

# 犬コロナウイルス感染症（油性アジュバント加）不活化ワクチン

平成 17 年 6 月 30 日（告示第 1161 号） 新規追加

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、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 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 不活化試験

#### 1.2.1 試験材料

##### 1.2.1.1 試料

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

##### 1.2.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞を用いる。

#### 1.2.2 試験方法

試料を 25cm<sup>2</sup> 以上の培養細胞 2 本に 1mL ずつ接種し、37℃ で 1 時間吸着した後、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（付記 1）を加えて、37℃ で 5 日間培養した後、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。

#### 1.2.3 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。

### 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。

### 1.4 力価試験

#### 1.4.1 試験材料

##### 1.4.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

##### 1.4.1.2 試験動物

体重約 300g のモルモットを用いる。

##### 1.4.1.3 中和試験用ウイルス

CRFK 細胞で増殖させた犬コロナウイルス（付記 2）を用いる。

##### 1.4.1.4 試験方法

試験動物の 5 匹を試験群、2 匹を対照群とする。

注射材料 1mL ずつを試験群の筋肉内に 21 日間隔で 2 回注射する。2 回注射後 7 日目に両群から採血し、各個体の血清について中和試験を行う。

非働化した被検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 0.125ml と 0.05mL 中約 200TCID<sub>50</sub> の中和試験用ウイルス液 0.125mL を混合し、37℃ で 60 分間処理する。各混合液 0.05mL ずつを 96 穴マイクロプレートのそれぞれ 4 穴に接種し、更に CRFK 細胞浮遊液を 0.1mL ずつ加え、37℃ 5vol% 炭酸ガス下で 6 日間培養し、観察する。

##### 1.4.1.5 判定

培養細胞の 2 穴以上に CPE の阻止を認めた血清の最高希釈倍数で中和抗体価を表す。

試験群の抗体価は 80%以上が 8 倍以上を示さなければならない。この場合、対照群では、いずれも 2 倍未満でなければならない。

付記 1 ウイルス増殖用培養液

1,000mL 中

トシプトース・ホスフェイト・ブロス 2.95 g

牛胎子血清 100 mL

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 2 犬コロナウイルス

動物医薬品検査所が適当と認めたもの