



29消安第3141号
平成29年10月11日

動物医薬品検査所長 殿

消費・安全局長

動物用生物学的製剤基準の一部改正等について（通知）

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

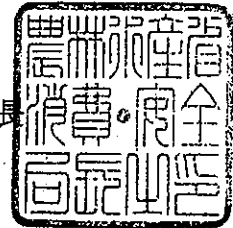


29消安第3141号

平成29年10月11日

北海道知事 殿

農林水産省消費・安全局長



動物用生物学的製剤基準の一部改正等について（通知）

今般、動物用生物学的製剤基準（平成14年10月3日農林水産省告示第1567号）、動物用生物学的製剤検定基準（平成14年10月3日農林水産省告示第1568号）、動物用医薬品の検定手数料並びに試験品及び出願者の保存用品として抜き取るべき数量（平成25年6月18日農林水産省告示第2009号）及び医薬品、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第四十三条第一項の規定に基づき、農林水産大臣の指定する医薬品を定める等の件（昭和36年2月1日農林省告示第66号）の一部が別紙1から別紙4までのとおり改正されましたので、貴庁に備え置いて縦覧願います。

これらの改正に伴い、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律関係事務の取扱いについて（平成12年3月31日付け12畜A第729号農林水産省畜産局長通知）の一部を別紙5のとおりに改正することとしましたので、御了知願います。

(別紙1)

○農林水産省告示第千五百三十九号

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

平成二十九年十月十一日

農林水産大臣 齋藤 健

（「次のよう」は、省略し、その関係書類を農林水産省消費・安全局畜水産安全管理課及び都道府県庁に
備え置いて縦覧に供する。）

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部のぶり α 溶血性レンサ球菌症(酵素処理)不活化ワクチンの次に次のように加える。

ぶり α 溶血性レンサ球菌症・類結節症混合(油性アジュバント加)不活化ワクチン

1 定義

ラクトコッカス・ガルビエ及びフォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーシズ・ピシシダの培養菌液を不活化後混合したものに油性アジュバントを添加したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 ラクトコッカス・ガルビエ

2.1.1.1 名称

ラクトコッカス・ガルビエ INS050 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

ラクトコッカス・ガルビエ KG（一）型に一致する性状を示し、 α 溶血性レンサ球菌症に対する免疫原性を有する。

2.1.1.3 継代及び保存

原株及び原種菌は、適当と認められた培地で継代する。

継代は、原株では3代以内、原種菌では2代以内でなければならない。

原株及び原種菌は、グリセリンを加えて50℃以下で保存する。

種菌は、原種菌からワクチンの製造ごとに用時調製する。

2.1.2 フोटバクテリウム・ダムセラ・サブスピーシズ・ピシシダ

2.1.2.1 名称

フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーシズ・ピシシダ Pp66 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーシズ・ピシシダに一致する性状を示し、類結節症に対する免疫原性を有する。

2.1.2.3 継代及び保存

原株及び原種菌は、適当と認められた培地で継代する。

継代は、原株では3代以内、原種菌では2代以内でなければならない。

原株及び原種菌は、グリセリンを加えて50℃以下で保存する。

種菌は、原種菌からワクチンの製造ごとに用時調製する。

2.2 製造用材料

2.2.1 培地

製造に適当と認められた培地を用いる。

2.3 原液

2.3.1 ラクトコッカス・ガルビエ

2.3.1.1 培養

種菌を培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.1の試験を行う。

2.3.1.2 不活化

培養菌液にホルマリンを加えて不活化したものを原液とする。

原液について、3.2 の試験を行う。

2.3.2 フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーズ・ピシシダ

2.3.2.1 培養

種菌を培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.1 の試験を行う。

2.3.2.2 不活化

培養菌液にホルマリンを加えて不活化し、適当と認められた方法で濃縮したものを原液とする。

原液について、3.2 の試験を行う。

2.4 最終バルク

各原液を混合し、濃度調整後アジュバントを添加し、最終バルクとする。

2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。

小分製品について、3.3 の試験を行う。

3 試験法

3.1 培養菌液の試験

3.1.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.1 試験材料

3.1.1.1.1 試料

検体を試料とする。

3.1.1.1.2 培地

適当と認められた寒天培地を用いる。

3.1.1.2 試験方法

試料をそれぞれ 0.1mL ずつ寒天培地に塗抹し、ラクトコッカス・ガルビエの試料は 32℃で 24 時間、フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーズ・ピシシダの試料は 26℃で 24 時間培養し、培養後、位相差顕微鏡を用いてそれぞれのコロニーを観察する。

3.1.1.3 判定

ラクトコッカス・ガルビエの検体は、ラクトコッカス・ガルビエ以外のコロニーを認めてはならず、フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーズ・ピシシダの検体は、フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーズ・ピシシダ以外のコロニーを認めてはならない。

3.2 原液の試験

3.2.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2 不活化試験

3.2.2.1 ラクトコッカス・ガルビエ

3.2.2.1.1 試験材料

3.2.2.1.1.1 試料

検体を試料とする。

3.2.2.1.1.2 培地

適当と認められた液状培地を用いる。

3.2.2.1.2 試験方法

試料 1 mL を液状培地 100mL に接種し、32℃で 72 時間培養後、菌の発育を観察する。

3.2.2.1.3 判定

菌の発育を認めてはならない。

3.2.2.2 フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーズ・ピシシダ

3.2.2.2.1 試験材料

3.2.2.2.1.1 試料

検体を試料とする。

3.2.2.2.1.2 培地

適当と認められた液状培地を用いる。

3.2.2.2.2 試験方法

試料 1 mL を液状培地 100mL に接種し、26℃で 72 時間培養後、菌の発育を観察する。

3.2.2.2.3 判定

菌の発育を認めてはならない。

3.2.3 総菌数試験

3.2.3.1 試験材料

3.2.3.1.1 試料

検体を試料とする。

3.2.3.2 試験方法

試料に含まれる菌数を顕微鏡下で計数する。

3.2.3.3 判定

各検体中の総菌数は、1 mL 中 2.5×10^9 個より多くなければならない。

3.3 小分製品の試験

3.3.1 特性試験

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

3.3.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3.3 ホルマリン定量試験

適当と認められた方法で試験品を処理したものを試料とし、一般試験法のホルマリン定量法を準用して試験するとき、ホルマリンの含有量は、 $1.5 \mu\text{L/mL}$ 以下でなければならない。

3.3.4 安全試験

3.3.4.1 試験材料

3.3.4.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.3.4.1.2 試験動物

水温 22℃、循環式で 7 日間以上飼育し、異常のないことを確認した体重 30 ～ 110g のぶり 80 尾以上を用いる。

3.3.4.2 試験方法

試験動物は 24 時間以上餌止めした後、1 群 40 尾以上ずつの 2 群に分ける。1 群の試験動物に注射材料 0.1mL を腹腔内に注射し、試験群とする。他の 1 群は対照群とし、試験群と同様の方法でリン酸緩衝食塩液を注射する。その後、それぞれ水温 22℃、循環式で飼育し、21 日間観察する。試験最終日に試験群及び対照群それぞれ 10 尾の注射部位を剖検する。

3.3.4.3 判定

観察期間中、対照群においては臨床的な異常を認めてはならず、試験群においては、一過性の摂餌不良を認めることはあっても、その他の臨床的な異常を認めてはならない。また、剖検した時に、注射局所に著しい異常を認めてはならない。

3.3.5 力価試験

3.3.5.1 α 溶血性レンサ球菌症力価試験

3.3.5.1.1 試験材料

3.3.5.1.1.1 試験動物

3.3.4 の試験に用いた動物を用いる。

3.3.5.1.1.2 攻撃用菌液

ラクトコッカス・ガルビエ強毒菌(付記1)の培養菌液をリン酸緩衝食塩液で希釈し、対照群の死亡率が80%と予測される希釈菌液を攻撃用菌液とする。

3.3.5.1.2 試験方法

3.3.4 の試験最終日の前日から24時間以上餌止めした後、試験群及び対照群のそれぞれ15尾以上の腹腔内に、攻撃用菌液を0.1mLずつ注射して攻撃する。攻撃した後、飼育水温25℃で14日間飼育観察して各群の生死を調べる。

3.3.5.1.3 判定

試験群の生存率は、対照群のそれより有意に高い値を示さなければならない(Fisher の直接確率計算法、 $P < 0.05$)。この場合、対照群は、60%以上が死亡しなければならない。

3.3.5.2 類結節症力価試験

3.3.5.2.1 試験材料

3.3.5.2.1.1 試験動物

3.3.4 の試験に用いた動物を用いる。

3.3.5.2.1.2 攻撃用菌液

フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーズ・ピシシダ強毒菌(付記2)の培養菌液を1.5w/vol %食塩液で希釈し、対照群の死亡率が80%と予測される希釈菌液を攻撃用菌液とする。

3.3.5.2.2 試験方法

3.3.4 の試験最終日の前日から24時間以上餌止めした後、試験群及び対照群のそれぞれ15尾以上の腹腔内に、攻撃用菌液を0.1mLずつ注射して攻撃する。攻撃した後、飼育水温25℃で14日間飼育観察して各群の生死を調べる。

3.3.5.2.3 判定

試験群の生存率は、対照群のそれより有意に高い値を示さなければならない(Fisher の直接確率計算法、 $P < 0.05$)。この場合、対照群は、60%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4年1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 ラクトコッカス・ガルビエ強毒菌

ラクトコッカス・ガルビエ KG9502 株又はこれと同等以上の毒力を有する株

付記2 フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーズ・ピシシダ強毒菌

フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーズ・ピシシダ INS197 株又はこれと同等以上の毒力を有する株

ワクチン(シードロット製剤)の部のニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎・産卵低下症候群-1976・トリニューモウイルス感染症混合(油性アジュバント加)不活化ワクチン(シード)の項の次に次のように加える。

ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎2価・鶏伝染性ファブリキウス嚢病・産卵低下症候群-1976混合(油性アジュバント加)不活化ワクチン(シード)

1 定義

シードロット規格に適合したニューカッスル病ウイルス、2種類の鶏伝染性気管支炎ウイルス及び鶏伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスを同規格に適合した発育鶏卵で増殖させて得たウイルス液並びに同規格に適合した産卵低下症候群-1976ウイルスを同規格に適合した培養細胞で増殖させて得たウイルス液をそれぞれ不活化し、混合したものに油性アジュバントを添加したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 ニューカッスル病ウイルス

2.1.1.1 名称

ニューカッスル病ウイルス石井株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

10日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に注射すると、増殖し、その尿膜腔液には鶏赤血球凝集性を認める。

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、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させ、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、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵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、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させる。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して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 鶏伝染性気管支炎ウイルス

2.1.2.1 名称

鶏伝染性気管支炎ウイルス石田株及び宮崎株又は製造に相当と認められた2種類の株

2.1.2.2 性状

10日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に注射すると、鶏胚に特徴的な病変を伴って増殖する。

2.1.2.3 マスターシードウイルス

2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させ、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°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵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°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させる。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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。

2.1.3 鶏伝染性ファブリキウス囊病ウイルス

2.1.3.1 名称

伝染性ファブリキウス囊病ウイルスI・Q株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

鶏胚又はうずら胚細胞でCPEを伴って増殖する。

2.1.3.3 マスターシードウイルス

2.1.3.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードウイルスは、SPF動物規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞又は同規格の2.7に適合したうずら胚初代細胞で増殖させ、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°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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。

2.1.3.4 ワーキングシードウイルス

2.1.3.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、SPF動物規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞又は同規格の2.7に適合したうずら胚初代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°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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。

2.1.3.5 プロダクションシードウイルス

2.1.3.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、SPF動物規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞又は同規格の2.7に適合したうずら胚初代細胞で増殖させる。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して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。

2.1.4 産卵低下症候群-1976ウイルス

2.1.4.1 名称

産卵低下症候群-1976ウイルスBK-87株又はこれと同等と認められた株

2.1.4.2 性状

7～11日齢の発育鶏卵又は9～15日齢の発育あひる卵の尿膜腔内に注射すると、増殖し、その尿膜腔液には、鶏赤血球凝集性を認める。

2.1.4.3 マスターシードウイルス

2.1.4.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させ、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-40℃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。

2.1.4.4 ワーキングシードウイルス

2.1.4.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵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-40℃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。

2.1.4.5 プロダクションシードウイルス

2.1.4.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、SPF動物規格の1.1に適合した発育鶏卵で増殖させる。

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-40℃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 ニューカッスル病ウイルス

2.2.1.1 発育鶏卵

2.2.1.1.1 マスターシードウイルス、ワーキングシードウイルス及びプロダクションシードウイルスの増殖、継代及び保存に用いる発育鶏卵

SPF動物規格の1.1に適合した9～11日齢のものをを用いる。

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を増殖、継代及び保存する場合の発育鶏卵並びにプロダクションシードウイルスを増殖及び保存する場合の発育鶏卵について、3.2の試験を行う。

2.2.1.1.2 原液の製造に用いる発育鶏卵

適当と認められる8～14日齢のものをを用いる。

2.2.2 鶏伝染性気管支炎ウイルスの各株

2.2.2.1 発育鶏卵

2.2.2.1.1 マスターシードウイルス、ワーキングシードウイルス及びプロダクションシードウイルスの増殖、継代及び保存に用いる発育鶏卵

SPF動物規格の1.1に適合した10～13日齢のものを用いる。

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を増殖、継代及び保存する場合の発育鶏卵並びにプロダクションシードウイルスを増殖及び保存する場合の発育鶏卵について、3.2の試験を行う。

2.2.2.1.2 原液の製造に用いる発育鶏卵

10～13日齢のものを用いる。

2.2.3 鶏伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス

2.2.3.1 初代細胞

SPF動物規格の2.6に適合した鶏胚初代細胞、同規格の2.7に適合したうずら胚初代細胞又は製造に相当と認められた細胞を用いる。

2.2.3.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.3.3 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）

2.2.3.3.1 増殖、継代及び保存

マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）は、2.2.3.2の培養液で増殖し、継代及び保存しない。

マスタープライマリーセルシードについて、3.3の試験を行う。

2.2.4 産卵低下症候群－1976ウイルス

2.2.4.1 発育鶏卵

2.2.4.1.1 マスターシードウイルス、ワーキングシードウイルス及びプロダクションシードウイルスの増殖、継代及び保存に用いる発育鶏卵

SPF動物規格の1.1に適合した7～9日齢のものを用いる。

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を増殖、継代及び保存する場合の発育鶏卵並びにプロダクションシードウイルスを増殖及び保存する場合の発育鶏卵について、3.2の試験を行う。

2.2.4.1.2 原液の製造に用いる発育鶏卵

製造に相当と認められた7～9日齢のものを用いる。

2.3 原液

2.3.1 ニューカッスル病ウイルス原液

2.3.1.1 発育鶏卵の培養

1回に処理する発育鶏卵を個体別発育鶏卵とみなす。

個体別発育鶏卵について、3.4の試験を行う。

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の発育鶏卵で培養し、感染増殖させた尿膜腔液のろ液又は遠心上清をウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.6.1.1の試験を行う。

2.3.1.3 不活化

ウイルス浮遊液を相当と認められた方法により不活化し、原液とする。

原液について、3.7.1及び3.7.2.1の試験を行う。

2.3.2 鶏伝染性気管支炎ウイルスの各株原液

2.3.2.1 発育鶏卵の培養

1回に処理する発育鶏卵を個体別発育鶏卵とみなす。

個体別発育鶏卵について、3.4の試験を行う。

2.3.2.2 ウイルスの培養

各株のプロダクションシードウイルスをそれぞれ2.3.2.1の発育鶏卵で培養し、感染増殖させた尿膜腔液のろ液又は遠心上清を各株のウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.6.1.2の試験を行う。

2.3.2.3 不活化

各株のウイルス浮遊液を適当と認められた方法により不活化し、各株の原液とする。

原液について、3.7.1及び3.7.2.2の試験を行う。

2.3.3 鶏伝染性ファブリキウス囊病ウイルス原液

2.3.3.1 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）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。

個体別培養細胞について、3.5の試験を行う。

2.3.3.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを培養細胞で培養し、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ウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.6.1.3の試験を行う。

2.3.3.3 不活化

ウイルス浮遊液を適当と認められた方法により不活化し、原液とする。

原液について、3.7.1及び3.7.2.3の試験を行う。

2.3.4 産卵低下症候群-1976ウイルス原液

2.3.4.1 発育鶏卵の培養

1回に処理する発育鶏卵を個体別発育鶏卵とみなす。

個体別発育鶏卵について、3.4の試験を行う。

2.3.4.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを2.3.4.1の発育鶏卵で培養し、感染増殖させた尿膜腔液の遠心上清又はろ液をウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.6.1.4の試験を行う。

2.3.4.3 不活化

ウイルス浮遊液を適当と認められた方法により不活化し、原液とする。

原液について、3.7.1及び3.7.2.4の試験を行う。

2.4 最終バルク

ニューカッスル病ウイルス原液、鶏伝染性気管支炎ウイルス各株の原液、鶏伝染性ファブリキウス囊病ウイルス原液及び産卵低下症候群-1976ウイルス原液を濃度調整して混合した後、適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。

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、3.8の試験を行う。

3 試験法

3.1 製造用株の試験

3.1.1 マスターシードウイルスの試験

3.1.1.1 同定試験

シードロット規格の1.4.2.3.1.1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

鶏脳脊髄炎ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1及び3.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、鶏脳脊髄炎ウイルスについて3.1.1.4.2.2に規定する試験を実施する製剤については、本試験を実施しなくてもよい。

3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

鶏白血病ウイルス、細網内皮症ウイルス及び鶏脳脊髄炎ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、3.2.1、3.2.2及び3.2.10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、鶏脳脊髄炎ウイルスについて3.1.1.4.2.1に規定する試験を実施する製剤については、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の3.2.10の試験を実施しなくてもよい。

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 発育鶏卵の試験

3.2.1 孵卵性状試験

シードロット規格の3.2.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3 初代細胞の試験

3.3.1 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）の試験

3.3.1.1 培養性状試験

シードロット規格の2.2.4.2.1.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3.1.2 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。

3.3.1.3 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。

3.4 個体別発育鶏卵の試験

個体別発育鶏卵の1%以上又は30個以上を対照発育鶏卵とし、これについて次の試験を行う。

3.4.1 培養観察

対照発育鶏卵をウイルスを接種することなくウイルスの培養と同じ条件で培養し観察するとき、鶏胚に異常を認めてはならない。

3.4.2 鶏赤血球凝集試験

3.4.1の試験最終日に尿膜腔液を採取し、鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集の有無を観察するとき、赤血球凝集を認めてはならない。

3.5 個体別培養細胞の試験

個体別培養細胞の1%以上を対照培養細胞とし、これについて次の試験を行う。

3.5.1 培養観察

対照培養細胞を、ウイルスを接種することなく、ウイルスの培養と同じ条件で培養し、観察するとき、CPEを認めてはならない。

3.5.2 鶏赤血球凝集試験

3.5.1の観察最終日に培養液を採取し、鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集の有無を観察するとき、赤血球凝集を認めてはならない。

3.6 ウイルス浮遊液の試験

3.6.1 ウイルス含有量試験

3.6.1.1 ニューカッスル病ウイルス

3.6.1.1.1 試験材料

3.6.1.1.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.6.1.1.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した9～11日齢のものを用いる。

3.6.1.1.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ5個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37℃で5日間培養し、観察する。試験最終日に尿膜腔液を採取し、鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。

3.6.1.1.3 判定

尿膜腔液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、 EID_{50} を算出する。ただし、24時間以内に死亡したものは、除外する。

検体のウイルス含有量は、濃縮予定倍率を乗じた値が1 mL中 $10^{3.4}EID_{50}$ 以上でなければならない。

3.6.1.2 鶏伝染性気管支炎ウイルス

3.6.1.2.1 試験材料

3.6.1.2.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.6.1.2.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した9～10日齢のものを用いる。

3.6.1.2.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ5個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37℃で7～8日間培養し、観察する。試験最終日に鶏胚の変化を観察する。

3.6.1.2.3 判定

鶏胚に死亡又は変性（発育不全、カーリング）を認めたものを感染とみなし、 EID_{50} を算出する。ただし、24時間以内に死亡したものは、除外する。

検体のウイルス含有量は、濃縮予定倍率を乗じた値が1 mL中 $10^{3.4}EID_{50}$ 以上でなければならない。

3.6.1.3 鶏伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス

3.6.1.3.1 試験材料

3.6.1.3.1.1 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。

3.6.1.3.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞で、単層となったものを用いる。

3.6.1.3.1.3 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ4枚の培養細胞に接種し、37℃で60分間静置吸着させる。第1次重層寒天培地（付記2）を加え3～4日間培養した後、第2次重層寒天培地（付記3）を重ねし、観察する。

3.6.1.3.1.4 判定

試料の各希釈段階の平均ブラック数からウイルス含有量を算出する。

検体のウイルス含有量は、濃縮予定倍率を乗じた値が1 mL中 $10^{6.0}PFU$ 以上でなければならない。

3.6.1.4 産卵低下症候群-1976ウイルス

3.6.1.4.1 試験材料

3.6.1.4.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.6.1.4.2 試験方法

マイクロタイター法で赤血球凝集試験を行う。試料に鶏赤血球浮遊液を加え、静置した後、赤血球凝集の有無を観察する。

3.6.1.4.3 判定

赤血球凝集が観察された検体の最高希釈倍数を赤血球凝集単位とする。

検体の赤血球凝集単位は、濃縮予定倍率を乗じた値が7168倍以上でなければならない。

3.7 不活化ウイルス浮遊液の試験

3.7.1 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。

3.7.2 不活化試験

3.7.2.1 ニューカッスル病ウイルス

3.7.2.1.1 試験材料

3.7.2.1.1.1 注射材料

検体を注射材料とする。

3.7.2.1.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した9～11日齢のものをを用いる。

3.7.2.1.2 試験方法

注射材料0.1mLずつを10個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37℃で5日間培養した後、尿膜腔液を採取し、更に1代継代し、37℃で5日間培養し、観察する。

試験最終日に、尿膜腔液を採取し、鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。

3.7.2.1.3 判定

鶏胚は、正常に発育しなければならない。尿膜腔液に赤血球凝集を認めてはならない。

3.7.2.2 鶏伝染性気管支炎ウイルス

3.7.2.2.1 試験材料

3.7.2.2.1.1 注射材料

検体を注射材料とする。

3.7.2.2.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した9～10日齢のものをを用いる。

3.7.2.2.2 試験方法

注射材料0.1mLずつを10個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37℃で5日間培養した後、尿膜腔液を採取し、更に1代継代し、37℃で5日間培養し、観察する。

3.7.2.2.3 判定

鶏胚は、正常に発育しなければならない。

3.7.2.3 鶏伝染性ファブリキウス囊病ウイルス

3.7.2.3.1 試験材料

3.7.2.3.1.1 試料

100倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、検体5mLを透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

3.7.2.3.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞で、単層となったものをを用いる。

3.7.2.3.2 試験方法

試料の全量を、1mLにつき20cm²以上の培養細胞に接種し、37℃で5日間培養した後、その培養

上清 5 mL を採取し、更に 1 代継代し、5 日間培養し、観察する。

3.7.2.3.3 判定

培養細胞に CPE を認めない場合、活性ウイルス陰性と判定する。

検体に活性ウイルスを認めてはならない。

3.7.2.4 産卵低下症候群-1976 ウイルス

3.7.2.4.1 試験材料

3.7.2.4.1.1 注射材料

検体を注射材料とする。

3.7.2.4.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合した 7～9 日齢のものを用いる。

3.7.2.4.2 試験方法

注射材料を 10 個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に 100 μ L ずつ注射し、7 日間培養した後、尿膜腔液を採取し、更に 1 代以上継代し、7 日間培養し、鶏胚を観察する。試験最終日に、尿膜腔液を採取し、鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集の有無を観察する。

3.7.2.4.3 判定

鶏胚は、正常に発育しなければならず、尿膜腔液に赤血球凝集を認めてはならない。

3.8 原液の試験

3.8.1 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。

3.9 小分製品の試験

3.9.1 特性試験

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

小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

3.9.2 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。

3.9.3 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は、0.2 vol% 以下でなければならない。ただし、ホルマリンを適当と認められた方法で中和した製剤については、本試験を行わなくてもよい。

3.9.4 安全試験

3.9.4.1 試験材料

3.9.4.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.9.4.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 に適合した発育鶏卵由来の 5 週齢の鶏を用いる。

3.9.4.2 試験方法

試験動物の 10 羽を試験群、3 羽を対照群とする。

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

3.9.4.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。

3.9.5 力価試験

3.9.5.1 ニューカッスル病力価試験

3.9.5.1.1 試験材料

3.9.5.1.1.1 試験動物

3.9.4の試験に用いた動物を用いる。

3.9.5.1.1.2 赤血球凝集抗原

「ニューカッスル病診断用赤血球凝集抗原」を用いる。

3.9.5.1.2 試験方法

3.9.4の試験最終日に、試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ニューカッスル病ウイルス赤血球凝集抑制試験を行う。

3.9.5.1.3 判定

赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価（以下この項において「HI抗体価」という。）とする。

試験群の80%以上が、HI抗体価160倍以上でなければならない。この場合、対照群では、全てHI抗体価5倍未満でなければならない。

3.9.5.2 鶏伝染性気管支炎力価試験

3.9.5.2.1 試験材料

3.9.5.2.1.1 試験動物

3.9.4の試験に用いた動物を用いる。

3.9.5.2.1.2 中和試験用ウイルス

それぞれの製造用株を用いる。ただし、そのウイルス量は、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内に注射し、ウイルス価を測定するとき、1 mL中 $10^{5.0}$ EID₅₀以上でなければならない。

3.9.5.2.1.3 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した9～10日齢のものをを用いる。

3.9.5.2.2 試験方法

3.9.4の試験最終日に試験動物及び対照群から得られた血清について、ウイルス希釈法により中和試験を行う。血清は、それぞれ等量を各群ごとにプールし、非働化する。

それぞれの中和試験用ウイルスをリン酸緩衝食塩液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を3群に分け、第1群には試験群のプール血清を、第2群には対照群のプール血清を、第3群にはウイルス対照としてリン酸緩衝食塩液を、それぞれ等量加えて混合する。これらの混合液を4℃で18～24時間又は37℃で60分間処理する。処理した試料0.1 mLずつを5個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37℃で7～8日間培養し、観察する。試験最終日に鶏胚の変化を観察する。

3.9.5.2.3 判定

鶏胚に死亡又は変性（発育不全、カーリング）を認めたものを感染とみなし、EID₅₀を求め、中和指数を算出する。ただし、24時間以内に死亡したものは、除外する。

試験群のそれぞれの株に対する中和指数は、対照群に対し2.0以上でなければならない。この場合、対照群の中和指数は、ウイルス対照に対し1.0以下でなければならない。

3.9.5.3 鶏伝染性ファブリキウス嚢病ウイルス力価試験

3.9.5.3.1 試験材料

3.9.5.3.1.1 試験動物

3.9.4の試験に用いた鶏を用いる。

3.9.5.3.1.2 中和試験用ウイルス

生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞に接種し、培養した伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスI・Q株又は適当と認められた株を用いる。

3.9.5.3.1.3 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞で、単層となったものをを用いる。

3.9.5.3.2 試験方法

3.9.4の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について中和試験を行う。

血清を非働化し、リン酸緩衝食塩液で2倍階段希釈する。各希釈血清と0.1mL中100～200PFUを含む中和試験用ウイルス液をそれぞれ等量加えて混合し、37℃で60分間処理する。この各混合液0.1mLずつをそれぞれ2枚の培養細胞に接種し、37℃で静置吸着させた後、第1次重層寒天培地を加え、3～4日間静置培養する。その後、第2次重層寒天培地を重層し、観察する。

3.9.5.3.3 判定

ブラック数を50%減少させる血清の最高希釈倍数を中和抗体価とする。

試験群の70%以上が中和抗体価128倍以上でなければならない。この場合、対照群は、全て4倍以下でなければならない。

3.9.5.4 産卵低下症候群—1976ウイルス力価試験

3.9.5.4.1 試験材料

3.9.5.4.1.1 試験動物

3.9.4の試験で用いた鶏を用いる。

3.9.5.4.1.2 赤血球凝集抗原

産卵低下症候群—1976ウイルス赤血球凝集抗原（付記4）を用いる。

3.9.5.4.2 試験方法

3.9.4の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について赤血球凝集抑制試験を行う。

血清1容に25w/v%カオリン液（付記5）3容を加えて処理した後、遠心した上清を採取する。これをリン酸緩衝食塩液で2倍階段希釈し、各希釈血清25μLに等量の4単位の産卵低下症候群—1976ウイルス赤血球凝集抗原を加えて混合し反応させた後、鶏赤血球浮遊液を50μLずつ加えて振とう混合し、静置した後に赤血球凝集の有無を観察する。

3.9.5.4.3 判定

試験群の80%以上がHI抗体価32倍以上でなければならない。この場合、対照群では、全てHI抗体価4倍以下でなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、3年間とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、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

牛血清

20mL

イーグルMEM

残 量

炭酸水素ナトリウムでpHを7.0～7.4に調整する。

必要最少量の抗生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

2.95g

牛血清

20mL

寒天

4～10g

イーグルMEM

残 量

炭酸水素ナトリウムでpHを6.8～7.2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

2.95g

牛血清

20mL

寒天

4~10g

0.5w/v%ニュートラルレッド液

10mL

イーグルMEM

残 量

炭酸水素ナトリウムでpHを6.8~7.2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 産卵低下症候群-1976ウイルス赤血球凝集抗原

産卵低下症候群-1976ウイルスJPA-1株又はこれと同等と認められた株を生ワクチン製造用材料の規格1.3に適合した発育あひる卵で増殖させて得た尿膜腔液又は生ワクチン製造用材料の規格2.1.3に適合した鶏胚肝初代細胞で増殖させて得た培養上清に0.2vol%になるようにホルマリンを加えて不活化したもの。赤血球凝集 (HA) 価を測定するとき、HA価は640倍以上のもの。

付記5 25w/v%カオリン液

1,000mL中

カオリン

250g

リン酸緩衝食塩液

残 量

115℃、15分間高圧滅菌又はアジ化ナトリウムを0.01w/v%添加した後、2~10℃に保存する。

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部のジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症混合ワクチンの項を次のように改める。

ジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症混合（アジュバント加）ワクチン

1 定義

弱毒ジステンパーウイルス、弱毒犬アデノウイルス（2型）、弱毒犬パラインフルエンザウイルス及び弱毒犬パルボウイルスを培養細胞で増殖させて得たウイルス液の混合液を凍結乾燥したワクチン（以下「乾燥生ワクチン」という。）と犬コロナ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てアルミニウムゲルアジュバントを加えたワクチン（以下「液状不活化ワクチン」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 ジステンパーウイルス株

2.1.1.1 名称

弱毒ジステンパーウイルスオンダーステポート株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。発育鶏卵の漿尿膜上又は感受性のある培養細胞に接種すると、ポック又はCPEを伴って増殖する。

2.1.1.3 継代及び保存

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

原株の継代は、原種ウイルスの製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行ってはならない。原種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は3代以内でなければならない。種ウイルスは、原種ウイルスから2代以内に製造しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数以内とする。

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

種ウイルスは、原種ウイルスからワクチンの製造ごとに用時調製する。

2.1.2 犬アデノウイルス（2型）株

2.1.2.1 名称

弱毒犬アデノウイルス（2型）V-197株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。感受性のある培養細胞に接種すると、CPEを伴って増殖する。

2.1.2.3 継代及び保存

原株及び原種ウイルスは、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、原種ウイルスの製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行ってはならない。原種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は3代以内でなければならない。種ウイルスは、原種ウイルスから2代以内に製造しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数以内とする。

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

種ウイルスは、原種ウイルスからワクチンの製造ごとに用時調製する。

2.1.3 犬パラインフルエンザウイルス株

2.1.3.1 名称

弱毒犬パラインフルエンザウイルス 91880 株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。感受性のある培養細胞に接種すると増殖し、細胞はモルモット赤血球を吸着する。

2.1.3.3 継代及び保存

原株及び原種ウイルスは、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、原種ウイルスの製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行ってはならない。原種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は3代以内でなければならない。種ウイルスは、原種ウイルスから2代以内に製造しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数以内とする。

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

種ウイルスは、原種ウイルスからワクチンの製造ごとに用時調製する。

2.1.4 犬パルボウイルス株

2.1.4.1 名称

弱毒犬パルボウイルス K-3ip69 株又は製造に適当と認められた株

2.1.4.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。犬及び猫由来細胞で核内封入体を伴って増殖し、その培養ウイルス液は豚及び猿の赤血球を凝集する。

2.1.4.3 継代及び保存

原株及び原種ウイルスは、猫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、原種ウイルスの製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行ってはならない。原種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は3代以内でなければならない。種ウイルスは、原種ウイルスから2代以内に製造しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数以内とする。

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

種ウイルスは、原種ウイルスからワクチンの製造ごとに用時調製する。

2.1.5 犬コロナウイルス株

2.1.5.1 名称

犬コロナウイルス TN-449 株又はこれと同等と認められた株

2.1.5.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。感受性のある培養細胞に接種すると、CPE を伴って増殖する。

2.1.5.3 継代及び保存

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

原種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は3代以内でなければならない。種ウイルスは、原種ウイルスから2代以内に製造しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数以内とする。

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

種ウイルスは、原種ウイルスからワクチンの製造ごとに用時調製する。

2.2 製造用材料

2.2.1 ジステンパーウイルス

2.2.1.1 培養細胞

Vero 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 犬アデノウイルス（2型）

2.2.2.1 培養細胞

犬腎臓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。

2.2.3 犬パラインフルエンザウイルス

2.2.3.1 培養細胞

犬腎臓細胞又は製造に相当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.3.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.4 犬パルボウイルス

2.2.4.1 培養細胞

猫腎臓細胞又は製造に相当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.4.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.5 犬コロナウイルス

2.2.5.1 培養細胞

猫腎臓細胞又は製造に相当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.5.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.3 原液

2.3.1 ジステンパーウイルス原液

2.3.1.1 細胞の培養

1 回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。個別培養細胞について、3.1 の試験を行う。

2.3.1.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルス増殖の極期に感染材料を採取し原液とする。

原液について、3.2.1、3.2.2 及び 3.2.3.1 の試験を行う。

2.3.2 犬アデノウイルス（2型）原液

2.3.2.1 細胞の培養

1 回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。個別培養細胞について、3.1 の試験を行う。

2.3.2.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルス増殖の極期に感染材料を採取し原液とする。

原液について、3.2.1、3.2.2 及び 3.2.3.2 の試験を行う。

2.3.3 犬パラインフルエンザウイルス原液

2.3.3.1 細胞の培養

1 回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認

めてはならない。個体別培養細胞について、3.1の試験を行う。

2.3.3.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルス増殖の極期に感染材料を採取し原液とする。

原液について、3.2.1、3.2.2及び3.2.3.3の試験を行う。

2.3.4 犬パルボウイルス原液

2.3.4.1 細胞の培養

1回に処理し、培養した細胞を個体別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。個体別培養細胞について、3.1の試験を行う。

2.3.4.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルス増殖の極期に感染材料を採取し原液とする。

原液について、3.2.1、3.2.2及び3.2.3.4の試験を行う。

2.3.5 犬コロナウイルス原液

2.3.5.1 細胞の培養

1回に処理し、培養した細胞を個体別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。個体別培養細胞について、3.1の試験を行う。

2.3.5.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルス増殖の極期に感染材料を採取しウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.2.1、3.2.2及び3.2.3.5の試験を行う。

2.3.5.3 不活化

ウイルス浮遊液に相当と認められた不活化剤を加えて不活化後、適当な中和剤を用い中和したもの又はそのままの液を不活化ウイルス浮遊液とする。

不活化ウイルス浮遊液について、3.2.4の試験を行う。

2.3.5.4 原液の調整

不活化ウイルス浮遊液を相当と認められた方法で濃縮したもの又は相当と認められた保存剤を添加したものを原液とする。

原液について、3.2.1の試験を行う。

2.4 最終バルク

2.4.1 混合生ワクチン

ジステンパーウイルス原液、犬アデノウイルス（2型）原液、犬パラインフルエンザウイルス原液及び犬パルボウイルス原液を混合し、最終バルクとする。この場合、相当と認められた保存剤及び安定剤を添加してもよい。

2.4.2 液状不活化ワクチン

相当と認められた溶液で濃度調整した犬コロナウイルス原液とアルミニウムゲルアジュバントを混合し、最終バルクとする。この場合、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 混合生ワクチン

最終バルクを小分容器に分注し、凍結乾燥し、小分製品とする。小分製品について、3.3の試験を行う。

2.5.2 液状不活化ワクチン

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、3.3の試験を行う。

3 試験法

3.1 培養細胞の試験

個体別培養細胞のそれぞれ1%以上を対照培養細胞とし、これについて次の試験を行う。ただし、製造に継代細胞を用いている場合は、3.1.3の試験を実施しなくてもよい。

3.1.1 培養観察

対照培養細胞を、ウイルスを接種することなく、ウイルスの培養と同じ条件で培養する。対照培養細胞をプールし、4本以上の培養びん及びカバーグラスを入れた4枚以上のシャーレに継代し、7日間以上培養し、観察するとき、CPEを認めてはならない。

3.1.2 赤血球吸着試験

3.1.1の試験最終日に培養びんの培養液を除き、リン酸緩衝食塩液で細胞表面を2回洗浄し、0.1vol %モルモット赤血球浮遊液を重層し、60分間静置後、赤血球吸着の有無を観察するとき、培養細胞に赤血球吸着を認めてはならない。

3.1.3 封入体染色試験

3.1.1の試験最終日に培養カバーグラスをリン酸緩衝食塩液で洗浄し、固定した後、ギムザ染色し、封入体の有無を観察するとき、培養細胞に封入体を認めてはならない。

3.2 原液の試験

3.2.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2 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 ウイルス含有量試験

3.2.3.1 ジステンパーウイルス含有量試験

3.2.3.1.1 試験材料

3.2.3.1.1.1 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。

3.2.3.1.1.2 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。

3.2.3.1.2 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、37℃で7～8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。

3.2.3.1.3 判定

培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL中10^{4.5}TCID₅₀以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.2.3.2 犬アデノウイルス（2型）含有量試験

3.2.3.2.1 試験材料

3.2.3.2.1.1 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。

3.2.3.2.1.2 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。

3.2.3.2.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ4本（穴）以上の培養細胞に接種し、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。

3.2.3.2.3 判定

培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL中10^{7.5}TCID₅₀以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.2.3.3 犬パラインフルエンザウイルス含有量試験

3.2.3.3.1 試験材料

3.2.3.3.1.1 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。

3.2.3.3.1.2 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。

3.2.3.3.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本(穴)以上の培養細胞に接種し、37℃で 7 日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の 0.4vol %モルモット赤血球浮遊液を等量加え、室温で 90 分間静置し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.2.3.3.3 判定

培養液に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、1 mL 中 10^{4.5}TCID₅₀以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.2.3.4 犬パルボウイルス含有量試験

3.2.3.4.1 試験材料

3.2.3.4.1.1 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。

3.2.3.4.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.2.3.4.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本(穴)以上の培養細胞に接種し、37℃で 24 時間培養した後、ウイルス増殖用培養液と交換し、更に 37℃で 6 日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液(付記 2)を加え、更にこの混合液と等量の VAD6.0 液(付記 3)で調製した 0.5vol %豚赤血球浮遊液を加え、4℃で静置後、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。

3.2.3.4.3 判定

培養液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL 中 10^{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。

3.2.3.5 犬コロナウイルス抗原量測定試験

3.2.3.5.1 試験材料

検体、参照品、抗犬コロナウイルスモノクローナル抗体、抗犬コロナウイルス兎抗体、アルカリフォスファターゼ標識抗兎 IgG、p-ニトロフェニルリン酸基質液を用いる。

3.2.3.5.2 試験方法

二抗体サンドイッチ ELISA 法により犬コロナウイルス抗原量を測定する。ELISA プレートに抗犬コロナウイルスモノクローナル抗体液を分注し、37℃で 90 分間反応させ固相化する。以下各反応後に洗浄液で洗浄する。1%牛血清アルブミン・ポリソルベート 20 加リン酸緩衝食塩液を分注し、37℃で 60 分間反応させブロッキングする。検体及び参照品を 2 倍階段希釈した各希釈液を各穴に加え、37℃で 60 分間反応する。抗犬コロナウイルス兎抗体液を各穴に加え、37℃で 60 分間反応する。アルカリフォスファターゼ標識抗兎 IgG 液を各穴に加え、37℃で 60 分間反応する。p-ニトロフェニルリン酸基質液を加え、37℃で 25 ～ 30 分間反応させた後、3 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を加えて反応を停止する。主波長 405nm、副波長 490nm で吸光度を測定する。

3.2.3.5.3 判定

参照品に対する検体の相対抗原量を算出するとき、500RU/mL以上でなければならない。

3.2.4 不活化試験

3.2.4.1 犬コロナウイルス不活化試験

3.2.4.1.1 試験材料

3.2.4.1.1.1 試料

検体 2 mL を 100 倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、4℃で一夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

3.2.4.1.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.2.4.1.2 試験方法

試料を 25cm² 以上の培養細胞 2 本に 1 mL ずつ接種し、37℃で 60 分間吸着した後、リン酸緩衝食塩液で細胞面を洗浄する。ウイルス増殖用培養液を加え、37℃で 5 日間培養後、接種した培養細胞を継代し、更に 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。

3.2.4.1.3 判定

培養細胞に CPE を認めてはならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その判定方法とする。

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、混合生ワクチンは、固有の色調を有する乾燥物でなければならない。また、液状不活化ワクチンは、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。混合生ワクチンを液状不活化ワクチンで溶解したものは、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。

3.3.2 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、液状不活化ワクチンの 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、混合生ワクチンは、適合しなければならない。ただし、窒素充填製品では、本試験を省略することができる。

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、混合生ワクチンは、適合しなければならない。

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 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、混合生ワクチンは、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、本試験を省略することができる。

3.3.7 迷入ウイルス否定試験

液状不活化ワクチンと同量の滅菌水で混合生ワクチンを溶解したものについて、一般試験法の迷入ウイルス否定試験法 1.1、2.5.1、2.6.1 及び 2.8.2 を準用して試験するとき、混合生ワクチンは、適合しなければならない。ただし、中和用抗血清は、抗ジステンパーウイルス血清（付記 4）、抗犬アデノウイルス（2 型）血清（付記 5）、抗犬パラインフルエンザウイルス血清（付記 6）及び

抗犬パルボウイルス血清（付記7）を、それぞれ非働化したものを用いる。

3.3.8 ウイルス含有量試験

3.3.8.1 ジステンパーウイルス含有量試験

3.3.8.1.1 試験材料

3.3.8.1.1.1 試料

混合生ワクチンを液状不活化ワクチンと同量の滅菌水で溶解する。試験品中のジステンパーウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記5、6及び7）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液又は適当と認められた希釈液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.8.1.1.2 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。

3.3.8.1.2 試験方法

試料0.1mLずつを4本(穴)以上の培養細胞に接種し、37℃で7～8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。

3.3.8.1.3 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。試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり10^{3.5}TCID₅₀以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.3.8.2 犬アデノウイルス（2型）含有量試験

3.3.8.2.1 試験材料

3.3.8.2.1.1 試料

混合生ワクチンを液状不活化ワクチンと同量の滅菌水で溶解する。試験品中の犬アデノウイルス（2型）以外のウイルスの各抗血清（付記4、6及び7）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.8.2.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.8.2.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ4本(穴)以上の培養細胞に接種し、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。

3.3.8.2.3 判定

培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり10^{3.0}TCID₅₀以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.3.8.3 犬パラインフルエンザウイルス含有量試験

3.3.8.3.1 試験材料

3.3.8.3.1.1 試料

混合生ワクチンを液状不活化ワクチンと同量の滅菌水で溶解する。試験品中の犬パラインフルエンザウイルス以外のウイルスの各抗血清（付記4、5及び7）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.8.3.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.8.3.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ4本(穴)以上の培養細胞に接種し、37℃で7日間培養し、観察する。培養後、培養液を採取し、これに等量の0.4vol %モルモット赤血球浮遊液を等量加え、室温で90分間静置後し、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。

3.3.8.3.3 判定

培養液に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。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、そのウイルス含有量とする。

3.3.8.4 犬パルボウイルス含有量試験

3.3.8.4.1 試験材料

3.3.8.4.1.1 試料

混合生ワクチンを液状不活化ワクチンと同量の滅菌水で溶解する。試験品中の犬パルボウイルス以外のウイルスの各抗血清（付記4、5及び6）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.8.4.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.8.4.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ4本(穴)以上の培養細胞に接種し、37℃で24時間培養した後、ウイルス増殖用培養液と交換し、さらに37℃で6日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液を加え、さらにこの混合液と等量のVAD6.0液で調製した0.5vol%豚赤血球浮遊液を加え、4℃で静置後、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。

3.3.8.4.3 判定

培養液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。試験品のウイルス含有量は、1mL中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、そのウイルス含有量とする。

3.3.9 チメロサル定量試験

チメロサルを添加した液状不活化ワクチンについては、一般試験法のチメロサル定量法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3.10 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、液状不活化ワクチンのアルミニウム含有量は、1mL中固有の値以下でなければならない。

3.3.11 異常毒性否定試験

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

3.3.12 安全試験

3.3.12.1 試験材料

3.3.12.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.3.12.1.2 試験動物

6か月齢未満の犬を用いる。

3.3.12.2 試験方法

試験動物3頭を試験群、2頭を対照群とする。試験群に注射材料1頭分ずつを用法に従って2回注射し、対照群と共に6週間観察する。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。

3.3.12.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に異常を認めてはならない。

3.3.13 力価試験

3.3.13.1 ジステンパー力価試験

3.3.13.1.1 試験材料

3.3.13.1.1.1 試験動物

3.3.12 の試験に用いた犬を用いる。

3.3.13.1.1.2 中和試験用ウイルス

ジステンパーウイルス FXNO 株又は適当と認められたジステンパーウイルス株を用いる。

3.3.13.1.1.3 培養細胞

適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.13.1.2 試験方法

3.3.12 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。各試験群の血清は、それぞれ等量をプールする。各プール血清を非働化し、ウイルス増殖用培養液又は適当と認められた希釈液で 5 倍階段希釈する。各希釈血清と 0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、4℃で一夜又は 37℃で 60 分間処理する。この各混合液 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本(穴)以上の培養細胞に接種し、37℃で 7～8 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。

3.3.13.1.3 判定

細胞を観察し、CPE を阻止したものを陽性とし、中和抗体価を ED₅₀ で求める。試験群の中和抗体価は、40 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、その中和抗体価とする。

3.3.13.2 犬アデノウイルス（2型）感染症力価試験

3.3.13.2.1 試験材料

3.3.13.2.1.1 試験動物

3.3.12 の試験に用いた犬を用いる。

3.3.13.2.1.2 中和試験用ウイルス

犬アデノウイルス（2型）V-197 株又は適当と認められた犬アデノウイルス（2型）株を用いる。

3.3.13.2.1.3 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.13.2.2 試験方法

3.3.12 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。各試験群の血清は、ウイルス増殖用培養液又は適当と認められた希釈液で 2 又は 5 倍階段希釈する。各希釈血清と 0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、37℃で 60 分間処理する。この各混合液 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本(穴)以上の培養細胞に接種し、37℃で 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。

3.3.13.2.3 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 ED₅₀ で求める。

試験群の中和抗体価は、32 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、2 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、その中和抗体価とする。

3.3.13.3 犬パラインフルエンザ力価試験

3.3.13.3.1 試験材料

3.3.13.3.1.1 試験動物

3.3.12 の試験に用いた犬を用いる。

3.3.13.3.1.2 中和試験用ウイルス

犬パラインフルエンザウイルスフィリップス・ロクセーン株又は適当と認められた犬パラインフルエンザウイルス株を用いる。

3.3.13.3.1.3 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.13.3.2 試験方法

3.3.12 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。各試験群の

血清は、ウイルス増殖用培養液又は適当と認められた希釈液で2倍階段希釈する。各希釈血清と0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、37℃で60分間処理する。この各混合液0.1mLずつをそれぞれ4本(穴)以上の培養細胞に接種し、37℃で7日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の0.4vol %モルモット赤血球浮遊液を等量加え、常温で90分間静置し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.3.13.3.3 判定

培養液の赤血球凝集を阻止したものを陽性とし、中和抗体価をED₅₀で求める。試験群の中和抗体価は、4倍以上でなければならない。この場合、対照群では、2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、その中和抗体価とする。

3.3.13.4 犬パルボウイルス感染症力価試験

3.3.13.4.1 試験材料

3.3.13.4.1.1 試験動物

3.3.12の試験に用いた犬を用いる。

3.3.13.4.1.2 赤血球凝集抗原

犬パルボウイルス K-3ip69 株又は適当と認められた犬パルボウイルス株を接種した CRFK 細胞培養液を不活化したもので赤血球凝集価 128 倍以上のものを用いる。

3.3.13.4.2 試験方法

3.3.12 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赤血球凝集抑制試験を行う。各試験群の血清は、非働化、RDE(付記8)、25w/v %カオリン液及び豚赤血球で処理した後牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液を用いて2倍階段希釈する。各段階の希釈血清に8単位に調製した血球凝集抗原を等量加え、常温で60分間処理したのち VAD6.0 液で調製した 0.5vol %豚赤血球浮遊液を等量加え、4℃で一夜静置し、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。

3.3.13.4.3 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。

試験群の赤血球凝集抑制抗体価は、64 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、8 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。

3.3.13.5 犬コロナウイルス感染症力価試験

3.3.13.5.1 試験材料

3.3.13.5.1.1 注射材料

混合生ワクチンを液状不活化ワクチンで溶解した試験品を注射材料とする。

3.3.13.5.1.2 試験動物

体重約 300g のモルモットを用いる。

3.3.13.5.1.3 中和試験用ウイルス

適当と認められた犬コロナウイルス株を用いる。

3.3.13.5.1.4 培養細胞

猫全胎子継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.13.5.2 試験方法

試験動物 5 匹を試験群、2 匹を対照群とする。注射材料 1 mL ずつを試験群の筋肉内に 21 日間隔で 2 回注射する。2 回目注射後 7 日目の血清について中和試験を行う。非働化した被検血清をウイルス増殖用培養液で 2 倍階段希釈する。各希釈血清と 0.05mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液を等量混合し、37℃で 60 分間処理する。この各混合液 0.05mL ずつをそれぞれ 4 本(穴)以上の培養細胞浮遊液に接種し、37℃で 6 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。

3.3.13.5.3 判定

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

試験群の抗体価は、80 % 以上が 8 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、2 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、その中和抗体価とする。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、2 年 4 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 ウイルス増殖用培養液

1,000mL 中

牛血清

10 ~ 20 mL

トリプトース・ホスフェイト・ブロス

2.95 g

イーグル MEM

残 量

炭酸水素ナトリウムで pH を 7.0 ~ 7.6 に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 2 牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液

1,000mL 中

塩化ナトリウム

7.01 g

ホウ酸

3.09 g

水酸化ナトリウム

0.96 g

水

残 量

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

付記 3 VAD6.0 液

1,000mL 中

塩化ナトリウム

8.77 g

リン酸水素二ナトリウム

5.68 g

リン酸二水素ナトリウム (二水和物)

40.56 g

水

残 量

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

付記 4 抗ジステンパーウイルス血清

ジステンパーウイルスで免疫した兎、モルモット又はフェレットの血清で、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 5 抗犬アデノウイルス (2 型) 血清

犬アデノウイルス (2 型) で免疫した兎又はモルモットの血清で、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 6 抗犬パラインフルエンザウイルス血清

犬パラインフルエンザウイルスで免疫した兎又はモルモットの血清で、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 7 抗犬パルボウイルス血清

犬パルボウイルスで免疫した兎又はモルモットの血清で、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 8 RDE

市販の RDE を処方に従い、生理食塩水 20mL で溶解し、小分け分注した後－20℃以下に保存する。

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部のジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症・犬レプトスピラ病混合ワクチンの項を次のように改める。

ジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症・犬レプトスピラ病（カニコーラ・イクテロヘモラジー）混合（アジュバント加）ワクチン

1 定義

弱毒ジステンパーウイルス、弱毒犬アデノウイルス（2型）、弱毒犬パラインフルエンザウイルス及び弱毒犬パルボウイルスを培養細胞で増殖させて得たウイルス液とレプトスピラ・カニコーラ及びレプトスピラ・イクテロヘモラジーの全培養菌液を不活化した後可溶化したものの混合液を凍結乾燥したワクチン（以下「混合乾燥ワクチン」という。）と犬コロナ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てアルミニウムゲルアジュバントを加えたものを混合したワクチン（以下「液状不活化ワクチン」という。）とを組み合わせたワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 ジステンパーウイルス株

2.1.1.1 名称

弱毒ジステンパーウイルスオランダステポート株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。發育鶏卵の漿尿膜上又は感受性のある培養細胞に接種すると、ポック又はCPEを伴って増殖する。

2.1.1.3 継代及び保存

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

原株の継代は、原種ウイルスの製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行ってはならない。原種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は3代以内でなければならない。種ウイルスは、原種ウイルスから2代以内に製造しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数以内とする。

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

種ウイルスは、原種ウイルスからワクチンの製造ごとに用時調製する。

2.1.2 犬アデノウイルス（2型）株

2.1.2.1 名称

弱毒犬アデノウイルス（2型）V-197株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。感受性のある培養細胞に接種すると、CPEを伴って増殖する。

2.1.2.3 継代及び保存

原株及び原種ウイルスは、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、原種ウイルスの製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行ってはならない。原種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は3代以内でなければならない。種ウイルスは、原種ウイルスから2代以内に製造しなければならない。ただし、農林水産大臣

が特に認めた場合には、その継代数以内とする。

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

種ウイルスは、原種ウイルスからワクチンの製造ごとに用時調製する。

2.1.3 犬パラインフルエンザウイルス株

2.1.3.1 名称

弱毒犬パラインフルエンザウイルス 91880 株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。感受性のある培養細胞に接種すると増殖し、細胞はモルモット赤血球を吸着する。

2.1.3.3 継代及び保存

原株及び原種ウイルスは、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、原種ウイルスの製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行ってはならない。原種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は3代以内でなければならない。種ウイルスは、原種ウイルスから2代以内に製造しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数以内とする。

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

種ウイルスは、原種ウイルスからワクチンの製造ごとに用時調製する。

2.1.4 犬パルボウイルス株

2.1.4.1 名称

弱毒犬パルボウイルス K-3ip69 株又は製造に適当と認められた株

2.1.4.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。犬及び猫由来細胞で核内封入体を伴って増殖し、その培養ウイルス液は豚及び猿の赤血球を凝集する。

2.1.4.3 継代及び保存

原株及び原種ウイルスは、猫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、原種ウイルスの製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行ってはならない。原種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は3代以内でなければならない。種ウイルスは、原種ウイルスから2代以内に製造しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数以内とする。

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

種ウイルスは、原種ウイルスからワクチンの製造ごとに用時調製する。

2.1.5 犬コロナウイルス株

2.1.5.1 名称

犬コロナウイルス TN-449 株又はこれと同等と認められた株

2.1.5.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。感受性のある培養細胞に接種すると、CPE を伴って増殖する。

2.1.5.3 継代及び保存

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

原種ウイルスは、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は3代以内でなければならない。種ウイルスは、原種ウイルスから2代以内に製造しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数以内とする。

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

種ウイルスは、原種ウイルスからワクチンの製造ごとに用時調製する。

2.1.6 レプトスピラ・カニコーラ株

2.1.6.1 名称

レプトスピラ・カニコーラ（以下「L・カニコーラ」という。）フオート・ユトレヒトIV株又はこれと同等と認められた株

2.1.6.2 性状

モルモット及びハムスターの腹腔内に注射すると増殖する。

抗L・カニコーラ血清（付記1）に対して特異的に凝集する。

2.1.6.3 継代及び保存

原株及び種菌は、適当と認められた培地で継代する。

継代は、原株及び種菌とも適当と認められた継代数以内でなければならない。

原株及び種菌は、凍結して－70℃以下で保存する。

2.1.7 レプトスピラ・イクテロヘモラジー株

2.1.7.1 名称

レプトスピラ・イクテロヘモラジー（以下「L・イクテロヘモラジー」という。）コペンハーゲン株又はこれと同等と認められた株

2.1.7.2 性状

モルモット及び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。

2.1.7.3 継代及び保存

原株及び種菌は、適当と認められた培地で継代する。

継代は、原株及び種菌とも適当と認められた継代数以内でなければならない。

原株及び種菌は、凍結して－70℃以下で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 ジステンパーウイルス

2.2.1.1 培養細胞

Vero 細胞又は製造に適当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.1.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

2.2.2 犬アデノウイルス（2型）

2.2.2.1 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。

2.2.2.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

2.2.3 犬パラインフルエンザウイルス

2.2.3.1 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。

2.2.3.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

2.2.4 犬パルボウイルス

2.2.4.1 培養細胞

猫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。

2.2.4.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

2.2.5 犬コロナウイルス

2.2.5.1 培養細胞

猫腎臓細胞又は製造に相当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.5.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.6 L・カニコーラ

2.2.6.1 培地

製造に相当と認められた培地を用いる。

2.2.7 L・イクテロヘモラジー

2.2.7.1 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 ジステンパーウイルス原液

2.3.1.1 細胞の培養

1 回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。個別培養細胞について、3.1 の試験を行う。

2.3.1.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルス増殖の極期に感染材料を採取し原液とする。

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 犬アデノウイルス（2型）原液

2.3.2.1 細胞の培養

1 回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。個別培養細胞について、3.1 の試験を行う。

2.3.2.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルス増殖の極期に感染材料を採取し原液とする。

原液について、3.3.1、3.3.2 及び 3.3.3.2 の試験を行う。

2.3.3 犬パラインフルエンザウイルス原液

2.3.3.1 細胞の培養

1 回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。個別培養細胞について、3.1 の試験を行う。

2.3.3.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルス増殖の極期に感染材料を採取し原液とする。

原液について、3.3.1、3.3.2 及び 3.3.3.3 の試験を行う。

2.3.4 犬パルボウイルス原液

2.3.4.1 細胞の培養

1 回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。個別培養細胞について、3.1 の試験を行う。

2.3.4.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルス増殖の極期に感染材料を採取し原液とする。

原液について、3.3.1、3.3.2 及び 3.3.3.4 の試験を行う。

2.3.5 犬コロナウイルス原液

2.3.5.1 細胞の培養

1 回に処理し、培養した細胞を個別培養細胞とみなす。ウイルス接種前の培養細胞に異常を認めてはならない。個別培養細胞について、3.1 の試験を行う。

2.3.5.2 ウイルスの培養

種ウイルスを培養細胞で培養し、ウイルス増殖の極期に感染材料を採取しウイルス浮遊液とする。
ウイルス浮遊液について、3.3.1、3.3.2 及び 3.3.3.5 の試験を行う。

2.3.5.3 不活化

ウイルス浮遊液に相当と認められた不活化剤を加えて不活化後、適当な中和剤を用い中和したもの又はそのままの液を不活化ウイルス浮遊液とする。

不活化ウイルス浮遊液について、3.3.4.1 の試験を行う。

2.3.5.4 原液の調整

不活化ウイルス浮遊液を相当と認められた方法で濃縮したもの又は相当と認められた保存剤を添加したものを原液とする。

原液について、3.3.1 の試験を行う。

2.3.6 L・カニコーラ原液

2.3.6.1 菌液

種菌を培地に接種し、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。

2.3.6.2 不活化

培養菌液に相当と認められた不活化剤を加えて不活化したものを不活化レプトスピラ菌液とする。

不活化レプトスピラ菌液について、3.3.4.2 の試験を行う。

2.3.6.3 可溶化

不活化レプトスピラ菌液又は相当と認められた濃縮方法により濃縮した菌液に相当と認められた可溶化剤を加え可溶化したものを原液とする。

原液について、3.3.1 の試験を行う。

2.3.7 L・イクテロヘモラジー原液

2.3.7.1 菌液

種菌を培地に接種し、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。

2.3.7.2 不活化

培養菌液に相当と認められた不活化剤を加えて不活化したものを不活化レプトスピラ菌液とする。

不活化レプトスピラ菌液について、3.3.4.2 の試験を行う。

2.3.7.3 可溶化

不活化レプトスピラ菌液又は相当と認められた方法により濃縮した菌液に相当と認められた可溶化剤を加え可溶化したものを原液とする。

原液について、3.3.1 の試験を行う。

2.4 最終バルク

2.4.1 混合乾燥ワクチン

ジステンパーウイルス原液、犬アデノウイルス（2型）原液、犬パラインフルエンザウイルス原液及び犬パルボウイルス原液と相当と認められた溶液で濃度調整したL・カニコーラ原液及びL・イクテロヘモラジー原液を混合し、最終バルクとする。この場合、相当と認められた安定剤を添加してもよい。

2.4.2 液状不活化ワクチン

相当と認められた溶液で濃度調整した犬コロナウイルス原液にアルミニウムゲルアジュバントを混合し、最終バルクとする。この場合、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 混合乾燥ワクチン

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、3.4 の試験を行う。

2.5.2 液状不活化ワクチン

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、3.4 の試験を行う。

3 試験法

3.1 培養細胞の試験

個体別培養細胞のそれぞれ1%以上を対照培養細胞とし、これについて次の試験を行う。ただし、製造に継代細胞を用いている場合は、3.1.3 の試験を実施しなくてもよい。

3.1.1 培養観察

対照培養細胞を、ウイルスを接種することなく、ウイルスの培養と同じ条件で培養する。対照培養細胞をプールし、4本以上の培養びん及びカバーグラスを入れた4枚以上のシャーレに継代し、7日間以上培養し、観察するとき、CPEを認めてはならない。

3.1.2 赤血球吸着試験

3.1.1 の試験最終日に培養びんの培養液を除き、リン酸緩衝食塩液で細胞表面を2回洗浄し、0.1 vol %モルモット赤血球浮遊液を重層し、60分間静置後、赤血球吸着の有無を観察するとき、培養細胞に赤血球吸着を認めてはならない。

3.1.3 封入体染色試験

3.1.1 の試験最終日に培養カバーグラスをリン酸緩衝食塩液で洗浄し、固定した後、ギムザ染色し、封入体の有無を観察するとき、培養細胞に封入体を認めてはならない。

3.2 培養菌液の試験

3.2.1 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。又は、暗視野法を用いて培養菌液を鏡検するとき、レプトスピラ以外の菌を認めてはならない。

3.2.2 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。

3.2.3 総菌数試験

光電比色計又は菌数計算法を用いて菌数を計算するとき、それぞれの培養菌液に1 mL 中 $10^{3.0}$ 個以上の菌を含まなければならない。又は、比濁法を用いて菌数を計算するとき、それぞれの培養菌液は2.400比濁単位以上でなければならない。

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 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 ジステンパー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3）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。

3.3.3.1.1.2 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。

3.3.3.1.2 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、37℃で7～8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、TCID₅₀を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL 中 $10^{4.0}$ 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。

3.3.3.2 犬アデノウイルス（2型）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

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.3.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本(穴)以上の培養細胞に接種し、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。

3.3.3.2.3 判定

培養細胞に CPE を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL 中 10^{7.5}TCID₅₀ 以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.3.3.3 犬パラインフルエンザウイルス含有量試験

3.3.3.3.1 試験材料

3.3.3.3.1.1 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。

3.3.3.3.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.3.3.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本(穴)以上の培養細胞に接種し、37℃で 7 日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の 0.4vol %モルモット赤血球浮遊液を等量加え、室温で 90 分間静置し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.3.3.3.3 判定

培養液に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、1 mL 中 10^{6.5}TCID₅₀ 以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.3.3.4 犬パルボウイルス含有量試験

3.3.3.4.1 試験材料

3.3.3.4.1.1 試料

検体をウイルス増殖用培養液 B 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。

3.3.3.4.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.3.4.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本(穴)以上の培養細胞に接種し、37℃で 24 時間培養した後、ウイルス増殖用培養液と交換し、さらに 37℃で 6 日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液(付記 4)を加え、さらにこの混合液と等量の VAD6.0 液(付記 5)で調製した 0.5vol %豚赤血球浮遊液を加え、4℃で静置後、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。

3.3.3.4.3 判定

培養液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL 中 $10^{5.7}$ 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。

3.3.3.5 犬コロナウイルス抗原量測定試験

3.3.3.5.1 試験材料

検体、参照品、抗犬コロナウイルスモノクローナル抗体、抗犬コロナウイルス抗体、アルカリフォスファターゼ標識抗兔 IgG 及び *p*-ニトロフェニルリン酸基質液を用いる。

3.3.3.5.2 試験方法

二抗体サンドイッチ ELISA 法により犬コロナウイルス抗原量を測定する。ELISA プレートに抗犬コロナウイルスモノクローナル抗体液を分注し、37℃で 90 分間反応させ固相化する。以下各反応後に洗浄液で洗浄する。1%牛血清アルブミン・ポリソルベート加リン酸緩衝食塩液を分注し、37℃で 60 分間反応させブロッキングする。検体及び参照品を 2 倍階段希釈した各希釈液を各穴に加え、37℃で 60 分間反応する。抗犬コロナウイルス抗体液を各穴に加え、37℃で 60 分間反応する。アルカリフォスファターゼ標識抗兔 IgG 液を各穴に加え、37℃で 60 分間反応する。*p*-ニトロフェニルリン酸基質液を加え、37℃で 25 ～ 30 分間反応させた後、3 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を加えて反応を停止する。主波長 405nm、副波長 490nm で吸光度を測定する。

3.3.3.5.3 判定

参照品に対する検体の相対抗原量を算出するとき、500RU/mL 以上でなければならない。

3.3.4 不活化試験

3.3.4.1 犬コロナウイルス不活化試験

3.3.4.1.1 試験材料

3.3.4.1.1.1 試料

検体 2 mL を 100 倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、4℃で一夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

3.3.4.1.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.4.1.2 試験方法

試料を 25cm² 以上の培養細胞 2 本に 1 mL ずつ接種し、37℃で 60 分間吸着した後、リン酸緩衝食塩液で細胞面を洗浄する。ウイルス増殖用培養液を加え、37℃で 5 日間培養後、接種した培養細胞を継代し、さらに 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。

3.3.4.1.3 判定

培養細胞に CPE を認めてはならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その判定方法とする。

3.3.4.2 レプトスピラ不活化試験

3.3.4.2.1 試験材料

3.3.4.2.1.1 試料

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

3.3.4.2.1.2 培地

適当と認められた培地を用いる。

3.3.4.2.2 試験方法

培地 20mL を入れた試験管 3 本に試料 0.5mL ずつを接種し、28 ～ 30℃で 6 ～ 8 日間培養し、各試験管から 1 白金耳を採取し、暗視野法で鏡検する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.3.4.2.3 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、混合乾燥ワクチンは、固有の色調を有する乾燥物でなければならない。また、液状不活化ワクチンは、固有の色調を有する均質な液体でなければならない。また、異物及び異臭を認めてはならない。混合乾燥ワクチンを液状不活化ワクチンで溶解したもの（以下「混合ワクチン」という。）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 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、液状不活化ワクチンの pH は、固有の値を示さなければならない。

3.4.3 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、混合乾燥ワクチンは、適合しなければならない。ただし、窒素充填製品では、本試験を省略することができる。

3.4.4 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、混合乾燥ワクチンは、適合しなければならない。

3.4.5 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。

3.4.6 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、混合乾燥ワクチンは、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、本試験を省略することができる。

3.4.7 迷入ウイルス否定試験

液状不活化ワクチンと同量の滅菌水で混合乾燥ワクチンを溶解したものについて、一般試験法の迷入ウイルス否定試験法 1.1、2.5.1、2.6.1 及び 2.8.2 を準用して試験するとき、混合乾燥ワクチンは、適合しなければならない。ただし、中和用抗血清は、抗ジステンパーウイルス血清（付記 6）、抗犬アデノウイルス（2 型）血清（付記 7）、抗犬パラインフルエンザウイルス血清（付記 8）及び抗犬パルボウイルス血清（付記 9）を、それぞれ非働化したものを用いる。

3.4.8 ウイルス含有量試験

3.4.8.1 ジステンパーウイルス含有量試験

3.4.8.1.1 試験材料

3.4.8.1.1.1 試料

混合乾燥ワクチンを液状不活化ワクチンと同量の精製水で溶解する。試験品中のジステンパーウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記 7、8 及び 9）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液又は適当と認められた希釈液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.8.1.1.2 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。

3.4.8.1.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で 7～8 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。

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

3.4.8.2 犬アデノウイルス（2型）含有量試験

3.4.8.2.1 試験材料

3.4.8.2.1.1 試料

混合乾燥ワクチンを液状不活化ワクチンと同量の精製水で溶解する。試験品中の犬アデノウイルス（2型）以外のウイルスの各抗血清（付記6、8及び9）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.8.2.1.2 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

3.4.8.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ4本(穴)以上の培養細胞に接種し、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。

3.4.8.2.3 判定

培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり10^{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、そのウイルス含有量とする。

3.4.8.3 犬パラインフルエンザウイルス含有量試験

3.4.8.3.1 試験材料

3.4.8.3.1.1 試料

混合乾燥ワクチンを液状不活化ワクチンと同量の精製水で溶解する。試験品中の犬パラインフルエンザウイルス以外のウイルスの各抗血清（付記6、7及び9）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.8.3.1.2 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。

3.4.8.3.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ4本(穴)以上の培養細胞に接種し、37℃で7日間培養し、観察する。培養後、培養液を採取し、これに等量の0.4vol%モルモット赤血球浮遊液を等量加え、室温で90分間静置後し、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。

3.4.8.3.3 判定

培養液に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。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、そのウイルス含有量とする。

3.4.8.4 犬パルボウイルス含有量試験

3.4.8.4.1 試験材料

3.4.8.4.1.1 試料

混合乾燥ワクチンを液状不活化ワクチンと同量の精製水で溶解する。試験品中の犬パルボウイルス以外のウイルスの各抗血清（付記6、7及び8）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.8.4.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.8.4.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ4本(穴)以上の培養細胞に接種し、37℃で24時間培養した後、ウイルス増殖用培養液と交換し、さらに37℃で6日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液を加え、さらにこの混合液と等量のVAD6.0液で調製した0.5vol%豚赤血球浮遊液を加え、4℃で3時間又は一夜静置後、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。

3.4.8.4.3 判定

培養液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。試験品のウイルス含有量は、1 mL 中 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、そのウイルス含有量とする。

3.4.9 チメロサル定量試験

チメロサルを添加した液状不活化ワクチン及び混合乾燥ワクチンについては、一般試験法のチメロサル定量法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.4.10 アルミニウム定量試験

一般試験法のアルミニウム定量試験を準用して試験するとき、液状不活化ワクチンの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。

3.4.11 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。

3.4.12 安全試験

3.4.12.1 試験材料

3.4.12.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.12.1.2 試験動物

6 か月齢未満の犬を用いる。

3.4.12.2 試験方法

試験動物 3 頭を試験群、2 頭を対照群とする。試験群に注射材料 1 頭分ずつを用法に従って 2 回注射し、対照群と共に 6 週間観察する。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。

3.4.12.3 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。

3.4.13 力価試験

3.4.13.1 ジステンパー力価試験

3.4.13.1.1 試験材料

3.4.13.1.1.1 試験動物

3.4.12 の試験に用いた犬を用いる。

3.4.13.1.1.2 中和試験用ウイルス

ジステンパーウイルス FXNO 株又は適当と認められたジステンパーウイルス株を用いる。

3.4.13.1.1.3 培養細胞

適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.13.1.2 試験方法

3.4.12 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。各試験群の血清は、それぞれ等量をプールする。各プール血清を非働化し、ウイルス増殖用培養液又は適当と認められた希釈液で 5 倍階段希釈する。各希釈血清と 0.1 mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、4℃で一夜又は 37℃で 60 分間処理する。この各混合液 0.1 mL ずつをそれぞれ 4 本(穴)以上の培養細胞に接種し、37℃で 7～8 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。

3.4.13.1.3 判定

細胞を観察し、CPE を阻止したものを陽性とし、中和抗体価を ED₅₀ で求める。試験群の中和抗体価は、40 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、その中和抗体価とする。

3.4.13.2 犬アデノウイルス（2型）感染症力価試験

3.4.13.2.1 試験材料

3.4.13.2.1.1 試験動物

3.4.12 の試験に用いた犬を用いる。

3.4.13.2.1.2 中和試験用ウイルス

犬アデノウイルス（2型）V-197 株又は適当と認められた犬アデノウイルス（2型）株を用いる。

3.4.13.2.1.3 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。

3.4.13.2.2 試験方法

3.4.12 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。各試験群の血清は、ウイルス増殖用培養液又は適当と認められた希釈液で2又は5倍階段希釈する。各希釈血清と0.1mL 中約200TCID₅₀の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、37℃で60分間処理する。この各混合液0.1mL ずつをそれぞれ4本(穴)以上の培養細胞に接種し、37℃で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。

3.4.13.2.3 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ED₅₀で求める。

試験群の中和抗体価は、32倍以上でなければならない。この場合、対照群では、2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、その中和抗体価とする。

3.4.13.3 犬パラインフルエンザ力価試験

3.4.13.3.1 試験材料

3.4.13.3.1.1 試験動物

3.4.12 の試験に用いた犬を用いる。

3.4.13.3.1.2 中和試験用ウイルス

犬パラインフルエンザウイルスフィリップス・ロクセーン株又は適当と認められた犬パラインフルエンザウイルス株を用いる。

3.4.13.3.1.3 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。

3.4.13.3.2 試験方法

3.4.12 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。各試験群の血清は、ウイルス増殖用培養液又は適当と認められた希釈液で2倍階段希釈する。各希釈血清と0.1mL 中約200TCID₅₀の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、37℃で60分間処理する。この各混合液0.1mL ずつをそれぞれ4本(穴)以上の培養細胞に接種し、37℃で7日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の0.4vol %モルモット赤血球浮遊液を等量加え、常温で90分間静置し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.4.13.3.3 判定

培養液の赤血球凝集を阻止したものを陽性とし、中和抗体価をED₅₀で求める。試験群の中和抗体価は、4倍以上でなければならない。この場合、対照群では、2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、その中和抗体価とする。

3.4.13.4 犬パルボウイルス感染症力価試験

3.4.13.4.1 試験材料

3.4.13.4.1.1 試験動物

3.4.12 の試験に用いた犬を用いる。

3.4.13.4.1.2 赤血球凝集抗原

犬パルボウイルスK-3ip69株又は適当と認められた犬パルボウイルス株を接種したCRFK細胞培養液を不活化したもので赤血球凝集価128倍以上のものを用いる。

3.4.13.4.2 試験方法

3.4.12 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赤血球凝集抑制試験を行う。各試験群の血清は、RDE(付記10)、25w/v %カオリン液及び豚赤血球で処理した後牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液を用いて2倍階段希釈する。各段階の希釈血清に8単位に調製した血球凝集抗原を等量加え、常温で60分間処理したのちVAD6.0液で調製したウイルス調整希釈液で調製した0.5vol %豚赤血球浮遊液を等量加え、4℃で一夜静置し、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。

3.4.13.4.3 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。

試験群の赤血球凝集抑制抗体価は、64倍以上でなければならない。この場合、対照群では、8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。

3.4.13.5 犬コロナウイルス感染症力価試験

3.4.13.5.1 試験材料

3.4.13.5.1.1 注射材料

混合ワクチンを注射材料とする。

3.4.13.5.1.2 試験動物

体重約300gのモルモットを用いる。

3.4.13.5.1.3 中和試験用ウイルス

適当と認められた犬コロナウイルス株を用いる。

3.4.13.5.1.4 培養細胞

猫全胎子継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.13.5.2 試験方法

試験動物5匹を試験群、2匹を対照群とする。試験群に注射材料1mLを21日間隔で2回注射する。2回目注射後7日目の血清について中和試験を行う。各試験群の血清は、ウイルス増殖用培養液で2倍階段希釈する。各希釈血清と0.05mL中約200TCID₅₀の中和試験用ウイルス液を混合し、37℃で60分間処理する。各混合液0.05mLずつをそれぞれ4本(穴)以上の培養細胞浮遊液に接種し、37℃で6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。

3.4.13.5.3 判定

培養細胞の4穴中2穴以上にCPEの阻止を認めた血清の最高希釈倍数を中和抗体価とする。

試験群の抗体価は、80%以上が8倍以上でなければならない。この場合、対照群では、2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、その中和抗体価とする。

3.4.13.6 犬レプトスピラ病力価試験

3.4.13.6.1 試験材料

3.4.13.6.1.1 注射材料

混合ワクチンを注射材料とする。

3.4.13.6.1.2 試験動物

体重約300gのモルモットを用いる。

3.4.13.6.1.3 凝集反应用菌液

L・カニコラ及びL・イクテロヘモラジーの生菌浮遊液を用いる。

3.4.13.6.2 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、凝集反應用菌液を用いて、溶菌凝集反応を行う。

3.4.13.6.3 判定

それぞれの菌液に対して80%以上が8倍以上の凝集価を示さなければならない。

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 抗L・カニコーラ血清

L・カニコーラで免疫した兔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兔又はモルモットの血清

付記3 ウイルス増殖用培養液

1,000mL 中

牛血清 10 ~ 20 mL

トリプトース・ホスフェイト・ブロス 2.95 g

イーグル MEM 残 量

炭酸水素ナトリウムで pH を 7.0 ~ 7.6 に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記4 牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液

1,000mL 中

塩化ナトリウム 7.01 g

ホウ酸 3.09 g

水酸化ナトリウム 0.96 g

水 残 量

牛血清アルブミン 0.2w/v% となるように加えたのち、水酸化ナトリウムで pH9.0 に調整する。

付記5 VAD6.0 液

1,000mL 中

塩化ナトリウム 8.77 g

リン酸水素二ナトリウム 5.68 g

リン酸二水素ナトリウム(二水和物) 40.56 g

水 残 量

牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液と等量混合して pH6.0 に調整する。

付記6 抗ジステンパーウイルス血清

ジステンパーウイルスで免疫した兔、モルモット又はフェレットの血清で、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7 抗犬アデノウイルス(2型)血清

犬アデノウイルス(2型)で免疫した兔又はモルモットの血清で、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8 抗犬パラインフルエンザウイルス血清

犬パラインフルエンザウイルスで免疫した兔又はモルモットの血清で、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9 抗犬パルボウイルス血清

犬パルボウイルスで免疫した兎又はモルモットの血清で、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10 RDE

市販の RDE を処方に従い、生理食塩水 20mL で溶解し、小分け分注した後 - 20 ℃以下に保存する。

ワクチン（シードロット製剤）の部のニューカッスル病生ワクチン（シード）の項を次のように改める。

ニューカッスル病生ワクチン（シード）

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒ニューカッスル病ウイルスを同規格に適合した発育鶏卵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

弱毒ニューカッスル病ウイルス B 1 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

8 週齢の鶏に $10^{6.0}\text{EID}_{50}$ を点眼接種し、又は総排泄腔に擦入しても病原性を示さない。

10 日齢の発育鶏卵に 1EID_{50} を注射すると増殖し、半数以上の鶏胚を約 5 日で死亡させる。

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、SPF 動物規格の 1.1 に適合した発育鶏卵で増殖させ、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°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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。

2.1.4 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、SPF 動物規格の 1.1 に適合した発育鶏卵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°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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。

2.1.5 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、SPF 動物規格の 1.1 に適合した発育鶏卵で増殖する。

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°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 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について、3.1.3 の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 発育鶏卵

SPF 動物規格の 1.1 に適合した 9～11 日齢のものを用いる。

マスターシードウイルス、ワーキングシードウイルスを増殖、継代及び保存する場合の発育鶏卵、プロダクションシードウイルスを増殖及び保存する場合の発育鶏卵について、3.2 の試験を行う。

2.3 原液

2.3.1 発育鶏卵の培養

1 回に処理する発育鶏卵を個体別発育鶏卵とみなす。

個体別発育鶏卵について、3.3 の試験を行う。

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の発育鶏卵で培養して、尿膜腔液を採取し、そのろ液、遠心上清又はこれを濃縮したものを原液とする。

原液に相当と認められた必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

原液について、3.4の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液を混合し、相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。この場合、相当と認められた必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

小分製品が錠剤である製剤については、原液を混合して凍結乾燥し、相当と認められた賦形剤及び滑沢剤を加えて調製し、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て凍結乾燥し、小分製品とする。

小分製品が錠剤である製剤については、最終バルクを錠剤に成型し、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 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1.4.2.1.1.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.3 マイコプラズマ否定試験

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

3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

3.1.1.4.1 共通ウイルス否定試験

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

3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験

3.1.1.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験

鶏脳脊髄炎ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1及び3.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、鶏脳脊髄炎ウイルスについて3.1.1.4.2.2に規定する試験を実施する製剤については、本試験を実施しなくてもよい。

3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

鶏白血病ウイルス、細網内皮症ウイルス及び鶏脳脊髄炎ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、3.2.1、3.2.2及び3.2.10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、鶏脳脊髄炎ウイルスについて3.1.1.4.2.1に規定する試験を実施する製剤については、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の3.2.10の試験を実施しなくてもよい。

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 発育鶏卵の試験

3.2.1 孵卵性状試験

シードロット規格の 3.2.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3 個体別発育鶏卵の試験

個体別発育鶏卵の 1 % 以上又は 30 個以上を対照発育鶏卵とし、これについて次の試験を行う。

3.3.1 培養観察

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

3.3.2 鶏赤血球凝集試験

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

3.4 原液の試験

3.4.1 生菌数限度試験

一般試験法の生菌数限度試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.4.2 ウイルス含有量試験

3.4.2.1 試験材料

3.4.2.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.2.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 9 ~ 11 日齢のものをを用いる。

3.4.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 5 個以上の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、37℃で 5 日間培養し、観察する。試験最終日に尿膜腔液を採取し、0.5vol % 鶏赤血球浮遊液を用いて赤血球凝集試験を行う。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その方法とする。

3.4.2.3 判定

尿膜腔液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、 EID_{50} を算出する。ただし、24 時間以内に死亡したものは除外する。

検体のウイルス含有量は、1 mL 中 $10^{8.5}EID_{50}$ 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。

3.5 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、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又は均質な懸濁液でなければならない。異物又は異臭を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

3.5.2 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。

3.5.3 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。

3.5.4 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。

3.5.5 サルモネラ否定試験

一般試験法のサルモネラ否定試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.5.6 生菌数限度試験

一般試験法の生菌数限度試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.5.7 ウイルス含有量試験

3.4.2 を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、1羽分当たり $10^{5.5}$ EID₅₀ 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。

3.5.8 マーカー試験

3.5.8.1 試験材料

3.5.8.1.1 試料

試験品をリン酸緩衝食塩液を用いてウイルスが 0.5mL 当たり 1羽分及び 1/10 羽分含まれるように調整し、試料とする。

3.5.8.1.2 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 9～10 日齢の発育鶏卵の胚から得た細胞を細胞増殖用培養液（付記 1）で浮遊し、約 20cm² 以上のシャーレに分注し、培養し、単層となったものを用いる。

3.5.8.2 試験方法

試料 0.5mL をそれぞれ 2 枚以上の培養細胞に接種し、37℃で 60 分間静置した後、重層寒天培地（付記 2）を重層し、37℃で 4 日間培養し、ブラック形成の有無を観察する。

3.5.8.3 判定

細胞にブラックの形成を認めてはならない。

3.5.9 安全試験

3.5.9.1 試験材料

3.5.9.1.1 接種材料

試験品をリン酸緩衝食塩液を用いてウイルスが 0.03mL 当たり 10 羽分含まれるように調整し、接種材料とする。

3.5.9.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 4 日齢の鶏を用いる。

3.5.9.2 試験方法

試験動物 10 羽を試験群、5 羽を対照群とする。

接種材料 0.03mL ずつを試験群に点眼接種し、対照群とともに 3 週間観察する。

試験開始時及び試験終了時に体重を測定する。

3.5.9.3 判定

観察期間中、対照群においては、臨床的な異常を認めてはならず、試験群においては、一過性の呼吸器症状及び結膜の充血を呈することがあっても、その他の異常を認めてはならない。

3.5.10 力価試験

3.5.10.1 試験材料

3.5.10.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

3.5.10.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 4～5 週齢の鶏を用いる。

3.5.10.1.3 攻撃ウイルス

強毒ニューカッスル病ウイルス佐藤株で感染させた尿膜腔液であり、約 40 日齢の鶏の筋肉内に注射し、そのウイルス量を測定するとき、1 mL 中 $10^{6.0}$ 致死量以上を有するものを用いる。

使用時、リン酸緩衝食塩液を用いて、1 mL 中 $10^{4.0}$ 致死量となるように調整する。

3.5.10.2 試験方法

試験動物 10 羽を試験群、5 羽を対照群とする。

試験群に接種材料 1 羽分ずつを点鼻接種し、2 週間後に試験群及び対照群の全てに攻撃ウイルス 1 mL を筋肉内に注射して攻撃し、2 週間観察する。

3.5.10.3 判定

試験終了時、試験群は、80 % 以上が異常なく耐過しなければならない。この場合、対照群は、100 % 発病して死亡しなければならない。

3.5.11 崩壊試験

小分製品が錠剤である製剤について次の試験を行う。

3.5.11.1 試験方法

試験品 1 錠を 15 ~ 25 °C の水 200 mL の入ったビーカーに入れ、ガスの発生が終了するまでの時間を測定する。

5 錠についてこの操作を繰り返す。

3.5.11.2 判定

ガスの発生が終了すると、水中において溶解又は分散して粒子の塊を認めない場合を崩壊したものとする。

全てが 6 分以内に崩壊しなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、1 年 6 か月間とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その期間とする。

付記 1 細胞増殖用培養液

1,000 mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス

2.95 g

牛血清

30 ~ 50 mL

イーグル MEM

残 量

炭酸水素ナトリウムで pH6.8 ~ 7.2 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 重層寒天培地

1,000 mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス

2.95 g

牛血清

10 mL

ニュートラルレッド

50 mg

寒天

9 g

イーグル MEM

残 量

炭酸水素ナトリウムで pH6.8 ~ 7.2 に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

ワクチン（シードロット製剤）の部のジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症混合生ワクチン（シード）の項を次のように改める。

ジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症混合生ワクチン（シード）

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒ジステンパーウイルス、弱毒犬アデノウイルス（2型）、弱毒犬パラインフルエンザウイルス及び弱毒犬パルボ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 ジステンパーウイルス

2.1.1.1 名称

弱毒ジステンパーウイルスオンダーステポート株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。発育鶏卵の漿尿膜上又は感受性のある培養細胞に接種すると、ボック又はCPEを伴って増殖する。

2.1.1.3 マスターシードウイルス

2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードウイルスは、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。

2.1.1.4 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－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。

2.1.1.5 プロダクションシードウイルス

2.1.1.5.1 増殖、継代及び保存

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を保存する場合について、3.1.3の試験を行う。

2.1.2 犬アデノウイルス（2型）

2.1.2.1 名称

弱毒犬アデノウイルス（2型）マンハッタンLPV3株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。感受性のある培養細胞に接種すると、CPE を伴って増殖する。

2.1.2.3 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－70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

マスターシードウイルスについて、3.1.1 の試験を行う。

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

2.1.2.4 ワーキングシードウイルス

2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、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。

2.1.2.5 プロダクションシードウイルス

2.1.2.5.1 増殖、継代及び保存

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を保存する場合について、3.1.3 の試験を行う。

2.1.3 犬パラインフルエンザウイルス

2.1.3.1 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

2.1.3.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。感受性のある培養細胞に接種すると増殖し、細胞はモルモット赤血球を吸着する。

2.1.3.3 マスターシードウイルス

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。

2.1.3.4 ワーキングシードウイルス

2.1.3.4.1 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。

2.1.3.5 プロダクションシードウイルス

2.1.3.5.1 増殖、継代及び保存

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を保存する場合について、3.1.3 の試験を行う。

2.1.4 犬パルボウイルス

2.1.4.1 名称

弱毒犬パルボウイルス 154 株又は製造に適当と認められた株

2.1.4.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。犬及び猫由来細胞で核内封入体を伴って増殖し、その培養ウイルス液は豚及び猿の赤血球を凝集する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その性状を示すものとする。

2.1.4.3 マスターシードウイルス

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。

2.1.4.4 ワーキングシードウイルス

2.1.4.4.1 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。

2.1.4.5 プロダクションシードウイルス

2.1.4.5.1 増殖、継代及び保存

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を保存する場合について、3.1.3 の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 ジステンパーウイルス

2.2.1.1 培養細胞

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、保存及び小分製品までの最高継代数

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、特定の番号又は製造記号を付し、凍結して－70℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

マスター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℃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。

2.2.1.5 プロダクションセルシード

2.2.1.5.1 増殖、継代及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.1.2 の培養液で増殖する。

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

プロダクションシードウイルスを保存する場合について、3.2.3 の試験を行う。

2.2.2 大アデノウイルス（2型）

2.2.2.1 培養細胞

製造に相当と認められた株化細胞を用いる。

2.2.2.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.2.3 マスターセルシード

2.2.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

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℃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。

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。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。

2.2.2.5 プロダクションセルシード

2.2.2.5.1 増殖、継代及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.2.2 の培養液で増殖する。

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

プロダクションシードウイルスを保存する場合について、3.2.3 の試験を行う。

2.2.3 犬パラインフルエンザウイルス

2.2.3.1 培養細胞

製造に相当と認められた株化細胞を用いる。

2.2.3.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.3.3 マスターセルシード

2.2.3.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターセルシードは、2.2.3.2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℃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。

2.2.3.4 ワーキングセルシード

2.2.3.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.3.2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。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。

2.2.3.5 プロダクションセルシード

2.2.3.5.1 増殖、継代及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.3.2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。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ウイルスを保存する場合について、3.2.3の試験を行う。

2.2.4 犬パルボウイルス

2.2.4.1 培養細胞

製造に相当と認められた株化細胞を用いる。

2.2.4.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.4.3 マスターセルシード

2.2.4.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターセルシードは、2.2.4.2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℃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。

2.2.4.4 ワーキングセルシード

2.2.4.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.4.2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。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。

2.2.4.5 プロダクションセルシード

2.2.4.5.1 増殖、継代及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.4.2 の培養液で増殖する。

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

プロダクションシードウイルスを保存する場合について、3.2.3 の試験を行う。

2.3 原液

2.3.1 ジステンパーウイルス原液

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、適当と認められた時期に個別別培養細胞ごとに採取した培養液のろ液又は遠心上清を原液とする。

原液について、3.3.1 及び 3.3.2.1 の試験を行う。

2.3.2 犬アデノウイルス（2 型）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、適当と認められた時期に個別別培養細胞ごとに採取した培養液のろ液又は遠心上清を原液とする。

原液について、3.3.1 及び 3.3.2.2 の試験を行う。

2.3.3 犬パラインフルエンザウイルス原液

2.3.3.1 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。

2.3.3.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを 2.3.3.1 の細胞で培養し、適当と認められた時期に個別別培養細胞ごとに採取した培養液のろ液又は遠心上清を原液とする。

原液について、3.3.1 及び 3.3.2.3 の試験を行う。

2.3.4 犬パルボウイルス原液

2.3.4.1 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。

2.3.4.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを 2.3.4.1 の細胞で培養し、適当と認められた時期に個別別培養細胞ごとに採取した培養液のろ液、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 及び 3.3.2.4 の試験を行う。

2.4 最終バルク

ジステンパーウイルス原液、犬アデノウイルス（2 型）原液、犬パラインフルエンザウイルス原液及び犬パルボウイルス原液を混合し、適当と認められた安定剤を加え、最終バルクとする。

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1.4.2.1.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.3 マイコプラズマ否定試験

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

3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

3.1.1.4.1 共通ウイルス否定試験

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

3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験

3.1.1.4.2.1 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、猫由来細胞を用いる場合には、猫白血病ウイルス／猫肉腫ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の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－粘膜病ウイルス、犬パルボウイルス又は猫汎白血球減少症ウイルス及び日本脳炎ウイルス又は狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の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。

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法

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、猫由来細胞を用いる場合には、猫白血病ウイルス／猫肉腫ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 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－粘膜病ウイルス、犬パルボウイルス又は猫汎白血球減少症ウイルス及び日本脳炎ウイルス又は狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 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 腫瘍形成試験／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 ジステンパーウイルス含有量試験

3.3.2.1.1 試験材料

3.3.2.1.1.1 試料

検体を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

Vero 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、35 ～ 37℃ で 7 ～ 21 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、1 mL 中 10^{4.5}TCID₅₀ 以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.3.2.2 犬アデノウイルス（2 型）含有量試験

3.3.2.2.1 試験材料

3.3.2.2.1.1 試料

検体を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

豚腎培養細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.2.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、35 ～ 37℃ で 7 ～ 10 日間培養し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.3.2.2.3 判定

培養細胞に CPE を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。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^{4.5}TCID₅₀ 以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.3.2.3 犬パラインフルエンザウイルス含有量試験

3.3.2.3.1 試験材料

3.3.2.3.1.1 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。

3.3.2.3.1.2 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。

3.3.2.3.2 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、30℃ で 7 日間又は 37℃ で 10 日間培養し、観察する。培養後、培養液を除き、培養液と等量の 0.2vol% モルモット赤血球浮遊液を加え、2 ～ 5℃ で 60 分間静置し、観察するか、又は培養後、培養液を採取し、これに等量の 0.4vol% モルモット赤血球浮遊液を加え、常温で 90 分間静置し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.3.2.3.3 判定

培養細胞に CPE 又は赤血球吸着を認めたもの若しくは培養液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。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^{4.5}TCID₅₀ 以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.3.2.4 犬パルボウイルス含有量試験

3.3.2.4.1 試験材料

3.3.2.4.1.1 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。

3.3.2.4.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.2.4.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、32℃で 24 時間静置培養した後、ウイルス増殖用培養液と交換し、更に 32℃で 6 日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量のホウ酸緩衝食塩液（付記 2）を加え、更にこの混合液と等量の 0.3 ～ 0.5vol% 豚赤血球浮遊液を加え、2～5℃で静置後、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.3.2.4.3 判定

培養液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。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^{6.5}TCID₅₀ 以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.4 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。ただし、窒素充填製品したものは、本試験の実施を省略することができる。

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法

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 ジステンパーウイルス含有量試験

3.4.6.1.1 試験材料

3.4.6.1.1.1 試料

試験品中のジステンパーウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記 3、4 及び 5）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.6.1.1.2 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。

3.4.6.1.2 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、35～37℃で 7～21 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。

3.4.6.1.3 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。

試験品のウイルス含有量は、1 mL 中 10^{3.5}TCID₅₀ 以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.4.6.2 犬アデノウイルス（2型）含有量試験

3.4.6.2.1 試験材料

3.4.6.2.1.1 試料

試験品中の犬アデノウイルス（2型）以外のウイルスを各抗血清（付記4、5及び6）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.6.2.1.2 培養細胞

豚腎培養細胞又は犬腎継代細胞を用いる。

3.4.6.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ4本（穴）以上の培養細胞に接種し、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。

3.4.6.2.3 判定

培養細胞に CPE を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。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、豚腎培養細胞に接種した場合は、1頭分当たり 10^{5.5}TCID₅₀ 以上でなければならない。犬腎継代細胞に接種した場合は、1頭分当たり 10^{3.5}TCID₅₀ 以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.4.6.3 犬パラインフルエンザウイルス含有量試験

3.4.6.3.1 試験材料

3.4.6.3.1.1 試料

試験品中の犬パラインフルエンザウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記3、5及び6）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.6.3.1.2 培養細胞

Vero 細胞又は犬腎継代細胞を用いる。

3.4.6.3.2 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、Vero 細胞に接種した場合は 30℃又は 37℃で、犬腎継代細胞に接種した場合は、37℃でそれぞれ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。

3.4.6.3.3 判定

Vero 細胞に接種した場合は、培養細胞に CPE を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり 10^{5.5}TCID₅₀ 以上でなければならない。

犬腎継代細胞に接種した場合は、培養後、培養液を採取し、等量の 0.4vol%モルモット赤血球浮遊液を加え、常温で 90 分間静置後赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、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^{4.7}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。

3.4.6.4 犬パルボウイルス含有量試験

3.4.6.4.1 試験材料

3.4.6.4.1.1 試料

試験品中の犬パルボウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記 3、4 及び 6）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.6.4.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.6.4.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、32℃又は 37℃で 24 時間静置培養した後、ウイルス増殖用培養液で液交換し、32℃又は 37℃でそれぞれ 6 日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量のホウ酸緩衝食塩液を加え、更にこの混合液と等量の 0.3 ～ 0.5vol% 豚赤血球浮遊液を加え、2 ～ 5℃で静置後、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.4.6.4.3 判定

培養液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。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 32℃で培養した場合は、10^{4.5}TCID₅₀ 以上でなければならない。37℃で培養した場合は、10^{4.0}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。

3.4.7 異常毒性否定試験

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

3.4.8 安全試験

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

6 か月齢未満の犬を用いる。

3.4.8.2 試験方法

試験動物 3 頭を試験群、2 頭を対照群とする。試験群に注射材料 1 頭分を用法に従ってそれぞれ注射し、対照群とともに 4 週間観察する。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。

3.4.8.3 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。

3.4.9 力価試験

3.4.9.1 ジステンパー力価試験

3.4.9.1.1 試験材料

3.4.9.1.1.1 試験動物

3.4.8 の試験に用いた動物を用いる。

3.4.9.1.1.2 中和試験用ウイルス

適当と認められたジステンパーウイルス株を用いる。

3.4.9.1.1.3 培養細胞

適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.9.1.2 試験方法

3.4.8 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。各試験群の血清は、それぞれ等量をプールする。

各プール血清を非働化し、2 vol% 馬血清加リン酸緩衝食塩液又は適当と認められた希釈液で 4 又は 5 倍階段希釈する。各希釈血清と 0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、2 ～ 5℃で一夜又は 37℃で 60 分間処理する。この各混合液 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本

(穴) 以上の培養細胞に接種し、35 ～ 37 ℃で7 ～ 21 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。

3.4.9.1.3 判定

細胞を観察し、CPE を阻止したものを陽性とし、中和抗体価を ED_{50} で求める。

試験群の中和抗体価は、40 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、10 倍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、その抗体価とする。

3.4.9.2 犬アデノウイルス（2型）感染症力価試験

3.4.9.2.1 試験材料

3.4.9.2.1.1 試験動物

3.4.8 の試験に用いた動物を用いる。

3.4.9.2.1.2 中和試験用ウイルス

適当と認められた犬アデノウイルス（2型）ウイルスを用いる。

3.4.9.2.1.3 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。

3.4.9.2.2 試験方法

3.4.8 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。各試験群の血清は、それぞれ等量をプールする。

各プール血清を非働化し、1 vol%牛胎子血清加リン酸緩衝食塩液又は適当と認められた希釈液で2、4又は5倍階段希釈する。各希釈血清と0.1mL 中約200TCID₅₀の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、35 ～ 37 ℃で60分間処理する。この各混合液0.1mL ずつをそれぞれ4本（穴）以上の培養細胞に接種し、35 ～ 37 ℃で7 ～ 10 日間培養し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.4.9.2.3 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_{50} で求める。

試験群の中和抗体価は、50 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、10 倍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、その抗体価とする。

3.4.9.3 犬パラインフルエンザ力価試験

3.4.9.3.1 試験材料

3.4.9.3.1.1 試験動物

3.4.8 の試験に用いた動物を用いる。

3.4.9.3.1.2 中和試験用ウイルス

適当と認められた犬パラインフルエンザウイルス株を用いる。

3.4.9.3.1.3 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。

3.4.9.3.2 試験方法

3.4.8 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。各試験群の血清は、それぞれ等量をプールする。

各プール血清を非働化し、1 vol%牛胎子血清加リン酸緩衝食塩液又は適当と認められた希釈液で2倍階段希釈する。各希釈血清と0.1mL 中約200TCID₅₀の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、適当な温度で60分間処理する。この各混合液0.1mL ずつをそれぞれ4本（穴）以上の培養細胞に接種し、35 ～ 37 ℃で7 ～ 10 日間培養し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.4.9.3.3 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_{50} で求める。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、10 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、4 倍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、その抗体価とする。

3.4.9.4 犬パルボウイルス感染症力価試験

3.4.9.4.1 試験材料

3.4.9.4.1.1 試験動物

3.4.8 の試験に用いた動物を用いる。

3.4.9.4.1.2 中和試験用ウイルス又は赤血球凝集抑制抗原

中和試験用ウイルスは、犬パルボウイルス Y-1 株又は適当と認められた犬パルボウイルスを用いる。

赤血球凝集抗原は、犬パルボウイルス赤血球凝集抗原（付記 7）を用いる。

3.4.9.4.1.3 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.9.4.2 試験方法

中和試験又は赤血球凝集抑制試験を行う。

3.4.9.4.2.1 中和試験

3.4.8 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。各試験群の血清は、それぞれ等量をプールする。

各プール血清を非働化し、1 vol%牛胎子血清加リン酸緩衝食塩液又は適当と認められた希釈液で 2 倍階段希釈する。各希釈血清と 0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、35 ～ 37℃で 60 分間処理する。この各混合液 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、35 ～ 37℃で 24 時間静置培養した後、ウイルス増殖用培養液で液交換し、更に 35 ～ 37℃で 6 日間培養する。培養最終日に、培養液を採取し、これに等量のホウ酸緩衝食塩液を加え、更に、この混合液と等量の VAD6.0 液（付記 8）で調製した 0.3 ～ 0.5vol%豚赤血球浮遊液を添加し、2 ～ 5℃で静置後、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。

3.4.9.4.2.2 赤血球凝集抑制試験

3.4.8 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赤血球凝集抑制試験を行う。各試験群の血清は、それぞれ等量をプールする。

各プール血清を非働化し、25w/v%カオリン液及び豚赤血球を加えて処理した後、ホウ酸緩衝食塩液で 2 倍階段希釈する。各希釈血清に 8 単位の犬パルボウイルス赤血球凝集抗原を混合し、常温で 60 分間処理し、VAD6.0 液で調製した 0.3 ～ 0.5vol%豚赤血球浮遊液を加え 4℃で一夜静置し、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。

3.4.9.4.3 判定

3.4.9.4.3.1 中和試験判定

赤血球凝集を阻止したものを陽性とし、中和抗体価を ED₅₀ で求める。

試験群の中和抗体価は、200 倍以上でなければならない。この場合、対照群は、4 倍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、その抗体価とする。

3.4.9.4.3.2 赤血球凝集抑制試験判定

赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価とする。

試験群の赤血球凝集抑制抗体価は、64 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、8 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。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後 1 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 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

牛胎子血清 0 ~ 20 mL

イーグル MEM 残 量

炭酸水素ナトリウムで pH を 7.4 ~ 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 ホウ酸緩衝食塩液

1,000mL 中

塩化ナトリウム 7.01 g

ホウ酸 3.09 g

水酸化ナトリウム 0.96 g

水 残 量

水酸化ナトリウム液で pH を 9.0 に調整する。

付記3 抗犬アデノウイルス（2型）血清

犬アデノウイルス（2型）で免疫した兎又はモルモットの血清で、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4 抗犬パラインフルエンザウイルス血清

犬パラインフルエンザウイルスで免疫した兎又はモルモットの血清で、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5 抗犬パルボウイルス血清

犬パルボウイルスで免疫した兎又はモルモットの血清で、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6 抗ジステンパーウイルス血清

ジステンパーウイルスで免疫した兎、モルモット又はフェレットの血清で、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7 犬パルボウイルス赤血球凝集抗原

犬パルボウイルス Y-1 株又は適当と認められたウイルス株を猫腎継代細胞で増殖させて得た培養上清を不活化したもので、赤血球凝集価が 128 倍以上のもの

付記8 VAD6.0 液

1,000mL 中

塩化ナトリウム 8.77 g

無水リン酸水素二ナトリウム 5.68 g

リン酸二水素ナトリウム二水和物 40.56 g

水 残 量

ホウ酸緩衝食塩液と等量混合して pH を 6.0 に調整する。

ワクチン（シードロット製剤）の部のジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症混合ワクチン（シード）の項を次のように改める。

ジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症混合（アジュバント加）ワクチン（シード）

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒ジステンパーウイルス、弱毒犬アデノウイルス（2型）、弱毒犬パラインフルエンザウイルス及び弱毒犬パルボ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の混合液を凍結乾燥したワクチン（以下この項において「混合生ワクチン」という。）と、同規格に適合した犬コロナ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不活化してアルミニウムゲルアジュバントを加えたワクチン（以下この項において「液状不活化ワクチン」という。）とを組み合わせたワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 ジステンパーウイルス

2.1.1.1 名称

弱毒ジステンパーウイルス N-CDV 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。犬腎株化細胞又は感受性のある培養細胞に接種すると CPE を伴って増殖する。

2.1.1.3 マスターシードウイルス

2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

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

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

マスターシードウイルスについて、3.1.1 の試験を行う。

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

2.1.1.4 ワーキングシードウイルス

2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存

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

ワーキングシードウイルスは、凍結して－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 の試験を行う。

2.1.1.5 プロダクションシードウイルス

2.1.1.5.1 増殖及び保存

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

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して－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を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.2 犬アデノウイルス（2型）

2.1.2.1 名称

弱毒犬アデノウイルス（2型）マンハッタン株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。感受性のある培養細胞に接種すると、CPE を伴って増殖する。

2.1.2.3 マスターシードウイルス

2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

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

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

マスターシードウイルスについて、3.1.1 の試験を行う。

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

2.1.2.4 ワーキングシードウイルス

2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存

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

ワーキングシードウイルスは、凍結して－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 の試験を行う。

2.1.2.5 プロダクションシードウイルス

2.1.2.5.1 増殖及び保存

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

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して－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を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.3 犬パラインフルエンザウイルス

2.1.3.1 名称

弱毒犬パラインフルエンザウイルス NL-CPI-5 株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。感受性のある培養細胞に接種すると増殖し、細胞はモルモット赤血球を吸着する。

2.1.3.3 マスターシードウイルス

2.1.3.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

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

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

マスターシードウイルスについて、3.1.1 の試験を行う。

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

2.1.3.4 ワーキングシードウイルス

2.1.3.4.1 増殖、継代及び保存

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

ワーキングシードウイルスは、凍結して－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 の試験を行う。

2.1.3.5 プロダクションシードウイルス

2.1.3.5.1 増殖及び保存

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

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して－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を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.4 犬パルボウイルス

2.1.4.1 名称

弱毒犬パルボウイルス NL-35-D-IP 株又は製造に適当と認められた株

2.1.4.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。犬及び猫由来細胞で核内封入体を伴って増殖し、その培養ウイルス液は豚及び猿の赤血球を凝集する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その性状を示すものとする。

2.1.4.3 マスターシードウイルス

2.1.4.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

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

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

マスターシードウイルスについて、3.1.1 の試験を行う。

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

2.1.4.4 ワーキングシードウイルス

2.1.4.4.1 増殖、継代及び保存

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

ワーキングシードウイルスは、凍結して－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 の試験を行う。

2.1.4.5 プロダクションシードウイルス

2.1.4.5.1 増殖及び保存

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

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して－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を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.5 犬コロナウイルス

2.1.5.1 名称

犬コロナウイルス NL-18 株又はこれと同等と認められた株

2.1.5.2 性状

感受性のある培養細胞に接種すると、CPE を伴って増殖する。

2.1.5.3 マスターシードウイルス

2.1.5.3.1 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、猫腎株化細胞又は適当と認められた細胞で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

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

マスターシードウイルスについて、3.1.1の試験を行う。

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

2.1.5.4 ワーキングシードウイルス

2.1.5.4.1 増殖、継代及び保存

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

ワーキングシードウイルスは、凍結して－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の試験を行う。

2.1.5.5 プロダクションシードウイルス

2.1.5.5.1 増殖及び保存

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

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して－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 ジステンパーウイルス

2.2.1.1 株化細胞

犬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。

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。

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－ 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。

プロダクションセルシードを保存する場合は、3.2.3 の試験を行う。

2.2.2 犬アデノウイルス（2型）

2.2.2.1 株化細胞

犬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。

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－ 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。

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－ 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。

ワーキングセルシードについて、3.2.2 の試験を行う。

2.2.2.5 プロダクションセルシード

2.2.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.2.2 の培養液で増殖させる。

プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して－ 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。

プロダクションセルシードを保存する場合は、3.2.3 の試験を行う。

2.2.3 犬パラインフルエンザウイルス

2.2.3.1 株化細胞

犬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。

2.2.3.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.3.3 マスターセルシード

2.2.3.3.1 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、2.2.3.2 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。

2.2.3.4 ワーキングセルシード

2.2.3.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.3.2 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。

ワーキングセルシードについて、3.2.2 の試験を行う。

2.2.3.5 プロダクションセルシード

2.2.3.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.3.2 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－ 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。

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。

2.2.4 犬パルボウイルス

2.2.4.1 株化細胞

犬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。

2.2.4.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.4.3 マスターセルシード

2.2.4.3.1 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、2.2.4.2 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。

2.2.4.4 ワーキングセルシード

2.2.4.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.4.2 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。

ワーキングセルシードについて、3.2.2 の試験を行う。

2.2.4.5 プロダクションセルシード

2.2.4.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.4.2 の培養液で増殖させる。

プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して－ 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。

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。

2.2.5 犬コロナウイルス

2.2.5.1 株化細胞

猫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。

2.2.5.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.5.3 マスターセルシード

2.2.5.3.1 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、2.2.5.2 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、凍結乾燥して－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。

2.2.5.4 ワーキングセルシード

2.2.5.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.5.2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。

ワーキングセルシードについて、3.2.2の試験を行う。

2.2.5.5 プロダクションセルシード

2.2.5.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.5.2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－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。

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 ジステンパーウイルス原液

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、適当と認められた時期に個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 犬アデノウイルス（2型）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、適当と認められた時期に個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。

2.3.3 犬パラインフルエンザウイルス原液

2.3.3.1 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。

2.3.3.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを2.3.3.1の細胞で培養し、適当と認められた時期に個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3.3.3.3の試験を行う。

2.3.4 犬パルボウイルス原液

2.3.4.1 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。

2.3.4.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを 2.3.4.1 の細胞で培養し、適当と認められた時期に個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 3.3.3.4 の試験を行う。

2.3.5 犬コロナウイルス原液

2.3.5.1 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。

2.3.5.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを 2.3.5.1 の細胞で培養し、適当と認められた時期に個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 3.3.3.5 の試験を行う。

2.3.5.3 不活化

ウイルス浮遊液をホルマリン又は適当と認められた不活化剤を加えて不活化し、不活化ウイルス浮遊液とする。

2.3.5.4 不活化原液

不活化ウイルス浮遊液、不活化ウイルス浮遊液を適当と認められた方法で濃縮したもの又は不活化ウイルス浮遊液に適当と認められた保存剤を添加したものを不活化原液とする。

不活化原液について、3.3.4 の試験を行う。

2.4 最終バルク

2.4.1 混合生ワクチン

ジステンパーウイルス原液、犬アデノウイルス（2 型）原液、犬パラインフルエンザウイルス原液及び犬パルボウイルス原液を混合し、最終バルクとする。この場合、適当と認められた保存剤及び安定剤を添加してよい。

2.4.2 液状不活化ワクチン

適当と認められた溶液で濃度調整した犬コロナウイルス原液にアルミニウムゲルアジュバントを混合し、最終バルクとする。この場合、適当と認められた保存剤を添加してもよい。

2.5 小分製品

2.5.1 混合生ワクチン

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、3.4 の試験を行う。

2.5.2 液状不活化ワクチン

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、3.4 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

各ウイルス株のマスターシードウイルスについて、以下の試験を行う。ただし、不活化成分のウイルス株のマスターシードウイルスについては、3.1.1.5、3.1.1.6 及び 3.1.1.7 の試験を行わなくてもよい。

3.1.1.1 同定試験

シードロット規格の 1.4.2.1.1.2 又は 1.4.2.3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.3 マイコプラズマ否定試験

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

3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

3.1.1.4.1 共通ウイルス否定試験

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

3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験

3.1.1.4.2.1 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、猫由来細胞を用いる場合には、猫白血病ウイルス／猫肉腫ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 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－粘膜病ウイルス、犬パルボウイルス、猫汎白血球減少症ウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.1、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。

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法

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、猫由来細胞を用いる場合には、猫白血病ウイルス／猫肉腫ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 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-粘膜病ウイルス、犬パルボウイルス、猫汎白血球減少症ウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.2、3.2.5、3.2.6 及び 3.2.9 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.6 核学的（染色体）性状試験

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

3.2.1.7 腫瘍形成性／腫瘍原性試験

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

3.2.2 ワーキングセルシードの試験

3.2.2.1 培養性状試験

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

3.2.2.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2.3 マイコプラズマ否定試験

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

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 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 ジステンバー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）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。

3.3.3.1.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.3.1.2 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、37℃で7～8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、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^{4.8}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。

3.3.3.2 犬アデノウイルス（2型）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

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.3.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ4本（穴）以上の培養細胞に接種し、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。

3.3.3.2.3 判定

培養細胞に CPE を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。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^{7.3}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。

3.3.3.3 犬パラインフルエンザウイルス含有量試験

3.3.3.3.1 試験材料

3.3.3.3.1.1 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。

3.3.3.3.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.3.3.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ4本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で7日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の 0.4vol %モルモット赤血球浮遊液を等量加え、室温で 90 分間静置し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.3.3.3.3 判定

培養液に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 10^{6.3}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。

3.3.3.4 犬パルボウイルス含有量試験

3.3.3.4.1 試験材料

3.3.3.4.1.1 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。

3.3.3.4.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.3.4.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ4本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で24時間培養した後、ウイルス増殖用培養液と交換し、さらに37℃で6日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液（付記2）を加え、更に混合液と等量のVAD6.0液（付記3）で調製した0.5vol %豚赤血球浮遊液を加え、4℃で静置後、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。

3.3.3.4.3 判定

培養液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。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^{4.7}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。

3.3.3.5 犬コロナウイルス含有量試験又は犬コロナウイルス抗原量測定試験

3.3.3.5.1 犬コロナウイルス含有量試験

3.3.3.5.1.1 試験材料

3.3.3.5.1.1.1 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。

3.3.3.5.1.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.3.5.1.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ4本（穴）以上の培養細胞浮遊液に接種し、37℃で5日間培養する。培養後、試料を接種した細胞を70vol %冷アセトンで固定し、蛍光抗体法を用いて特異蛍光の有無を観察する。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。

3.3.3.5.1.3 判定

特異蛍光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^{4.5}TCID₅₀ 以上でなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、そのウイルス含有量とする。

3.3.3.5.2 犬コロナウイルス抗原量測定試験

3.3.3.5.2.1 試験材料

検体、参照品、抗犬コロナウイルスモノクローナル抗体、抗犬コロナウイルス兔抗体、アルカリフォスファターゼ標識抗兔IgG及びp-ニトロフェニルリン酸基質液を用いる。

3.3.3.5.2.2 試験方法

二抗体サンドイッチ ELISA 法により犬コロナウイルス抗原量を測定する。ELISA プレートに抗犬コロナウイルスモノクローナル抗体液を分注し、37℃ 90 分間反応させ固相化する。以下各反応後に洗浄液で洗浄する。1%牛血清アルブミン・ポリソルベート加里ン酸緩衝食塩液を分注し、37℃で60分間反応させブロッキングする。検体及び参照品を2倍階段希釈した各希釈液を各穴に加え、37℃ 60分間反応する。抗犬コロナウイルス兔抗体液を各穴に加え、37℃で60分間反応する。アルカリフォスファターゼ標識抗兔IgG液を各穴に加え、37℃で60分間反応する。p-ニトロフェニルリン酸基質液を加え、37℃で25～30分間反応させた後、3 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を加えて反応を停止する。主波長 405 nm、副波長 490 nm で吸光度を測定する。

3.3.3.5.2.3 判定

参照品に対する検体の相対抗原量を算出するとき、500RU/mL 以上でなければならない。

3.3.4 犬コロナウイルス不活化試験

3.3.4.1 試験材料

3.3.4.1.1 試料

検体 2 mL を 100 倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、4℃で一夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

3.3.4.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.4.2 試験方法

試料を 25cm² 以上の培養細胞 2 本に 1 mL ずつ接種し、37℃で 60 分間吸着した後、リン酸緩衝食塩液で細胞面を洗浄する。ウイルス増殖用培養液を加え、37℃で 5 日間培養後、接種した培養細胞を継代し、さらに 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。

3.3.4.3 判定

培養細胞に CPE を認めてはならない。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、混合生ワクチンは、固有の色調を有する乾燥物でなければならない。また、液状不活化ワクチンは、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。混合生ワクチンを液状不活化ワクチンで溶解したものは、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 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、液状不活化ワクチンの pH は、固有の値を示さなければならない。

3.4.3 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、混合生ワクチンは、適合しなければならない。ただし、窒素充填製品では、本試験を省略することができる。

3.4.4 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、混合生ワクチンは、適合しなければならない。

3.4.5 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。

3.4.6 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、混合生ワクチンは、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、本試験を省略することができる。

3.4.7 ウイルス含有量試験

3.4.7.1 ジステンパーウイルス含有量試験

3.4.7.1.1 試験材料

3.4.7.1.1.1 試料

混合生ワクチンを液状不活化ワクチンと同量の滅菌水で溶解する。試験品中のジステンパーウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記 5、6 及び 7）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液又は適当と認められた希釈液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.7.1.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.7.1.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを4本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で7～8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。

3.4.7.1.3 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。

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

3.4.7.2 犬アデノウイルス（2型）含有量試験

3.4.7.2.1 試験材料

3.4.7.2.1.1 試料

混合生ワクチンを液状不活化ワクチンと同量の滅菌水で溶解する。試験品中の犬アデノウイルス（2型）以外のウイルスを各抗血清（付記4、6及び7）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.7.2.1.2 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。

3.4.7.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ4本（穴）以上の培養細胞に接種し、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。

3.4.7.2.3 判定

培養細胞に CPE を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。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^{5.0} 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。

3.4.7.3 犬パラインフルエンザウイルス含有量試験

3.4.7.3.1 試験材料

3.4.7.3.1.1 試料

混合生ワクチンを液状不活化ワクチンと同量の滅菌水で溶解する。試験品中の犬パラインフルエンザウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記4、5及び7）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.7.3.1.2 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。

3.4.7.3.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ4本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で7日間培養し、観察する。培養後、培養液を採取し、これに等量の 0.4vol %モルモット赤血球浮遊液を加え、室温で90分間静置し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.4.7.3.3 判定

培養液に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。

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、そのウイルス含有量とする。

3.4.7.4 犬パルボウイルス含有量試験

3.4.7.4.1 試験材料

3.4.7.4.1.1 試料

混合生ワクチンを液状不活化ワクチンと同量の滅菌水で溶解する。試験品中の犬パルボウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記4、5及び6）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖

用培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.7.4.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.7.4.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ4本(穴)以上の培養細胞に接種し、37℃で24時間培養した後、ウイルス増殖用培養液と交換し、更に37℃で6日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液を加え、更にこの混合液と等量のVAD6.0液で調製した0.5vol %豚赤血球浮遊液を加え、4℃で3時間又は一夜静置後、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。

3.4.7.4.3 判定

培養液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。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 mL 中 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、そのウイルス含有量とする。

3.4.8 チメロサル定量試験

チメロサルを添加した液状不活化ワクチンについては、一般試験法のチメロサル定量法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.4.9 アルミニウム定量試験

一般試験法のアルミニウム定量試験を準用して試験するとき、液状不活化ワクチンの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。

3.4.10 異常毒性否定試験

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

3.4.11 安全試験

3.4.11.1 試験材料

3.4.11.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.11.1.2 試験動物

6か月齢未満の犬を用いる。

3.4.11.2 試験方法

試験動物3頭を試験群、2頭を対照群とする。試験群に注射材料1頭分ずつを用法に従って2回注射し、対照群と共に6週間観察する。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。

3.4.11.3 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。

3.4.12 力価試験

3.4.12.1 ジステンパー力価試験

3.4.12.1.1 試験材料

3.4.12.1.1.1 試験動物

3.4.11の試験に用いた犬を用いる。

3.4.12.1.1.2 中和試験用ウイルス

ジステンパーウイルス N-CDV 株又は適当と認められたジステンパーウイルス株を用いる。

3.4.12.1.1.3 培養細胞

適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.12.1.2 試験方法

3.4.11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。各試験群の

血清は、それぞれ等量をプールする。各プール血清を非働化し、ウイルス増殖用培養液又は適当と認められた希釈液で5倍階段希釈する。各希釈血清と0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、4℃で一夜又は37℃で60分間処理する。この各混合液0.1mL ずつをそれぞれ4本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で7～8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。

3.4.12.1.3 判定

細胞を観察し、CPEを阻止したものを陽性とし、中和抗体価をED₅₀で求める。試験群の中和抗体価は、40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、その中和抗体価とする。

3.4.12.2 犬アデノウイルス（2型）感染症力価試験

3.4.12.2.1 試験材料

3.4.12.2.1.1 試験動物

3.4.11の試験に用いた犬を用いる。

3.4.12.2.1.2 中和試験用ウイルス

犬アデノウイルス（2型）マンハッタン株又は適当と認められた犬アデノウイルス（2型）株を用いる。

3.4.12.2.1.3 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。

3.4.12.2.2 試験方法

3.4.11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。各試験群の血清は、ウイルス増殖用培養液又は適当と認められた希釈液で2又は5倍階段希釈する。各希釈血清と0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、37℃で60分間処理する。この各混合液0.1mL ずつをそれぞれ4本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で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。

3.4.12.2.3 判定

細胞を観察し、CPEを阻止したものを陽性とし、中和抗体価をED₅₀で求める。

試験群の中和抗体価は、32倍以上でなければならない。この場合、対照群では、2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、その中和抗体価とする。

3.4.12.3 犬パラインフルエンザ力価試験

3.4.12.3.1 試験材料

3.4.12.3.1.1 試験動物

3.4.11の試験に用いた犬を用いる。

3.4.12.3.1.2 中和試験用ウイルス

犬パラインフルエンザウイルス NL-CPI-5 株又は適当と認められた犬パラインフルエンザウイルス株を用いる。

3.4.12.3.1.3 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。

3.4.12.3.2 試験方法

3.4.11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。各試験群の血清は、ウイルス増殖用培養液又は適当と認められた希釈液で2倍階段希釈する。各希釈血清と0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、37℃で60分間処理する。この各混合液0.1mL ずつをそれぞれ4本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で7日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の0.4vol %モルモット赤血球浮遊液を加え、常温で90分間静置し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.4.12.3.3 判定

培養液の赤血球凝集を阻止したものを陽性とし、中和抗体価を ED_{50} で求める。試験群の中和抗体価は、4倍以上でなければならない。この場合、対照群では、2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、その中和抗体価とする。

3.4.12.4 犬パルボウイルス感染症力価試験

3.4.12.4.1 試験材料

3.4.12.4.1.1 試験動物

3.4.11 の試験に用いた犬を用いる。

3.4.12.4.1.2 中和試験用ウイルス又は赤血球凝集抗原

中和試験用ウイルスは、適当と認められた犬パルボウイルスを用いる。

赤血球凝集抗原は、適当と認められた犬パルボウイルス株を接種した CRFK 細胞培養液を不活化したもので赤血球凝集価 128 倍以上のものを用いる。

3.4.12.4.1.3 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.12.4.2 試験方法

中和試験又は赤血球凝集抑制試験を行う。

3.4.12.4.2.1 中和試験

3.4.11 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。

各試験群の血清を非働化し、適当と認められた希釈液で 2 倍階段希釈する。各希釈血清と 0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、35 ～ 37℃ で 60 分間処理する。この各混合液 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、35 ～ 37℃ で 24 時間静置培養した後、ウイルス増殖用培養液で液交換し、更に 35 ～ 37℃ で 6 日間培養する。培養最終日に、培養液を採取し、これに等量の牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液を加え、更に、この混合液と等量の VAD6.0 液で調製した 0.5vol % 豚赤血球浮遊液を等量加え、4℃ で一夜静置し、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。

3.4.12.4.2.2 赤血球凝集抑制試験

3.4.11 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赤血球凝集抑制試験を行う。

各試験群の血清は、RDE（付記 8）、25w/v % カオリン液及び豚赤血球で処理した後牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液で 2 倍階段希釈する。各段階の希釈血清に 8 単位に調製した赤血球凝集抗原を等量加え、常温で 60 分間処理した後 VAD6.0 液で調製したウイルス調整希釈液で調製した 0.5 vol % 豚赤血球浮遊液を等量加え、4℃ で一夜静置し、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。

3.4.12.4.3 判定

3.4.12.4.3.1 中和試験判定

赤血球凝集を阻止したものを陽性とし、中和抗体価を ED_{50} で求める。

試験群の中和抗体価は、32 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、8 倍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、その抗体価とする。

3.4.12.4.3.2 赤血球凝集抑制試験判定

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。

試験群の赤血球凝集抑制抗体価は、64 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、8 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。

3.4.12.5 犬コロナウイルス感染症力価試験

3.4.12.5.1 試験材料

3.4.12.5.1.1 注射材料

混合生ワクチンを液状不活化ワクチンで溶解した試験品を注射材料とする。

3.4.12.5.1.2 試験動物

体重約 300 g のモルモットを用いる。

3.4.12.5.1.3 中和試験用ウイルス

適当と認められた犬コロナウイルス株を用いる。

3.4.12.5.1.4 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.12.5.2 試験方法

試験動物 5 匹を試験群、2 匹を対照群とする。試験群に注射材料の 1 mL を 21 日間隔で 2 回注射する。2 回目注射後 7 日目の血清について中和試験を行う。各試験群の血清は、ウイルス増殖用培養液で 2 倍階段希釈する。各希釈血清と 50 μ L 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液を混合し、37℃で 60 分間処理する。各混合液 50 μ L ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞浮遊液に接種し、37℃で 6 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。

3.4.12.5.3 判定

培養細胞の 4 本（穴）のうち 2 本（穴）以上に CPE の阻止を認めた血清の最高希釈倍数を中和抗体価とする。

試験群の抗体価は、80 % 以上が 8 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、2 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、その中和抗体価とする。

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 ウイルス増殖用培養液

1,000 mL 中	
牛血清	10 ~ 20 mL
トリプトース・ホスフェイト・ブロス	2.95 g
イーグル MEM	残 量
炭酸水素ナトリウムで pH を 7.0 ~ 7.6 に調整する。	
必要最少量の抗生物質を加えてもよい。	

付記 2 牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液

1,000 mL 中	
塩化ナトリウム	7.01 g
ホウ酸	3.09 g
水酸化ナトリウム	0.96 g
水	残 量
牛血清アルブミンを 0.2w/v % となるように加えたのち、水酸化ナトリウムで pH9.0 に調整する。	

付記 3 VAD6.0 液

1,000 mL 中	
塩化ナトリウム	8.77 g
リン酸水素二ナトリウム	5.68 g
リン酸二水素ナトリウム二水和物	40.56 g
水	残 量
牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液と等量混合して pH6.0 に調整する。	

付記4 抗ジステンパーウイルス血清

ジステンパーウイルスで免疫した兎、モルモット又はフェレットの血清で、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5 抗アデノウイルス（2型）血清

犬アデノウイルス（2型）で免疫した兎又はモルモットの血清で、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6 抗犬パラインフルエンザウイルス血清

犬パラインフルエンザウイルスで免疫した兎又はモルモットの血清で、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7 抗犬パルボウイルス血清

犬パルボウイルスで免疫した兎又はモルモットの血清で、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8 RDE

市販のRDEを処方に従い、生理食塩水20 mLで溶解し、小分けし、凍結して-20℃以下で保存する。

ワクチン（シードロット製剤）の部のジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症・犬レプトスピラ病混合ワクチン（シード）の項を次のように改める。

ジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症・犬レプトスピラ病（カニコーラ・イクテロヘモラジー）混合（アジュバント加）ワクチン（シード）

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒ジステンパーウイルス、弱毒犬アデノウイルス（2型）、弱毒犬パラインフルエンザウイルス及び弱毒犬パルボ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と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。）及びレプトスピラ・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。）の全培養菌液を不活化した後可溶化したものの混合液を凍結乾燥したワクチン（以下この項において「混合乾燥ワクチン」という。）とシードロット規格に適合した犬コロナ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不活化してアルミニウムゲルアジュバントを加えたものを混合したワクチン（以下この項において「液状不活化ワクチン」という。）とを組み合わせたワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 ジステンパーウイルス

2.1.1.1 名称

弱毒ジステンパーウイルス N-CDV 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

犬腎株化細胞に接種すると、CPE を伴って増殖するが、発育鶏卵の漿尿膜上に接種しても病変を示さない。犬に注射しても病原性を示さない。

2.1.1.3 マスターシードウイルス

2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

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

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

マスターシードウイルスについて、3.1.1 の試験を行う。

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

2.1.1.4 ワーキングシードウイルス

2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存

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

ワーキングシードウイルスは、凍結して－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 の試験を行う。

2.1.1.5 プロダクションシードウイルス

2.1.1.5.1 増殖及び保存

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

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して－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を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.2 犬アデノウイルス（2型）

2.1.2.1 名称

弱毒犬アデノウイルス（2型）マンハッタン株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。感受性のある培養細胞に接種すると、CPE を伴って増殖する。

2.1.2.3 マスターシードウイルス

2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

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

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

マスターシードウイルスについて、3.1.1 の試験を行う。

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

2.1.2.4 ワーキングシードウイルス

2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存

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

ワーキングシードウイルスは、凍結して－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 の試験を行う。

2.1.2.5 プロダクションシードウイルス

2.1.2.5.1 増殖及び保存

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

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して－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を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.3 犬パラインフルエンザウイルス

2.1.3.1 名称

弱毒犬パラインフルエンザウイルス NL-CPI-5 株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。犬腎培養細胞に接種すると増殖し、細胞はモルモット赤血球を吸着する。

2.1.3.3 マスターシードウイルス

2.1.3.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

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

分注したマスターシードウイルスは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して－70℃以

下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

マスターシードウイルスについて、3.1.1の試験を行う。

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

2.1.3.4 ワーキングシードウイルス

2.1.3.4.1 増殖、継代及び保存

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

ワーキングシードウイルスは、凍結して-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の試験を行う。

2.1.3.5 プロダクションシードウイルス

2.1.3.5.1 増殖及び保存

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

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して-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を保存する場合は、3.1.3の試験を行う。

2.1.4 犬パルボウイルス

2.1.4.1 名称

弱毒犬パルボウイルス NL-35-D-LP 株又は製造に適当と認められた株

2.1.4.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。犬及び猫由来細胞で核内封入体を伴って増殖し、その培養ウイルス液は豚及び猿の赤血球を凝集する。

2.1.4.3 マスターシードウイルス

2.1.4.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

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

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

マスターシードウイルスについて、3.1.1の試験を行う。

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

2.1.4.4 ワーキングシードウイルス

2.1.4.4.1 増殖、継代及び保存

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

ワーキングシードウイルスは、凍結して-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の試験を行う。

2.1.4.5 プロダクションシードウイルス

2.1.4.5.1 増殖及び保存

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

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して-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を保存する場合は、3.1.3の試験を行う。

2.1.5 犬コロナウイルス

2.1.5.1 名称

犬コロナウイルス NL-18 株又はこれと同等と認められた株

2.1.5.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。感受性のある培養細胞に接種すると、CPE を伴って増殖する。

2.1.5.3 マスターシードウイルス

2.1.5.3.1 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、猫腎株化細胞又は適当と認められた細胞で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシードウイルスは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して -70°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。

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。

2.1.5.4 ワーキングシードウイルス

2.1.5.4.1 増殖、継代及び保存

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

ワーキングシードウイルスは、凍結して -30°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。

ワーキングシードウイルスについて、3.1.2 の試験を行う。

2.1.5.5 プロダクションシードウイルス

2.1.5.5.1 増殖及び保存

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

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して -30°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。

プロダクションシードウイルスを保存する場合について、3.1.3 の試験を行う。

2.1.6 L・カニコーラ

2.1.6.1 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

2.1.6.2 性状

モルモット及びハムスターの腹腔内に注射すると増殖する。抗 L・カニコーラ血清（付記 1）に対して特異的に凝集する。

2.1.6.3 マスターシード菌

2.1.6.3.1 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、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°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。

マスターシード菌について、3.1.4 の試験を行う。

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

2.1.6.4 ワーキングシード菌

2.1.6.4.1 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、3.1.5 の試験を行う。

2.1.6.5 プロダクションシード菌

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、3.1.6 の試験を行う。

2.1.7 L・イクテロヘモラジー

2.1.7.1 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

2.1.7.2 由来

2.1.7.2.1 性状

モルモット及び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。

2.1.7.3 マスターシード菌

2.1.7.3.1 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、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、3.1.4 の試験を行う。

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

2.1.7.4 ワーキングシード菌

2.1.7.4.1 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、3.1.5 の試験を行う。

2.1.7.5 プロダクションシード菌

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、3.1.6 の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 ジステンパーウイルス

2.2.1.1 株化細胞

犬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。

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。

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－ 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。

プロダクションセルシードを保存する場合は、3.2.3 の試験を行う。

2.2.2 犬アデノウイルス（2型）

2.2.2.1 株化細胞

犬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。

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－ 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。

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－ 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。

ワーキングセルシードについて、3.2.2 の試験を行う。

2.2.2.5 プロダクションセルシード

2.2.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.2.2 の培養液で増殖させる。

プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して－ 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。

プロダクションセルシードを保存する場合は、3.2.3 の試験を行う。

2.2.3 犬パラインフルエンザウイルス

2.2.3.1 株化細胞

犬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。

2.2.3.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.3.3 マスターセルシード

2.2.3.3.1 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、2.2.3.2 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。

2.2.3.4 ワーキングセルシード

2.2.3.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.3.2 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。

ワーキングセルシードについて、3.2.2 の試験を行う。

2.2.3.5 プロダクションセルシード

2.2.3.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.3.2 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－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。

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。

2.2.4 犬パルボウイルス

2.2.4.1 株化細胞

犬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。

2.2.4.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.4.3 マスターセルシード

2.2.4.3.1 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、2.2.4.2 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。

2.2.4.4 ワーキングセルシード

2.2.4.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.4.2 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。

ワーキングセルシードについて、3.2.2 の試験を行う。

2.2.4.5 プロダクションセルシード

2.2.4.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.4.2 の培養液で増殖させる。

プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して－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。

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。

2.2.5 犬コロナウイルス

2.2.5.1 株化細胞

猫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。

2.2.5.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.5.3 マスターセルシード

2.2.5.3.1 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、2.2.5.2 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。

2.2.5.4 ワーキングセルシード

2.2.5.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.5.2 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。

ワーキングセルシードについて、3.2.2 の試験を行う。

2.2.5.5 プロダクションセルシード

2.2.5.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.5.2 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－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。

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。

2.2.6 L・カニコーラ

2.2.6.1 培地

製造に相当と認められた培地を用いる。

2.2.7 L・イクテロヘモラジ

2.2.7.1 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 ジステンパーウイルス原液

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

プロダクションセルシードウイルスを2.3.1.1の細胞で培養し、相当と認められた時期に個体別培養細胞ごとに採取した培養液のろ液、遠心清又はこれらを濃縮したものを混合し、原液とする。

原液について、3.4.1、3.4.2及び3.4.3.1の試験を行う。

2.3.2 犬アデノウイルス（2型）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、適当と認められた時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混合し、原液とする。

原液について、3.4.1、3.4.2 及び 3.4.3.2 の試験を行う。

2.3.3 犬パラインフルエンザウイルス原液

2.3.3.1 プロダクションセルシードの培養

1 回に処理し、培養した細胞を個体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。

2.3.3.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを 2.3.3.1 の細胞で培養し、適当と認められた時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混合し、原液とする。

原液について、3.4.1、3.4.2 及び 3.4.3.3 の試験を行う。

2.3.4 犬パルボウイルス原液

2.3.4.1 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。

2.3.4.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを 2.3.4.1 の細胞で培養し、適当と認められた時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混合し、原液とする。

原液について、3.4.1、3.4.2 及び 3.4.3.4 の試験を行う。

2.3.5 犬コロナウイルス原液

2.3.5.1 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。

2.3.5.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを 2.3.5.1 の細胞で培養し、適当と認められた時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混合し、原液とする。

原液について、3.4.1、3.4.2 及び 3.4.3.5 の試験を行う。

2.3.5.3 不活化

ウイルス浮遊液に適当と認められた不活化剤を加えて不活化後、適当な中和剤を用い中和したもの又はそのままの液を不活化ウイルス浮遊液とする。

2.3.5.4 不活化原液

不活化ウイルス浮遊液を適当と認められた方法で濃縮したもの又は適当と認められた保存剤を添加したものを不活化原液とする。

不活化原液について、3.4.4.1 の試験を行う。

2.3.6 L・カニコーラ原液

2.3.6.1 培養

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、培養したもの又は遠心集菌後の濃縮菌液を培養菌液とする。

培養菌液について、3.3 の試験を行う。

2.3.6.2 不活化

培養菌液に相当と認められた不活化剤を加えて不活化したものを不活化レプトスピラ菌液とする。

不活化レプトスピラ菌液について、3.4.4.2 の試験を行う。

2.3.6.3 原液

不活化レプトスピラ菌液又は必要に応じて相当と認められた濃縮方法により濃縮した菌液に相当と認められた可溶化剤を加え可溶化したものを原液とする。

この場合、相当と認められた保存剤を添加してもよい。

原液について、3.4.1 及び 3.4.4.2 の試験を行う。

2.3.7 L・イクテロヘモラジー原液

2.3.7.1 培養

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、培養したもの又は遠心集菌後の濃縮菌液を培養菌液とする。

培養菌液について、3.3 の試験を行う。

2.3.7.2 不活化

培養菌液に相当と認められた不活化剤を加えて不活化したものを不活化レプトスピラ菌液とする。

不活化レプトスピラ菌液について、3.4.4.2 の試験を行う。

2.3.7.3 原液

不活化レプトスピラ菌液、又は必要に応じて相当と認められた濃縮方法により濃縮した菌液に相当と認められた可溶化剤を加え可溶化したものを原液とする。

この場合、相当と認められた保存剤を添加してもよい。

原液について、3.4.1 及び 3.4.4.2 の試験を行う。

2.4 最終バルク

2.4.1 混合乾燥ワクチン

ジステンパーウイルス原液、犬アデノウイルス（2型）原液、犬パラインフルエンザウイルス原液及び犬パルボウイルス原液並びに相当と認められた溶液で濃度調整した L・カニコラ原液及び L・イクテロヘモラジー原液を混合して最終バルクとする。この場合、相当と認められた安定剤を添加してもよい。

2.4.3 液状不活化ワクチン

相当と認められた溶液で濃度調整した犬コロナウイルス原液にアルミニウムゲルアジュバントを混合し、最終バルクとする。この場合、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 混合乾燥ワクチン

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 液状不活化ワクチン

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 製造用株の試験

3.1.1 マスターシードウイルスの試験

各ウイルス株のマスターシードウイルスについて、以下の試験を行う。ただし、不活化成分のウイルス株のマスターシードウイルスについては、3.1.1.5、3.1.1.6 及び 3.1.1.7 の試験を行わなくてもよい。

3.1.1.1 同定試験

シードロット規格の 1.4.2.1.1.2 又は 1.4.2.3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.3 マイコプラズマ否定試験

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

3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

3.1.1.4.1 共通ウイルス否定試験

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

3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験

3.1.1.4.2.1 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、猫由来細胞を用いる場合には、猫白血病ウイルス／猫肉腫ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 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－粘膜病ウイルス、犬パルボウイルス、猫汎白血球減少症ウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.1、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。

3.1.4 マスターシード菌の試験

3.1.4.1 同定試験

シードロット規格の 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。

3.1.4.2 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。

3.1.5 ワーキングシード菌の試験

3.1.5.1 夾雑菌否定試験

3.1.4.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.6 プロダクションシード菌の試験

3.1.6.1 夾雑菌否定試験

3.1.4.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2 株化細胞の試験

3.2.1 マスターセルシードの試験

3.2.1.1 培養性状試験

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

3.2.1.2 起源動物種同定試験

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

3.2.1.3 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.4 マイコプラズマ否定試験

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

3.2.1.5 外来性ウイルス否定試験

3.2.1.5.1 共通ウイルス否定試験

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

3.2.1.5.2 特定ウイルス否定試験

3.2.1.5.2.1 特定ウイルス否定一般試験法

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、猫由来細胞を用いる場合には、猫白血病ウイルス／猫肉腫ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 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－粘膜病ウイルス、犬パルボウイルス、猫汎白血球減少症ウイルス、日本脳炎ウイルス及び狂犬病ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 1.2、3.2.5、3.2.6 及び 3.2.9 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.6 核学的（染色体）性状試験

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

3.2.1.7 腫瘍形成性／腫瘍原性試験

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

3.2.2 ワーキングセルシードの試験

3.2.2.1 培養性状試験

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

3.2.2.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2.3 マイコプラズマ否定試験

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

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 培養菌液の試験

3.3.1 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。あるいは、暗視野法を用いて培養菌液を鏡検するとき、レプトスピラ以外の菌を認めてはならない。

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 総菌数試験

光電比色計又は菌数計算法を用いて菌数を計算するとき、それぞれの培養菌液に 1 mL 中 $10^{9.0}$ 個以上の菌を含まなければならない。あるいは、比濁法を用いて菌数を計算するとき、それぞれの培養菌液は、2.400 比濁単位以上でなければならない。

3.4 原液の試験

3.4.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.4.2 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。

3.4.3 ウイルス含有量試験

3.4.3.1 ジステンパーウイルス含有量試験

3.4.3.1.1 試験材料

3.4.3.1.1.1 試料

検体をウイルス増殖用培養液（付記 3）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。

3.4.3.1.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.3.1.2 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、37℃で 7～8 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。

3.4.3.1.3 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、1 mL 中 $10^{4.8}$ 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。

3.4.3.2 犬アデノウイルス（2 型）含有量試験

3.4.3.2.1 試験材料

3.4.3.2.1.1 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。

3.4.3.2.1.2 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。

3.4.3.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、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。

3.4.3.2.3 判定

培養細胞に CPE を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。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 $10^{7.3}$ 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。

3.4.3.3 犬パラインフルエンザウイルス含有量試験

3.4.3.3.1 試験材料

3.4.3.3.1.1 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。

3.4.3.3.1.2 培養細胞

犬腎臓細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.3.3.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で 7 日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の 0.4vol % モルモット赤血球浮遊液を等量加え、室温で 90 分間静置し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.4.3.3.3 判定

培養液に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 10^{5.3}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。

3.4.3.4 犬パルボウイルス含有量試験

3.4.3.4.1 試験材料

3.4.3.4.1.1 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。

3.4.3.4.1.2 培養細胞

犬腎臓細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.3.4.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で 24 時間培養した後、ウイルス増殖用培養液と交換し、更に 37℃で 6 日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液（付記 4）を加え、更に混合液と等量の VAD6.0 液（付記 5）で調製した 0.5vol % 豚赤血球浮遊液を加え、4℃で静置後、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。

3.4.3.4.3 判定

培養液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。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^{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。

3.4.3.5 犬コロナウイルス抗原量測定試験

3.4.3.5.1 試験材料

検体、参照品、抗犬コロナウイルスモノクローナル抗体、抗犬コロナウイルス抗体、アルカリフォスファターゼ標識抗 IgG 及び p-ニトロフェニルリン酸基質液を用いる。

3.4.3.5.2 試験方法

二抗体サンドイッチ ELISA 法により犬コロナウイルス抗原量を測定する。ELISA プレートに抗犬コロナウイルスモノクローナル抗体液を分注し、37℃ 90 分間反応させ固相化する。以下各反応後に洗浄液で洗浄する。1%牛血清アルブミン・ポリソルベート加リン酸緩衝食塩液を分注し、37℃で 60 分間反応させブロッキングする。検体及び参照品を 2 倍階段希釈した各希釈液を各穴に加え、37℃ 60 分間反応する。抗犬コロナウイルス抗体液を各穴に加え、37℃で 60 分間反応する。アルカリフォスファターゼ標識抗 IgG 液を各穴に加え、37℃で 60 分間反応する。p-ニトロ

フェニルリン酸基質液を加え、37℃で25～30分間反応させた後、3 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を加えて反応を停止する。主波長 405 nm、副波長 490 nm で吸光度を測定する。

3.4.3.5.3 判定

参照品に対する検体の相対抗原量を算出するとき、500RU/mL 以上でなければならない。

3.4.4 不活化試験

3.4.4.1 犬コロナウイルス不活化試験

3.4.4.1.1 試験材料

3.4.4.1.1.1 試料

検体 2 mL を 100 倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、4℃で一夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

3.4.4.1.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.4.1.2 試験方法

試料を 25cm² 以上の培養細胞 2 本に 1 mL ずつ接種し、37℃で 60 分間吸着した後、リン酸緩衝食塩液で細胞面を洗浄する。ウイルス増殖用培養液を加え、37℃で 5 日間培養後、接種した培養細胞を継代し、さらに 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。

3.4.4.1.3 判定

培養細胞に CPE を認めてはならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その判定方法とする。

3.4.4.2 レプトスピラ不活化試験

3.4.4.2.1 試験材料

3.4.4.2.1.1 試料

検体又は検体 5 mL を 100 倍以上のリン酸緩衝食塩液を用い、4℃で一夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

3.4.4.2.1.2 培地

適当と認められた培地を用いる。

3.4.4.2.2 試験方法

培地 20 mL を入れた試験管 3 本に試料 0.5 mL ずつを接種し、28～30℃で 6～8 日間培養し、各試験管から 1 白金耳を採取し、暗視野法で鏡検する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.4.4.2.3 判定

レプトスピラの増殖を認めてはならない。

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、混合乾燥ワクチンは、固有の色調を有する乾燥物でなければならない。また、液状不活化ワクチンは、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。混合乾燥ワクチンを液状不活化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。

3.5.2 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、液状不活化ワクチンの 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

一般試験法の真空度試験法を準用して試験するとき、混合乾燥ワクチンは、適合しなければならない。ただし、窒素充填製品では、本試験を省略することができる。

3.5.4 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、混合乾燥ワクチンは、適合しなければならない。

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 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、混合乾燥ワクチンは、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、本試験を省略することができる。

3.5.7 ウイルス含有量試験

3.5.7.1 ジステンパーウイルス含有量試験

3.5.7.1.1 試験材料

3.5.7.1.1.1 試料

混合乾燥ワクチンを液状不活化ワクチンと同量の精製水で溶解する。試験品中のジステンパーウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記 7、8 及び 9）を非働化したもので中和したものを、ウイルス増殖用培養液又は適当と認められた希釈液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.5.7.1.1.2 培養細胞

犬腎臓細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.5.7.1.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で 7～8 日間培養し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.5.7.1.3 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。

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

3.5.7.2 犬アデノウイルス（2 型）含有量試験

3.5.7.2.1 試験材料

3.5.7.2.1.1 試料

混合乾燥ワクチンを液状不活化ワクチンと同量の精製水で溶解する。試験品中の犬アデノウイルス（2 型）以外のウイルスを各抗血清（付記 6、8 及び 9）を非働化したもので中和したものを、ウイルス増殖用培養液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.5.7.2.1.2 培養細胞

犬腎臓細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.5.7.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、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。

3.5.7.2.3 判定

培養細胞に CPE を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。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^{5.0}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。

3.5.7.3 犬パラインフルエンザウイルス含有量試験

3.5.7.3.1 試験材料

3.5.7.3.1.1 試料

混合乾燥ワクチンを液状不活化ワクチンと同量の精製水で溶解する。試験品中の犬パラインフルエンザウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記 6、7 及び 9）を非働化したもので中和したものを、ウイルス増殖用培養液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.5.7.3.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.5.7.3.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で 7 日間培養し、観察する。培養後、培養液を採取し、これに等量の 0.4vol % モルモット赤血球浮遊液を加え、室温で 90 分間静置し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.5.7.3.3 判定

培養液に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。

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、そのウイルス含有量とする。

3.5.7.4 犬パルボウイルス含有量試験

3.5.7.4.1 試験材料

3.5.7.4.1.1 試料

混合乾燥ワクチンを液状不活化ワクチンと同量の精製水で溶解する。試験品中の犬パルボウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記 6、7 及び 8）を非働化したもので中和したものを、ウイルス増殖用培養液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.5.7.4.1.2 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.5.7.4.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で 24 時間培養した後、ウイルス増殖用培養液と交換し、更に 37℃で 6 日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液を加え、更にこの混合液と等量の VAD6.0 液で調製した 0.5vol % 豚赤血球浮遊液を加え、4℃で 3 時間又は一夜静置後、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。

3.5.7.4.3 判定

培養液に赤血球凝集を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。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 mL 中 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、そのウイルス含有量とする。

3.5.8 チメロサル定量試験

チメロサルを添加した液状不活化ワクチン及び混合乾燥ワクチンについては、一般試験法のチメロサル定量法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.5.9 アルミニウム定量試験

一般試験法のアルミニウム定量試験を準用して試験するとき、液状不活化ワクチンの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。

3.5.10 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。

3.5.11 安全試験

3.5.11.1 試験材料

3.5.11.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.11.1.2 試験動物

6 か月齢未満の犬を用いる。

3.5.11.2 試験方法

試験動物 3 頭を試験群、2 頭を対照群とする。試験群に注射材料 1 頭分ずつを用法に従って 2 回注射し、対照群と共に 6 週間観察する。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。

3.5.11.3 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。

3.5.12 力価試験

3.5.12.1 ジステンパー力価試験

3.5.12.1.1 試験材料

3.5.12.1.1.1 試験動物

3.5.11 の試験に用いた犬を用いる。

3.5.12.1.1.2 中和試験用ウイルス

ジステンパーウイルス N-CDV 株又は適当と認められたジステンパーウイルス株を用いる。

3.5.12.1.1.3 培養細胞

適当と認められた培養細胞を用いる。

3.5.12.1.2 試験方法

3.5.11 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。各試験群の血清は、それぞれ等量をプールする。各プール血清を非働化し、ウイルス増殖用培養液又は適当と認められた希釈液で 5 倍階段希釈する。各希釈血清と 0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、4℃で一夜又は 37℃で 60 分間処理する。この各混合液 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で 7～8 日間培養し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.5.12.1.3 判定

細胞を観察し、CPE を阻止したものを陽性とし、中和抗体価を ED₅₀ で求める。試験群の中和抗体価は、40 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、その中和抗体価とする。

3.5.12.2 犬アデノウイルス（2 型）感染症力価試験

3.5.12.2.1 試験材料

3.5.12.2.1.1 試験動物

3.5.11 の試験に用いた犬を用いる。

3.5.12.2.1.2 中和試験用ウイルス

犬アデノウイルス（2 型）マンハッタン株又は適当と認められた犬アデノウイルス（2 型）株を用いる。

3.5.12.2.1.3 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.5.12.2.2 試験方法

3.5.11 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。各試験群の血清は、ウイルス増殖用培養液又は適当と認められた希釈液で 2 又は 5 倍階段希釈する。各希釈血清と 0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、37℃で 60 分間処理する。

この各混合液 0.1 mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、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。

3.5.12.2.3 判定

細胞を観察し、CPE を阻止したものを陽性とし、中和抗体価を ED_{50} で求める。

試験群の中和抗体価は、32 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、2 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、その中和抗体価とする。

3.5.12.3 犬パラインフルエンザ力価試験

3.5.12.3.1 試験材料

3.5.12.3.1.1 試験動物

3.5.11 の試験に用いた犬を用いる。

3.5.12.3.1.2 中和試験用ウイルス

犬パラインフルエンザウイルス NL-35-D-LP 株又は適当と認められた犬パラインフルエンザウイルス株を用いる。

3.5.12.3.1.3 培養細胞

犬腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.5.12.3.2 試験方法

3.5.11 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。各試験群の血清は、ウイルス増殖用培養液又は適当と認められた希釈液で 2 倍階段希釈する。各希釈血清と 0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液とを等量混合し、37℃で 60 分間処理する。この各混合液 0.1 mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で 7 日間培養する。培養後、培養液を採取し、これに等量の 0.4vol % モルモット赤血球浮遊液を加え、常温で 90 分間静置し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.5.12.3.3 判定

培養液の赤血球凝集を阻止したものを陽性とし、中和抗体価を ED_{50} で求める。試験群の中和抗体価は、4 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、2 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、その中和抗体価とする。

3.5.12.4 犬パルボウイルス感染症力価試験

3.5.12.4.1 試験材料

3.5.12.4.1.1 試験動物

3.5.11 の試験に用いた犬を用いる。

3.5.12.4.1.2 赤血球凝集抗原

犬パルボウイルス NL-35-D-LP 株又は適当と認められた犬パルボウイルス株を接種した CRFK 細胞培養液を不活化したもので赤血球凝集価 128 倍以上のものを用いる。

3.5.12.4.2 試験方法

3.5.11 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赤血球凝集抑制試験を行う。各試験群の血清は、RDE（付記 10）、25w/v % カオリン液及び豚赤血球で処理した後牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液で 2 倍階段希釈する。各段階の希釈血清に 8 単位に調製した赤血球凝集抗原を等量加え、常温で 60 分間処理した後 VAD6.0 液で調製したウイルス調整希釈液で調製した 0.5vol % 豚赤血球浮遊液を等量加え、4℃で一夜静置し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.5.12.4.3 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。

試験群の赤血球凝集抑制抗体価は、64 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、8 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。

3.5.12.5 犬コロナウイルス感染症力価試験

3.5.12.5.1 試験材料

3.5.12.5.1.1 注射材料

混合ワクチンを注射材料とする。

3.5.12.5.1.2 試験動物

体重約 300 g のモルモットを用いる。

3.5.12.5.1.3 中和試験用ウイルス

犬コロナウイルス戸田株又は適当と認められた犬コロナウイルス株を用いる。

3.5.12.5.1.4 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.5.12.5.2 試験方法

試験動物 5 匹を試験群、2 匹を対照群とする。試験群に注射材料の 1 mL を 21 日間隔で 2 回注射する。2 回目注射後 7 日目の血清について中和試験を行う。各試験群の血清は、ウイルス増殖用培養液で 2 倍階段希釈する。各希釈血清と 50 μ L 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液を混合し、37℃で 60 分間処理する。各混合液 50 μ L ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞浮遊液に接種し、37℃で 6 日間培養し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.5.12.5.3 判定

培養細胞の 4 本（穴）のうち 2 本（穴）以上に CPE の阻止を認めた血清の最高希釈倍数を中和抗体価とする。

試験群の抗体価は、80 % 以上が 8 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、2 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、その中和抗体価とする。

3.5.12.6 犬レプトスピラ病力価試験

3.5.12.6.1 試験材料

3.5.12.6.1.1 注射材料

混合ワクチンを注射材料とする。

3.5.12.6.1.2 試験動物

体重約 300 g のモルモットを用いる。

3.5.12.6.1.3 凝集反应用菌液

L・カニコーラ及び L・イクテロヘモラジーの生菌浮遊液を用いる。

3.5.12.6.2 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、凝集反應用菌液を用いて、溶菌凝集反応を行う。

3.5.12.6.3 判定

それぞれの菌液に対して 80 % 以上が 8 倍以上の凝集価を示さなければならない。

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兔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兔又はモルモットの血清

付記 3 ウイルス増殖用培養液

1,000 mL 中

牛血清

10 ~ 20 mL

トリプトース・ホスフェイト・ブロス

2.95 g

イーグル MEM

残 量

炭酸水素ナトリウムで pH を 7.0 ~ 7.6 に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 4 牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液

1,000 mL 中

塩化ナトリウム

7.01 g

ホウ酸

3.09 g

水酸化ナトリウム

0.96 g

水

残 量

牛血清アルブミン 0.2 w/v % となるように加えたのち、水酸化ナトリウムで pH9.0 に調整する。

付記 5 VAD6.0 液

1,000 mL 中

塩化ナトリウム

8.77 g

リン酸水素二ナトリウム

5.68 g

リン酸二水素ナトリウム二水和物

40.56 g

水

残 量

牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液と等量混合して pH6.0 に調整する。

付記 6 抗ジステンパーウイルス血清

ジステンパーウイルスで免疫した兎、モルモット又はフェレットの血清で、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 7 抗アデノウイルス（2型）血清

犬アデノウイルス（2型）で免疫した兎又はモルモットの血清で、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 8 抗犬パラインフルエンザウイルス血清

犬パラインフルエンザウイルスで免疫した兎又はモルモットの血清で、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 9 抗犬パルボウイルス血清

犬パルボウイルスで免疫した兎又はモルモットの血清で、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 10 RDE

市販の RDE を処方に従い、生理食塩水 20mL で溶解し、小分けし、凍結して -20℃ 以下で保存する。

ワクチン（シードロット製剤）の部の猫ウイルス性鼻気管炎・猫カリシウイルス感染症・猫汎白血球減少症混合（油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード）の項を次のように改める。

猫ウイルス性鼻気管炎・猫カリシウイルス感染症3価・猫汎白血球減少症混合（油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード）

1 定義

シードロット規格に適合した猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス、3種類の猫カリシウイルス及び猫汎白血球減少症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それぞれ不活化したものを混合し、油性アジュバントを添加したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス

2.1.1.1 名称

猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス FR-1 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

猫腎継代細胞に接種すると、CPE を伴って増殖する。

2.1.1.3 マスターシードウイルス

2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

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

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

マスターシードウイルスについて、3.1.1 の試験を行う。

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

2.1.1.4 ワーキングシードウイルス

2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存

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

ワーキングシードウイルスは、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して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。

2.1.1.5 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、猫腎継代細胞又は適当と認められた細胞で増殖させる。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して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を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.2 猫カリシウイルス

2.1.2.1 名称

猫カリシウイルス FC-7 株、FC-28 株及び FC-64 株又は製造に適当と認められた3種類の株

2.1.2.2 性状

猫腎継代細胞に接種すると、CPE を伴って増殖する。

2.1.2.3 マスターシードウイルス

2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

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

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

マスターシードウイルスについて、3.1.1 の試験を行う。

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

2.1.2.4 ワーキングシードウイルス

2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存

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

ワーキングシードウイルスは、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して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。

2.1.2.5 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、猫腎継代細胞又は適当と認められた細胞で増殖させる。

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して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を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.3 猫汎白血球減少症ウイルス

2.1.3.1 名称

猫汎白血球減少症ウイルス FP-5 株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

猫腎継代細胞に接種すると増殖し、その培養液は、豚の赤血球を凝集する。

2.1.3.3 マスターシードウイルス

2.1.3.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

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

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

マスターシードウイルスについて、3.1.1 の試験を行う。

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

2.1.3.4 ワーキングシードウイルス

2.1.3.4.1 増殖、継代及び保存

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

ワーキングシードウイルスは、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して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。

2.1.3.5 プロダクションシードウイルス

2.1.3.5.1 増殖及び保存

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

プロダクションシードウイルスを保存する場合は、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して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 猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス

2.2.1.1 培養細胞

猫腎継代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、保存及び小分製品までの最高継代数

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℃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。

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℃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。

2.2.1.5 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℃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は、3.2.3の試験を行う。

2.2.2 猫カリシウイルス

2.2.2.1 培養細胞

猫腎継代細胞又は製造に適当と認められた株化細胞を用いる。

2.2.2.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

2.2.2.3 マスターセルシード

2.2.2.3.1 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℃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。

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。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。

2.2.2.5 プロダクションセルシード

2.2.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.2.2の培養液で増殖させる。

プロダクションセルシードを保存する場合は、凍結して－70℃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は、3.2.3の試験を行う。

2.2.3 猫汎白血球減少症ウイルス

2.2.3.1 培養細胞

猫腎継代細胞又は製造に相当と認められた株化細胞を用いる。

2.2.3.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.3.3 マスターセルシード

2.2.3.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターセルシードは、2.2.3.2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℃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。

2.2.3.4 ワーキングセルシード

2.2.3.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.3.2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。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。

2.2.3.5 プロダクションセルシード

2.2.3.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.3.2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℃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は、3.2.3の試験を行う。

2.3 原液

2.3.1 猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス

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、適当と認められた時期に個体別培養細胞ごとに感染細胞相又は培養液を採取する。

感染細胞相を採取した場合は、その遠心沈渣をウイルス感染細胞とする。

ウイルス感染細胞を採取した上清について、3.3.1及び3.3.2.1の試験を行う。

培養液を採取した場合は、培養液のろ液、遠心上清又はこれらを濃縮したものをウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.3.1及び3.3.2.1の試験を行う。

2.3.1.3 不活化

ウイルス感染細胞を可溶化処理し、遠心した上清又はウイルス浮遊液にホルマリンを加えてウイルスを不活化し、不活化ウイルス液とする。不活化後、不活化剤を中和することができる。また、不活化ウイルス液を濃縮してもよい。不活化ウイルス液又は不活化ウイルス濃縮液を原液とする。

原液について、3.4.1及び3.4.2.1の試験を行う。

2.3.2 猫カリシウイルス

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、適当と認められた時期に個体別培養細胞ごとに採取した培養液、その遠心上清又はこれらを濃縮したものをウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.3.1及び3.3.2.2の試験を行う。

2.3.2.3 不活化

ウイルス浮遊液にホルマリンを加えてウイルスを不活化し、不活化ウイルス液とする。その後、不活化ウイルス液を濃縮してもよい。不活化ウイルス液又は濃縮不活化ウイルス液を原液とする。

原液について、3.4.1及び3.4.2.2の試験を行う。

2.3.3 猫汎白血球減少症ウイルス

2.3.3.1 プロダクションセルシードの培養

1回に処理し、培養した細胞を個体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。

2.3.3.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを2.3.3.1の細胞で培養し、適当と認められた時期に個体別培養細胞ごとに採取した培養液、その遠心上清又はこれらを濃縮したものをウイルス浮遊液とする。

ウイルス浮遊液について、3.3.1及び3.3.2.3の試験を行う。

2.3.3.3 不活化

ウイルス浮遊液にホルマリンを加えてウイルスを不活化し、不活化ウイルス液とする。その後、不活化ウイルス液を濃縮してもよい。不活化ウイルス液又は濃縮不活化ウイルス液を原液とする。

原液について、3.4.1及び3.4.2.3の試験を行う。

2.4 原液の混合

猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス原液、猫カリシウイルス原液及び猫汎白血球減少症ウイルス原液を混合し、3種混合原液とする。

2.5 最終バルク

原液に、油性アジュバント又はこれと同等と認められたアジュバントを加え、混合したものを最終バルクとする。

2.6 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、小分製品とする。

小分製品について、3.6の試験を行う。

3 試験法

3.1 製造用株の試験

3.1.1 マスターシードウイルスの試験

3.1.1.1 同定試験

シードロット規格の 1.4.2.3.1.1 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

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

3.1.2 ワーキングシードウイルスの試験

3.1.2.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.2.2 マイコプラズマ否定試験

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

3.1.3 プロダクションシードウイルスの試験

3.1.3.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.3.2 マイコプラズマ否定試験

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

3.2 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

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

3.2.1.6 核学的（染色体）性状試験

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

3.2.1.7 腫瘍形成性／腫瘍原性試験

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

3.2.2 ワーキングセルシードの試験

3.2.2.1 培養性状試験

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

3.2.2.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2.3 マイコプラズマ否定試験

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

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2.2.4.2.3.1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 ウイルス感染細胞上清又はウイルス浮遊液の試験

3.3.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3.2 ウイルス含有量試験

3.3.2.1 猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス含有量試験

3.3.2.1.1 試験材料

3.3.2.1.1.1 試料

検体を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。

3.3.2.1.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞を用いる。

3.3.2.1.2 試験方法

試料の0.1mLずつをそれぞれ4本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で60分間吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を加え、37℃で7日間回転又は静置培養し、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が認められたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL中10^{7.25}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 猫カリシウイルス各株のウイルス含有量試験

3.3.2.2.1 試験材料

3.3.2.2.1.1 試料

検体を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。

3.3.2.2.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞を用いる。

3.3.2.2.2 試験方法

試料の0.1mLずつをそれぞれ4本(穴)以上の培養細胞に接種し、37℃で60分間吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を加え、37℃で7日間回転又は静置培養し、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。

3.3.2.2.3 判定

培養細胞にCPEが認められたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。

検体のウイルス含有量は、1 mL中10^{8.25}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。

3.3.2.3 猫汎白血球減少症ウイルス含有量試験

3.3.2.3.1 試験材料

3.3.2.3.1.1 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。

3.3.2.3.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞浮遊液を小試験管に0.5mLずつ分注し、37℃で約24時間培養し、細胞層を約50%形成させたもの又は猫腎継代細胞浮遊液を用いる。

3.3.2.3.2 試験方法

試料の0.1mLずつをそれぞれ4本以上の培養細胞に接種し、37℃で60分間吸着後、細胞増殖用培養液を加え、37℃で静置培養する。

培養細胞が完全に単層を形成した後、1 mLのウイルス増殖用培養液と交換し、37℃で接種した後10日間回転培養し、1 vol%豚赤血球浮遊液を0.2mL加え、4℃で1夜静置し観察する。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。

3.3.2.3.3 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、1 mL中10^{6.0}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。

3.4 原液の試験

3.4.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.4.2 不活化試験

濃縮前の不活化ウイルス浮遊液について、本試験を実施してもよい。

3.4.2.1 猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス不活化試験

3.4.2.1.1 試験材料

3.4.2.1.1.1 試料

検体をトライトン除去処理(付記2)したもの又は検体2 mL以上を100倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、2～5℃で一夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

3.4.2.1.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞を用いる。

3.4.2.1.2 試験方法

試料を25cm²以上の培養細胞に接種し、37℃で60分間吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を用いて細胞を2回洗浄した後、ウイルス増殖用培養液を加え、37℃で10日間培養し、観察する。

ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.4.2.1.3 判定

培養細胞に CPE を認めないとき、活性ウイルス陰性と判定する。

試料に活性ウイルスを認めてはならない。

3.4.2.2 猫カリシウイルス各株の不活化試験

3.4.2.2.1 試験材料

3.4.2.2.1.1 試料

検体 2 mL 以上を 100 倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、2～5℃で一夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

3.4.2.2.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞を用いる。

3.4.2.2.2 試験方法

試料を 25cm² 以上の培養細胞に接種し、37℃で 60 分間吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を用いて細胞を 2 回洗浄した後、ウイルス増殖用培養液を加え、37℃で 10 日間培養し、観察する。

ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.4.2.2.3 判定

培養細胞に CPE を認めない場合、活性ウイルス陰性と判定する。

試料に活性ウイルスを認めてはならない。

3.4.2.3 猫汎白血球減少症ウイルス不活化試験

3.4.2.3.1 試験材料

3.4.2.3.1.1 試料

検体の 2 mL 以上を 100 倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、2～5℃で一夜透析し、不活化剤を除去したものを試料とする。

3.4.2.3.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞浮遊液を用いる。

3.4.2.3.2 試験方法

試料の全量及び細胞増殖用培養液に浮遊させた猫腎継代細胞を同時に培養面積 25cm² 以上の培養瓶で 37℃で培養する。細胞が単層を形成した後、ウイルス増殖用培養液で液交換し、更に 10 日間観察する。観察最終日に培養瓶の培養液を採取し、これに等量の牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液（付記 4）を加える。さらに、この混合液と等量の VAD6.0 液（付記 5）で濃度を調整した 0.3～0.5vol % 豚赤血球浮遊液を加え、凝集の有無を調べる。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。

3.4.2.3.3 判定

培養細胞に CPE を認めず、かつ、培養液に赤血球の凝集を認めないとき、活性ウイルス陰性と判定する。

試料に活性ウイルスを認めてはならない。

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、固有の色調及び粘稠性をもつ均質な液体でなければならず、異物及び異臭を認めてはならない。小分容器ごとの性状は、均一でなければならない。

3.5.2 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。

3.5.3 ホルマリン定量試験

試験品又は適当と認められた方法で試験品を処理したものを試料とし、一般試験法のホルマリン

定量試験法を準用して試験するとき、ホルマリンの含有量は 0.1vol %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、そのホルマリン含有量以下とする。

3.5.4 異常毒性否定試験

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

3.5.5 安全試験

3.5.5.1 試験材料

3.5.5.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.5.1.2 試験動物

体重約 1 kg の猫又はこれと同等の感受性を有する動物を用いる。

3.5.5.2 試験方法

試験動物 4 頭を試験群、2 頭を対照群とする。注射材料を 2 頭には 2.5mL ずつを頸部皮下に、2 頭には 1 mL ずつを内股部筋肉内に注射し、また、対照群 2 頭は非注射対照として、注射後 5 日間体温を測定し、10 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、その試験方法とする。

3.5.5.3 判定

観察期間中、対照群においては異常を認めてはならず、試験群においては一過性の発熱を認めることがあっても 2 日以内に正常に復し、その他の異常を認めてはならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その判定方法とする。

3.5.6 力価試験

3.5.6.1 猫ウイルス性鼻気管炎力価試験

3.5.6.1.1 試験材料

3.5.6.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.6.1.1.2 試験動物

体重約 100g のラットを用いる。

3.5.6.1.1.3 培養細胞

猫腎継代細胞を用いる。

3.5.6.1.1.4 中和試験用ウイルス

適当と認められた猫ウイルス性鼻気管炎ウイルスを用いる。

3.5.6.1.2 試験方法

試験動物 5 匹を試験群、2 匹を対照群とする。注射材料 1 頭分ずつを試験群の筋肉内に注射し、3 週後に 2 回目の注射を行い 7 日後に採血する。得られた各個体の血清について、中和試験を行う。

血清を非働化し、ウイルス増殖用培養液又は適当と認められた希釈液で 4 倍階段希釈する。各希釈血清と 0.2mL 中に約 100PFU を含む中和試験用ウイルス液とを等量混合し、37℃で 60 分間処理する。別に中和試験用ウイルスとウイルス増殖用培養液とを等量混合し、希釈血清と同様に処理したものを、ウイルス対照とする。各混合液 0.2mL ずつを 2 枚の培養細胞に接種し、37℃で 60 分間吸着した後、混合液を除き、第 1 次重層寒天培地（付記 6）を重層し、37℃、5 vol %炭酸ガス下で 3～4 日間培養する。培養後、更に第 2 次重層寒天培地（付記 7）を重層し、37℃で 24 時間培養し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.5.6.1.3 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で中和抗体価を表す。

試験群の中和抗体価は、幾何平均値で 16 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、4 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。

3.5.6.2 猫カリシウイルス感染症力価試験

3.5.6.2.1 試験材料

3.5.6.2.1.1 試験動物

3.5.6.1 の試験に用いた動物を用いる。

3.5.6.2.1.2 中和試験用ウイルス

猫腎継代細胞で増殖させた猫カリシウイルスの3種類の製造用株を用いる。

3.5.6.2.1.3 培養細胞

猫腎継代細胞を用いる。

3.5.6.2.2 試験方法

3.5.6.1.2 で得られた各個体の血清について中和試験を実施する。

各個体の血清を非働化し、ウイルス増殖用培養液で2倍階段希釈する。各希釈血清と0.1mL 中約200TCID₅₀を含む中和試験用ウイルス液とを等量混合し、37℃で60分間処理する。各混合液0.1mL ずつをそれぞれ4本（穴）の培養細胞に接種し、37℃で60分間静置した後、混合液を除き、ウイルス増殖用培養液を加え、37℃で7日間回転又は静置培養し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.5.6.2.3 判定

CPEを阻止したものを陽性とし、中和抗体価をED₅₀で求める。

試験群のそれぞれの株に対する中和抗体価は、幾何平均値で16倍以上でなければならない。この場合、対照群では、2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。

3.5.6.3 猫汎白血球減少症力価試験

3.5.6.3.1 試験材料

3.5.6.3.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.6.3.1.2 試験動物

体重約100gのラットを用いる。

3.5.6.3.1.3 赤血球凝集抗原

猫汎白血球減少症ウイルス赤血球凝集抗原（付記8）を用いる。

3.5.6.3.2 試験方法

試験動物5匹を試験群、2匹を対照群とする。注射材料の0.5mL ずつを試験群の筋肉内に注射し、3週後に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について赤血球凝集抑制試験を行う。

被検血清を25w/v %カオリン液及び豚赤血球で処理した後、牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液で2倍段階希釈する。各希釈血清に8単位の猫汎白血球減少症ウイルス赤血球凝集抗原を加え、常温で60分間処理し、0.5vol %豚赤血球浮遊液を加え、2～5℃で一夜静置し、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。

3.5.6.3.3 判定

赤血球凝集の抑制された血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価とする。

試験群の赤血球凝集抑制抗体価は、幾何平均値で128倍以上でなければならない。この場合、対照群では、8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。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後1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 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
牛胎子血清	20 mL
イーグルMEM	残 量

炭酸水素ナトリウムでpHを7.4～7.6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 トライトン除去処理

(1) ビーズの洗浄

ビーズ 30g にメタノール 200mL を加え、常温で 15 分間攪拌洗浄後、ガラスろ過器上にビーズを集め、500mL のメタノールと精製水 1,000mL で洗浄する。さらに、ビーズをカラムに入れ、2,000mL の精製水で長時間かけて洗浄する。洗浄したビーズは、水中に入れて 2～5℃で保存する。

(2) 除去方法

0.01mol/L リン酸カリウム液 (pH7.2) で試料を 2～5℃で一夜透析する。透析した試料 2 mL に洗浄したビーズ 0.6g を加え 2～5℃で 120 分間攪拌し、180G、10 分間遠心して上清を得る。

付記3 細胞増殖用培養液

1,000mL 中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス	2.95 g
牛胎子血清	50～100 mL
イーグルMEM	残 量

炭酸水素ナトリウムでpHを7.1～7.3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 牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液

1,000mL 中

塩化ナトリウム	10.52 g
ホウ酸	3.09 g
水酸化ナトリウム	0.96 g
水	残 量

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

付記5 VAD6.0 液

1,000mL 中

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

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

付記6 第1次重層寒天培地

1,000mL 中

寒天	7 g
----	-----

トリプトース・ホスフェイト・ブロス	2.95 g
牛胎子血清	20 mL
F12 培地	残 量

炭酸水素ナトリウムで pH を 7.1 ~ 7.3 に調整する。
必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 7 第 2 次重層寒天培地

第 1 次重層寒天培地に 0.5w/v % のニュートラルレッドを 2 vol % となるように加えたもの。

付記 8 猫汎白血球減少症ウイルス赤血球凝集抗原

猫汎白血球減少症ウイルスを猫腎継代細胞で増殖させて得た培養液又はこれを不活化したものであって、赤血球凝集価 128 倍以上のもの。

(別紙2)

○農林水産省告示第千五百四十号

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律施行令（昭和三十六年政令第十一号）第八十三条の規定により読み替えて適用される同令第六十条第一項の規定に基づき、動物用生物学的製剤
検定基準（平成十四年十月三日農林水産省告示第千五百六十八号）の一部を次のように改正し、公布の日から施行する。

平成二十九年十月十一日

農林水産大臣 齋藤 健

（「次のよう」は、省略し、その関係書類を農林水産省消費・安全局畜水産安全管理課及び都道府県庁に備え置いて縦覧に供する。）

ワクチン（シードロット製剤）の部の狂犬病組織培養不活化ワクチン（シード）の項の次に次のように加える。

ジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症混合（アジュバント加）ワクチン（シード）

動生剤基準のジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症混合（アジュバント加）ワクチン（シード）の 3.4.5、3.4.7、3.4.10 及び 3.4.12.5 に規定するところにより、これらに規定する試験を行うものとする。

また、小分製品の液状不活化ワクチンについて同基準のジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症混合（アジュバント加）ワクチン（シード）の 3.3.4 の規定を準用して試験を行うものとする。

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部のぶり α 溶血性レンサ球菌症・類結節症混合（油性アジュバント加）不活化ワクチンの項を次のように改める。

ぶり α 溶血性レンサ球菌症・類結節症混合（油性アジュバント加）不活化ワクチン

動生剤基準のぶり α 溶血性レンサ球菌症・類結節症混合（油性アジュバント加）不活化ワクチンの3.3.2、3.3.4 及び 3.3.5 に規定するところにより、これらに規定する試験を行うものとする。

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部のジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症混合ワクチンの項を次のように改める。

ジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症混合（アジュバント加）ワクチン

動生剤基準のジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症混合（アジュバント加）ワクチンの 3.3.5、3.3.7（迷入ウイルス否定試験法 2.6.1 及び 2.8.2 を除く。）、3.3.8、3.3.11 及び 3.3.13.5 に規定するところにより、これらに規定する試験を行うものとする。

また、小分製品の液状不活化ワクチンについて同基準のジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症混合（アジュバント加）ワクチンの 3.2.4 の規定を準用して試験を行うものとする。

ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部のジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症・犬レプトスピラ病混合ワクチンの項を次のように改める。

ジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症・犬レプトスピラ病（カニコーラ・イクテロヘモラジー）混合（アジュバント加）ワクチン

動生剤基準のジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症・犬レプトスピラ病（カニコーラ・イクテロヘモラジー）混合（アジュバント加）ワクチンの 3.4.5、3.4.7（迷入ウイルス否定試験法 2.6.1 及び 2.8.2 を除く。）、3.4.8、3.4.11 及び 3.4.13.5 に規定するところにより、これらに規定する試験を行うものとする。

また、小分製品の液状不活化ワクチンについて同基準のジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症・犬レプトスピラ病（カニコーラ・イクテロヘモラジー）混合（アジュバント加）ワクチンの 3.3.4.1 の規定を準用して試験を行うものとする。

ワクチン（シードロット製剤）の部のニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎2価・鶏伝染性ファブリキウス嚢病・産卵低下症候群-1976混合（油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード）の項を次のように改める。

ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎2価・鶏伝染性ファブリキウス嚢病・産卵低下症候群-1976混合（油性アジュバント加）不活化ワクチン（シード）

シードロット規格に適合したニューカッスル病ウイルス、2種類の鶏伝染性気管支炎ウイルス及び鶏伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスを同規格に適合した発育鶏卵で増殖させて得たウイルス液並びに同規格に適合した産卵低下症候群-1976ウイルスを同規格に適合した培養細胞で増殖させて得たウイルス液をそれぞれ不活化し、混合したものに油性アジュバントを添加したワクチンである。

1 小分製品の試験

1.1 力価試験

1.1.1 ニューカッスル病力価試験

1.1.1.1 試験材料

1.1.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

1.1.1.1.2 試験動物

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5週齢の鶏を用いる。

1.1.1.1.3 赤血球凝集抗原

「ニューカッスル病診断用赤血球凝集抗原」を用いる。

1.1.1.2 試験方法

試験動物の10羽を試験群、3羽を対照群とする。

注射材料1羽分ずつを試験群の脚部筋肉内に注射し、4週間飼育する。

試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ニューカッスル病ウイルス赤血球凝集抑制試験を行う。

1.1.1.3 判定

赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価（以下この項において「HI抗体価」という。）とする。

試験群の80%以上がHI抗体価160倍以上でなければならない。この場合において、対照群では、全てHI抗体価5倍以下でなければならない。

(別紙3)

○農林水産省告示第千五百四十一号

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律施行令（昭和三十六年政令第十一号）第八十三条の規定により読み替えて適用される同令第五十八条及び動物用医薬品等取締規則（平成十六年農林水産省令第七号）第一百五十四条第一項の規定に基づき、動物用医薬品の検定手数料並びに試験品及び出願者の保存用品として抜き取らせるべき数量（平成二十五年六月十八日農林水産省告示第二千九号）の一部を次のように改正し、公布の日から施行する。

平成二十九年十月十一日

農林水産大臣 齋藤 健

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。

各 出 後							各 出 前						
医薬品の種類	手数料 (単位 円)		試験品の抜取数 (単位 本、包、 組又は箱)			保存 用品 の抜 取数 (単位 本、包、 組又は箱)	医薬品の種類	手数料 (単位 円)		試験品の抜取数 (単位 本、包、 組又は箱)			保存 用品 の抜 取数 (単位 本、包、 組又は箱)
	ロット	分注区分	最終 小分 容器 1本 の内 容量 が5 mL未 満の 場合	最終 小分 容器 1本 の内 容量 が5 mL以 上20 mL未 満の 場合	最終 小分 容器 1本 の内 容量 が20 mL以 上の 場合			ロット	分注区分	最終 小分 容器 1本 の内 容量 が5 mL未 満の 場合	最終 小分 容器 1本 の内 容量 が5 mL以 上20 mL未 満の 場合	最終 小分 容器 1本 の内 容量 が20 mL以 上の 場合	
(血清の部) (略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(血清の部) (略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
(ワクチン (シードロ ット製剤を 除く。))の 部) (略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(ワクチン (シードロ ット製剤を 除く。))の 部) (略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
ジステンパ ー・犬アデ	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	ジステンパ ー・犬アデ	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)

ノウイルス (2型) 感 染症・犬パ ラインフル エンザ・犬 パルボウイ ルス感染症 ・犬コロナ ウイルス感 染症混合 (<u>ア ジュバン</u> ト加) ワク チン (略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	ノウイルス (2型) 感 染症・犬パ ラインフル エンザ・犬 パルボウイ ルス感染症 ・犬コロナ ウイルス感 染症混合ワ クチン (略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
ジステンパ ー・犬アデ ノウイルス (2型) 感 染症・犬パ ラインフル エンザ・犬 パルボウイ ルス感染症 ・犬コロナ ウイルス感 染症・犬レ プトスピラ 病 (<u>カニコ ーラ・イク テロヘモラ</u>	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	ジステンパ ー・犬アデ ノウイルス (2型) 感 染症・犬パ ラインフル エンザ・犬 パルボウイ ルス感染症 ・犬コロナ ウイルス感 染症・犬レ プトスピラ 病混合ワク チン (略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)

ジー) 混合 (アジュバ ント加) ワ クチン (略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
(ワクチン (シードロ ット製剤) の部) (略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
ニューカッ スル病・鶏 伝染性気管 支炎2価・ 鶏伝染性フ ァブリキウ ス囊病・産 卵低下症候 群—1976混 合(油性ア ジュバント 加)不活化 ワクチン(シ ード) (略)	<u>412,700</u>	<u>0</u>			<u>2</u>	2		ニューカッ スル病・鶏 伝染性気管 支炎2価・ 鶏伝染性フ ァブリキウ ス囊病・産 卵低下症候 群—1976混 合(油性ア ジュバント 加)不活化 ワクチン(シ ード) (略)	<u>965,300</u>	<u>23,800</u>			<u>8</u>	2
狂犬病組織 培養不活化 ワクチン(	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	狂犬病組織 培養不活化 ワクチン(	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)

シード) ジステンパ ー・犬アデ ノウイルス (2型) 感 染症・犬パ ラインフル エンザ・犬 パルボウイ ルス感染症 ・犬コロナ ウイルス感 染症混合 (ア ジュバン ト加) ワク チン (シー ド) (略)	377,300	423,600	45			2	シード) (新設)	(新設)	(新設)	(新 設)			(新 設)
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)

(別紙4)

○農林水産省告示第千五百四十二号

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（昭和三十五年法律第百四十五号）
第八十三条第一項の規定により読み替えて適用される同法第四十三条第一項の規定に基づき、昭和三十六年
二月一日農林省告示第六十六号（医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律第四
十三条第一項の規定に基づき、農林水産大臣の指定する医薬品を定める等の件）の一部を次のように改正し
、公布の日から施行する。

平成二十九年十月十一日

農林水産大臣 齋藤 健

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

動物用生物学的製剤。ただし、次に掲げるもの(6)から(99)までに掲げるものにあつては、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第八十三条第一項の規定により読み替えて適用される同法第十四条の四第一項の規定により行われる再審査において、同法第八十三条第一項の規定により読み替えて適用される同法第十四条第二項第三号イからハまでのいずれにも該当しないことが確認されたものに限る。)を除く。

- (1) (略)
- (91) ジステンパー・犬アデノウイルス(2型)感染症・犬パライ
ンフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感
染症混合(アジュバント加)ワクチン(シード)
- (93) (略)
- (95) ジステンパー・犬アデノウイルス(2型)感染症・犬パライ
ンフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感
染症・犬レプトスピラ病(カニココーラ・イクテロヘモラジ)
混合(アジュバント加)ワクチン(シード)
- (97) (略)
- (98) 猫ウイルス性鼻気管炎・猫カリシウイルス感染症3価・猫汎
白血球減少症混合(油性アジュバント加)不活化ワクチン(シ
ード)
- (100) (略)
- (147) (略)

改正前

動物用生物学的製剤。ただし、次に掲げるもの(6)から(99)までに掲げるものにあつては、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第八十三条第一項の規定により読み替えて適用される同法第十四条の四第一項の規定により行われる再審査において、同法第八十三条第一項の規定により読み替えて適用される同法第十四条第二項第三号イからハまでのいずれにも該当しないことが確認されたものに限る。)を除く。

- (1) (略)
- (91) ジステンパー・犬アデノウイルス(2型)感染症・犬パライ
ンフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感
染症混合ワクチン(シード)
- (93) (略)
- (95) ジステンパー・犬アデノウイルス(2型)感染症・犬パライ
ンフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感
染症・犬レプトスピラ病混合ワクチン(シード)
- (97) (略)
- (98) 猫ウイルス性鼻気管炎・猫カリシウイルス感染症、猫汎白血
球減少症混合(油性アジュバント加)不活化ワクチン(シード)
- (100) (略)
- (147) (略)

(別紙5)

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

改 正 後		現 行	
別表第3 動物用医薬品の検定に関する標準処理期間		別表第3 動物用医薬品の検定に関する標準処理期間	
製 剤	標準処理期間(日)	製 剤	標準処理期間(日)
(ワクチン(シードロット製剤)の部)		(ワクチン(シードロット製剤を除く。)の部)	
(略)	(略)	(略)	(略)
ジステンパー・犬アデノウイルス(2型)感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症混合(アジュバント加)ワクチン	80	ジステンパー・犬アデノウイルス(2型)感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症混合ワクチン	80
(略)	(略)	(略)	(略)
ジステンパー・犬アデノウイルス(2型)感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症・犬レプトスピラ病(カニコーラ・イクテロヘモラジー)混合(アジュバント加)ワクチン	80	ジステンパー・犬アデノウイルス(2型)感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイルス感染症・犬レプトスピラ病混合ワクチン	80
(略)	(略)	(略)	(略)
(ワクチン(シードロット製剤)の部)		(ワクチン(シードロット製剤)の部)	
(略)	(略)	(略)	(略)
ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎2価・鶏伝染性ファブリキウス嚢病・産卵低下症候群-1976混合(油性アジュバント加)不活化ワクチン(シード)	70	ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎2価・鶏伝染性ファブリキウス嚢病・産卵低下症候群-1976混合(油性アジュバント加)不活化ワクチン(シード)	100
(略)	(略)	(略)	(略)
狂犬病組織培養不活化ワクチン(シード)	40	狂犬病組織培養不活化ワクチン(シード)	40
ジステンパー・犬アデノウイルス(2型)感染症・犬パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コロナウイ	80	(新設)	(新設)

ルス感染症混合（アジュバント加）ワクチン（シード） （略）	（略）	（略）	（略）
--------------------------------------	-----	-----	-----