

通 則

平成17年3月18日（告示第515号）一部改正
平成20年3月21日（告示第412号）一部改正
平成22年3月3日（告示第394号）一部改正
平成22年7月12日（告示第1038号）一部改正
平成26年2月28日（告示第346号）一部改正
平成26年6月10日（告示第745号）一部改正
平成26年11月18日（告示第1636号）一部改正
平成28年9月30日（告示第1889号）一部改正
平成30年4月27日（告示第968号）一部改正
令和3年11月22日（告示第1991号）一部改正

- この基準は、医薬品各条に掲げる動物用生物学的製剤（原液、原末又は最終バルクたる製造の中間段階における製品を含む。以下「各条動生剤」という。）について、その製法、性状、品質、貯法等に関する基準を定めたものである。この基準の略名を「動生剤基準」という。
- 「日本薬局方」とは、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和35年法律第145号。以下「法」という。）に規定する日本薬局方をいい、「日本産業規格」とは、産業標準化法（昭和24年法律第185号）に規定する日本産業規格をいう。
- 「基準名」とは、医薬品各条に掲げる名称をいう。ただし、原液、原末又は最終バルクについては、対応する医薬品各条に掲げる名称にそれぞれ「原液」、「原末」又は「最終バルク」を付けたものを基準名とする。基準名は、法第50条の適用に関しては一般的名称とみなす。
- 各条動生剤の適否は、通則、医薬品各条及び一般試験法の規定によって判定する。
ただし、各条動生剤のうち原液、原末又は最終バルクたる製造の中間段階における製品については、対応する規定のうち原液、原末又は最終バルクまでの項により判定する。
- 製法の変更又は試験法の試験項目の変更は、それが規定の方法と同等以上の製品が製造できるものとして法第14条、第19条の2、第23条の2の5又は第23条の2の17に規定する承認がなされた場合に限り行うことができる。
- 基準名に「 」を付けたものは、この基準に規定する性状及び品質の規格に適合するものを示す。ただし、医薬品各条の表題ではこれを付けない。
また、『 』は、特定の生物活性を表す物質を示す。
- 主な計量の単位については、次の記号を用いる。

センチメートル	cm	キログラム	Kg
ミリメートル	mm	グラム	g
ナノメートル	nm	ミリグラム	mg
平方センチメートル	cm ²	マイクログラム	μg
リットル	L	モル毎リットル	mol/L
デシリットル	dL	パスカル	Pa
ミリリットル	mL	重力加速度	G
マイクロリットル	μL		
- 質量百分率は%、質量対容量百分率はw/v%、体積百分率はvol%、容量対質量百分率はv/w%を用いる。
- 温度の表示は、セルシウス氏法によりアラビア数字の右に℃を付ける。

- 10 溶媒名を示さない溶液は、水溶液を示す。
- 11 「溶解用液」とは、添付の溶解用液又は当該製剤の溶解に相当と認められた溶解用液をいう。
- 12 乾燥した製剤及び用時溶解する製剤について、単に「溶解用液で溶解する」と記載した場合は、溶解用液を用い、その動物用生物学的製剤の直接の容器等に記載された方法により溶解するものとする。
- 13 各条動生剤の製造に用いる医薬品又は薬品は、別に規定する場合を除き、日本薬局方に収載されているものにあつては、その規格に適合するものを用い、日本薬局方に収載されず、かつ、日本産業規格に定めのあるものについては、その目的に応じた規格のものを用いる。
- 14 医薬品各条において「相当と認められたものを用いることができる」等とされた不活化剤、安定剤等は、その動物用生物学的製剤の一般的な使用量においては安全であり、かつ、薬効を阻害し、試験に支障を来すものであつてはならない。
- 15 各条動生剤及び添付する溶解用液の実容量は、表示量を正しく採取するに足りる量とする。
- 16 「原株」とは、製造用株として医薬品各条で規定されたウイルス株、菌株又はコクシジウム株をいう。
- 「原種ウイルス」、「原種菌」又は「原種コクシジウム」とは、ワクチンを製造する際に、原株を医薬品各条のワクチンの部又は規格で定められた方法で継代したもので、原株と同一の性状を示し、ワクチンの種ウイルス、種菌又は種コクシジウムの製造に用いるものをいう。
- 「種ウイルス」、「種菌」又は「種コクシジウム」とは、原株を医薬品各条で定められた方法で継代したもので、原株と同一の性状を示し、直接の製造に用いるものをいう。
- 17 「初代細胞」とは、適当な組織のトリプシン消化等によって得られる培養細胞で、基本的にはオリジナル細胞と同じ性状を持つものをいう。
- 「継代細胞」とは、継続的で増殖能力を持つ培養細胞をいう。
- 18 「シードロット」とは、単一培養で得られた特定のウイルス、細菌、細胞等の均一な浮遊液であつて、その遺伝的性質が十分に安定した条件で保存されているものをいう。
- 19 「シードロット製剤」とは、シードロットを用いて製造されるワクチンをいう。
- 20 「マスターシード」とは、シードロット製剤の製造用株として医薬品各条に規定され、承認の範囲内で継代したものであつて、恒久的に保存されるウイルス株（以下「マスターシードウイルス」という。）、恒久的に保存される菌株（以下「マスターシード菌」という。）又は恒久的に保存されるコクシジウム株（以下「マスターシードコクシジウム」という。）をいう。
- 「ワーキングシード」とは、マスターシードに由来し、製品の製造に直接用いないウイルス株（以下「ワーキングシードウイルス」という。）、製品の製造に直接用いない菌株（以下「ワーキングシード菌」という。）又は製品の製造に用いないコクシジウム株（以下「ワーキングシードコクシジウム」という。）をいう。
- 「プロダクションシード」とは、ワーキングシードに由来し、製品の製造に直接用いるウイルス株（以下「プロダクションシードウイルス」という。）、製品の製造に直接用いる菌株（以下「プロダクションシード菌」という。）又は製品の製造に直接用いるコクシジウム株（以下「プロダクションシードコクシジウム」という。）をいう。
- 21 「株化細胞」とは、シードロット製剤の製造に用いる、継続的で増殖能力を持つ培養細胞をいう。
- 「マスターセルシード」とは、承認の範囲内で継代した株化細胞をいう。
- 「ワーキングセルシード」とは、マスターセルシードに由来し、製品の製造に直接用いない株化細胞をいう。
- 「プロダクションセルシード」とは、ワーキングセルシードに由来し、製品の製造に直接用いる株化細胞をいう。
- 22 「マスタープライマリーセルシード」とは、動物体内から採取した細胞より5代以内の継代で作出された初代細胞をいう。

「ワーキングプライマリーセルシード」とは、マスタープライマリーセルシードに由来し、製品の製造に直接用いない初代細胞をいう。

「プロダクションプライマリーセルシード」とは、ワーキングプライマリーセルシードに由来し、製品の製造に直接用いる初代細胞をいう。

23 「原液」とは、単一の有効成分を含有する動物用生物学的製剤であって、そのままでは最終小分容器に分注しないものをいう。

24 「原末」とは、原液を乾燥し、調製したものをいう。

25 「最終バルク」とは、一容器内に調製され、直ちに分注できる状態にあつて、その内容のいずれの部分をとつても、性状及び品質において均一と認められるものをいう。ただし、その均一の状態を保持するための攪拌操作を行うことは許される。

26 「小分製品」とは、小分容器に最終バルクを分注し、必要あれば乾燥して、密封したものをいう。

27 「ロット」とは、通常、一つの最終バルクに由来する小分製品の一群をいう。また、医薬品各条の原液、原末又は最終バルクたる動物用生物学的製剤の「ロット」とは、同一期間内に一連の製造工程により均質性を有するように製造されたものの一群をいう。

28 一つのロットに対しては、通常、一つの製造番号又は製造記号を付ける。ただし、一つの最終バルクから、同一とみなし得ない操作によって分注密封された小分製品群（分注量が異なる場合を含む。）又は同一の条件とみなし得ない乾燥操作によって乾燥された小分製品群にあつては、同一の製造番号又は製造記号に分注区分又は乾燥区分ごとの記号を付記する。

29 医薬品各条の規定のうち、原液、原末又は最終バルク及び小分製品の試験は、通常、ロットごとに行う。ただし、分注区分又は乾燥区分のある小分製品については、特性試験、無菌試験、生菌数試験、芽胞数試験、夾雑菌否定試験、ウイルス含有量試験、真空度試験、含湿度試験、その他特に規定する試験は各区分ごとに行い、その他の試験は各区分の試験品を等量混合して行う。

30 医薬品各条に規定される小分製品の試験のうち、「異常毒性否定試験」、「毒性限度確認試験」、「安全試験」及び「力価試験」は、動物医薬品検査所長が別に定める要件を満たす場合は省略することができる。

31 「試験品」とは、試験に使用する小分製品又は小分製品を溶解用液で溶解したものをいう。

「検体」とは、最終バルク以前の試験の対象のことで、なんらの操作も加えていないものをいう。

「試料」とは、試験品又は検体に希釈その他の操作を加えたものをいう。

32 乾燥した製剤及び用時溶解する各条動生剤の試験は、「真空度試験」、「含湿度試験」、特性試験の「溶解前の乾燥製剤の容器ごとの均一性試験」及び別に規定する場合を除き、通常、溶解用液を用いて直接の容器等に記載された方法に従って溶解又は懸濁したものについて行う。

33 「不活化試験」とは、その動物用生物学的製剤の製造に用いた生きた微生物が規定に示す程度以下に、その活性を消失していることを判定する試験である。

「無毒化試験」とは、その動物用生物学的製剤の製造工程中に存在した特定の毒性成分が規定に示す程度以下に、その毒性を消失していることを判定する試験である。

「（ ）否定試験」とは、その動物用生物学的製剤中に（ ）に示す物質、微生物等が規定に示す程度には存在していないことを判定する試験である。

34 試験は、別に規定する場合を除き、常温において行う。

常温とは、15～25℃をいう。

35 試験を行うときは、別に規定する場合を除き、一般試験法の「試薬・試液等」を用いる。試験において単に「水」と記載した場合の水は、日本薬局方に規定する精製水をいう。

36 質量を「正確に量る」とは、規定された数値の質量をそのけた数まで量ることをいう。

容量を「正確に量る」とは、規定された容量を全量ピペット、メスフラスコ又はビューレットを用いて量ることをいう。

質量を「精密に量る」とは、量るべき最小単位を考慮し、0.1mg、0.01mg又は0.001mgまで量る

ことをいう。

- 37 数値を単に記載したものは、通常、その規定値の±5%の範囲の値とする。また、数値に「約」を付けたものは、その規定値の±10%の範囲の値とする。
- 38 一般試験法のうち、理化学試験で、規定された値（以下「規格値」という。）と試験によって得た値（以下「実験値」という。）との比較によって適否の判定を行う場合には、実験値は規格値より1けた多く求め、その多く求めた1けたについて四捨五入し、規格値と比較する。
- 39 試験に用いる動物は、健康なものとする。動物が試験時不測の異常を示したとき、原因がその動物用生物学的製剤によるものでないことが明らかにされない場合は、その動物用生物学的製剤は、その試験に不適合とする。
- 40 動生剤基準に規定する試験法の変更又は試験方法の細部の変更は、それが規定の方法と同等以上の正確さと精密さがある場合には行うことができる。ただし、その結果に基づく判定が規定の方法による判定と異なる場合は、規定の方法で最終判定を行う。
- 41 貯法は、別に規定する場合を除き、遮光して、凍結乾燥製剤にあつては10℃以下、液状製剤にあつては2～10℃とする。ただし、原液、原末又は最終バルクについてはこの規定を適用しない。
- 42 「倉出し」とは、動物用生物学的製剤を製造所等の貯蔵庫から販売又は移送の目的で取り出すことをいう。動物用生物学的製剤は、倉出し以前においては一定の温度で貯蔵されなければならない。
- 43 使用の期限及び有効期間は、別に規定する場合を除き、製造完了の日の属する月の翌月から起算するものとする。ただし、法第43条第1項に規定する検定を受けるべき動物用生物学的製剤にあつては、検定終了の日を製造完了の日に代えることができる。
- 44 検定を受けるべき動物用生物学的製剤であつてやむを得ない事由により動物用医薬品等取締規則（平成16年農林水産省令第107号）第152条第3項の期間内に検定の申請をすることができなかった医薬品その他検定の際、動物医薬品検査所長が特に有効期間を短縮すべき事由があると認める医薬品についての使用の期限は、前項の規定にかかわらず、その検定の際、当該所長が指示する期日とする。
- 45 各条動生剤について法第50条第9号の規定による直接の容器等の記載事項は、別に規定する場合を除き、次のとおりとする。ただし、2 mL以下のアンプル若しくはこれと同等の大きさの直接の容器若しくは被包に収められた医薬品又は記載事項が直接印刷される2 mLを超え10 mL以下のアンプル若しくはこれと同等の大きさの容器でその記載場所が狭いため法第50条各号に掲げる事項が明瞭に記載できないものに収められた医薬品、又は体外診断用医薬品であつて外部の容器若しくは外部の被包に「体外診断薬用医薬品」の文字の記載のあるものについては、その外部の容器又は被包にこれらの事項が記載されている場合には、記載することを要しない。
- （1）貯 法
 - （2）最終有効年月
 - （3）ワクチンにあつては、生ウイルス若しくは生菌又は不活化ウイルス若しくは死菌等の別
- 46 各条医薬品又は各条医薬品の製造に用いる医薬品が動物に由来するものを原料として製造されるものであるときは、別に規定する場合を除き、当該動物は、原則として健康なものでなければならない。

試薬・試液等

令和3年11月22日（告示第1991号）一部改正

試薬・試液等は、本基準における試験に用いるものである。ここにおいて規定するもののほか、日本薬局方一般試験法に規定する試薬・試液等を準用する。ここで「[日局]」、「[日局各条]」、「[特級]」又は「[1 級]」と記載したものは、日本薬局方一般試験法に規定する試薬・試液、同医薬品各条に規定する医薬品、日本産業規格試薬の特級又は同1 級に適合するものであることを示す。試薬品名等に＊を付けたものは、使用の目的に応じた適当な品質規格のものをを用いる。

アクリフラビン*

0.2w/v%アクリフラビン

アクリフラビン 2.0g に水を加えて溶かし、1,000mL とし、121℃で 15 分間滅菌する。

0.02w/v%アクリフラビン加寒天培地

普通寒天培地にアクリフラビンを 0.02w/v%となるように加える。

アジ化ナトリウム

性 状 本品は、白又はほとんど白の結晶で、水に溶けやすく、ジエチルエーテルにほとんど溶けない。水溶液は、アルカリ性である。

定性反応 本品の水溶液に硝酸鉄（Ⅲ）試液を加えると赤褐色になる。また、本品を無色炎中で熱すると、炎は黄色に変わる。

含 量 97.0 %以上

10w/v%アジ化ナトリウム液

アジ化ナトリウム 10g に水を加えて溶かし、100mL とする。

亜硝酸ナトリウム〔特級〕

アセチルアセトン〔特級〕

アセトン〔特級〕

4-アミノ安息香酸〔*p*-アミノ安息香酸、特級〕

2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1, 3-プロパンジオール〔トリスヒドロキシメチルアミノメタン、特級〕

アール液

塩化カルシウム二水和物	0.2g
-------------	------

塩化カリウム	0.4g
--------	------

硫酸マグネシウム七水和物	0.2g
--------------	------

塩化ナトリウム	6.8g
---------	------

炭酸水素ナトリウム	2.2g
-----------	------

リン酸二水素ナトリウム二水和物	0.163g
-----------------	--------

ブドウ糖	1.0g
------	------

フェノールレッド	0.05g
----------	-------

水を加えて溶かし、1,000mL とし、ろ過滅菌する。

なお、適当な品質の乾燥製品を記載に従って溶かし、滅菌したものを用いてもよい。

RDE*

L-アルギニン塩酸塩〔特級〕

アントロン〔特級〕

アンモニア水（28）〔アンモニア水、特級〕

イーグルMEM

適当な品質の乾燥製品を記載に従って溶かし、滅菌する。

インドール試液*

牛血清アルブミン

牛血清からアルブミン及び他の血漿蛋白を変質させることのない方法で精製した淡黄色ないし淡褐色の粉末であり、次の規格に適合する。

(1) 10w/v%溶液は澄明で、その pH は 5.0 ～ 5.5 である。

(2) 電気泳動法により試験するとき、アルブミンは、総蛋白の 97 % 以上でなければならない。

5.5w/v%牛血清アルブミン液

牛血清アルブミン 5.5g に水を加えて溶かし、100mL とする。

10vol%馬血清加ブイオン

普通ブイヨンに馬血清を 10vol% となるように加える。

10vol% 馬血清加寒天培地

普通寒天培地に馬血清を 10vol% となるように加える。

2 vol% 馬血清加生理食塩液

生理食塩液に馬血清を 2 vol% となるように加える。

2 vol% 馬血清加リン酸緩衝食塩液

リン酸緩衝食塩液に馬血清を 2 vol% となるように加える。

エタノール (95) [エチルアルコール、特級]

エタノール (99.5) [無水エタノール、特級]

90vol% エタノール

エタノール (99.5) 180mL に水を加えて 200mL とする。

F 10 培地

適当な品質の乾燥製品を記載に従って溶かし、滅菌する。

塩化亜鉛 [特級]

塩化アルミニウム (Ⅲ) 六水和物 [塩化アルミニウム、特級]

塩化カリウム [特級]

塩化カルシウム二水和物 [塩化カルシウム、特級]

塩化カルシウム、無水 [特級]

3 w/v% 塩化カルシウム液

塩化カルシウム二水和物 3.0g に水を加えて溶かし、100mL とし、121 °C で 15 分間滅菌する。

塩化スズ (Ⅱ) 二水和物 [塩化第一スズ、特級]

塩化ナトリウム [特級]

塩化バリウム [特級]

塩化マグネシウム六水和物 [塩化マグネシウム、特級]

塩酸 [特級]

塩酸チアミン [日局各条]

カオリン [日局各条]

25w/v% カオリン液

カオリン 25g に水を加えて懸濁し、100mL とする。

過酸化水素 (30) [過酸化水素水、特級]

カゼイン製ペプトン

性状 灰黄色の粉末で特異のにおいがあるが、腐敗臭はない。水に溶けるが、エタノール (95) 又はジエチルエーテルには溶けない。

消化度 本品 1g に水 10mL を加えて溶かし、試料溶液とし、次の試験を行う。

- (1) 試料溶液 1mL に、希エタノール 10mL に酢酸 (100) 1 mL を加えた液 0.5mL を層積するとき、界面に輪帯又は沈殿を生じない。また、この液を振り混ぜるとき、混濁しない。
- (2) 試料溶液 1mL に硫酸亜鉛飽和溶液 4 mL を加えるとき、少量の沈殿を生じる。
- (3) (2) の混液をろ過し、ろ液 1 mL に水 3 mL 及び臭素試液 0.2mL を加えるとき、赤紫色を示す。

カゼイン製ペプトン (無菌試験用)

カゼイン製ペプトンの規格のほか、次の規格に適合する。

- (1) 2 w/v% 溶液は、淡黄色澄明であり、その pH は、6.5 ～ 7.0 である。
- (2) バンスライク法及びケルダール法によって測定するとき、アミノ窒素は、総窒素の 25 ～ 50 % である。
- (3) 微生物定量法その他の方法で測定するとき、トリプトファンの含有量は、1.5 % 以上である。

- (4) 次のA～Eの5種の培地を作り、pHを7.2～7.4としてa～eの試験をするとき、それぞれに適合する。

培地	検体	塩化ナトリウム	その他	水
A	2.0g	0.5g	—	100mL
B	1.0g	0.5g	—	100mL
C	0.1g	0.5g	—	100mL
D	1.0g	0.5g	ブドウ糖 0.5g	100mL
E	2.0g	0.5g	寒天 1.5g	100mL

a 発酵性含水炭素試験

培地A 5mL に適量のフェノールレッド試液を加え、ダーラム管を入れ、約 36℃で 24 時間培養した大腸菌 1 白金耳量を接種して 35～37℃で 48 時間培養するとき、菌はよく発育し、かつ、酸又はガスを産生しない。

b 硫化水素産生試験

培地B 5mL にチフス菌を接種し、酢酸鉛紙の紙片を綿栓と試験管の口との間にはさんで培地地面の上約 5 cm の高さに下げ、35～37℃で 24 時間培養するとき、菌はよく発育し、また、48 時間培養するとき、紙片は著明な黒褐色を示す。

c インドール産生試験

培地C 5mL に大腸菌を接種し、35～37℃で 24 時間培養するとき、菌はよく発育し、また、これにインドール試液 0.5mL を重層するとき、境界は明らかな赤紫色を示す。

d アセチルメチルカルビノール産生試験

培地D 5mL にクレブシエラ菌を接種し、35～37℃で 24 時間培養するとき、菌はよく発育し、また、これに 10w/v%水酸化ナトリウム液 5mL を加えて振り混ぜ、約 25℃に 5 時間置くとき、淡赤色を示す。

e 細菌発育促進能力試験

- 培地Eを高層に固め、ブルセラ菌を穿刺接種し、35～37℃で 48 時間培養するとき、菌は穿刺線にそって発育する。
- 培地Eを斜面に固め、大腸菌、クレブシエラ菌、チフス菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌及び表皮ブドウ球菌を接種し、35～37℃で 24 時間培養するとき、いずれの菌もよく発育する。
- 培地Eに脱線維兎血液を約 5 vol%となるように加え、肺炎球菌又はβ溶血レンサ球菌を接種し、よく混ぜて平板に固め、35～37℃で 48 時間培養するとき、それぞれの菌は、よく発育し、また、特異的なα又はβ溶血環を示す。
- 培地Eに脱線維牛血液を約 10vol%となるように加え、平板に固め、80～90℃に加温してチョコレート褐色とし、リン菌を接種して 35～37℃で 48 時間、10%炭酸ガス培養するとき、菌はよく発育する。

過ヨウ素酸カリウム [過よう素酸カリウム、特級]

カルボキシメチルセルロースナトリウム [日局各条]

寒天 [カンテン、日局各条]

寒天 (無菌試験用)

寒天のうち次の規格のものをを用いる。

- 窒素含量は、0.5%以下である。
- 日本産業規格に定められた方法によって試験するとき、1.5%の濃度におけるゼリー強度は、300～500g/cm²である。

グリセリン [特級]

50vol%グリセリン加生理食塩液

グリセリン 50mL に生理食塩液 50mL を加える。

グルコサミン*

グルタミン酸ナトリウム*

クロロホルム [特級]

鶏肉水*

酵母エキス

適当な条件で酵母 (*Saccharomyces*) の産生物のペプトン様の総水溶性物質を澄清液とし、蒸発乾燥し、粉末としたもので、本品 1g は、原料酵母 7.5g 以上から得たものである。帯赤黄色～褐色の粉末で固有なにおいがある。水に溶けて黄色ないし褐色の液となる。

- (1) 本品の窒素量は、7.2 ～ 9.0 % である。
- (2) 本品を 105℃ で恒量になるまで乾燥したものの重量の減少は、5 % 以下である。
- (3) 本品を強熱したときの残分は、15 % 以下である。
- (4) 本品の 5 w/v% 溶液を沸騰するまで加熱するとき、沈殿を生じない。
- (5) 本品の塩化物（塩化ナトリウムとして）は、5 % 以下である。

酢酸 (100) [氷酢酸、特級]

酢酸アンモニウム [特級]

酢酸タリウム*

酢酸ナトリウム三水和物 [酢酸ナトリウム (3 水和物)、特級]

酸化リン (V) [酸化りん (V)、特級]

四塩化炭素 [特級]

L-シスチン [特級]

L-システイン塩酸塩一水和物 [特級]

1 w/v% L-システイン塩酸塩試液

L-システイン塩酸塩一水和物 1.0g に水を加えて溶かし、100mL とする。

ジチゾン [特級]

ジャガイモエキス*

獣肉製ペプトン*

硝酸 [特級]

シリカゲル [日局]

水酸化ナトリウム [特級]

スチルバゾ

- (1) 本品は、黒褐色の粉末である。
- (2) 水に溶けて pH3 ～ 7 で黄色、pH9 で橙色、pH11 で赤色となる。50mg を水 100mL に溶かしたとき、不溶分を認めない。
- (3) 本品 0.5g を硫酸 1mL で灰化し、秤量するとき、その残査の重量は、10mg を越えてはならない。
- (4) 本品の 0.002w/v% 溶液の 410nm における吸光度は、0.7 以上でなければならない。
- (5) 本品の 0.05w/v% 溶液 5mL、0.0001mol/L 塩化アルミニウム液 10mL 及び 1mol/L 酢酸塩緩衝液 10mL に水を加えて 100mL とする。波長 505nm、光路長 10mm におけるこの希釈液の吸光度は、スチルバゾのみの吸光度より 0.42 以上高い。

生理食塩液 [日局各条]

ゼラチン [日局各条]

1 w/v% ゼラチン加ペロナール緩衝食塩液 (pH7.5)

ペロナール緩衝食塩液にゼラチンを 1 w/v% となるように加え、加温して溶かし、滅菌する。

0.2w/v% ゼラチン加 1/60mol/L リン酸緩衝食塩液 (pH7.0)

1/60mol/L リン酸緩衝食塩液にゼラチンを 0.2w/v%となるように加え、加温して溶かし、滅菌する。

ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地

適当な品質の乾燥製品を記載に従って溶かし、滅菌する。

大豆製ペプトン*

脱脂粉乳*

炭酸水素ナトリウム〔特級〕

炭酸ナトリウム十水和物〔炭酸ナトリウム、特級〕

炭酸ナトリウム、無水〔無水炭酸ナトリウム、特級〕

チオグリコール酸ナトリウム〔特級〕

チオシアン酸アンモニウム〔特級〕

チオ尿素〔特級〕

チメロサル $C_9H_5HgNaO_2S$

性 状 本品は、白色ないし淡黄色の結晶性の粉末で、わずかに特異なにおいがある。pH は、6.0 ～ 7.0 (1.0g/100mL 水溶液) を示す。

純度試験

(1) 溶状 無色澄明 (1.0g/10mL 水溶液)

(2) ジエチルエーテル可溶物 本品を粉末とし、その約 0.5g を精密に量り、50mL の共せん三角フラスコに入れ、無水ジエチルエーテル 20mL を加え、密栓して 10 分間振り混ぜた後、ジエチルエーテルで洗ったろ紙を用いて重量既知のビーカーにろ過し、残留物を無水ジエチルエーテル 5 mL で洗い、ろ液及び洗液を合わせ、水浴上で蒸発した後、デシケーター (減圧、シリカゲル) で 24 時間乾燥するとき、その量は、0.60 %以下である。

(3) 他の可溶性水銀塩 本品 0.10g に水 10mL を加えて溶かし、この液 5mL に酢酸 (31) 3 滴を加えるとき、白色の沈殿を生じ、更に硫化ナトリウム試液 1 滴を加え、10 分間放置するとき、液は暗色を呈しない。

(4) 硫酸呈色物 本品 0.20g を採り、日本薬局方の一般試験法によって試験する。液の色は、色の比較液 J より濃くない。ただし、試験は、標準温度で行う。

乾燥減量 0.5 %以下 (1g、減圧、シリカゲル、5 時間)

含量 98.0 %以上

定量法 本品を乾燥し、その約 0.3g を精密に量り、300mL のケルダールフラスコに入れ、硫酸 10mL 及び発煙硝酸 4mL を加え、砂浴上で初めおだやかに加熱し、徐々に火を強めてフラスコの内容物がほとんど無色となり白煙が発生するまで加熱する。冷却後、水 100mL で内容物をビーカーに移し、水浴中で 15 分間ときどき振り混ぜながら加熱する。次に尿素 0.5g を加えて振り混ぜ、更に液が微紅色を呈するまで過マンガン酸カリウム試液を滴加する。冷却後、液の紅色が消えるまで過酸化水素試液を滴加し、0.1mol/L チオシアン酸アンモニウム液で滴定する (指示薬: 硫酸アンモニウム鉄 (III) 試液 2mL)。

0.1mol/L チオシアン酸アンモニウム液 1mL = 20.240mg $C_9H_5HgNaO_2S$

貯法 遮光した気密容器に保存する。

毒素用ペプトン*

トリクロロ酢酸〔トリクロロ酢酸、特級〕

トリス塩酸緩衝液

2-アミノ-ヒドロキシルメチルー 1, 3-プロパンジオール 20.5g、酢酸ナトリウム三水和物 13.6g、塩化カルシウム二水和物 2.2g 及び塩化亜鉛 0.68g に水 700mL を加えて溶かし、塩酸を加え pH を 7.4 に調整した後、全量を 1,000mL とする。

トリスヒドロキシメチルアミノメタン 2-アミノ-ヒドロキシルメチルー 1, 3-プロパンジオ

ールを見よ。

トリプシン*

トリプトース・ホスフェイト・ブロス*

肉エキス*

肉水*

1 w/v% β -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド〔酸化型〕液*

4-ニトロアニリン〔*p*-ニトロアニリン、1級〕

乳糖寒天培地*

ニュートラルレッド〔特級〕

バクトペプトン*

ハートインフュージョン培地

バルビタール〔日局各条〕

バルビタールナトリウム〔日局〕

ハンクス液

塩化ナトリウム	8.0 g
---------	-------

塩化カリウム	0.4 g
--------	-------

リン酸水素二ナトリウム十二水和物	0.06g
------------------	-------

ブドウ糖	1.0 g
------	-------

塩化マグネシウム六水和物	0.2 g
--------------	-------

塩化カルシウム二水和物	0.14g
-------------	-------

炭酸水素ナトリウム	0.35g
-----------	-------

フェノールレッド	0.02g
----------	-------

水を加えて溶かし、1,000mL とし、ろ過滅菌する。

なお、適当な品質の乾燥製品を記載に従って溶かし、滅菌したものを用いてもよい。

氷酢酸 酢酸(100)を見よ。

N,N-ビス(2-ヒドキシルエチル)-2-アミノエタンスルホン酸*

フェノール〔特級〕

0.5w/v%フェノール加生理食塩液

フェノール 5.0g に生理食塩液を加えて溶かし、1,000mL とする。

0.5w/v%フェノール加リン酸緩衝食塩液 (pH7.0)

リン酸二水素カリウム 1.45g、リン酸水素二ナトリウム十二水和物 15.28g、塩化ナトリウム 4.8g

及びフェノール 5.0g に水を加えて溶かし、1,000mL とし、ろ過滅菌する。

フェノールレッド〔特級〕

0.2w/v%フェノールレッド液

フェノールレッド 2.0g に水を加えて溶かし、1,000mL とする。

普通寒天培地

普通ブイヨン 1,000mL に寒天 15g を加え、加熱して溶かす。蒸発した水を補い、pH を 6.4 ～ 7.0 に調整した後、ろ過し、分注した後、121℃で 15 分間高圧滅菌する。

普通ブイヨン

肉エキス 5g 及びペプトン 10g を水 1,000mL に加え緩かに加温して溶かし、滅菌後の pH が 6.4 ～ 7.0 となるように調整し、冷却後、蒸発した水を補い、ろ過する。この液を 121℃で 30 分間高圧滅菌する。

ブドウ糖〔日局各条〕

プロモクレゾールグリーン〔特級〕

ベンジルペニシリンカリウム〔日局各条〕

ペプトン*

ペルオキシダーゼ標識抗マウス免疫グロブリン*

ペロナル緩衝食塩液 (pH7.2)

塩化ナトリウム 85.0g、バルビタール 5.75g 及びバルビタールナトリウム 3.75g に水を加えて 1,000mL とし、ろ過滅菌する。

ホウ酸 [日局各条]

ポリソルベート 80 [日局各条]

ホルマリン [日局各条]

0.3vol%ホルマリン加生理食塩液

ホルマリン 3.0mL に生理食塩液を加えて 1,000mL とする。

マクロゴール 4,000 [日局各条]

マクロゴール 6,000 [日局各条]

マラカイトグリーンシュウ酸塩 [マラカイトグリーン (しゅう酸塩)、特級]

2 w/v%マラカイトグリーン液

マラカイトグリーンシュウ酸塩 2.0g に水を加えて溶かし、100mL とする。

無水塩化カルシウム 塩化カルシウム、無水を見よ。

無水リン酸水素二ナトリウム リン酸水素二ナトリウム、無水を見よ。

ムチン*

メチルレッド [特級]

メチルレッド試液

メチルレッド 0.1g にエタノール (95) を加えて溶かす。必要があれば、ろ過する。

ラクトアルブミン水解物*

ラクトース*

硫酸 [特級]

硫酸カリウム [日局各条]

硫酸銅 (Ⅱ) 五水和物 [硫酸銅、特級]

硫酸マグネシウム七水和物 [硫酸マグネシウム、特級]

0.1w/v%硫酸マグネシウム加生理食塩液

硫酸マグネシウム七水和物 1.0g に生理食塩液を加えて溶かし、1,000mL とし、滅菌する。

流動パラフィン [軽質流動パラフィン、日局各条]

リン酸緩衝食塩液 (pH7.4 ~ 7.45)

塩化ナトリウム 8.0g、塩化カリウム 0.2g、無水リン酸水素二ナトリウム 1.15g 及びリン酸二水素カリウム 0.2g に水を加えて溶かし、1,000mL とし、滅菌する。

1/60mol/L リン酸緩衝食塩液 (pH7.0)

無水リン酸水素二ナトリウム 14.45g、リン酸二水素カリウム 8.83g 及び塩化ナトリウム 85.0g に水を加えて溶かし、10,000mL とし、滅菌する。

リン酸水素二カリウム [りん酸水素二カリウム、特級]

リン酸二水素カリウム [りん酸二水素カリウム、特級]

リン酸水素二ナトリウム十二水和物 [りん酸水素二ナトリウム・12 水、特級]

リン酸水素二ナトリウム、無水 [無水りん酸一水素ナトリウム、特級]

リン酸二水素ナトリウム二水和物 [りん酸二水素ナトリウム、特級]

リンモリブデン酸 n 水和物 [りんモリブデン酸、特級]

レザズリン [日局]

0.1w/v%レザズリン液

レザズリン 1.0g に水を加えて溶かし、1,000mL とする。

豚インフルエンザ不活化ワクチン（油性アジュバント加溶解用液）

令和3年11月22日（告示第1991号）新規追加

1 定義

豚インフルエンザウイルスを培養細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化した後凍結乾燥したもの（以下この項において「乾燥ワクチン」という。）で、使用時に油性アジュバントを含む溶解用液で溶解するワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

2.1.1.1 豚インフルエンザウイルスA型（H1N1）株

豚インフルエンザウイルスA型A/swine/Iowa/08/00（H1N1）株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 豚インフルエンザウイルスA型（H3N2）株

豚インフルエンザウイルスA型A/swine/Iowa/06/00（H3N2）株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

犬腎継代細胞に接種するとCPEを示して増殖する。また、発育鶏卵の尿膜腔内で増殖し、鶏、モルモット、イヌ、ラット、ガチョウ及びヒト（O型）の赤血球を凝集する。

2.1.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞で継代する。

原株の継代は、種ウイルスの製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行ってはならない。種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は5代以内でなければならない。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。

原株は凍結して -60°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下、種ウイルスは凍結して -30°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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 培養細胞

犬腎継代細胞又は製造に適当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

2.3 原液

2.3.1 細胞の培養

1回に処理し、培養した細胞を個体別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。

2.3.2 ウイルスの培養

各株の種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルスの増殖極期に培養液を採取し、各株のウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.1の試験を行う。

2.3.3 不活化

各ウイルス浮遊液に適当と認められた不活化剤を加えて攪拌し、不活化した後に、適当と認められた中和剤を加えて中和したものを各株の不活化ウイルス液とする。

不活化ウイルス液について、3.2の試験を行う。

2.3.4 原液

各株の不活化ウイルス液を最終バルクを調製するのに十分な濃度になるよう、必要により濃縮したものを各株の原液とする。

2.4 最終バルク

各株の原液を混合後、濃度を調整し、最終バルクとする。

このとき、適当と認められた安定剤及び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、凍結乾燥し、小分製品とする。

小分製品について、3.3の試験を行う。

3 試験法

3.1 ウイルス浮遊液の試験

3.1.1 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 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 赤血球凝集価測定試験

3.1.3.1 試験材料

3.1.3.1.1 試料

検体を適当と認められた希釈液で階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.1.3.2 試験方法

試料に鶏赤血球浮遊液を加えて混合、反応させた後、赤血球凝集の有無を観察する。

3.1.3.3 判定

赤血球凝集を認めた最高希釈倍数を赤血球凝集価とする。

検体0.05mL当たりの赤血球凝集価は、16倍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、その赤血球凝集価とする。

3.2 不活化ウイルス液の試験

3.2.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2 不活化試験

3.2.2.1 試験材料

3.2.2.1.1 試料

検体を試料とする。

3.2.2.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.2.2.2 試験方法

検体10mL以上を150cm²以上の培養細胞に接種し、34～38℃で14～16日間培養する。ただし、当該培養期間中に、接種後の培養細胞について凍結融解したものを継代用試料として2代以上継代を行う。

3.2.2.3 判定

試験期間中にCPEを認めず、試験終了時に蛍光抗体法により、各型のウイルスに特異的な蛍光を認めてはならない。

3.3 小分製品の試験

3.3.1 特性試験

一般試験法の特性試験法を準用して試験するとき、固有の色調を有する乾燥物でなければならない。溶解したものは、固有の色調を有する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。

3.3.2 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。

3.3.3 真空度試験

一般試験法の真空度試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3.4 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、固有の値以下でなければならない。

3.3.5 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。

3.3.6 不活化試験

3.3.6.1 試験材料

3.3.6.1.1 注射材料

乾燥ワクチンを100mLのリン酸緩衝食塩液で溶解したものを注射材料とする。

3.3.6.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1の10～12日齢のものを用いる。

3.3.6.2 試験方法

注射材料0.2mLずつを4個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、36～37℃で培養し、3日間隔で尿膜腔液を2代まで継代する。2代目の尿膜腔液に0.5vol%の鶏の赤血球浮遊液を等量加え、室温で60分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

ただし、赤血球凝集を示す尿膜腔液があった場合には、その尿膜腔液を等量混合して3代まで継代し、3代目の尿膜腔液について同様の試験を繰り返した後、判定する。

3.3.6.3 判定

赤血球凝集を認めない場合、活性ウイルス陰性と判定する。

試験品に活性ウイルスを認めてはならない。

3.3.7 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。

3.3.8 力価試験

3.3.8.1 試験材料

3.3.8.1.1 注射材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で10倍に希釈したものを注射材料とする。

3.3.8.1.2 試験動物

4週齢のマウスを用いる。

3.3.8.1.3 赤血球凝集抗原

試験品に含まれる各株と同一亜型のウイルスで調製した赤血球凝集抗原（付記）を用いる。

3.3.8.2 試験方法

注射材料0.5mLずつを試験動物20匹の腹腔内に注射した後、4群に分け、14日目に得られた血清を各群ごとにプールして、赤血球凝集抑制試験を行う。

被検血清をRDE及び鶏赤血球処理又は適当と認められた方法で処理する。これをリン酸緩衝食塩液で2倍階段希釈し、各希釈液0.2mLに0.2mL中8単位の赤血球凝集抗原を等量ずつ加え、室温で60分間処理する。これに0.5vol%の鶏の赤血球浮遊液を0.4mLずつ加え、室温に60分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

3.3.8.3 判定

赤血球凝集を抑制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。

各群のプール血清の赤血球凝集抑制抗体価は、H1N1亜型及びH3N2亜型で8倍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 赤血球凝集抗原

豚インフルエンザウイルスA型A/swine/Iowa/08/00（H1N1）株及びA/swine/Iowa/06/00（H3N2）株又はこれらと同等と認められたウイルス株を用いて、それぞれ調製した赤血球凝集抗原

豚インフルエンザ・豚丹毒混合（油性アジュバント加） 不活化ワクチン

令和3年11月22日(告示第1991号)新規追加

1 定義

豚インフルエンザウイルスを培養細胞で増殖させて得たウイルス液を不活化後凍結乾燥したもの（以下この項において「乾燥ワクチン」という。）と、豚丹毒菌の培養菌液を不活化し、その遠心上清を濃縮したものに油性アジュバントを添加したもの（以下この項において「液状ワクチン」という。）とを組み合わせたものである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 豚インフルエンザウイルス株

2.1.1.1 名称

2.1.1.1.1 豚インフルエンザウイルス A 型 (H1N1) 株

豚インフルエンザウイルス A 型 A/swine/Iowa/08/00 (H1N1) 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.1.2 豚インフルエンザウイルス A 型 (H3N2) 株

豚インフルエンザウイルス A 型 A/swine/Iowa/06/00 (H3N2) 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

犬腎継代細胞に接種すると CPE を示して増殖する。また、発育鶏卵の尿膜腔内で増殖し、鶏、モルモット、イヌ、ラット、ガチョウ及びヒト（O 型）の赤血球を凝集する。

2.1.1.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞で継代する。

原株の継代は、種ウイルスの製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行ってはならない。種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は5代以内でなければならない。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。

原株は凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して5℃以下、種ウイルスは凍結して－30℃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。

2.1.2 豚丹毒菌株

2.1.2.1 名称

豚丹毒菌 CN3342 株（血清型2型）又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

感受性豚に接種すると、豚丹毒を惹起する。

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。

原株の継代は、種菌の製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行ってはならない。種菌は、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は8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。

原株は凍結して－60℃以下又は凍結乾燥して5℃以下、種菌は凍結して－30℃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。

2.2 製造用材料

2.2.1 豚インフルエンザウイルス

2.2.1.1 培養細胞

犬腎継代細胞又は製造に相当と認められた培養細胞を用いる。

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。

2.2.2 豚丹毒菌

2.2.2.1 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 豚インフルエンザウイルス原液

2.3.1.1 細胞の培養

1 回に処理し、培養した細胞を個体別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。

2.3.1.2 ウイルスの培養

各株の種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルスの増殖極期に培養液を採取し、各株のウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.1 の試験を行う。

2.3.1.3 不活化

各ウイルス浮遊液に相当と認められた不活化剤を加えて攪拌し、不活化した後に、相当と認められた中和剤を加えて中和したものを各株の不活化ウイルス液とする。

不活化ウイルス液について、3.2 の試験を行う。

2.3.1.4 原液

各株の不活化ウイルス液を最終バルクを調製するのに十分な濃度になるよう、必要により濃縮したものを各株の原液とする。

2.3.2 豚丹毒菌原液

2.3.2.1 培養

種菌を液状培地に接種し、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。このとき、2 次培養の工程を省略してもよい。

培養菌液について、3.3 の試験を行う。

2.3.2.2 不活化

培養菌液に相当と認められた不活化剤を加えて攪拌し、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、3.4 の試験を行う。

2.3.2.3 原液

不活化菌液の遠心上清を最終バルクを調製するのに十分な濃度になるよう濃縮し、相当と認められた安定剤を加えたものを原液とする。

2.4 最終バルク

2.4.1 乾燥ワクチン

各株の原液を混合後、濃度を調整し、最終バルクとする。

このとき、相当と認められた安定剤及び保存剤を添加してもよい。

2.4.2 液状ワクチン

原液を濃度調整し、相当と認められた油性アジュバントを添加したものを最終バルクとする。

このとき、相当と認められた保存剤を添加してもよい。

2.5 小分製品

2.5.1 乾燥ワクチン

最終バルクを小分容器に分注し、凍結乾燥し、小分製品とする。

小分製品について、3.5 の試験を行う。

2.5.2 液状ワクチン

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、3.5 の試験を行う。

3 試験法

3.1 ウイルス浮遊液の試験

3.1.1 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 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 赤血球凝集価測定試験

3.1.3.1 試験材料

3.1.3.1.1 試料

検体を適当と認められた希釈液で階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.1.3.2 試験方法

試料に鶏赤血球浮遊液を加えて混合、反応させた後、赤血球凝集の有無を観察する。

3.1.3.3 判定

赤血球凝集を認めた最高希釈倍数を赤血球凝集価とする。

検体 0.05mL 当たりの赤血球凝集価は、16 倍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、その赤血球凝集価とする。

3.2 不活化ウイルス液の試験

3.2.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2 不活化試験

3.2.2.1 試験材料

3.2.2.1.1 試料

検体を試料とする。

3.2.2.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.2.2.2 試験方法

検体 10mL 以上を 150cm² 以上の培養細胞に接種し、34 ～ 38℃で 14 ～ 16 日間培養する。ただし、当該培養期間中に、接種後の培養細胞について凍結融解したものを継代用試料として 2 代以上継代を行う。

3.2.2.3 判定

試験期間中に CPE を認めず、試験終了時に蛍光抗体法により、各型のウイルスに特異的な蛍光を認めてはならない。

3.3 培養菌液の試験

3.3.1 染色試験

顕微鏡を用いた形態学的観察及びグラム染色によって試験するとき、豚丹毒菌以外の菌の性状を認めてはならない。

3.3.2 吸光度測定試験

波長 625 nm で吸光度を測定するとき、その値は 4.0 以上でなければならない。

3.4 不活化菌液の試験

3.4.1 不活化試験

3.4.1.1 試験材料

3.4.1.1.1 試料

検体を接種材料とする。

3.4.1.1.2 培地

液状チオグリコール酸培地（付記 1）及び羊血液加寒天培地（付記 2）又は適当と認められる培地を用いる。

3.4.1.2 試験方法

接種材料を、液状チオグリコール酸培地及び羊血液加寒天培地にそれぞれ接種し、33 ～ 37℃で液状チオグリコール酸培地は 7 ～ 8 日間、羊血液加寒天培地は 3 ～ 7 日間培養する。7 ～ 8 日間培養後の液状チオグリコール酸培地から、それぞれ液状チオグリコール酸培地及び羊血液加寒天培地に継代し、33 ～ 37℃で液状チオグリコール酸培地は 7 ～ 8 日間、羊血液加寒天培地は 3 ～ 7 日間培養する。

3.4.1.3 判定

試料を接種した培地にはいかなる菌の発育も認めてはならない。

3.5 小分製品の試験

3.5.1 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。また、液状ワクチンは、固有の色調を有する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。乾燥ワクチンを液状ワクチンで溶解したもの（以下この項において「混合ワクチン」という。）は、固有の色調を有する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。

3.5.2 pH 測定試験

混合ワクチンについて、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。

3.5.3 真空度試験

乾燥ワクチンについて、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。

3.5.4 含湿度試験

乾燥ワクチンについて、一般試験法の含湿度試験法を準用して試験するとき、固有の値以下でなければならない。

3.5.5 無菌試験

混合ワクチンについて、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。

3.5.6 不活化試験

3.5.6.1 試験材料

3.5.6.1.1 注射材料

乾燥ワクチンを 100mL のリン酸緩衝食塩液で溶解したものを注射材料とする。

3.5.6.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 10 ～ 12 日齢のものを用いる。

3.5.6.2 試験方法

注射材料 0.2mL ずつを 4 個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、36 ～ 37℃で培養し、3 日間隔で尿膜腔液を 2 代まで継代する。2 代目の尿膜腔液に 0.5vol%の鶏の赤血球浮遊液を等量加え、室温で 60 分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

ただし、赤血球凝集を示す尿膜腔液があった場合には、その尿膜腔液を等量混合して 3 代まで継代し、3 代目の尿膜腔液について同様の試験を繰り返した後、判定する。

3.5.6.3 判定

赤血球凝集を認めない場合、活性ウイルス陰性と判定する。

試験品に活性ウイルスを認めてはならない。

3.5.7 チメロサル定量試験

液状ワクチンについて、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。

3.5.8 ホルマリン定量試験

液状ワクチンについて、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、0.015vol %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、その含有量以下とする。

3.5.9 毒性限度確認試験

混合ワクチンについて、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。

3.5.10 力価試験

3.5.10.1 豚インフルエンザ力価試験

3.5.10.1.1 試験材料

3.5.10.1.1.1 注射材料

混合ワクチンをリン酸緩衝食塩液で 10 倍に希釈したものを注射材料とする。

3.5.10.1.1.2 試験動物

4 週齢のマウスを用いる。

3.5.10.1.1.3 赤血球凝集抗原

混合ワクチンに含まれる各ウイルス株と同一亜型のウイルスで調製した赤血球凝集抗原（付記 3）を用いる。

3.5.10.1.2 試験方法

注射材料 0.5mL ずつを試験動物 20 匹の腹腔内に注射した後、4 群に分け、14 日目に得られた血清を各群ごとにプールして、赤血球凝集抑制試験を行う。

被検血清を RDE 及び鶏赤血球処理又は適当と認められた方法で処理する。これをリン酸緩衝食塩液で 2 倍階段希釈し、各希釈液 0.2mL に 0.2mL 中 8 単位の赤血球凝集抗原を等量ずつ加え、室温で 60 分間処理する。これに 0.5vol% の鶏の赤血球浮遊液を 0.4mL ずつ加え、室温に 60 分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

3.5.10.1.3 判定

赤血球凝集を抑制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。

各群のプール血清の赤血球凝集抑制抗体価は、H1N1 亜型で 16 倍以上、H3N2 亜型で 32 倍以上でなければならない。

3.5.10.2 豚丹毒力価試験

3.5.10.2.1 試験材料

3.5.10.2.1.1 注射材料

混合ワクチンを注射材料とする。

3.5.10.2.1.2 試験動物

5 週齢のマウスを用いる。

3.5.10.2.1.3 攻撃用菌株

豚丹毒菌藤沢株又はこれと同等の毒力を有する株を攻撃菌用培地（付記 4）に接種し、37 °C で 14 ～ 20 時間培養する。これを普通ブイヨンで 1 mL 中 10^3 個の菌量となるように希釈したものを攻撃用菌液とする。

3.5.10.2.2 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 2 週間間隔で 2 回、試験群の内股部皮下に注射する。第 2 回目注射後 2 週目に、攻撃用菌液を試験群及び対照群の内股部皮下に 0.1mL ずつ注射して攻撃した後、7 日間

観察する。

3.5.10.2.3 判定

試験群では、80%以上が耐過生存しなければならない。この場合、対照群では 90%以上が死亡しなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後 1 年 11 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 液状チオグリコール酸培地

1,000mL 中

カゼイン製ペプトン	15.0 g
酵母エキス	5.0 g
デキストロース	5.5 g
塩化ナトリウム	2.5 g
L-シスチン	0.5 g
チオグリコール酸ナトリウム	0.5 g
寒天	0.75 g
レサズリン	1.0mg
水	残 量

1 分間加熱して溶解後、121 °C で 15 分間高圧滅菌する。

付記 2 羊血液加寒天培地

1,000mL 中

カゼイン製ペプトン	14.5 g
大豆パパイン消化ペプトン	5.0 g
塩化ナトリウム	5.0 g
寒天	14.0 g
発育因子	1.5 g
水	残 量

1 分間加熱して溶解後、121 °C で 15 分間高圧滅菌する。45 ～ 50 °C に冷却後、羊脱線維血液を 50mL 添加して十分に混和する。

付記 3 赤血球凝集抗原

豚インフルエンザウイルス A 型 A/swine/Iowa/08/00 (H1N1) 株及び A/swine/Iowa/06/00 (H3N2) 株又はこれらと同等と認められたウイルス株を用いて、それぞれ調製した赤血球凝集抗原

付記 4 攻撃菌用培地

1,000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス	30 g
プロテオーゼペプトン	10 g
ポリソルベート 80	1 mL
水	残 量

pH を 7.4 ～ 7.8 に調整して、121 °C で 15 分間高圧滅菌する。

犬パラインフルエンザ生ワクチン（シード）

令和3年11月22日（告示第1991号）新規追加

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒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凍結乾燥したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

弱毒犬パラインフルエンザウイルスコーネル株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。Vero細胞に接種するとCPEを伴って増殖し、細胞は鶏赤血球を吸着し、その培養液は鶏赤血球を凝集する。

2.1.3 マスターシードウイルス

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－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。

2.1.4 ワーキングシードウイルス

2.1.4.1 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－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。

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。

2.1.5 プロダクションシードウイルス

2.1.5.1 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する。

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。

プロダクションシードウイルスについて、3.1.3の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 培養細胞

Vero細胞又は製造に相当と認められた株化細胞を用いる。

2.2.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.3 マスターセルシード

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。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。

2.2.4 ワーキングセルシード

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。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。

ワーキングセルシードについて、3.2.2の試験を行う。

2.2.5 プロダクションセルシード

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の培養液で増殖する。

プロダクションセルシードは、凍結して -70°C 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 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 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、そ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の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液に相当と認められた安定剤を加え、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、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 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 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 特定ウイルス否定一般試験

猿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、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1及び3.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

牛ウイルス性下痢ウイルス、犬パルボウイルス、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、3.2.6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。

3.1.1.5 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。

3.1.1.6 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。

3.1.1.7 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。

3.1.2 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。

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 特定ウイルス否定一般試験

猿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、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2及び3.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.5.2.2 個別ウイルス否定試験

牛ウイルス性下痢ウイルス、犬パルボウイルス、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。

3.3.2 ウイルス含有量試験

3.3.2.1 試験材料

3.3.2.1.1 試料

検体を培養細胞浮遊液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.2.1.2 培養細胞

Vero細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.2.2 試験方法

試料0.2mLずつをそれぞれ96穴マイクロプレートの10穴に分注し、37℃で7日間培養し、観察する。培養後、培養液を採取し、0.5vol%鶏赤血球浮遊液を加え、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。

3.3.2.3 判定

培養細胞にCPE又は培養液に赤血球凝集性を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その判定方法とする。

検体のウイルス含有量は、1 mL中10^{6.4}TCID₅₀以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.4 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 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 試験材料

3.4.6.1.1 試料

試験品を適当と認められた溶解液で溶解し、ウイルス増殖用培養液（付記）又は適当と認められた希釈液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.6.1.2 培養細胞

Vero細胞又は適当と認められた培養細胞を24穴プレートに培養し、単層となったものを用いる。

3.4.6.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ5穴以上の培養細胞に接種し、37℃で7日間培養し、観察する。培養後、培養液を採取し、0.5vol%鶏赤血球浮遊液を加え、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。

3.4.6.3 判定

培養細胞にCPE又は培養液に赤血球凝集性を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その判定方法とする。

試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり10^{5.5}TCID₅₀以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後1年8か月間とする。ただし、農林水産大臣が認めた場合には、その期間とする。

付記 ウイルス増殖用培養液

1,000mL中

牛胎子血清

20 mL

トリプトース・ホスフェイト・ブロス

2.95g

イーグルMEM

残 量

日本脳炎・豚パルボウイルス感染症混合生ワクチン (シード)

令和3年11月22日(告示第1991号)新規追加

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒日本脳炎ウイルス及び弱毒豚パルボウイルスを、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。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 日本脳炎ウイルス

2.1.1.1 名称

弱毒日本脳炎ウイルスm株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

1 か月齢の豚に接種してもウイルス血症が出現しない。妊娠1 か月前後の豚に接種しても胎子に感染しない。コガタアカイエカに対する感染率が著しく低下している。乳のみマウスの脳内又は豚腎若しくは豚精巢初代細胞で増殖する。

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、HmLu-1-KB細胞又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－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、HmLu-1-KB細胞又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－70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

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、Vero-SW細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖する。

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℃以下又は凍結乾燥し

て5℃以下で保存する。

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 豚パルボウイルス

2.1.2.1 名称

弱毒豚パルボウイルスHK⁻/SK株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

子豚に注射しても临床上異常を認めず、ウイルス血症及びウイルス排出を認めない。また、妊娠豚に注射しても胎子・胎盤感染及び死亡を認めない。

豚腎由来細胞に接種したとき、32℃での増殖は37℃での増殖を上回る。

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、SK-H-KB細胞又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-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、SK-H-KB細胞又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-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

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、SK-H-KB細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖する。

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℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

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。

2.2 製造用材料

2.2.1 日本脳炎ウイルス

2.2.1.1 培養細胞

2.2.1.1.1 マスターシードウイルス及びワーキングシードウイルスの培養細胞

HmLu-1-KB細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.1.1.2 プロダクションシードウイルスの培養細胞

Vero-SW細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.1.1.3 原液の製造に用いる培養細胞

HmLu-SC細胞又は製造に相当と認められた培養細胞を用いる。

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 豚パルボウイルス

2.2.2.1 培養細胞

SK-H-KB細胞又は製造に相当と認められた培養細胞を用いる。

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℃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℃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。

2.3 原液

2.3.1 日本脳炎ウイルス原液

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、培養した細胞を個体別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。

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の培養細胞で培養し、ウイルスの増殖極期に個体別培養細胞ごとに採取した培養液のろ液、遠心上清又はこれらを濃縮したものを原液とする。

原液について、3.3.1、3.3.2.1及び3.3.3.1の試験を行う。

2.3.2 豚パルボウイルス原液

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、培養した細胞を個体別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。

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

原液について、3.3.1、3.3.2.2及び3.3.3.2の試験を行う。

2.4 最終バルク

日本脳炎ウイルス原液及び豚パルボウイルス原液を混合し、適当と認められた希釈液及び安定剤を加えて調製し、最終バルクとする。

2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、凍結乾燥し、小分製品とする。

小分製品について、3.4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 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 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 特定ウイルス否定一般試験

げっ歯類由来細胞を用いる場合には豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス及びリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスについて、サル由来細胞を用いる場合には豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス及び内在性レトロウイルス（C、Dタイプ粒子）について、豚由来細胞を用いる場合には豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1及び3.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

日本脳炎ウイルスでは、豚熱ウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス及び狂犬病ウイルスについて、豚パルボウイルスでは、豚熱ウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、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、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7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。

3.1.1.5 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。

3.1.1.6 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。

3.1.1.7 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。

3.1.2 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。

3.2 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 特定ウイルス否定一般試験

げっ歯類由来細胞を用いる場合には豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス及びリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスについて、サル由来細胞を用いる場合には豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス及び内在性レトロウイルス（C、Dタイプ粒子）について、豚由来細胞を用いる場合には豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験の1.2及び3.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.5.2.2 個別ウイルス否定試験

豚熱ウイルス、豚サークウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、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、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7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。

3.3.2 ウイルス含有量試験

3.3.2.1 日本脳炎ウイルス

3.3.2.1.1 試験材料

3.3.2.1.1.1 試料

検体をウイルス増殖用培養液（付記 1）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。

3.3.2.1.1.2 培養細胞

HmLu-1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、ウイルス増殖用培養液1mLを加え、37℃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。

3.3.2.1.3 判定

培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その判定方法とする。

検体のウイルス含有量は、1mL中10^{7.0}TCID₅₀以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.3.2.2 豚パルボウイルス

3.3.2.2.1 試験材料

3.3.2.2.1.1 試料

検体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。

3.3.2.2.1.2 培養細胞

SK-H細胞又は適当と認められた細胞を用いる。

3.3.2.2.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ4本以上の培養細胞に接種し、ウイルス増殖用培養液1mLを加え、31～32℃で10～14日間培養後、リン酸緩衝食塩液で調製した0.5%の被凝集性の鶏又はモルモットの赤血球浮遊液を0.4mLずつ加え、常温で60分間静置した後、赤血球凝集の有無を観察する。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

赤血球の凝集を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その判定方法とする。

検体のウイルス含有量は、1 mL中 5.7 TCID₅₀以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.3.3 マーカー試験

3.3.3.1 日本脳炎ウイルス

3.3.3.1.1 試験材料

3.3.3.1.1.1 注射材料

検体及び対照として中山株薬検系を用い、それぞれのウイルスが1 mL中に $10^{7.0}$ TCID₅₀又は $10^{7.0}$ LD₅₀以上含まれるように調製したものを、注射材料とする。

3.3.3.1.1.2 試験動物

3週齢のマウスを用いる。

3.3.3.1.2 試験方法

注射材料0.3mLずつを10匹以上の試験動物の腹腔内に注射し、14日間観察する。

3.3.3.1.3 判定

検体を注射したマウスの死亡率は、20%以下でなければならない。この場合、対照を注射したマウスの死亡率は80%以上でなければならない。

3.3.3.2 豚パルボウイルス

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。

3.3.3.2.1.2 培養細胞

SK-H細胞又は適当と認められた細胞を用いる。

3.3.3.2.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ8本以上の培養細胞に接種し、ウイルス増殖用培養液1 mLを加え、2群に分け、31～32℃及び37℃でそれぞれ10～14日間培養する。培養終了時に3.3.2.2.2の赤血球浮遊液をそれぞれ0.4mLずつ加え、常温で60分間静置した後、赤血球凝集の有無を観察する。

3.3.3.2.3 判定

赤血球の凝集を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。

検体のウイルス含有量は、32℃で培養するとき、37℃で培養する場合より100倍以上高くないなければならない。

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乾燥物でなければならない。溶解したものは、固有の色調を有する液体でなければならない、異物及び異臭を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

3.4.2 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 日本脳炎ウイルス

試験品中の豚パルボウイルスを非働化した抗豚パルボウイルス血清で中和したものを試料とし、3.3.2.1を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり $10^{5.0}$ TCID₅₀以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法及びウイルス含有量とする。

3.4.6.2 豚パルボウイルス

試験品中の日本脳炎ウイルスを非働化した抗日本脳炎ウイルス血清で中和したものを試料とし、3.3.2.2を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり $10^{5.0}$ TCID₅₀以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法及びウイルス含有量とする。

3.4.7 安全試験

3.4.7.1 試験材料

3.4.7.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.7.1.2 試験動物

約1か月齢の豚を用いる。

3.4.7.2 試験方法

試験動物3頭を試験群、1頭を対照群とする。試験群に注射材料1頭分を用法に従ってそれぞれ注射し、対照群とともに21日間観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その期間とする。

3.4.7.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に異常を認めてはならない。

3.4.8 力価試験

3.4.8.1 日本脳炎力価試験

3.4.8.1.1 試験材料

3.4.8.1.1.1 試験動物

3.4.7の試験に用いた動物を用いる。

3.4.8.1.1.2 中和試験用ウイルス

適当と認められた日本脳炎ウイルス株を用いる。

3.4.8.1.1.3 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞を用いる。

3.4.8.1.2 試験方法

3.4.7の試験最終日に試験群及び対照群から得られた血清について、中和試験を行う。試験群の血清は、それぞれ等量をプールする。

被検血清を非働化した後、ウイルス増殖用培養液で5倍に希釈し、更に2倍階段希釈する。各希釈血清と0.4mL中約200PFUの中和試験用ウイルス液とを等量混合し、37℃で90分間処理する。各混合液0.4mLずつをそれぞれ4枚の培養細胞に接種し、37℃で60分間吸着させた後、混合液を除き、第1次重層寒天培地（付記2）を加え、37℃で3日間培養する。その後、第2次重層寒天培地（付記3）を重層し、37℃で1日間培養し、ブラック数を算出する。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。

3.4.8.1.2.3 判定

ブラック数がウイルス対照の50%以下に減少した血清の最高希釈倍数を中和抗体価とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その判定方法とする。

試験群の中和抗体価は、20倍以上でなければならない。この場合、対照群では、10倍未満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、その抗体価とする。

3.4.8.2 豚パルボウイルス感染症力価試験

3.4.8.2.1 試験材料

3.4.8.2.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.8.2.1.2 試験動物

体重約350gのモルモットを用いる。

3.4.8.2.1.3 赤血球凝集抗原

豚パルボウイルス赤血球凝集抗原（付記4）を用いる。

3.4.8.2.2 試験方法

注射材料5mLずつを、5匹の試験動物の腹腔内に4週間隔で2回注射し、第2回目の注射後14日目に得られた各個体の血清について、赤血球凝集抑制試験を行う。

被検血清をリン酸緩衝食塩液で5倍に希釈し、等量の25w/v%カオリン液を加え、常温で20分間処理する。遠心後の上清に鶏又はモルモットの赤血球を加え、常温で15分間処理し、再度遠心し、上清を採取する。これをリン酸緩衝食塩液で2倍階段希釈し、各段階の希釈液に8単位の赤血球凝集抗原を等量加え、4℃で一夜処理する。これに3.3.2.2.2の赤血球浮遊液を加え、常温で60分間静置し、赤血球凝集の有無を観察する。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。

3.4.8.2.3 判定

赤血球の凝集を抑制した血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価とする。

試験群の赤血球凝集抑制抗体価20倍以上を赤血球凝集抑制抗体陽性とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その判定方法とする。

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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その陽性率とする。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後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	2.95 g
L-グルタミン	0.292 g
牛胎子血清	20～50 mL
イーグルMEM	残 量

pHを7.0～7.6に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 2 第1次重層寒天培地

1,000mL中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス	2.95 g
L-グルタミン	0.292 g
牛胎子血清	150 mL
寒天	10 g
イーグルMEM	残 量

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 3 第2次重層寒天培地

1,000mL中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス	2.95 g
L-グルタミン	0.292 g
ニュートラルレッド	0.14 g
寒天	10 g
イーグルMEM	残 量

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 4 豚パルボウイルス赤血球凝集抗原

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