

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部</p> <p><b>ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎2価・産卵低下症候群—1976・鶏サルモネラ症（サルモネラ・インファンティス抽出抗原・サルモネラ・エンテリティディス抽出抗原・サルモネラ・ティフィムリウム抽出抗原）・鶏伝染性コリーザ（A・C型組換え融合抗原）・マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症混合（油性アジュバント加）不活化ワクチン</b></p> <p>ニューカッスル病ウイルス及び血清型のそれぞれ異なる2種類の鶏伝染性気管支炎ウイルスを発育鶏卵で増殖させて得たウイルス液、産卵低下症候群—1976ウイルスを培養細胞で増殖させたウイルス液並びにマイコプラズマ・ガリセプチカムの培養菌液をそれぞれ不活化したもの、サルモネラ・インファンティス、サルモネラ・エンテリティディス及びサルモネラ・ティフィムリウムのそれぞれの培養菌液を不活化し、濃縮した後、破碎処理して得た抽出抗原並びにヘモフィルス・パラガリナルム（A型菌及びC型菌）の組換え融合抗原産生大腸菌に発現させた組換えたん白質の可溶化溶液に油性アジュバントを添加し、混合したワクチンである。</p> <p>1 小分製品の試験                      (削る)</p> <p>(削る)</p>	<p>ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部</p> <p><b>ニューカッスル病・鶏伝染性気管支炎2価・産卵低下症候群—1976・鶏サルモネラ症（サルモネラ・インファンティス抽出抗原・サルモネラ・エンテリティディス抽出抗原・サルモネラ・ティフィムリウム抽出抗原）・鶏伝染性コリーザ（A・C型組換え融合抗原）・マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症混合（油性アジュバント加）不活化ワクチン</b></p> <p>ニューカッスル病ウイルス及び血清型のそれぞれ異なる2種類の鶏伝染性気管支炎ウイルスを発育鶏卵で増殖させて得たウイルス液、産卵低下症候群—1976ウイルスを培養細胞で増殖させたウイルス液並びにマイコプラズマ・ガリセプチカムの培養菌液をそれぞれ不活化したもの、サルモネラ・インファンティス（以下この項において「SI」という。）、サルモネラ・エンテリティディス（以下この項において「SE」という。）及びサルモネラ・ティフィムリウム（以下この項において「ST」という。）のそれぞれの培養菌液を不活化し、濃縮した後、破碎処理して得た抽出抗原並びにヘモフィルス・パラガリナルム（A型菌及びC型菌）の組換え融合抗原産生大腸菌に発現させた組換えたん白質の可溶化溶液に油性アジュバントを添加し、混合したワクチンである。</p> <p>1 小分製品の試験</p> <p>1.1 無菌試験  <u>一般試験法の無菌試験法により試験を行い、これに適合しなければなら</u>  <u>ない。</u></p> <p>1.2 安全試験</p> <p>1.2.1 試験材料</p> <p>1.2.1.1 注射材料  <u>試験品を注射材料とする。</u></p>

(削る)

## 1.1 ニューカッスル病力価試験

### 1.1.1 試験材料

#### 1.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

#### 1.1.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の5～7週齢の鶏を用いる。

#### 1.1.1.3 (略)

### 1.1.2 試験方法

試験動物の10羽を試験群、3羽を対照群とする。注射材料の1羽分ずつを試験群の脚部筋肉内に注射し、4週間後に試験群及び対照群から採血する。

得られた各個体の血清について、ニューカッスル病ウイルス赤血球凝集抑制試験を行う。

#### 1.1.3 (略)

(削る)

### 1.2.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の5～7週齢の鶏を用いる。

### 1.2.2 試験方法

試験動物の10羽を試験群、3羽を対照群とする。

注射材料の1羽分ずつを試験群の脚部筋肉内に注射し、対照群と共に4週間観察する。

### 1.2.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群に臨床的な異常を認めてはならない。

## 1.3 力価試験

### 1.3.1 ニューカッスル病力価試験

#### 1.3.1.1 試験材料

(新設)

#### 1.3.1.1.1 試験動物

1.2の試験に用いた動物を用いる。

#### 1.3.1.1.2 (略)

#### 1.3.1.2 試験方法

1.2の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ニューカッスル病ウイルス赤血球凝集抑制試験を行う。

#### 1.3.1.3 (略)

### 1.3.2 鶏伝染性気管支炎力価試験

#### 1.3.2.1 試験材料

##### 1.3.2.1.1 試験動物

1.2の試験に用いた動物を用いる。

##### 1.3.2.1.2 中和試験用ウイルス

それぞれの製造用株を用いる。ただし、そのウイルス量は、生ワクチン製造用材料の規格1.1の9～10日齢の発育鶏卵の尿膜腔内に注射し、ウイルス価を測定するとき、1 mL中 $10^{6.0}$ EID<sub>50</sub>以上でなければならない。

##### 1.3.2.1.3 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格1.1の9～10日齢のものを用いる。

#### 1.3.2.2 試験方法

1.2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、ウイルス希釈法により中和試験を行う。血清は、それぞれ各群ごとに等量プールし、非働化する。それぞれの中和試験用ウイルスを牛血清アルブミン加リン酸緩衝食塩液(付記1)で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を3群に分け、第1群には試験群のプール血清を、第2群には対照群のプール血清を、第3群にはウイルス対照として牛血清アルブミン加リン酸緩衝食塩液を、それぞれ等量加えて混合する。これらの混合液を2～10℃で18～24時間、又は37℃で60

(削る)

分間処理する。処理した試料0.1mLずつを5個以上の発育鶏卵に注射し、37°Cで7～8日間培養し、観察する。

#### 1.3.2.3 判定

鶏胚に死亡又は変性（発育不全、カーリング）を認めたものを感染したものとみなし、EID<sub>50</sub>を算出する。ただし、24時間以内に死亡したものは、除外する。試験群のそれぞれの株に対する中和指数は、対照群に対し2.0以上でなければならない。この場合において、対照群の中和指数は、ウイルス対照に対し1.0以下でなければならない。

#### 1.3.3 産卵低下症候群—1976力価試験

##### 1.3.3.1 試験材料

##### 1.3.3.1.1 試験動物

1.2の試験に用いた動物を用いる。

##### 1.3.3.1.2 赤血球凝集抗原

産卵低下症候群—1976ウイルス赤血球凝集抗原（付記2）を用いる。

##### 1.3.3.2 試験方法

1.2の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、産卵低下症候群—1976ウイルス赤血球凝集抑制試験を行う。血清1容に25w/v%カオリン液（付記3）3容を加えて20分間処理した後、遠心した上清を採取する。これを生理食塩液で2倍階段希釈し、各希釈血清25μLに等量の4単位の産卵低下症候群—1976ウイルス赤血球凝集抗原を加えて混合し反応させた後、鶏赤血球浮遊液を50μLずつ加えて振とう混合し、静置した後に、赤血球凝集の有無を観察する。

##### 1.3.3.3 判定

赤血球凝集が抑制された血清の最高希釈倍数をHI抗体価とする。試験群の80%以上がHI抗体価32倍以上でなければならない。この場合、対照群では、全てHI抗体価4倍以下でなければならない。

#### 1.3.4 鶏サルモネラ症（SI）力価試験

##### 1.3.4.1 試験材料

##### 1.3.4.1.1 試験動物

1.2の試験に使用した試験動物を用いる。

##### 1.3.4.1.2 酵素抗体反応（以下この項において「ELISA」という。）用抗原

SI LPS-ELISA抗原（付記4）を用いる。

##### 1.3.4.2 試験方法

1.2の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ELISAを行う。試験群及び対照群の各血清、SI参照陽性血清（付記5）及び参照陰性血清（付記6）を検体希釈液（付記7）で400倍に希釈し、それぞれSI LPS-ELISA抗原吸着プレート（付記8）2穴に50μLずつ加え、25°Cで1時間反応させた後、洗浄液（付記9）で洗浄する。各穴に酵素標識抗体（付記10）を50μLずつ加え、25°Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。基質液（付記11）を100μLずつ加え、遮光して25°Cで反応させた後、反応停止液（付記12）

(削る)

(削る)

を100 $\mu$ Lずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長450nm及び副波長650nmで測定し、これらの差をELISA値とする。

#### 1.3.4.3 判定

各血清のELISA値の平均値をSI参照陽性血清のELISA値の平均値で除したものを、各血清のELISA抗体価とする。試験群のELISA抗体価の平均値は1.231以上でなければならず、対照群のELISA抗体価はいずれも0.200未満でなければならない。また、SI参照陽性血清のELISA値の平均値は0.800～1.300を示さなければならず、参照陰性血清のELISA値の平均値は0.200未満でなければならない。

#### 1.3.5 鶏サルモネラ症 (SE) 力価試験

##### 1.3.5.1 試験材料

###### 1.3.5.1.1 試験動物

1.2の試験に使用した試験動物を用いる。

###### 1.3.5.1.2 ELISA用抗原

SE LPS-ELISA抗原 (付記13) を用いる。

##### 1.3.5.2 試験方法

1.2の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ELISAを行う。試験群及び対照群の各血清、SE参照陽性血清 (付記14) 及び参照陰性血清をSE検体前処理液 (付記15) で100倍希釈し、2～10℃で一夜反応させる。SE検体前処理液で処理した血清を検体希釈液で4倍に希釈し、それぞれSE LPS-ELISA抗原吸着プレート (付記16) 2穴に50 $\mu$ Lずつ加え、25℃で1時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体を50 $\mu$ Lずつ加え、25℃で1時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。基質液を100 $\mu$ Lずつ加え、遮光して25℃で反応させた後、反応停止液を100 $\mu$ Lずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長450nm及び副波長650nmで測定し、これらの差をELISA値とする。

#### 1.3.5.3 判定

各血清のELISA値をSE参照陽性血清のELISA値の平均値で除したものを、各血清のELISA抗体価とする。試験群のELISA抗体価の平均値は1.139以上でなければならず、対照群のELISA抗体価はいずれも0.200未満でなければならない。また、SE参照陽性血清のELISA値の平均値は0.800～1.300を示さなければならず、参照陰性血清のELISA値の平均値は0.200未満でなければならない。

(削る)

#### 1.3.6 鶏サルモネラ症 (ST) 力価試験

##### 1.3.6.1 試験材料

###### 1.3.6.1.1 試験動物

1.2の試験に使用した試験動物を用いる。

###### 1.3.6.1.2 ELISA用抗原

ST LPS-ELISA抗原 (付記17) を用いる。

##### 1.3.6.2 試験方法

1.2の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、

(削る)

ELISAを行う。試験群及び対照群の各血清、ST参照陽性血清（付記18）及び参照陰性血清をST検体前処理液（付記19）で100倍希釈し、2～10℃で一夜反応させる。ST検体前処理液で処理した血清を検体希釈液で4倍に希釈し、それぞれST LPS-ELISA抗原吸着プレート（付記20）2穴に50 $\mu$ Lずつ加え、25℃で1時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体を50 $\mu$ Lずつ加え、25℃で1時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。基質液を100 $\mu$ Lずつ加え、遮光して25℃で反応させた後、反応停止液を100 $\mu$ Lずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長450nm及び副波長650nmで測定し、これらの差をELISA値とする。

#### 1.3.6.3 判定

各血清のELISA値をST参照陽性血清のELISA値の平均値で除したものを、各血清のELISA抗体価とする。試験群のELISA抗体価の平均値は1.244以上でなければならず、対照群のELISA抗体価はいずれも0.200未満でなければならない。また、ST参照陽性血清のELISA値の平均値は0.800～1.300を示さなければならない。また、参照陰性血清のELISA値の平均値は0.200未満でなければならない。

#### 1.3.7 鶏伝染性コリザ（A・C型）力価試験

##### 1.3.7.1 A型力価試験

###### 1.3.7.1.1 試験材料

###### 1.3.7.1.1.1 試験動物

1.2の試験に用いた動物を用いる。

###### 1.3.7.1.2 試験方法

1.2の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ELISAを行う。精製組換えA型ELISA抗原（付記21）を96穴プレートの各穴に50 $\mu$ Lずつ加え、2～10℃で一夜反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴にブロッキング溶液（付記22）を300 $\mu$ Lずつ加え、20～30℃で1時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。試験群の血清、対照群の血清及びA・C参照陽性血清（付記23）を検体希釈液で100倍に希釈したものをそれぞれ2穴に50 $\mu$ Lずつ加え、20～30℃で1時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体を50 $\mu$ Lずつ加え、20～30℃で30分間反応させた後、洗浄液で洗浄する。基質液を100 $\mu$ Lずつ加え、遮光して20～30℃で反応させた後、反応停止液を100 $\mu$ Lずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長450nm及び副波長650nmで測定し、これらの差をELISA値とする。

###### 1.3.7.1.3 判定

被検血清のELISA値をA・C参照陽性血清のELISA値で除したものを各被検血清の抗体価とするとき、試験群の80%以上が抗体価0.300以上でなければならない。この場合において、対照群の全てが抗体価0.300未満でなければならない。

##### 1.3.7.2 C型力価試験

###### 1.3.7.2.1 試験材料

###### 1.3.7.2.1.1 試験動物

(削る)

1.2の試験に用いた動物を用いる。

#### 1.3.7.2.2 試験方法

1.2の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ELISAを行う。精製組換えC型ELISA抗原(付記24)を96穴プレートの各穴に50 $\mu$ Lずつ加え、2 $\sim$ 10 $^{\circ}$ Cで一夜反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴にブロッキング溶液を300 $\mu$ Lずつ加え、20 $\sim$ 30 $^{\circ}$ Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。試験群の血清、対照群の血清及びA・C参照陽性血清を検体希釈液で100倍に希釈したものをそれぞれ2穴に50 $\mu$ Lずつ加え、20 $\sim$ 30 $^{\circ}$ Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体を50 $\mu$ Lずつ加え、20 $\sim$ 30 $^{\circ}$ Cで30分間反応させた後、洗浄液で洗浄する。基質液を100 $\mu$ Lずつ加え、遮光して20 $\sim$ 30 $^{\circ}$ Cで反応させた後、反応停止液を100 $\mu$ Lずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長450nm及び副波長650nmで測定し、これらの差をELISA値とする。

#### 1.3.7.2.3 判定

被検血清のELISA値をA・C参照陽性血清のELISA値で除したものを各被検血清の抗体価とするとき、試験群の80%以上が抗体価0.300以上でなければならない。この場合において、対照群の全てが抗体価0.300未満でなければならない。

#### 1.3.8 マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症力価試験

##### 1.3.8.1 試験材料

##### 1.3.8.1.1 試験動物

1.2の試験に用いた動物を用いる。

##### 1.3.8.1.2 赤血球凝集抗原

マイコプラズマ・ガリセプチカム赤血球凝集抗原(付記25)を用いる。

##### 1.3.8.2 試験方法

1.2の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、マイコプラズマ・ガリセプチカム赤血球凝集抑制試験を行う。  
血清をリン酸緩衝食塩液(以下この項において「PBS」という。)で2倍階段希釈し、各希釈血清25 $\mu$ Lに等量の4単位のマイコプラズマ・ガリセプチカム赤血球凝集抗原を加えて混合し、15 $\sim$ 20分間処理した後、0.25vol%の鶏赤血球浮遊液を50 $\mu$ Lずつ加えて振とう混合し、2 $\sim$ 10 $^{\circ}$ Cで一夜又は室温で120分間処理した後、赤血球凝集の有無を観察する。

##### 1.3.8.3 判定

赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数をHI抗体価とする。試験群のHI抗体価の幾何平均値は、0.90を超えなければならない。この場合において、対照群は、全てHI抗体価4倍未満でなければならない。なお、HI抗体価の幾何平均値は、HI抗体価の常用対数の平均値とする。

#### 付記1 牛血清アルブミン加リン酸緩衝食塩液

PBSに5.5w/v%牛血清アルブミン溶液を3 $\sim$ 5vol%になるように添加し

(削る)

(削る)	<p style="text-align: center;"><u>たもの。</u></p> <p>付記 2 <u>産卵低下症候群—1976ウイルス赤血球凝集抗原</u>  <u>産卵低下症候群—1976ウイルスJPA-1株又はこれと同等と認められた株を生ワクチン製造用材料の規格1.3の発育あひる卵で増殖させて得た尿膜腔液又は生ワクチン製造用材料の規格2.1.3の鶏胚肝初代細胞で増殖させて得た培養上清に0.2vol%になるようにホルマリンを加えて不活化したも</u>  <u>の。</u></p>
(削る)	<p>付記 3 <u>25w/v%カオリン液</u>  <u>100mL中</u>  <u>カオリン</u> <span style="float: right;"><u>25g</u></span>  <u>PBS</u> <span style="float: right;"><u>残量</u></span>  <u>121°Cで15分間高压滅菌し、2～10°Cに保存する。</u></p>
(削る)	<p>付記 4 <u>SI LPS-ELISA抗原</u>  <u>SI I-178株又はこれと同等の抗原性を有する株の不活化菌液にフェノールを添加し、遠心によりたん白質を除去したLPS抗原であり、PBSで透析したもの。本抗原を用いて1.3.4.2の試験によりELISAを行うとき、SI参照陽性血清のELISA値の平均値が0.800～1.300を示す。使用時のエンドトキシン量が2,500～10,000EU/穴になるようにPBSで調整する。</u></p>
(削る)	<p>付記 5 <u>SI参照陽性血清</u>  <u>生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏をSI菌体抽出抗原で免疫して得られた血清で、1.3.4.2の試験によりELISAを行うとき、ELISA値の平均値が0.800～1.300を示すもの。</u></p>
(削る)	<p>付記 6 <u>参照陰性血清</u>  <u>生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、1.3.4.2、1.3.5.2及び1.3.6.2の試験によりELISAを行うとき、ELISA値の平均値が0.200未満を示すもの。</u></p>
(削る)	<p>付記 7 <u>検体希釈液</u>  <u>精製水にスキムミルクを10w/v%、ポリソルベート20を0.1vol%となるように加え、溶解したもの。</u></p>
(削る)	<p>付記 8 <u>SI LPS-ELISA抗原吸着プレート</u>  <u>SI LPS-ELISA抗原を96穴プレートの各穴に50μLずつ加え、25°Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄し、次に、各穴に5w/v%スキムミルク溶液を300μLずつ加え、25°Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄したもの。</u></p>

(削る)

付記9 洗浄液

PBS1,000mLにポリソルベート20を0.5mL添加したもの。

(削る)

付記10 酵素標識抗体

ペルオキシダーゼ標識抗鶏IgG (H+L) 抗体。1.3.4.2、1.3.5.2及び1.3.6.2の試験に使用する場合は、SI参照陽性血清、SE参照陽性血清及びST参照陽性血清のそれぞれのELISA値の平均値が0.800～1.300を示すように5 w/v%スキムミルク溶液にて希釈して用いる。また、1.3.7.1.2及び1.3.7.2.2の試験に使用する場合は、A・C参照陽性血清のELISA値がA型に対しては0.800～1.350、C型に対しては0.750～1.350を示すように標識抗体希釈液（付記26）で希釈して用いる。

(削る)

付記11 基質液

市販のテトラメチルベンチジン（TMB）基質液を用いる。

(削る)

付記12 反応停止液

<u>1,000mL中</u>	
<u>硫酸</u>	<u>55mL</u>
<u>精製水</u>	<u>残量</u>

(削る)

付記13 SE LPS-ELISA抗原

SE E-926株又はこれと同等の抗原性を有する株の不活化菌液にフェノールを添加し、遠心によりたん白質を除去したLPS抗原であり、PBSで透析したもの。本抗原を用いて1.3.5.2の試験によりELISAを行うとき、SE参照陽性血清のELISA値の平均値が0.800～1.300を示す。使用時のエンドトキシン量が2,500～10,000EU/穴になるようにPBSで調整する。

(削る)

付記14 SE参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏をSE菌体抽出抗原で免疫して得られた血清で、1.3.5.2の試験によりELISAを行うとき、ELISA値の平均値が0.800～1.300を示すもの。

(削る)

付記15 SE検体前処理液

ST T-023株又はこれと同等の抗原性を有する株の菌体抽出抗原液をエンドトキシン量が50,000EU/mLになるようにPBSで調整したもの。

(削る)

付記16 SE LPS-ELISA抗原吸着プレート

SE LPS-ELISA抗原を96穴プレートの各穴に50 $\mu$ Lずつ加え、25 $^{\circ}$ Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄し、次に、各穴に5 w/v%スキムミルク溶液を300 $\mu$ Lずつ加え、25 $^{\circ}$ Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄した



(削る)	<p><u>もの。</u></p> <p><u>付記17 ST LPS-ELISA抗原</u>  <u>ST T-023株又はこれと同等の抗原性を有する株の不活化菌液にフェノールを添加し、遠心によりたん白質を除去したLPS抗原であり、PBSで透析したもの。本抗原を用いて1.3.6.2の試験によりELISAを行うとき、ST参照陽性血清のELISA値の平均値が0.800～1.300を示す。使用時のエンドトキシン量が2,500～10,000EU/穴になるようにPBSで調整する。</u></p>
(削る)	<p><u>付記18 ST参照陽性血清</u>  <u>生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏をST菌体抽出抗原で免疫して得られた血清で、1.3.6.2の試験によりELISAを行うとき、ELISA値の平均値が0.800～1.300を示すもの。</u></p>
(削る)	<p><u>付記19 ST検体前処理液</u>  <u>SE E-926株又はこれと同等の抗原性を有する株の菌体抽出抗原液をエンドトキシン量が50,000EU/mLになるようにPBSで調整したもの。</u></p>
(削る)	<p><u>付記20 ST LPS-ELISA抗原吸着プレート</u>  <u>ST LPS-ELISA抗原を96穴プレートの各穴に50 <math>\mu</math>Lずつ加え、25°Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄し、次に、各穴に5 w/v%スキムミルク溶液を300 <math>\mu</math>Lずつ加え、25°Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄したもの。</u></p>
(削る)	<p><u>付記21 精製組換えA型ELISA抗原</u>  <u>ヘモフィルス・パラガリナルムA型菌No.221株由来の遺伝子を保有する組換え大腸菌の培養菌液を超音波破碎後、尿素で可溶化した溶液をアフィニティクロマトグラフィーで精製し、PBSで透析したもので、たん白質量が0.1 <math>\mu</math>g/穴になるようにPBSで調整した本抗原を用いて、1.3.7.1.2によりELISAを行うとき、A・C参照陽性血清のELISA値が0.800～1.350を示すもの。</u></p>
(削る)	<p><u>付記22 ブロッキング溶液</u>  <u>PBSにスキムミルクを5 w/v%となるように加え、溶解したもの。</u></p>
(削る)	<p><u>付記23 A・C参照陽性血清</u>  <u>組換え大腸菌発現ヘモフィルス・パラガリナルムAC融合抗原液で免疫した、生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、1.3.7.1.2及び1.3.7.2.2によりELISAを行うとき、ELISA値がA型に対して0.800～1.350、C型に対して0.750～1.350を示さなければならない。</u></p>

(削る)

付記24 精製組換えC型ELISA抗原

ヘモフィルス・パラガリナラムC型菌53-47株由来の遺伝子を保有する組換え大腸菌の培養菌液を超音波破碎後、尿素で可溶化した溶液をアフィニティクロマトグラフィーで精製し、PBSで透析したもので、たん白質量が0.1 $\mu$ g/穴になるようにPBSで調整した本抗原を用いて、1.3.7.2.2によりELISAを行うとき、A・C参照陽性血清のELISA値が0.750~1.350を示すもの。

(削る)

付記25 マイコプラズマ・ガリセプチカム赤血球凝集抗原

製造用株を培養し、ホルマリンを加えて不活化した菌液を遠心洗浄後、再浮遊し、これにグリセリンを等量加え、-20℃以下に保存したもの。

(削る)

付記26 標識抗体希釈液

<u>1,000mL中</u>	
<u>スキムミルク</u>	<u>50g</u>
<u>ポリソルベート20</u>	<u>1mL</u>
<u>水</u>	<u>残量</u>