

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）

令和2年6月30日（告示第1246号） 一部改正

1 定義

シードロット規格に適合したアカバネウイルス、カスバウイルス及びアイノ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不活化し、アルミニウムゲルアジュバントを添加した後混合したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 アカバネウイルス

2.1.1.1 名称

アカバネウイルス OBE-1 株又はこれと同等と認められた株

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、HmLu-1 細胞、HmLu-SC 細胞、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、HmLu 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。

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、HmLu 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。

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、HmLu 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°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

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 カスバウイルス

2.1.2.1 名称

カスバウイルス K-47 株又はこれと同等と認められた株

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、BHK-SC 細胞、HmLu-1 細胞、HmLu-SC 細胞及び 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

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。

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。

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、BHK-21 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。

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、BHK-21 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°C 以下又は凍結乾燥して 5°C 以下で保存する。

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 アイノウイルス

2.1.3.1 名称

アイノウイルス JaNAr28 株又はこれと同等と認められた株

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。

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。

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、HmLu細胞又はBHK-21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。

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、HmLu細胞又はBHK-21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。

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 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 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。

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。

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。

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。

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 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 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。

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。

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。

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。

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 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 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。

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。

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。

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。

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 アカバネウイルス原液

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。ウイルス接種前の培養細胞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、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、3.3.1.1 の試験を行う。

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 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。ウイルス接種前の培養細胞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、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、3.3.1.2 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 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。ウイルス接種前の培養細胞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、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 最終バルク

アカバネウイルス原液、カスバウイルス原液及びアイノウイルス原液を混合し、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、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

牛RSウイルス、ブルータングウイルス及びリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスについて、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

牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、牛伝染性リンパ腫ウイルス、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、3.2.7、3.2.8 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。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 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

牛RSウイルス、ブルータングウイルス及びリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスについて、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

牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、牛伝染性リンパ腫ウイルス、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、3.2.7、3.2.8 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 2.1.4.2.1.6.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.7 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 2.1.4.2.3.1 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 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 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。

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。

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 細胞を小試験管に培養し、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 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。

検体のウイルス含有量は、1 mL 中 10^{7.0}TCID₅₀ 以上でなければならない。

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 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。

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。

3.4 不活化ウイルス液の試験

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

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 試料

100 倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、検体 5 mL を 4℃ で 1 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

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 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。

検体に活性ウイルスを認めてはならない。

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 試料

100 倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、検体 5 mL を 4℃ で 1 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

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 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。

検体に活性ウイルスを認めてはならない。

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 試料

100 倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い、検体 5 mL を 4℃ で 1 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

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 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。

検体に活性ウイルスを認めてはならない。

3.5 原液の試験

3.5.1 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。

3.6 小分製品の試験

3.6.1 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均質な懸濁液でなければならない。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。

3.6.2 pH 測定試験

一般試験法の pH 測定試験法を準用して試験するとき、pH は、固有の値を示さなければならない。

3.6.3 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。

3.6.4 ホルマリン定量試験

一般試験法のホルマリン定量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。

3.6.5 アルミニウム定量試験

一般試験法のアルミニウム定量法を準用して試験するとき、アルミニウムの含有量は、1 mL 中 1 mg 以下でなければならない。

3.6.6 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。

3.6.7 力価試験

3.6.7.1 試験材料

3.6.7.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.6.7.1.2 試験動物

体重約 350g のモルモットを用いる。

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℃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℃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℃、アイノウイルスは 34～37℃、カスバウイルスは 37℃で、7 日間回転培養し、観察する。

3.6.7.3 判定

培養細胞の 2 本以上に CPE の阻止を認めた血清の最高希釈倍数を中和抗体価とする。

アカバネウイルス及びアイノウイルスは中和抗体価 8 倍以上、カスバウイルスでは中和抗体価 32 倍以上を中和抗体陽性とする。

試験動物の中和抗体陽性率は、それぞれのウイルスに対して、80%以上でなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後 2 年 6 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。