

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・コペ ンハーゲニー・ヘブドマディス・オータムナリス・オー ストラリス）混合ワクチン（シード）

平成２５年１月２２日（告示第 ２５８号）新規追加
平成２９年６月２８日（告示第１０１１号）一部改正

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、弱毒犬パルボウイルス及び弱毒犬コロナウイルスをそれぞれ同規格に適合した株化細胞又は初代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、シードロット規格に適合したレプトスピラ・カニコーラ、レプトスピラ・コペンハーゲニー、レプトスピラ・ヘブドマディス、レプトスピラ・オータムナリス及びレプトスピラ・オーストラリスの培養菌液を不活化した後、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。

１ 小分製品の試験

１.１ 無菌試験

一般試験法の無菌試験法により試験を行い、これに適合しなければならない。

１.２ ウイルス含有量試験

１.２.１ ジステンパーウイルス含有量試験

１.２.１.１ 試験材料

１.２.１.１.１ 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の各抗血清（付記１から４まで）を非働化したもので中和したものをウイルス増殖用培養液（付記５）で１０倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

１.２.１.１.２ 培養細胞

Vero 細胞を用いる。

１.２.１.１.２ 試験方法

試料 0.1mL ずつを４本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日間回転培養し、観察する。

１.２.１.３ 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。

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

１.２.２ 犬アデノウイルス（２型）含有量試験

１.２.２.１ 試験材料

１.２.２.１.１ 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２から４まで及び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。

１.２.２.１.２ 培養細胞

豚腎培養細胞を用いる。

1.2.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを 4 本以上の培養細胞に接種し、37℃で 60 分間吸着後、ウイルス増殖用培養液を加え、37℃で 7 日間回転培養し、観察する。

1.2.2.3 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。

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。

1.2.3 犬パラインフルエンザウイルス含有量試験

1.2.3.1 試験材料

1.2.3.1.1 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 1、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。

1.2.3.1.2 培養細胞

Vero 細胞を用いる。

1.2.3.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを 4 本以上の培養細胞に接種し、30℃で 60 分間吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を加え、30℃で 7 日間回転培養し、観察する。

1.2.3.3 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^{5.5}TCID₅₀ 以上でなければならない。

1.2.4 犬パルボウイルス含有量試験

1.2.4.1 試験材料

1.2.4.1.1 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 1、2、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。

1.2.4.1.2 培養細胞

猫腎株化細胞浮遊液を用いる。

1.2.4.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを 4 本以上の培養試験管に接種し、30℃で 24 時間静置培養した後、ウイルス増殖用培養液 1.0mL と交換し、30℃で 6 日間回転培養する。培養後、培養試験管に赤血球凝集用リン酸緩衝食塩液（付記 7）で濃度を調整した 1 vol %豚赤血球浮遊液を 0.2mL 加え、4℃で 18 時間静置した後、観察する。

1.2.4.3 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。

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。

1.2.5 犬コロナウイルス含有量試験

1.2.5.1 試験材料

1.2.5.1.1 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。試験品中の犬コロナウイルス以外のウイルスの各抗血清（付記 1 から 3 まで及び 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。

1.2.5.1.2 培養細胞

猫腎株化細胞を用いる。

1.2.5.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを 4 本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 日間回転培養し、観察する。

1.2.5.3 判定

培養細胞に CPE を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀ を算出する。

試験品のウイルス含有量は、1 頭分当たり 10^{4.0}TCID₅₀ 以上でなければならない。

1.3 異常毒性否定試験

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

付記 1 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あって、試験品の犬アデノウイルス（2 型）を完全に中和できるもの。

付記 2 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あって、試験品の犬パラインフルエンザウイルスを完全に中和できるもの。

付記 3 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あって、試験品の犬パルボウイルスを完全に中和できるもの。

付記 4 抗犬コロナウイルス血清

犬コロナウイルスで免疫した兎の血清であって、試験品の犬コロナウイルスを完全に中和できるもの。

付記 5 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
-------------------	--------

酵母エキス	1.0 g
-------	-------

牛胎子血清	20 ～ 50 mL
-------	------------

イーグル MEM	残 量
----------	-----

炭酸水素ナトリウムで pH を 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 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あって、試験品のジステンパーウイルスを完全に中和できるもの。

付記 7 赤血球凝集用リン酸緩衝食塩液

A 液 800mL 中

塩化ナトリウム	8.0 g
---------	-------

塩化カリウム	0.2 g
--------	-------

リン酸水素二ナトリウム、無水	1.15 g
----------------	--------

リン酸二水素カリウム	0.2 g
水	残 量

B 液	100mL 中	
	塩化マグネシウム六水和物	0.1 g
	水	残 量

C 液	100mL 中	
	塩化カルシウム	0.1 g
	水	残 量

A 液、B 液及び C 液を 8 : 1 : 1 に混合した後、5 w/v % 牛血清アルブミン液を 2 vol % 添加したもの。