

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>牛伝染性鼻気管炎・牛ウイルス性下痢－粘膜病 2 価・牛パラインフルエンザ・牛RSウイルス感染症・牛アデノウイルス感染症混合生ワクチン</p> <p>（略）</p> <p>1 小分製品の試験</p> <p>1.1・1.2 （略）</p> <p>1.3 ウイルス含有量試験</p> <p>1.3.1 牛伝染性鼻気管炎ウイルス</p> <p>1.3.1.1 （略）</p> <p>1.3.1.2 試験方法</p> <p>試料 0.1mL をそれぞれ 4 本以上の培養細胞に接種し、37℃で 60 分間吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を <u>1</u> mL ずつ加え、34～36℃で 7 日間回転培養し、観察する。</p> <p>1.3.1.3 （略）</p> <p>1.3.2 牛ウイルス性下痢-粘膜病ウイルス 1 型</p> <p>1.3.2.1 （略）</p> <p>1.3.2.2 試験方法</p> <p>試料 0.1mL をそれぞれ小試験管に 0.5mL ずつ分注した培養細胞 4 本以上に接種し、37℃で 5～7 日間静置培養し、単層形成が良好であることを確認する。培養液を除き、1 mL 中牛ウイルス性下痢－粘膜病ウイルス 1 型 Nose 株を 10^{5.0} TCID₅₀ 又は 1 mL 中ニューカッスル病ウイルス TCND 株若しくは宮寺株を 10^{4.0} EID₅₀ 含んだ細胞増殖用培養液を <u>1</u> mL ずつ加え、更に 34～36℃で 5～7 日間回転培養し、観察する。</p> <p>1.3.2.3 （略）</p> <p>1.3.3 （略）</p> <p>1.3.4 牛パラインフルエンザ 3 型ウイルス</p> <p>1.3.4.1 試験材料</p> <p>1.3.4.2 試験方法</p> <p>試料 0.1mL をそれぞれ 4 本以上の培養細胞に接種し、37℃で 60 分間吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を <u>1</u> mL ずつ加え、34～36℃で 7 日間回転培養し、観察する。</p> <p>1.3.4.3 （略）</p>	<p>ワクチン（シードロット製剤を除く。）の部</p> <p>牛伝染性鼻気管炎・牛ウイルス性下痢－粘膜病 2 価・牛パラインフルエンザ・牛RSウイルス感染症・牛アデノウイルス感染症混合生ワクチン</p> <p>（略）</p> <p>1 小分製品の試験</p> <p>1.1・1.2 （略）</p> <p>1.3 ウイルス含有量試験</p> <p>1.3.1 牛伝染性鼻気管炎ウイルス</p> <p>1.3.1.1 （略）</p> <p>1.3.1.2 試験方法</p> <p>試料 0.1mL をそれぞれ 4 本以上の培養細胞に接種し、37℃で 60 分間吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を <u>0.5</u>mL ずつ加え、34～36℃で 7 日間回転培養し、観察する。</p> <p>1.3.1.3 （略）</p> <p>1.3.2 牛ウイルス性下痢-粘膜病ウイルス 1 型</p> <p>1.3.2.1 （略）</p> <p>1.3.2.2 試験方法</p> <p>試料 0.1mL をそれぞれ小試験管に 0.5mL ずつ分注した培養細胞 4 本以上に接種し、37℃で 5～7 日間静置培養し、単層形成が良好であることを確認する。培養液を除き、1 mL 中牛ウイルス性下痢－粘膜病ウイルス 1 型 Nose 株を 10^{5.0} TCID₅₀ 又は 1 mL 中ニューカッスル病ウイルス TCND 株若しくは宮寺株を 10^{4.0} ED₅₀ 含んだ細胞増殖用培養液を <u>0.5</u>mL ずつ加え、更に 34～36℃で 5～7 日間回転培養し、観察する。</p> <p>1.3.2.3 （略）</p> <p>1.3.3 （略）</p> <p>1.3.4 牛パラインフルエンザ 3 型ウイルス</p> <p>1.3.4.1 試験材料</p> <p>1.3.4.2 試験方法</p> <p>試料 0.1mL をそれぞれ 4 本以上の培養細胞に接種し、37℃で 60 分間吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を <u>0.5</u>mL ずつ加え、34～36℃で 7 日間回転培養し、観察する。</p> <p>1.3.4.3 （略）</p>

1.3.5 牛 RS ウイルス

1.3.5.1 試験材料

1.3.5.1.1 試料

試験品中の牛RSウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記1から4まで及び6）を非働化したもので中和したものを牛RSウイルス増殖用培養液（付記12）で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

1.3.5.1.2 (略)

1.3.5.2 試験方法

試料0.1mLをそれぞれ4本以上の培養細胞に接種し、37℃で60分間吸着させた後、牛RSウイルス増殖用培養液を1mLずつ加え、34℃で14日間回転培養し、観察する。

1.3.5.3 (略)

1.3.6 牛アデノウイルス（7型）

1.3.6.1 (略)

1.3.6.2 試験方法

試料0.1mLをそれぞれ4本以上の培養細胞に接種し、37℃で60分間吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を1mLずつ加え、34～36℃で7日間回転培養し、観察する。培養終了後、培養細胞を4℃に冷却し、これに4℃に冷却した赤血球浮遊液0.25mLを加え、4℃で1夜静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

1.3.6.3 (略)

1.4・1.5 (略)

1.6 力価試験

1.6.1・1.6.2 (略)

1.6.3 牛パラインフルエンザ力価試験

1.6.3.1 (略)

1.6.3.2 試験方法

接種材料0.2mLずつを5匹の試験動物の鼻腔内に接種し、21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0.2mLに25w/v%カオリン加生理食塩液0.6mLを加え、15～25℃で20分間処理した後、1,700Gで20分間遠心し、その上清をVBSを用いて2倍階段希釈する。各希釈血清0.2mLに4単位の赤血球凝集抗原0.2mLを加え、37℃で60分間処理した後、VBSで濃度を調整した0.3vol%モルモット赤血球浮遊液0.2mLを加え、4℃で1夜静置し、観察する。

1.6.3.3 (略)

1.6.4 牛RSウイルス感染症力価試験

1.6.4.1 試験材料

1.6.4.2 試験方法

注射材料2mLずつを5匹の試験動物に14日間隔で2回腹腔内に注射し、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中和試験を行う。

被検血清を非働化した後、牛RSウイルス増殖用培養液で2倍階段希釈する。希釈血清0.5mLと0.1mL当たり約200TCID₅₀を含む中和試験用ウイルス0.5mLとを混合し、22℃で24時間処理する。この混合液0.1mLずつを4本の培養細胞に接種し、37℃で60分間静置吸着させた後、牛RSウイルス増殖用培養液を1mLずつ加え、34℃で10日間回転培養し、観察する。

1.3.5 牛 RS ウイルス

1.3.5.1 試験材料

1.3.5.1.1 試料

試験品中の牛RSウイルス以外のウイルスを各抗血清（付記1から4まで及び6）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。

1.3.5.1.2 (略)

1.3.5.2 試験方法

試料0.1mLをそれぞれ4本以上の培養細胞に接種し、37℃で60分間吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を0.5mLずつ加え、34℃で14日間回転培養し、観察する。

1.3.5.3 (略)

1.3.6 牛アデノウイルス（7型）

1.3.6.1 (略)

1.3.6.2 試験方法

試料0.1mLをそれぞれ4本以上の培養細胞に接種し、37℃で60分間吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を0.5mLずつ加え、34～36℃で7日間回転培養し、観察する。培養終了後、培養細胞を4℃に冷却し、これに4℃に冷却した赤血球浮遊液0.25mLを加え、4℃で1夜静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

1.3.6.3 (略)

1.4・1.5 (略)

1.6 力価試験

1.6.1・1.6.2 (略)

1.6.3 牛パラインフルエンザ力価試験

1.6.3.1 (略)

1.6.3.2 試験方法

接種材料0.2mLずつを5匹の試験動物の鼻腔内に接種し、21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0.2mLに25w/v%カオリン加生理食塩液0.6mLを加え、20分間処理した後、1,700Gで20分間遠心し、その上清をVBSを用いて2倍階段希釈する。各希釈血清0.2mLに4単位の赤血球凝集抗原0.2mLを加え、37℃で60分間処理した後、VBSで濃度を調整した0.3vol%モルモット赤血球浮遊液0.2mLを加え、4℃で1夜静置し、観察する。

1.6.3.3 (略)

1.6.4 牛RSウイルス感染症力価試験

1.6.4.1 試験材料

1.6.4.2 試験方法

注射材料2mLずつを5匹の試験動物に14日間隔で2回腹腔内に注射し、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。希釈血清0.5mLと0.1mL当たり約200TCID₅₀を含む中和試験用ウイルス0.5mLとを混合し、22℃で24時間処理する。この混合液0.1mLずつを4本の培養細胞に接種し、37℃で60分間静置吸着させた後、ウイルス増殖用培養液を0.5mLずつ加え、34℃で10日間回転培養し、観察する。

1.6.4.3 (略)

1.6.5 (略)

付記 1～11 (略)

付記 12 牛RSウイルス増殖用培養液

1,000mL 中

<u>トリプトース・ホスフェイト・ブロス</u>	<u>2.95 g</u>
<u>L-グルタミン</u>	<u>0.292g</u>
<u>ブドウ糖</u>	<u>1.0g</u>
<u>L-グルタミン酸水素ナトリウム一水和物</u>	<u>5.0g</u>
<u>酵母エキス</u>	<u>0.5g</u>
<u>牛胎子血清</u>	<u>10～20 mL</u>
<u>イーグル MEM</u>	<u>残 量</u>

炭酸水素ナトリウムで pH を 7.2～7.6 に調整する。

血清は、牛伝染性鼻気管炎ウイルス、牛ウイルス性下痢-粘膜病ウイルス

牛パラインフルエンザ 3 型ウイルス、牛RSウイルス及び牛アデノウイルス

(7 型) に対して抗体陰性のものを用いる。

必要最少量の抗生物質を加えてもよい。

1.6.4.3 (略)

(略)

付記 1～11 (略)

(新設)