

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生ワクチン（シード）

平成 22 年 7 月 12 日（告示 1038 号）新規追加

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス、弱毒猫カリシウイルス及び弱毒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 猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス

2.1.1.1 名称

弱毒猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス FVRm 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

猫に注射しても病原性を示さない。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、保存及び小分け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°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。

2.1.1.4 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°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。

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°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。

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 猫カリシウイルス

2.1.2.1 名称

弱毒猫カリシウイルス F9 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

猫に注射しても病原性を示さない。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°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。

2.1.2.4 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°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。

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°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。

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 猫汎白血球減少症ウイルス

2.1.3.1 名称

弱毒猫汎白血球減少症ウイルス Snow Leopard 株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

猫に注射しても病原性を示さない。猫腎継代細胞に接種すると増殖し、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°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。

2.1.3.4 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°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。

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°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。

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 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。

マスターセルシードは、特定の製造番号または製造記号を付し、凍結して -70°C 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

マスターセルシードについて、3.2.1の試験を行う。

マスターセルシードは、ワクチンの製造又は試験以外の目的で継代しない。マスターセルシードからプロダクションセルシードまでの最高継代数は、20代以内でなければならない。

2.2.1.4 ワーキングセルシード

2.2.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.1.2の培養液で増殖及び継代する。

ワーキングセルシードは凍結して -70°C 以下で保存する。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。

プロダクションセルシードを保存する場合について、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。

マスターセルシードは、特定の製造番号または製造記号を付し、凍結して -70°C 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

マスターセルシードについて、3.2.1の試験を行う。

マスターセルシードは、ワクチンの製造又は試験以外の目的で継代しない。マスターセルシード

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°C 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

ワーキングセルシードについて、3.2.2の試験を行う。

2.2.2.5 プロダクションセルシード

2.2.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは2.2.2.2の培養液で増殖する。

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

プロダクションセルシードを保存する場合について、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。

マスターセルシードは、特定の製造番号または製造記号を付し、凍結して -70°C 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

マスターセルシードについて、3.2.1の試験を行う。

マスターセルシードは、ワクチンの製造又は試験以外の目的で継代しない。マスターセルシードからプロダクションセルシードまでの最高継代数は、20代以内でなければならない。

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°C 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

ワーキングセルシードについて、3.2.2の試験を行う。

2.2.3.5 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。

プロダクションセルシード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 猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス原液

2.3.1.1 プロダクションセルシードの培養

1回に処理し、培養した細胞を個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 の細胞に接種し、29～31℃で培養し、ウイルスの増殖極期に個別培養細胞ごとに採取した培養液、そのろ液、遠心上清又はこれらを濃縮したものを混合し、適当と認められた安定剤を加え、原液とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その培養方法とする。

原液について、3.3.1 及び 3.3.2.1 の試験を行う。

2.3.2 猫カリシウイルス原液

2.3.2.1 プロダクションセルシードの培養

1 回に処理し、培養した細胞を個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 の細胞に接種し、35～37℃で培養し、ウイルスの増殖極期に個別培養細胞ごとに採取した培養液、そのろ液、遠心上清又はこれらを濃縮したものを混合し、適当と認められた安定剤を加え、原液とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その培養方法とする。

原液について、3.3.1 及び 3.3.2.2 の試験を行う。

2.3.3 猫汎白血球減少症ウイルス原液

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 の細胞に接種し、35～37℃で培養し、ウイルスの増殖極期に個別培養細胞ごとに採取した培養液、そのろ液、遠心上清又はこれらを濃縮したものを混合し、適当と認められた安定剤を加え、原液とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その培養方法とする。

原液について、3.3.1 及び 3.3.2.3 の試験を行う。

2.4 最終バルク

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、適当と認められた培養液を加えてよく攪拌し、最終バルクとする。

2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、凍結乾燥し、小分製品とする。

小分製品について、3.4 の試験を行う。

3 試験法

3.1 製造用株の試験

3.1.1 マスターシードウイルスの試験

3.1.1.1 同定試験

シードロット規格の 1.4.2.1.1.2 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

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 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

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 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 2.1.4.2.1.6.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.7 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 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）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。

3.3.2.1.1.2 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 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本（穴）以上の培養細胞に接種した後、37 °C で 7 日間培養する。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

特徴的な 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、それぞれ最終バルクを調整するのに十分な含有量を示さなければならない。

ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その判定方法とする。

3.3.2.2 猫カリシ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。

3.3.2.2.1.2 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た後、37℃で7日間培養する。

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

特徴的な 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、それぞれ最終バルクを調整するのに十分な含有量を示さなければならない。

ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その判定方法とする。

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。

3.3.2.3.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞を用いる。

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、37℃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、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、さらにこの混合液と VAD6.0 液（付記3）により調整した0.3～0.5vol%豚赤血球浮遊液を等量加え、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。

3.3.2.3.3 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、それぞれ最終バルクを調整するのに十分な含有量を示さなければならない。

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、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均質な液体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。

3.4.2 真空度試験

一般試験法の真空度試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.4.3 含湿度試験

一般試験法の含湿度試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.4.4 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.4.5 マイコプラズマ否定試験

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

ただし、原液を含む中間工程でマイコプラズマ否定試験を実施する場合には、本試験の実施を省略することができる。

3.4.6 ウイルス含有量試験

3.4.6.1 猫ウイルス性鼻気管炎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

試験品中の猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記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

猫腎継代細胞を用いる。

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、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。

試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり10^{3.6}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、その判定方法とする。

3.4.6.2 猫カリシウイルス含有量試験

3.4.6.2.1 試験材料

3.4.6.2.1.1 試料

試験品中の猫カリシウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記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

猫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60分間吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を加え、37℃で5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。

試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり10^{5.5}TCID₅₀以上でなければならない。

ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その判定方法とする。

3.4.6.3 猫汎白血球減少症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

試験品中の猫汎白血球減少症ウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記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。

3.4.6.3.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞を用いる。

3.4.6.3.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ培養細胞浮遊液を分注した4本（穴）以上に接種し、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VAD6.0液により調整した0.3～0.5vol%豚赤血球浮遊液を等量加え、2～5℃で静置した後、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。

3.4.6.3.3 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 $10^{2.6}$ 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、その判定方法とする。

3.4.6 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。

3.4.7 安全試験

3.4.7.1 試験材料

3.4.7.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.7.1.2 試験動物

6か月齢未満の猫を用いる。

3.4.7.2 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頭分ずつ皮下にそれぞれ注射し、3週間後に追加注射する。試験群及び対照群ともに7週間観察する。

3.4.7.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に異常を認めてはならない。

3.4.8 力価試験

3.4.8.1 猫ウイルス性鼻気管炎力価試験

3.4.8.1.1 試験材料

3.4.8.1.1.1 試験動物

3.4.7の試験に用いた動物を用いる。

3.4.8.1.1.2 中和試験用ウイルス

適当と認められた猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス株を用いる。

3.4.8.1.1.3 培養細胞

猫腎継代細胞を用いる。

3.4.8.1.2 試験方法

3.4.7の試験最終日に試験群及び対照群から得られた血清について中和試験を行う。

各血清を非働化し、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0.2mL中約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ずつをそれぞれ2枚(穴)以上の猫腎継代細胞に接種し、37℃で60分間吸着する。吸着後、混合液を除き第1次重層寒天培地(付記7)を重層し、31℃5vol%炭酸ガス下で4日間培養する。培養後、さらに第2次重層寒天培地(付記8)を重層し、31℃5vol%炭酸ガス下で24時間培養する。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

プ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の幾何平均値は、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、その判定方法とする。

3.4.8.2 猫カリシウイルス感染症力価試験

3.4.8.2.1 試験材料

3.4.8.2.1.1 試験動物

3.4.7の試験に用いた動物を用いる。

3.4.8.2.1.2 中和試験用ウイルス

適当と認められた猫カリシウイルス株を用いる。

3.4.8.2.1.3 培養細胞

猫腎継代細胞を用いる。

3.4.8.2.2 試験方法

3.4.7 の試験最終日に試験群及び対照群から得られた血清について中和試験を行う。各血清を非働化し、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0.1mL 中約 200TCID₅₀ を含む中和試験用ウイルス液とを混合し、35～37℃で90分間処理する。各混合液を0.1mL ずつをそれぞれ4本（穴）以上の猫腎継代細胞に接種し、35～37℃で7日間培養し、CPEの有無を観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.4.8.2.3 判定

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の幾何平均値は、15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、その判定方法及び抗体価とする。

3.4.8.3 猫汎白血球減少症力価試験

3.4.8.3.1 試験材料

3.4.8.3.1.1 試験動物

3.4.7 の試験に用いた動物を用いる。

3.4.8.3.1.2 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9）を用いる。

3.4.8.3.2 試験方法

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

各血清を非働化し、25w/v %カオリン液及び豚赤血球を加えて処理した後、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。各希釈血清に8単位の赤血球凝集抗原を混合し、常温で60分間処理し、この混合液と等量のVAD6.0液で調整した0.3～0.5vol %豚赤血球浮遊液を加え2～5℃で一夜処理し、赤血球凝集の有無を観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験方法とする。

3.4.8.3.3 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とする。試験群の赤血球凝集抑制抗体価の幾何平均値は、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、その判定方法とする。

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 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 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後、水酸化ナトリウム液で 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
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4 抗猫カリシウイルス特異血清

猫カリシ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 抗猫汎白血球減少症ウイルス特異血清

猫汎白血球減少症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 抗猫ウイルス性鼻気管炎ウイルス特異血清

猫ウイルス性鼻気管炎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 第1次重層寒天培地

1,000mL 中

寒天	10 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
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8 第2次重層寒天培地

1,000mL 中

寒天	10 g
ニュートラルレッド	0.08 g
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 7.4 ~ 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9 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上清又はこれを不活化したもので、赤血球凝集価 128 倍以上のもの