性血清の吸光度値 / 対照群血清の吸光度値 0.3 ~ 0.7 の値を示さなければならぬ。

1.3.2.1.5 ST 力価試験 1

1.3.2.1.6 ST 力価試験 2

1.3.2.1.7 ST 力価試験 3

1.3.2.1.8 ST 力価試験 4

1.3.2.1.9 ST 力価試験 5

1.3.2.1.10 ST 力価試験 6

1.2 の試験に使用した試験動物を用いる。ただし、試験群は 10 羽以上、対照群は 5 羽とする。

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各個体の血清について、ELISA を行う。
希釈用緩衝液を用い、試験群の血清及び ST 参照陽性血清 2 (付記 24) を 400 倍に、ST 標準陽性血清及び参考陽性血清 2 を 50 倍に希釈する。ST 標準陽性血清 (付記 25) を希釈用緩衝液で 100 倍 (付記 26) 400、800、1600、3200 及び 6400 倍に希釈する。希釈した各血清を ST 抗原固定用アーティスト (付記 27)

のそれを2次に100 μ Lずつ加え、37 °Cで1時間反応させた後、洗浄液2で洗浄する。各穴に鮮素標識抗体2を100 μ Lずつ加え、37 °Cで1時間反応させた後、洗浄液2で洗浄する。基質液2を100 μ Lずつ加え、遮光して2.5分間反応させた後、反応停止液を50 μ Lずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を測定450nmで測定する。

付記 1 SE 精製ペル毛抗原¹
SE NT991 株の培養菌液から作製したペル毛抗原を、グルロ過及びイオン交換クロマトグラフィーにより精製し、リン酸緩衝食塩液で透析したもので、-20 °C以下に保存する。本抗原を用いて1.3.1.2の試験によりELISA 抗体価の検査を行なうとき、SE 参照陽性血清1の吸光度値が0.3～0.7、試験群の65 %以上がELISA 抗体価2倍以上でなければならず、ELISA 抗体価の検査用血清は、2倍以上でなければならない。この場合、対照群のELISA 抗体価の吸光度値が0.1以下を示し、使用時の蛋白質量は0.04～0.34 μ g/mLとなるよう、試験群のELISA 抗体価の吸光度値が0.1以下を示す。また、ST 参照陰性血清2は2倍以下での蛋白価を示さなければならぬ。

付記 2 SE 参照陽性血清¹
SE NT991 株で免疫した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、1.3.1.1.2 の試験によりELISA を実施するとき、吸光度値が0.3～0.7を示す。凍結して-20 °C以下で保存する。

付記 3 SE 参照陰性血清¹
生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、1.3.1.1.2 及び 1.3.2.1.2 の試験によりELISA を実施するとき、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 °C以下で保存する。

付記 4 5 w/v%スキムミルク加洗浄液
洗浄液1にスキムミルクを5 w/v%となるように加え、溶解したもの

付記 5 SE 基原固相化ブレート¹
SE 精製ペル毛抗原¹を戻酸緩衝液で希釈し、96穴ブレートの各穴に50 μ Lずつ加え、37 °Cで1時間反応させた後、洗浄液1で洗浄する。各穴に5 w/v%スキムミルク加洗浄液を200 μ Lずつ加え、37 °Cで1時間反応させた後、洗浄液1で洗浄したものを用いる。

付記 6 洗浄液1
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 0.2 g
リン酸水素二ナトリウム十二水和物 2.89 g
ボリソルベート20 0.5 mL
水 残量
pHを7.2～7.4に調整する。

付記 7 醣素標識抗体¹
ペルオキシダーゼ標識抗ニワトリ IgG (H+L) 抗体²、1.3.1.1.2 及び 1.3.2.1.2 の試験によりELISA を実施するとき、SE 参照陽性血清1及び ST 参照陰性血清2を0.3～0.7を示し、参考示し、参照陰性血清1の吸光度値が0.1以下を示すように5 w/v%スキムミルク加洗浄液で調整する。

付記 8 基質液¹
グリフェニレンジアミン二塩酸塩 10mg をリン酸ケン酸緩衝液 (付記 28) 25mL に遮光して溶解し、使用直前に過酸化水素水を10 μ L添加する。

付記 9 反応停止液¹
1,000mL中

付記 1 SE 精製ペル毛抗原
SE NT991 株の培養菌液から作製したペル毛抗原を、グルロ過及びイオン交換クロマトグラフィーにより精製し、リン酸緩衝食塩液で透析したもので、-20 °C以下に保存する。本抗原を用いて1.3.1.2の試験によりELISA を実施するととき、SE 参照陽性血清1の吸光度値が0.3～0.7、参照陰性血清の吸光度値が0.1以下を示す。また、ST 参照陰性血清2 (付記 13) で調整する。

付記 2 SE 参照陽性血清
SE NT991 株で免疫した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、1.3.1.2の試験によりELISA を実施するとき、吸光度値が0.3～0.7を示す。凍結して-20 °C以下で保存する。

付記 3 参照陰性血清
生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、1.3.1.2 及び 1.3.2.2 の試験によりELISA を実施するとき、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 °C以下で保存する。

付記 4 5 w/v%スキムミルク加洗浄液
洗浄液 (付記 6) にスキムミルクを5 w/v%となるように加え、溶解したもの

付記 5 SE 基原固相化ブレート¹
SE 精製ペル毛抗原¹を戻酸緩衝液で希釈し、96穴ブレートの各穴に50 μ Lずつ加え、37 °Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴に5 w/v%スキムミルク加洗浄液を200 μ Lずつ加え、37 °Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄したものを用いる。

付記 6 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
リン酸二水素カリウム 0.2 g
リン酸水素二ナトリウム十二水和物 2.89 g
ボリソルベート20 0.5 mL
水 残量
pHを7.2～7.4に調整する。

付記 7 醣素標識抗体
ペルオキシダーゼ標識抗ニワトリ IgG (H+L) 抗体²、1.3.1.1.2 及び 1.3.2.2.2 の試験によりELISA を実施するとき、SE 参照陽性血清1の吸光度値が0.3～0.7を示し、参考示し、SE 参照陰性血清の吸光度値が0.1以下を示すように5 w/v%スキムミルク加洗浄液で調整する。

付記 8 基質液¹
グリフェニレンジアミン二塩酸塩 10mg をリン酸ケン酸緩衝液 (付記 28) 25mL に遮光して溶解し、使用直前に過酸化水素水を10 μ L添加する。

付記 9 反応停止液¹
1,000mL中

硫酸
水

112.2 mL
残量

硫酸
水

112.2 mL
残量

付記 10 SE ベン毛抗原 2
SE P125/109 株の培養液から作製したもので、SDS-PAGE では分子量 40 ~ 50kDa のバンドを認める。本抗原を用いて 1.3.1.2.2 の試験により ELISA を実施するとき、100 倍から 6400 倍まで 2 倍段階希釈した SE 標準陽性血清の吸光度が、1.3 ≥ 100 倍希釈吸光度 > 200 倍希釈吸光度 > 吸光度 > 400 倍希釈吸光度 > 800 倍希釈吸光度 > 1600 倍希釈吸光度 > 3200 倍希釈吸光度 > 6400 倍希釈吸光度 ≒ 0.05 を示す場合を 1 単位とし、抗原濃度を決定する。抗原濃度が 1 単位を基準となるようにして SE 抗原固相化ブレート 2 を調整した。ELISA を実施するとき、SE 標準陽性血清は ELISA 抗体面 2 倍を示し、SI 標準陽性血清は ELISA 抗体面 2 倍以下を示す。

付記 11 希釈用緩衝液

1.000mL 中	8.0 E
塩化ナトリウム	0.2 E
リソ酸二水素カリウム	0.2 E
無水リソ酸ニチドリウム	1.15 E
水	残量

pH を 7.4 ~ 7.6 に調整後、カゼイン 10.0 g を加えて溶解する。

付記 12 SE 参照陰性血清 2
SE P125/109 株の不活化抗原で免疫あるいは強毒株を接種した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、1.3.1.2.2 の試験により ELISA を実施するとき、ELISA 抗体面 2 倍以下を示す。

付記 13 参照陰性血清 2
生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、1.3.1.2.2 及び 1.3.2.2.2 の試験により ELISA を実施するとき、いずれの試験においても ELISA 抗体面 2 倍以下を示す。

付記 14 SE 標準陽性血清
SE P125/109 株の不活化抗原で免疫あるいは強毒株を接種した生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、1.3.1.2.2 の試験により ELISA を実施するとき、100 倍から 6400 倍まで 2 倍段階希釈した SE 標準陽性血清の吸光度は、1.3 ≥ 100 倍希釈吸光度 > 200 倍希釈吸光度 > 400 倍希釈吸光度 > 800 倍希釈吸光度 > 1600 倍希釈吸光度 > 3200 倍希釈吸光度 > 6400 倍希釈吸光度 ≒ 0.05 を示し、Sigmoid 曲線に当たる場合に相應係数 R が 0.9 以上を示すよう 2 倍に調整 (1000 単位 SE 鳴生血清) したもの。また、1.3.1.2.2 及び 1.3.2.2.2 の試験により ELISA を実施するとき、1.3.1.2.2 の試験では ELISA 抗体面 2 倍を示し、1.3.2.2.2 の試験では ELISA 抗体面 2 倍以下を示す。

付記 15 SE 抗原固相化ブレート 2
SE ベン毛抗原 2 を反応槽洗浄液で 1 単位となるように希釈し、96穴平底プレートの各穴に 100 μL ずつ加え、4°C で一夜反応させた後、洗浄液 2 で洗浄したもの。

付記 16 洗浄液 2

1.000mL 中	8.0 E
塩化ナトリウム	0.2 E
リソ酸二水素カリウム	0.2 E
無水リソ酸ニチドリウム	1.15 E
水	残量

pH を 7.4 ~ 7.6 に調整後、ポリソルベート 20 を 0.5mL 添加する。

付記 17 酵素標識抗体 2
ペルオキシダーゼ標識抗ニトロトリ IgG やヨウ素抗体で、1.3.1.2.2 及び 1.3.2.2.2 の試験により ELISA を実施するとき、1.3.1.2.2 の試験では SE 参照陽性血清 2 倍以上を示し、いずれの試験においても参考の試験では SI 参照陽性血清 2 倍 ELISA 抗体面 2 倍以上を示す。

照陰性血清はELISA抗体価2⁶⁶⁴倍以下を示すように、牛胎子血清を5vol%となるように添加した洗浄液2で調整する。

付記18 基質液2

TMB 洗浄液	0.2 mL
UP 緩衝液	1.5 mL
TMB 滴液は、ジメチルスルホキシド1,000mLにTMB (3,3',5,5'-テトラメチルベンジン) 6 gを溶かしたもの	15.0 mL
UP 緩衝液は、尿素過酸化物140mgをTMB緩衝液(酢酸ナトリウム136gを約500mLの水に溶かし、1.5mol/Lエニン酸でpH5.3～5.7に調整した後、水を加え、1,000mLとしたもの)	(3,3',5,5'-テトラメチルベンジン) 6 gを溶かしたもの
付記19 反応停止液2	1.00 mL
無水	110 mL

付記20 ST精製ペん毛抗原1 ST A723株の培養菌液から作製したペん毛抗原を、グルロ過及びイオン交換クロマトグラフィーにより精製し、リソ酸緩衝食塩液で透析したもので、-20℃以下に保存する。本抗原を用いて1,3,2,1の試験によりELISAを実施するとともにST参考陽性血清1の吸光度値が0.3～0.7、参考陰性血清1の吸光度値が0.1以下を示し、使用時の蛋白質量は0.07～0.36 μg/mLとなるよう調整する。

付記21 ST参考陽性血清1 ST A723株で免疫した生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、1,3,2,1,2の試験によりELISAを実施するとき、吸光度値が0.3～0.7を示す。凍結して-20℃以下で保存する。

付記22 ST参考陽性血清1 ST精製ペん毛抗原1を尿素過酸化液で希釈し、96穴プレートの各穴に50 μLずつ加え、37℃で1時間反応させた後、洗浄液1で洗浄する。各穴に5%ワニスチムミルク加洗浄液を200 μLずつ加え、37℃で1時間反応させた後、洗浄液1で洗浄したものを用いる。

付記23 STペん毛抗原2 ST S7886/96株の培養菌液から作製したもので、SDS-PAGEでは分子量40～50Kdのバンドを認める。本抗原を用いて1,3,2,2の試験によりELISAを実施するとき、100倍から6,400倍まで2倍階級希釈したST標準陽性血清の吸光度が、1.3≤100倍希釈吸光度>200倍希釈吸光度>吸光度>400倍希釈吸光度≥0.05を示す基準を採用して、抗原濃度が1単位となるように調整したST標準陽性ブレード2を作製し、抗原濃度によりELISAを実施するとき、ST標準陽性血清はELISA抗体価2¹²倍を示し、SE標準陽性血清はELISA抗体価2¹²倍以下を示す。

付記24 ST参考陽性血清2 ST S7886/96株の不活性抗原で免疫あるいは強毒株を接種した生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、1,3,2,2,2の試験によりELISAを実施するとき、ELISA抗体価2¹²倍以上を示す。

付記25 ST標準陽性血清 ST S7886/96株の不活性抗原で免疫したST標準陽性血清の吸光度が、1.3≤100倍希釈吸光度>200倍希釈吸光度>400倍希釈吸光度>800倍希釈吸光度>1600倍希釈吸光度>3200倍希釈吸光度>6400倍希釈吸光度≥0.05を示し、Sigmoid曲線に当てはめた場合に相関係数R²が0.9以上となるように調整((1000単位ST陽性血清)したものまた1,3,1,2,2及び1,3,2,2,2の試験ではELISAを実施するとき、1,3,1,2,2の試験ではELISA抗体価2¹²倍以下を示し、1,3,2,2,2の試験ではELISA抗体価2¹²倍を示す。

付記26 ST 抗原固定化プレート²

STペル抗原²を炭酸銅衝液で1単位となるように希釈し、96穴平底プレートの各穴に100 μ Lずつ加え、4°Cで一夜反応させた後、洗浄液²で洗浄したもの。

付記27 炭酸銅衝液

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。アジ化ナトリウム0.2 gを添加する場合もある。

付記28 リン酸クエン酸銨衝液

1,000mL中
クエン酸(無水) 4.67 g
リン酸水素二ナトリウム十二水和物 19.95 g
水 残量
pHを5.0に調整する。

鶏サルモネラ症(サルモネラ・エンテリテイディス・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
(以下略)

付記13 炭酸銅衝液

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14 リン酸クエン酸銨衝液

1,000mL中
クエン酸(無水) 4.67 g
リン酸水素二ナトリウム十二水和物 19.95 g
水 残量
pHを5.0に調整する。

鶏サルモネラ症(サルモネラ・エンテリテイディス・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
(以下略)

新 旧 対 照 表

動物用生物学的製剤検定基準各条診断部：牛白血病診断用酵素抗体反応キット

現	行
改 正 案	
<p>牛白血病診断用受身赤血球凝集反応抗原 (略)</p> <p>牛白血病診断用酵素抗体反応キット</p> <p>牛白血病ウイルスを不活性化及び可溶化後、牛白血病ウイルスgp51蛋白に対するモノクローナル抗体を用いて精製した抗原をマイクロストリップに吸着させ、酵素抗体法により牛白血病ウイルス抗体を検出するためのキットである。</p> <p>小分製品の試験</p> <p>1.1 吸光度試験</p> <p>1.1.1 試験材料</p> <p>1.1.1.1 被検材料 指示陽性血清及び指示陰性血清を用いる。</p> <p>1.1.1.2 反応用抗原 抗原吸着マイクロストリップを用いる。</p> <p>1.1.1.3 標識抗体 抗体希釈用液で100倍に希釈したペルオキシダーゼ標識プロテインG溶液(以下「標識抗体」という。)を用いる。</p> <p>1.1.2 試験方法 抗原吸着マイクロストリップの保存液を捨て、抗原陽性穴及び抗原陰性穴の各3穴に指示陽性血清及び指示陰性血清をそれぞれ$100 \mu\text{L}$ずつ加える。また、2穴をブランクとする。マイクロストリップを密閉して37°Cで60分間反応させる。血清を除去した後、滌綿洗浄液を水で10倍に希釈した洗浄液$300 \mu\text{L}$ずつで4回洗浄する。洗浄したマイクロストリップの各穴及びブランクとした2穴に標識抗体$100 \mu\text{L}$ずつを加え、密閉して37°Cで30分間反応させる。標識抗体を除去した後、洗浄液$300 \mu\text{L}$ずつで4回洗浄する。発色基質液$100 \mu\text{L}$ずつを各穴に加え、室温で12分間反応させる。反応終了後直ちに、反応停止液を$50 \mu\text{L}$ずつ加え、速やかに450nmの波長で各穴の吸光度値を測定する。</p> <p>1.1.3 判定 被検材料の平均吸光度を付記1により算出する。 指示陽性血清の抗原陽性穴における平均吸光度値から抗原陰性穴における平均吸光度値を引いた値(以下「平均差吸光度値」という。)は0.60以上でなければならず、指示陰性血清の平均差吸光度値を指示陽性血清のそれで除した値は、0.30未満でなければならない。</p>	<p>牛白血病診断用受身赤血球凝集反応抗原 (略)</p>

1.2 特異性試験

1.2.1 試験材料

抗原吸着マイクロストリップを用いる。
1.2.1.2 対照血清

交差反応試験血清（付記2）、参照陽性血清（付記3）及び参照陰性血清（付記4）を用いる。

1.2.1.3 指示血清

指示陽性血清を用いる。

1.2.1.4 標識抗体

1.1.1.3 の標識抗体を用いる。

1.2.2 試験方法

抗原吸着マイクロストリップの保存液を捨て、抗原陽性穴及び抗原陰性穴の各4穴に血清希釈用液でそれぞれ50倍に希釈した対照血清を100 μ Lずつ加え、1.1.2の試験方法を準用して試験を行う。

1.2.3 判定

指示陽性血清の平均差引吸光度値を分母にした交差反応試験血清及び参照陰性血清のS/P値（付記5）は、いずれも0.30未満でなければならず、参照陽性血清の平均差引吸光度値は、0.60以上でなければならない。

1.3 力価試験

1.3.1 試験材料

1.3.1.1 被検材料

抗原吸着マイクロストリップを用いる。

1.3.1.2 対照血清

参照陽性血清及び参照陰性血清を用いる。

1.3.1.3 標識抗体

1.1.1.3 の標識抗体を用いる。

1.3.2 試験方法

抗原吸着マイクロストリップの保存液を捨て、抗原陽性穴及び抗原陰性穴の各8穴に血清希釈用液でそれぞれ50倍に希釈した対照血清を100 μ Lずつ加え、1.1.2の試験方法を準用して試験を行う。

1.3.3 判定

参照陽性血清の平均差引吸光度値は、0.60以上でなければならず、参照陽性血清の平均差引吸光度値を分母にした参照陰性血清のS/P値は、0.30未満でなければならない。

付記1 平均吸光度値

平均吸光度値は、下記の計算式により算出する。
対照血清の平均吸光度値 = 対照血清の抗原陽性穴又は陰性穴での吸光度値の合計/穴数

付記2 交差反応試験血清

牛白血病ウイルスに対する抗体を保有しない牛を以下の一ウイルスで免疫して得られた血清で、各々以下の抗体価を示すもの

牛伝染性鼻気管炎ウイルス	中和抗体価16倍以上
牛クルシス性下痢-粘膜病ウイルス	中和抗体価16倍以上
牛RSウイルス	中和抗体価4倍以上
牛流行熱ウイルス	中和抗体価40倍以上
牛アデノウイルス7型	赤血球凝集抑制抗体価20倍以上
牛ペラインフルエンザ3型ウイルス	赤血球凝集抑制抗体価40倍以上

付記3 参照陽性血清

牛白血病ウイルスで免疫した牛の血清で、1.3の試験を準用して試験を行なうとき、抗原陽性穴における平均吸光度値から抗原陰性穴における平均吸光度値を引いた値が 0.60 以上を示すもの

付記4 参照陰性血清

牛白血病ウイルスに対する抗体陰性的牛の血清で、1.3 の試験を準用して試験を行うとき、S/P値が 0.30 未満を示すもの

付記5 S/P値

参照又は指示陽性血清の抗原陽性穴における平均吸光度値を PC (P)、抗原陰性穴における平均吸光度値を PC (N)、対照血清の抗原陽性穴における平均吸光度値を S (P)、抗原陰性穴における平均吸光度値を S (N) として、S/P 値は下記の計算式により算出する。

$$S/P \text{ 値} = \frac{S(P) - S(N)}{PC(P) - PC(N)}$$

牛白血病診断用沈降反応抗原
(以下略)

牛白血病診断用沈降反応抗原
(以下略)

新旧対照表

動物用生物学的製剤検定基準医薬品各条診断部：牛海綿状脳症診断用酵素抗体反応キット（ワンステップ測定法）

改正案	現行
牛海綿状脳症診断用酵素抗体反応キット（ワンステップ測定法） 光）	牛海綿状脳症診断用酵素抗体反応キット（ワンステップ測定法） 発光）
<p>牛海綿状脳症診断用酵素抗体反応キット（ワンステップ測定法）</p> <p>ブリオノン蛋白に対するモノクローナル抗体を固相化したプレートに、処理された検体と標識抗体を同時に添加し、酵素抗体法により牛海綿状脳症の異常プリオントン蛋白を検出するためのキットである。</p> <p>1 小分け製品の試験</p> <p>1.1 吸光度試験</p> <p>1.1.1 試験材料 試験品を用いる。</p> <p>1.1.2 試験方法 抗体固相マイクロプレートの1穴に陽性コントロールを、2穴に陰性コントロールをそれぞれ10μLずつ加える。直ちに酵素標識抗体液を50μLずつ各穴に加え、37°Cで1時間反応させる。洗浄液でプレートを洗浄し、各穴に基質液を100μLずつ加える。プレートを遮光し、20~30°Cで30分間反応させた後、反応停止液を100μLずつ加える。各穴の吸光度を、主波長450nm、副波長600nmで測定する。</p> <p>1.1.3 判定 陽性コントロールの吸光度値が1.0以上、陰性コントロールの吸光度値の平均が0.1以下でなければならぬ。</p> <p>1.2 特異性試験及び力価試験</p> <p>1.2.1 試験材料 試験品、非感染牛延髓（付記1）及び参照陽性検体（付記2）を用いる。</p> <p>1.2.2 試験方法</p> <p>1.2.2.1 阴性検体の作製 非感染牛延髓0.2gに、800μLのホモジネート用調整試葉1（付記3）を加えてホモジナイズし、20%臍乳剤ととする。20%臍乳剤250μLに、調製試葉2（付記4）を300μL加え、37°Cで30分間反応させる。反応終了後、調製試葉3（付記5）を150μL加え15,000G、25°Cで10分間遠心する。上清を除き、同様化液を50μL加え、100°Cで5分間加熱して沈殿を懸濁する。検体希釈液を10μL加え陰性検体とする。</p> <p>1.2.2.2 酵素抗体反応 抗体固相マイクロプレートの3穴に陰性検体を、1穴に陽性コントロールをそれぞれ100μLずつ加える。直ちに酵素標識抗体液を50μLずつ各穴に加え、37°Cで1時間反応させる。洗浄液でプレートを遮光し、20~30°Cで30分間反応させた後、各穴にそれぞれ100μLの反応停止液を加える。各穴の吸光度を、主波長450nm、副波長630nmで測定する。</p> <p>1.2.3 判定</p>	

陽性コントロールの吸光度値が1.0以上、陰性コントロールの吸光度値の平均が0.1以下のとき、陽性検体の吸光度がカットオフ値（付記6）未満の場合を陰性、カットオフ値以上の場合は陽性と判定する。検体の吸光度がカットオフ値（付記6）未満の場合を陰性、カットオフ値以上の場合は陽性と判定する。

陰性検体は陰性、参照陽性検体は陽性でなければならない。また、参照陽性検体の吸光度値は、0.2以上1.0未満でなければならない。

付記1 非感染牛延髓
牛海綿状脳症に感染していない牛の延髓

付記2 参照陽性検体
組換え牛正常ブリオン蛋白が0.0025 μg/mL になるように陰性コントロールで溶解したもの

付記3 ホモジネット用調製試薬1
ホモジネット液1mL に対しDNase I溶液を8 μL、コラゲナーゼ溶液を50 μLを加えたもの

付記4 調製試薬2
界面活性剤液1.7mL に対しプロティナーゼK溶液を100 μLを加えたもの

付記5 調製試薬3
界面活性剤液3 mL に対しプロティナーゼK反応停止液を100 μLを加えたもの

付記6 カットオフ値
陰性コントロール2穴の平均値に0.16を加えた値

牛海綿状脳症診断用酵素抗体反応キット（ワンドット前処理法） (以下略)

陽性コントロールの吸光度値が1.0以上、陰性コントロールの吸光度値の平均が0.1以下の時、陽性検体の吸光度がカットオフ値（付記6）未満の場合を陰性、カットオフ値以上の場合は陽性と判定する。検体の吸光度がカットオフ値（付記6）未満の場合を陽性と判定する。陰性検体は陰性、参照陽性検体は陽性でなければならない。また、参照陽性検体の吸光度値は、0.2以上1.0未満でなければならない。

付記1 非感染牛延髓
牛海綿状脳症に感染していない牛の延髓

付記2 参照陽性検体
組換え牛正常ブリオン蛋白が0.0025 μg/mL になるように陰性コントロールで溶解したもの

付記3 ホモジネット用調製試薬1
ホモジネット液1mL に対しDNase I溶液を8 μL、コラゲナーゼ溶液を50 μLを加えたもの

付記4 調製試薬2
界面活性剤液1.7mL に対しプロティナーゼK溶液を100 μLを加えたもの

付記5 調製試薬3
界面活性剤液3 mL に対しプロティナーゼK反応停止液を100 μLを加えたもの

付記6 カットオフ値
陰性コントロール2穴の平均値に0.16を加えた値

牛海綿状脳症診断用酵素抗体反応キット（ワンドット前処理法） (以下略)

(別紙3)

○農林水産省告示第千五百六十五号

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五十八条及び第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二百七号）第二百五十四条第一項の規定に基いて、平成十七年三月十八日農林水産省告示第五百六十六号（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りや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。

平成二十年十月二十八日

表ハタサハの部

農林水産大臣 石破 茂

「豚パルボウイルス感染症不活化ワクチン	278,900	20,300	20	20	2
---------------------	---------	--------	----	----	---

」を

「豚パルボウイルス感染症不	278,900	20,300	20	20	2
---------------	---------	--------	----	----	---

活性ワクチン

豚パルボウイルス感染症 (油性アジュバント加) 不活性ワクチン

276,300

20,300

12

12

2

N

活性ワクチンの検定

「牛白血病診断用受身赤血球凝集反応抗原

47,900

0

5

5

2

N

「牛白血病診断用受身赤血球凝集反応抗原

47,900

0

5

5

2

N

「牛白血病診断用酵素抗体反応キット

66,500

0

3

2

N

改
め
る。

別紙新旧対照表

「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号畜産局長通知)

別表4 動物用医薬品の検定に関する標準処理期間		別表4 動物用医薬品の検定に関する標準処理期間	
改 正 後	現 行	改 正 後	現 行
製 剤	標準処理期間(日)	製 剤	標準処理期間(日)
(血清の部) (略)	(略)	(血清の部) (略)	(略)
(ワクチンの部) (略)	(略)	(ワクチンの部) (略)	(略)
豚パルボウイルス感染症不活化ワクチン <u>豚パルボウイルス感染症(油性アジュベント加)不活化ワクチン</u> (略)	70 70	豚パルボウイルス感染症不活化ワクチン <u>牛白血病診断用受身赤血球凝集反応抗原</u> (以下略)	70 40
(診断液の部) (略)	(略)	(診断液の部) (略)	(以下略)
牛白血病診断用受身赤血球凝集反応抗原 牛白血病診断用酵素抗体反応キット (以下略)	40	牛白血病診断用受身赤血球凝集反応抗原 (以下略)	40