

動物用生物学的製剤基準の一部を改正する件 新旧対照表

○動物用生物学的製剤基準（平成 14 年 10 月 3 日農林水産省告示第 1567 号）

次の表により、改正後欄に掲げる規定の傍線を付した部分を加える。

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部</p> <p><b>鶏サルモネラ症（サルモネラ・エンテリティデイス・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</b></p> <p>（略）</p> <p><b><u>鶏サルモネラ症（サルモネラ・インファンティス、サルモネラ・エンテリティデイス、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</u></b></p> <p>1 定義 <u>サルモネラ・インファンティス（以下この項において「SI」という。）</u>、<u>サルモネラ・エンテリティデイス（以下この項において「SE」という。）</u>及び<u>サルモネラ・ティフィムリウム（以下この項において「ST」という。）</u>のそれぞれの培養菌液を不活化し、濃縮したものを混合し、油性アジュバントを添加したワクチンである。</p> <p>2 製法</p> <p>2.1 製造用株</p> <p>2.1.1 SI</p> <p>2.1.1.1 名称 SI KUVZ-0005株又はこれと同等と認められた株</p> <p>2.1.1.2 性状 SI基準株に一致する生物学的性状及び血清学的性状を示す。</p> <p>2.1.1.3 継代及び保存 原株及び種菌は、<u>適当と認められた培地で継代する。</u> 継代は、原株では3代以内、種菌では5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。</p>	<p>ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部</p> <p><b>鶏サルモネラ症（サルモネラ・エンテリティデイス・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</b></p> <p>（略）</p> <p>（新設）</p>

原株及び種菌は、凍結して-60℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

## 2.1.2 SE

### 2.1.2.1 名称

SE KUVZ-0792株又はこれと同等と認められた株

### 2.1.2.2 性状

SE基準株に一致する生物学的性状及び血清学的性状を示す。

### 2.1.2.3 継代及び保存

原株及び種菌は、適当と認められた培地で継代する。

継代は、原株では3代以内、種菌では5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-60℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

## 2.1.3 ST

### 2.1.3.1 名称

ST KUVZ-0301株又はこれと同等と認められた株

### 2.1.3.2 性状

ST基準株に一致する生物学的性状及び血清学的性状を示す。

### 2.1.3.3 継代及び保存

原株及び種菌は、適当と認められた培地で継代する。

継代は、原株では3代以内、種菌では5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-60℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

## 2.2 製造用材料

### 2.2.1 培地

製造に適当と認められた培地を用いる。

## 2.3 原液

### 2.3.1 SI原液

#### 2.3.1.1 培養

種菌を培地に接種し、培養したものを更に培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.1の試験を行う。

#### 2.3.1.2 不活化

培養菌液にホルマリンを加えて不活化したものを不活化菌液とする。

不活化菌液について、3.2の試験を行う。

#### 2.3.1.3 原液

<p><u>不活化菌液を濃縮したものを原液とする。</u> <u>原液について、3.3の試験を行う。</u></p> <p><u>2.3.2 SE原液</u></p> <p><u>2.3.2.1 培養</u> <u>種菌を培地に接種し、培養したものを更に培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。</u> <u>培養菌液について、3.1の試験を行う。</u></p> <p><u>2.3.2.2 不活化</u> <u>培養菌液にホルマリンを加えて不活化したものを不活化菌液とする。</u> <u>不活化菌液について、3.2の試験を行う。</u></p> <p><u>2.3.2.3 原液</u> <u>不活化菌液を濃縮したものを原液とする。</u> <u>原液について、3.3の試験を行う。</u></p> <p><u>2.3.3 ST原液</u></p> <p><u>2.3.3.1 培養</u> <u>種菌を培地に接種し、培養したものを更に培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。</u> <u>培養菌液について、3.1の試験を行う。</u></p> <p><u>2.3.3.2 不活化</u> <u>培養菌液にホルマリンを加えて不活化したものを不活化菌液とする。</u> <u>不活化菌液について、3.2の試験を行う。</u></p> <p><u>2.3.3.3 原液</u> <u>不活化菌液を濃縮したものを原液とする。</u> <u>原液について、3.3の試験を行う。</u></p> <p><u>2.4 最終バルク</u> <u>各原液を必要に応じて濃度調整した後、油性アジュバントを添加し、混合したものを最終バルクとする。</u></p> <p><u>2.5 小分製品</u> <u>最終バルクを小分容器に分注して、小分製品とする。</u> <u>小分製品について、3.4の試験を行う。</u></p> <p><u>3 試験法</u></p> <p><u>3.1 培養菌液の試験</u></p> <p><u>3.1.1 夾雑菌否定試験</u></p> <p><u>3.1.1.1 試験材料</u></p> <p><u>3.1.1.1.1 試料</u> <u>検体を試料とする。</u></p> <p><u>3.1.1.1.2 培地</u></p>	
---	--

<p><u>適当と認められた寒天培地を用いる。</u></p> <p><u>3.1.1.2 試験方法</u> <u>試料を2枚以上の寒天培地に接種し、36±2℃で3日間培養する。</u></p> <p><u>3.1.1.3 判定</u> <u>培地上にサルモネラ以外の菌の集落を認めてはならない。</u></p> <p><u>3.2 不活化菌液の試験</u></p> <p><u>3.2.1 不活化試験</u></p> <p><u>3.2.1.1 試験材料</u></p> <p><u>3.2.1.1.1 試料</u> <u>検体を試料とする。</u></p> <p><u>3.2.1.1.2 培地</u> <u>適当と認められた液状培地及び適当と認められた寒天培地を用いる。</u></p> <p><u>3.2.1.2 試験方法</u> <u>試料を液状培地に接種し、36±1℃で約24時間培養する。培養液0.1mLを寒天培地に接種し、36±1℃で約24時間培養する。</u></p> <p><u>3.2.1.3 判定</u> <u>培地中に、いかなる菌の発育も認めてはならない。</u></p> <p><u>3.3 原液の試験</u></p> <p><u>3.3.1 無菌試験</u> <u>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。</u></p> <p><u>3.3.2 総菌数試験</u></p> <p><u>3.3.2.1 試験材料</u></p> <p><u>3.3.2.1.1 試料</u> <u>検体をリン酸緩衝食塩液で適当な濃度に希釈したものを試料とする。</u></p> <p><u>3.3.2.2 試験方法</u> <u>分光光度計を用いて試料の吸光度を測定する。</u></p> <p><u>3.3.2.3 判定</u> <u>標準検量線、吸光度値及び検体の希釈度から菌数を算出するとき、検体中の総菌数は1mL中<math>2.5 \times 10^9</math>個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、その試験方法及び総菌数とする。</u></p> <p><u>3.4 小分製品の試験</u></p> <p><u>3.4.1 特性試験</u> <u>一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、固有の色調を有する均質な懸濁液でなければならない。異物及び異臭を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。</u></p> <p><u>3.4.2 無菌試験</u></p>	
---	--

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3.4.3 ホルマリン定量試験

適当と認められた方法で試験品を処理したものを試料とし、一般試験法のホルマリン定量法を準用して試験するとき、ホルマリンの含有量は、0.3 vol%以下でなければならない。

### 3.4.4 安全試験

#### 3.4.4.1 試験材料

##### 3.4.4.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

##### 3.4.4.1.2 試験動物

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

#### 3.4.4.2 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羽分ずつを試験群の頸背部中央皮下に注射し、対照群と共に4週間観察を行い、観察終了時に注射部位を剖検する。

#### 3.4.4.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。また、剖検したとき、注射部位に著しい異常を認めてはならない。

### 3.4.5 力価試験

#### 3.4.5.1 SI力価試験

##### 3.4.5.1.1 試験材料

##### 3.4.5.1.1.1 試験動物

3.4.4の試験に使用した試験動物を用いる。

##### 3.4.5.1.1.2 凝集反応用抗原

SI凝集反応用抗原（付記1）を用いる。

##### 3.4.5.1.2 試験方法

3.4.4の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の非働化された血清を用いて凝集反応を行う

試験群の血清、SI参照陽性血清（付記2）、SE参照陽性血清（付記3）及びST参照陽性血清（付記4）を25w/v%カオリン加リン酸緩衝食塩液（付記5）と等量混合し、37℃で1時間反応させた後、9,500Gで5分間遠心して採取した上清、未処理の対照群の血清及び未処理の参照陰性血清（付記6）を試料とする。各々の試料を生理食塩液で5倍に希釈した後、更に生理食塩液で2倍階段希釈し、各希釈血清にSI凝集反応用抗原を等量加え、振とう混合後、37℃で2時間感作する。感作終了後、4℃で1夜静置した

後、凝集像を観察する。

#### 3.4.5.1.3 判定

完全凝集の認められた血清の最高希釈倍数を抗体価とする。

試験群の血清の抗体価の幾何平均値は、100 倍以上でなければならない。  
この場合、対照群の抗体価は、いずれも5倍未満でなければならない。また、SI参照陽性血清の抗体価は640～1,280倍、SE参照陽性血清及びST参照陽性血清の抗体価はいずれも10倍以下、参照陰性血清の抗体価は5倍未満でなければならない。

#### 3.4.5.2 SE力価試験

##### 3.4.5.2.1 試験材料

###### 3.4.5.2.1.1 試験動物

3.4.4の試験に使用した試験動物を用いる。

###### 3.4.5.2.1.2 凝集反応用抗原

「ひな白痢急速診断用菌液」を用いる。

##### 3.4.5.2.2 試験方法

3.4.4の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の非働化された血清を用いて凝集反応を行う。

試験群の血清、対照群の血清、SI参照陽性血清、SE参照陽性血清、ST参照陽性血清及び参照陰性血清を生理食塩液で5倍に希釈した後、更に生理食塩水で2倍階段希釈し、各希釈血清に100倍に希釈した「ひな白痢急速診断用菌液」を等量加え、振とう混合後、37℃で2時間感作する。感作終了後、4℃で1夜静置した後、凝集像を観察する。

#### 3.4.5.2.3 判定

完全凝集の認められた血清の最高希釈倍数を抗体価とする。

試験群の血清の抗体価の幾何平均値は、100 倍以上でなければならない。  
この場合、対照群の抗体価は、いずれも5倍未満でなければならない。また、SI参照陽性血清の抗体価は5倍未満、SE参照陽性血清の抗体価は640～1,280倍、ST参照陽性血清の抗体価は160倍以下、参照陰性血清の抗体価は5倍未満でなければならない。

#### 3.4.5.3 ST力価試験

##### 3.4.5.3.1 試験材料

###### 3.4.5.3.1.1 試験動物

3.4.4の試験に使用した試験動物を用いる。

###### 3.4.5.3.1.2 凝集反応用抗原

ST凝集反応用抗原（付記7）を用いる。

##### 3.4.5.3.2 試験方法

3.4.4の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の非働化され

た血清を用いて凝集反応を行う。

試験群の血清、SI参照陽性血清、SE参照陽性血清及びST参照陽性血清を25w/v%カオリン加里ン酸緩衝食塩液と等量混合し、37℃で1時間反応させた後、9,500Gで5分間遠心して採取した上清、未処理の対照群の血清及び未処理の参照陰性血清を試料とする。各々の試料を生理食塩液で5倍に希釈した後、更に生理食塩液で2倍階段希釈し、各希釈血清にST凝集反应用抗原を等量加え、振とう混合後、37℃で1時間感作する。感作終了後、常温で1夜静置した後、凝集像を観察する。

#### 3.4.5.3.3 判定

完全凝集の認められた血清の最高希釈倍数を抗体価とする。

試験群の血清の抗体価の幾何平均値は、100倍以上でなければならない。この場合、対照群の抗体価は、いずれも5倍未満でなければならない。また、SI参照陽性血清の抗体価は10倍未満、SE参照陽性血清の抗体価は160倍以下、ST参照陽性血清の抗体価は640～1,280倍、参照陰性血清の抗体価は5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、3年間とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その期間とする。

#### 5 その他

##### 5.1 添付文書等記載事項

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

#### 付記1 SI凝集反应用抗原

SI KUVZ-0005株又はこれと同等の抗原性を有する株のホルマリン不活化菌液を100℃で15分間加熱処理し、0.2vol%ホルマリン加里ン酸緩衝食塩液に浮遊させたもので、波長650nmの吸光度値が0.15程度になるように生理食塩液で希釈して3.4.5.1の凝集反応試験を行うとき、SI参照陽性血清、SE参照陽性血清及びST参照陽性血清並びに参照陰性血清の凝集抗体価が所定の値を示すことを確認したもの

#### 付記2 SI参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合する発育鶏卵由来の鶏をSI KUVZ-0005株又はこれと同等の抗原性を有する株で免疫して得られ

た血清を非働化したものであって、3.4.5.1の試験により凝集反応試験を行うとき抗体価は640～1,280倍を示し、3.4.5.2の試験により凝集反応試験を行うとき抗体価は5倍未満を示し、3.4.5.3の試験により凝集反応試験を行うとき抗体価は10倍未満を示す。凍結して-20℃以下又は凍結乾燥して10℃以下で保存する。

付記3 SE参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合する発育鶏卵由来の鶏をSE KUVZ-0792株又はこれと同等の抗原性を有する株で免疫して得られた血清を非働化したものであって、3.4.5.1の試験により凝集反応試験を行うとき抗体価は10倍以下を示し、3.4.5.2の試験により凝集反応試験を行うとき抗体価は640～1,280倍を示し、3.4.5.3の試験により凝集反応試験を行うとき抗体価は160倍以下を示す。凍結して-20℃以下又は凍結乾燥して10℃以下で保存する。

付記4 ST参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合する発育鶏卵由来の鶏をST KUVZ-0301株又はこれと同等の抗原性を有する株で免疫して得られた血清を非働化したものであって、3.4.5.1の試験により凝集反応試験を行うとき抗体価は10倍以下を示し、3.4.5.2の試験により凝集反応試験を行うとき抗体価は160倍以下を示し、3.4.5.3の試験により凝集反応試験を行うとき抗体価は640～1,280倍を示す。凍結して-20℃以下又は凍結乾燥して10℃以下で保存する。

付記5 25w/v%カオリン加リン酸緩衝食塩液

1,000mL中

カオリン

250.0g

リン酸緩衝食塩液

残量

付記6 参照陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合する発育鶏卵由来の鶏の血清を非働化したものであって、3.4.5.1、3.4.5.2及び3.4.5.3の試験により凝集反応試験を行うとき、抗体価がいずれも5倍未満を示すもの。凍結して-20℃以下又は凍結乾燥して10℃以下で保存する。

付記7 ST凝集反应用抗原

ST KUVZ-0301株又はこれと同等の抗原性を有する株のホルマリン



不活化菌液を100℃で15分間加熱処理し、0.2vol%ホルマリン加里ン酸緩衝食塩液に浮遊させたもので、波長650nmの吸光度値が0.08程度になるように生理食塩液で希釈して3.4.5.3の凝集反応試験を行うとき、SI参照陽性血清、SE参照陽性血清及びST参照陽性血清並びに参照陰性血清の凝集抗体価が所定の値を示すことを確認したもの

動物用生物学的製剤基準の一部を改正する件 新旧対照表

○動物用生物学的製剤基準（平成 14 年 10 月 3 日農林水産省告示第 1567 号）

次の表により、改正後欄に掲げる規定の傍線を付した部分を加える。

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード）</b></p> <p>（略）</p> <p><b><u>マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症（アジュバント・油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード）</u></b></p> <p>1 定義</p> <p><u>シードロット規格に適合したマイコプラズマ・ハイオニューモニエの培養菌液を不活化したもの又はこれを濃縮したものに、アルミニウムゲルアジュバント及び油性アジュバントを添加したワクチンである。</u></p> <p>2 製法</p> <p>2.1 製造用株</p> <p>2.1.1 名称</p> <p><u>マイコプラズマ・ハイオニューモニエ J 株又はこれと同等と認められた株</u></p> <p>2.1.2 性状</p> <p><u>マイコプラズマ・ハイオニューモニエ基準株に一致する生物学的性状を示す。生菌を豚に接種したとき病原性を示さない。</u></p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>マイコプラズマ・ハイオニューモニエ感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード）</b></p> <p>（略）</p> <p>（新設）</p>

### 2.1.3 マスターシード菌

#### 2.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、適当と認められた液状培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-50℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

マスターシード菌について、3.1.1の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの継代数は、10代以内でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数とする。

### 2.1.4 ワーキングシード菌

#### 2.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、適当と認められた液状培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して-50℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

ワーキングシード菌について、3.1.2の試験を行う。

### 2.1.5 プロダクションシード菌

#### 2.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、適当と認められた液状培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して-50℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3の試験を行う。

## 2.2 製造用材料

### 2.2.1 培地

製造に相当と認められた液状培地を用いる。

## 2.3 原液

### 2.3.1 培養

ワーキングシード菌又はプロダクションシード菌を相当と認められた培地に接種し、培養して増菌・継代培養後、更に培地に接種して培養したものを培養菌液とする。培地には必要に応じて消泡剤を加えてもよい。

培養菌液について3.2の試験を行う。

### 2.3.2 不活化

培養菌液に相当と認められた不活化剤を加えて不活化し、不活化剤を相当と認められた方法で中和したものを不活化菌液とする。

不活化菌液を限外ろ過又は相当と認められた方法により濃縮したものを原液とする。

原液について、3.3の試験を行う。

## 2.4 最終バルク

原液にアルミニウムゲルアジュバント、安定剤及び溶剤を加えたものに、油性アジュバントに乳化剤を混合したものを加え、最終バルクとする。

## 2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。

小分製品について、3.4の試験を行う。

## 3 試験法

### 3.1 製造用株の試験

#### 3.1.1 マスターシード菌の試験

#### 3.1.1.1 同定試験

シードロット規格の1.4.2.4.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならぬ。

#### 3.1.1.2 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならぬ。

#### 3.1.2 ワーキングシード菌の試験

##### 3.1.2.1 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならぬ。

#### 3.1.3 プロダクションシード菌の試験

##### 3.1.3.1 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならぬ。

#### 3.2 培養菌液の試験

##### 3.2.1 染色試験

###### 3.2.1.1 試験材料

検体を試料とする。

###### 3.2.1.2 試験方法

検体をスライドグラス上でグラム染色し、鏡検する。

###### 3.2.1.3 判定

マイコプラズマ・ハイオニューモニエ以外の菌を検出してはならぬ。

##### 3.2.2 確認試験

###### 3.2.2.1 試験材料

###### 3.2.2.1.1 試料

培養菌液を遠心して得られた菌体を、適量の0.9w/v%滅菌生理食塩液に懸濁したものを試料とする。

#### 3.2.2.2 試験方法

試料と兔免疫血清（付記1）を混合し、室温で凝集反応を行う。

#### 3.2.2.3 判定

5分間以内に凝集を示さなければならない。

### 3.3 原液の試験

#### 3.3.1 pH測定試験

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

#### 3.3.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.3.3 不活化試験

##### 3.3.3.1 試験材料

###### 3.3.3.1.1 試料

検体を試料とする。

###### 3.3.3.2 試験方法

不活化菌液 1 mLを 9 mLの適当と認められた液状培地に接種し、37±1℃で14日間培養後に液状培地に継代し、7日間培養する。

###### 3.3.3.3 判定

培地の黄変を認めてはならない。

#### 3.3.4 抗原量測定試験

##### 3.3.4.1 試験材料

###### 3.3.4.1.1 試料

検体を試料とする。

#### 3.3.4.2 試験方法

標準抗原（付記2）、濃縮参照抗原（付記3）、試料、ハーベスト参照抗原（付記4）100 $\mu$ Lずつをそれぞれ希釈液（付記5）で希釈した後、2倍階段希釈を行う。

それぞれの希釈試料50 $\mu$ Lを抗原吸着プレート1（付記6）に移した後、2倍階段希釈した各穴に兔免疫血清を、残りの各穴に希釈液をそれぞれ50 $\mu$ L加え、37 $^{\circ}$ Cで90分間反応させた後、洗浄液（付記7）で3回洗浄する。各穴に希釈したペルオキシダーゼ標識抗兔IgG抗体を100 $\mu$ Lずつ加え、37 $^{\circ}$ Cで40分間反応させた後、洗浄液で4回洗浄する。あらかじめ37 $\pm$ 1 $^{\circ}$ Cに加温したTMB色素・基質液（付記8）の100 $\mu$ Lを各穴に加え、37 $^{\circ}$ Cで15分間反応させる。反応停止液として1.5mol/Lリン酸を100 $\mu$ Lずつの各穴に加え、測定波長450nm、参照波長540～630nmで全ての穴のOD値を測定する。

#### 3.3.4.3 判定

標準抗原の各2倍階段希釈のOD値から作成した標準曲線に基づいて、濃縮参照抗原及び試験試料の抗原量を算出し、既知の濃縮参照抗原の抗原量より試料に含まれる抗原量を求めるとき、参照ワクチン（付記9）1mL中の抗原量を1とした場合の試料中の相対抗原量は、4以上でなければならない。

### 3.4 小分製品の試験

#### 3.4.1 特性試験

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

### 3.4.2 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 チメロサル定量試験

チメロサル添加製剤については、一般試験法のチメロサ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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法及びチメロサル含有量とする。

### 3.4.4 アルミニウム定量試験

一般試験法のアルミニウム定量法を準用して試験するとき、アルミニウムの含有量は、0.85～1.15mg/mLでなければならない。

### 3.4.5 毒性限度確認試験

一般試験法の毒性限度確認試験法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、注射量は0.4mLとし、体重測定は4日目に行うものとする。

### 3.4.6 力価試験

#### 3.4.6.1 試験材料

##### 3.4.6.1.1 注射材料

試験品及び参照ワクチンを試験品から培養菌体を除いた組成の溶液又はこれと同等の溶液で希釈したものを注射材料とする。

##### 3.4.6.1.2 試験動物

6～7週齢のマウスを用いる。

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

ポリソルベート20抽出抗原（付記10）を用いる。

#### 3.4.6.2 試験方法

試験動物40匹を試験群、5匹を対照群とする。



試験群を1群20匹の2群に分け、1群（以下この項において「試験品群」という。）には試験品を、他の1群（以下この項において「参照ワクチン群」という。）には参照ワクチンを、それぞれ0.2mL腹腔内に注射する。注射後4週間目に、試験品群、参照ワクチン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。

試験品群、参照ワクチン群及び対照群の血清を希釈液で200倍に希釈したものを抗原吸着プレート2（付記11）の2穴ずつに100 $\mu$ Lずつ加え、希釈液のみの穴をblankとする。また、参照陽性血清（付記12）を希釈液で200倍に希釈したものを抗原吸着プレートの4穴に100 $\mu$ Lずつ加える。

4 $^{\circ}$ Cで18時間反応させた後、洗浄液で3回洗浄する。次に、各穴に標識抗体（付記13）を100 $\mu$ Lずつ加え、37 $^{\circ}$ Cで90分間反応させた後、洗浄液で3回洗浄する。基質液（付記14）を各穴に100 $\mu$ Lずつ加え、37 $^{\circ}$ Cで30分間反応させた後、3 mol/L水酸化ナトリウム溶液を各穴に50 $\mu$ Lずつ加えて反応を停止させ、波長405nmで各穴の吸光度を測定する。

#### 3.4.6.3 判定

各被検血清の吸光度からblankの平均吸光度を引いた値を各被検血清の吸光度値として平均吸光度値を算出する。

試験品群の血清の平均吸光度値は、参照ワクチン群の血清の平均吸光度値と同値以上を示さなければならない。また、参照ワクチン群と対照群の血清の平均吸光度値の差は0.7以上、対照群の血清の平均吸光度値は0.35未満、参照陽性血清の平均吸光度値は、0.8～1.8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2か月間とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その期間とする。

付記 1 兔免疫血清

製造用株で免疫した兔の血清であって、マイコプラズマ・ハイオニ  
ューモニエと特異的に反応し、最適な希釈倍率を確認したもの

付記 2 標準抗原

本剤の製造方法と同様に作製された濃縮菌液を0.85w/v%滅菌生理  
食塩液でたん白量50  $\mu$ g/mLに調整したもの

付記 3 濃縮参照抗原

本剤の製造方法と同様に作製された濃縮菌液であって、1 mL当  
りの相対抗原量が既に判明しているものであり、動物医薬品検査所  
が適当と認めたもの

付記 4 ハーベスト参照抗原

本剤の製造方法と同様に作製された不活化菌液であって、参照ワ  
クチンの調製に使われたロットと同じものであり、陽性対照として  
用いるもの

付記 5 希釈液

1,000mL中

塩化ナトリウム 8 g

塩化カリウム 0.2 g

リン酸一水素ナトリウム、無水 1.15 g

リン酸二水素カリウム 0.2 g

水 残 量

付記6 抗原吸着プレート1

固相化抗原（付記15）を希釈液でたん白量6.5 $\mu$ g/mLとなるよう希釈し、96穴マイクロプレートに100 $\mu$ Lずつ加え、4 $^{\circ}$ Cで一夜反応させたものであって、洗浄液で1回洗浄後、1 w/v%牛血清アルブミンを加えた希釈液を各穴に150 $\mu$ Lずつ加え、37 $^{\circ}$ Cで1時間反応させた後、プレートを洗浄液で2回洗浄したもの

付記7 洗浄液

ポリソルベート20 0.5mLと希釈液1,000mLを混合したもの

付記8 TMB色素・基質液

液中に3,3',5,5'-テトラメチルベンチジン（TMB）及び過酸化水素を含むもの

付記9 参照ワクチン

マイコプラズマ・ハイオニューモニエ製造用株若しくはこれと同等の免疫原性を有する株の培養菌液又はこれを濃縮したものを不活化し、アルミニウムゲルアジュバント及び油性アジュバントを添加したワクチンであって、豚における攻撃試験において有効性が確認されたものであり、動物医薬品検査所が適当と認めたもの

付記10 ポリソルベート20抽出抗原

製造用株又はこれと同等の抗原性を有する株の培養菌液を遠心集菌し、希釈液に懸濁後、4 $^{\circ}$ Cで24時間攪拌して菌体を洗浄したもので

あつて、洗淨菌体をトリス緩衝液（1）にたん白濃度 1 mg/mLになるように懸濁後、2 vol%ポリソルベート20加トリス緩衝液（2）を等量加え、37℃で30分間振とうしながら加温したものであり、遠心後の上清にジエチルエーテルを等量加えて振とう後、エーテル層を完全に除去したものに希釈液を加え、適当と認められるたん白濃度に調整したもの

（1） トリス緩衝液

トリスヒドロキシメチルアミノメタン3.03g、塩化ナトリウム14.61gを水に溶解し全量を1,000mLとしたもの

（2） 2 vol%ポリソルベート20加トリス緩衝液

ポリソルベート20 20mLとトリス緩衝液980mLを混合したもの

付記11 抗原吸着プレート2

製造用株又はこれと同等の抗原性を有する株で免疫した兔免疫血清を炭酸緩衝液（付記16）で100倍に希釈したものを、96穴マイクロプレートの各穴に100  $\mu$  Lずつ加え、4℃で18時間反応させ、洗淨液で3回洗淨したものであつて、さらに、0.1w/v%ゼラチン液（付記17）を各穴に100  $\mu$  Lずつ加え、4℃で18時間反応させ、洗淨液で3回洗淨したものであり、これに、ポリソルベート20抽出抗原を各穴に100  $\mu$  Lずつ加え、4℃で18時間反応させた後、洗淨液で3回洗淨したもの

付記12 参照陽性血清

製造用株又はこれと同等の免疫原性を有する株で免疫したマウスの血清であつて、希釈液で200倍に希釈してELISAを行うとき、平均

吸光度値が0.8～1.8となるように濃度を調整したもの

付記13 標識抗体

アルカリフォスファターゼ標識抗マウスIgG抗体を希釈液で希釈したもの

付記14 基質液

p-ニトロフェニルリン酸二ナトリウム100mgを基質緩衝液（付記18）100mLに溶解したもの

付記15 固相化抗原

製造用株を用い、本剤の製造方法で培養した培養菌液を遠心し、沈渣を希釈液で2回遠心洗浄したものであって、凍結融解を5～6回行った後、たん白量1mg当たり1mgのドデシル硫酸ナトリウム（SDS）を加えて可溶化後、透析したもの

付記16 炭酸緩衝液

A液：炭酸ナトリウム5.3gを水に溶解し、全量を1,000mLとする。

B液：炭酸水素ナトリウム4.2gを水に溶解し、全量を1,000mLとする。

A液とB液を混合し、pH9.6に調整したもの

付記17 0.1w/v%ゼラチン液

ゼラチン1gを希釈液1,000mLで溶解したもの

付記18	基質緩衝液	
	<u>1,000mL中</u>	
	<u>塩化マグネシウム・六水和物</u>	<u>0.049</u> g
	<u>ジエタノールアミン</u>	<u>96</u> mL
	水	残 量
	<u>pHを9.8に調整し、全量を1,000mLとしたもの</u>	

動物用生物学的製剤基準の一部を改正する件 新旧対照表

○動物用生物学的製剤基準（平成 14 年 10 月 3 日農林水産省告示第 1567 号）

次の表により、改正後欄に掲げる規定の傍線を付した部分を加える。

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>犬レプトスピラ病（カニコーラ・イクテロヘモラジー・グリッポチフォーサ・ポモナ）不活化ワクチン（アジュバント加溶解用液）（シード）</b></p> <p>（略）</p> <p><b><u>犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬ボルデテラ感染症（部分精製赤血球凝集素）混合不活化ワクチン（シード）</u></b></p> <p>1 <u>定義</u></p> <p><u>シードロット規格に適合した犬アデノウイルス（2型）及び犬パラインフルエンザウイルスを同規格に適合した株化細胞で増殖させて得たウイルス液をそれぞれ不活化したものを、シードロット規格に適合したボルデテラ・ブロンキセプチカの培養菌体から部分精製して得た赤血球凝集素と混合したワクチンである。</u></p> <p>2 <u>製法</u></p> <p>2.1 <u>製造用株</u></p> <p>2.1.1 <u>犬アデノウイルス（2型）</u></p> <p>2.1.1.1 <u>名称</u></p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>犬レプトスピラ病（カニコーラ・イクテロヘモラジー・グリッポチフォーサ・ポモナ）不活化ワクチン（アジュバント加溶解用液）（シード）</b></p> <p>（略）</p> <p>（新設）</p>

犬アデノウイルス（2型）225株又はこれと同等と認められた株

#### 2.1.1.2 性状

犬腎継代細胞又は感受性のある培養細胞に接種すると、CPEを伴って増殖する。

#### 2.1.1.3 マスターシードウイルス

##### 2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードウイルスは、犬腎株化細胞又は適当と認められた細胞で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシードウイルスは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

マスターシードウイルスについて、3.1.1の試験を行う。

マスターシードウイルスは、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシードウイルスから小分製品までの最高継代数は、5代以内でなければならない。

#### 2.1.1.4 ワーキングシードウイルス

##### 2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、犬腎株化細胞又は適当と認められた細胞で増殖及び継代する。

ワーキングシードウイルスは、凍結して-70℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

ワーキングシードウイルスについて、3.1.2の試験を行う。

#### 2.1.1.5 プロダクションシードウイルス

##### 2.1.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、犬腎株化細胞又は適当と認められた



細胞で増殖させる。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して-70℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、3.1.3の試験を行う。

## 2.1.2 犬パラインフルエンザウイルス

### 2.1.2.1 名称

犬パラインフルエンザウイルスT2/KS4株又はこれと同等と認められた株

### 2.1.2.2 性状

犬腎継代細胞又は感受性のある培養細胞に接種すると、CPEを伴って増殖し、細胞はモルモット赤血球を吸着する。

### 2.1.2.3 マスターシードウイルス

#### 2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードウイルスは、犬腎株化細胞又は適当と認められた細胞で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシードウイルスは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

マスターシードウイルスについて、3.1.1の試験を行う。

マスターシードウイルスは、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシードウイルスから小分製品までの最高継代数は、5代以内でなければならない。

### 2.1.2.4 ワーキングシードウイルス

#### 2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、犬腎株化細胞又は適当と認められた細胞で増殖及び継代する。

ワーキングシードウイルスは、凍結して-70℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

ワーキングシードウイルスについて、3.1.2の試験を行う。

#### 2.1.2.5 プロダクションシードウイルス

##### 2.1.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、犬腎株化細胞又は適当と認められた細胞で増殖させる。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して-70℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、3.1.3の試験を行う。

#### 2.1.3 ボルデテラ・ブロンキセプチカ

##### 2.1.3.1 名称

ボルデテラ・ブロンキセプチカB03-7株又はこれと同等と認められた株

##### 2.1.3.2 性状

ボルデー・ジャング培地上に隆起した小円形の集落を形成し、β溶血性を示す。また、強い溶血性を示し、莢膜を有するI相菌であり、皮膚壊死毒素産生性を有するが、培養上清中への放出はない。

赤血球凝集素を有し、牛赤血球を凝集させる。

##### 2.1.3.3 マスターシード菌

###### 2.1.3.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、ボルデテラ用寒天培地（付記1）又は適当と認められた培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-70℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

マスターシード菌について、3.1.4の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの継代数は10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。

#### 2.1.3.4 ワーキングシード菌

##### 2.1.3.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、ボルデテラ用寒天培地又は適当と認められた培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して-70℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

ワーキングシード菌について、3.1.5の試験を行う。

#### 2.1.3.5 プロダクションシード菌

##### 2.1.3.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、ボルデテラ用寒天培地又は適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して-70℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

プロダクションシード菌について、3.1.6の試験を行う。

## 2.2 製造用材料

### 2.2.1 犬アデノウイルス（2型）

#### 2.2.1.1 培養細胞

製造に相当と認められた株化細胞を用いる。

#### 2.2.1.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

#### 2.2.1.3 マスターセルシード

##### 2.2.1.3.1 作製、保存及びプロダクションセルシードまでの最高継代数

マスターセルシードは、2.2.1.2の培養液で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターセルシードは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-70°C以下で保存する。

マスターセルシードについて、3.2.1の試験を行う。

マスターセルシードは、ワクチンの製造又は試験以外の目的で継代しない。マスターセルシードからプロダクションセルシードまでの最高継代数は、20代以内でなければならない。

#### 2.2.1.4 ワーキングセルシード

##### 2.2.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.1.2の培養液で増殖及び継代する。

ワーキングセルシードは、凍結して-70°C以下で保存する。ワーキングセルシードについて、3.2.2の試験を行う。

#### 2.2.1.5 プロダクションセルシード

##### 2.2.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.1.2の培養液で増殖させる。プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して-70°C以下で保存する。

プロダクションセルシードを保存する場合は、3.2.3 の試験を行う。

#### 2.2.2 犬パラインフルエンザウイルス

#### 2.2.2.1 培養細胞

製造に相当と認められた株化細胞を用いる。

#### 2.2.2.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

#### 2.2.2.3 マスターセルシード

##### 2.2.2.3.1 作製、保存及びプロダクションセルシードまでの最高継代数

マスターセルシードは、2.2.2.2の培養液で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターセルシードは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-70°C以下で保存する。

マスターセルシードについて、3.2.1の試験を行う。

マスターセルシードは、ワクチンの製造又は試験以外の目的で継代しない。マスターセルシードからプロダクションセルシードまでの最高継代数は、20代以内でなければならない。

#### 2.2.2.4 ワーキングセルシード

##### 2.2.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.2.2の培養液で増殖及び継代する。

ワーキングセルシードは、凍結して-70°C以下で保存する。ワーキングセルシードについて、3.2.2の試験を行う。

#### 2.2.2.5 プロダクションセルシード

##### 2.2.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.2.2の培養液で増殖させる。プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して-70°C以下で保存する。

プロダクションセルシードを保存する場合は、3.2.3 の試験を行う。

#### 2.2.3 ボルデテラ・ブロンキセプチカ

#### 2.2.3.1 培地

製造に相当と認められた平板培地及び液状培地を用いる。

### 2.3 原液

#### 2.3.1 犬アデノウイルス（2型）原液

##### 2.3.1.1 プロダクションセルシードの培養

1回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前のプロダクションセルシードに異常を認めてはならない。

##### 2.3.1.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを2.3.1.1の細胞で培養し、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、そのろ液又は遠心上清をウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.3.1及び3.3.2.1の試験を行う。

##### 2.3.1.3 不活化

ウイルス浮遊液に相当と認められた不活化剤を加えて不活化後、必要に応じて相当と認められた中和剤を用い、不活化剤を中和したものを不活化ウイルス浮遊液とする。

##### 2.3.1.4 原液

不活化ウイルス浮遊液のそのままの液又は相当と認められた方法で濃縮したものを原液とする。このとき、相当と認められた保存剤を添加してもよい。

原液について、3.5.1及び3.5.2.1の試験を行う。

#### 2.3.2 犬パラインフルエンザウイルス原液

##### 2.3.2.1 プロダクションセルシードの培養

1回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前のプロダクションセルシードに異常を認めてはならない。

#### 2.3.2.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを2.3.1.1の細胞で培養し、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、そのろ液又は遠心上清をウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.3.1及び3.3.2.2の試験を行う。

#### 2.3.2.3 不活化

ウイルス浮遊液に相当と認められた不活化剤を加えて不活化後、必要に応じて相当と認められた中和剤を用い、不活化剤を中和したものを不活化ウイルス浮遊液とする。

#### 2.3.2.4 原液

不活化ウイルス浮遊液のそのままの液又は相当と認められた方法で濃縮したものを原液とする。このとき、相当と認められた保存剤を添加してもよい。

原液について、3.5.1及び3.5.2.2の試験を行う。

### 2.3.3 ボルデテラ・ブロンキセプチカ原液

#### 2.3.3.1 培養

プロダクションシード菌をボルデテラ用寒天培地に接種し、培養したものを液状培地に接種し、培養する。更にそれを液状培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.4の試験を行う。

#### 2.3.3.2 精製

培養菌液を膜ろ過又は遠心分離により濃縮精製したものを精製抗原液とする。精製抗原液に相当と認められる保存剤を加え、これを原液とする。

原液について、3.5.1、3.5.3及び3.5.4の試験を行う。

## 2.4 最終バルク

犬アデノウイルス（2型）原液、犬パラインフルエンザ原液及びボル  
デテラ・ブロンキセプトチカ原液の抗原量を調整して混合したものを最終  
バルクとする。このとき、適当と認められた保存剤を添加してもよい。

## 2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。

小分製品について、3.6の試験を行う。

## 3 試験法

### 3.1 製造用株の試験

#### 3.1.1 マスターシードウイルスの試験

##### 3.1.1.1 同定試験

シードロット規格の1.4.2.3.1.1.1又は1.4.2.3.1.1.2を準用して試験する  
とき、適合しなければならない。

##### 3.1.1.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければ  
ならない。

##### 3.1.1.3 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、  
適合しなければならない。

##### 3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

###### 3.1.1.4.1 共通ウイルス否定試験

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、2.1及び2.2を準用して  
試験するとき、適合しなければならない。

###### 3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験

###### 3.1.1.4.2.1 個別ウイルス否定試験



牛ウイルス性下痢ウイルス、犬パルボウイルス、猫汎白血球減少症ウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験の1.1、3.2.5、3.2.6及び3.2.9を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3.1.2 ワーキングシードウイルスの試験

#### 3.1.2.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.1.2.2 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3.1.3 プロダクションシードウイルスの試験

#### 3.1.3.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.1.3.2 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

### 3.1.4 マスターシード菌の試験

#### 3.1.4.1 同定試験

シードロット規格1.4.2.4.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.1.4.2 夾雑菌否定試験

##### 3.1.4.2.1 平板培地培養法

###### 3.1.4.2.1.1 培地

ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた平板培地を用いる。

#### 3.1.4.2.1.2 試験方法

検体0.2mLずつを2枚以上の平板培地に接種し、34～38℃で3日間培養する。

#### 3.1.4.2.1.3 判定

ボルデテラ・ブロンキセプチカ以外の菌の発育を認めてはならない。

#### 3.1.4.2.2 液状培地培養法

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、ボルデテラ・ブロンキセプチカ以外の菌の発育を認めてはならない。

#### 3.1.5 ワーキングシード菌の試験

##### 3.1.5.1 夾雑菌否定試験

3.1.4.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.1.6 プロダクションシード菌の試験

##### 3.1.6.1 夾雑菌否定試験

3.1.4.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.2 株化細胞の試験

##### 3.2.1 マスターセルシードの試験

###### 3.2.1.1 培養性状試験

シードロット規格の2.1.4.2.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

###### 3.2.1.2 起源動物種同定試験

シードロット規格の2.1.4.2.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

###### 3.2.1.3 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければな

らない。

#### 3.2.1.4 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.2.1.5 外来性ウイルス否定試験

##### 3.2.1.5.1 共通ウイルス否定試験

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2、2.1及び2.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

##### 3.2.1.5.2 特定ウイルス否定試験

###### 3.2.1.5.2.1 個別ウイルス否定試験

牛ウイルス性下痢ウイルス、犬パルボウイルス、猫汎白血球減少症ウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2、3.2.5、3.2.6及び3.2.9を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.2.1.6 核学的（染色体）性状試験

シードロット規格の2.1.4.2.1.6を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.2.1.7 腫瘍形成性／腫瘍原性試験

シードロット規格の2.1.4.2.1.7を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.2.2 ワーキングセルシードの試験

##### 3.2.2.1 培養性状試験

シードロット規格の2.1.4.2.2.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

##### 3.2.2.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければなら  
ない。

### 3.2.2.3 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適  
合しなければならぬ。

### 3.2.3 プロダクションセルシードの試験

#### 3.2.3.1 培養性状試験

シードロット規格の2.1.4.2.3.1を準用して試験するとき、適合しなけれ  
ばならぬ。

#### 3.2.3.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければな  
らぬ。

#### 3.2.3.3 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適  
合しなければならぬ。

### 3.3 ウイルス浮遊液の試験

#### 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  
らぬ。

#### 3.3.2 ウイルス含有量試験

##### 3.3.2.1 犬アデノウイルス（2型）含有量試験

###### 3.3.2.1.1 試験材料

###### 3.3.2.1.1.1 試料

検体を適当と認められた培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を  
試料とする。

#### 3.3.2.1.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

#### 3.3.2.1.2 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、34～38℃で10日間培養し、観察する。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。

#### 3.3.2.1.3 判定

培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID<sub>50</sub>を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL中10<sup>8.1</sup>TCID<sub>50</sub>以上でなければならない。ただし、農林産大臣が特に認めた場合は、そのウイルス含有量とする。

#### 3.3.2.2 犬パラインフルエンザウイルス含有量試験

##### 3.3.2.2.1 試験材料

###### 3.3.2.2.1.1 試料

検体を適当と認められた培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

###### 3.3.2.2.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

##### 3.3.2.2.2 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、34～38℃で7日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の0.4vol%モルモット赤血球浮遊液を加え、十分に混和した後、1時間静置し、観察する。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。

###### 3.3.2.2.3 判定

赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、TCID<sub>50</sub>を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL中10<sup>7.0</sup>TCID<sub>50</sub>以上でなければならない。ただし、農林産大臣が特に認めた場合は、そのウイルス含有量とする。

### 3.4 培養菌液の試験

#### 3.4.1 夾雑菌否定試験

3.1.4.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.4.2 生菌数試験

##### 3.4.2.1 試験材料

###### 3.4.2.1.1 試料

培養菌液をリン酸緩衝食塩液（以下この項において「PBS」という。）

（付記2）で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

###### 3.4.2.1.2 培地

ボルデー・ジャング培地を用いる。

###### 3.4.2.1.3 試験方法

各試料0.1mLずつをそれぞれ培地2枚以上に接種し、34～38℃で2日間培養後、生じた集落数を計測する。

###### 3.4.2.1.4 判定

各段階の希釈液ごとの集落数から生菌数を算出するとき、検体の生菌数は、1 mL中10<sup>8.0</sup>CFU以上でなければならない。

#### 3.4.3 赤血球凝集（以下この項において「HA」という。）価測定試験

##### 3.4.3.1 試験材料

###### 3.4.3.1.1 試料

培養上清をPBSで2倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

###### 3.4.3.1.2 試験方法

試料25 $\mu$ Lずつをそれぞれ96穴V底マイクロプレートの2穴以上に分注し、これに等量の0.5vol%グルタルアルデヒド固定牛赤血球浮遊液（付記3）を混合し、34～38℃で2時間反応させる。

#### 3.4.3.1.3 判定

赤血球凝集が認められた最高希釈倍数をHA価とする。培養菌液のHA価は、32倍以上でなければならない。

### 3.5 原液の試験

#### 3.5.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.5.2 不活化試験

##### 3.5.2.1 犬アデノウイルス（2型）

###### 3.5.2.1.1 試験材料

###### 3.5.2.1.1.1 試料

検体2mLを100倍量以上のPBSを用い、2～5℃で一夜以上透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

###### 3.5.2.1.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

###### 3.5.2.1.2 試験方法

試料の全量を1mLにつき25cm<sup>2</sup>以上の培養細胞に接種し、34～38℃で1時間吸着させた後、試料を抜き取り、ウイルス増殖用培養液（付記4）又は適当と認められた培養液を加え、34～38℃で7日間培養後、細胞を次代に継代し、さらに34～38℃で7日間培養し、観察する。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。

###### 3.5.2.1.3 判定

培養細胞にCPEを認めない場合、活性ウイルス陰性とする。

検体に活性ウイルスを認めてはならない。

### 3.5.2.2 犬パラインフルエンザウイルス

#### 3.5.2.2.1 試験材料

##### 3.5.2.2.1.1 試料

検体 2 mLを100倍量以上のPBSを用い、2～5℃で一夜以上透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

##### 3.5.2.2.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

#### 3.5.2.2.2 試験方法

試料の全量を 1 mLにつき25cm<sup>2</sup>以上の培養細胞に接種し、34～38℃で1時間吸着させた後、試料を抜き取り、ウイルス増殖用培養液又は適当と認められた培養液を加え、34～38℃で7日間培養後、細胞を次代に継代し、さらに34～38℃で7日間培養する。培養後、培養液を除き、0.1vol%モルモット赤血球浮遊液を重層し、1時間静置し、観察する。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。

#### 3.5.2.2.3 判定

培養細胞に赤血球吸着を認めない場合、活性ウイルス陰性とする。

検体に活性ウイルスを認めてはならない。

### 3.5.3 HA価測定試験

3.4.3を準用して試験するとき、原液のHA価は、128倍以上でなければならない。

### 3.5.4 皮膚壊死毒素活性否定試験

#### 3.5.4.1 試験材料

##### 3.5.4.1.1 注射材料



試験品を注射材料とする。

#### 3.5.4.1.2 試験動物

体重約350gのモルモットを用いる。

#### 3.5.4.2 試験方法

注射材料0.1mLずつを試験動物 3 匹の背部皮内に注射し、2 日間観察する。

#### 3.5.4.3 判定

すべての試験動物の注射部位に壊死病変を認めてはならない。

### 3.6 小分製品の試験

#### 3.6.1 特性試験

一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、固有の色調を有する液体でなければならず、異物及び異臭を認めてはならない。小分容器ごとの性状は均一でなければならない。

#### 3.6.2 pH測定試験

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

#### 3.6.3 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.6.4 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.6.5 チメロサル定量試験

チメロサル添加製剤については、一般試験法のチメロサ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。

### 3.6.6 不活化試験

#### 3.6.6.1 試験材料

##### 3.6.6.1.1 試料

試験品 2 mLを100倍以上のPBSを用いて2～5℃で一夜以上透析したものを試料とする。

##### 3.6.6.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

#### 3.6.6.2 試験方法

試料の全量を1 mLにつき25cm<sup>2</sup>以上の培養細胞に接種し、34～38℃で1時間吸着させた後、試料を抜き取り、ウイルス増殖用培養液又は適当と認められた培養液を加え、34～38℃で7日間培養後、細胞を次代に継代し、さらに34～38℃で7日間培養する。培養後、培養液を除き、0.1vol%モルモット赤血球浮遊液を重層し、1時間静置し、観察する。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。

#### 3.6.6.3 判定

培養細胞にCPEを認めてはならず、かつ赤血球吸着を認めない場合、活性ウイルス陰性とする。

試験品に活性ウイルスを認めてはならない。

#### 3.6.7 毒性限度確認試験

一般試験法の毒性限度確認試験法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、注射後の体重測定は、5日目とする。

#### 3.6.8 安全試験

##### 3.6.8.1 試験材料

##### 3.6.8.1.1 投与材料

試験品を投与材料とする。

#### 3.6.8.1.2 試験動物

3週齢以上3か月齢未満の犬を用いる。

#### 3.6.8.2 試験方法

試験動物3頭を試験群、2頭を対照群とする。試験群に投与材料1頭分ずつを2週間隔で2回点鼻投与し、対照群と共に投与後14日間観察する。

#### 3.6.8.3 判定

観察期間中、試験動物において、投与後3日間以上継続する発熱その他の異常（一過性かつ軽度の水様性鼻汁排出、目脂分泌、下痢又は嘔吐を除く。）を認めてはならない。

#### 3.6.9 力価試験

##### 3.6.9.1 犬アデノウイルス（2型）力価試験

###### 3.6.9.1.1 試験材料

###### 3.6.9.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

###### 3.6.9.1.1.2 試験動物

約5週齢のラットを用いる。

###### 3.6.9.1.1.3 中和試験用ウイルス

犬アデノウイルス（2型）225株又はこれと同等と認められた株を用いる。

###### 3.6.9.1.1.4 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

###### 3.6.9.1.2 試験方法

試験動物5匹を試験群、2匹を対照群とする。

注射材料0.5mLを21日間隔で2回、試験群の両後肢筋肉内に半量ずつ

注射する。第2回目注射後7日目に試験群及び対照群から採血し、血清を採取する。得られた各個体の血清について、56℃で30分間加温して非働化した後、ウイルス増殖用培養液で、2倍階段希釈する。次に、各希釈血清と0.1mL中200TCID<sub>50</sub>の中和試験用ウイルスを含む液を等量混合し、34～38℃で1時間処理する。各混合液0.1mLずつを単層形成した培養細胞の4穴ずつに接種し、ウイルス増殖用培養液を加え、34～38℃で10日間培養し、観察する。

#### 3.6.9.1.3 判定

培養細胞の半数以上の穴に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。

試験群では、80%以上が中和抗体価8倍以上でなければならない。この場合、対照群では、全て中和抗体価2倍以下でなければならない。

#### 3.6.9.2 犬パラインフルエンザウイルス力価試験

##### 3.6.9.2.1 試験材料

###### 3.6.9.2.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

###### 3.6.9.2.1.1 試験動物

体重約300gのモルモットを用いる。

###### 3.6.9.2.1.3 中和試験用ウイルス

犬パラインフルエンザウイルスT2/KS4株又はこれと同等と認められた株を用いる。

###### 3.6.9.2.1.4 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

###### 3.6.9.2.2 試験方法

試験動物5匹を試験群、2匹を対照群とする。

注射材料0.5mLを21日間隔で2回、試験群の両後肢筋肉内に半量ずつ注射する。第2回目注射後7日目に試験群及び対照群から採血し、血清を採取する。得られた各個体の血清について、56℃で30分間加温して非働化した後、ウイルス増殖用培養液で、2倍階段希釈する。次に、各希釈血清と0.1mL中200TCID<sub>50</sub>の中和試験用ウイルスを含む液を等量混合し34～38℃で1時間処理する。各混合液0.1mLずつを単層形成した培養細胞の4穴ずつに接種し、ウイルス増殖用培養液を加え、34～38℃で7日間培養する。培養後、各穴の培養液を採取してマイクロプレートの各1穴ずつに50μLずつ分注し、0.4vol%モルモット赤血球浮遊液を等量加えた後、1時間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

#### 3.6.9.2.3 判定

培養細胞の半数以上の穴において、赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数を中和抗体価とする。

試験群では、80%以上が中和抗体価16倍以上でなければならない。この場合、対照群では、全て中和抗体価2倍以下でなければならない。

#### 3.6.9.3 ボルデテラ・ブロンキセプチカ力価試験

##### 3.6.9.3.1 試験材料

###### 3.6.9.3.1.1 試験動物

3.6.9.2の試験に用いた動物を用いる。

###### 3.6.9.3.1.2 HA抗原

ボルデテラ・ブロンキセプチカHA抗原（付記5）を用いる。

##### 3.6.9.3.2 試験方法

3.6.9.2の試験で得られた各個体の血清について、56℃で30分間加温して非働化した後、マイクロタイター法で赤血球凝集抑制（以下この項において「HI」という。）試験を行う。

非働化血清 1 容に、25w/v%カオリン加PBS 2 容及びPBS 1 容を加え、30分間転倒混和した後、遠心上清を採取する（4 倍希釈血清）。4 倍希釈血清をPBSで 2 倍階段希釈した後、各希釈液25  $\mu$ Lずつを96穴V底マイクロプレートの 2 穴以上に分注する。各希釈血清に 8 単位のHA抗原を25  $\mu$ Lずつ加え、34~38°Cで 1 時間静置する。これに0.5vol%グルタルアルデヒド固定牛赤血球を50  $\mu$ Lずつ加え、34~38°Cで 2 時間反応させた後、赤血球の凝集の有無を観察する。

#### 3.6.9.3.3 判定

半数以上の穴において、赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数をHI抗体価とする。

試験群では、80%以上がHI抗体価16倍以上でなければならない。この場合、対照群では、全てHI抗体価 4 倍以下でなければならない。

#### 4 貯法及び有効期間

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

#### 付記 1 ボルデテラ用寒天培地

1,000mL中

ボルデー・ジャング寒天基礎培地 30 g

グリセリン 10 g

水 残 量

加温溶解後、121°Cで15分間高压滅菌する。

#### 付記 2 リン酸緩衝食塩液（PBS）

1,000mL中

<u>塩化ナトリウム</u>	<u>8 g</u>
<u>塩化カリウム</u>	<u>0.2 g</u>
<u>リン酸水素二ナトリウム、無水</u>	<u>1.15 g</u>
<u>リン酸二水素ナトリウム、無水</u>	<u>0.2 g</u>
<u>水</u>	<u>残 量</u>

pHを7.0~7.4に調整して、121°Cで15分間高压滅菌する。

付記3 0.5vol%グルタルアルデヒド固定牛赤血球

牛赤血球をグルタルアルデヒドで固定した後、10vol%赤血球液となるように濃度を調整し、使用時に0.01w/v%ゼラチン加PBSで0.5vol%赤血球液となるように希釈したもの

付記4 ウイルス増殖用培養液

<u>1,000mL中</u>	
<u>トリプトース・ホスフェイト・ブロス</u>	<u>2.95 g</u>
<u>L-グルタミン</u>	<u>0.29 g</u>
<u>牛胎子血清</u>	<u>20 mL</u>
<u>イーグルMEM</u>	<u>残 量</u>

pHを7.0~7.4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 ボルデテラ・ブロンキセプチカHA抗原

牛赤血球に対して強い凝集活性を有するボルデテラ・ブロンキセプチカ I 相菌の菌体から遊離させた赤血球凝集素を濃縮後、HA価が約128倍となるように濃度を調整し、保存剤を加えたもの

動物用生物学的製剤基準の一部を改正する件 新旧対照表

○動物用生物学的製剤基準（平成 14 年 10 月 3 日農林水産省告示第 1567 号）

次の表により、改正前欄に掲げる規定の傍線を付した部分（以下「傍線部分」という。）でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分があるものは、これを当該傍線部分のように改め、改正後欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正前欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これに加え、改正前欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これを削る。

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>豚ボルデテラ感染症不活化・パスツレラ・ムルトシダトキソイド混合（油性アジュバント加）ワクチン（シード）</b></p> <p>1 （略）                  2 製法                  2.1 製造用株                  2.1.1 ボルデテラ・ブロンキセプチカ                  2.1.1.1・2.1.1.2（略）                  2.1.1.3 マスターシード菌                  2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数                  マスターシード菌は、ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。                  分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下に保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。</u>                  マスターシード菌について、3.1.1の試験を行う。                  マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10代以内でなければならない。                  2.1.1.4 ワーキングシード菌                  2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存                  ワーキングシード菌は、ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた培地で増殖及び継代する。                  ワーキングシード菌は、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存</u></p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>豚ボルデテラ感染症不活化・パスツレラ・ムルトシダトキソイド混合（油性アジュバント加）ワクチン（シード）</b></p> <p>1 （略）                  2 製法                  2.1 製造用株                  2.1.1 ボルデテラ・ブロンキセプチカ                  2.1.1.1・2.1.1.2（略）                  2.1.1.3 マスターシード菌                  2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数                  マスターシード菌は、ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。                  分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下に保存する。                  マスターシード菌について、3.1.1の試験を行う。                  マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10代以内でなければならない。                  2.1.1.4 ワーキングシード菌                  2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存                  ワーキングシード菌は、ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた培地で増殖及び継代する。                  ワーキングシード菌は、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。</p>



<p><u>温度とする。</u> ワーキングシード菌について、3.1.2の試験を行う。</p> <p>2.1.1.5 プロダクションシード菌</p> <p>2.1.1.5.1 増殖及び保存 プロダクションシード菌は、ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた培地で増殖させる。 プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して<u>-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。</u> プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3の試験を行う。</p> <p>2.1.2 パスツレラ・ムルトシダ</p> <p>2.1.2.1・2.1.2.2 (略)</p> <p>2.1.2.3 マスターシード菌</p> <p>2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数 マスターシード菌は、鶏血清加PPLO寒天培地(付記2)又は適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。 分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。</u> マスターシード菌について、3.1.1の試験を行う。 マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10代以内でなければならない。</p> <p>2.1.2.4 ワーキングシード菌</p> <p>2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存 ワーキングシード菌は、鶏血清加PPLO寒天培地又は適当と認められた培地で増殖及び継代する。 ワーキングシード菌は、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。</u> ワーキングシード菌について、3.1.2の試験を行う。</p> <p>2.1.2.5 プロダクションシード菌</p> <p>2.1.2.5.1 増殖及び保存 プロダクションシード菌は、鶏血清加PPLO寒天培地又は適当と認められた培地で増殖させる。 プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して-70℃以下又は</p>	<p>ワーキングシード菌について、3.1.2の試験を行う。</p> <p>2.1.1.5 プロダクションシード菌</p> <p>2.1.1.5.1 増殖及び保存 プロダクションシード菌は、ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた培地で増殖させる。 プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して<u>-70以下℃又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。</u></p> <p>プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3の試験を行う。</p> <p>2.1.2 パスツレラ・ムルトシダ</p> <p>2.1.2.1・2.1.2.2 (略)</p> <p>2.1.2.3 マスターシード菌</p> <p>2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数 マスターシード菌は、鶏血清加PPLO寒天培地(付記2)又は適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。 分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。</p> <p>マスターシード菌について、3.1.1の試験を行う。 マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10代以内でなければならない。</p> <p>2.1.2.4 ワーキングシード菌</p> <p>2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存 ワーキングシード菌は、鶏血清加PPLO寒天培地又は適当と認められた培地で増殖及び継代する。 ワーキングシード菌は、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。</p> <p>ワーキングシード菌について、3.1.2の試験を行う。</p> <p>2.1.2.5 プロダクションシード菌</p> <p>2.1.2.5.1 増殖及び保存 プロダクションシード菌は、鶏血清加PPLO寒天培地又は適当と認められた培地で増殖させる。 プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して-70℃以下又は</p>
---	---

<p>凍結乾燥して5℃以下で保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。</u>  プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3の試験を行う。</p> <p>2.2 (略)</p> <p>2.3 原液</p> <p>2.3.1 ボルデテラ・ブロンキセプチカ原液</p> <p>2.3.1.1 培養  ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた培地で培養したワーキングシード菌又はプロダクションシード菌を、製造用培地1又は適当と認められた培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。  培養菌液について、3.2.1.1及び3.2.2の試験を行う。</p> <p>2.3.1.2 (略)</p> <p>2.3.1.3 濃度調整  PBS、又は適当と認められた保存剤を添加したPBSでボルデテラ・ブロンキセプチカ不活化菌液の濃度を調整したものを原液とする。  原液について、3.6の試験を行う。</p> <p>2.3.2 パスツレラ・ムルトシダトキソイド原液</p> <p>2.3.2.1 培養  鶏血清加PPLO寒天培地又は適当と認められた培地で培養したワーキングシード菌又はプロダクションシード菌を、製造用培地2又は適当と認められた培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。  培養菌液について、3.2.1.2及び3.2.3の試験を行う。</p> <p>2.3.2.2 集菌及び破碎  培養菌液を遠心し、得られた沈殿菌を適量のリン酸緩衝液（付記6）に浮遊し、物理的処理により菌体を破碎したものをパスツレラ・ムルトシダ破碎菌液とする。  パスツレラ・ムルトシダ破碎菌液について、3.4の試験を行う。</p> <p>2.3.2.3 部分精製及び濃縮  パスツレラ・ムルトシダ破碎菌液からカラムクロマトグラフィーにより毒素活性部分を分取し、濃縮したものをパスツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素液とする。</p>	<p>凍結乾燥して5℃以下で保存する。</p> <p>プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3の試験を行う。</p> <p>2.2 (略)</p> <p>2.3 原液</p> <p>2.3.1 ボルデテラ・ブロンキセプチカ原液</p> <p>2.3.1.1 培養  ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた培地で培養したワーキングシード菌又はプロダクションシード菌を、製造用培地1又は適当と認められた培地に接種し、培養したものを<u>ボルデテラ・ブロンキセプチカ培養菌液</u>とする。  <u>ボルデテラ・ブロンキセプチカ培養菌液</u>について、3.2.1.1及び3.2.2の試験を行う。</p> <p>2.3.1.2 (略)</p> <p>2.3.1.3 濃度調整  PBS、又は適当と認められた保存剤を添加したPBSでボルデテラ・ブロンキセプチカ不活化菌液の濃度を調整したものを<u>ボルデテラ・ブロンキセプチカ原液</u>とする。  <u>ボルデテラ・ブロンキセプチカ原液</u>について、3.6の試験を行う。</p> <p>2.3.2 パスツレラ・ムルトシダトキソイド原液</p> <p>2.3.2.1 培養  鶏血清加PPLO寒天培地又は適当と認められた培地で培養したワーキングシード菌又はプロダクションシード菌を、製造用培地2又は適当と認められた培地に接種し、培養したものを<u>パスツレラ・ムルトシダ培養菌液</u>とする。  <u>パスツレラ・ムルトシダ培養菌液</u>について、3.2.1.2及び3.2.3の試験を行う。</p> <p>2.3.2.2 集菌及び破碎  <u>パスツレラ・ムルトシダ培養菌液</u>を遠心し、得られた沈殿菌を適量のリン酸緩衝液（付記6）に浮遊し、物理的処理により菌体を破碎したものをパスツレラ・ムルトシダ破碎菌液とする。  パスツレラ・ムルトシダ破碎菌液について、3.4の試験を行う。</p> <p>2.3.2.3 部分精製及び濃縮  破碎菌液からカラムクロマトグラフィーにより毒素活性部分を分取し、濃縮したものをパスツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素液とする。  パスツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素液について、3.5の試験を行う。</p>
--	--

<p>パスツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素液について、3.5の試験を行う。</p> <p>2.3.2.4 不活化  パスツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素液にホルマリン又は適当と認められた不活化剤を加えて不活化したものを原液とする。</p> <p>原液について、3.6の試験を行う。</p> <p>2.4 (略)</p> <p>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、<u>3.8</u>の試験を行う。</p> <p>3 試験法</p> <p>3.1～3.4 (略)</p> <p>3.5 パスツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素液の試験</p> <p>3.5.1 (略)</p> <p>3.5.2 定量試験</p> <p>3.5.2.1 試験材料</p> <p>3.5.2.1.1 検体及び試料  <u>毒素量測定試験には、検体をPBSで2倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料としたものを用いる。また、たん白量測定試験には、検体を用いる。</u></p> <p>3.5.2.1.2 試験動物 (略)</p> <p>3.5.2.2 試験方法 (略)</p> <p>3.5.2.3 判定  検体 1 mL中の皮膚壊死毒素単位及びたん白量から、たん白量 1 <math>\mu</math>g当たりの皮膚壊死毒素単位を算出する。  検体中の皮膚壊死毒素は、たん白量 1 <math>\mu</math>g当たり30皮膚壊死毒素単位以上でなければならない。</p> <p>3.6・3.7 (略)</p> <p>3.8 小分製品の試験</p> <p>3.8.1～ 3.8.4 (略)</p> <p>3.8.5 安全試験</p> <p>3.8.5.1 (略)</p> <p>3.8.5.2 試験方法  試験動物の2頭を試験群、1頭を対照群とする。</p>	<p>2.3.2.4 不活化  パスツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素液にホルマリン又は適当と認められた不活化剤を加えて不活化したものを<u>パスツレラ・ムルトシダ原液</u>とする。  <u>パスツレラ・ムルトシダ原液</u>について、3.6の試験を行う。</p> <p>2.4 (略)</p> <p>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、<u>3.7</u>の試験を行う。</p> <p>3 試験法</p> <p>3.1 ～3.4 (略)</p> <p>3.5 パスツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素液の試験</p> <p>3.5.1 (略)</p> <p>3.5.2 定量試験</p> <p>3.5.2.1 試験材料</p> <p>3.5.2.1.1 検体及び試料  たん白量測定試験には、検体を用いる。また、<u>毒素量測定試験には、検体をPBSで2倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料としたものを用いる。</u></p> <p>3.5.2.1.2 試験動物 (略)</p> <p>3.5.2.2 試験方法 (略)</p> <p>3.5.2.3 判定  検体 1 mL中の皮膚壊死毒素単位及びたん白量から、たん白 1 <math>\mu</math>g当たりの皮膚壊死毒素単位を算出する。  検体中の皮膚壊死毒素は、たん白量 1 <math>\mu</math>g当たり30皮膚壊死毒素単位以上でなければならない。</p> <p>3.6・3.7 (略)</p> <p>3.8 小分製品の試験</p> <p>3.8.1～ 3.8.4 (略)</p> <p>3.8.5 安全試験</p> <p>3.8.5.1 (略)</p> <p>3.8.5.2 試験方法  試験動物の2頭を試験群、1頭を対照群とする。</p>
---	--

<p>注射材料 2 mLずつを 1 か月間隔で 2 回、試験群の筋肉内に注射し、対照群と共に 2 回目注射後 2 週間観察する。</p> <p>3.8.5.3 (略)</p> <p>3.8.6 力価試験</p> <p>3.8.6.1 (略)</p> <p>3.8.6.2 豚パストツレラ症力価試験</p> <p>3.8.6.2.1 試験材料</p> <p>3.8.6.2.1.1 試験動物 (略)</p> <p>3.8.6.2.1.2 酵素抗体反応 (以下この項において「ELISA」という。) 用抗原組換え無毒変異型皮膚壊死毒素たん白 (以下この項において「<u>mrPMT</u>」という。) (付記12) を用いる。</p> <p>3.8.6.2.2 試験方法</p> <p>3.8.5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。</p> <p>試験群と対照群の血清を血清希釈液 (付記13) で100倍に希釈したものの、<u>指示陽性血清</u> (付記14) 及び<u>指示陰性血清</u> (付記15) を<u>mrPMT</u>吸着プレート (付記16) の4穴 (偶数列2穴と奇数列2穴) に50 <math>\mu</math> Lずつ加える。37°Cで30分間反応させた後、洗浄液 (付記17) で3回洗浄する。</p> <p>次に、各穴に酵素標識抗体液 (付記18) を50 <math>\mu</math> Lずつ加え、37°Cで15分間反応させた後、洗浄液で3回洗浄する。発色基質液 (付記19) を各穴に50 <math>\mu</math> Lずつ加え、遮光して30°Cで<u>指示血清が所定の吸光度値となるように感作させた後</u>、2 mol/L硫酸水溶液を50 <math>\mu</math> Lずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長490~492nm、副波長630nmで測定する。</p> <p>3.8.6.2.3 判定</p> <p>試験群と対照群の血清、<u>指示陽性血清</u>及び<u>指示陰性血清</u>について、奇数列穴の吸光度値から偶数列穴の吸光度値を差し引いた値を算出し、平均したものを各血清の吸光度値とする。</p> <p><u>指示陽性血清</u>の吸光度値が0.8~1.3、<u>指示陰性血清</u>の吸光度値が0.1未満の場合、試験成立とし、次の式に基づいて試験群と対照群の血清のE値を算出したとき、0.1以上を陽性とする。</p> $E \text{ 値} = (S - N) / (P - N)$ <p>S:被検血清の吸光度値 N:<u>指示陰性血清</u>の吸光度値 P:<u>指示陽性血清</u>の吸光度値</p> <p>試験群のE値は、全て陽性でなければならない。この場合において、</p>	<p>注射材料 2 mLを 4 週間隔で 2 回、試験群の筋肉内に注射し、対照群と共に初回注射後44日間観察する。</p> <p>3.8.5.3 (略)</p> <p>3.8.6 力価試験</p> <p>3.8.6.1 (略)</p> <p>3.8.6.2 豚パストツレラ症力価試験</p> <p>3.8.6.2.1 試験材料</p> <p>3.8.6.2.1.1 試験動物</p> <p>3.8.6.2.1.2 酵素抗体反応 (以下この項において「ELISA」という。) 用抗原組換え皮膚壊死毒素たん白 (以下この項において「<u>rToxA</u>」という。) (付記12) を用いる。</p> <p>3.8.6.2.2 試験方法</p> <p>3.8.5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。</p> <p>試験群と対照群の血清を血清希釈液 (付記13) で100倍に希釈したものの、<u>参照陽性血清</u> (付記14) 及び<u>参照陰性血清</u> (付記15) を<u>rToxA</u>吸着プレート (付記16) の4穴 (偶数列2穴と奇数列2穴) に50 <math>\mu</math> Lずつ加える。37°Cで30分間反応させた後、洗浄液 (付記17) で3回洗浄する。</p> <p>次に、各穴に酵素標識抗体液 (付記18) を50 <math>\mu</math> Lずつ加え、37°Cで15分間反応させた後、洗浄液で3回洗浄する。発色基質液 (付記19) を各穴に50 <math>\mu</math> Lずつ加え、遮光して30°Cで<u>20分間反応させた後</u>、2 mol/L硫酸水溶液を50 <math>\mu</math> 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。</p> <p>3.8.6.2.3 判定</p> <p>試験群と対照群の血清、<u>参照陽性血清</u>及び<u>参照陰性血清</u>について、奇数列穴の吸光度値から偶数列穴の吸光度値を差し引いた値を算出し、平均したものを各血清の吸光度値とする。</p> <p><u>参照陽性血清</u>の吸光度値が0.8~1.3、<u>参照陰性血清</u>の吸光度値が0.1未満の場合、試験成立とし、次の式に基づいて試験群と対照群の血清のE値を算出したとき、0.1以上を陽性とする。</p> $E \text{ 値} = (S - N) / (P - N)$ <p>S:被検血清の吸光度値 N:<u>参照陰性血清</u>の吸光度値 P:<u>参照陽性血清</u>の吸光度値</p> <p>試験群のE値は、全て陽性でなければならない。この場合において、</p>
---	---

<p>対照群では、全て0.1未満でなければならない。 4 (略)</p> <p>付記1～付記11 (略)</p> <p>付記12 <u>mrPMT</u> 組換え無毒変異型皮膚壊死毒素たん白 (mrPMT) を発現するパストツレラ・ムルトシダ由来無毒変異型皮膚壊死毒素遺伝子を導入した大腸菌株の培養液を集菌して得た菌体を超音波処理により破碎し、<u>硫酸塩析法によりmrPMTを回収し、精製する。</u> <u>精製したmrPMTは、SDSポリアクリルアミド電気泳動で分析したとき、約140kDaの位置に特異的なバンドを認める。精製したmrPMTをホルマリンで不活化し、リン酸緩衝液に透析したものをELISA抗原とする。</u></p> <p>付記13 血清希釈液 1,000mL中 ゼラチン <math>\frac{10}{100}</math> g/mL 10倍濃度PBS ポリソルベート80 1 mL 水 残量 ゼラチンを水に加温・溶解後、冷却し、これに10倍濃度PBS及びポリソルベート80を添加する。</p> <p>付記14 <u>指示陽性血清</u> <u>精製mrPMT</u>で免疫した豚の血清であって、ELISAの吸光度値が約1.0を示すように調整したもの。 ただし、免疫に用いる豚は、<u>適当と認められた規格の豚を用いる。</u></p> <p>付記15 <u>指示陰性血清</u> <u>健康な豚の血清で、ELISAの吸光度値が0.1未満を示すもの。</u></p> <p>付記16 <u>mrPMT</u>吸着プレート</p>	<p>対照群では、全て0.1未満でなければならない。 4 (略)</p> <p>付記1～付記11 (略)</p> <p>付記12 <u>rToxA</u> <u>大腸菌K-12株由来のXL-1 Blue株を、ToxA遺伝子を挿入したpSN131プラスミドで形質転換してrToxA産生大腸菌を作出する。</u> <u>この組換え大腸菌の培養液を集菌・洗浄して得た菌体を超音波処理及び硫酸塩析した後、カラムクロマトグラフィーを用いて精製し、ホルマリンで不活化したものをrToxAとする。</u> <u>rToxAは、不活化前の試料をSDSポリアクリルアミド電気泳動で分析したとき、約140kDaの位置に特異的なバンドを認め、他にバンドを認めない。</u></p> <p>付記13 血清希釈液 1,000mL中 ゼラチン <math>\frac{10.0}{100}</math> g/mL 10倍濃度PBS ポリソルベート80 1 mL 水 残量 ゼラチンを水に加温・溶解後、冷却し、これに10倍濃度PBS及びポリソルベート80を添加する。</p> <p>付記14 <u>参照陽性血清</u> <u>不活化した精製パストツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素で免疫した豚の血清であって、血清希釈によりELISAの吸光度値が約1.0を示すように濃度を調整し、凍結したもの。</u> ただし、免疫に用いる豚は、<u>適当と認められた規格の豚を用いる。</u></p> <p>付記15 <u>参照陰性血清</u> <u>パストツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素に対する抗体を保有しない豚の血清であって、ELISAの吸光度が0.1以下を示すもの。</u></p> <p>付記16 <u>rToxA</u>吸着プレート</p>
--	--

<p>ELISA 抗原を指示陽性血清の吸光度が0.8～1.3になるよう0.05mol/L炭酸重炭酸緩衝液（付記20）で希釈し、プレートの奇数列に分注し、0.05mol/L炭酸重炭酸緩衝液をプレートの偶数列にそれぞれ50<math>\mu</math>Lずつ分注し、2～10℃で1夜固相化する。固相化したプレートを洗浄液で洗浄し、ブロッキング液（付記21）を50<math>\mu</math>Lずつ各穴に加えてブロッキング後、プレートを洗浄液で洗浄したもの。</p>	<p>rToxAを0.05mol/L炭酸重炭酸緩衝液（付記20）によりたん白濃度が1<math>\mu</math>g/mLとなるように希釈し、この抗原液をプレートの奇数列に、0.05mol/L炭酸重炭酸緩衝液をプレートの偶数列にそれぞれ50<math>\mu</math>Lずつ加え、4℃で1夜固相化する。固相化したプレートを洗浄液で1回洗浄し、ブロッキング液（付記21）を50<math>\mu</math>Lずつ各穴に加え、常温で60分間反応させた後、プレートを洗浄液で1回洗浄したもの。</p>
<p>付記17 (略)</p>	<p>付記17 (略)</p>
<p>付記18 酵素標識抗体液 1,000mL中 ペルオキシダーゼ標識プロテインA 1 mL 10倍濃度PBS 100mL 100 mL ポリソルベート80 1 mL 水 残 量 使用直前に調製する。</p>	<p>付記18 酵素標識抗体液 1,000mL中 ペルオキシダーゼ標識プロテインA (たん白濃度2.0mg/mL) 1 mL 10倍濃度PBS 100mL 100 mL ポリソルベート80 1 mL 水 残 量 使用直前に調製する。</p>
<p>付記19 発色基質液 1,000mL中 o-フェニレンジアミン二塩酸塩 0.4 g 30%過酸化水素水 0.2 mL 基質緩衝液（付記22） 残 量 使用直前に調製する。</p>	<p>付記19 発色基質液 1,000mL中 o-フェニレンジアミン二塩酸塩 0.40 g 30%過酸化水素水 0.2 mL 基質緩衝液（付記22） 残 量 使用直前に調製する。</p>
<p>付記20 0.05mol/L炭酸重炭酸緩衝液 1,000mL中 炭酸水素ナトリウム 3 g 炭酸ナトリウム 1.5 g 水 残 量 pHを9.6に調整する。</p>	<p>付記20 0.05mol/L炭酸重炭酸緩衝液 1,000mL中 炭酸水素ナトリウム 3.0 g 炭酸ナトリウム 1.5 g 水 残 量 pHを9.6に調整する。</p>
<p>付記21 ブロッキング液 1,000mL中 ゼラチン 10 g 水 残 量 ゼラチンを加温・溶解し、冷却後使用する。</p>	<p>付記21 ブロッキング液 1,000mL中 ゼラチン 10.0 g 水 残 量</p>

付記22 (略)

ゼラチンを加温・溶解し、冷却後使用する。

付記22 (略)

動物用生物学的製剤基準の一部を改正する件 新旧対照表

○動物用生物学的製剤基準（平成 14 年 10 月 3 日農林水産省告示第 1567 号）

次の表により、改正前欄に掲げる規定の傍線を付した部分（以下「傍線部分」という。）でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分があるものは、これを当該傍線部分のように改め、改正後欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正前欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これに加え、改正前欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これを削る。

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>豚ボルデテラ感染症不活化・パスツレラ・ムルトシダトキソイド・豚丹毒不活化混合（アジュバント加）ワクチン（シード）</b></p> <p>1 （略）                  2 製法                  2.1 製造用株                  2.1.1 ボルデテラ・ブロンキセプチカ                  2.1.1.1・2.1.1.2（略）                  2.1.1.3 マスターシード菌                  2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数                  マスターシード菌は、ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。                  分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。</u>                  マスターシード菌について、3.1.1の試験を行う。                  マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10代以内でなければならない。                  2.1.1.4 ワーキングシード菌                  2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存                  ワーキングシード菌は、ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた培地で増殖及び継代する。                  ワーキングシード菌は、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存</u></p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>豚ボルデテラ感染症不活化・パスツレラ・ムルトシダトキソイド・豚丹毒不活化混合（アジュバント加）ワクチン（シード）</b></p> <p>1 （略）                  2 製法                  2.1 製造用株                  2.1.1 ボルデテラ・ブロンキセプチカ                  2.1.1.1・2.1.1.2（略）                  2.1.1.3 マスターシード菌                  2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数                  マスターシード菌は、ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。                  分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。                  マスターシード菌について、3.1.1の試験を行う。                  マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10代以内でなければならない。                  2.1.1.4 ワーキングシード菌                  2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存                  ワーキングシード菌は、ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた培地で増殖及び継代する。                  ワーキングシード菌は、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。</p>



<p><u>温度とする。</u> ワーキングシード菌について、3.1.2の試験を行う。</p> <p>2.1.1.5 プロダクションシード菌</p> <p>2.1.1.5.1 増殖及び保存 プロダクションシード菌は、ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた培地で増殖させる。 プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。</u></p> <p>プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3の試験を行う。</p> <p>2.1.2 パスツレラ・ムルトシダ</p> <p>2.1.2.1・2.1.2.2 (略)</p> <p>2.1.2.3 マスターシード菌</p> <p>2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数 マスターシード菌は、鶏血清加PPLO寒天培地(付記2)又は適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。 分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。</u></p> <p>マスターシード菌について、3.1.1の試験を行う。 マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10代以内でなければならない。</p> <p>2.1.2.4 ワーキングシード菌</p> <p>2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存 ワーキングシード菌は、鶏血清加PPLO寒天培地又は適当と認められた培地で増殖及び継代する。 ワーキングシード菌は、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。</u></p> <p>ワーキングシード菌について、3.1.2の試験を行う。</p> <p>2.1.2.5 プロダクションシード菌</p> <p>2.1.2.5.1 増殖及び保存 プロダクションシード菌は、鶏血清加PPLO寒天培地又は適当と認められた培地で増殖させる。 プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して-70℃以下又は</p>	<p>ワーキングシード菌について、3.1.2の試験を行う。</p> <p>2.1.1.5 プロダクションシード菌</p> <p>2.1.1.5.1 増殖及び保存 プロダクションシード菌は、ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた培地で増殖させる。 プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。</p> <p>プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3の試験を行う。</p> <p>2.1.2 パスツレラ・ムルトシダ</p> <p>2.1.2.1・2.1.2.2 (略)</p> <p>2.1.2.3 マスターシード菌</p> <p>2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数 マスターシード菌は、鶏血清加PPLO寒天培地(付記2)又は適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。 分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。</p> <p>マスターシード菌について、3.1.1の試験を行う。 マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10代以内でなければならない。</p> <p>2.1.2.4 ワーキングシード菌</p> <p>2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存 ワーキングシード菌は、鶏血清加PPLO寒天培地又は適当と認められた培地で増殖及び継代する。 ワーキングシード菌は、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。</p> <p>ワーキングシード菌について、3.1.2の試験を行う。</p> <p>2.1.2.5 プロダクションシード菌</p> <p>2.1.2.5.1 増殖及び保存 プロダクションシード菌は、鶏血清加PPLO寒天培地又は適当と認められた培地で増殖させる。 プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して-70℃以下又は</p>
--	--

<p>凍結乾燥して5℃以下で保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。</u>  プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3の試験を行う。</p> <p>2.1.3 豚丹毒菌</p> <p>2.1.3.1・2.1.3.2 (略)</p> <p>2.1.3.3 マスターシード菌</p> <p>2.1.3.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数  マスターシード菌は、豚丹毒菌用平板培地（付記3）又は適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。  分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。</u>  マスターシード菌について、3.1.1の試験を行う。  マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10代以内でなければならない。</p> <p>2.1.3.4 ワーキングシード菌</p> <p>2.1.3.4.1 増殖、継代及び保存  ワーキングシード菌は、豚丹毒菌用平板培地又は適当と認められた培地で増殖及び継代する。  ワーキングシード菌は、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。</u>  ワーキングシード菌について、3.1.2の試験を行う。</p> <p>2.1.3.5 プロダクションシード菌</p> <p>2.1.3.5.1 増殖及び保存  プロダクションシード菌は、豚丹毒菌用平板培地又は適当と認められた培地で増殖させる。  プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。</u>  プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3の試験を行う。</p> <p>2.2 製造用材料</p> <p>2.2.1 ボルデテラ・ブロンキセプチカ</p> <p>2.2.1.1 (略)</p> <p>2.2.2 パスツレラ・ムルトシダ</p>	<p>凍結乾燥して5℃以下で保存する。</p> <p>プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3の試験を行う。</p> <p>2.1.3 豚丹毒菌</p> <p>2.1.3.1・2.1.3.2 (略)</p> <p>2.1.3.3 マスターシード菌</p> <p>2.1.3.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数  マスターシード菌は、豚丹毒菌用平板培地（付記3）又は適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。  分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。</p> <p>マスターシード菌について、3.1.1の試験を行う。  マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの最高継代数は、10代以内でなければならない。</p> <p>2.1.3.4 ワーキングシード菌</p> <p>2.1.3.4.1 増殖、継代及び保存  ワーキングシード菌は、豚丹毒菌用平板培地又は適当と認められた培地で増殖及び継代する。  ワーキングシード菌は、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。</p> <p>ワーキングシード菌について、3.1.2の試験を行う。</p> <p>2.1.3.5 プロダクションシード菌</p> <p>2.1.3.5.1 増殖及び保存  プロダクションシード菌は、豚丹毒菌用平板培地又は適当と認められた培地で増殖する。  プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。</p> <p>プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3の試験を行う。</p> <p>2.2 製造用材料</p> <p>2.2.1 ボルデテラ・ブロンキセプチカ<u>の製造用材料</u></p> <p>2.2.1.1 (略)</p> <p>2.2.2 パスツレラ・ムルトシダ<u>の製造用材料</u></p>
--	---

<p>2.2.2.1 (略)</p> <p>2.2.3 豚丹毒菌</p> <p>2.2.3.1 (略)</p> <p>2.3 原液</p> <p>2.3.1 ボルデテラ・ブロンキセプチカ原液</p> <p>2.3.1.1 培養      ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた培地で培養したワーキングシード菌又はプロダクションシード菌を、製造用培地 1 又は適当と認められた培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。</p> <p>培養菌液について、3.2.1.1及び3.2.2の試験を行う。</p> <p>2.3.1.2 (略)</p> <p>2.3.1.3 濃度調整      PBS又は適当と認められた保存剤を添加したPBSでボルデテラ・ブロンキセプチカ不活化菌液の濃度を調整したものを原液とする。      原液について、3.6.1の試験を行う。</p> <p>2.3.2 パスツレラ・ムルトシダ原液</p> <p>2.3.2.1 培養      鶏血清加PPLO寒天培地又は適当と認められた培地で培養したワーキングシード菌又はプロダクションシード菌を、製造用培地 2 又は適当と認められた培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。      培養菌液について、3.2.1.2及び3.2.3.1の試験を行う。</p> <p>2.3.2.2 集菌及び破碎      培養菌液を遠心し、得られた沈殿菌を適量のリン酸緩衝液（付記9）に浮遊し、物理的処理により菌体を破碎したものをパスツレラ・ムルトシダ破碎菌液とする。      パスツレラ・ムルトシダ破碎菌液について、3.4の試験を行う。</p> <p>2.3.2.3 部分精製及び濃縮      パスツレラ・ムルトシダ破碎菌液からカラムクロマトグラフィーにより毒素活性部分を分取し、濃縮したものをパスツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素液とする。      パスツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素液について、3.5の試験を行う。</p> <p>2.3.2.4 (略)</p> <p>2.3.3 豚丹毒菌原液</p>	<p>2.2.2.1 (略)</p> <p>2.2.3 豚丹毒の製造用材料</p> <p>2.2.3.1 (略)</p> <p>2.3 原液</p> <p>2.3.1 ボルデテラ・ブロンキセプチカ原液</p> <p>2.3.1.1 培養      ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた培地で培養したワーキングシード菌又はプロダクションシード菌を、製造用培地 1 又は適当と認められた培地に接種し、培養したものを<u>ボルデテラ・ブロンキセプチカ培養菌液</u>とする。  <u>ボルデテラ・ブロンキセプチカ培養菌液</u>について、3.2.1.1及び3.2.2の試験を行う。</p> <p>2.3.1.2 (略)</p> <p>2.3.1.3 濃度調整      PBS又は適当と認められた保存剤を添加したPBSでボルデテラ・ブロンキセプチカ不活化菌液の濃度を調整したものを<u>ボルデテラ・ブロンキセプチカ原液</u>とする。  <u>ボルデテラ・ブロンキセプチカ原液</u>について、3.6.1の試験を行う。</p> <p>2.3.2 パスツレラ・ムルトシダ原液</p> <p>2.3.2.1 培養      鶏血清加PPLO寒天培地又は適当と認められた培地で培養したワーキングシード菌又はプロダクションシード菌を、製造用培地 2 又は適当と認められた培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。  <u>パスツレラ・ムルトシダ培養菌液</u>について、3.2.1.2及び3.2.3の試験を行う。</p> <p>2.3.2.2 集菌及び破碎  <u>パスツレラ・ムルトシダ培養菌液</u>を遠心し、得られた沈殿菌を適量のリン酸緩衝液（付記9）に浮遊し、物理的処理により菌体を破碎したものをパスツレラ・ムルトシダ破碎菌液とする。      パスツレラ・ムルトシダ破碎菌液について、3.4の試験を行う。</p> <p>2.3.2.3 部分精製及び濃縮      破碎菌液からカラムクロマトグラフィーにより毒素活性部分を分取し、濃縮したものをパスツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素液とする。</p> <p><u>パスツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素液</u>について、3.5の試験を行う。</p> <p>2.3.2.4 (略)</p> <p>2.3.3 豚丹毒菌原液</p>
---	--

<p>2.3.3.1 培養 ワーキングシード菌又はプロダクションシード菌を豚丹毒菌用培地又は適当と認められた培地に接種し、増量培養したものを更に製造用培地3又は適当と認められた培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。 培養菌液について、3.2.1.3及び3.2.3.2の試験を行う。</p> <p>2.3.3.2 (略)</p> <p>2.4～2.5 (略)</p> <p>3 試験法</p> <p>3.1 製造用株の試験</p> <p>3.1.1 マスターシード菌の試験</p> <p>3.1.1.1 (略)</p> <p>3.1.1.2 夾雑菌否定試験</p> <p>3.1.1.2.1・3.1.1.2.2 (略)</p> <p>3.1.1.2.3 豚丹毒菌の夾雑菌否定試験</p> <p>3.1.1.2.3.1 (略)</p> <p>3.1.1.2.3.2 普通寒天培地斜面培養法</p> <p>3.1.1.2.3.2.1 培地 普通寒天斜面培地を用いる。</p> <p>3.1.1.2.3.2.2 試験方法 検体0.5mLずつを培地の4本に接種し、37℃で7日間培養し、観察する。</p> <p>3.1.1.2.3.2.3 判定 (略)</p> <p>3.1.2・3.1.3 (略)</p> <p>3.2～3.4 (略)</p> <p>3.5 パスツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素液の試験</p> <p>3.5.1 同定試験 (略)</p> <p>3.5.2 皮膚壊死毒素定量試験</p> <p>3.5.2.1 試験材料</p> <p>3.5.2.1.1 検体及び試料 <u>毒素量測定試験には、検体をPBSで2倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料としたものを用いる。また、たん白量測定試験には、検体を用いる。</u></p> <p>3.5.2.1.2 試験動物 (略)</p> <p>3.5.2.2 試験方法 (略)</p> <p>3.5.2.3 判定</p>	<p>2.3.3.1 培養 ワーキングシード菌又はプロダクションシード菌を豚丹毒菌用培地又は適当と認められた培地に接種し、増量培養したものを更に製造用培地3又は適当と認められた培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。 培養菌液について、3.2.1.3及び3.2.3の試験を行う。</p> <p>2.3.3.2 (略)</p> <p>2.4～2.5 (略)</p> <p>3 試験法</p> <p>3.1 製造用株の試験</p> <p>3.1.1 マスターシード菌の試験</p> <p>3.1.1.1 (略)</p> <p>3.1.1.2 夾雑菌否定試験</p> <p>3.1.1.2.1・3.1.1.2.2 (略)</p> <p>3.1.1.2.3 豚丹毒菌の夾雑菌否定試験</p> <p>3.1.1.2.3.1 (略)</p> <p>3.1.1.2.3.2 普通寒天培地斜面培養法</p> <p>3.1.1.2.3.2.1 培地 普通寒天斜面培地を用いる。</p> <p>3.1.1.2.3.2.2 試験方法 検体0.5mLずつを<u>普通寒天斜面培地</u>の4本に接種し、37℃で7日間培養し、観察する。</p> <p>3.1.1.2.3.2.3 判定 (略)</p> <p>3.1.2・3.1.3 (略)</p> <p>3.2～3.4 (略)</p> <p>3.5 パスツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素液の試験</p> <p>3.5.1 同定試験 (略)</p> <p>3.5.2 皮膚壊死毒素定量試験</p> <p>3.5.2.1 試験材料</p> <p>3.5.2.1.1 検体及び試料 たん白量測定試験には、検体を用いる。また、毒素量測定試験には、<u>検体をPBSで2倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料としたものを用いる。</u></p> <p>3.5.2.1.2 試験動物 (略)</p> <p>3.5.2.2 試験方法 (略)</p> <p>3.5.2.3 判定 検体1mL中の皮膚壊死毒素単位及びたん白量から、たん白1μg当た</p>
---	---

<p>検体 1 mL中の皮膚壊死毒素単位及びたん白量から、たん白量 1 <math>\mu</math>g 当たりの皮膚壊死毒素単位を算出する。</p> <p>検体中の皮膚壊死毒素は、たん白量 1 <math>\mu</math>g 当たり 30 皮膚壊死毒素単位以上でなければならない。</p> <p>3.6 原液の試験 (略)</p> <p>3.7 小分製品の試験</p> <p>3.7.1～3.7.7 (略)</p> <p>3.7.8 安全試験</p> <p>3.7.8.1～3.7.8.3 (略)</p> <p>3.7.9 力価試験</p> <p>3.7.9.1 <u>豚ボルデテラ感染症力価試験</u></p> <p>3.7.9.1.1 試験材料</p> <p>3.7.9.1.1.1 試験動物 (略)</p> <p>3.7.9.1.1.2 凝集反応用抗原 (略)</p> <p>3.7.9.1.2・3.7.9.1.3 (略)</p> <p>3.7.9.2 <u>豚パストツレラ症力価試験</u></p> <p>3.7.9.2.1 試験材料</p> <p>3.7.9.2.1.1 試験動物 (略)</p> <p>3.7.9.2.1.2 酵素抗体反応 (以下この項において「ELISA」という。) 用抗原 <u>組換え無毒変異型皮膚壊死毒素たん白</u> (以下この項において「<u>mrPMT</u>」という。) (付記17) を用いる。</p> <p>3.7.9.2.2 試験方法</p> <p>3.7.8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。</p> <p>試験群と対照群の血清を血清希釈液 (付記18) で100倍に希釈したものの、<u>指示陽性血清</u> (付記19) 及び<u>指示陰性血清</u> (付記20) を<u>mrPMT</u> 吸着プレート (付記21) の4穴 (偶数列2穴と奇数列2穴) に50 <math>\mu</math>L ずつ加える。37°Cで30分間反応させた後、洗浄液 (付記22) で3回洗浄する。</p> <p>次に、各穴に酵素標識抗体液 (付記23) を50 <math>\mu</math>L ずつ加え、37°Cで15分間反応させた後、洗浄液で3回洗浄する。発色基質液 (付記24) を各穴に50 <math>\mu</math>L ずつ加え、遮光して30°Cで<u>指示血清が所定の吸光度値となるように感作させた後</u>、2 mol/L硫酸水溶液を50 <math>\mu</math>L ずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長490～492nm、副波長630nmで測定する。</p> <p>3.7.9.2.3 判定</p>	<p>りの皮膚壊死毒素単位を算出する。</p> <p>検体中の皮膚壊死毒素は、たん白量 1 <math>\mu</math>g 当たり 30 皮膚壊死毒素単位以上でなければならない。</p> <p>3.6 原液の試験 (略)</p> <p>3.7 小分製品の試験</p> <p>3.7.1～3.7.7 (略)</p> <p>3.7.8 安全試験</p> <p>3.7.8.1～3.7.8.3 (略)</p> <p>3.7.9 力価試験</p> <p>3.7.9.1 <u>ボルデテラ・ブロンキセプチカ感染症力価試験</u></p> <p>3.7.9.1.1 試験材料</p> <p>3.7.9.1.1.1 試験動物 (略)</p> <p>3.7.9.1.1.2 凝集反応用抗原 (略)</p> <p>3.7.9.1.2・3.7.9.1.3 (略)</p> <p>3.7.9.2 <u>パストツレラ・ムルトシダ感染症力価試験</u></p> <p>3.7.9.2.1 試験材料</p> <p>3.7.9.2.1.1 試験動物 (略)</p> <p>3.7.9.2.1.2 酵素抗体反応 (以下この項において「ELISA」という。) 用抗原 <u>組換え皮膚壊死毒素たん白</u> (以下この項において「<u>rToxA</u>」という。) (付記17) を用いる。</p> <p>3.7.9.2.2 試験方法</p> <p>3.7.8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。</p> <p>試験群と対照群の血清を血清希釈液 (付記18) で100倍に希釈したものの、<u>参照陽性血清</u> (付記19) 及び<u>参照陰性血清</u> (付記20) を<u>rToxA</u> 吸着プレート (付記21) の4穴 (偶数列2穴と奇数列2穴) に50 <math>\mu</math>L ずつ加える。37°Cで30分間反応させた後、洗浄液 (付記22) で3回洗浄する。</p> <p>次に、各穴に酵素標識抗体液 (付記23) を50 <math>\mu</math>L ずつ加え、37°Cで15分間反応させた後、洗浄液で3回洗浄する。発色基質液 (付記24) を各穴に50 <math>\mu</math>L ずつ加え、遮光して30°Cで<u>20分間反応させた後</u>、2 mol/L硫酸水溶液を50 <math>\mu</math>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。</p> <p>3.7.9.2.3 判定</p> <p>試験群と対照群の血清、<u>参照陽性血清</u> 及び<u>参照陰性血清</u> について、奇数列穴の吸光度値から偶数列穴の吸光度値を差し引いた値を算出し、平</p>
---	---

<p>試験群と対照群の血清、指示陽性血清及び指示陰性血清について、奇数列穴の吸光度値から偶数列穴の吸光度値を差し引いた値を算出し、平均したものを各血清の吸光度値とする。</p> <p>指示陽性血清の吸光度値が0.8～1.3、指示陰性血清の吸光度値が0.1未満の場合、試験成立とし、次の式に基づいて試験群と対照群の血清のE値を算出したとき、0.1以上を陽性とする。</p> $E \text{ 値} = (S - N) / (P - N)$ <p>S:被検血清の吸光度値 N:指示陰性血清の吸光度値 P:指示陽性血清の吸光度値</p> <p>試験群のE値は、全て陽性でなければならない。この場合において、対照群では、全て0.1未満でなければならない。</p> <p>3.7.9.3 (略)</p> <p>4 (略)</p> <p>付記1～付記10 (略)</p> <p>付記11 ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト・ブロス 1,000mL中 ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト・ブロス 30 g 水 残量 加熱溶解後、pHを7.0～7.4に調整し、沈殿をろ過により除去した後、121℃で15分間高压滅菌する。</p> <p>付記12～付記16 (略)</p> <p>付記17 <u>mrPMT</u> 組換え無毒変異型皮膚壊死毒素たん白 (mrPMT) を発現するパスツレラ・ムルトシダ由来無毒変異型皮膚壊死毒素遺伝子を導入した大腸菌株の培養液を集菌して得た菌体を超音波処理により破碎し、硫酸塩析法によりmrPMTを回収し、精製する。 精製したmrPMTは、SDSポリアクリルアミド電気泳動で分析したとき、約140kDaの位置に特異的なバンドを認める。精製したmrPMTをホルマリンで不活化し、リン酸緩衝液に透析したものをELISA抗原とする。</p> <p>付記18 血清希釈液</p>	<p>均したものを各血清の吸光度値とする。</p> <p>参照陽性血清の吸光度値が0.8～1.3、参照陰性血清の吸光度値が0.1未満の場合、試験成立とし、次の式に基づいて試験群と対照群の血清のE値を算出したとき、0.1以上を陽性とする。</p> $E \text{ 値} = (S - N) / (P - N)$ <p>S:被検血清の吸光度値 N:参照陰性血清の吸光度値 P:参照陽性血清の吸光度値</p> <p>試験群のE値は、全て陽性でなければならない。この場合において、対照群では、全て0.1未満でなければならない。</p> <p>3.7.9.3 (略)</p> <p>4 (略)</p> <p>付記1～付記10 (略)</p> <p>付記11 ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト・ブロス 1,000mL中 ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト・ブロス 30 g 水 残量 加熱溶解後、pHを7.0～7.4に調整し、沈殿をろ過により除去した後、121℃で15分間高压滅菌する。</p> <p>付記12～付記16 (略)</p> <p>付記17 <u>rToxA</u> 大腸菌K-12株由来のXL-1 Blue株を、ToxA遺伝子を挿入したpSN131プラスミドで形質転換してrToxA産生大腸菌を作出する。 この組換え大腸菌の培養液を集菌・洗浄して得た菌体を超音波処理及び硫酸塩析した後、カラムクロマトグラフィーを用いて精製し、ホルマリンで不活化したものをrToxAとする。 rToxAは、不活化前の試料をSDSポリアクリルアミド電気泳動で分析したとき、約140kDaの位置に特異的なバンドを認め、他にバンドを認めない。</p> <p>付記18 血清希釈液 1,000mL中 ゼラチン 10.0 g</p>
---	--

<p>1,000mL中 ゼラチン 10 g 10倍濃度PBS 100 mL ポリソルベート80 1 mL 水 残量</p> <p>ゼラチンを水に加温・溶解後、冷却し、これに10倍濃度PBS及びポリソルベート80を添加する。</p>	<p>10倍濃度PBS 100 mL ポリソルベート80 1 mL 水 残量</p> <p>ゼラチンを水に加温・溶解後、冷却し、これに10倍濃度PBS及びポリソルベート80を添加する。</p>
<p>付記19 指示陽性血清 <u>精製mrPMTで免疫した豚の血清であって、ELISAの吸光度値が約1.0を示すように調整したもの。</u></p> <p>ただし、免疫に用いる豚は、適当と認められた規格の豚を用いる。</p>	<p>付記19 <u>参照陽性血清</u> <u>不活化した精製パスツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素で免疫した豚の血清であって、血清希釈によりELISAの吸光度値が約1.0を示すように濃度を調整し、凍結したもの。</u></p> <p>ただし、免疫に用いる豚は、適当と認められた規格の豚を用いる。</p>
<p>付記20 指示陰性血清 <u>健康な豚の血清であって、ELISAの吸光度値が0.1未満を示すもの。</u></p>	<p>付記20 <u>参照陰性血清</u> <u>パスツレラ・ムルトシダ皮膚壊死毒素に対する抗体を保有しない豚の血清であって、ELISAの吸光度が0.1以下を示すもの。</u></p>
<p>付記21 <u>mrPMT吸着プレート</u> <u>ELISA抗原を指示陽性血清の吸光度が0.8～1.3になるよう0.05mol/L炭酸重炭酸緩衝液（付記25）で希釈し、プレートの奇数列に分注し、0.05mol/L炭酸重炭酸緩衝液をプレートの偶数列にそれぞれ50μLずつ分注し、2～10℃で1夜固相化する。固相化したプレートを洗浄液で洗浄し、ブロッキング液（付記26）を50μLずつ各穴に加えてブロッキング後、プレートを洗浄液で洗浄したもの。</u></p>	<p>付記21 <u>rToxA吸着プレート</u> <u>rToxAを0.05mol/L炭酸重炭酸緩衝液（付記25）によりたん白濃度が1μg/mLとなるように希釈し、この抗原液をプレートの奇数列に、0.05mol/L炭酸重炭酸緩衝液をプレートの偶数列にそれぞれ50μLずつ加え、4℃で1夜固相化する。固相化したプレートを洗浄液で1回洗浄し、ブロッキング液（付記26）を50μLずつ各穴に加え、常温で60分間反応させた後、プレートを洗浄液で1回洗浄したもの。</u></p>
<p>付記22 洗浄液 （略）</p>	<p>付記22 洗浄液 （略）</p>
<p>付記23 酵素標識抗体液 1,000mL中 ペルオキシダーゼ標識プロテインA 1 mL 10倍濃度PBS 100 mL</p>	<p>付記23 酵素標識抗体液 1,000mL中 ペルオキシダーゼ標識プロテインA（たん白濃度2.0mg/mL） 1 mL 10倍濃度PBS 100 mL ポリソルベート80 1 mL 水 残量</p>

	ポリソルベート80 水 使用直前に調製する。	1 mL 残 量		使用直前に調製する。	
付記24	発色基質液 1,000mL中 o-フェニレンジアミン二塩酸塩 30%過酸化水素水 基質緩衝液（付記27） 使用直前に調製する。	0.4 g 0.2 mL 残 量	付記24	発色基質液 1,000mL中 o-フェニレンジアミン二塩酸塩 30%過酸化水素水 基質緩衝液（付記27） 使用直前に調製する。	0.40 g 0.2 mL 残 量
付記25	0.05mol/L炭酸重炭酸緩衝液 1,000mL中 炭酸水素ナトリウム 炭酸ナトリウム 水 pHを9.6に調整する。	3 g 1.5 g 残 量	付記25	0.05mol/L炭酸重炭酸緩衝液 1,000mL中 炭酸水素ナトリウム 炭酸ナトリウム 水 pHを9.6に調整する。	3.0 g 1.5 g 残 量
付記26	ブロッキング液 1,000mL中 ゼラチン 水 ゼラチンを加温・溶解し、冷却後使用する。	10 g 残 量	付記26	ブロッキング液 1,000mL中 ゼラチン 水 ゼラチンを加温・溶解し、冷却後使用する。	10.0 g 残 量
付記27	（略）		付記27	（略）	



動物用生物学的製剤基準の一部を改正する件 新旧対照表

○動物用生物学的製剤基準（平成 14 年 10 月 3 日農林水産省告示第 1567 号）

次の表により、改正前欄に掲げる規定の傍線を付した部分（以下「傍線部分」という。）でこれに対応する改正後欄に掲げる規定の傍線部分があるものは、これを当該傍線部分のように改め、改正後欄に掲げる規定の傍線部分でこれに対応する改正前欄に掲げる規定の傍線部分がないものは、これを加える。

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p style="text-align: center;"><b>ジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬レプトスピラ病（カニコーラ・イクテロヘモラジー）混合ワクチン（シード）</b></p> <p>1 （略）                  2 製法                  2.1 製造用株                  2.1.1 ジステンパーウイルス                  2.1.1.1 （略）                  2.1.1.2 性状                  犬腎培養細胞に接種すると、CPEを示して増殖するが、発育鶏卵の漿尿膜上に接種すると病変を示さない、又はVero細胞でCPEを伴って増殖する。犬に注射しても病原性を示さない。                  2.1.1.3～2.1.1.5 （略）                  2.1.2 （略）                  2.1.3 犬パラインフルエンザウイルス                  2.1.3.1 （略）                  2.1.3.2 性状                  犬腎培養細胞に接種すると増殖し細胞はモルモット赤血球を吸着する、又はVero細胞でCPEを伴って増殖する。犬に注射しても病原性を示さない。                  2.1.3.3～2.1.3.5 （略）                  2.1.4 犬パルボウイルス                  2.1.4.1 （略）                  2.1.4.2 性状                  犬に注射しても病原性を示さない。犬及び猫由来細胞で核内封入体を</p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p style="text-align: center;"><b>ジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬レプトスピラ病（カニコーラ・イクテロヘモラジー）混合ワクチン（シード）</b></p> <p>1 （略）                  2 製法                  2.1 製造用株                  2.1.1 ジステンパーウイルス                  2.1.1.1 （略）                  2.1.1.2 性状                  犬腎培養細胞に接種すると、CPEを示して増殖するが、発育鶏卵の漿尿膜上に接種すると病変を示さない。犬に注射しても病原性を示さない。                  2.1.1.3～2.1.1.5 （略）                  2.1.2 （略）                  2.1.3 犬パラインフルエンザウイルス                  2.1.3.1 （略）                  2.1.3.2 性状                  犬腎培養細胞に接種すると増殖し細胞はモルモット赤血球を吸着する。犬に注射しても病原性を示さない。                  2.1.3.3～2.1.3.5 （略）                  2.1.4 犬パルボウイルス                  2.1.4.1 （略）                  2.1.4.2 性状</p>

<p>伴って増殖し、その培養ウイルス液は豚及び猿の赤血球を凝集する、又は猫由来細胞及びミンク由来細胞で増殖し、その培養ウイルス液は豚の赤血球を凝集する。</p> <p>2.1.4.3～2.1.4.5 (略)</p> <p>2.1.5・2.1.6 (略)</p> <p>2.2 製造用材料</p> <p>2.2.1 ジステンパーウイルス</p> <p>2.2.1.1～2.2.1.4 (略)</p> <p>2.2.1.5 プロダクションセルシード</p> <p>2.2.1.5.1 増殖、継代及び保存  プロダクションセルシードは、2.2.1.2の培養液で増殖する。  プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して-70°C以下で保存する。  <u>プロダクションセルシードを保存する場合について、3.2.3の試験を行う。</u></p> <p>2.2.2 犬アデノウイルス (2型)</p> <p>2.2.2.1～2.2.2.4 (略)</p> <p>2.2.2.5 プロダクションセルシード</p> <p>2.2.2.5.1 増殖、継代及び保存  プロダクションセルシードは、2.2.2.2の培養液で増殖する。  プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して-70°C以下で保存する。  <u>プロダクションセルシードを保存する場合について、3.2.3の試験を行う。</u></p> <p>2.2.3 犬パラインフルエンザウイルス</p> <p>2.2.3.1～2.2.3.4 (略)</p> <p>2.2.3.5 プロダクションセルシード</p> <p>2.2.3.5.1 増殖、継代及び保存  プロダクションセルシードは、2.2.2.2の培養液で増殖する。  プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して-70°C以下で保存する。  <u>プロダクションセルシードを保存する場合について、3.2.3の試験を行う。</u></p> <p>2.2.4 犬パルボウイルス</p> <p>2.2.4.1～2.2.4.4 (略)</p> <p>2.2.4.5 プロダクションセルシード</p> <p>2.2.4.5.1 増殖、継代及び保存</p>	<p>犬に注射しても病原性を示さない。犬及び猫由来細胞で核内封入体を伴って増殖し、その培養ウイルス液は豚及び猿の赤血球を凝集する。</p> <p>2.1.4.3～2.1.4.5 (略)</p> <p>2.1.5・2.1.6 (略)</p> <p>2.2 製造用材料</p> <p>2.2.1 ジステンパーウイルス</p> <p>2.2.1.1～2.2.1.4 (略)</p> <p>2.2.1.5 プロダクションセルシード</p> <p>2.2.1.5.1 増殖、継代及び保存  プロダクションセルシードは、2.2.1.2の培養液で増殖する。  プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して-70°C以下で保存する。  <u>プロダクションシードウイルスを保存する場合について、3.2.3の試験を行う。</u></p> <p>2.2.2 犬アデノウイルス (2型)</p> <p>2.2.2.1～2.2.2.4 (略)</p> <p>2.2.2.5 プロダクションセルシード</p> <p>2.2.2.5.1 増殖、継代及び保存  プロダクションセルシードは、2.2.2.2の培養液で増殖する。  プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して-70°C以下で保存する。  <u>プロダクションシードウイルスを保存する場合について、3.2.3の試験を行う。</u></p> <p>2.2.3 犬パラインフルエンザウイルス</p> <p>2.2.3.1～2.2.3.4 (略)</p> <p>2.2.3.5 プロダクションセルシード</p> <p>2.2.3.5.1 増殖、継代及び保存  プロダクションセルシードは、2.2.2.2の培養液で増殖する。  プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して-70°C以下で保存する。  <u>プロダクションシードウイルスを保存する場合について、3.2.3の試験を行う。</u></p> <p>2.2.4 犬パルボウイルス</p> <p>2.2.4.1～2.2.4.4 (略)</p> <p>2.2.4.5 プロダクションセルシード</p>
--	--

<p>プロダクションセルシードは、2.2.4.2の培養液で増殖する。  プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して-70°C以下で保存する。  <u>プロダクションセルシードを保存する場合について、3.2.3の試験を行う。</u></p> <p>2.2.5・2.2.6 (略)</p> <p>2.3 原液</p> <p>2.3.1 ジステンパーウイルス原液</p> <p>2.3.1.1 (略)</p> <p>2.3.1.2 ウイルスの培養  プロダクションシードウイルスを2.3.1.1の細胞で培養し、<u>適当と認められた時期に個別別培養細胞ごとに採取した培養液、そのろ液又は遠心上清を原液とする。</u>この場合、<u>適当と認められた安定剤を添加してもよい。</u>  原液について、<u>3.5.1及び3.5.2.1</u>の試験を行う。</p> <p>2.3.2 犬アデノウイルス原液</p> <p>2.3.2.1 (略)</p> <p>2.3.2.2 ウイルスの培養  プロダクションシードウイルスを2.3.2.1の細胞で培養し、<u>適当と認められた時期に個別別培養細胞ごとに採取した培養液、そのろ液又は遠心上清を原液とする。</u>  原液について、<u>3.5.1及び3.5.2.2</u>の試験を行う。</p> <p>2.3.3 犬パラインフルエンザウイルス原液</p> <p>2.3.3.1 (略)</p> <p>2.3.3.2 ウイルスの培養  プロダクションシードウイルスを2.3.3.1の細胞で培養し、<u>適当と認められた時期に個別別培養細胞ごとに採取した培養液、そのろ液又は遠心上清を原液とする。</u>この場合、<u>適当と認められた安定剤を添加してもよい。</u>  原液について、<u>3.5.1及び3.5.2.3</u>の試験を行う。</p> <p>2.3.4 犬パルボウイルス原液</p> <p>2.3.4.1 (略)</p> <p>2.3.4.2 ウイルスの培養  プロダクションシードウイルスを2.3.4.1の細胞で培養し、<u>適当と認められた時期に個別別培養細胞ごとに採取した培養液、そのろ液又は遠心上清を原液とする。</u>  原液について、<u>3.5.1及び3.5.2.4</u>の試験を行う。</p>	<p>2.2.4.5.1 増殖、継代及び保存  プロダクションセルシードは、2.2.4.2の培養液で増殖する。  プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して-70°C以下で保存する。  <u>プロダクションシードウイルスを保存する場合について、3.2.3の試験を行う。</u></p> <p>2.2.5・2.2.6 (略)</p> <p>2.3 原液</p> <p>2.3.1 ジステンパーウイルス原液</p> <p>2.3.1.1 (略)</p> <p>2.3.1.2 ウイルスの培養  プロダクションシードウイルスを2.3.1.1の細胞で培養し、<u>適当と認められた時期に個別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。</u>  原液について、<u>3.4.1及び3.4.2.1</u>の試験を行う。</p> <p>2.3.2 犬アデノウイルス原液</p> <p>2.3.2.1 (略)</p> <p>2.3.2.2 ウイルスの培養  プロダクションシードウイルスを2.3.2.1の細胞で培養し、<u>適当と認められた時期に個別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。</u>  原液について、<u>3.4.1及び3.4.2.2</u>の試験を行う。</p> <p>2.3.3 犬パラインフルエンザウイルス原液</p> <p>2.3.3.1 (略)</p> <p>2.3.3.2 ウイルスの培養  プロダクションシードウイルスを2.3.3.1の細胞で培養し、<u>適当と認められた時期に個別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。</u>  原液について、<u>3.4.1及び3.4.2.3</u>の試験を行う。</p> <p>2.3.4 犬パルボウイルス原液</p> <p>2.3.4.1 (略)</p> <p>2.3.4.2 ウイルスの培養  プロダクションシードウイルスを2.3.4.1の細胞で培養し、<u>適当と認められた時期に個別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。</u>  原液について、<u>3.4.1及び3.4.2.4</u>の試験を行う。</p> <p>2.3.5 L・カニコーラ原液</p>
--	--

<p>2.3.5 L・カニコーラ原液</p> <p>2.3.5.1 (略)</p> <p>2.3.5.2 不活化</p> <p>培養菌液に適当と認められた不活化剤を加え不活化し、不活化菌液とする。</p> <p>不活化菌液を試験する場合について3.4の試験を行う。</p> <p>不活化菌液をろ過濃縮又は遠心して集菌し、適当と認められた溶液に浮遊させたものを、原液とする。</p> <p>原液について、3.5.1及び3.5.3の試験を行う。</p> <p>原液において抗原量測定試験を実施する場合について3.5.4の試験を行う。</p> <p>2.3.6 L・イクテロヘモラジー原液</p> <p>2.3.6.1 (略)</p> <p>2.3.6.2 不活化</p> <p>培養菌液に適当と認められた不活化剤を加え不活化し、不活化菌液とする。</p> <p>不活化菌液を試験する場合について3.4の試験を行う。</p> <p>不活化菌液をろ過濃縮又は遠心して集菌し、適当と認められた溶液に浮遊させたものを、原液とする。</p> <p>原液について、3.5.1及び3.5.3の試験を行う。</p> <p>原液において抗原量測定試験を実施する場合について3.5.4の試験を行う。</p> <p>2.4 最終バルク</p> <p>2.4.1・2.4.2 (略)</p> <p>2.5 小分製品</p> <p>2.5.1 混合生ワクチン</p> <p>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。</p> <p>小分製品について、3.6の試験を行う。</p> <p>2.5.2 液状不活化ワクチン</p> <p>最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。</p> <p>小分製品について、3.6の試験を行う。</p> <p>3 試験法</p> <p>3.1 製造用株の試験</p> <p>3.1.1 マスターシードウイルスの試験</p> <p>3.1.1.1～3.1.1.3 (略)</p> <p>3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験</p> <p>3.1.1.4.1 共通ウイルス否定試験</p>	<p>2.3.5.1 (略)</p> <p>2.3.5.2 不活化</p> <p>培養菌液に適当と認められた不活化剤を加え不活化し、不活化菌液とする。</p> <p>不活化菌液について3.4の試験を行う。</p> <p>不活化菌液をろ過濃縮又は遠心して集菌し、適当と認められた溶液に浮遊させたものを、原液とする。</p> <p>原液について、3.5.1及び3.5.3の試験を行う。</p> <p>2.3.6 L・イクテロヘモラジー原液</p> <p>2.3.6.1 (略)</p> <p>2.3.6.2 不活化</p> <p>培養菌液に適当と認められた不活化剤を加え不活化し、不活化菌液とする。</p> <p>不活化菌液について3.4の試験を行う。</p> <p>不活化菌液をろ過濃縮又は遠心して集菌し、適当と認められた溶液に浮遊させたものを、原液とする。</p> <p>原液について、3.5.1及び3.5.3の試験を行う。</p> <p>2.4 最終バルク</p> <p>2.4.1・2.4.2 (略)</p> <p>2.5 小分製品</p> <p>2.5.1 混合生ワクチン</p> <p>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。</p> <p>小分製品について、3.5の試験を行う。</p> <p>2.5.2 液状不活化ワクチン</p> <p>最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。</p> <p>小分製品について、3.5の試験を行う。</p> <p>3 試験法</p> <p>3.1 製造用株の試験</p> <p>3.1.1 マスターシードウイルスの試験</p> <p>3.1.1.1～3.1.1.3 (略)</p> <p>3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験</p> <p>3.1.1.4.1 共通ウイルス否定試験</p> <p>一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の2.1及び2.2を準用して試験</p>
---	--

<p>一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の<u>1.1</u>、<u>2.1</u>及び<u>2.2</u>を準用して試験するとき、適合しなければならない。</p> <p>3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験</p> <p>3.1.1.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験</p> <p>サル由来細胞を用いる場合には、内在性レトロウイルス（C、Dタイプ粒子）について、猫由来細胞を用いる場合には、猫白血病ウイルス／猫肉腫ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の<u>1.1</u>及び<u>3.1.1</u>を準用して試験するとき、適合しなければならない。</p> <p><u>3.1.1.4.2.2</u> 個別ウイルス否定試験</p> <p>牛ウイルス性下痢ウイルス、犬パルボウイルス又は猫汎白血球減少症ウイルス及び日本脳炎ウイルス又は狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の<u>1.1</u>、<u>3.2.5</u>、<u>3.2.6</u>及び<u>3.2.9</u>を準用して試験するとき、適合しなければならない。</p> <p>3.1.1.5～3.1.1.7 (略)</p> <p>3.1.2～3.1.6 (略)</p> <p>3.2 株化細胞の試験</p> <p>3.2.1 マスターセルシードの試験</p> <p>3.2.1.1～3.2.1.4 (略)</p> <p>3.2.1.5 外来性ウイルス否定試験</p> <p>3.2.1.5.1 共通ウイルス否定試験</p> <p>一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の<u>1.2</u>、<u>2.1</u>及び<u>2.2</u>を準用して試験するとき、適合しなければならない。</p> <p>3.2.1.5.2 特定ウイルス否定試験</p> <p>3.2.1.5.2.1 特定ウイルス否定一般試験</p> <p>サル由来細胞を用いる場合には、内在性レトロウイルス（C、Dタイプ粒子）について、猫由来細胞を用いる場合には、猫白血病ウイルス／猫肉腫ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の<u>1.2</u>及び<u>3.1.1</u>を準用して試験するとき、適合しなければならない。</p> <p>3.2.1.5.2.2 個別ウイルス否定試験</p> <p>牛ウイルス性下痢ウイルス、犬パルボウイルス又は猫汎白血球減少症ウイルス及び日本脳炎ウイルス又は狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の<u>1.2</u>、<u>3.2.5</u>、<u>3.2.6</u>及び<u>3.2.9</u>を準用して試験するとき、適合しなければならない。</p> <p>3.2.1.6・3.2.1.7 (略)</p> <p>3.2.2・3.2.3 (略)</p> <p>3.3・3.4 (略)</p> <p>3.5 原液の試験</p>	<p>するとき、適合しなければならない。</p> <p>3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験</p> <p>3.1.1.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験</p> <p>サル由来細胞を用いる場合には、内在性レトロウイルス（C、Dタイプ粒子）について、猫由来細胞を用いる場合には、猫白血病ウイルス／猫肉腫ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の<u>3.1.1</u>を準用して試験するとき、適合しなければならない。</p> <p><u>3.1.1.4.2.1</u> 個別ウイルス否定試験</p> <p>牛ウイルス性下痢ウイルス、犬パルボウイルス又は猫汎白血球減少症ウイルス及び日本脳炎ウイルス又は狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の<u>3.2.5</u>、<u>3.2.6</u>及び<u>3.2.9</u>を準用して試験するとき、適合しなければならない。</p> <p>3.1.1.5～3.1.1.7 (略)</p> <p>3.1.2～3.1.6 (略)</p> <p>3.2 株化細胞の試験</p> <p>3.2.1 マスターセルシードの試験</p> <p>3.2.1.1～3.2.1.4 (略)</p> <p>3.2.1.5 外来性ウイルス否定試験</p> <p>3.2.1.5.1 共通ウイルス否定試験</p> <p>一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の<u>2.1</u>及び<u>2.2</u>を準用して試験するとき、適合しなければならない。</p> <p>3.2.1.5.2 特定ウイルス否定試験</p> <p>3.2.1.5.2.1 特定ウイルス否定一般試験</p> <p>サル由来細胞を用いる場合には、内在性レトロウイルス（C、Dタイプ粒子）について、猫由来細胞を用いる場合には、猫白血病ウイルス／猫肉腫ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の<u>3.1.1</u>を準用して試験するとき、適合しなければならない。</p> <p>3.2.1.5.2.2 個別ウイルス否定試験</p> <p>牛ウイルス性下痢ウイルス、犬パルボウイルス又は猫汎白血球減少症ウイルス及び日本脳炎ウイルス又は狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の<u>3.2.5</u>、<u>3.2.6</u>及び<u>3.2.9</u>を準用して試験するとき、適合しなければならない。</p> <p>3.2.1.6・3.2.1.7 (略)</p> <p>3.2.2・3.2.3 (略)</p> <p>3.3・3.4 (略)</p> <p>3.5 原液の試験</p> <p>3.5.1～3.5.3 (略)</p>
---	--

<p>3.5.1～3.5.3 (略)</p> <p>3.5.4 抗原量測定試験</p> <p>3.5.4.1 L・カニコウラ抗原量</p> <p>3.5.4.1.1・3.5.4.1.2 (略)</p> <p>3.5.4.1.3 判定      試料 1 mL中の抗原量は30,000ELISA単位以上でなければならない。この場合、内部標準で求められた抗原量は規定値を示さなければならない。試料の検量線の相関係数は0.9以上を示さなければならない。また、試料の各希釈段階における吸光度の変動係数は20%以下でなければならない。</p> <p>3.5.4.2 (略)</p> <p>3.6 小分製品の試験</p> <p>3.6.1～3.6.6 (略)</p> <p>3.6.7 ウイルス含有量試験</p> <p>3.6.7.1 ジステンパーウイルス含有量試験</p> <p>3.6.7.1.1 試験材料</p> <p>3.6.7.1.1.1 試料      試験品中のジステンパーウイルス以外のウイルスを各抗血清(付記18、19及び20)を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液(付記21)又は適当と認められた培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。</p> <p>3.6.7.1.1.2 (略)</p> <p>3.6.7.1.2・3.6.7.1.3 (略)</p> <p>3.6.7.2 犬アデノウイルス(2型)含有量試験</p> <p>3.6.7.2.1 試験材料</p> <p>3.6.7.2.1.1 試料      試験品中の犬アデノウイルス(2型)以外のウイルスを各抗血清(付記19、20及び22)を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液又は適当と認められた培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。</p> <p>3.6.7.2.1.2 (略)</p> <p>3.6.7.2.2・3.6.7.2.3 (略)</p> <p>3.6.7.3 犬パラインフルエンザウイルス含有量試験</p> <p>3.6.7.3.1 試験材料</p> <p>3.6.7.3.1.1 試料      試験品中の犬パラインフルエンザウイルス以外のウイルスを各抗血</p>	<p>3.5.4 抗原量測定試験</p> <p>3.5.4.1 L・カニコウラ抗原量</p> <p>3.5.4.1.1・3.5.4.1.2 (略)</p> <p>3.5.4.1.3 判定      試料 1 mL中の抗原量は30,000ELISA単位以上でなければならない。この場合、内部標準で求められた抗原量は規定値を示さなければならない。試料の検量線の相関係数は0.9以上を示さなければならない。また、試料の各希釈段階における吸光度の変動係数は20%以下でなければならない。</p> <p>3.5.4.2 (略)</p> <p>3.6 小分製品の試験</p> <p>3.6.1～3.6.6 (略)</p> <p>3.6.7 ウイルス含有量試験</p> <p>3.6.7.1 ジステンパーウイルス含有量試験</p> <p>3.6.7.1.1 試験材料</p> <p>3.6.7.1.1.1 試料      試験品中のジステンパーウイルス以外のウイルスを各抗血清(付記18、19及び20)を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液(付記21)で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。</p> <p>3.6.7.1.1.2 (略)</p> <p>3.6.7.1.2・3.6.7.1.3 (略)</p> <p>3.6.7.2 犬アデノウイルス(2型)含有量試験</p> <p>3.6.7.2.1 試験材料</p> <p>3.6.7.2.1.1 試料      試験品中の犬アデノウイルス(2型)以外のウイルスを各抗血清(付記19、20及び22)を非働化したもので中和し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。</p> <p>3.6.7.2.1.2 (略)</p> <p>3.6.7.2.2・3.6.7.2.3 (略)</p> <p>3.6.7.3 犬パラインフルエンザウイルス含有量試験</p> <p>3.6.7.3.1 試験材料</p> <p>3.6.7.3.1.1 試料      試験品中の犬パラインフルエンザウイルス以外のウイルスを各抗血清(付記18、20及び22)を非働化したもので中和したものをウイルス増</p>
---	---

<p>清（付記18、20及び22）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液又は<u>適当と認められた培養液</u>で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。</p> <p>3.6.7.3.1.2 （略）</p> <p>3.6.7.3.2 （略）</p> <p>3.6.7.3.3 判定  犬腎継代細胞に接種した場合は、培養後、培養液を採取し、等量の0.4vol%モルモット赤血球浮遊液を加え、常温で90分間静置後、赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、TCID<sub>50</sub>を算出する。試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり10<sup>4.7</sup>TCID<sub>50</sub>以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。</p> <p>Vero細胞に接種した場合は、培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID<sub>50</sub>を算出する。試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり10<sup>5.5</sup>TCID<sub>50</sub>以上でなければならない。<u>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。</u></p> <p>3.6.7.4 犬パルボウイルス含有量試験</p> <p>3.6.7.4.1 試験材料</p> <p>3.6.7.4.1.1 試料  試験品中の犬パルボウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記18、19及び22）を非働化したもので中和したもの又は液状混合ワクチンをウイルス増殖用培養液又は<u>適当と認められた培養液</u>で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。</p> <p>3.6.7.4.1.2 （略）</p> <p>3.6.7.4.2 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、32℃又は37℃で24時間静置培養した後、ウイルス増殖用培養液又は<u>適当と認められた培養液</u>で液交換し、更に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を加え、更にこの混合液と等量の0.3～0.5vol%豚赤血球を加え、2～5℃で静置した後、観察する。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。</p> <p>3.6.7.4.3 （略）</p> <p>3.6.8～3.6.12 （略）</p> <p>4 （略）</p> <p>付記1～付記9 （略）</p>	<p>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。</p> <p>3.6.7.3.1.2 （略）</p> <p>3.6.7.3.2 （略）</p> <p>3.6.7.3.3 判定  犬腎継代細胞に接種した場合は、培養後、培養液を採取し、等量の0.4vol%モルモット赤血球浮遊液を加え、常温で90分間静置後、赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、TCID<sub>50</sub>を算出する。試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり10<sup>4.7</sup>TCID<sub>50</sub>以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。</p> <p>Vero細胞に接種した場合は、培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID<sub>50</sub>を算出する。試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり10<sup>5.5</sup>TCID<sub>50</sub>以上でなければならない。</p> <p>3.6.7.4 犬パルボウイルス含有量試験</p> <p>3.6.7.4.1 試験材料</p> <p>3.6.7.4.1.1 試料  試験品中の犬パルボウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記18、19及び22）を非働化したもので中和したもの又は液状混合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。</p> <p>3.6.7.4.1.2 （略）</p> <p>3.6.7.4.2 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、32℃又は37℃で24時間静置培養した後、ウイルス増殖用培養液で液交換し、更に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を加え、更にこの混合液と等量の0.3～0.5vol%豚赤血球を加え、2～5℃で静置した後、観察する。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。</p> <p>3.6.7.4.3 （略）</p> <p>3.6.8～3.6.12 （略）</p> <p>4 （略）</p> <p>付記1～付記9 （略）</p> <p>付記10 <u>0.05%ポリソルベートPBS（PBST）</u></p>
--	---

付記10 <u>0.05%ポリソルベート20加PBS (PBST)</u> 付記11～付記25 (略)	付記11～付記25 (略)
--	---------------