

牛伝染性鼻気管炎・牛パラインフルエンザ混合生ワクチン（シード）

令和4年4月7日(告示第697号)新規追加

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒牛伝染性鼻気管炎ウイルス及び弱毒牛パラインフルエンザ3型ウイルスをそれぞれ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 牛伝染性鼻気管炎ウイルス

2.1.1.1 名称

弱毒牛伝染性鼻気管炎ウイルスRLB106株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

牛腎継代細胞に接種するとCPEを伴って増殖し、35～37℃における増殖は、39～41℃における増殖を上回り、その差は100倍以上である。抗体陰性の健康子牛に鼻腔内接種しても病原性を示さない。

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、適当と認められた培養細胞で増殖させ、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-60℃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、3.1.1.1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、適当と認められた培養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-30℃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、3.1.2.1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、適当と認められた培養細胞で増殖させる。

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-30℃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について、3.1.3.1の試験を行う。

2.1.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス

2.1.2.1 名称

弱毒牛パラインフルエンザ3型ウイルスRLB103株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

牛腎継代細胞に接種するとCPEを伴って増殖し、35～37℃における増殖は、39～41℃における増殖を上回り、その差は100倍以上である。抗体陰性の健康子牛に鼻腔内接種しても病原性を示さない。

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、適当と認められた培養細胞で増殖させ、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-60℃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、3.1.1.2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、適当と認められた培養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-30℃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、3.1.2.2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、適当と認められた培養細胞で増殖させる。

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-30℃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について、3.1.3.2の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 牛伝染性鼻気管炎ウイルス

2.2.1.1 培養細胞

牛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。

2.2.1.2 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 マスターセルシード

2.2.1.3.1 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、2.2.1.2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-60℃

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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数とする。

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の培養液で増殖及び継代する。

ワーキングセルシードは、凍結して -60°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

2.2.1.5.1 増殖及び保存

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 -60°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は、3.2.3の試験を行う。

2.2.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス

2.2.2.1 培養細胞

牛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。

2.2.2.2 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 -60°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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数とする。

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 -60°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。

2.2.2.5 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 -60°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は、3.2.3の試験を行う。

2.3 原液

2.3.1 牛伝染性鼻気管炎ウイルス原液

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。

2.3.1.2 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、ウイルス増殖極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混合し、原液とする。

原液について、3.3.1、3.3.2及び3.3.3.1の試験を行う。

2.3.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス原液

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、ウイルス増殖極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混合し、原液とする。

原液について、3.3.1、3.3.2及び3.3.3.2の試験を行う。

2.4 最終バルク

牛伝染性鼻気管炎ウイルス原液及び牛パラインフルエンザ3型ウイルス原液を混合し、適当と認められた溶液で濃度調整し、最終バルクとする。この場合、適当と認められた安定剤及び保存剤を加えてもよい。

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、3.4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 牛伝染性鼻気管炎ウイルス

3.1.1.1.1 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。

3.1.1.1.2 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。

3.1.1.1.3 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。

3.1.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

3.1.1.1.4.1 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。

3.1.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験

3.1.1.1.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験

牛RSウイルス及びブルータングウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、3.1.1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。

3.1.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、牛伝染性リンパ腫ウイルス、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、3.2.7、3.2.8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。

3.1.1.1.5 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。

3.1.1.1.6 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。

3.1.1.1.7 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。

3.1.1.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス

3.1.1.2.1 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。

3.1.1.2.2 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。

3.1.1.2.3 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。

3.1.1.2.4 外来性ウイルス否定試験

3.1.1.2.4.1 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。

3.1.1.2.4.2 特定ウイルス否定試験

3.1.1.2.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験

牛RSウイルス及びブルータングウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.1、3.1.1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。

3.1.1.2.4.2.2 個別ウイルス否定試験

牛ウイルス性下痢ウイルス、ロタウイルス、牛伝染性リンパ腫ウイルス、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、3.2.7、3.2.8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。

3.1.1.2.5 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。

3.1.1.2.6 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。

3.1.1.2.7 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 牛伝染性鼻気管炎ウイルス

3.1.2.1.1 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。

3.1.2.1.2 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。

3.1.2.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス

3.1.2.2.1 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。

3.1.2.2.2 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 牛伝染性鼻気管炎ウイルス

3.1.3.1.1 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。

3.1.3.1.2 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。

3.1.3.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス

3.1.3.2.1 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。

3.1.3.2.2 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。

3.2 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及び2.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.1.5.2 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

牛RSウイルス及びブルータングウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.2、3.1.1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。

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、ロタウイルス、牛伝染性リンパ腫ウイルス、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、3.2.7、3.2.8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。

3.2.2 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。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 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 ウイルス含有量試験

3.3.3.1 牛伝染性気管支炎ウイルス含有量試験

3.3.3.1.1 試験材料

3.3.3.1.1.1 試料

検体をウイルス増殖用培養液（付記1）で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.3.1.1.2 培養細胞

牛腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.3.1.2 試験方法

試料0.2mLずつをそれぞれ6穴以上の培養細胞に接種し、34～38℃で5～7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。

3.3.3.1.3 判定

培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出するとき、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。

3.3.3.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス含有量試験

3.3.3.2.1 試験材料

3.3.3.2.1.1 試料

検体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。

3.3.3.2.1.2 培養細胞

牛腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.3.3.2.2 試験方法

試料0.2mLずつをそれぞれ6穴以上の培養細胞に接種し、34～38℃で5～7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。

3.3.3.2.3 判定

培養細胞にCPEを認めたものを感染とみなし、TCID₅₀を算出するとき、検体のウイルス含有量は、1 mL中10^{6.0}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 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均質な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

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。

3.4.6 ウイルス含有量試験

3.4.6.1 牛伝染性鼻気管炎ウイルス

3.3.3.1を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり $10^{5.0}$ TCID₅₀以上でなければならない。

ただし、試験品中の牛パラインフルエンザ3型ウイルスを、非働化した抗牛パラインフルエンザ3型ウイルス血清（付記2）で中和したものを、ウイルス増殖用培養液で10倍階段希釈した各段階の希釈液を試料とする。また、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。

3.4.6.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス

3.3.3.2を準用して試験するとき、試験品のウイルス含有量は、1頭分当たり $10^{5.2}$ TCID₅₀以上でなければならない。

ただし、試験品中の牛伝染性鼻気管炎ウイルスを、非働化した抗牛伝染性鼻気管炎ウイルス血清（付記3）で中和したものを、ウイルス増殖用培養液で10倍階段希釈した各段階の希釈液を試料とする。また、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。

3.4.7 マーカー試験

3.4.7.1 牛伝染性鼻気管炎ウイルス

3.4.6.1を準用して試験するとき、35～37℃で培養したときのウイルス含有量は、39～41℃で培養したときのウイルス含有量より100倍以上多くなければならない。

3.4.7.2 牛パラインフルエンザ3型ウイルス

3.4.6.2を準用して試験するとき、35～37℃で培養したときのウイルス含有量は、39～41℃で培養したときのウイルス含有量より100倍以上多くなければならない。

3.4.8 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。

3.4.9 安全試験

3.4.9.1 牛接種試験

3.4.9.1.1 試験材料

3.4.9.1.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

3.4.9.1.1.2 試験動物

体重120kg以下の牛を用いる。

3.4.9.1.2 試験方法

接種材料1頭分を試験動物の鼻腔内に接種し、14日間観察する。

3.4.9.1.3 判定

観察期間中、軽い発熱（40.5℃以下）を認めても3日間以上継続せず、その他の異常を認めてはならない。

3.4.9.2 乳のみマウス注射試験

3.4.9.2.1 試験材料

3.4.9.2.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.9.2.1.2 試験動物

3日齢以内の乳のみマウスを用いる。

3.4.9.2.2 試験方法

注射材料0.01mLずつを10匹の試験動物の脳内に注射し、14日間観察する。

3.4.9.2.3 判定

観察期間中、異常を認めてはならない。

事故のため試験動物が半数未満になった場合は、試験を反復する。

3.4.10 力価試験

3.4.10.1 牛伝染性鼻気管炎力価試験

3.4.10.1.1 試験材料

3.4.10.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.10.1.1.2 試験動物

体重約300gのモルモットを用いる。

3.4.10.1.1.3 中和試験用ウイルス

牛伝染性鼻気管炎ウイルスRLB106株又は適当と認められた株を用いる。

3.4.10.1.1.4 培養細胞

牛腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.10.1.2 試験方法

注射材料1.0mLずつを5匹の試験動物の頸部皮下に14日間隔で2回注射する。2回目注射後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。

各個体の血清について非働化し、2倍階段希釈したものを、0.2mL中約200TCID₅₀の中和試験用ウイルスと等量混合し、適当な温度で60分間処理する。この各混合液0.2mLずつを、2穴以上の培養細胞に接種し、37℃で7日間培養し、観察する。

3.4.10.1.3 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。

中和抗体価16倍以上を陽性とするとき、中和抗体陽性率は80%以上でなければならない。

3.4.10.2 牛パラインフルエンザ力価試験

3.4.10.2.1 試験材料

3.4.10.2.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

3.4.10.2.1.2 試験動物

体重約350gのモルモットを用いる。

3.4.10.2.1.3 赤血球凝集抗原

牛パラインフルエンザ3型ウイルスRLB103株又は適当と認められた株を牛腎継代細胞で増殖させて得た培養上清を用いる。

3.4.10.2.1.4 培養細胞

牛腎継代細胞又は適当と認められた培養細胞を用いる。

3.4.10.2.2 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。

各個体の血清をRDEで処理した後、適当と認められた希釈液で2倍階段希釈する。各希釈血清に4単位に調製した赤血球凝集抗原を等量加え、適当な温度で60分間処理した後、適当と認められた希釈液で調製した0.3vol%モルモット赤血球浮遊液を加え、4℃で1夜静置し、観察する。

3.4.10.2.3 判定

赤血球凝集を阻止した血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価とする。

赤血球凝集抑制抗体価16倍以上を赤血球凝集抑制抗体陽性とするとき、試験動物の赤血球凝集抑制抗体陽性率は、80%以上でなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、2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 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 2.95g

イーグルMEM 残量

pHを7.1～7.4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 抗牛パラインフルエンザ3型ウイルス血清

牛パラインフルエンザ3型ウイルスで免疫した羊又は兎の血清であって、試験品のウイルスを完全に中和する力価を有するもの。

付記3 抗牛伝染性鼻気管炎ウイルス血清

牛伝染性鼻気管炎ウイルスで免疫した羊又は兎の血清であって、試験品のウイルスを完全に中和する力価を有するもの。