

| 改正後 | 改正前 |
|--|---|
| <p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p>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）</p> <p>（略）</p> <p>1 小分製品の試験</p> <p>1.1・1.2 （略）</p> <p>（削る）</p> | <p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p>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）</p> <p>（略）</p> <p>1 小分製品の試験</p> <p>1.1・1.2 （略）</p> <p><u>1.3 安全試験</u></p> <p><u>1.3.1 牛接種試験</u></p> <p><u>1.3.1.1 試験材料</u></p> <p><u>1.3.1.1.1 接種材料</u></p> <p><u>試験品を接種材料とする。</u></p> <p><u>1.3.1.1.2 試験動物</u></p> <p><u>体重 80 ～ 200kg の牛を用いる。</u></p> <p><u>1.3.1.2 試験方法</u></p> <p><u>接種材料 1 頭分を 1 頭の試験動物の鼻腔内に接種し、14 日間観察する。</u></p> <p><u>1.3.1.3 判定</u></p> <p><u>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。</u></p> <p><u>1.3.2 乳のみマウス注射試験</u></p> <p><u>1.3.2.1 試験材料</u></p> <p><u>1.3.2.1.1 注射材料</u></p> <p><u>試験品を注射材料とする。</u></p> <p><u>1.3.2.1.2 試験動物</u></p> <p><u>3 日齢以内の乳のみマウスを用いる。</u></p> <p><u>1.3.2.2 試験方法</u></p> <p><u>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。</u></p> <p><u>1.3.2.3 判定</u></p> <p><u>観察期間中、異常を認めてはならない。</u></p> <p><u>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。</u></p> <p><u>1.4 力価試験</u></p> <p><u>1.4.1 牛伝染性鼻気管炎力価試験</u></p> <p><u>1.4.1.1 試験材料</u></p> <p><u>1.4.1.1.1 接種材料</u></p> <p><u>試験品を接種材料とする。</u></p> <p><u>1.4.1.1.2 試験動物</u></p> |

付記 1 ～ 3 （略）

（削る）

体重約 300g のモルモットを用いる。

1.4.1.1.3 中和試験用ウイルス

牛腎株化 NLBK-6 細胞で増殖させた弱毒牛伝染性鼻気管炎ウイルス RLB106 株を用いる。

1.4.1.1.4 培養細胞

牛腎株化 NLBK-6 細胞を 96 穴プレートに 1 ～ 3 日間培養し、単層となったものを用いる。

1.4.1.2 試験方法

接種材料 1.0mL ずつを 5 匹の試験動物の頸部皮下に 2 週間隔で 2 回注射し、第 2 回目の注射後 2 週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。各希釈血清 0.5mL と 0.2mL 中約 200TCID₅₀ の中和試験用ウイルス液 0.5mL とを混合し、室温で 60 分間処理する。この混合液 0.2mL ずつを 2 穴以上の培養細胞に接種し、37℃、5 vol %炭酸ガス下で 7 日間培養し、観察する。

1.4.1.3 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 倍以上を中和抗体陽性とする。試験動物の中和抗体陽性率は、80 %以上でなければならない。

1.4.2 牛パラインフルエンザ力価試験

1.4.2.1 試験材料

1.4.2.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

1.4.2.1.2 試験動物

体重約 350g のモルモットを用いる。

1.4.2.1.3 赤血球凝集抗原

牛パラインフルエンザ 3 型赤血球凝集抗原（付記 4）を用いる。

1.4.2.2 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。
被検血清 0.2mL にレセプター破壊酵素（RDE）液 0.2mL を加え、37℃で 18 時間処理した後、56℃で 30 分間処理し、反応を停止させる。この処理血清をゼラチン・アルブミン加ベロナール緩衝食塩液（以下この項において「希釈液」という。）（付記 5）を用いて 2 倍階段希釈する。各希釈血清 50 μ L に 4 単位の赤血球凝集抗原 50 μ L を加え、室温で 60 分間処理した後、希釈液で濃度を調整した 0.3vol %モルモット赤血球浮遊液 50 μ L を加え、4℃で 1 夜静置し、観察する。

1.4.2.3 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。
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。

付記 1 ～ 3 （略）

付記 4 牛パラインフルエンザ 3 型赤血球凝集抗原
牛パラインフルエンザ 3 型ウイルス RLB103 株を NLBK-6 細胞で増殖さ

せて得た培養上清又は適当と認められた株を用いて調製したものであって、赤血球凝集価が 32 単位以上のもの。

付記 5 ゼラチン・アルブミン加ベロナール緩衝食塩液

| | | |
|--|-------------------------|---------------|
| <u>A液</u> | <u>ベロナール緩衝食塩液</u> | |
| | <u>1,000mL 中</u> | |
| | <u>塩化ナトリウム</u> | <u>8.5 g</u> |
| | <u>バルビタール</u> | <u>0.575g</u> |
| | <u>バルビタールナトリウム</u> | <u>0.375g</u> |
| | <u>無水塩化カルシウム</u> | <u>0.028g</u> |
| | <u>塩化マグネシウム六水和物</u> | <u>0.168g</u> |
| | <u>水</u> | <u>残 量</u> |
| <u>B液</u> | <u>1 w/v %ゼラチン液</u> | |
| | <u>100mL 中</u> | |
| | <u>精製ゼラチン</u> | <u>1 g</u> |
| | <u>水</u> | <u>残 量</u> |
| | <u>使用時加温溶解する。</u> | |
| <u>C液</u> | <u>5 w/v %牛血清アルブミン液</u> | |
| | <u>100mL 中</u> | |
| | <u>牛血清アルブミン</u> | <u>5 g</u> |
| | <u>水</u> | <u>残 量</u> |
| <u>使用時に、A液 200mL にB液 0.2mL 及びC液 4 mL を加えて調製し、用</u> | | |
| <u>いる。</u> | | |