

27消安第4878号
平成28年1月20日

動物医薬品検査所長 殿

消費・安全局長

動物用生物学的製剤基準の一部改正等について

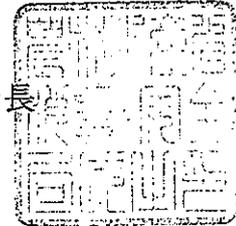
このことについて、別添写しのとおり各都道府県知事宛て通知したので、
了知されたい。



27消安第4878号
平成28年1月20日

北海道知事 殿

農林水産省消費・安全局長



動物用生物学的製剤基準の一部改正等について

今般、「動物用生物学的製剤基準」（平成14年10月3日農林水産省告示第1567号）、「動物用生物学的製剤検定基準」（平成14年10月3日農林水産省告示第1568号）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」（平成25年6月18日農林水産省告示第2009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。

これらの改正に伴い、「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律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4のとおりに改正することとしましたので、御了知願います。

(別紙1)

○農林水産省告示第九十五号

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和三十五年法律第百四十五号）第八十三条第一項の規定により読み替えて適用される同法第四十二条第一項の規定に基づき、動物用生物学的製剤基準（平成十四年十月三日農林水産省告示第千五百六十七号）の一部を次のように改正し、公布の日から施行する。

平成二十八年一月二十日

農林水産大臣 森山 裕

（「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（シードロット製剤を除く。）の部の豚オーエスキー病（g I -、 t k -）生ワクチンの項の次に次のように加える。

豚オーエスキー病（g I -、 t k -）生ワクチン（酢酸トコフェロールアジュバント加溶解用液）

1 定義

糖たん白 gI 及びチミジンキナーゼを産生しない弱毒オーエスキー病ウイルスを培養細胞で増殖させて得たウイルス液を凍結乾燥したもので、使用時に酢酸トコフェロールアジュバントを含む溶解用液で溶解するワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

弱毒オーエスキー病ウイルスペゴニア株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

糖たん白 gI 遺伝子の一部を欠損する。ウイルス性チミジンキナーゼを合成しない。

Vero 細胞で CPE を伴って増殖する。

2.1.3 継代及び保存

原株及び原種ウイルスは、Vero 細胞又は適当と認められた培養細胞で継代する。

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°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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 培養細胞

Vero 細胞又は製造に適当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

2.3 原液

2.3.1 細胞の培養

1 回に処理し、培養した細胞を個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。

個別培養細胞について、3.1 の試験を行う。

2.3.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルスの増殖極期に個別培養細胞ごとに採取した培養液のろ液又は遠心上清を原液とする。

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、最終バルクとする。

最終バルクについて、3.2 の試験を行う。

2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、凍結乾燥し、小分製品とする。

小分製品について、3.3 の試験を行う。

3 試験法

3.1 培養細胞の試験

個別培養細胞の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する。

対照培養細胞をプールし、4本以上の培養瓶に継代し、7日間培養し、観察するとき、CPEを認めてはならない。

3.2 最終バルクの試験

3.2.1 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.2.2 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 及び 2.3.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

中和用血清は、抗オーエスキー病ウイルス血清（付記1）を非働化したものを用いる。

3.2.3 安全試験

3.2.3.1 試験材料

3.2.3.1.1 注射材料

検体を注射材料とする。

3.2.3.1.2 試験動物

10週齢以下の豚を用いる。

3.2.3.2 試験方法

試験動物3頭に注射材料をそれぞれ筋肉内に注射し、14日間観察する。

3.2.3.3 判定

観察期間中、試験動物に異常を認めてはならない。

3.2.4 糖たん白 gI 欠損マーカ－試験

3.2.4.1 試験材料

3.2.3 の試験終了後、14日目の血清を用いる。

3.2.4.2 試験方法

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

3.2.4.3 判定

血清中にオーエスキー病ウイルス糖たん白 gI 抗体を認めてはならない。

3.2.5 牛ウイルス性下痢ウイルス迷入否定試験

3.2.5.1 試験材料

3.2.3 の試験終了後、14日目の血清を用いる。

3.2.5.2 試験方法

牛ウイルス性下痢ウイルスに対する中和試験を行う。

3.2.5.3 判定

血清中に牛ウイルス性下痢ウイルス抗体を認めてはならない。

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液体でなければならない。異物及び異臭を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

3.3.2 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。

ただし、原液を含む中間工程でマイコプラズマ否定試験を実施する場合には、本試験の実施を省略することができる。

3.3.6 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、2.3.1 及び 2.3.2 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、抗オーエスキー病ウイルス血清を非働化したものを用いる。

3.3.7 ウイルス含有量試験

3.3.7.1 試験材料

3.3.7.1.1 試料

試験品をウイルス増殖用培養液（付記2）で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.7.1.2 培養細胞

Vero 細胞、HmLu-1 細胞又は適当と認められた培養細胞を培養し、単層となったものを用いる。

3.3.7.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で 60 分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液 0.5mL を加え、37℃で 6～7 日間培養し、観察する。

3.3.7.3 判定

培養細胞に CPE を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。

試験品のウイルス含有量は、1 mL 中 10^{5.5}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。

3.3.8 マーカー試験

3.3.8.1 糖たん白 gI 欠損マーカー

3.3.8.1.1 試験材料

3.3.9 の試験終了後、14 日目の試験群の血清を用いる。

3.3.8.1.2 試験方法

オーエスキー病ウイルス糖たん白 gI 抗体を識別できる酵素抗体反応キット又は動物医薬品検査所がこれと同等と認めたものを用いて酵素抗体反応を行う。

3.3.8.1.3 判定

血清中にオーエスキー病ウイルス糖たん白 gI 抗体を認めてはならない。

3.3.8.2 チミジンキナーゼ欠損マーカー

3.3.8.2.1 試験材料

3.3.8.2.1.1 試料

試験品を試料とする。

3.3.8.2.1.2 培養細胞

Ltk細胞を細胞増殖用培養液（付記3）で 1 × 10^{5.0} 個/mL となるように調整した細胞浮遊液の 5 mL を約 25cm² の培養瓶に入れ、37℃で培養し、単層となったものを用いる。

3.3.8.2.1.3 培養液

HAT 培地（付記4）及びウイルス増殖用培養液を用いる。

3.3.8.2.2 試験方法

試料の 0.2mL ずつを 2本の培養細胞に接種し、37℃で 60 分間吸着させた後、3 回洗浄する。HAT 培地又はウイルス増殖用培養液の約 5 mL をそれぞれの培養細胞に加え、37℃で 3 日間培養する。それぞれの培養細胞について、凍結融解を 1 回行った後、遠心上清のウイルス含有量を 3.3.7 を準用して測定する。

3.3.8.2.3 判定

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

3.3.9 安全試験

3.3.9.1 試験材料

3.3.9.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.3.9.1.2 試験動物

体重 10 ～ 40kg の豚を用いる。

3.3.9.2 試験方法

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

3.3.9.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に異常を認めてはならない。

3.3.10 力価試験

3.3.10.1 試験材料

3.3.10.1.1 試験動物

3.3.9 の試験に用いた動物を用いる。

3.3.10.1.2 中和試験用ウイルス

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

3.3.10.1.3 培養細胞

Vero 細胞又は適当と認められた細胞をシャーレに培養し、単層となったものを用いる。

3.3.10.2 試験方法

3.3.9 の試験終了後、14 日目に得られた各個体の血清について中和試験を行う。

被検血清を非働化した後、ウイルス増殖用培養液で 10 倍に希釈し、更に 2 倍階段希釈する。各希釈血清 0.5mL と 0.2mL 中約 80PFU の中和試験用ウイルス液 0.5mL を混合し、37℃で一夜処理する。この各混合液の 0.2mL ずつをそれぞれ 4 枚の培養細胞に接種し、37℃で 60 分間吸着させた後、混合液を除き、第 1 次重層寒天培地（付記 5）を重層し、37℃、5 vol % 炭酸ガス下で 2 日間培養後、第 2 次重層寒天培地（付記 6）を重層し、更に一夜培養後、ブラック数を測定する。

3.3.10.3 判定

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

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

4 貯法及び有効期間

有効期間は、3 年間とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その期間とする。

付記 1 抗オーエスキー病ウイルス血清

オーエスキー病ウイルスで免疫した鶏、兎又はモルモットの血清であって、検体又は試験品のウイルスを完全に中和する力価を有するもの

付記 2 ウイルス増殖用培養液

1,000mL 中
 トリプトース・ホスフェイト・ブロス 2.95 g
 L-グルタミン 0.3 g
 牛血清 8 ~ 50 mL
 イーグル MEM 残 量
 炭酸水素ナトリウムで pH を 7.0 ~ 7.6 に調整する。
 必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 3 細胞増殖用培養液

1,000mL 中
 トリプトース・ホスフェイト・ブロス 2.95 g
 L-グルタミン 0.3 g
 牛血清 30 ~ 100 mL
 イーグル MEM 残 量
 炭酸水素ナトリウムで pH を 7.0 ~ 7.6 に調整する。
 必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 4 HAT 培地

1,000mL 中
 ヒポキサンチン 0.014 g
 アミノプテリン 0.00018 g
 チミジン 0.0039 g
 トリプトース・ホスフェイト・ブロス 2.95 g
 牛血清 0 ~ 100 mL
 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もよい。

付記 5 第 1 次重層寒天培地

1,000mL 中
 トリプトース・ホスフェイト・ブロス 2.95 g
 寒天 10.0 g
 牛血清 20 mL
 イーグル MEM 残 量
 炭酸水素ナトリウムで pH を 6.8 ~ 7.6 に調整する。
 必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 6 第 2 次重層寒天培地

1,000mL 中
 トリプトース・ホスフェイト・ブロス 2.95 g
 寒天 10.0 g
 ニュートラルレッド 0.05 g
 イーグル MEM 残 量
 炭酸水素ナトリウムで pH を 6.8 ~ 7.6 に調整する。
 必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部の豚オーエスキー病（g I -、g X -）（油性アジュバント加）不活化ワクチンの項の次に次のように加える。

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

1 定義

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（以下この項において「PCV2ORF2」という。）遺伝子を挿入したバキュ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、カルボキシビニルポリマー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

PCV2ORF2 遺伝子組換えオートグラフィア核多角体ウイルス（AcNPV）N120-058W 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

バキュロウイルスに感受性のある培養細胞で CPE を伴って増殖する。PCV2ORF2 たん白抗原を発現する。

2.1.1.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、*Spodoptera frugiperda* 細胞又は適当と認められた培養細胞で継代する。原株の継代は、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。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、5代以内でなければならない。原株は凍結して-60℃以下で、種ウイルスは凍結して-35℃以下で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 培養細胞

Spodoptera frugiperda 細胞又は製造に適当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

2.3 原液

2.3.1 細胞の培養

1回に処理し、培養した細胞を個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。

2.3.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルスの増殖極期に培養液を採取しウイルス培養液とする。ウイルス培養液について、3.1の試験を行う。

2.3.3 ウイルスの不活化

ウイルス培養液をろ過し、適当と認められた不活化剤を加えて攪拌し不活化した後に、中和剤を加えて中和し、必要に応じて濃縮したものを原液とする。

原液について、3.2の試験を行う。

2.3.4 原液の調整

原液を混合し、混合原液とする場合がある。

混合原液について、3.2.2の試験を行う。

2.3.4 最終バルク

原液又は混合原液に、必要に応じて生理食塩液及び適量のアジュバントを添加し、最終バルクとする。

2.3.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。

小分製品について、3.3の試験を行う。

3 試験法

3.1 ウイルス培養液の試験

3.1.1 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を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.2.2 不活化試験

3.2.2.1 試験材料

3.2.2.1.1 試料

検体を試料とする。

3.2.2.1.2 培養細胞

Spodoptera frugiperda 細胞を用いる。

3.2.2.1.3 試験方法

試料 1 mL を 150cm² の培養細胞に接種し、25～29℃で7日間培養し、次代に継代する。2代目の細胞を25～29℃で7日間培養する。

3.2.2.1.4 判定

培養細胞に CPE を認めない場合、活性ウイルス陰性と判定する。検体に活性ウイルスを認めてはならない。

3.2.3 抗原含有量試験

3.2.3.1 試験材料

検体、参照抗原 1（付記 1）、陰性対照（付記 2）及び陽性対照 1（付記 3）、抗 PCV2ORF2 豚 IgG（付記 4）、抗 PCV2ORF2 モノクローナル抗体（付記 5）及び酵素標識抗体（付記 6）を用いる。

3.2.3.2 試験方法

3.2.3.2.1 固相化プレートの作製

抗 PCV2ORF2 豚 IgG を吸着用緩衝液（付記 7）で 5,000～6,000 倍に希釈したものを 100 μL ずつ 96 穴 ELISA プレートに分注し、35～39℃で一夜静置する。洗浄・希釈液（付記 8）で 3 回洗浄し、ブロッキング液（付記 9）を 250 μL ずつ加え、35～39℃で 60 分間反応させる。このプレートを洗浄・希釈液で 3 回洗浄し、固相化プレートとする。

3.2.3.2.2 試料等の調製

検体、参照抗原 1、陰性対照及び陽性対照 1 を洗浄・希釈液でそれぞれ 30 倍から 3 倍階段希釈した各段階の希釈液を試料とする。

3.2.3.2.3 反応

各試料 100 μL ずつを固相化プレートの 3 穴に加え、35～39℃で 60 分間反応させる。反応後、各穴を洗浄液で 3 回洗浄する。洗浄・希釈液で 300 倍に希釈した抗 PCV2ORF2 モノクローナル抗体を各穴に 100 μL ずつ分注し、35～39℃で 60 分間反応させる。反応後、各穴を洗浄・希釈液で 3 回洗浄する。1 vol %ウサギ血清加希釈用緩衝液（付記 10）で 5,000～20,000 倍に希釈した酵素標識抗体を各穴に 100 μL ずつ分注し、35～39℃で 45 分間反応させる。反応後、各穴を洗浄

・希釈液で3回洗浄する。基質液（付記 11）を 100 μ L ずつ各穴に分注し、室温で 15 分間反応させる。その後、1 mol/L 塩酸溶液を 100 μ L ずつ各穴に分注し、反応を停止させる。

3.2.3.2.4 吸光度測定

波長 450nm で吸光度を測定する。

3.2.3.3 判定

参照抗原 1 の力価を 1.0 として、検体の相対力価を統計学的計算方法（付記 12）により算出する。このとき、検体の相対力価は、1.0 以上でなければならない。また、陽性対照 1 の 270 倍希釈液の平均吸光度は 0.838 以上であり、陰性対照の 30 倍希釈液の平均吸光度は 0.2 以下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、透明からやや混濁した無色から帯黄色、粘性のない液体でなければならない。異物及び異臭を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

3.3.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、これに適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.3.3 pH 測定試験

一般試験法の pH 測定試験を準用して試験するとき、pH は、固有の値を示さなければならない。

3.3.4 安全試験

3.3.4.1 試験材料

3.3.4.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.3.4.1.2 試験動物

3～5 週齢の豚を用いる。

3.3.4.2 試験方法

注射材料 2 頭分ずつを 2 頭の試験動物の頸部筋肉内に注射し、21 日間観察する。

3.3.4.3 判定

観察期間中、試験動物に異常を認めてはならない。

3.3.5 力価試験

3.3.5.1 試験材料

試験品、参照抗原 2（参照ワクチン）（付記 13）、陰性対照、陽性対照 2（付記 14）、抗 PCV2ORF2 豚 IgG、抗 PCV2ORF2 モノクローナル抗体及び酵素標識抗体を用いる。

3.3.5.2 試験方法

3.3.5.2.1 固相化プレートの作製

3.2.3.2.1 を準用して作製する。

3.3.5.2.2 試料等の調製

試験品、参照抗原 2（参照ワクチン）、陰性対照及び陽性対照 2 を洗浄・希釈液でそれぞれ 30 倍から 2 倍階段希釈した各段階の希釈液を試料とする。

3.3.5.2.3 反応

3.2.3.2.3 を準用して行う。

3.3.5.2.4 吸光度測定

波長 450nm で吸光度を測定する。

3.3.5.3 判定

参照抗原 2（参照ワクチン）の力価を 1.0 として、試験品の相対力価を統計学的計算方法により

算出するとき、試験品の相対力価は、1.0 ~ 3.75 でなければならない。また、陽性対照 2 の 480 倍希釈液の平均吸光度は 0.988 ~ 2.500、陰性対照の 30 倍希釈液の平均吸光度は 0.124 以下でなければならない。

付記 1 参照抗原 1

ワクチンの製造方法で製造されたもので、PCV2ORF2 抗原として約 8 μ g/mL 含むもの。
更新する場合には、元の参照抗原 1 に対する相対力価を求めておき、原液の相対力価測定時には元の参照抗原 1 と同等の抗原量となるよう調製する。

付記 2 陰性対照

Spodoptera frugiperda 細胞培養液にワクチンのアジュバントを 20vol %含むもの

付記 3 陽性対照 1

ワクチンの製造方法で製造されたもので、参照抗原 1 に対する相対力価 4.45 の PCV2ORF2 抗原液 31mL に対して生理食塩液 9 mL を加えたもの。
更新する場合には、元の陽性対照 1 との相対力価が統計的に同等になるよう調製する。

付記 4 抗 PCV2ORF2 豚 IgG

ワクチンで免疫した CDCD (帝王切開由来初乳未摂取) 豚血清から精製した抗 PCV2ORF2 豚 IgG であって、間接蛍光抗体価が 1,500 倍以上のもの。

付記 5 抗 PCV2ORF2 モノクローナル抗体

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細胞 6C4-2-4A3-5D10 の培養上清

付記 6 酵素標識抗体

ペルオキシダーゼ標識した抗マウス IgG (H+L) 山羊血清

付記 7 吸着用緩衝液

1,000mL 中
炭酸水素ナトリウム 2.93 g
炭酸ナトリウム (無水) 1.59 g
水 残量
pH を 9.5 ~ 9.7 に調整する。

付記 8 洗浄・希釈液

1,000mL 中
塩化ナトリウム 8.0 g
塩化カリウム 0.2 g
リン酸水素二ナトリウム (無水) 1.15 g
リン酸二水素カリウム 0.2 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9 ブロッキング液

洗浄・希釈液に脱脂粉乳を 5.0 w/v % になるように加えたもの

付記10 1 vol %ウサギ血清加希釈用緩衝液

洗浄・希釈液に兔正常血清を 1 vol % になるように加えたもの

付記11 基質液

A 液：テトラメチルペンチジン 0.4g を 26vol % *N,N*-ジメチルホルムアミド 1,000mL で溶解したもの

B 液：クエン酸緩衝液に 0.02vol % 過酸化水素水を含む液
使用時に A 液と B 液を等量混合して用いる。

付記12 統計学的計算方法

動物医薬品検査所が適当と認めたもの

付記13 参照抗原 2 (参照ワクチン)

「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加) 不活化ワクチン」であって、動物医薬品検査所が適当と認めたもの。

参照抗原 1 に対する相対力価 4.45 の PCV2ORF2 抗原液を 52%、アジュバントを 20% 及び生理食塩液を 28% 含む。

更新する場合は、相対力価が 1.0 であり、元の参照抗原 2 と同等の免疫原性を確認したものとする。

付記14 陽性対照 2

参照抗原 1 に対する相対力価 4.45 の PCV2ORF2 抗原液を 80vol % 及びアジュバントを 20vol % 含むもの。

更新する場合は、元の陽性対照 2 との相対力価が統計的に同等になるよう調製する。

診断液の部のツベルクリンの項を次のように改める。

ツベルクリン

1 定義

牛型結核菌及び人型結核菌の培養ろ液を濃縮して調製した皮内反応用抗原である。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

牛型結核菌牛 10 株及び人型結核菌青山 B 株

2.1.2 性状

牛 10 株は、グリセリンにより発育促進性を示す。

2.1.3 継代及び保存

原株及び種菌は、小川培地又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、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数以内とする。

原株及び種菌は、凍結して -80°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 培地

製造用培地には小川培地、ソートン培地（付記 1）、ソートンばれいしょ培地（付記 2）及び変法ソートン培地（付記 3）、又は製造に適当と認められた培地を用いる。

2.3 原液

2.3.1 培養菌液

種菌を小川培地に移植し、 37°C で 4～5 週間培養する。発育した菌苔をソートンばれいしょ培地に移植し、 37°C で 2～4 週間培養し、培地表面に発育した菌膜をソートン培地液面に浮かぶように移植し、2～3 週間培養する。形成した菌膜をソートン培地液面に浮かぶように再度移植し、2～3 週間培養して薄い菌膜を形成させる。菌膜を変法ソートン培地液面に浮かぶように移植し、 37°C で 8～9 週間培養し、表面に厚い菌膜を形成させ、培養菌液とする。

2.3.2 殺菌

培養菌液を振とうして菌膜を培地中に沈め、 100°C で 3 時間加温殺菌し、一夜静置する。

2.3.3 除菌、濃縮及び加薬

殺菌後、ろ過及び遠心により透明な培養ろ液を集め、加熱又は限外ろ過その他適当と認められた方法により、培養前の培地量の 18vol% 以下となるように濃縮する。これを 100°C で 15 分間加熱し、冷却する。5 w/v% フェノール液と濃グリセリンとを加えて培養前の培地量の 20 % となるように調整する。この場合、フェノールの含有量は、0.5w/v% となるようにしなければならない。

フェノール液の添加前に検体を採り、濃縮ろ液とする。

濃縮ろ液について 3.1 の試験を行う。

2.3.4 熟成及び力価の測定

フェノール添加後、8 週間以上 $2\sim 10^{\circ}\text{C}$ で貯蔵し、熟成させた後、メンブランフィルターでろ過滅菌する。両株由来のろ液を混合し、混合ろ液とする。

混合ろ液について、3.2 の試験を行う。

2.3.5 力価の調整

希釈用液（付記 4）で動物用標準ツベルクリンに対する相対力価が 0.85 ～ 1.18 の範囲となるよう調整し、原液とする。

原液について、3.3の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液を混合し、最終バルクとする。

2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、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 濃縮ろ液の試験

3.1.1 結核菌否定試験

3.1.1.1 試験方法

検体 0.1mL ずつを小川培地 5 本以上に接種し、37℃で6週間培養する。

3.1.1.2 判定

結核菌の発育を認めてはならない。

3.2 混合ろ液の試験

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を行うとき、適合しなければならない。

3.2.2 相対力価の算出

混合ろ液及び動物用標準ツベルクリン（付記5）を希釈用液で 100,000 国際単位/mL に調整したものをそれぞれ 500、1,000 及び 2,000 倍に希釈し、その 0.1mL ずつを 6 匹以上の感作モルモット（付記6）の背部 6 か所の皮内にそれぞれ注射し、24 時間後の反応の大きさを計測する。

それぞれの反応値から平行線検定法（付記7）により、混合ろ液の動物用標準ツベルクリンに対する相対力価を算出する。

3.3 原液の試験

3.3.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3.2 力価試験

3.2.2 の方法に準じて、検体の動物用標準ツベルクリンに対する相対力価を算定するとき、0.85 ~ 1.18 でなければならない。

3.4 小分製品の試験

3.4.1 特性試験

一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、固有の色調を有する液体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。

3.4.2 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 フェノール定量試験

一般試験法のフェノール定量法を準用して試験するとき、フェノールの含有量は、0.5w/v% でなければならない。

3.4.4 異常毒性否定試験

一般試験法の異常毒性否定試験法 1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、使用するモルモットは 5 匹とし、試験品の注射量は 1 mL とする。

3.4.5 力価試験

3.2.2 の方法に準じて、試験品の動物用標準ツベルクリンに対する相対力価を算定するとき、0.80 ~ 1.25 でなければならない。

4 貯法及び有効期間

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

5 その他

5.1 添付文書等記載事項

術者等のアレルギー反応に注意する旨

付記 1 ソートン培地

1,000mL 中

L-アスパラギン一水和物	4.0 g
クエン酸一水和物	2.0 g
リン酸水素二カリウム	0.5 g
硫酸マグネシウム七水和物	0.5 g
クエン酸アンモニウム鉄 (Ⅲ)	0.05 g
濃グリセリン	60.0 mL
水	残 量

pH を 7.0 ~ 7.2 に調整し、培養瓶に分注し、121 °C で 15 分間高压滅菌する。

付記 2 ソートンばれいしょ培地

流水で一晩水洗いしたばれいしょ片を、60 °C で 60 分間ソートン培地に漬ける。ルー試験管の下部にソートン培地を入れ、くびれの上部に上記ばれいしょ片を入れる。121 °C で 15 分間高压滅菌する。

付記 3 変法ソートン培地

1,000mL 中

L-アスパラギン一水和物	8.0 g
クエン酸一水和物	2.0 g
リン酸水素二カリウム	0.5 g
硫酸マグネシウム七水和物	0.5 g
クエン酸アンモニウム鉄 (Ⅲ)	0.05 g
濃グリセリン	60.0 mL
塩化カルシウム	66.6 mg
硫酸亜鉛七水和物	26.7 mg
硫酸銅 (Ⅱ) 五水和物	4.14 mg
硝酸コバルト (Ⅱ) 六水和物	1.33 mg
水	残 量

pH を 7.0 ~ 7.2 に調整し、培養瓶に分注し、121 °C で 15 分間高压滅菌する。

付記 4 希釈用液

1,000mL 中

フェノール	5.0 g
リン酸緩衝食塩液 (付記 8)	残 量

付記 5 動物用標準ツベルクリン

動物医薬品検査所から配布される 1 mL 中必要量の国際単位を含有するツベルクリン物質を含有する旧ツベルクリン又はこれと同等の力価を有するもの

付記 6 感作モルモット

牛 10 株と青山B株の加熱死菌を乾燥し、等量ずつ混合した後磨碎し、滅菌流動パラフィンに 1.0mg/mL となるように浮遊させ、それを体重約 400g の白色モルモットの両側の大腿部筋肉内に 0.3mL ずつ注射し、6 週間後、動物用標準ツベルクリンの 1,000、2,000 及び 4,000 倍希釈液をそれぞれ皮内に 0.1mL ずつ注射する。24 時間後、1,000 倍希釈液にあつては 13 ~ 23mm、2,000 倍希釈液にあつては 11 ~ 21mm、4,000 倍希釈液にあつては 9 ~ 19mm の反応を示したものを感作モルモットとし、試験に用いる。

付記 7 平行線検定法

7-1 Validity の検定

動物用標準ツベルクリンを希釈用液で 2 倍に希釈したもの及び検体をそれぞれ希釈液で 500、1,000 及び 2,000 倍に希釈し、標準品及び試験品とする。その 0.1mL ずつをそれぞれ 6 匹以上 24 匹までの感作モルモットの皮内に注射し、24 時間後、それぞれの反応の長径及び短径を mm 単位で計測し、両者の平均を反応値とし、標準品及び試験品について、次式の計算を行う。ただし、標準品の高用量を S_H 、中用量を S_M 、低用量を S_L とし、試験品の高用量を T_H 、中用量を T_M 、低用量を T_L とする。

標準品の用量反応値の合計から

$$\text{標準品の直線性} \quad B = S_H - S_L$$

$$\text{標準品の曲線性} \quad C = S_H \times S_L - 2 \times S_M$$

両検体の用量反応値の合計から

$$\text{両検体の直線性} \quad C_B = B + (T_H - T_L)$$

$$\text{両検体の曲線性} \quad C_C = C + (T_H + T_L - 2 \times T_M)$$

$$\text{両検体の直線非平行性} \quad C_B' = B - (T_H - T_L)$$

$$\text{両検体の曲線非平行性} \quad C_C' = C - (T_H + T_L - 2 \times T_M) \text{ を求める。}$$

上記の式で求めた B 、 C 、 C_B 、 C_B' 、 C_C 及び C_C' の絶対値が全て付表 1 の該当する N 行の B 、 C 、 C_B' 、 C_C 及び C_C' のそれぞれの基準値の範囲内にある場合は、Validity の検定に適合する。

求めた $|B|$ 及び $|C|$ のいずれかが付表 1 の B 及び C のそれぞれの基準値から外れたときには、再試験を行う。

$|B|$ 及び $|C|$ が共に付表 1 の基準値の範囲内にあり、 $|C_B|$ 、 $|C_B'|$ 、 $|C_C|$ 、及び $|C_C'|$ のいずれかが付表 1 の基準値外にあるときは、不適合とする。

7-2 判定

Validity の検定に適合したときは、次式により検体差を求める。

$$\text{検体差 } C_A = (T_H + T_M + T_L) - (S_H + S_M + S_L)$$

この C_A 値が付表 2 の該当する N 行の合格域の範囲内にあるとき、試験に適合とする。

C_A 値が検査継続域にあるときは、更に別の試験動物について、7-1 の試験を実施し、その成績を最初の試験に加えて、Validity の検定を行い、適合したときは、 C_A について付表 2 により合否を判定する。

この繰り返しは合否が決定するまで行う。動物数の合計が 24 匹になるまで行っても、検査継続域にあるときは、試験に適合とする。

C_A 値が不合格域にあるとき、試験品は、不適合とする。

7-3 相対力価の計算

7-2 で適合と判定された場合、次式又は付表 3 によって相対力価を求める。

$$P = \text{anti log } (4/3 \times 0.301 \times Q)$$

$$P : \text{相対力価} \quad Q = C_A / C_B$$

付記 8 リン酸緩衝食塩液

1,000mL 中

リン酸二カリウム

1.45 g

リン酸二水素ナトリウム

19.87 g

塩化ナトリウム

4.80 g

水

残 量

付表1 Validity 検定表

N	標準		2 検 体		
	直線性 B	曲線性 C	直線性 C _B	直線非 平行性 C _{B'}	曲線性 曲線非 平行性 C _C (C _{C'})
6	≧ 5.85	≦ 17.54	≧ 7.75	≦ 13.42	≦ 23.24
7	≧ 6.32	≦ 18.94	≧ 8.37	≦ 14.49	≦ 25.10
8	≧ 6.75	≦ 20.25	≧ 8.95	≦ 15.49	≦ 26.84
9	≧ 7.16	≦ 21.48	≧ 9.49	≦ 16.43	≦ 28.47
10	≧ 7.55	≦ 22.64	≧ 10.00	≦ 17.32	≦ 30.01
11	≧ 7.92	≦ 23.75	≧ 10.49	≦ 18.17	≦ 31.47
12	≧ 8.27	≦ 24.81	≧ 10.96	≦ 18.98	≦ 32.87
13	≧ 8.61	≦ 25.82	≧ 11.40	≦ 19.75	≦ 34.21
14	≧ 8.93	≦ 26.79	≧ 11.84	≦ 20.50	≦ 35.51
15	≧ 9.25	≦ 27.73	≧ 12.25	≦ 21.22	≦ 36.75
16	≧ 9.55	≦ 28.94	≧ 12.65	≦ 21.91	≦ 37.96
17	≧ 9.84	≦ 29.53	≧ 13.04	≦ 22.59	≦ 39.13
18	≧ 10.13	≦ 30.38	≧ 13.42	≦ 23.24	≦ 40.26
19	≧ 10.41	≦ 31.22	≧ 13.79	≦ 23.88	≦ 41.36
20	≧ 10.68	≦ 32.03	≧ 14.15	≦ 24.50	≦ 42.44
21	≧ 10.94	≦ 32.82	≧ 14.50	≦ 25.10	≦ 43.49
22	≧ 11.20	≦ 33.59	≧ 14.84	≦ 25.70	≦ 44.51
23	≧ 11.45	≦ 34.34	≧ 15.17	≦ 26.27	≦ 45.51
24	≧ 11.70	≦ 35.08	≧ 15.50	≦ 26.84	≦ 46.49

Nは、使用動物数である。

付表2 合否判定表

N	不合格域	検査継続域	合格域	検査継続域	不合格域
6	≧ -30.9	-30.8 ~ -1.6	-1.5 ~ 1.5	1.6 ~ 30.8	≧ 30.9
7	≧ -33.6	-33.6 ~ -4.3	-4.2 ~ 4.2	4.3 ~ 33.5	≧ 33.6
8	≧ -36.3	-36.2 ~ -7.0	-6.9 ~ 6.9	7.0 ~ 36.2	≧ 36.3
9	≧ -39.0	-38.9 ~ -9.7	-9.6 ~ 9.6	9.7 ~ 38.9	≧ 39.0
10	≧ -41.7	-41.6 ~ -12.4	-12.3 ~ 12.3	12.4 ~ 41.6	≧ 41.7
11	≧ -44.4	-44.3 ~ -15.1	-15.0 ~ 15.0	15.1 ~ 44.3	≧ 44.4
12	≧ -47.1	-47.0 ~ -17.8	-17.7 ~ 17.7	17.8 ~ 47.0	≧ 47.1
13	≧ -49.8	-49.7 ~ -20.5	-20.4 ~ 20.4	20.5 ~ 49.7	≧ 49.8
14	≧ -52.5	-52.4 ~ -23.2	-23.1 ~ 23.1	23.2 ~ 52.4	≧ 52.5
15	≧ -55.2	-55.1 ~ -25.9	-25.8 ~ 25.8	25.9 ~ 55.1	≧ 55.2
16	≧ -57.9	-57.8 ~ -28.6	-28.5 ~ 28.5	28.6 ~ 57.8	≧ 57.9
17	≧ -60.6	-60.5 ~ -31.3	-31.2 ~ 31.2	31.3 ~ 60.5	≧ 60.6
18	≧ -63.3	-63.2 ~ -34.0	-33.9 ~ 33.9	34.0 ~ 63.2	≧ 63.3
19	≧ -66.0	-65.9 ~ -36.7	-36.6 ~ 36.6	36.7 ~ 65.9	≧ 66.0
20	≧ -68.7	-68.6 ~ -39.4	-39.3 ~ 39.3	39.4 ~ 68.6	≧ 68.7
21	≧ -71.4	-71.3 ~ -42.1	-42.0 ~ 42.0	42.1 ~ 71.3	≧ 71.4
22	≧ -74.1	-74.0 ~ -44.8	-44.7 ~ 44.7	44.8 ~ 74.0	≧ 74.1
23	≧ -76.8	-76.7 ~ -47.5	-47.4 ~ 47.4	47.5 ~ 76.7	≧ 76.8
24	≧ -79.5	-79.4 ~ -50.2	-50.1 ~ 50.1	50.2 ~ 79.4	≧ 79.5

Nは、使用動物数である。

付表3 相対力価の簡易計算表

	Q ≥ 0										Q ≤ 0									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0.0	1.00	1.01	1.02	1.03	1.04	1.05	1.06	1.07	1.08	1.09	1.00	0.99	0.98	0.97	0.96	0.95	0.95	0.94	0.93	0.92
0.1	1.10	1.11	1.12	1.13	1.14	1.15	1.16	1.17	1.18	1.19	0.91	0.90	0.90	0.89	0.88	0.87	0.86	0.85	0.85	0.84
0.2	1.20	1.21	1.23	1.24	1.25	1.26	1.27	1.28	1.30	1.31	0.83	0.82	0.82	0.81	0.80	0.79	0.79	0.78	0.77	0.76
0.3	1.32	1.33	1.34	1.36	1.37	1.38	1.39	1.41	1.42	1.43	0.76	0.75	0.74	0.74	0.73	0.72	0.72	0.71	0.70	0.70
0.4	1.45	1.46	1.47	1.49	1.50	1.52	1.53	1.54	1.56	1.57	0.69	0.68	0.67	0.67	0.67	0.66	0.65	0.65	0.64	0.64
0.5	1.59	1.60	1.62	1.63	1.65	1.66	1.68	1.69	1.71	1.73	0.63	0.52	0.52	0.61	0.61	0.60	0.60	0.59	0.59	0.58
0.6	1.74	1.76	1.77	1.79	1.81	1.82	1.84	1.86	1.87	1.89	0.57	0.56	0.56	0.56	0.55	0.55	0.54	0.54	0.53	0.53
0.7	1.91	1.93	1.95	1.96	1.98	2.00	2.02	2.04	2.06	2.08	0.52	0.51	0.51	0.51	0.50	0.50	0.50	0.49	0.49	0.48
0.8	2.09	2.11	2.13	2.15	2.17	2.19	2.21	2.23	2.26	2.28	0.48	0.47	0.47	0.46	0.46	0.46	0.45	0.45	0.44	0.44
0.9	2.30	2.32	2.34	2.36	2.38	2.41	2.43	2.45	2.47	2.50	0.44	0.43	0.43	0.42	0.42	0.42	0.41	0.41	0.40	0.40
1.0	2.52	2.54	2.57	2.59	2.61	2.64	2.66	2.69	2.71	2.74	0.40	0.39	0.39	0.39	0.38	0.38	0.38	0.37	0.37	0.37
1.1	2.76	2.79	2.82	2.84	2.87	2.89	2.92	2.95	2.98	3.00	0.36	0.36	0.36	0.35	0.35	0.35	0.34	0.34	0.34	0.33
1.2	3.03	3.06	3.09	3.12	3.15	3.17	3.20	3.23	3.26	3.29	0.33	0.33	0.32	0.32	0.32	0.31	0.31	0.31	0.31	0.30
1.3	3.32	3.36	3.39	3.42	3.45	3.48	3.51	3.55	3.58	3.61	0.30	0.30	0.30	0.29	0.29	0.28	0.28	0.28	0.28	0.28
1.4	3.65	3.68	3.71	3.75	3.78	3.82	3.85	3.89	3.93	3.96	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.26	0.26	0.26	0.25	0.25
1.5	4.00	4.04	4.07	4.11	4.15	4.19	4.23	4.27	4.31	4.35	0.25	0.25	0.25	0.24	0.24	0.24	0.24	0.23	0.23	0.23
1.6	4.39	4.43	4.47	4.51	4.55	4.59	4.64	4.68	4.72	4.77	0.23	0.23	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.21	0.21	0.21
1.7	4.81	4.86	4.90	4.95	4.99	5.04	5.09	5.13	5.18	5.23	0.21	0.21	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.19	0.19	0.19
1.8	5.28	5.33	5.38	5.43	5.48	5.53	5.58	5.63	5.68	5.74	0.19	0.19	0.19	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.17
1.9	5.79	5.84	5.90	5.95	6.01	6.06	6.12	6.18	6.23	6.29	0.17	0.17	0.17	0.17	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16

付表1で求めた対比から $Q = C_A / C_B$ を計算し、Qが正の値なら左表を、Qが負の値なら右表を用いて相対力価を求める。

表中2行目「0~9」の数値は、左端の縦の欄の数値に続く小数点以下2桁目の数値を示す。

(別紙2)

○農林水産省告示第九十六号

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律施行令（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第一項の規定に基づき、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。

平成二十八年一月二十日

農林水産大臣 森山 裕

（「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（シードロット製剤を除く。）の部の豚サーコウイルス（2型・組換え型）感染症・マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症混合（カルボキシビニルポリマーアジュバント加）不活化ワクチンの項の次に次のように加える。

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）・豚繁殖・呼吸障害症候群・マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症（カルボキシビニルポリマーアジュバント加）混合ワクチン

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（以下この項において「PCV2ORF2」という。）遺伝子を挿入したバキュ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、カルボキシビニルポリマーアジュバントを添加したワクチン（以下この項において「PCV2 ワクチン」という。）、弱毒豚繁殖・呼吸障害症候群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（以下この項において「PRRS ワクチン」という。）及びマイコプラズマ・ハイオニューモニエの培養菌液を不活化し、カルボキシビニルポリマーアジュバントを添加したワクチン（以下この項において「Mhp ワクチン」という。）を使用時に混合するワクチンである。

1 小分製品の試験

1.1 無菌試験

PCV2 ワクチンと Mhp ワクチンを等量混合したもので PRRS ワクチンを溶解したもの（以下この項において「混合ワクチン」という。）について、一般試験法の無菌試験法により試験を行い、これに適合しなければならない。

1.2 ウイルス含有量試験

1.2.1 試験材料

1.2.1.1 試料

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

1.2.1.2 細胞

MA-104 細胞又は適当と認められた培養細胞を 96 穴プレートに培養し、単層となったものを用いる。

1.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 6 穴以上の培養細胞に接種し、37℃で 8 日間培養し観察する。

1.2.3 判定

培養細胞に CPE を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。

試験品のウイルス含有量は、1 頭分当たり 10^{4.9} ~ 10^{6.7}TCID₅₀ の範囲内でなければならない。

1.3 安全試験

1.3.1 試験材料

1.3.1.1 注射材料

混合ワクチンを注射材料とする。

1.3.1.2 試験動物

3 ~ 5 週齢の豚を用いる。

1.3.2 試験方法

注射材料 1 頭分ずつを 2 頭の試験動物の頸部筋肉内に注射し、21 日間観察する。

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。

1.4 力価試験

1.4.1 豚サーコウイルス 2 型感染症力価試験

1.4.1.1 試験材料

1.4.1.1.1 注射材料

混合ワクチンをワクチン希釈液（付記 2）で 10 倍に希釈した後、更に生理食塩液で 2 倍に希釈したものを注射材料とする。

1.4.1.1.2 試験動物

6～7 週齢の SPF の ddY 系雌マウスを用いる。

1.4.1.1.3 酵素抗体反応（以下この項において ELISA という。）用抗原

固相化抗原 1（付記 3）を用いる。

1.4.1.2 試験方法

試験動物の 20 匹を試験群、10 匹を対照群とする。

注射材料 0.2mL ずつを試験群の腹部皮下に注射する。注射後 4 週間目に、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。

試験群及び対照群の血清並びに参照陽性血清 1（付記 4）をブロッキング液（付記 5）で 10 倍に希釈したものを、更に同液で 2 倍階段希釈する。これらの血清希釈液を抗原吸着プレート 1（付記 6）の穴に 100 μ L ずつ加え、ブロッキング液のみの穴を血清対照とする。37℃で 1 時間反応させた後、洗浄液（付記 7）で 3 回洗浄する。次に、ブロッキング液で至適濃度に希釈した酵素標識抗体（付記 8）を各穴に 100 μ L ずつ加え、37℃で 1 時間反応させた後、洗浄液で 3 回洗浄する。その後、基質液（付記 9）を各穴に 100 μ L ずつ加えて 10 分間反応させた後、各穴に 1 mol/L 塩酸を 100 μ L ずつ加えて反応を停止させ、波長 450nm で吸光度を測定する。

1.4.1.3 判定

血清対照の各穴の吸光度値の平均値に 0.5 を加えた値以上の吸光度値を示した血清の最高希釈倍数を抗体価とする。

試験群では、70 % 以上が抗体価 640 倍以上でなければならない。この場合において、対照群では、全て抗体価 20 倍以下でなければならない。また、参照陽性血清 1 は、抗体価 640 ～ 1280 倍でなければならない。

1.4.2 豚繁殖・呼吸障害症候群力価試験

1.4.2.1 試験材料

1.4.2.1.1 試験動物

1.3 の試験に用いた動物を用いる。

1.4.2.1.2 感染細胞

MA-104 細胞を 8 チャンバースライドに 37℃で培養し、単層を形成させたものに豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス JJ1882 株を 1 チャンバー当たり $10^{3.5}$ TCID₅₀ 以上接種する。37℃で 1～2 日間培養した後、生理食塩液及び蒸留水で洗浄し、乾燥する。その後、冷アセトン・エタノール（1：1）液で固定後乾燥させたものを感染細胞とし、8℃以下で密封保存する。

1.4.2.2 試験方法

1.3 の試験終了後 7 日目に得られた各個体の血清について、蛍光抗体法を行う。

被検血清を生理食塩液で 20 倍希釈した後、更に 2 倍階段希釈する。感染細胞に各希釈液を加え、37℃で 60 分間処理した後、生理食塩液で洗浄し、抗豚 IgG 蛍光標識抗体（付記 10）を加え、37℃で 60 分間処理した後、生理食塩液で洗浄し、UV 励起方式で観察する。

1.4.2.3 判定

特異蛍光が認められた血清の最高希釈倍数を抗体価とする。

試験動物の抗体価は、40 倍以上でなければならない。

1.4.3 マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症力価試験

1.4.3.1 試験材料

1.4.3.1.1 注射材料

混合ワクチンをワクチン希釈液で 90 倍に希釈した後、更に生理食塩液で 2 倍に希釈したものを注射材料とする。

1.4.3.1.2 試験動物

6～7 週齢の SPF の ddY 系雌マウスを用いる。

1.4.3.1.3 ELISA 用抗原

固相化抗原 2（付記 11）を用いる。

1.4.3.2 試験方法

試験動物の 20 匹を試験群、10 匹を対照群とする。

注射材料 0.2mL ずつを試験群の腹部皮下に注射する。注射後 3 週間目に、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。

試験群及び対照群の血清並びに参照陽性血清 2（付記 12）をブロッキング液で 10 倍に希釈したものを、更に同液で 2 倍階段希釈する。これらの血清希釈液を抗原吸着プレート 2（付記 13）の穴に 100 μ L ずつ加え、ブロッキング液のみの穴を血清対照とする。37 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、洗浄液で 3 回洗浄する。次に、ブロッキング液で至適濃度に希釈した酵素標識抗体を各穴に 100 μ L ずつ加え、37 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた後、洗浄液で 3 回洗浄する。その後、基質液を各穴に 100 μ L ずつ加えて 10 分間反応させた後、各穴に 1 mol/L 塩酸を 100 μ L ずつ加えて反応を停止させ、波長 450nm で吸光度を測定する。

1.4.3.3 判定

血清対照の各穴の吸光度値の平均値に 0.5 を加えた値以上の吸光度値を示した血清の最高希釈倍数を抗体価とする。

試験群では、70 % 以上が抗体価 320 倍以上でなければならない。この場合において、対照群では、全て抗体価 20 倍以下でなければならない。また、参照陽性血清 2 は、抗体価 320～640 倍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

牛胎子血清

20～50 mL

イーグル MEM

残量

炭酸水素ナトリウムで pH を 6.8～7.0 に調整する。

必要最小量の抗生物質を加えてもよい。

付記 2 ワクチン希釈液

0.5w/v %カルボキシビニルポリマー液（付記 14）を生理食塩液で 5 倍に希釈したもの。

付記 3 固相化抗原 1

適当と認められたクロマトグラフィーによって精製した PCV2ORF2 画分。

付記 4 参照陽性血清 1

試験品で免疫した ddy 系マウスの血清であって、1.4.1 の試験により抗体価が 640～1280 倍となるように濃度を調整したもの。

付記5 ブロッキング液

洗浄液にスキムミルクを 5.0w/v % になるように加えたもの。

付記6 抗原吸着プレート1

固相化抗原1をトリス緩衝食塩液(付記15)で100倍に希釈し、96穴ELISAプレートの各穴に100 μ Lずつ加え、37 $^{\circ}$ Cで1時間反応させた後、洗浄液で3回洗浄する。その後、ブロッキング液を各穴に100 μ Lずつ加え、37 $^{\circ}$ Cで1時間反応させた後、洗浄液で3回洗浄したもの。

付記7 洗浄液

1,000mL 中

ポリソルベート20

0.5 mL

トリス緩衝食塩液

残量

pHを7.2~7.4に調整する。

付記8 酵素標識抗体

ペルオキシダーゼ標識した抗マウスIgG(H+L)山羊血清

付記9 基質液

3,3',5,5'-テトラメチルベンチジンを含むペルオキシダーゼ基質液

付記10 抗豚IgG 蛍光標識抗体

抗豚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。

付記11 固相化抗原2

マイコプラズマ・ハイオニューモニエ製造用株又はこれと同等の免疫原性を有する株の培養菌液を遠心集菌し、菌体を洗浄した後、超音波処理をしてたん白質濃度が約173 μ g/mLとなるように調整した抗原。

付記12 参照陽性血清2

マイコプラズマ・ハイオニューモニエ製造用株又はこれと同等の免疫原性を有する株の培養菌液を不活化した抗原で免疫したマウスの血清であって、1.4.3の試験により抗体価が320~640倍となるように濃度を調整したもの。凍結して-50 $^{\circ}$ C以下で保存する。

付記13 抗原吸着プレート2

固相化抗原2をトリス緩衝食塩液で25倍に希釈し、96穴ELISAプレートの各穴に100 μ Lずつ加え、37 $^{\circ}$ Cで1時間反応させた後、洗浄液で3回洗浄する。その後、ブロッキング液を各穴に100 μ Lずつ加え、37 $^{\circ}$ Cで1時間反応させた後、洗浄液で3回洗浄したもの。

付記14 0.5w/v%カルボキシビニルポリマー液

1,000mL 中

カルボキシビニルポリマー

5 g

水

残量

pHを7.2~7.5に調整して、121 $^{\circ}$ Cで30分間高圧滅菌する。

付記 15 トリス緩衝食塩液

1,000mL 中

トリスヒドロキシメチルアミノメタン

2.42 g

塩化ナトリウム

8.77 g

水

残 量

pH を 7.2 ~ 7.4 に調整する。

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部の猫ウイルス性鼻気管炎・猫カリシウイルス感染症・猫汎白血球減少症・猫白血病（組換え型）混合（油性アジュバント加）不活化ワクチンの項の次に次のように加える。

猫ウイルス性鼻気管炎・猫カリシウイルス感染症 2 価・ 猫汎白血球減少症・猫白血病（猫白血病ウイルス由来防 御抗原たん白遺伝子導入カナリア痘ウイルス）混合ワク チン

弱毒猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス及び弱毒猫汎白血球減少症ウイルスをそれぞれ培養細胞で増殖させて得たウイルス液と 2 種類の猫カリシウイルスをそれぞれ培養細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化したものを混合し、凍結乾燥したもの（以下この項において「混合ワクチン」という。）と、猫白血病ウイルスの *env* たん白、*gag* たん白及び *pol* たん白をコードする遺伝子の一部を組み込んだ弱毒カナリア痘ウイルスを培養細胞で増殖させて得たウイルス液（以下この項において「液状ワクチン」という。）を組み合わせたワクチンである。

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 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 及び 2.6.1 を準用して試験するとき、これらに適合しなければならない。

ただし、試料作製には中和用抗血清として抗猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス血清（付記 1）及び抗猫汎白血球減少症ウイルス血清（付記 2）をそれぞれ非働化したものを用いる。

1.3 ウイルス含有量試験

1.3.1 猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス含有量試験

1.3.1.1 試料

混合ワクチンを液状ワクチンと同量のリン酸緩衝食塩液で溶解したもの（以下この項において「溶解ワクチン」という。）を抗猫汎白血球減少症ウイルス血清を非働化したものを加えて 37 °C 1 時間反応させたものをウイルス増殖用培養液（付記 3）で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

1.3.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞を用いる。

1.3.1.3 試験方法

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

1.3.1.4 判定

培養細胞に CPE を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。

試験品のウイルス含有量は、1 頭分当たり 10^{4.9}TCID₅₀ 以上でなければならない。

1.3.2 猫汎白血球減少症ウイルス含有量試験

1.3.2.1 試料

溶解ワクチンを抗猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス血清を非働化したものを加えて 37 °C で 1 時間反応させたものをウイルス増殖用培養液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

1.3.2.2 培養細胞

猫腎継代細胞を用いる。

1.3.2.3 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ培養細胞浮遊液を分注した 4 本（穴）以上に接種し、37℃で 24 時間培養した後、ウイルス増殖用培養液と交換し、更に 37℃で 6 日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液（付記 4）を加え、更にこの混合液と等量の VAD6.0 液（付記 5）により濃度を調整した 0.3 ~ 0.5 % 豚血球浮遊液を加え、2 ~ 5℃で静置した後、観察する。

1.3.2.4 判定

培養液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。

試験品のウイルス含有量は、1 頭分当たり 10^{3.5}TCID₅₀ 以上でなければならない。

1.3.3 猫白血病ウイルス由来防御抗原たん白発現遺伝子導入カナリア痘ウイルス含有量試験

1.3.3.1 試験材料

1.3.3.1.1 試料

液状ワクチンをウイルス増殖用培養液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

1.3.3.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の発育鶏卵由来鶏胚細胞を用いる。

1.3.3.2 試験方法

試料の 0.1mL ずつを 96 穴プレートの 5 穴以上の鶏胚細胞浮遊液に接種し、37℃で 7 日間培養する。

1.3.3.3 判定

特徴的な CPE を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。

試験品のウイルス含有量は、1 頭分当たり 10^{7.2}TCID₅₀ 以上でなければならない。

1.4 猫白血病ウイルス由来防御抗原たん白発現遺伝子導入カナリア痘ウイルス同定試験

1.4.1 試験材料

1.4.1.1 試料

液状ワクチンを牛胎子血清無添加のウイルス増殖用培養液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

1.4.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の発育鶏卵由来鶏胚細胞を用いる。

1.4.2 試験方法

試料の 0.1mL ずつを 96 穴プレートの 2 穴の鶏胚細胞に接種し、37℃で 3 日間培養する。アセトン固定した後、これにリン酸緩衝食塩液で希釈した FITC 標識抗カナリア痘ウイルスモノクローナル抗体（付記 6）及びローダミン標識抗猫白血病ウイルス gp70 たん白モノクローナル抗体（付記 7）の混合液を 0.08mL 加え、37℃で 30 分間静置する。蒸留水で洗浄後、490nm 及び 550nm 励起フィルターを用いて蛍光顕微鏡で特異蛍光を観察する。

1.4.3 判定

カナリア痘ウイルス及び猫白血病ウイルス gp70 たん白に対する特異蛍光が認められなければならない。

1.5 異常毒性否定試験

一般試験法の異常毒性否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

1.6 猫カリシウイルス感染症力価試験

1.6.1 試験材料

1.6.1.1 試料

混合ワクチンを液状ワクチンと同量の注射用水で溶解したものを試料とする。

1.6.2 試験方法

96 穴 ELISA 用プレート各穴に捕捉用抗猫カリシウイルス抗体（付記 8）を 120 μ L ずつ加え、5 $^{\circ}$ C で 1 夜静置後、TNE 緩衝液（付記 9）300 μ L で 1 回洗浄して固相化プレートとする。

固相化プレートの各穴に ELISA 用緩衝液（付記 10）を 100 μ L ずつ加える。最初の列の 2 穴ずつに試料及び猫カリシウイルス抗原定量 ELISA 参照品（以下この項において「参照品」という。）（付記 11）を 100 μ L ずつ加えて 2 倍階段希釈し、37 $^{\circ}$ C で 3 時間反応させる。TNE 緩衝液 300 μ L で 1 回洗浄した後、猫カリシウイルス抗原定量 ELISA 用モノクローナル抗体（付記 12）を 100 μ L ずつ各穴に加え、37 $^{\circ}$ C で 1 時間静置する。TNE 緩衝液 300 μ L で 3 回洗浄した後、全穴に基質液（付記 13）を 100 μ L ずつ加え、遮光して 20 $^{\circ}$ C で 30 分間反応させる。反応停止液（付記 14）を 50 μ L ずつ加え、主波長 450nm 及び補正波長 630nm の 2 波長で吸光度（OD）を測定する。

以下の計算式により OD₅₀ を算出し、OD₅₀ を示す検体の希釈倍数を抗原量として ELISA 単位 (log₁₀) で表す。

$$OD_{50} = (OD_{max} + OD_{min}) / 2$$

OD_{max}: 参照品の最大 OD の平均

OD_{min}: 参照品の最小 OD の平均

$$\text{抗原量 (log 2)} = (OD_{50} - \text{定数}) / \text{傾き}$$

定数及び傾き: OD と抗原希釈倍数の対数について OD₅₀ を挟む 2 点の回帰直線の定数及び傾き

上記の計算式で算出した抗原量 (log 2) の値を ELISA 単位 (log₁₀) に換算する。

1.6.3 判定

参照品が所定の抗原量を示すとき、試験品の抗原量は、2.0log₁₀ELISA 単位以上でなければならない。

付記 1 抗猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス血清

猫ウイルス性鼻気管炎ウイルスで免疫した血清であって、試験品のウイルスを完全に中和する力価を有するもの。

付記 2 抗猫汎白血球減少症ウイルス血清

猫汎白血球減少症ウイルスで免疫した血清であって、試験品のウイルスを完全に中和する力価を有するもの。

付記 3 ウイルス増殖用培養液

1000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス

2.95 g

牛胎子血清

0 ~ 20 mL

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。

必要最小限の抗生物質を加えてもよい。

付記 4 牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液

1,000mL 中

塩化ナトリウム

7.01 g

ホウ酸

3.09 g

水酸化ナトリウム

0.96 g

水

残量

牛血清アルブミンを 0.2w/v % となるように加えた後、水酸化ナトリウム液で pH を 9.0 に調整する。

付記 5 VAD6.0 液

1,000mL 中

塩化ナトリウム	8.77 g
無水リン酸水素二ナトリウム	5.68 g
リン酸二水素ナトリウム二水和物	40.56 g
水	残 量

牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液と等量混合して、pH を 6.0 に調整する。

付記 6 FITC 標識抗カナリア痘ウイルスモノクローナル抗体

FITC 標識抗カナリア痘ウイルスモノクローナル抗体をリン酸緩衝食塩液で濃度を調整して使用する。

付記 7 ローダミン標識抗猫白血病ウイルス gp70 たん白モノクローナル抗体

ローダミン標識抗白血病ウイルス gp70 たん白モノクローナル抗体をリン酸緩衝食塩液で濃度を調整して使用する。

付記 8 捕捉用抗猫カリシウイルス抗体

猫を猫カリシウイルス G1 株で免疫して得た血清であって、炭酸ナトリウム緩衝液（付記 15）で至適濃度に希釈して使用する。- 20 °C で保存し、凍結融解は避ける。

付記 9 TNE 緩衝液

1,000mL 中

塩化ナトリウム	8.77 g
トリス	1.21 g
ポリソルベート 20	1 mL
精製水	残 量

pH を 7.5 ± 0.2 に調整する。

付記 10 ELISA 用緩衝液

1,000mL 中

トリス	2.42 g
塩化ナトリウム	8.77 g
牛血清アルブミン	10 g
ポリソルベート 20	0.5 mL

pH を 7.2 に調整する。

付記 11 猫カリシウイルス抗原定量 ELISA 参照品

猫カリシウイルス G1 株又は 431 株を含有する濃縮精製抗原又は凍結乾燥ワクチン（G1 株及び 431 株）を注射用水で溶解したものであって、抗原量が明らかなもの。

本 ELISA で抗原量を測定するとき、所定の抗原量を示さなければならない。

付記 12 猫カリシウイルス抗原定量 ELISA 用モノクローナル抗体

ペルオキシダーゼ標識抗猫カリシウイルス p66 モノクローナル抗体

付記 13 基質液

本 ELISA に適当なテトラメチルベンジジン溶液

付記 14 反応停止液

0.5 mol/L 硫酸液

付記 15 炭酸ナトリウム緩衝液

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 0.2g を加えてもよい。

ワクチン（シードロット製剤）の部の牛伝染性鼻気管炎・牛パラインフルエンザ混合生ワクチン（シード）の次に次のように加える。

アカバネ病・チュウザン病・アイノウイルス感染症・ピートンウイルス感染症混合（アジュバント加）不活化ワクチン（シード）

シードロット規格に適合したアカバネウイルス、カสบウイルス、アイノウイルス及びピートンウイルスをそれぞれ同規格に適合した培養細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化し、混合した後、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 異常毒性否定試験

一般試験法の異常毒性否定試験法により試験を行い、これに適合しなければならない。

1.3 力価試験

1.3.1 試験材料

1.3.1.1 試験材料

1.3.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

1.3.1.1.2 試験動物

体重約 350g のモルモットを用いる。

1.3.1.1.3 中和試験用ウイルス

1.3.1.1.3.1 アカバネウイルス

HmLu-1 細胞又は適当と認められた細胞で増殖させたアカバネウイルス E-24-KB 株を用いる。

1.3.1.1.3.2 カสบウイルス

BHK-21 (C-13) 細胞又は適当と認められた細胞で増殖させたカสบウイルス K-47-KB 株を用いる。

1.3.1.1.3.3 アイノウイルス

HmLu-1 細胞又は適当と認められた細胞で増殖させたアイノウイルス JaNAr28-KB 株を用いる。

1.3.1.1.3.4 ピートンウイルス

HmLu-1 細胞又は適当と認められた細胞で増殖させたピートンウイルス NS/3-KB 株を用いる。

1.3.1.4 培養細胞

HmLu-1 細胞及び Vero-T 細胞を小試験管に 1～3 日間培養し、単層となったものを用いる。

1.3.2 試験方法

注射材料 0.5mL ずつを 5 匹の試験動物に 3 週間隔で 2 回筋肉内注射し、第 2 回目の注射後 10 日に得られた各個体の血清について中和試験を行う。

被検血清を非働化した後、ウイルス増殖用培養液（付記 1）で 2 倍階段希釈する。各希釈血清 0.5mL と 0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液 0.5mL とを等量混合し、アカバネウイルス、アイノウイルス及びピートンウイルスでは 37℃ で 60 分間、カสบウイルスでは 90 分間処理する。この各混合液 0.1mL ずつをアカバネウイルス、アイノウイルス及びピートンウイルスではそれぞれ 4 本の HmLu-1 細胞に、カสบウイルスではそれぞれ 4 本の Vero-T 細胞に接種し、37℃ で 60 分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を 0.5mL ずつ加え、アカバネウイルス、カス

バウウイルス及びピートンウイルスは 37℃、アイノウイルスは 34～36℃で7日間回転培養し、観察する。

1.3.3 判定

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

アカバネウイルス及びピートンウイルスでは中和抗体価16倍以上、カスバウイルスでは中和抗体価32倍以上、アイノウイルスでは中和抗体価8倍以上を中和抗体陽性とする。

試験動物の中和抗体陽性率は、それぞれのウイルスに対して80%以上でなければならない。

2 中間製品の試験

2.1 不活化試験

2.1.1 試験材料

2.1.1.1 試料

100倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、それぞれ検体5mLずつを4℃で一夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

2.1.1.2 培養細胞

HmLu-1細胞及びVero-T細胞を培養瓶に1～3日間培養し、単層となったものを用いる。

2.1.2 試験方法

2.1.2.1 不活化アカバネウイルス中間製品、不活化アイノウイルス中間製品及びピートンウイルス中間製品の試験

それぞれの試料の全量を1mLにつき3cm²以上のHmLu-1細胞に接種し、アカバネウイルス及びピートンウイルスでは37℃で、アイノウイルスでは34℃で60分間静置吸着させた後、試料を抜き取り、ウイルス増殖用培養液を加え、アカバネウイルス及びピートンウイルスでは37℃で、アイノウイルスでは34～36℃で7日間培養し、観察する。

2.1.2.2 不活化カスバウイルス中間製品の試験

試料の全量を1mLにつき3cm²以上のVero-T細胞に接種し、34℃で60分間静置吸着させた後、試料を抜き取り、ウイルス増殖用培養液を加え、34～36℃で5日間培養した後、細胞を次代に継代する。単層形成後に培養液を抜き取り、ウイルス増殖用培養液を加え、34～36℃で5日間培養した後、更に次代に継代し、2代目と同様の方法で培養し、観察する。

2.1.3 判定

培養細胞にCPEを認めない場合、活性ウイルス陰性と判定する。

それぞれの検体に活性ウイルスを認めてはならない。

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・ブロス 2.95 g

グルタミン酸ナトリウム 5.0 g

ブドウ糖 1.0 g

酵母エキス 0.5 g

牛血清 10～20 mL

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。

牛血清は、アカバネウイルス、カスバウイルス、アイノウイルス及びピートンウイルスに対する中和抗体陰性のものを用いる。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

ワクチンの部の豚オーエスキー病（g I -、 t k -）生ワクチン（酢酸トコフェロールアジュバント加溶解用液）の項を次のように改める。

豚オーエスキー病（g I -、 t k -）生ワクチン（酢酸トコフェロールアジュバント加溶解用液）

動生剤基準の豚オーエスキー病（g I -、 t k -）生ワクチン（酢酸トコフェロールアジュバント加溶解用液）の3.3.4、3.3.6、3.3.7、3.3.8及び3.3.9に規定するところにより、これらに規定する試験を行うものとする。

ワクチンの部の豚サーコウイルス（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）不活化ワクチンの項を次のように改める。

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

動生剤基準の豚サーコウイルス（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3.3.2、3.3.4及び3.3.5に規定するところにより、これらに規定する試験を行うものとする。

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部の豚サーコウイルス（2型）感染症（1型-2型キメラ）（デキストリン誘導体アジュバント加）不活化ワクチンの項の「1型-2型キメラ」を「1型-2型キメラ」に、同項の1.2.1.2中「培養びん」を「培養びん」に、同項の付記13中「2vol %」を「2 vol %」に、同項の付記15中「N'-N'-ジメチルホルムアルデヒド」を「N,N'-ジメチルホルムアミド」に改める。

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部の豚サーコウイルス（2型・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・マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症（カルボキシビニルポリマーアジュバント加）不活化ワクチンの項の付記11中「26v/v % N'-N'-ジメチルホルムアルデヒド」を「26vol % N,N'-ジメチルホルムアミド」に改める。

(別紙3)

○農林水産省告示第九十七号

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律施行令（昭和三十六年政令第十一号）第八十三条の規定により読み替えて適用される同令第五十八条及び動物用医薬品等取締規則（平成十六年農林水産省令第七号）第五十四条第一項の規定に基づき、動物用医薬品の検定手数料並びに試験品及び出願者の保存用品として抜き取らせるべき数量（平成二十五年六月十八日農林水産省告示第二千九号）の一部を次のように改正し、公布の日から施行する。

平成二十八年一月二十日

農林水産大臣 森山 裕

表ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部中

「豚オースキー病（g I - 、 t k -）生ワクチン（酢 酸トコフエロールアジユバ	842,400	52,500	13	2
---	---------	--------	----	---

を

「ント加溶解用液)						
「豚オーエスキー病 (g I - 、 t k -) 生ワクチン (酢 酸トコフェロールアジュバ ント加溶解用液)	780,600	52,500			13	2
「豚サーコウイルス (2型・ 組換え型) 感染症・マイコ プラズマ・ハイオニューモ ニエ感染症混合 (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	689,600	23,800		10	10	2
「豚サーコウイルス (2型・ 組換え型) 感染症・マイコ	689,600	23,800		10	10	2

に

を

プラズマ・ハイオニューモ ニエ感染症混合（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						
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）・豚繁殖・呼吸 障害症候群・マイコプラズ マ・ハイオニューモニエ感 染症（カルボキシビニルポ リマーアジュバント加）混	827,600	57,800	11	11	2	

27

合ワクチン						
「猫ウイルス性鼻気管炎・猫 カリシウイルス感染症・猫 汎白血球減少症・猫白血病 （組換え型）混合（油性ア ジュバント加）不活化ワク チン	557,000	23,800	48			2
「猫ウイルス性鼻気管炎・猫 カリシウイルス感染症・猫 汎白血球減少症・猫白血病 （組換え型）混合（油性ア ジュバント加）不活化ワク チン	557,000	23,800	48			2

セ

猫ウイルス性鼻気管炎・猫カリシウイルス感染症2価 ・猫汎白血球減少症・猫白血病（猫白血病ウイルス由来防御抗原たん白遺伝子導入カナリア痘ウイルス）混合ワクチン	366,900	228,900	29			2	に
---	---------	---------	----	--	--	---	---

※

概算（ホームページ参照）

牛伝染性鼻気管炎・牛パラインフルエンザ混合生ワクチン（シード）	944,100	230,400	18		14	2	地
---------------------------------	---------	---------	----	--	----	---	---

「牛伝染性鼻気管炎・牛パラ インフルエンザ混合生ワク チン（シード）	944,100	230,400	18		14	2	
アカバネ病・チュウザン病 ・アイノウイルス感染症・ ピートンウイルス感染症混 合（アジュバント加）不活 化ワクチン（シード）	698,600	23,800	19	11	10	2	」

改訂

(別紙4)
 「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律関係事務の取扱いについて」(平成12年3月31日付け12畜A第729号農林水産省畜産局長通知)
 (下線部分は改正部分)

改正後		現行	
別表第4 動物用医薬品の検定に関する標準処理期間		別表第4 動物用医薬品の検定に関する標準処理期間	
製 剤	標準処理期間(日)	製 剤	標準処理期間(日)
(ワクチン(シードロット製剤を除く。))の部		(ワクチン(シードロット製剤を除く。))の部	
(略)	(略)	(略)	(略)
豚オーエスキー病(gI-, tk-)生ワクチン(酢酸トコフェロールアジュバント加溶解用液)	90	豚オーエスキー病(gI-, tk-)生ワクチン(酢酸トコフェロールアジュバント加溶解用液)	100
(略)		(略)	
豚サーコウイルス(2型・組換え型)感染症・マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症混合(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	70	豚サーコウイルス(2型・組換え型)感染症・マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症混合(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	70
<u>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)・豚繁殖・呼吸障害症候群・マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症(カルボキシビニルポリマーアジュバント加)混合ワクチン</u>	90	(新設)	
(略)		(略)	
猫ウイルス性鼻気管炎・猫カリシウイルス感染症・猫汎白血球減少症・猫白血病(組換え型)混合(油性アジュバント加)不活化ワクチン	80	猫ウイルス性鼻気管炎・猫カリシウイルス感染症・猫汎白血球減少症・猫白血病(組換え型)混合(油性アジュバント加)不活化ワクチン	80
<u>猫ウイルス性鼻気管炎・猫カリシウイルス感染症2価・猫汎白血球減少症・猫白血病(猫白血病ウイルス由来防御抗原たん白遺伝子導入カナリア痘ウイルス)混合ワクチン</u>	50	(新設)	
(略)		(略)	
(ワクチン(シードロット製剤)の部)		(ワクチン(シードロット製剤)の部)	

(略)	(略)	(略)	(略)
牛伝染性鼻気管炎・牛パラインフルエンザ混合生ワクチン (シード)	100	牛伝染性鼻気管炎・牛パラインフルエンザ混合生ワクチン (シード)	100
<u>アカバネ病・チュウザン病・アイノウイルス感染症・ピー トンウイルス感染症混合(アジュバント加)不活化ワクチ ン(シード)</u>	<u>80</u>	(新設)	
(略)	(略)	(略)	(略)