

ジステンパー・犬パルボウイルス感染症混合生ワクチン（シード）

令和2年4月16日（告示第816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弱毒ジステンパーウイルス及び弱毒犬パルボ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 ジステンパーウイルス

2.1.1.1 名称

弱毒ジステンパーウイルスオンダーステポート株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。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、Vero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。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、Vero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。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、継代及び保存

プロダクションシードウイルスは、Vero細胞又は適当と認められた細胞で増殖する。

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 犬パルボウイルス

2.1.2.1 名称

弱毒犬パルボウイルス154株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

犬に注射しても病原性を示さない。犬及び猫由来細胞で核内封入体を伴って増殖し、その培養ウイルス液は豚の赤血球を凝集する。

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を猫胎子繊維芽細胞（以下「FEF細胞」という。）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。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

2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードウイルスは、FEF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。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、継代及び保存

プロダクションシードウイルスは、FEF細胞又は適当と認められた細胞で増殖する。

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 ジステンパーウイルス

2.2.1.1 培養細胞

Vero細胞又は製造に相当と認められた株化細胞を用いる。

2.2.1.2 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、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターセルシードは、2.2.1.2の培養液を用いて増殖させ、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、特定の番号又は製造記号を付し、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の培養液を用いて増殖及び継代する。

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

2.2.1.4.1 増殖、継代及び保存

プロダクションセルシードは2.2.1.2の培養液を用いて増殖する。

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 犬パルボウイルス

2.2.2.1 培養細胞

FEF細胞又は製造に相当と認められた株化細胞を用いる。

2.2.2.2 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、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターセルシードは、2.2.2.2の培養液を用いて増殖させ、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、特定の番号又は製造記号を付し、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。

2.2.2.4 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2.2.2.2の培養液を用いて増殖及び継代する。

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

2.2.1.4.1 増殖、継代及び保存

プロダクションセルシードは2.2.2.2の培養液を用いて増殖する。

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 ジステンパーウイルス原液

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の細胞に接種し培養し、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を混合したものを原液とする。

原液について、3.3.1及び3.3.2.1の試験を行う。

2.3.2 犬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の細胞に接種し培養し、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を混合したものを原液とする。

原液について、3.3.1及び3.3.2.2の試験を行う。

2.4 最終バルク

ジステンパーウイルス原液及び犬パルボウイルス原液を混合し、適当と認められた安定剤を加え、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

猿由来細胞を用いる場合には、内在性レトロウイルス（C、Dタイプ粒子）について、猫由来細胞を用いる場合には、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3.1.1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、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

猿由来細胞を用いる場合には、内在性レトロウイルス（C、D タイプ粒子）について、猫由来細胞を用いる場合には、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3.1.1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、犬パルボウイルス又は猫汎白血球減少症ウイルス及び日本脳炎ウイルス又は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 ジステンパー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

Vero細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.2.1.1.3 試験方法

試料0.5mLずつを24穴プレートの10穴以上に接種し、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。

3.3.2.1.2 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^{5.9}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、その判定方法及びウイルス含有量とする。

3.3.2.2 犬パルボ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

A72細胞（付記1）又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.2.2.2 試験方法

培養細胞を5 mLずつディッシュに分注し、試料0.5 mLずつをそれぞれ5枚以上の培養細胞に接種し、39°Cで10日間培養する。培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなして除き、CPEを認めない細胞は3及び6日後に3倍に拡張し、5 mLを新たなディッシュに継代する。判定日にリン酸緩衝食塩液で調整した1 vol%豚赤血球浮遊液をディッシュ1枚当たり1 mLずつ加え、2～5°Cで1時間静置した後、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

培養液に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、1 mL中10^{7.9}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、その判定方法及びウイルス含有量とする。

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法

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。

3.4.6 ウイルス含有量試験

3.4.6.1 ジステンパー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

試験品中の犬パルボウイルスを抗犬パルボウイルス血清（付記2）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（付記3）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

Vero細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.6.1.2 試験方法

試料0.1mLずつをそれぞれ5本（穴）以上の培養細胞に接種し、37°Cで10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 mL中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、その判定方法及びウイルス含有量とする。

3.4.6.2 犬パルボ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

試験品中のジステンパーウイルスを抗ジステンパーウイルス血清（付記4）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

A72細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.6.2.2 試験方法

培養細胞を5 mLずつディッシュに分注し、試料0.5mLずつをそれぞれ1希釈当たり5枚以上の培養細胞に接種し、39°Cで10日間培養する。培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなして除き、CPEを認めない細胞は3及び6日後に3倍に拡張し、5 mLを新たなディッシュに継代する。判定日にリン酸緩衝食塩液で調整した1 vol%豚赤血球浮遊液をディッシュ1枚当たり1 mLずつ加え、2～5°Cで1時間静置した後、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。

3.4.6.2.3 判定

培養液に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。

試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり32°Cで培養した場合は、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、その判定方法及びウイルス含有量とする。

3.4.7 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。

3.4.8 安全試験

3.4.8.1 試験材料

3.4.8.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.8.1.2 試験動物

6 か月齢未満の犬を用いる。

3.4.8.2 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 頭分を用法に従ってそれぞれ注射し、対照群とともに 4 週間観察する。

3.4.8.3 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。

3.4.9 力価試験

3.4.9.1 ジステンパー力価試験

3.4.9.1.1 試験材料

3.4.9.1.1.1 試験動物

3.4.8の試験に用いた動物を用いる。

3.4.9.1.1.2 中和試験用ウイルス

適当と認められたジステンパーウイルス株を用いる。

3.4.9.1.1.3 培養細胞

適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.9.1.2 試験方法

3.4.8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。各試験群の血清は、それぞれ等量をプールする。各プール血清を非働化し、適当と認められた希釈液で 2 倍階段希釈し、各希釈血清と 0.1mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルスとを等量混合し、2～5℃で一夜処理する。この各混合液 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 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。

3.4.9.1.3 判定

細胞を観察し、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は、160倍以上でなければならない。この場合、対照群では、10倍以下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。

3.4.9.2 犬パルボウイルス感染症力価試験

3.4.9.2.1 試験材料

3.4.9.2.1.1 試験動物

3.4.8の試験に用いた動物を用いる。

3.4.9.2.1.2 赤血球凝集抗原

犬パルボウイルス赤血球凝集抗原（付記 5）を用いる。

3.4.9.2.2 試験方法

3.4.8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。各試験群の血清は、個体別血清を用いる。各個体別血清を非働化し、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（付記 6）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加えて混合し、常温で60分間処理し、VAD6.0液（付記7）で調整した0.3vol%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。

3.4.9.2.3 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は、256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、その抗体価とする。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後3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 A72細胞

犬大腿部腫瘍由来株化細胞

付記2 抗犬パルボウイルス血清

犬パルボウイルスで免疫した兔の血清。

付記3 ウイルス増殖用培養液

1,000mL 中

牛胎子血清

20 mL

トリプトース・ホスフェイト・ブロス

2.95g

イーグルMEM

残量

pHを7.4～7.6に調整する。

必要最小量の抗生物質を加えてもよい。

付記4 抗ジステンパーウイルス血清

ジステンパーウイルスで免疫した兔又はモルモットの血清。

付記5 犬パルボウイルス赤血球凝集抗原

適当と認められた犬パルボウイルス株を猫腎継代細胞で増殖させて得た培養上清を不活化したもので、赤血球凝集価が4,000倍以上のもの。

付記6 牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液

1,000mL中

塩化ナトリウム

10.52g

ホウ酸	3.09g
水酸化ナトリウム	0.96g
水	残量

牛血清アルブミンを0.2w/v%になるように加えた後、pHを9.0に調整する。

付記7 VAD6.0 液

1,000mL 中

塩化ナトリウム	8.77g
無水リン酸水素二ナトリウム	5.68g
リン酸二水素ナトリウム二水和物	40.56g
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た後、pHを6.0に調整する。