

ジステンパー・犬アデノウイルス（2型）感染症・犬 パラインフルエンザ・犬パルボウイルス感染症・犬コ ロナウイルス感染症混合生ワクチン（シード）

平成24年8月10日(告示第2004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、弱毒犬アデノウイルス（2型）、弱毒犬パラインフルエンザウイルス、弱毒犬パルボウイルス及び弱毒犬コロナウイルスを同規格に適合した株化細胞又は初代細胞で増殖させて得たウイルス液の混合液を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 DFE-HC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。発育鶏卵の漿尿膜上又は感受性のある培養細胞に接種すると、ポック又は 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、SPF 動物規格の 2.6 に適合した鶏腎初代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℃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。

2.1.1.4 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、SPF動物規格の 2.6に適合した鶏腎初代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℃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。

2.1.1.5 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、SPF動物規格の 2.6 に適合した鶏腎初代細胞又は相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 犬アデノウイルス（2型）

2.1.2.1 名称

弱毒犬アデノウイルス（2型）OD-N/SL 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。感受性のある培養細胞に接種すると、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、犬腎株化細胞又は相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 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、犬腎株化細胞又は相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、犬腎株化細胞又は相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 犬パラインフルエンザウイルス

2.1.3.1 名称

弱毒犬パラインフルエンザウイルス DL-E 株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

犬に注射しても、病原性を示さない。感受性のある培養細胞に接種すると増殖し、細胞はモルモットの赤血球を吸着する。

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、SPF動物規格の 2.6 に適合した鶏胚初代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 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、SPF動物規格の 2.6に適合した鶏胚初代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、SPF動物規格の 2.6 に適合した鶏胚初代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 犬パルボウイルス

2.1.4.1 名称

弱毒犬パルボウイルス 29-F/LT 株又はこれと同等と認められた株

2.1.4.2 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、豚及びサルの赤血球を凝集する。

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、猫腎株化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 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、猫腎株化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、猫腎株化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 犬コロナウイルス

2.1.5.1 名称

弱毒犬コロナウイルス 5821-B株又はこれと同等と認められた株

2.1.5.2 性状

犬に注射しても、病原性を示さない。感受性のある培養細胞に接種すると、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、猫腎株化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 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

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、猫腎株化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、猫腎株化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 ジステンパーウイルス

2.2.1.1 培養細胞

SPF 動物規格の 2.6 に適合した鶏腎初代細胞又は製造に適当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.1.2 培養液

製造に適当と認められた培養液を用いる。

2.2.1.3 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）

2.2.1.3.1 増殖、継代及び保存

マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）は、2.2.1.2 の培養液で増殖させ、継代及び保存しない。

マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）について、3.2.1 の試験を行う。

2.2.2 犬アデノウイルス（2型）

2.2.2.1 株化細胞

犬腎株化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 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、3.3.1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°C 以下で保存する。

ワーキングセルシードについて、3.3.2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°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、3.3.3の試験を行う。

2.2.3 犬パラインフルエンザウイルス

2.2.3.1 培養細胞

SPF 動物規格の 2.6 に適合した鶏胚初代細胞又は製造に相当と認められた培養細胞を用いる。

2.2.3.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.3.3 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）

2.2.3.3.1 増殖、継代及び保存

マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）は、2.2.3.2の培養液で増殖させ、継代及び保存しない。

マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）について、3.2.1の試験を行う。

2.2.4 犬パルボウイルス

2.2.4.1 株化細胞

猫腎株化細胞又は製造に相当と認められた株化細胞を用いる。

2.2.4.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.4.3 マスターセルシード

2.2.4.3.1 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、2.2.4.2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、3.3.1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。

2.2.4.4 ワーキングセルシード

2.2.4.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.4.2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、3.3.2の試験を行う。

2.2.4.5 プロダクションセルシード

2.2.4.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.4.2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、3.3.3の試験を行う。

2.2.5 犬コロナウイルス

2.2.5.1 株化細胞

猫腎株化細胞又は製造に相当と認められた株化細胞を用いる。

2.2.5.2 培養液

製造に相当と認められた培養液を用いる。

2.2.5.3 マスターセルシード

2.2.5.3.1 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、2.2.5.2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、3.3.1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。

2.2.5.4 ワーキングセルシード

2.2.5.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングセルシードは、2.2.5.2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、3.3.2の試験を行う。

2.2.5.5 プロダクションセルシード

2.2.5.5.1 増殖及び保存

プロダクションセルシードは、2.2.5.2 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、3.3.3 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 プロダクションプライマリーセルシードの培養

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プライマリーセルシードに異常を認めてはならない。

個別培養細胞について、3.4 の試験を行う。

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又は遠心上清を原液とする。この場合、適当と認められた安定剤を添加してもよい。

原液について、3.5.1 及び 3.5.2.1 の試験を行う。

2.3.2 犬アデノウイルス（2型）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又は遠心上清を原液とする。この場合、適当と認められた安定剤を添加してもよい。

原液について、3.5.1 及び 3.5.2.2 の試験を行う。

2.3.3 犬パラインフルエンザウイルス原液

2.3.3.1 プロダクションプライマリーセルシードの培養

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プライマリーセルシードに異常を認めてはならない。

個別培養細胞について、3.4 の試験を行う。

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又は遠心上清を原液とする。この場合、適当と認められた安定剤を添加してもよい。

原液について、3.5.1 及び 3.5.2.3 の試験を行う。

2.3.4 犬パルボウイルス原液

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又は遠心上清を原液とする。この場合、適当と認められた安定剤を添加してもよい。

原液について、3.5.1 及び 3.5.2.4 の試験を行う。

2.3.5 犬コロナウイルス原液

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又は遠心上清を原液とする。この場合、適当と認められた安定剤を添加してもよい。

原液について、3.5.1 及び 3.5.2.5 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、犬アデノウイルス（2型）原液、犬パラインフルエンザウイルス原液、犬パルボウイルス原液及び犬コロナウイルス原液を混合し、最終バルクとする。この場合、適当と認められた安定剤を添加してもよい。

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、3.6 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 1.4.2.1.1.1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

猫由来細胞を用いる場合には、猫白血病ウイルス及び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。

鶏由来細胞を用いる場合には、鶏脳脊髄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 3.1.2 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、鶏脳脊髄炎ウイルスについて、3.1.1.4.2.2 に規定する試験を実施する製剤については、本試験を実施しなくてもよい。

3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

犬又は猫由来細胞を用いる場合には、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。

鶏由来細胞を用いる場合には、鶏白血病ウイルス、細網内皮症ウイルス、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、狂犬病ウイルス及び鶏脳脊髄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、3.2.1、3.2.2、3.2.5、3.2.6、3.2.9 及び 3.2.10 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、鶏脳脊髄炎ウイルスについて、3.1.1.4.2.1 に規定する試験を実施する製剤については、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の 3.2.10 の試験を実施しなくてもよい。

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 初代細胞の試験

3.2.1 マスタープライマリーセルシード（プロダクションプライマリーセルシード）の試験

3.2.1.1 培養性状試験

シードロット規格の 2.2.4.2.1.1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 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。

3.2.1.3 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 株化細胞の試験

3.3.1 マスターセルシードの試験

3.3.1.1 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。

3.3.1.2 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。

3.3.1.3 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。

3.3.1.4 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。

3.3.1.5 外来性ウイルス否定試験

3.3.1.5.1 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。

3.3.1.5.2 特定ウイルス否定試験

3.3.1.5.2.1 特定ウイルス否定一般試験

猫由来細胞を用いる場合には、猫白血病ウイルス及び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。

3.3.1.5.2.2 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、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 1.2、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。

3.3.1.6 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。

3.3.1.7 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。

3.3.2 ワーキングセルシードの試験

3.3.2.1 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。

3.3.2.2 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。

3.3.2.3 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。

3.3.3 プロダクションセルシードの試験

3.3.3.1 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。

3.3.3.2 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。

3.3.3.3 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。

3.4 個体別培養細胞の試験

個体別培養細胞のそれぞれ 1%以上を対照培養細胞とし、これについて次の試験を行う。

3.4.1 培養観察

対照培養細胞を、ウイルスを接種することなく、ウイルスの培養と同じ条件で培養する。対照培養細胞をプールし、4本以上の培養瓶及びカバーグラスを入れた4枚以上のシャーレに継代し、7日間以上培養し、観察するとき、CPE を認めてはならない。

3.4.2 赤血球吸着試験

3.4.1 の試験最終日に培養瓶の培養液を除き、リン酸緩衝食塩液で細胞表面を2回洗浄し、0.1vol%モルモット赤血球浮遊液を重層し、60分間静置した後、赤血球吸着の有無を観察するとき、培養細胞に赤血球の吸着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。

3.5.2 ウイルス含有量試験

3.5.2.1 ジステンパーウイルス含有量試験

3.5.2.1.1 試験材料

3.5.2.1.1.1 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。

3.5.2.1.1.2 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。

3.5.2.1.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを 4 本以上の培養細胞に接種し、37 °Cで 7 日間回転培養し、観察する。

3.5.2.1.3 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^{4.5}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、そのウイルス含有量とする。

3.5.2.2 犬アデノウイルス（2型）含有量試験

3.5.2.2.1 試験材料

3.5.2.2.1.1 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。

3.5.2.2.1.2 培養細胞

豚腎培養細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.5.2.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを 4 本以上の培養細胞に接種し、37 °Cで 7 日間回転培養し、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法とする。

3.5.2.2.3 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^{6.5}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、そのウイルス含有量とする。

3.5.2.3 犬パラインフルエンザウイルス含有量試験

3.5.2.3.1 試験材料

3.5.2.3.1.1 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。

3.5.2.3.1.2 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。

3.5.2.3.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを4本以上の培養細胞に接種し、30℃で7日間回転培養し、観察する。
ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法とする。

3.5.2.3.3 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^{6.5}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、そのウイルス含有量とする。

3.5.2.4 犬パルボウイルス含有量試験

3.5.2.4.1 試験材料

3.5.2.4.1.1 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。

3.5.2.4.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.5.2.4.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを4本以上の培養細胞に接種し、32℃で24時間静置培養した後、ウイルス増殖用培養液と交換し、更に32℃で6日間回転培養する。培養した後、培養液を採取し、これに等量の牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液（付記2）を加え、更にこの混合液と等量の VAD6.0 液（付記3）で濃度を調整した 0.3 ~ 0.5vol% 豚赤血球浮遊液を加え、2 ~ 5℃で静置後観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法とする。

3.5.2.4.3 判定

培養液に赤血球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^{6.5}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、そのウイルス含有量とする。

3.5.2.5 犬コロナウイルス含有量試験

3.5.2.5.1 試験材料

3.5.2.5.1.1 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。

3.5.2.5.1.2 培養細胞

猫腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.5.2.5.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを4本以上の培養細胞に接種し、37℃で7日間回転培養し、観察する。
ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法とする。

3.5.2.5.3 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 $10^{5.0}$ 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、そのウイルス含有量とする。

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。

3.6.2 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。

3.6.3 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。

3.6.4 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。

3.6.5 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。

3.6.6 ウイルス含有量試験

3.6.6.1 ジステンパーウイルス含有量試験

3.6.6.1.1 試験材料

3.6.6.1.1.1 試料

各抗血清（付記5から8までの血清）を非働化したもので試験品中のジステンパーウイルス以外のウイルスを中和する。これ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。

3.6.6.1.1.2 培養細胞

Vero細胞を用いる。

3.6.6.1.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを4本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で7日間チューブ法による回転培養又はプレート法による静置培養で培養し、観察する。

3.6.6.1.3 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頭分当たりチューブ法では $10^{3.5}$ TCID₅₀ 以上、プレート法では $10^{2.1}$ TCID₅₀ 以上でなければならない。

3.6.6.2 犬アデノウイルス（2型）含有量試験

3.6.6.2.1 試験材料

3.6.6.2.1.1 試料

各抗血清（付記4及び6から8までの血清）を非働化したもので試験品中の犬アデノウイルス（2型）以外のウイルスを中和する。これ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。

3.6.6.2.1.2 培養細胞

豚腎培養細胞又は犬腎株化細胞を用いる。

3.6.6.2.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを4本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で7日間チューブ法による回転培養又はプレート法による静置培養で培養し、観察する。

3.6.6.2.3 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。

試験品のウイルス含有量は、1頭分当たりチューブ法では10^{5.5}TCID₅₀以上、プレート法では10^{2.3}TCID₅₀以上でなければならない。

3.6.6.3 犬パラインフルエンザウイルス含有量試験

3.6.6.3.1 試験材料

3.6.6.3.1.1 試料

各抗血清（付記4、5、7及び8の血清）を非働化したもので試験品中の犬パラインフルエンザウイルス以外のウイルスを中和する。これ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。

3.6.6.3.1.2 培養細胞

Vero細胞を用いる。

3.6.6.3.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを4本（穴）以上の培養細胞に接種し、30℃で7日間チューブ法による回転培養又はプレート法による静置培養で培養し、観察する。

3.6.6.3.3 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。

試験品のウイルス含有量は、1頭分当たりチューブ法では10^{5.5}TCID₅₀以上、プレート法では10^{3.7}TCID₅₀以上でなければならない。

3.6.6.4 犬パルボウイルス含有量試験

3.6.6.4.1 試験材料

3.6.6.4.1.1 試料

各抗血清（付記4から6まで及び8の血清）を非働化したもので試験品中の犬パルボウイルス以外のウイルスを中和する。これ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。

3.6.6.4.1.2 培養細胞

猫腎株化細胞を用いる。

3.6.6.4.2 試験方法

試料の 0.1mL ずつを 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、32℃で 24 時間静置培養した後、ウイルス増殖用培養液と交換し、32℃で 6 日間チューブ法による回転培養又はプレート法による静置培養で培養する。培養した後、培養液を採取し、これに等量の牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液を加え、更にこの混合液と等量の VAD6.0 液で濃度を調整した 0.3 ～ 0.5vol% 豚赤血球浮遊液を加え、2 ～ 5℃で静置した後、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法によるものとする。

3.6.6.4.3 判定

培養液に赤血球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 頭分当たりチューブ法では 10^{5.5}TCID₅₀ 以上、プレート法では 10^{5.1}TCID₅₀ 以上でなければならない。

3.6.6.5 犬コロナウイルス含有量試験

3.6.6.5.1 試験材料

3.6.6.5.1.1 試料

各抗血清（付記 4 から 7 までの血清）を非働化したもので試験品中の犬コロナウイルス以外のウイルスを中和する。これ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。

3.6.6.5.1.2 培養細胞

猫腎株化細胞を用いる。

3.6.6.5.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを 4 本（穴）以上の培養細胞に接種し、37℃で 7 日間チューブ法による回転培養又はプレート法による静置培養で培養し、観察する。

3.6.6.5.3 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。

試験品のウイルス含有量は、1 頭分当たりチューブ法では 10^{4.0}TCID₅₀ 以上、プレート法では 10^{2.2}TCID₅₀ 以上でなければならない。

3.6.7 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試験するとき、適合しなければならない。

3.6.8 安全試験

3.6.8.1 試験材料

3.6.8.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.6.8.1.2 試験動物

6 か月齢未満の犬を用いる。

3.6.8.2 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、対照群と共に 8 週間観察する。

3.6.8.3 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。

3.6.9 力価試験

3.6.9.1 ジステンパー力価試験

3.6.9.1.1 試験材料

3.6.9.1.1.1 試験動物

3.6.8 の試験に用いた犬を用いる。

3.6.9.1.1.2 中和試験用ウイルス

犬ジステンパーウイルス DFE-HC株又は適当と認められたジステンパーウイルス株を用いる。

3.6.9.1.1.3 培養細胞

適当と認められた培養細胞を用いる。

3.6.9.1.2 試験方法

3.6.8 の初回注射後 4 週目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の。

各プール血清を非働化し、1 vol % 牛胎子血清加リン酸緩衝食塩液又は適当と認められた希釈液で 5 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とを等量混合し、2～5℃で 1 夜又は 37℃で 60 分間処理する。この各混合液 0.1mL ずつを 4 本以上の培養細胞に接種し、37℃で 7 日間回転培養し、観察する。

3.6.9.1.3 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、40 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。

3.6.9.2 犬アデノウイルス（2型）感染症力価試験

3.6.9.2.1 試験材料

3.6.9.2.1.1 試験動物

3.6.8 の試験に用いた犬を用いる。

3.6.9.2.1.2 中和試験用ウイルス

犬アデノウイルス（2型）OD-N株又は適当と認められた犬アデノウイルス（2型）株を用いる。

3.6.9.2.1.3 培養細胞

犬腎株化細胞を用いる。

3.6.9.2.2 試験方法

3.6.8 の初回注射後 4 週目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の。

各プール血清を非働化し、1 vol % 牛胎子血清加リン酸緩衝食塩液又は適当と認められた

希釈液で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とを等量混合し、35～37℃で60分間処理する。この各混合液0.1mLずつを4本以上の培養細胞に接種し、37℃で7日間回転培養し、観察する。

3.6.9.2.3 判定

培養細胞の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、50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。

3.6.9.3 犬パラインフルエンザ力価試験

3.6.9.3.1 試験材料

3.6.9.3.1.1 試験動物

3.6.8の試験に用いた犬を用いる。

3.6.9.3.1.2 中和試験用ウイルス

犬パラインフルエンザウイルスDL-1株又は適当と認められた犬パラインフルエンザウイルス株を用いる。

3.6.9.3.1.3 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。

3.6.9.3.2 試験方法

3.6.8の初回注射後4週目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、1 vol %牛胎子血清加リン酸緩衝食塩液又は適当と認められた希釈液で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とを等量混合し、適当な温度で60分間処理する。この各混合液0.1mLずつを4本以上の培養細胞に接種し、37℃で7日間回転培養し、観察する。

3.6.9.3.3 判定

培養細胞の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、10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。

3.6.9.4 犬パルボウイルス感染症力価試験

3.6.9.4.1 試験材料

3.6.9.4.1.1 試験動物

3.6.8の試験に用いた犬を用いる。

3.6.9.4.1.2 中和試験用ウイルス

犬パルボウイルスCP-49株又は適当と認められた犬パルボウイルス株を用いる。

3.6.9.4.1.3 培養細胞

猫腎株化細胞を用いる。

3.6.9.4.2 試験方法

3.6.8 の初回注射後 4 週目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、1 vol % 牛胎子血清加リン酸緩衝食塩液又は適当と認められた希釈液で 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とを等量混合し、35～37℃で 60 分間処理する。この各混合液 0.1mL ずつを 4 本以上の培養細胞に接種し、37℃で 24 時間静置培養した後、ウイルス増殖用培養液で液交換し、更に 37℃で 6 日間回転培養する。培養最終日に、培養液を採取し、これに等量の牛血清アルブミン加ホウ酸緩衝食塩液を加え、更にこの混合液と等量の VAD6.0 液で濃度を調整した 0.3～0.5vol % 豚赤血球浮遊液を加え、2～5℃で静置した後、観察する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法によるものとする。

3.6.9.4.3 判定

赤血球凝集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、200 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、4 倍未満でなければならない。

3.6.9.5 犬コロナウイルス感染症力価試験

3.6.9.5.1 試験材料

3.6.9.5.1.1 試験動物

3.6.8 の試験に用いた犬を用いる。

3.6.9.5.1.2 中和試験用ウイルス

犬コロナウイルス 5821-B 株又は適当と認められた犬コロナウイルス株を用いる。

3.6.9.5.1.3 培養細胞

猫腎株化細胞を用いる。

3.6.9.5.2 試験方法

3.6.8 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、1 vol % 牛胎子血清加リン酸緩衝食塩液又は適当と認められた希釈液で 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とを等量混合し、37℃で 60 分間処理する。この各混合液 0.1mL ずつを 4 本以上の培養細胞に接種し、37℃で 7 日間回転培養し、観察する。

3.6.9.5.3 判定

培養細胞の 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、8 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、4 倍未満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 3 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 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

イーグル MEM 残量

炭酸水素ナトリウムで 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2 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 7.01 g

ホウ酸 3.09 g

水酸化ナトリウム 0.96 g

水残量

牛血清アルブミンを 0.2w/v %となるように加えた後、水酸化ナトリウム液で pH を 9.0 に調整する。

付記3 VAD6.0 液

1,000mL 中

塩化ナトリウム 8.77 g

無水リン酸水素二ナトリウム 5.68 g

リン酸水素二ナトリウム二水和物 40.56 g

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て pH を 6.0 に調整する。

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兎、モルモット又はフェレットの血清であって、試験品中のジステンパーウイルスを完全に中和できるもの。

付記5 抗犬アデノウイルス（2型）血清

犬アデノウイルス（2型）で免疫した兎又はモルモットの血清であって、試験品中の犬アデノウイルス2型を完全に中和できるもの。

付記6 抗犬パラインフルエンザウイルス血清

犬パラインフルエンザウイルスで免疫した兎又はモルモットの血清であって、試験品中の犬パラインフルエンザウイルスを完全に中和できるもの。

付記7 抗犬パルボウイルス血清

犬パルボウイルスで免疫した兎又はモルモットの血清であって、試験品中の犬パルボウイルスを完全に中和できるもの。

付記8 抗犬コロナウイルス血清

犬コロナウイルスで免疫した兎の血清であって、試験品中の犬コロナウイルスを完全に中和できるもの。