

日本脳炎・豚パルボウイルス感染症混合生ワクチン (シード)

令和3年11月22日(告示第1991号)新規追加

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒日本脳炎ウイルス及び弱毒豚パルボウイルスを、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 日本脳炎ウイルス

2.1.1.1 名称

弱毒日本脳炎ウイルスm株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

1か月齢の豚に接種してもウイルス血症が出現しない。妊娠1か月前後の豚に接種しても胎子に感染しない。コガタアカイエカに対する感染率が著しく低下している。乳のみマウスの脳内又は豚腎若しくは豚精巣初代細胞で増殖する。

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-1-KB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。

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-1-KB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。

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、Vero-SW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℃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 豚パルボウイルス

2.1.2.1 名称

弱毒豚パルボウイルスHK⁻/SK株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

子豚に注射しても临床上異常を認めず、ウイルス血症及びウイルス排出を認めない。また、妊娠豚に注射しても胎子・胎盤感染及び死亡を認めない。

豚腎由来細胞に接種したとき、32℃での増殖は37℃での増殖を上回る。

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、SK-H-KB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℃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。

2.1.2.4 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、SK-H-KB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℃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。

2.1.2.5 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、SK-H-KB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℃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 日本脳炎ウイルス

2.2.1.1 培養細胞

2.2.1.1.1 マスターシードウイルス及びワーキングシードウイルスの培養細胞

HmLu-1-KB細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.1.1.2 プロダクションシードウイルスの培養細胞

Vero-SW細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.1.1.3 原液の製造に用いる培養細胞

HmLu-SC細胞又は製造に相当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.1.2 培養液

製造に相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。

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°C 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 豚パルボウイルス

2.2.2.1 培養細胞

SK-H-KB細胞又は製造に相当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.2.2 培養液

製造に相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°C 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の試験を行う。

2.3 原液

2.3.1 日本脳炎ウイルス原液

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の培養細胞で培養し、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、遠心上清又はこれらを濃縮したものを原液とする。

原液について、3.3.1、3.3.2.1及び3.3.3.1の試験を行う。

2.3.2 豚パルボウイルス原液

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の培養細胞で培養し、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原液とする。

原液について、3.3.1、3.3.2.2及び3.3.3.2の試験を行う。

2.4 最終バルク

日本脳炎ウイルス原液及び豚パルボウイルス原液を混合し、適当と認められた希釈液及び安定剤を加えて調製し、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1.4.2.1.1.1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

げっ歯類由来細胞を用いる場合には豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス及びリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスについて、サル由来細胞を用いる場合には豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス及び内在性レトロウイルス（C、Dタイプ粒子）について、豚由来細胞を用いる場合には豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスについて、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

日本脳炎ウイルスでは、豚熱ウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス及び狂犬病ウイルスについて、豚パルボウイルスでは、豚熱ウイルス、豚サーコウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、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、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7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

げっ歯類由来細胞を用いる場合には豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス及びリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスについて、サル由来細胞を用いる場合には豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス及び内源性レトロウイルス（C、Dタイプ粒子）について、豚由来細胞を用いる場合には豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスについて、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

豚熱ウイルス、豚サークウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、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、3.2.3、3.2.4、3.2.5、3.2.7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 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 日本脳炎ウイルス

3.3.2.1.1 試験材料

3.3.2.1.1.1 試料

検体をウイルス増殖用培養液（付記1）又は適当と認められた培養液で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.2.1.1.2 培養細胞

HmLu-1細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

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、ウイルス増殖用培養液1mL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。

3.3.2.1.3 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。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。

検体のウイルス含有量は、1mL中10^{7.0}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、そのウイルス含有量とする。

3.3.2.2 豚パルボウイルス

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

SK-H細胞又は適当と認められた細胞を用いる。

3.3.2.2.2 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、ウイルス増殖用培養液1mLを加え、31～32℃で10～14日間培養後、リン酸緩衝食塩液で調製した0.5%の被凝集性の鶏又はモルモットの赤血球浮遊液を0.4mLずつ加え、常温で60分間静置した後、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。

3.3.2.2.3 判定

赤血球の凝集を認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出する。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。

検体のウイルス含有量は、1 mL中 5.7 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、そのウイルス含有量とする。

3.3.3 マーカー試験

3.3.3.1 日本脳炎ウイルス

3.3.3.1.1 試験材料

3.3.3.1.1.1 注射材料

検体及び対照として中山株薬検系を用い、それぞれのウイルスが1 mL中に $10^{7.0}$ TCID₅₀又は $10^{7.0}$ LD₅₀以上含まれるように調製したものを、注射材料とする。

3.3.3.1.1.2 試験動物

3週齢のマウスを用いる。

3.3.3.1.2 試験方法

注射材料0.3mLずつを10匹以上の試験動物の腹腔内に注射し、14日間観察する。

3.3.3.1.3 判定

検体を注射したマウスの死亡率は、20%以下でなければならない。この場合、対照を注射したマウスの死亡率は80%以上でなければならない。

3.3.3.2 豚パルボウイルス

3.3.3.2.1 試験材料

3.3.3.2.1.1 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。

3.3.3.2.1.2 培養細胞

SK-H細胞又は適当と認められた細胞を用いる。

3.3.3.2.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ8本以上の培養細胞に接種し、ウイルス増殖用培養液1 mLを加え、2群に分け、31~32℃及び37℃でそれぞれ10~14日間培養する。培養終了時に3.3.2.2.2の赤血球浮遊液をそれぞれ0.4mLずつ加え、常温で60分間静置した後、赤血球凝集の有無を観察する。

3.3.3.2.3 判定

赤血球の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、32℃で培養するとき、37℃で培養する場合より100倍以上高くないなければならない。

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液体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。

3.4.2 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 日本脳炎ウイルス

試験品中の豚パルボウイルスを非働化した抗豚パルボウイルス血清で中和したものを試験料とし、3.3.2.1を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり $10^{5.0}$ 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、その試験方法及びウイルス含有量とする。

3.4.6.2 豚パルボウイルス

試験品中の日本脳炎ウイルスを非働化した抗日本脳炎ウイルス血清で中和したものを試験料とし、3.3.2.2を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり $10^{5.0}$ 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、その試験方法及びウイルス含有量とする。

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

約1か月齢の豚を用いる。

3.4.7.2 試験方法

試験動物3頭を試験群、1頭を対照群とする。試験群に注射材料1頭分を用法に従ってそれぞれ注射し、対照群とともに21日間観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その期間とする。

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 日本脳炎力価試験

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

適当と認められた日本脳炎ウイルス株を用いる。

3.4.8.1.1.3 培養細胞

生ワクチン製造用材料の規格2.1.1の鶏胚初代細胞を用いる。

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。試験群の血清は、それぞれ等量をプールする。

被検血清を非働化した後、ウイルス増殖用培養液で5倍に希釈し、更に2倍階段希釈する。各希釈血清と0.4mL中約200PFUの中和試験用ウイルス液とを等量混合し、37°Cで90分間処理する。各混合液0.4mLずつをそれぞれ4枚の培養細胞に接種し、37°Cで60分間吸着させた後、混合液を除き、第1次重層寒天培地（付記2）を加え、37°Cで3日間培養する。その後、第2次重層寒天培地（付記3）を重層し、37°Cで1日間培養し、ブラック数を算出する。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。

3.4.8.1.2.3 判定

ブ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を中和抗体価とする。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。

試験群の中和抗体価は、20倍以上でなければならない。この場合、対照群では、10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、その抗体価とする。

3.4.8.2 豚パルボ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 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.8.2.1.2 試験動物

体重約350gのモルモットを用いる。

3.4.8.2.1.3 赤血球凝集抗原

豚パルボウイルス赤血球凝集抗原（付記4）を用いる。

3.4.8.2.2 試験方法

注射材料5mLずつを、5匹の試験動物の腹腔内に4週間隔で2回注射し、第2回目の注射後14日目に得られた各個体の血清について、赤血球凝集抑制試験を行う。

被検血清をリン酸緩衝食塩液で5倍に希釈し、等量の25w/v%カオリン液を加え、常温で20分間処理する。遠心後の上清に鶏又はモルモットの赤血球を加え、常温で15分間処理し、再度遠心し、上清を採取する。これをリン酸緩衝食塩液で2倍階段希釈し、各段階の希釈液に8単位の赤血球凝集抗原を等量加え、4°Cで一夜処理する。これに3.3.2.2.2の赤血球浮遊液を加え、常温で60分間静置し、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。

3.4.8.2.3 判定

赤血球の凝集を抑制し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20倍以上を赤血球凝集抑制抗体陽性とする。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。

試験動物の赤血球凝集抑制抗体陽性率は、80%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、その陽性率とする。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後2年間とする。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
L-グルタミン	0.292 g
牛胎子血清	20～50 mL
イーグルMEM	残 量

pHを7.0～7.6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 第1次重層寒天培地

1,000mL中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス	2.95 g
L-グルタミン	0.292 g
牛胎子血清	150 mL
寒天	10 g
イーグルMEM	残 量

pHを7.0～7.4に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記3 第2次重層寒天培地

1,000mL中

トリプトース・ホスフェイト・ブロス	2.95 g
L-グルタミン	0.292 g
ニュートラルレッド	0.14 g
寒天	10 g
イーグルMEM	残 量

pHを7.0～7.4に調整する。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

付記4 豚パルボウイルス赤血球凝集抗原

豚パルボウイルス90HS株又は適合と認められた株を用いて調製した赤血球凝集抗原で、赤血球凝集価は64倍以上のもの。