

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）

平成24年3月13日（告示第 675号）新規追加
平成29年10月11日（告示第1539号）一部改正

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

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。