

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・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・牛ヒストフィルス・ソムニ（ヘモフィルス・ソムナス）感染症混合（アジュバント加）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</p> <p>1.3.2.1 （略）</p> <p>1.3.2.2 試験方法</p> <p>試料 0.1mL を、小試験管に 0.5mL ずつ分注した培養細胞 4 本以上にそれぞれ接種し、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 Nose 株を $10^{5.0}$TCID₅₀（以下この項においてこのウイルスを用いる方法を「干渉法」という。）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（以下この項においてこのウイルスを用いる方法を「END 法」という。）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 牛パラインフルエンザ 3 型ウイルス</p> <p>1.3.3.1 （略）</p> <p>1.3.3.2 試験方法</p> <p>試料 0.1mL を 4 本以上の培養細胞にそれぞれ接種し、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、</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・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・牛ヒストフィルス・ソムニ（ヘモフィルス・ソムナス）感染症混合（アジュバント加）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</p> <p>1.3.2.1 （略）</p> <p>1.3.2.2 試験方法</p> <p>試料 0.1mL を、小試験管に 0.5mL ずつ分注した培養細胞 4 本以上にそれぞれ接種し、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 Nose 株を $10^{5.0}$TCID₅₀（以下この項においてこのウイルスを用いる方法を「干渉法」という。）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（以下この項においてこのウイルスを用いる方法を「END 法」という。）含んだウイルス増殖用培養液を <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 牛パラインフルエンザ 3 型ウイルス</p> <p>1.3.3.1 （略）</p> <p>1.3.3.2 試験方法</p> <p>試料 0.1mL を 4 本以上の培養細胞にそれぞれ接種し、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、</p>

観察する。

- 1.3.3.3 (略)
- 1.3.4 牛RSウイルス
- 1.3.4.1 試験材料
- 1.3.4.1.1 試料

乾燥生ワクチンを液状不活化ワクチンと同量のウイルス増殖用培養液で溶解したものを試験品とし、試験品中の牛RSウイルス以外のウイルスを各抗血清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24)で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

- 1.3.4.1.2 (略)
- 1.3.4.2 試験方法

試料0.1mLを4本以上の培養細胞にそれぞれ接種し、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。

- 1.3.4.3 (略)
- 1.3.5 牛アデノウイルス(7型)
- 1.3.5.1 (略)
- 1.3.5.2 試験方法

試料0.1mLを4本以上の培養細胞にそれぞれ接種し、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℃で一夜静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

- 1.3.5.3 (略)
- 1.4 (略)

1.5 力価試験

- 1.5.1～1.5.3 (略)

1.5.4 牛RSウイルス感染症力価試験

- 1.5.4.1 (略)

1.5.4.2 試験方法

注射材料2mLずつを5匹の試験動物の腹腔内に14日間隔で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。

- 1.5.4.3 (略)
- 1.5.5・1.5.6 (略)

付記1～23 (略)

付記24 牛RSウイルス増殖用培養液

観察する。

- 1.3.3.3 (略)
- 1.3.4 牛RSウイルス
- 1.3.4.1 試験材料
- 1.3.4.1.1 試料

乾燥生ワクチンを液状不活化ワクチンと同量のウイルス増殖用培養液で溶解したものを試験品とし、試験品中の牛RSウイルス以外のウイルスを各抗血清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。

- 1.3.4.1.2 (略)
- 1.3.4.2 試験方法

試料0.1mLを4本以上の培養細胞にそれぞれ接種し、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。

- 1.3.4.3 (略)
- 1.3.5 牛アデノウイルス(7型)
- 1.3.5.1 (略)
- 1.3.5.2 試験方法

試料0.1mLを4本以上の培養細胞にそれぞれ接種し、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℃で一夜静置し、赤血球凝集の有無を観察する。

- 1.3.5.3 (略)
- 1.4 (略)

1.5 力価試験

- 1.5.1～1.5.3 (略)

1.5.4 牛RSウイルス感染症力価試験

- 1.5.4.1 (略)

1.5.4.2 試験方法

注射材料2mLずつを5匹の試験動物の腹腔内に14日間隔で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。

- 1.5.4.3 (略)
- 1.5.5・1.5.6 (略)

付記1～23 (略)

(新設)

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

0.292g

ブドウ糖

1.0g

L-グルタミン酸水素ナトリウム一水和物

5.0g

酵母エキス

0.5g

牛胎子血清

10 ~ 20 mL

イーグル MEM

残 量

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。