

牛伝染性鼻気管炎・牛ウイルス性下痢2価・牛パラインフルエンザ・牛RS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）

平成 27 年 1 月 29 日（告示第 191 号）新規追加
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牛伝染性鼻気管炎ウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス 1 型、牛ウイルス性下痢ウイルス 2 型、牛パラインフルエンザ 3 型ウイルス及び牛 RS ウイルスを、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たものを混合し、アジュバントを添加したワクチンである。

2 製法

2.1 製剤用株

2.1.1 牛伝染性鼻気管炎ウイルス

2.1.1.1 名称

牛伝染性鼻気管炎ウイルス No.758-KB 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

牛に対して発熱、呼吸器症状及び白血球減少等の病原性を示す。

牛由来培養細胞及び豚由来培養細胞で 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、MDBK-NSC 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°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、3.1.1.1 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、MDBK-NSC 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°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、MDBK-NSC 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°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 牛ウイルス性下痢ウイルス 1 型

2.1.2.1 名称

牛ウイルス性下痢ウイルス 1 型 Nose-KB 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

牛の鼻腔内に接種すると、呼吸器症状、発熱、ウイルス血症及び白血球減少等の症状を示す。
牛由来培養細胞で CPE を伴って増殖し、非細胞病原性株の感染した細胞に重感染させた場合、CPE が抑制される。

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、MDBK-NSC 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°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、3.1.1.2 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、MDBK-NSC 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°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、MDBK-NSC 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°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 牛ウイルス性下痢ウイルス 2 型

2.1.3.1 名称

牛ウイルス性下痢ウイルス 2 型 KZ-91-KB 株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

牛の鼻腔内に接種すると、呼吸器症状、発熱、ウイルス血症及び白血球減少等の症状を示す。

牛由来培養細胞で CPE を伴って増殖し、非細胞病原性株の感染した細胞に重感染させた場合、CPE が抑制される。

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、MDBK-NSC 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°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、3.1.1.3 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、MDBK-NSC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°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。

2.1.3.5 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、MDBK-NSC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°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。

2.1.4 牛パラインフルエンザ3型ウイルス

2.1.4.1 名称

牛パラインフルエンザ3型ウイルス BN_i-1-KB株又はこれと同等と認められた株

2.1.4.2 性状

牛に対して発熱、呼吸器症状等の病原性を示す。

牛由来培養細胞及びアフリカミドリザル腎由来株化細胞（以下この項において「Vero細胞」という。）でCPEを伴って増殖する。

2.1.4.3 マスターシードウイルス

2.1.4.3.1 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、MDBK-NSC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°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、3.1.1.4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。

2.1.4.4 ワーキングシードウイルス

2.1.4.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、MDBK-NSC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°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。

2.1.4.5 プロダクションシードウイルス

2.1.4.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、MDBK-NSC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°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。

2.1.5 牛RSウイルス

2.1.5.1 名称

牛RSウイルス rs-52-KB 株又はこれと同等と認められた株

2.1.5.2 性状

牛に接種しても、病原性を示さない。

牛由来培養細胞、ハムスター肺由来培養細胞及び Vero 細胞で CPE を伴って増殖する。

2.1.5.3 マスターシードウイルス

2.1.5.3.1 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-SC 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°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、3.1.1.5 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。

2.1.5.4 ワーキングシードウイルス

2.1.5.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、HmLu-SC 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°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。

2.1.5.5 プロダクションシードウイルス

2.1.5.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードウイルスは、HmLu-SC 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°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。

2.2 製造用材料

2.2.1 牛伝染性鼻気管炎ウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス 1 型、牛ウイルス性下痢ウイルス 2 型及び牛パラインフルエンザ 3 型ウイルス

2.2.1.1 培養細胞

MDBK-NSC 細胞又は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。

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°C 以下で保存する。

マスターセルシードについて、3.2.1.1 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、3.2.2.1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℃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、3.2.3.1の試験を行う。

2.2.2 牛RSウイルス

2.2.2.1 培養細胞

HmLu-SC細胞又は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。

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、3.2.1.2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、3.2.2.2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℃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、3.2.3.2の試験を行う。

2.3 原液

2.3.1 牛伝染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別培養細胞ごとに採取した培養液のろ液、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

ウイルス浮遊液を適当と認められた方法により処理して不活化し、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 牛ウイルス性下痢ウイルス 1 型

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 の細胞で培養し、適当と認められた時期に個別培養細胞ごとに採取した培養液のろ液、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 3.3.2.2 の試験を行う。

2.3.2.3 不活化

ウイルス浮遊液を適当と認められた方法により処理して不活化し、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。

2.3.3 牛ウイルス性下痢ウイルス 2 型

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 の細胞で培養し、適当と認められた時期に個別培養細胞ごとに採取した培養液のろ液、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 3.3.2.3 の試験を行う。

2.3.3.3 不活化

ウイルス浮遊液を適当と認められた方法により処理して不活化し、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。

2.3.4 牛パラインフルエンザ 3 型ウイルス

2.3.4.1 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。

2.3.4.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを 2.3.4.1 の細胞で培養し、適当と認められた時期に個別培養細胞ごとに採取した培養液のろ液、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 3.3.2.4 の試験を行う。

2.3.4.3 不活化

ウイルス浮遊液を適当と認められた方法により処理して不活化し、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。

2.3.5 牛RSウイルス

2.3.5.1 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。

2.3.5.2 ウイルスの培養

プロダクションシードウイルスを 2.3.5.1 の細胞で培養し、適当と認められた時期に個別培養細胞ごとに採取した培養液のろ液、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 3.3.2.5 の試験を行う。

2.3.5.3 不活化

ウイルス浮遊液を適当と認められた方法により処理して不活化し、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。

2.4 最終バルク

牛伝染性鼻気管炎ウイルス原液、牛ウイルス性下痢ウイルス 1 型原液、牛ウイルス性下痢ウイルス 2 型原液、牛パラインフルエンザ 3 型ウイルス原液及び牛 R S ウイルス原液を混合し、適当と認められたアジュバント、保存剤を添加した後、濃度調整し、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、3.5 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 牛伝染性鼻気管炎ウイルス

3.1.1.1.1 同定試験

シードロット規格の 1.4.2.3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.1.2 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。

3.1.1.1.3 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。

3.1.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

3.1.1.1.4.1 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。

3.1.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験

3.1.1.1.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験

牛 R S ウイルス及びブルータングウイルスについて、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。

3.1.1.1.4.2.2 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。

3.1.1.2 牛ウイルス性下痢ウイルス 1 型

3.1.1.2.1 同定試験

シードロット規格の 1.4.2.3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.2.2 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。

3.1.1.2.3 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。

3.1.1.2.4 外来性ウイルス否定試験

3.1.1.2.4.1 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。

3.1.1.2.4.2 特定ウイルス否定試験

3.1.1.2.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験

牛RSウイルス及びブルータングウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 3.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.2.4.2.2 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。

3.1.1.3 牛ウイルス性下痢ウイルス 2 型

3.1.1.3.1 同定試験

シードロット規格の 1.4.2.3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.3.2 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。

3.1.1.3.3 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。

3.1.1.3.4 外来性ウイルス否定試験

3.1.1.3.4.1 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。

3.1.1.3.4.2 特定ウイルス否定試験

3.1.1.3.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験

牛RSウイルス及びブルータングウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 3.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.3.4.2.2 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。

3.1.1.4 牛パラインフルエンザ 3 型ウイルス

3.1.1.4.1 同定試験

シードロット規格の 1.4.2.3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.4.2 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。

3.1.1.4.3 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。

3.1.1.4.4 外来性ウイルス否定試験

3.1.1.4.4.1 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。

3.1.1.4.4.2 特定ウイルス否定試験

3.1.1.4.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験

牛RSウイルス及びブルータングウイルスについて、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。

3.1.1.4.4.2.2 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。

3.1.1.5 牛RSウイルス

3.1.1.5.1 同定試験

シードロット規格の1.4.2.3.1.1.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.5.2 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。

3.1.1.5.3 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。

3.1.1.5.4 外来性ウイルス否定試験

3.1.1.5.4.1 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。

3.1.1.5.4.2 特定ウイルス否定試験

3.1.1.5.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験

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。

3.1.1.5.4.2.2 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 培養細胞の試験

3.2.1 マスターセルシードの試験

3.2.1.1 MDBK-NSC細胞

3.2.1.1.1 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。

3.2.1.1.2 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。

3.2.1.1.3 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。

3.2.1.1.4 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。

3.2.1.1.5 外来性ウイルス否定試験

3.2.1.1.5.1 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。

3.2.1.1.5.2 特定ウイルス否定試験

3.2.1.1.5.2.1 特定ウイルス否定一般試験

牛 R S ウイルス及びブルータングウイルスについて、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。

3.2.1.1.5.2.2 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。

3.2.1.1.6 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。

3.2.1.1.7 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。

3.2.1.2 HmLu-SC 細胞

3.2.1.2.1 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。

3.2.1.2.2 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。

3.2.1.2.3 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。

3.2.1.2.4 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。

3.2.1.2.5 外来性ウイルス否定試験

3.2.1.2.5.1 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。

3.2.1.2.5.2 特定ウイルス否定試験

3.2.1.2.5.2.1 特定ウイルス否定一般試験

牛 R S 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 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.2.5.2.2 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。

3.2.1.2.6 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。

3.2.1.2.7 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 MDBK-NSC 細胞

3.2.2.1.1 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。

3.2.2.1.2 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。

3.2.2.1.3 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。

3.2.2.2 HmLu-SC 細胞

3.2.2.2.1 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。

3.2.2.2.2 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。

3.2.2.2.3 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 MDBK-NSC 細胞

3.2.3.1.1 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。

3.2.3.1.2 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。

3.2.3.1.3 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。

3.2.3.2 HmLu-SC 細胞

3.2.3.2.1 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。

3.2.3.2.2 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。

3.2.3.2.3 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。

3.3 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 牛伝染性鼻気管炎ウイルス

3.3.2.1.1 試験材料

3.3.2.1.1.1 試料

検体を細胞増殖用培養液（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

牛腎由来株化細胞（以下この項において「MDBK細胞」という。）浮遊液を用いる。

3.3.2.1.2 試験方法

96穴のマイクロプレートに100 μ Lずつ分注した培養細胞4穴以上に試料100 μ Lずつを接種し、37 $^{\circ}$ C、5 vol%炭酸ガス下で7日間培養し、観察する。

3.3.2.1.3 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^{8.0}TCID₅₀以上でなければならない。

3.3.2.2 牛ウイルス性下痢ウイルス1型

3.3.2.2.1 試験材料

3.3.2.2.1.1 試料

検体を細胞増殖用培養液で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

牛精巣細胞浮遊液を用いる。

3.3.2.2.2 試験方法

96穴のマイクロプレートに100 μ Lずつ分注した培養細胞4穴以上に試料100 μ Lずつを接種し、37 $^{\circ}$ C、5 vol%炭酸ガス下で7日間培養し、観察する。

3.3.2.2.3 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^{7.6}TCID₅₀以上でなければならない。

3.3.2.3 牛ウイルス性下痢ウイルス2型

3.3.2.3.1 試験材料

3.3.2.3.1.1 試料

検体を細胞増殖用培養液で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

牛精巣細胞浮遊液を用いる。

3.3.2.3.2 試験方法

96穴のマイクロプレートに100 μ Lずつ分注した培養細胞4穴以上に試料100 μ Lずつを接種し、37 $^{\circ}$ C、5 vol%炭酸ガス下で7日間培養し、観察する。

3.3.2.3.3 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^{6.4}TCID₅₀以上でなければならない。

3.3.2.4 牛パラインフルエンザ3型ウイルス

3.3.2.4.1 試験材料

3.3.2.4.1.1 試料

検体を細胞増殖用培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.2.4.1.2 培養細胞

MDBK細胞浮遊液を用いる。

3.3.2.4.2 試験方法

96穴のマイクロプレートに100 μ Lずつ分注した培養細胞4穴以上に試料100 μ Lずつを接種し、37 $^{\circ}$ C、5 vol%炭酸ガス下で7日間培養し、観察する。

3.3.2.4.3 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^{7.9}TCID₅₀以上でなければならない。

3.3.2.5 牛RSウイルス

3.3.2.5.1 試験材料

3.3.2.5.1.1 試料

検体を細胞増殖用培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.2.5.1.2 培養細胞

Vero細胞浮遊液を用いる。

3.3.2.5.2 試験方法

96穴のマイクロプレートに100 μ Lずつ分注した培養細胞4穴以上に試料100 μ Lずつを接種し、34 $^{\circ}$ C、5 vol%炭酸ガス下で7日間培養し、観察する。

3.3.2.5.3 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^{6.6}TCID₅₀以上でなければならない。

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

3.4.2.1 牛伝染性鼻気管炎ウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス1型、牛ウイルス性下痢ウイルス2型及び牛パラインフルエンザ3型ウイルス

3.4.2.1.1 試験材料

3.4.2.1.1.1 試料

検体を100倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い4 $^{\circ}$ Cで一夜透析したものを試料とする。

3.4.2.1.1.2 培養細胞

MDBK細胞を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1 mLにつき3 cm²以上の培養細胞に接種し、37 $^{\circ}$ Cで90分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液（付記2）を加え、37 $^{\circ}$ C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 牛RSウイルス

3.4.2.2.1 試験材料

3.4.2.2.1.1 試料

検体を100倍量以上のリン酸緩衝食塩液を用い4 $^{\circ}$ Cで一夜透析したものを試料とする。

3.4.2.2.1.2 培養細胞

Vero細胞を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 1 mL につき 3 cm²以上の培養細胞に接種し、37°Cで 90 分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を加え、34°Cで 7 日間培養し、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、固有の色調を有する均質な懸濁液でなければならず、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 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。

3.5.3 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。

3.5.4 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、0.08vol%以下でなければならない。

3.5.5 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 1.35~1.65mg でなければならない。

3.5.6 毒性限度確認試験

一般試験法の毒性限度確認試験法 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、注射量は、1 mL とし、注射後 3 日目の体重が注射前の体重と同等以上であることを、等分散を仮定した母平均の差の t 検定(対応のない場合、両側検定、有意水準 5%)により確認する。

3.5.7 力価試験

3.5.7.1 牛伝染性鼻気管炎力価試験

3.5.7.1.1 試験材料

3.5.7.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.7.1.1.2 試験動物

体重約 300g のモルモットを用いる。

3.5.7.1.1.3 中和試験用ウイルス

牛伝染性鼻気管炎ウイルス No.758 株又は適当と認められた株を用いる。

3.5.7.1.1.4 培養細胞

MDBK 細胞浮遊液を用いる。

3.5.7.1.2 試験方法

注射材料各 3 mL を 5 匹の試験動物に 2 週間隔で 2 回注射する。注射方法は、2 か所の筋肉内に 1 mL ずつ、1 か所の皮下に 1 mL を注射する。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。各希釈血清と 25 μL 中 200TCID₅₀に調整した中和試験用ウイルスを等量混和し、37°Cで 18 時間中和処理する。この混合液

25 μ L ずつを 96 穴マイクロプレートの 4 穴に接種し、さらに培養細胞を 0.1mL ずつ加え、37°C、5 vol%炭酸ガス下で 7 日間培養し、観察する。

3.5.7.1.3 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を中和抗体価とする。

中和抗体価 128 倍以上を陽性とするとき、試験動物の中和抗体陽性率は、80%以上でなければならない。

3.5.7.2 牛ウイルス性下痢力価試験

3.5.7.2.1 試験材料

3.5.7.2.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.7.2.1.2 試験動物

体重約 100g のラットを用いる。

3.5.7.2.1.3 中和試験用ウイルス

3.5.7.2.1.3.1 牛ウイルス性下痢ウイルス 1 型

牛ウイルス性下痢ウイルス 1 型 Nose 株又は適当と認められた株を用いる。

3.5.7.2.1.3.2 牛ウイルス性下痢ウイルス 2 型

牛ウイルス性下痢ウイルス 2 型 KZ-91-cp 株又は適当と認められた株を用いる。

3.5.7.2.1.4 培養細胞

MDBK 細胞浮遊液を用いる。

3.5.7.2.2 試験方法

注射材料各 2 mL を 5 匹の試験動物の両後肢大腿部筋肉内に 1 mL ずつ注射する。注射後 21 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。各希釈血清と 25 μ L 中 200TCID₅₀に調整した中和試験用ウイルスを等量混和し、37°Cで 60 分間中和処理する。この混合液 25 μ L ずつを 96 穴マイクロプレートの 4 穴に接種し、さらに培養細胞を 0.1mL ずつ加え、37°C、5 vol%炭酸ガス下で 7 日間培養し、観察する。

3.5.7.2.3 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を中和抗体価とする。

中和抗体価 2 倍以上を陽性とするとき、試験動物の中和抗体陽性率は、牛ウイルス性下痢ウイルス 1 型及び牛ウイルス性下痢ウイルス 2 型に対してそれぞれ 80%以上でなければならない。

3.5.7.3 牛パラインフルエンザ力価試験

3.5.7.3.1 試験材料

3.5.7.3.1.1 注射材料

3.5.7.1.1.1 の注射材料を用いる。

3.5.7.3.1.2 試験動物

3.5.7.1.1.2 の試験動物を用いる。

3.5.7.3.1.3 中和試験用ウイルス

牛パラインフルエンザ 3 型ウイルス BN₁-1 株又は適当と認められた株を用いる。

3.5.7.3.1.4 培養細胞

Vero 細胞浮遊液を用いる。

3.5.7.3.2 試験方法

3.5.7.1.2 の試験方法を準用する。

ただし、被検血清の中和処理は 37℃で 60 分間とする。

3.5.7.3.3 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を中和抗体価とする。

中和抗体価 4 倍以上を陽性とするとき、試験動物の中和抗体陽性率は、80%以上でなければならない。

3.5.7.4 牛 R S ウイルス感染症力価試験

3.5.7.4.1 試験材料

3.5.7.4.1.1 注射材料

3.5.7.1.1.1 の注射材料を用いる。

3.5.7.4.1.2 試験動物

3.5.7.1.1.2 の試験動物を用いる。

3.5.7.4.1.3 中和試験用ウイルス

牛 R S ウイルス NMK7 株又は適当と認められた株を用いる。

3.5.7.4.1.4 培養細胞

96 穴マイクロプレートで単層となった Vero 細胞を用いる。

3.5.7.4.2 試験方法

3.5.7.1.2 で得られた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。各希釈血清と 25 μL 中 200TCID₅₀に調整した中和試験用ウイルスを等量混和し、37℃で 60 分間中和処理する。Vero 細胞の培養液を除き、混合液 25 μL ずつを 4 穴に加え、37℃、5 vol%炭酸ガス下で 60 分間吸着する。吸着後にウイルス増殖用培養液を 0.1mL ずつに加え、34℃、5 vol%炭酸ガス下で 7 日間培養し、観察する。

3.5.7.4.3 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を中和抗体価とする。

中和抗体価 2 倍以上を陽性とするとき、試験動物の中和抗体陽性率は、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 1 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。

付記 1 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 7.2~7.6 に調整する。

牛胎子血清は、細胞の維持及びウイルスの増殖に適したものを用いる。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記 2 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

20～100 mL

イーグルMEM

残量

炭酸水素ナトリウムで pH を 7.2～7.6 に調整する。

牛胎子血清は、細胞の維持及びウイルスの増殖に適したものをを用いる。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。