

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>牛疫生ワクチン（シード）</b></p> <p>（略）</p> <p><b><u>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）</u></b></p> <p>1 定義  <u>シードロット規格に適合した弱毒牛伝染性鼻気管炎ウイルス及び弱毒牛パラインフルエンザ3型ウイルスをそれぞれ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混合し、凍結乾燥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 <u>牛伝染性鼻気管炎ウイルス</u></p> <p>2.1.1.1 名称  <u>弱毒牛伝染性鼻気管炎ウイルスRLB106株又はこれと同等と認められた株</u></p> <p>2.1.1.2 性状  <u>牛腎継代細胞に接種するとCPEを伴って増殖し、35～37℃における増殖は、39～41℃における増殖を上回り、その差は100倍以上である。抗体陰性の健康子牛に鼻腔内接種しても病原性を示さない。</u></p> <p>2.1.1.3 マスターシードウイルス</p> <p>2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数  <u>マスターシードウイルスは、適当と認められた培養細胞で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。</u>  <u>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-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。</u>  <u>マスターシードウイルスについて、3.1.1.1の試験を行う。</u>  <u>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。</u></p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>牛疫生ワクチン（シード）</b></p> <p>（略）</p> <p>（新設）</p>

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、適当と認められた培養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-30℃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、3.1.2.1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、適当と認められた培養細胞で増殖させる。

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-30℃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について、3.1.3.1の試験を行う。

#### 2.1.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス

##### 2.1.2.1 名称

弱毒牛パラインフルエンザ3型ウイルスRLB103株又はこれと同等と認められた株

##### 2.1.2.2 性状

牛腎継代細胞に接種するとCPEを伴って増殖し、35～37℃における増殖は、39～41℃における増殖を上回り、その差は100倍以上である。抗体陰性の健康子牛に鼻腔内接種しても病原性を示さない。

##### 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、適当と認められた培養細胞で増殖させ、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-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。

マスターシードウイルスについて、3.1.1.2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、適当と認められた培養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-30℃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、3.1.2.2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、適当と認められた培養細胞で増殖させる。

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-30℃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について、3.1.3.2の試験を行う。

#### 2.2 製造用材料

##### 2.2.1 牛伝染性鼻気管炎ウイルス

###### 2.2.1.1 培養細胞

牛腎株化細胞又は製造に適当と認められた株化細胞を用いる。

###### 2.2.1.2 培養液

製造に適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-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。

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。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。

###### 2.2.1.4 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-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。

<p><u>ワーキングセルシードについて、3.2.2の試験を行う。</u></p> <p><u>2.2.1.5 プロダクションセルシード</u></p> <p><u>2.2.1.5.1 増殖及び保存</u></p> <p><u>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。</u></p> <p><u>プロダクションセルシードを保存する場合は、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。</u></p> <p><u>プロダクションセルシードを保存する場合については、3.2.3の試験を行う。</u></p> <p><u>2.2.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス</u></p> <p><u>2.2.2.1 培養細胞</u></p> <p><u>牛腎株化細胞又は製造に相当と認められた株化細胞を用いる。</u></p> <p><u>2.2.2.2 培養液</u></p> <p><u>製造に相当と認められた培養液を用いる。</u></p> <p><u>2.2.2.3 マスターセルシード</u></p> <p><u>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</u></p> <p><u>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。</u></p> <p><u>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-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。</u></p> <p><u>マスターセルシードについて、3.2.1の試験を行う。</u></p> <p><u>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。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。</u></p> <p><u>2.2.2.4 ワーキングセルシード</u></p> <p><u>2.2.2.4.1 増殖、継代及び保存</u></p> <p><u>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。</u></p> <p><u>ワーキングセルシードは、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。</u></p> <p><u>ワーキングセルシードについて、3.2.2の試験を行う。</u></p> <p><u>2.2.2.5 プロダクションセルシード</u></p> <p><u>2.2.2.5.1 増殖及び保存</u></p> <p><u>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。</u></p> <p><u>プロダクションセルシードを保存する場合は、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。</u></p>	
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--

る。  
プロダクションセルシードを保存する場合については、3.2.3の試験を行う。

## 2.3 原液

### 2.3.1 牛伝染性鼻気管炎ウイルス原液

#### 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混合し、原液とする。

原液について、3.3.1、3.3.2及び3.3.3.1の試験を行う。

### 2.3.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス原液

#### 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2.3.2.1の細胞で培養し、ウイルス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混合し、原液とする。

原液について、3.3.1、3.3.2及び3.3.3.2の試験を行う。

## 2.4 最終バルク

牛伝染性鼻気管炎ウイルス原液及び牛パラインフルエンザ3型ウイルス原液を混合し、適当と認められた溶液で濃度調整し、最終バルクとする。この場合、適当と認められた安定剤及び保存剤を加えてもよい。

## 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、3.4の試験を行う。

## 3 試験法

### 3.1 製造用株の試験

#### 3.1.1 マスターシードウイルスの試験

##### 3.1.1.1 牛伝染性鼻気管炎ウイルス

###### 3.1.1.1.1 同定試験

シードロット規格の1.4.2.1.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

###### 3.1.1.1.2 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。

3.1.1.1.3 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。

3.1.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

3.1.1.1.4.1 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。

3.1.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験

3.1.1.1.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験

牛RSウイルス及びブルータングウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、3.1.1及び3.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、牛伝染性リンパ腫ウイルス、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1.1、3.2.5、3.2.7、3.2.8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。

3.1.1.1.5 対象動物を用いた免疫原性試験

一般試験法の対象動物を用いた免疫原性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。

3.1.1.1.6 対象動物を用いた安全性確認試験

一般試験法の対象動物を用いた安全性確認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。

3.1.1.1.7 病原性復帰確認試験

一般試験法の病原性復帰確認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。

3.1.1.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス

3.1.1.2.1 同定試験

シードロット規格の1.4.2.1.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.2.2 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。

3.1.1.2.3 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

<p>しなければならない。</p> <p><u>3.1.1.2.4 外来性ウイルス否定試験</u></p> <p><u>3.1.1.2.4.1 共通ウイルス否定試験</u>  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。</p> <p><u>3.1.1.2.4.2 特定ウイルス否定試験</u></p> <p><u>3.1.1.2.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験</u>  牛RSウイルス及びブルータングウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、3.1.1及び3.1.2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>3.1.1.2.4.2.2 個別ウイルス否定試験</u>  牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、牛伝染性リンパ腫ウイルス、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1.1、3.2.5、3.2.7、3.2.8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。</p> <p><u>3.1.1.2.5 対象動物を用いた免疫原性試験</u>  一般試験法の対象動物を用いた免疫原性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。</p> <p><u>3.1.1.2.6 対象動物を用いた安全性確認試験</u>  一般試験法の対象動物を用いた安全性確認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。</p> <p><u>3.1.1.2.7 病原性復帰確認試験</u>  一般試験法の病原性復帰確認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。</p> <p><u>3.1.2 ワーキングシードウイルスの試験</u></p> <p><u>3.1.2.1 牛伝染性鼻気管炎ウイルス</u></p> <p><u>3.1.2.1.1 無菌試験</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。</p> <p><u>3.1.2.1.2 マイコプラズマ否定試験</u>  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。</p> <p><u>3.1.2.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス</u></p> <p><u>3.1.2.2.1 無菌試験</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。</p> <p><u>3.1.2.2.2 マイコプラズマ否定試験</u></p>	
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--

<p><u>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。</u></p> <p><u>3.1.3 プロダクションシードウイルスの試験</u></p> <p><u>3.1.3.1 牛伝染性鼻気管炎ウイルス</u></p> <p><u>3.1.3.1.1 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>3.1.3.1.2 マイコプラズマ否定試験</u>  <u>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。</u></p> <p><u>3.1.3.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス</u></p> <p><u>3.1.3.2.1 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>3.1.3.2.2 マイコプラズマ否定試験</u>  <u>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。</u></p> <p><u>3.2 株化細胞の試験</u></p> <p><u>3.2.1 マスターセルシードの試験</u></p> <p><u>3.2.1.1 培養性状試験</u>  <u>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。</u></p> <p><u>3.2.1.2 起源動物種同定試験</u>  <u>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。</u></p> <p><u>3.2.1.3 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>3.2.1.4 マイコプラズマ否定試験</u>  <u>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。</u></p> <p><u>3.2.1.5 外来性ウイルス否定試験</u></p> <p><u>3.2.1.5.1 共通ウイルス否定試験</u>  <u>一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2及び2.1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>3.2.1.5.2 特定ウイルス否定試験</u></p> <p><u>3.2.1.5.2.1 特定ウイルス否定一般試験</u></p>	
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--



牛RSウイルス及びブルータングウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2、3.1.1及び3.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.2.1.5.2.2 個別ウイルス否定試験

牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、牛伝染性リンパ腫ウイルス、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、3.2.7、3.2.8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ない。

#### 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ない。

##### 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ない。

##### 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ない。

#### 3.3 原液の試験

##### 3.3.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

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。

### 3.3.2 マイコプラズマ否定試験

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

### 3.3.3 ウイルス含有量試験

#### 3.3.3.1 牛伝染性気管支炎ウイルス含有量試験

##### 3.3.3.1.1 試験材料

###### 3.3.3.1.1.1 試料

検体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。

###### 3.3.3.1.1.2 培養細胞

牛腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

###### 3.3.3.1.2 試験方法

試料0.2mLずつをそれぞれ6穴以上の培養細胞に接種し、34～38℃で5～7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。

###### 3.3.3.1.3 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>を算出するとき、検体のウイルス含有量は、1 mL中10<sup>5.9</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、その判定方法及びウイルス含有量とする。

#### 3.3.3.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス含有量試験

##### 3.3.3.2.1 試験材料

###### 3.3.3.2.1.1 試料

検体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。

###### 3.3.3.2.1.2 培養細胞

牛腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

###### 3.3.3.2.2 試験方法

試料0.2mLずつをそれぞれ6穴以上の培養細胞に接種し、34～38℃で5～7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。

###### 3.3.3.2.3 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>を算出するとき、検体のウイルス含有量は、1 mL中10<sup>6.0</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、その判定方法及びウイル

ス含有量とする。

### 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乾燥物でなければならない。溶解したものは、固有の色調を有する均質な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。

#### 3.4.2 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。

#### 3.4.3 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。

#### 3.4.4 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。

#### 3.4.5 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。

#### 3.4.6 ウイルス含有量試験

##### 3.4.6.1 牛伝染性鼻気管炎ウイルス

3.3.3.1を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり $10^{5.0}$ TCID<sub>50</sub>以上でなければならない。

ただし、試験品中の牛パラインフルエンザ3型ウイルスを、非働化した抗牛パラインフルエンザ3型ウイルス血清（付記2）で中和したものを、ウイルス増殖用培養で10倍階段希釈した各段階の希釈液を試料とする。また、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。

##### 3.4.6.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス

3.3.3.2を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり $10^{5.2}$ TCID<sub>50</sub>以上でなければならない。

ただし、試験品中の牛伝染性鼻気管炎ウイルスを、非働化した抗牛伝染性鼻気管炎ウイルス血清（付記3）で中和したものを、ウイルス増殖用培養で10倍階段希釈した各段階の希釈液を試料とする。また、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。

#### 3.4.7 マーカー試験

##### 3.4.7.1 牛伝染性鼻気管炎ウイルス

3.4.6.1を準用して試験するとき、35～37℃で培養したときのウイルス含有量は、39～41℃で培養したときのウイルス含有量より100倍以上多くなければならない。

#### 3.4.7.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス

3.4.6.2を準用して試験するとき、35～37℃で培養したときのウイルス含有量は、39～41℃で培養したときのウイルス含有量より100倍以上多くなければならない。

#### 3.4.8 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、適合しなればならない。

#### 3.4.9 安全試験

##### 3.4.9.1 牛接種試験

###### 3.4.9.1.1 試験材料

###### 3.4.9.1.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

###### 3.4.9.1.1.2 試験動物

体重120kg以下の牛を用いる。

###### 3.4.9.1.2 試験方法

接種材料1頭分を試験動物の鼻腔内に接種し、14日間観察する。

###### 3.4.9.1.3 判定

観察期間中、軽い発熱(40.5℃以下)を認めても3日間以上継続せず、その他の異常を認めてはならない。

##### 3.4.9.2 乳のみマウス注射試験

###### 3.4.9.2.1 試験材料

###### 3.4.9.2.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

###### 3.4.9.2.1.2 試験動物

3日齢以内の乳のみマウスを用いる。

###### 3.4.9.2.2 試験方法

注射材料0.01mLずつを10匹の試験動物の脳内に注射し、14日間観察する。

###### 3.4.9.2.3 判定

観察期間中、異常を認めてはならない。  
事故のため試験動物が半数未満になった場合は、試験を反復する。

#### 3.4.10 力価試験

##### 3.4.10.1 牛伝染性鼻気管炎力価試験

###### 3.4.10.1.1 試験材料

3.4.10.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.10.1.1.2 試験動物

体重約300gのモルモットを用いる。

3.4.10.1.1.3 中和試験用ウイルス

牛伝染性鼻気管炎ウイルスRLB106株又は適当と認められた株を用いる。

3.4.10.1.1.4 培養細胞

牛腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.10.1.2 試験方法

注射材料1.0mLずつを5匹の試験動物の頸部皮下に14日間隔で2回注射する。2回目注射後14日目に得られた各個体の血清について中和試験を行う。

各個体の血清について非働化し、2倍階段希釈したものを、0.2mL中約200TCID<sub>50</sub>の中和試験用ウイルスと等量混合し、適当な温度で60分間処理する。この各混合液0.2mLずつを、2穴以上の培養細胞に接種し、37°Cで7日間培養し、観察する。

3.4.10.1.3 判定

培養細胞のCPEを阻止したものを陽性とし、中和抗体価をED<sub>50</sub>で求める。  
中和抗体価16倍以上を陽性とするとき、中和抗体陽性率は80%以上でなければならない。

3.4.10.2 牛パラインフルエンザ力価試験

3.4.10.2.1 試験材料

3.4.10.2.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

3.4.10.2.1.2 試験動物

体重約350gのモルモットを用いる。

3.4.10.2.1.3 赤血球凝集抗原

牛パラインフルエンザ3型ウイルスRLB103株又は適当と認められた株を牛腎継代細胞で増殖させて得た培養上清を用いる。

3.4.10.2.1.4 培養細胞

牛腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.10.2.2 試験方法

接種材料0.2mLずつを5匹の試験動物の鼻腔内に接種し、21日目に得られた各個体の血清について赤血球凝集抑制試験を行う。

各個体の血清をRDEで処理した後、適当と認められた希釈液で2倍階段希釈する。各希釈血清に4単位に調製した赤血球凝集抗原を等量加え、適

当な温度で60分間処理した後、適当と認められた希釈液で調製した0.3vol%モルモット赤血球浮遊液を加え、4℃で1夜静置し、観察する。

#### 3.4.10.2.3 判定

赤血球凝集を阻止した血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価とする。

赤血球凝集抑制抗体価16倍以上を赤血球凝集抑制抗体陽性とするとき、試験動物の赤血球凝集抑制抗体陽性率は、80%以上でなければならない。

#### 4 貯法及び有効期間

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

#### 付記1 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

2.95g

イーグルMEM

残量

pHを7.1～7.4に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

#### 付記2 抗牛パラインフルエンザ3型ウイルス血清

牛パラインフルエンザ3型ウイルスで免疫した羊又は兎の血清であって、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 抗牛伝染性鼻気管炎ウイルス血清

牛伝染性鼻気管炎ウイルスで免疫した羊又は兎の血清であって、試験品のウイルスを完全に中和する力価を有するもの。

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>牛ヒストフィルス・ソムニ（ヘモフィルス・ソムニス）感染症（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>牛レプトスピラ病（アジュバント加）不活化ワクチン（シード）</u></b></p> <p>1 定義  <u>シードロット規格に適合したレプトスピラ・ボルグピータセニイ血清型ハー        ジョ（以下この項において「L・ハージョ」という。）の培養菌液を不活化し、        アルミニウムゲルアジュバントを加えたワクチンである。</u></p> <p>2 製法        2.1 製造用株        2.1.1 名称  <u>L・ハージョ181株又はこれと同等と認められた株</u>        2.1.2 性状  <u>レプトスピラの細菌学的・生化学的性状に一致し、抗L・ハージョ血清（付記        1）に対して特異的に凝集する。</u>        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  <u>マスターシード菌は、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。</u>  <u>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-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。</u>  <u>マスターシード菌について、3.1.1の試験を行う。</u>  <u>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。</u></p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><b>牛ヒストフィルス・ソムニ（ヘモフィルス・ソムナス）感染症（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>

## 2.1.4 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-30℃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-30℃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

製造に適当と認められた培地を用いる。

## 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の試験を行う。

### 2.3.2 原液

培養菌液に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。

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を加え、適当と認められた方法で不活化剤を中和し、適当と認められた溶液で濃度調整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、3.4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ない。



#### 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、その試験法とする。

#### 3.1.2 ワーキングシード菌の試験

##### 3.1.2.1 同定試験

3.1.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

##### 3.1.2.2 夾雑菌否定試験

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。

#### 3.1.3 プロダクションシード菌の試験

##### 3.1.3.1 同定試験

3.1.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

##### 3.1.3.2 夾雑菌否定試験

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。

#### 3.2 培養菌液の試験

##### 3.2.1 夾雑菌否定試験

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。

##### 3.2.2 生菌数測定試験

培養菌液を階段希釈し、適当と認められた方法で培養菌液中の菌数を計算するとき、培養菌液中の菌数は、1 mL中  $8 \times 10^8$  個以上でなければならない。

#### 3.3 原液の試験

##### 3.3.1 同定試験

適当と認められた方法で試験するとき、適合しなければならない。

##### 3.3.2 不活化試験

検体をろ過したメンブランフィルターを適当と認められた培地に接種し、28～32℃で13～15日間培養し、観察するとき、レプトスピラの増殖を認めてはならない。

レプトスピラの増殖が認められない場合は菌液を継代、培養し、初代接種後27～29日目に観察するとき、レプトスピラの増殖を認めてはならない。

なお、L・ハージョ生菌液をろ過したメンブランフィルターを用いた陽性対照においてレプトスピラの増殖が認められない場合は、適当と認められた培養期間を追加し、観察する。

#### 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懸濁液でなければならない。異物を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

##### 3.4.2 pH測定試験

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

#### 3.4.3 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

#### 3.4.4 チメロサル定量試験

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。

#### 3.4.5 ホルマリン定量試験

一般試験法のホルマリン定量法を準用して試験するとき、ホルマリンの含有量は、総ホルムアルデヒド濃度として1L中0.2g以下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、その試験法とする。

#### 3.4.6 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、1mL中固有の値以下でなければならない。

#### 3.4.7 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、4日目の体重を測定する。

#### 3.4.8 力価試験

3.4.8.1及び3.4.8.2の試験を行う。ただし、原液を含む中間工程で3.4.8.1と同等の試験を実施する場合には、小分製品における3.4.8.1の試験を省略することができる。

##### 3.4.8.1 力価試験1

###### 3.4.8.1.1 試験材料

###### 3.4.8.1.1.1 注射材料

試験品を生理食塩液で10倍に希釈したものを注射材料とする。

###### 3.4.8.1.1.2 試験動物

20匹のハムスターを用いる。

###### 3.4.8.1.2 試験方法

試験動物の10匹を試験群、10匹を対照群とする。注射材料0.5mLずつを試験群の皮下に注射する。対照群に注射は行わない。注射後14～16日目にレプトスピラ攻撃菌液1mLを試験群及び対照群の腹腔内に投与し、更に14～16日間観察する。

観察終了後試験動物から腎臓を採取し、腎臓を処理・培養した培養液を暗視野で鏡検し、レプトスピラ生菌の有無を観察する。

###### 3.4.8.1.3 判定

レプトスピラ生菌が認められたものを感染陽性とするとき、試験群の感染陽

性匹数は2匹以下でなければならない。このとき、対照群の感染陽性匹数は8匹以上でなければならない。

#### 3.4.8.2 力価試験2

##### 3.4.8.2.1 試験材料

###### 3.4.8.2.1.1 注射材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で10倍希釈したものを注射材料とする。

###### 3.4.8.2.1.2 試験動物

体重約300gのモルモットを用いる。

###### 3.4.8.2.1.3 凝集反应用菌液

L・ハージョの生菌浮遊液を用いる。

##### 3.4.8.2.2 試験方法

注射材料1mLずつを10匹の試験動物に7日間隔で2回皮下注射する。2回目注射後14日目に得られた各個体の血清について、凝集反应用菌液を用いて、マイクロプレート生菌凝集反応を行う。

##### 3.4.8.2.3 判定

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

試験動物の凝集抗体陽性率は、いずれも70%以上でなければならない。

#### 4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後2年7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 抗L・ハージョ血清

L・ハージョで免疫した兔又はモルモットの血清

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）不活化ワクチン（シード）</b></p> <p>（略）</p> <p><b><u>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）</u></b></p> <p>1 定義 <u>シードロット規格に適合したレプトスピラ・カニコーラ（以下この項において「L・カニコーラ」という。）、レプトスピラ・イクテロヘモラジー（以下この項において「L・イクテロヘモラジー」という。）、レプトスピラ・グリッポチフォーサ（以下この項において「L・グリッポチフォーサ」という。）及びレプトスピラ・ポモナ（以下この項において「L・ポモナ」という。）の培養菌液を不活化したものを混合し、凍結乾燥したものであって、使用時にアルミニウムゲ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。</u></p> <p>2 製法 2.1 製造用株 2.1.1 L・カニコーラ 2.1.1.1 名称 L・カニコーラC-51株又はこれと同等と認められた株 2.1.1.2 性状 <u>モルモット又はハムスターの腹腔内に注射すると、増殖する。</u> <u>抗L・カニコーラ血清（付記1）に対して特異的に凝集する。</u> 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 <u>マスターシード菌は、適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程によ</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）不活化ワクチン（シード）</b></p> <p>（略）</p> <p>（新設）</p>

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-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。

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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その最高継代数とする。

#### 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、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-30℃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。

#### 2.1.1.5 プロダクションシード菌

##### 2.1.1.5.1 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-30℃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。

#### 2.1.2 L・イクテロヘモラジー

##### 2.1.2.1 名称

L・イクテロヘモラジーNADL11403株又はこれと同等と認められた株

##### 2.1.2.2 性状

モルモット又はハムスターの腹腔内に注射すると、増殖する。

抗L・イクテロヘモラジー血清（付記2）に対して特異的に凝集する。

##### 2.1.2.3 マスターシード菌

###### 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、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-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。

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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その最高継代数とする。

#### 2.1.2.4 ワーキングシード菌

##### 2.1.2.4.1 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-30℃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。

##### 2.1.2.5 プロダクションシード菌

##### 2.1.2.5.1 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-30℃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。

#### 2.1.3 L・グリッポチフォーサ

##### 2.1.3.1 名称

L・グリッポチフォーサMAL1540株又はこれと同等と認められた株

##### 2.1.3.2 性状

ハムスターに非致死性である。

抗L・グリッポチフォーサ血清（付記3）に対して特異的に凝集する。

##### 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、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-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。

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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その最高継代数とする。

##### 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、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-30℃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。

##### 2.1.3.5 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、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-30℃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。

#### 2.1.4 L・ポモナ

##### 2.1.4.1 名称

L・ポモナT262株又はこれと同等と認められた株

##### 2.1.4.2 性状

ハムスターに非致死性である。

抗L・ポモナ血清（付記4）に対して特異的に凝集する。

##### 2.1.4.3 マスターシード菌

###### 2.1.4.3.1 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-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。

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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その最高継代数とする。

##### 2.1.4.4 ワーキングシード菌

###### 2.1.4.4.1 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-30℃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。

##### 2.1.4.5 プロダクションシード菌

###### 2.1.4.5.1 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-30℃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 L・カニコーラ

#### 2.2.1.1 培地

製造に適当と認められた培地を用いる。

2.2.2 L・イクテロヘモラジー

2.2.2.1 培地

製造に相当と認められた培地を用いる。

2.2.3 L・グリッポチフォーサ

2.2.3.1 培地

製造に相当と認められた培地を用いる。

2.2.4 L・ポモナ

2.2.4.1 培地

製造に相当と認められた培地を用いる。

2.3 原液

2.3.1 L・カニコーラ原液

2.3.1.1 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培地で溶解した後、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の試験を行う。

2.3.1.2 原液

培養菌液を限外ろ過により濃縮し、相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。

原液について、3.3の試験を行う。

2.3.2 L・イクテロヘモラジー原液

2.3.2.1 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培地で溶解した後、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の試験を行う。

2.3.2.2 原液

培養菌液を限外ろ過により濃縮し、相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。

原液について、3.3の試験を行う。

2.3.3 L・グリッポチフォーサ原液

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培地で溶解した後、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の試験を行う。

2.3.3.2 原液

培養菌液を限外ろ過により濃縮し、相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。

原液について、3.3の試験を行う。



#### 2.3.4 L・ポモナ原液

##### 2.3.4.1 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培地で溶解した後、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の試験を行う。

##### 2.3.4.2 原液

培養菌液を限外ろ過により濃縮し、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。

原液について、3.3の試験を行う。

#### 2.4 最終バルク

##### 2.4.1 乾燥ワクチン

適当と認められた溶液で濃度調整したL・カニコーラ原液、L・イクテロヘモラジー原液、L・グリッポチフォーサ原液及びL・ポモナ原液を混合し、最終バルクとする。この場合、適当と認められた安定剤及び消泡剤を添加してもよい。

##### 2.4.2 溶解用液

精製水に適当量のアルミニウムゲルアジュバントを添加したものを最終バルクとする。

#### 2.5 小分製品

乾燥ワクチンの最終バルクを小分容器に分注し、凍結乾燥後、窒素ガスを充填し密封したものを、乾燥ワクチンの小分製品とする。

溶解用液の最終バルクを小分容器に分注し、密栓したものを、溶解用液の小分製品とする。

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ない。

###### 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、その試験法とする。

##### 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

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。

###### 3.1.3 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

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。

## 3.2 培養菌液の試験

### 3.2.1 染色試験

検体を一部採取し、グラム染色を行うとき、レプトスピラ以外の菌を認めてはならない。

### 3.2.2 同定試験

各レプトスピラ血清型に対する特異抗血清をマイクロプレートの各穴に分注し、これと等量の検体を加えて反応させ、各穴の反応液を暗視野下で鏡検するとき、それぞれのレプトスピラ血清型に対する抗血清との反応液に特異凝集を認めなければならない。この場合、他の血清型に対する抗血清及びリン酸緩衝食塩液との反応液に凝集を認めてはならない。

### 3.2.3 総菌数試験

培養菌液を検体とし、適当と認められた方法で試験するとき、適合しなければならない。

## 3.3 原液の試験

### 3.3.1 不活化試験

#### 3.3.1.1 試験材料

##### 3.3.1.1.1 試料

検体を試料とする。

##### 3.3.1.1.2 培地

適当と認められた培地を用いる。

#### 3.3.1.2 試験方法

試料を培地に接種し、28～32℃で14～21日間培養し、観察する。レプトスピラの発育が認められない場合は菌液を継代し、初代接種後27～29日目に観察する。

##### 3.3.1.3 判定

レプトスピラの増殖を認めてはならない。

## 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、乾燥ワクチンは、固有の色調を有する乾燥物でなければならない。溶解用液は、固有の色調を有する液体で、異物を認めてはならない。乾燥ワクチンを溶解用液で溶解したものは、固有の色調を有する均質な懸濁液でなければならず、異物を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

### 3.4.2 pH測定試験

一般試験法のpH測定試験法を準用して試験するとき、pHは固有の値を示さ

なければならない。

#### 3.4.3 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。

#### 3.4.4 無菌試験

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

#### 3.4.5 チメロサル定量試験

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。

#### 3.4.6 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、アルミニウム含有量は、1 mL中固有の値以下でなければならない。

#### 3.4.7 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。

#### 3.4.8 力価試験

##### 3.4.8.1 試験材料

###### 3.4.8.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

###### 3.4.8.1.2 試験動物

体重約300gのモルモットを用いる。

###### 3.4.8.1.3 凝集反应用菌液

L・カニコラ、L・イクテロヘモラジー、L・グリッポチフォーサ及びL・ポモナの生菌浮遊液を用いる。

##### 3.4.8.2 試験方法

注射材料1 mLずつを10匹の試験動物に7日間隔で2回皮下注射する。2回目注射後14日目に得られた各個体の血清について、凝集反应用菌液を用いてマイクロプレート生菌凝集反応を行う。

##### 3.4.8.3 判定

プレートの各穴を暗視野顕微鏡で観察し、菌の凝集を認めた血清の最高希釈倍数を凝集抗体価とする。L・カニコラ、L・イクテロヘモラジー、L・グリッポチフォーサ及びL・ポモナに対する凝集抗体価が、それぞれ32倍、16倍、32倍及び16倍以上のとき、凝集抗体陽性とする。

それぞれの菌液に対する試験動物の凝集抗体陽性率は、いずれも70%以上でなければならない。

#### 4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後2年3か月間とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その期間とする。

付記1 抗L・カニコーラ血清  
L・カニコーラで免疫した兎又はモルモットの血清

付記2 抗L・イクテロヘモラジー血清  
L・イクテロヘモラジーで免疫した兎又はモルモットの血清

付記3 抗L・グリッポチフォーサ血清  
L・グリッポチフォーサで免疫した兎又はモルモットの血清

付記4 抗L・ポモナ血清  
L・ポモナで免疫した兎又はモルモットの血清

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、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>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（シード）</b></p> <p>1 （略）</p> <p>2 製法</p> <p>2.1 製造用株</p> <p>2.1.1・2.1.2 （略）</p> <p>2.1.3 作製、保存及び小分製品までの最高継代数</p> <p>マスターシード菌は、<u>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。</u></p> <p>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-20℃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。</p> <p>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。<u>ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その最高継代数とする。</u></p> <p>2.1.4 ワーキングシード菌</p> <p>2.1.4.1 増殖、継代及び保存</p> <p>ワーキングシード菌は、<u>適当と認められた液状培地で増殖及び継代する。</u></p> <p>ワーキングシード菌は、凍結して-20℃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>2.1.5 プロダクションシード菌</p> <p>2.1.5.1 増殖及び保存</p> <p>プロダクションシード菌は、<u>適当と認められた液状培地で増殖させる。</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（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（シード）</b></p> <p>1 （略）</p> <p>2 製法</p> <p>2.1 製造用株</p> <p>2.1.1・2.1.2 （略）</p> <p>2.1.3 作製、保存及び小分製品までの最高継代数</p> <p>マスターシード菌は、<u>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。</u></p> <p>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-20℃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。</p> <p>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>2.1.4 ワーキングシード菌</p> <p>2.1.4.1 増殖、継代及び保存</p> <p>ワーキングシード菌は、<u>適当と認められた液状培地で増殖及び継代する。</u></p> <p>ワーキングシード菌は、凍結して-20℃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>2.1.5 プロダクションシード菌</p> <p>2.1.5.1 増殖及び保存</p> <p>プロダクションシード菌は、<u>適当と認められた液状培地で増殖させる。</u></p>

<p>プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して-20℃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 (略)</p> <p>2.3.2 不活化  <u>培養菌液に相当と認められた不活化剤を加えて攪拌し、不活化菌液とする。</u>  <u>不活化菌液について、必要に応じて3.3の試験を行う。</u>  <u>不活化菌液の不活化剤を相当と認められた方法で中和したものを原液とする。</u>  <u>この場合、必要に応じて濃縮し、相当と認められた保存剤又は消泡剤を添加してもよい。</u>  原液について、<u>3.4</u>の試験を行う。</p> <p>2.4 最終バルク  原液に適量のアジュバントを加えたものを最終バルクとする。この場合、必要に応じて濃度調整し、相当と認められた保存剤等を添加してもよい。</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>3.5</u>の試験を行う。</p> <p>3 試験法</p> <p>3.1 (略)</p> <p>3.2 培養菌液の試験  <u>3.2.1から3.2.4まで又は3.2.3及び3.2.4の試験を行う。</u></p> <p><u>3.2.1 暗視野顕微鏡下観察試験</u></p> <p><u>3.2.1.1 試験材料</u>  <u>検体を用いる。</u></p> <p><u>3.2.1.2 試験方法</u>  <u>検体0.01mL以上をスライドグラスに取り、暗視野顕微鏡下で、約1,000倍に拡大して5視野以上を鏡検する。</u></p> <p><u>3.2.1.3 判定</u>  <u>マイコプラズマ・ハイオニューモニエ様菌(球状又は球桿状から短桿状の菌)以外の菌を検出してはならない。</u></p> <p><u>3.2.2 pH試験</u>  <u>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7.0以下でなければならない。</u></p> <p><u>3.2.3 染色試験</u></p>	<p>プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して-20℃以下で保存する。  。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。</p> <p>2.2 (略)</p> <p>2.3 原液</p> <p>2.3.1 (略)</p> <p>2.3.2 不活化  <u>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た後に、相当と認められた方法で不活化剤を中和したものを原液とする。</u>  <u>この場合、必要に応じて濃縮し、相当と認められた保存剤又は消泡剤を添加してもよい。</u></p> <p>原液について、<u>3.3</u>の試験を行う。</p> <p>2.4 最終バルク  <u>原液を混合し、濃度調整したものに適量のアジュバントを加えたものを最終バルクとする。</u>  この場合、必要に応じて濃度調整し、相当と認められた保存剤等を添加してもよい。</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>3.4</u>の試験を行う。</p> <p>3 試験法</p> <p>3.1 (略)</p> <p>3.2 培養菌液の試験</p> <p>(新設)</p> <p>(新設)</p> <p><u>3.2.1 染色試験</u></p>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

<p>3.2.3.1 (略)</p> <p>3.2.3.2 試験方法  <u>検体0.01mL以上をスライドグラスに取り、グラム染色し、約1,000倍に拡大して5視野以上を鏡検する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法によるものとする。</u></p> <p>3.2.3.3 (略)</p> <p>3.2.4 抗原量定量試験  <u>3.2.4.1又は3.2.4.2の試験を行う。</u></p> <p>3.2.4.1 DNA含有量試験</p> <p>3.2.4.1.1 試験材料  <u>検体を用いる。</u></p> <p>3.2.4.1.2 試験方法  <u>検体1.5mLを1本の試験管に取り、20,000G以上で10分間遠心分離した後、上清を除いた沈渣を適当と認められた液に懸濁する。適当と認められた分析用溶液で40倍に希釈した後、既知のDNA濃度の標準液で校正した分光蛍光光度計を用いてDNA量を測定する。</u></p> <p>3.2.4.1.3 判定  <u>検体のDNA含有量は5,000ng/mL以上でなければならない。</u></p> <p>3.2.4.2 抗原定量試験</p> <p>3.2.4.2.1 試験材料</p> <p>3.2.4.2.1.1 (略)</p> <p>3.2.4.2.1.2・3.2.4.2.1.3 (略)</p> <p>3.3 不活化菌液の試験</p> <p>3.3.1 不活化試験</p> <p>3.3.1.1 試験材料</p> <p>3.3.1.1.1 試料  <u>検体に適当と認められた中和剤を加え、不活化剤を中和したものを試料とする。</u></p> <p>3.3.1.1.2 培地  <u>適当と認められた液状培地を用いる。</u></p> <p>3.3.1.2 試験方法  <u>培地10mLを分注した試験管5本に試料1mLずつを接種する。また、不活化剤添加前の同じ培養菌液を陽性対照試料とし、培地10mLを分注した試験管4本に陽性対照試料1mLずつを接種し、その中の2本の試験管に試料1mLを加える。合計9本の試験管及び試料未接種の培地のみの試験管2本(陰性対照)と共に35～39℃で7日間培養する。</u></p>	<p>3.2.1.1 (略)</p> <p>3.2.1.2 試験方法  <u>検体0.01mL以上をスライドグラス上に塗抹し、乾燥・固定した後にグラム染色して標本を作成する。標本は約1,000倍に拡大して1視野以上鏡検する。</u></p> <p>3.2.1.3 (略)</p> <p>3.2.2 抗原量定量試験    (新設)</p> <p>(新設)</p> <p>3.2.2.1 試験材料</p> <p>3.2.2.1.1 (略)</p> <p>3.2.2.2・3.2.2.3 (略)  (新設)</p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

培養7日目に、試料を接種した試験管5本及び陰性対照2本につき、各1 mLをそれぞれ新しい培地に接種し、35～39℃で更に7日間培養した後、培地の色調を観察する。

培養7日目に陽性対照試料を接種した試験管4本の培地の色調に変化が認められなかった場合、陽性対照試料を接種した培地1 mLを新しい培地に接種する。これを35～39℃で更に7日間培養し、培地の色調を観察する。

### 3.3.1.3 判定

試料を接種した試験管及び陰性対照の試験管には、色調の変化を認めてはならない。また、試料と陽性対照試料を接種した試験管及び陽性対照試料のみを接種した試験管には、赤色から黄色への色調変化を認めなければならない。

## 3.4 原液の試験

### 3.4.1 (略)

### 3.4.2 抗原定量試験

3.4.2.1又は3.4.2.2の試験を行う。

#### 3.4.2.1 抗原定量試験1

3.2.4.2を準用して試験するとき、検体1 mL中の抗原量は、所定の値でなければならない。

#### 3.4.2.2 抗原定量試験2

##### 3.4.2.2.1 試験材料

###### 3.4.2.2.1.1 試料

検体及び参照ワクチン1（付記3）を凍結融解したものを試料とする。

##### 3.4.2.2.2 試験方法

捕捉抗体吸着プレート（付記4）にブロッキング液（付記5）を100 µLずつ加え、試料を各々3穴に100 µLずつ加えてプレート上で2倍階段希釈する。また、陽性対照抗原（付記6）及び陰性対照抗原（付記7）をいずれも凍結融解した後、プレートの4穴ずつに100 µLずつ加え、プレート上で2倍希釈する。35～39℃で1時間反応させた後、洗浄液（付記8）で3回洗浄する。マウス抗マイコプラズマ・ハイオニューモニエモノクローナル抗体（付記9）をブランクを除く各穴に100 µLずつ、ブランクにはブロッキング液を100 µLずつ加え、35～39℃で1時間反応させた後、洗浄液で3回洗浄する。標識抗体1（付記10）をブランクを除く各穴に100 µLずつ、ブランクには標識抗体1希釈液（付記11）を100 µLずつ加え、35～39℃で1時間反応させた後、洗浄液で3回洗浄する。基質液1（付記12）を各穴に100 µLずつ加え、10分間反応させた後、各穴に1 mol/L塩酸を100 µLずつ加えて反応を停止させ、波長450nmで吸光度を測定する。

###### 3.4.2.2.3 (略)

### 3.4.3 不活化試験

## 3.3 原液の試験

### 3.3.1 (略)

### 3.3.2 抗原定量試験

3.3.2.1又は3.3.2.2の試験を行う。

#### 3.3.2.1 抗原定量試験1

3.2.2を準用して試験するとき、検体1 mL中の抗原量は、所定の値でなければならない。

#### 3.3.2.2 抗原定量試験2

##### 3.3.2.2.1 試験材料

###### 3.3.2.2.1.1 試料

原液及び参照ワクチン1（付記3）を凍結融解したものを試料とする。

##### 3.3.2.2.2 試験方法

捕捉抗体吸着プレート（付記4）にブロッキング液（付記5）を100 µLずつ加え、試料を各々3穴に100 µLずつ加えてプレート上で2倍階段希釈する。また、陽性対照抗原（付記6）及び陰性対照抗原（付記7）をいずれも凍結融解した後、プレートの4穴ずつに100 µLずつ加え、プレート上で2倍希釈する。35～39℃で1時間反応させた後、洗浄液（付記8）で3回洗浄する。マウス抗マイコプラズマ・ハイオニューモニエモノクローナル抗体（付記9）をブランクを除く各穴に100 µLずつ、ブランクにはブロッキング液を100 µLずつ加え、35～39℃で1時間反応させた後、洗浄液で3回洗浄する。標識抗体1（付記10）をブランクを除く各穴に100 µLずつ、ブランクにはブロッキング液を100 µLずつ加え、35～39℃で1時間反応させた後、洗浄液で3回洗浄する。基質液1（付記11）を各穴に100 µLずつ加え、10分間反応させた後、各穴に1 mol/L塩酸を100 µLずつ加えて反応を停止させ、波長450nmで吸光度を測定する。

###### 3.3.2.2.3 (略)

### 3.3.3 不活化試験



<p><u>3.3.1</u>を準用して試験するか、又は<u>3.4.3.1</u>若しくは<u>3.4.3.2</u>の試験を行う。 ただし、<u>3.3.1</u>を準用して試験するときは、中和は行わず、検体を試料として用いる。</p> <p><u>3.4.3.1</u>・<u>3.4.3.2</u> (略)</p> <p><u>3.5</u> 小分製品の試験</p> <p><u>3.5.1</u>・<u>3.5.2</u> (略)</p> <p><u>3.5.3</u> 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、その試験法によるものとする。</p> <p><u>3.5.4</u> (略)</p> <p><u>3.5.5</u> カルボキシビニルポリマー定量試験 沈降法又はメチレンブルー法により試験をするとき、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、その試験法によるものとする。</p> <p><u>3.5.6</u> ホルマリン定量試験 ホルマリン添加製剤については、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が0.125vol%以下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、その試験法によるものとする。</p> <p><u>3.5.7</u> 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、0.3mLとする。また、<u>3.5.8</u>の試験を行うときは農林水産大臣が特に認めた場合には、本試験は実施しなくてもよい。</p> <p><u>3.5.8</u> 安全試験 農林水産大臣が特に認めた場合には、本試験は実施しなくてもよい。</p> <p><u>3.5.8.1</u>～<u>3.5.8.3</u> (略)</p> <p><u>3.5.9</u> 抗原定量試験 必要に応じて、<u>3.4.2.2</u>を準用して試験するとき、試験品の抗原RPは1.0～4.6でなければならない。</p> <p><u>3.5.10</u> 力価試験 <u>3.5.10.1</u>又は<u>3.5.10.2</u>の試験を行う。</p> <p><u>3.5.10.1</u> 力価試験1</p> <p><u>3.5.10.1.1</u> 試験材料</p> <p><u>3.5.10.1.1.1</u> 注射材料 試験品及び参照ワクチン2 (付記13)を注射材料とする。</p> <p><u>3.5.10.1.1.2</u> (略)</p> <p><u>3.5.10.1.1.3</u> 酵素抗体反応 (以下この項において「ELISA」という。)用抗原</p>	<p><u>3.3.3.1</u>又は<u>3.3.3.2</u>の試験を行う。</p> <p><u>3.3.3.1</u>・<u>3.3.3.2</u> (略)</p> <p><u>3.4</u> 小分製品の試験</p> <p><u>3.4.1</u>・<u>3.4.2</u> (略)</p> <p><u>3.4.3</u> 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。</p> <p><u>3.4.4</u> (略) (新設)</p> <p><u>3.4.5</u> ホルマリン定量試験 ホルマリン添加製剤については、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が0.125vol%以下でなければならない。</p> <p><u>3.4.6</u> 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、0.3mLとする。また、<u>3.4.7</u>の試験を行うときは、本試験は実施しなくてもよい。</p> <p><u>3.4.7</u> 安全試験</p> <p><u>3.4.7.1</u>～<u>3.4.7.3</u> (略) (新設)</p> <p><u>3.4.8</u> 力価試験 <u>3.4.8.1</u>又は<u>3.4.8.2</u>の試験を行う。</p> <p><u>3.4.8.1</u> 力価試験1</p> <p><u>3.4.8.1.1</u> 試験材料</p> <p><u>3.4.8.1.1.1</u> 注射材料 試験品及び参照ワクチン2 (付記12)を注射材料とする。</p> <p><u>3.4.8.1.1.2</u> (略)</p> <p><u>3.4.8.1.1.3</u> 酵素抗体反応 (以下この項において「ELISA」という。)用抗原</p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

<p>固相化抗原 1 (付記14) を用いる。</p> <p><b>3.5.10.1.2 試験方法</b></p> <p>試験動物の40匹を試験群、10匹を対照群とする。</p> <p>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2をそれぞれ0.2mLずつ皮下に注射する。注射後2週目に、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。</p> <p>試験品群、参照ワクチン群及び対照群の血清を希釈液(付記15)で40倍に希釈したものを抗原吸着プレート1(付記16)の2穴ずつに100<math>\mu</math>Lずつ加え、希釈液のみの穴を血清対照とする。また、指示陽性血清(付記17)を希釈液で40倍に希釈したものを抗原吸着プレート1の4穴に100<math>\mu</math>Lずつ加える。1時間反応させた後、希釈液で3回洗浄する。次に、各穴に標識抗体2(付記18)を100<math>\mu</math>Lずつ加え、30分間反応させた後、希釈液で4回洗浄する。基質液2(付記19)を各穴に100<math>\mu</math>Lずつ加えて反応させ、主波長405nm、副波長450nmで吸光度を測定する。各被検血清の吸光度から血清対照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とき、指示陽性血清の平均吸光度値が0.85~1.05となった時点反応終了とし、全ての穴の吸光度を測定し、試験品群、参照ワクチン群及び対照群の平均吸光度値を算出する。</p> <p><b>3.5.10.1.3 (略)</b></p> <p><b>3.5.10.2 力価試験 2</b></p> <p><b>3.5.10.2.1 試験材料</b></p> <p><b>3.5.10.2.1.1 注射材料</b></p> <p>試験品をワクチン希釈液(付記20)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。</p> <p><b>3.5.10.2.1.2 (略)</b></p> <p><b>3.5.10.2.1.3 ELISA用抗原</b></p> <p>固相化抗原 2 (付記21) を用いる。</p> <p><b>3.5.10.2.2 試験方法</b></p> <p>試験動物の20匹を試験群、10匹を対照群とする。</p> <p>注射材料0.1mLずつを試験群の腹部皮下に注射する。注射後3週目に、試験品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>試験品群と対照群の血清及び参照陽性血清(付記22)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23)の穴に100<math>\mu</math>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<math>^{\circ}</math>Cで1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3(付記24)を100<math>\mu</math>Lずつ加え、37<math>^{\circ}</math>Cで1時間反応させた後</p>	<p>固相化抗原 1 (付記13) を用いる。</p> <p><b>3.4.8.1.2 試験方法</b></p> <p>試験動物の40匹を試験群、10匹を対照群とする。</p> <p>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2をそれぞれ0.2mLずつ皮下に注射する。注射後2週目に、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。</p> <p>試験品群、参照ワクチン群及び対照群の血清を希釈液(付記14)で40倍に希釈したものを抗原吸着プレート1(付記15)の2穴ずつに100<math>\mu</math>Lずつ加え、希釈液のみの穴を血清対照とする。また、指示陽性血清(付記16)を希釈液で40倍に希釈したものを抗原吸着プレート1の4穴に100<math>\mu</math>Lずつ加える。1時間反応させた後、希釈液で3回洗浄する。次に、各穴に標識抗体2(付記17)を100<math>\mu</math>Lずつ加え、30分間反応させた後、希釈液で4回洗浄する。基質液2(付記18)を各穴に100<math>\mu</math>Lずつ加えて反応させ、主波長405nm、副波長450nmで吸光度を測定する。各被検血清の吸光度から血清対照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とき、指示陽性血清の平均吸光度値が0.85~1.05となった時点反応終了とし、全ての穴の吸光度を測定し、試験品群、参照ワクチン群及び対照群の平均吸光度値を算出する。</p> <p><b>3.4.8.1.3 (略)</b></p> <p><b>3.4.8.2 力価試験 2</b></p> <p><b>3.4.8.2.1 試験材料</b></p> <p><b>3.4.8.2.1.1 注射材料</b></p> <p>試験品をワクチン注射液(付記19)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。</p> <p><b>3.4.8.2.1.2 (略)</b></p> <p><b>3.4.8.2.1.3 ELISA用抗原</b></p> <p>固相化抗原 2 (付記20) を用いる。</p> <p><b>3.4.8.2.2 試験方法</b></p> <p>試験動物の20匹を試験群、10匹を対照群とする。</p> <p>注射材料0.1mLずつを試験群の腹部皮下に注射する。注射後3週目に、試験品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>試験品群と対照群の血清及び参照陽性血清(付記21)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22)の穴に100<math>\mu</math>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<math>^{\circ}</math>Cで1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3(付記23)を100<math>\mu</math>Lずつ加え、37<math>^{\circ}</math>Cで1時間反応させた後</p>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

、洗浄液で3回洗浄する。その後、基質液1を各穴に100 $\mu$ 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 $\mu$ 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。

3.5.10.2.3 (略)

4 (略)

付記1～3 (略)

付記4 捕捉抗体吸着プレート

抗マイコプラズマ・ハイオニューモニエ兔抗体(付記25)をトリス緩衝食塩液(付記26)で適当と考えられる濃度に希釈し、96穴ELISAプレートに100 $\mu$ Lずつ加える。なお、プレートの両端各1列は、ブランクとし、トリス緩衝食塩液を100 $\mu$ Lずつ加える。35～39 $^{\circ}$ Cで1時間反応させ、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 $\mu$ Lずつ加え、2～8 $^{\circ}$ Cで18時間反応させた後、洗浄液で3回洗浄したもの。

付記5 (略)

付記6 陽性対照抗原

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、カルボキシビニルポリマーアジュバントを添加し、3.4.2.2.2の試験における吸光度値が適当な値となるように生理食塩液で濃度を調整したもの。

付記7～9 (略)

付記10 標識抗体1

ペルオキシダーゼ標識抗マウスIgG抗体を標識抗体1希釈液(付記11)で至適濃度に希釈したもの。

付記11 標識抗体1希釈液

1,000mL中

トリスヒドロキシメチルアミノメタン 2.42g

塩化ナトリウム 8.77g

スキムミルク 50g

ポリソルベート20 0.5mL

豚血清 50mL

、洗浄液で3回洗浄する。その後、基質液1を各穴に100 $\mu$ 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 $\mu$ 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。

3.4.8.2.3 (略)

4 (略)

付記1～3 (略)

付記4 捕捉抗体吸着プレート

抗マイコプラズマ・ハイオニューモニエ兔抗体(付記24)をトリス緩衝食塩液(付記25)で適当と考えられる濃度に希釈し、96穴ELISAプレートに100 $\mu$ Lずつ加える。なお、プレートの両端各1列は、ブランクとし、トリス緩衝食塩液を100 $\mu$ Lずつ加える。35～39 $^{\circ}$ Cで1時間反応させ、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 $\mu$ Lずつ加え、2～8 $^{\circ}$ Cで18時間反応させた後、洗浄液で3回洗浄したもの。

付記5 (略)

付記6 陽性対照抗原

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、カルボキシビニルポリマーアジュバントを添加し、3.3.2.2.2のELISAにおける吸光度値が適当な値となるように生理食塩液で濃度を調整したもの。

付記7～9 (略)

付記10 標識抗体1

ペルオキシダーゼ標識抗マウスIgG抗体を標識抗体1希釈液(付記26)で至適濃度に希釈したもの。

(新設)

<p>水 pHを7.2~7.4に調整する。必要に応じ、200nm以下のフィルターでろ過滅菌する。</p> <p>付記12~19 (略)</p> <p>付記20 <u>ワクチン希釈液</u> (略)</p> <p>付記21~26 (略)</p> <p>(削る)</p> <p>付記27~29 (略)</p>	<p>残量</p> <p>付記11~18 (略)</p> <p>付記19 <u>ワクチン注射液</u> (略)</p> <p>付記20~25 (略)</p> <p>付記26 標識抗体1希釈液 1,000mL中</p> <table border="0"> <tr> <td><u>トリスヒドロキシメチルアミノメタン</u></td> <td>2.42g</td> </tr> <tr> <td><u>塩化ナトリウム</u></td> <td>8.77g</td> </tr> <tr> <td><u>スキムミルク</u></td> <td>50g</td> </tr> <tr> <td><u>ポリソルベート20</u></td> <td>0.5mL</td> </tr> <tr> <td><u>豚血清</u></td> <td>50mL</td> </tr> <tr> <td><u>水</u></td> <td>残量</td> </tr> </table> <p>pHを7.2~7.4に調整する。必要に応じ、200nm以下のフィルターでろ過滅菌する。</p> <p>付記27~29 (略)</p>	<u>トリスヒドロキシメチルアミノメタン</u>	2.42g	<u>塩化ナトリウム</u>	8.77g	<u>スキムミルク</u>	50g	<u>ポリソルベート20</u>	0.5mL	<u>豚血清</u>	50mL	<u>水</u>	残量
<u>トリスヒドロキシメチルアミノメタン</u>	2.42g												
<u>塩化ナトリウム</u>	8.77g												
<u>スキムミルク</u>	50g												
<u>ポリソルベート20</u>	0.5mL												
<u>豚血清</u>	50mL												
<u>水</u>	残量												

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>鶏伝染性気管支炎生ワクチン（シード）</b></p> <p>1・2 （略） 3 試験法 3.1～3.4 （略） 3.5 小分製品の試験 3.5.1～3.5.8 （略） 3.5.9 力価試験 <u>それぞれのワクチンについて、3.5.9.1の試験又は3.5.9.2の試験のいずれかを行う。</u> <u>3.5.9.1 発育鶏卵中和試験</u> <u>3.5.9.1.1～3.5.9.1.3 （略）</u> <u>3.5.9.2 抗体量測定試験</u> <u>3.5.9.2.1 試験材料</u> <u>3.5.9.2.1.1 接種材料</u> <u>試験品をリン酸緩衝食塩液又は適当と認められた溶解用液を用いてウイルスが0.03mL当たり1羽分含まれるように濃度を調整し、接種材料とする。</u> <u>3.5.9.2.1.2 試験動物</u> <u>生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した発育鶏卵由来の4日齢の鶏を用いる。</u> <u>3.5.9.2.1.3 酵素抗体反応（以下この項において「ELISA」という。）用抗原</u> <u>生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した10～12日齢の発育鶏卵に製造用株を接種し、培養した後の尿膜腔液を、100℃で10分間加熱処理したものをELISA抗原とする。ただし、加熱処理前の尿膜腔液を、生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した9～10日齢の発育鶏卵の尿膜腔液に注射し、ウイルス量を測定するとき、1mL中<math>10^{6.9}</math>EID<sub>50</sub>以上でなければならない。</u> <u>3.5.9.2.2 試験方法</u> <u>試験動物の10羽を試験群、3羽を対照群とする。試験群に、接種材料0.03mLずつを点眼接種し、対照群と共に3～4週間観察する。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。</u></p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p style="text-align: center;"><b>鶏伝染性気管支炎生ワクチン（シード）</b></p> <p>1・2 （略） 3 試験法 3.1～3.4 （略） 3.5 小分製品の試験 3.5.1～3.5.8 （略） 3.5.9 力価試験  (新設) <u>3.5.9.1～3.5.9.3 （略）</u> (新設)</p>

<p>試験終了時、試験群及び対照群から得られた血清についてELISAを行う。各群の血清は、それぞれ等量をプールの。</p> <p>試験群と対照群のプール血清及び陽性血清（付記1）を血清希釈液（付記2）で50倍に希釈したものを、それぞれELISA用抗原吸着プレート（付記3）の3穴に100μLずつ加える。37℃で60分間反応させた後、洗浄液（付記4）で洗浄する。次に、各穴に酵素標識抗体液（付記5）を100μLずつ加え、37℃で60分間反応させた後、洗浄液で洗浄する。発色用基質液（付記6）を各穴に100μLずつ加え、37℃で30分間反応させた後、1 mol/Lリン酸水溶液を100μLずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を450nmで測定する。</p>									
<p>3.5.9.2.3 判定</p> <p>試験群及び対照群のプール血清の吸光度の平均値をS、陽性血清の吸光度の平均値をPとし、S/P比を算出するとき、試験群のプール血清のS/P比は1.0以上でなければならない。この場合、陽性血清の吸光度は0.21以上を示し、対照群のプール血清の吸光度は0.11未満でなければならない。</p>									
<p>4 (略)</p>	<p>4 (略)</p>								
<p>付記1 陽性血清</p> <p>生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した発育鶏卵由来の鶏に製造用株を点眼接種して免疫した血清であり、発育鶏卵を用いてウイルス希釈法により中和指数を算出するとき、中和指数は2.0以上を示すよう血清希釈液で希釈したもの。</p>	<p>(新設)</p>								
<p>付記2 血清希釈液</p> <p>洗浄液100mLにスキムミルク 1gを溶解したもの。</p>	<p>(新設)</p>								
<p>付記3 ELISA用抗原吸着プレート</p> <p>ELISA用抗原を0.05mol/L炭酸重炭酸緩衝液（付記7）で1 mL中10<sup>5.5</sup>EID<sub>50</sub>以上となるように25倍以上に希釈したものをプレートにそれぞれ100μLずつ加え、37℃で60分間静置し、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8）を300μLずつ加え、37℃で60分間反応させた後、洗浄液で洗浄したもの。</p>	<p>(新設)</p>								
<p>付記4 洗浄液</p> <table border="0"> <tr> <td>1,000mL中</td> <td></td> </tr> <tr> <td>塩化ナトリウム</td> <td>8.0g</td> </tr> <tr> <td>塩化カリウム</td> <td>0.2g</td> </tr> <tr> <td>リン酸二水素カリウム</td> <td>0.2g</td> </tr> </table>	1,000mL中		塩化ナトリウム	8.0g	塩化カリウム	0.2g	リン酸二水素カリウム	0.2g	<p>(新設)</p>
1,000mL中									
塩化ナトリウム	8.0g								
塩化カリウム	0.2g								
リン酸二水素カリウム	0.2g								

	リン酸水素二ナトリウム 水	1.15g 残 量	
付記5	酵素標識抗体液 ペルオキシダーゼ標識抗鶏IgG(H+L)を血清希釈液で至適濃度に希釈したものを。		(新設)
付記6	発色用基質液 テトラメチルベンジジン (TMB) を用いる。		(新設)
付記7	0.05mol/L炭酸重炭酸緩衝液 pH9.6になるように、0.05mol/L炭酸ナトリウム溶液と0.05mol/L炭酸水素ナトリウム溶液を混合したもの。		(新設)
	0.05mol/L炭酸ナトリウム溶液 1,000mL中 炭酸ナトリウム 精製水	5.3g 残 量	
	0.05mol/L炭酸水素ナトリウム溶液 1,000mL中 炭酸水素ナトリウム 精製水	4.2g 残 量	
付記8	ブロッキング液 洗浄液100mLにスキムミルク 5gを溶解したもの。		(新設)