

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p>アカバネ病・チュウザン病・アイノウイルス感染症混合（アジュバント加）不活化ワクチン（シード）</p> <p>1 （略） 2 製法 2.1 製造用株 2.1.1 アカバネウイルス 2.1.1.1 （略） 2.1.1.2 性状 生後 2 日以内の乳のみマウスの脳内に接種すると、マウスは 3 日以内に死亡する。 牛腎初代培養細胞、豚腎初代培養細胞、<u>HmLu-1 細胞</u>、<u>HmLu-SC 細胞</u>、ESK 細胞及び Vero 細胞で 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、<u>HmLu 細胞</u>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。 （略） 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、<u>HmLu 細胞</u>で増殖及び継代する。</p> <p>（略） 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、<u>HmLu 細胞</u>で増殖させる。 （略） 2.1.2 カสบウイルス 2.1.2.1 （略） 2.1.2.2 性状 子牛の脳内に接種すると、発熱、食欲不振、白血球減少、次いで神経症状を示す。 BHK-21(C-13)細胞、<u>BHK-SC 細胞</u>、<u>HmLu-1 細胞</u>、<u>HmLu-SC 細胞</u>及び Vero-T 細胞で CPE を伴って増殖する。 2.1.2.3 マスターシードウイルス</p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p>アカバネ病・チュウザン病・アイノウイルス感染症混合（アジュバント加）不活化ワクチン（シード）</p> <p>1 （略） 2 製法 2.1 製造用株 2.1.1 アカバネウイルス 2.1.1.1 （略） 2.1.1.2 性状 生後 2 日以内の乳のみマウスの脳内に接種すると、マウスは 3 日以内に死亡する。 牛腎初代培養細胞、豚腎初代培養細胞、<u>HmLu-1 細胞</u>、ESK 細胞及び Vero 細胞で 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、<u>HmLu-1 細胞</u>又は<u>適当と認められた培養細胞</u>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。 （略） 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、<u>HmLu-1 細胞</u>又は<u>適当と認められた培養細胞</u>で増殖及び継代する。 （略） 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、<u>HmLu-1 細胞</u>又は<u>適当と認められた培養細胞</u>で増殖させる。 （略） 2.1.2 カสบウイルス 2.1.2.1 （略） 2.1.2.2 性状 子牛の脳内に接種すると、発熱、食欲不振、白血球減少、次いで神経症状を示す。 BHK-21(C-13)細胞、<u>HmLu-1 細胞</u>及び Vero-T 細胞で CPE を伴って増殖する。 2.1.2.3 マスターシードウイルス</p>

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、BHK-21 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。
(略)

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、BHK-21 細胞で増殖及び継代する。
(略)

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、BHK-21 細胞で増殖させる。
(略)

2.1.3 アイノウイルス
2.1.3.1 (略)

2.1.3.2 性状
牛の静脈内に接種すると、ウイルス血症を認めるが、発熱などの臨床症状は認められない。
BHK-21 (C-13)細胞、HmLu-1 細胞、HmLu-SC 細胞及び Vero 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、HmLu 細胞又は BHK-21 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。
(略)

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、HmLu 細胞又は BHK-21 細胞で増殖及び継代する。
(略)

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、HmLu 細胞又は BHK-21 細胞で増殖させる。
(略)

2.2 製造用材料
2.2.1 アカバネウイルス
2.2.1.1 株化細胞
HmLu 細胞を用いる。
2.2.1.2 培養液
製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液を用いる。
2.2.1.3 ~ 2.2.1.5 (略)

2.2.2 カスバウイルス
2.2.2.1 株化細胞

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、BHK-21 (C-13) 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。
(略)

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、BHK-21 (C-13) 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。
(略)

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、BHK-21 (C-13) 細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖させる。
(略)

2.1.3 アイノウイルス
2.1.3.1 (略)

2.1.3.2 性状
牛の静脈内に接種すると、ウイルス血症を認めるが、発熱などの臨床症状は認められない。
BHK-21 (C-13)細胞、HmLu-1 細胞及び Vero 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、HmLu-1 細胞、BHK-21 (C-13) 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。
(略)

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、HmLu-1 細胞、BHK-21 (C-13) 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。
(略)

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、HmLu-1 細胞、BHK-21 (C-13) 細胞又は適当と認められた培養細胞で増殖させる。
(略)

2.2 製造用材料
2.2.1 アカバネウイルス
2.2.1.1 株化細胞
HmLu-1 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 ~ 2.2.1.5 (略)

2.2.2 カスバウイルス
2.2.2.1 株化細胞

BHK-21 細胞を用いる。

2.2.2.2 培養液

製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液を用いる。

2.2.2.3 ~ 2.2.2.5 (略)

2.2.3 アイノウイルス

2.2.3.1 株化細胞

HmLu 細胞又は BHK-21 細胞を用いる。

2.2.3.2 培養液

製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液を用いる。

2.2.3.3 ~ 2.2.3.5 (略)

2.3 原液

2.3.1 アカバネウイルス原液

2.3.1.1・2.3.1.2 (略)

2.3.1.3 不活化

ウイルス浮遊液に製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた不活化剤を加え、ウイルス浮遊液を不活化し、不活化ウイルス液とする。
不活化ウイルス液について、3.4.1 及び 3.4.2.1 の試験を行う。

2.3.1.4 原液

不活化ウイルス液に製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めたアルミニウムゲルアジュバントを添加し、原液とする。ただし、不活化ウイルス液を製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた方法により濃縮したものを原液とし、最終バルクの調整時にアルミニウムゲルアジュバントを加えてもよい。
原液について、3.5 の試験を行う。

2.3.2 カスバウイルス原液

2.3.2.1 (略)

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、個体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ウイルス浮遊液とする。
ウイルス浮遊液について、3.3.1.2 の試験を行う。

2.3.2.3 不活化

ウイルス浮遊液に製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた不活化剤を加え、ウイルス浮遊液を不活化し、不活化ウイルス液とする。
不活化ウイルス液について、3.4.1 及び 3.4.2.2 の試験を行う。

2.3.2.4 原液

不活化ウイルス液に製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めたアルミニウムゲルアジュバントを添加し、原液とする。ただし、不活化ウイルス液を製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた方法により濃縮したものを原液とし、最終バルクの調整時にアルミニウムゲルアジュバントを加えてもよい。
原液について、3.5 の試験を行う。

2.3.3 アイノウイルス原液

2.3.3.1 (略)

2.3.3.2 ウイルスの培養

BHK-21 (C-13) 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 ~ 2.2.2.5 (略)

2.2.3 アイノウイルス

2.2.3.1 株化細胞

HmLu-1 細胞、BHK-21 (C-13) 細胞又は製造に適当と認められた株化細胞を用いる。

2.2.3.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

2.2.3.3 ~ 2.2.3.5 (略)

2.3 原液

2.3.1 アカバネウイルス原液

2.3.1.1・2.3.1.2 (略)

2.3.1.3 不活化

ウイルス浮遊液にホルマリンを 0.1vol % となるように加える方法又はその他の適当と認められた方法によりウイルス浮遊液を不活化し、不活化ウイルス液とする。
不活化ウイルス液について、3.4.1 及び 3.4.2.1 の試験を行う。

2.3.1.4 原液

不活化ウイルス液に適当と認められたアルミニウムゲルアジュバントを添加し、原液とする。
原液について、3.5 の試験を行う。

2.3.2 カスバウイルス原液

2.3.2.1 (略)

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、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、3.3.1.2 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 0.1vol % となるように加える方法又はその他の製造に適当と認められた方法によりウイルス浮遊液を不活化し、不活化ウイルス液とする。
不活化ウイルス液について、3.4.1 及び 3.4.2.2 の試験を行う。

2.3.2.4 原液

不活化ウイルス液に適当と認められたアルミニウムゲルアジュバントを添加し、原液とする。
原液について、3.5 の試験を行う。

2.3.3 アイノウイルス原液

2.3.3.1 (略)

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、個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 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製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた不活化剤を加え、ウイルス浮遊液を不活化し、不活化ウイルス液とする。

不活化ウイルス液について、3.4.1 及び 3.4.2.3 の試験を行う。

2.3.3.4 原液

不活化ウイルス液に製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めたアルミニウムゲルアジュバントを添加し、原液とする。ただし、不活化ウイルス液を製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた方法により濃縮したものを原液とし、最終バルクの調整時にアルミニウムゲルアジュバントを加えてもよい。

原液について、3.5 の試験を行う。

2.4・2.5 (略)

3 試験法

3.1 (略)

3.2 株価細胞の試験

3.2.1 マスターセルシードの試験

3.2.1.1 (略)

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。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。

3.2.1.3 ~ 3.2.1.7 (略)

3.2.2・3.2.3 (略)

3.3 ウイルス浮遊液の試験

3.3.1 ウイルス含有量試験

3.3.1.1 アカバネウイルス

3.3.1.1.1 試験材料

3.3.1.1.1.1 試料

検体を製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.1.1.1.2 培養細胞

HmLu-1 細胞を小試験管に培養し、単層となったものを用いる。

3.3.1.1.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本以上の培養細胞に接種し、36℃で 60 分間静置吸着させた後、製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液を 0.5mL 又は 1 mL ずつ加え、34 ~ 36℃で 7 日間回転培養し、観察する。

3.3.1.1.3 (略)

3.3.1.2 カスバウイルス

3.3.1.2.1 試験材料

3.3.1.2.1.1 試料

検体を製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.1.2.1.2 培養細胞

Vero-T 細胞をに培養し、単層となったものを用いる。

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、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、3.3.1.3 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 0.1vol % となるように加える方法又はその他の適当と認められた方法によりウイルス浮遊液を不活化し、不活化ウイルス液とする。

不活化ウイルス液について、3.4.1 及び 3.4.2.3 の試験を行う。

2.3.3.4 原液

不活化ウイルス液に適当と認められたアルミニウムゲルアジュバントを添加し、原液とする。

原液について、3.5 の試験を行う。

2.4・2.5 (略)

3 試験法

3.1 (略)

3.2 株価細胞の試験

3.2.1 マスターセルシードの試験

3.2.1.1 (略)

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 ~ 3.2.1.7 (略)

3.2.2・3.2.3 (略)

3.3 ウイルス浮遊液の試験

3.3.1 ウイルス含有量試験

3.3.1.1 アカバネウイルス

3.3.1.1.1 試験材料

3.3.1.1.1.1 試料

検体をウイルス増殖用培養液 (付記)で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.1.1.1.2 培養細胞

HmLu-1 細胞を小試験管に 1 ~ 3 日間培養し、単層となったものを用いる。

3.3.1.1.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 4 本以上の培養細胞に接種し、36℃で 60 分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を 0.5mL ずつ加え、34 ~ 36℃で 7 日間回転培養し、観察する。

3.3.1.1.3 (略)

3.3.1.2 カスバウイルス

3.3.1.2.1 試験材料

3.3.1.2.1.1 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。

3.3.1.2.1.2 培養細胞

Vero-T 細胞を小試験管に 1 ~ 3 日間培養し、単層となったものを用いる。

3.3.1.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ4本以上の培養細胞に接種し、36℃で60分間静置吸着させた後、製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液を 0.5mL 又は 1 mL ずつ 加え、37℃で7日間回転培養し、観察する。

3.3.1.2.3 (略)

3.3.1.3 アイノウイルス

3.3.1.3.1 試験材料

3.3.1.3.1.1 試料

検体を製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.1.3.1.2 培養細胞

HmLu-1 細胞を小試験管に培養し、単層となったものを用いる。

3.3.1.3.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ4本以上の培養細胞に接種し、36℃で60分間静置吸着させた後、製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液を 0.5mL 又は 1 mL ずつ 加え、34～36℃又は37℃で7日間回転培養し、観察する。

3.3.1.3.3 (略)

3.4 不活化ウイルス液の試験

3.4.1 (略)

3.4.2 不活化試験

3.4.2.1 アカバネウイルス

3.4.2.1.1 試験材料

3.4.2.1.1.1 (略)

3.4.2.1.1.2 培養細胞

HmLu-1 細胞を培養し、単層となったものを用いる。

3.4.2.1.2 試験方法

試料の全量を 1 mL につき 3 cm² 以上の培養細胞に接種し、34℃で60分間静置吸着させた後、製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液を加え、34～36℃で7日間培養し、観察する。

3.4.2.1.3 (略)

3.4.2.2 カスバウイルス

3.4.2.2.1 試験材料

3.4.2.2.1.1 (略)

3.4.2.2.1.2 培養細胞

Vero-T 細胞を培養し、単層となったものを用いる。

3.4.2.2.2 試験方法

試料の全量を 1 mL につき 3 cm² 以上の培養細胞に接種し、34℃で60分間静置吸着させた後、試料を抜き取り、製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液を加え、34～36℃で5日間培養後、細胞を次代に継代する。継代後2日目又は細胞層形成後に培養液を抜き取り、製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液を加え、34～36℃で5日間培養後、更に次代へ継代し、2代目と同様の方法で培養し、観察する。

3.4.2.2.3 (略)

3.4.2.3 アイノウイルス

3.4.2.3.1 試験材料

3.4.2.3.1.1 (略)

3.3.1.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ4本以上の培養細胞に接種し、36℃で60分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を 0.5mL ずつ 加え、37℃で7日間回転培養し、観察する。

3.3.1.2.3 (略)

3.3.1.3 アイノウイルス

3.3.1.3.1 試験材料

3.3.1.3.1.1 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。

3.3.1.3.1.2 培養細胞

HmLu-1 細胞を小試験管に 1～3 日間培養し、単層となったものを用いる。

3.3.1.3.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ4本以上の培養細胞に接種し、36℃で60分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を 0.5mL ずつ 加え、34～36℃で7日間回転培養し、観察する。

3.3.1.3.3 (略)

3.4 不活化ウイルス液の試験

3.4.1 (略)

3.4.2 不活化試験

3.4.2.1 アカバネウイルス

3.4.2.1.1 試験材料

3.4.2.1.1.1 (略)

3.4.2.1.1.2 培養細胞

HmLu-1 細胞を培養瓶で 1～3 日間培養し、単層となったものを用いる。

3.4.2.1.2 試験方法

試料の全量を 1 mL につき 3 cm² 以上の培養細胞に接種し、34℃で60分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を加え、34～36℃で7日間培養し、観察する。

3.4.2.1.3 (略)

3.4.2.2 カスバウイルス

3.4.2.2.1 試験材料

3.4.2.2.1.1 (略)

3.4.2.2.1.2 培養細胞

Vero-T 細胞を培養瓶で 1～3 日間培養し、単層となったものを用いる。

3.4.2.2.2 試験方法

試料の全量を 1 mL につき 3 cm² 以上の培養細胞に接種し、34℃で60分間静置吸着させた後、試料を抜き取り、ウイルス増殖用培養液を加え、34～36℃で5日間培養後、細胞を次代に継代する。継代後2日目に培養液を抜き取り、ウイルス増殖用培養液を加え、34～36℃で5日間培養後、更に次代へ継代し、2代目と同様の方法で培養し、観察する。

3.4.2.2.3 (略)

3.4.2.3 アイノウイルス

3.4.2.3.1 試験材料

3.4.2.3.1.1 (略)

3.4.2.3.1.2 培養細胞

HmLu-1 細胞を培養し、単層となったものを用いる。

3.4.2.3.2 試験方法

試料の全量を 1 mL につき 3 cm² 以上の培養細胞に接種し、34 °C で 60 分間静置吸着させた後、製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液を加え、34 ~ 36 °C で 7 日間培養し、観察する。

3.4.2.3.3 (略)

3.5 (略)

3.6 小分製品の試験

3.6.1 ~ 3.6.6 (略)

3.6.7 力価試験

3.6.7.1 試験材料

3.6.7.1.1 ~ 3.6.7.1.2 (略)

3.6.7.1.3 中和試験用ウイルス

3.6.7.1.3.1 アカバネウイルス

HmLu 細胞で増殖させたアカバネウイルス JaGAR39 株又はこれと同等と認められた株を用いる。

3.6.7.1.3.2 カスバウイルス

BHK-21 細胞で増殖させたカスバウイルス K-47 株又はこれと同等と認められた株を用いる。

3.6.7.1.3.3 アイノウイルス

HmLu 細胞又は BHK-21 細胞で増殖させたアイノウイルス JaNAr28 株又はこれと同等と認められた株を用いる。

3.6.7.1.4 培養細胞

HmLu-1 細胞及び Vero-T 細胞を小試験管に培養し、単層となったものを用いる。

3.6.7.2 試験方法

注射材料 0.5mL ずつを 5 匹の試験動物に 3 週間隔で 2 回筋肉内注射し、第 2 回目の注射後 10 日目に得られた各個体の血清について中和試験を行う。

被検血清を非働化した後、製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液で 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を等量混合し、アカバネウイルス及びアイノウイルスは 37 °C で 60 分間、カスバウイルスでは 90 分間処理する。この各混合液 0.1mL ずつをアカバネウイルス及びアイノウイルスは HmLu-1 細胞、カスバウイルスでは Vero-T 細胞のそれぞれ 4 本の培養細胞に接種し、37 °C で 60 分間静置吸着させた後、製剤ごとに農林水産大臣が適当と認めた培養液を 0.5mL 又は 1 mL ずつ加え、アカバネウイルスは 34 ~ 36 °C、アイノウイルスは 34 ~ 37 °C、カスバウイルスは 37 °C で、7 日間回転培養し、観察する。

3.6.7.3 (略)

以下 (略)

3.4.2.3.1.2 培養細胞

HmLu-1 細胞を培養瓶で 1 ~ 3 日間培養し、単層となったものを用いる。

3.4.2.3.2 試験方法

試料の全量を 1 mL につき 3 cm² 以上の培養細胞に接種し、34 °C で 60 分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を加え、34 ~ 36 °C で 7 日間培養し、観察する。

3.4.2.3.3 (略)

3.5 (略)

3.6 小分製品の試験

3.6.1 ~ 3.6.6 (略)

3.6.7 力価試験

3.6.7.1 試験材料

3.6.7.1.1 ~ 3.6.7.1.2 (略)

3.6.7.1.3 中和試験用ウイルス

3.6.7.1.3.1 アカバネウイルス

HmLu-1 細胞で増殖させたアカバネウイルス JaGAR39 株を用いる。

3.6.7.1.3.2 カスバウイルス

BHK-21 (C-13) 細胞で増殖させたカスバウイルス K-47 株を用いる。

3.6.7.1.3.3 アイノウイルス

BHK-21 (C-13) 細胞で増殖させたアイノウイルス JaNAr28 株を用いる。

3.6.7.1.4 培養細胞

HmLu-1 細胞及び Vero-T 細胞を小試験管に 2 ~ 3 日間培養し、単層となったものを用いる。

3.6.7.2 試験方法

注射材料 0.5mL ずつを 5 匹の試験動物に 3 週間隔で 2 回筋肉内注射し、第 2 回目の注射後 10 日目に得られた各個体の血清について中和試験を行う。

被検血清を非働化した後、ウイルス増殖用培養液で 2 倍階段希釈する。各希釈血清 0.5mL と 0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液 0.5mL とを等量混合し、アカバネウイルス及びアイノウイルスは 37 °C で 60 分間、カスバウイルスでは 90 分間処理する。この各混合液 0.1mL ずつをアカバネウイルス及びアイノウイルスは HmLu-1 細胞、カスバウイルスでは Vero-T 細胞のそれぞれ 4 本の培養細胞に接種し、37 °C で 60 分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を 0.5mL ずつ加え、アカバネウイルス及びアイノウイルスは 34 ~ 36 °C、カスバウイルスは 37 °C で、7 日間回転培養し、観察する。

3.6.7.3 (略)

以下 (略)