

ぶりビブリオ病・ 溶血性レンサ球菌症混合不活化ワクチン

平成20年6月6日(告示第913号)

1 定義

ビブリオ・アンゲイラルム J-O-3 型及びラクトコッカス・ガルピエの培養菌を不活化後混合したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 ビブリオ・アンゲイラルム

2.1.1.1 名称

ビブリオ・アンゲイラルム KT-5 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

ビブリオ・アンゲイラルム J-O-3 型に一致する性状を示し、J-O-3 型ビブリオ病に対する免疫原性を有する。

2.1.1.3 継代及び保存

原株及び種菌は、継代に相当と認められた培地により継代する。

継代は、原株では3代以内、種菌では5代以内でなければならない。

原株及び種菌は、凍結して - 70 以下又は凍結乾燥して5 以下で保存する。

2.1.2 ラクトコッカス・ガルピエ

2.1.2.1 名称

ラクトコッカス・ガルピエ KS-7M 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

ラクトコッカス・ガルピエ KG(-)型に一致する性状を示し、溶血性レンサ球菌症に対する免疫原性を有する。

2.1.2.3 継代及び保存

原株及び種菌は、継代に相当と認められた培地により継代する。

継代は、原株では3代以内、種菌では5代以内でなければならない。

原株及び種菌は、凍結して - 70 以下又は凍結乾燥して5 以下で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 培地

製造に相当と認められた培地を用いる。

2.3 原液

2.3.1 ビブリオ・アンゲイラルム原液

2.3.1.1 培養

培養した種菌を相当と認められた培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について3.1の試験を行う。

2.3.1.2 不活化

培養菌液にホルマリンを加えて不活化したものを不活化菌液とする。

不活化菌液について3.2の試験を行う。

2.3.1.3 原液

不活化菌液又はこれを遠心して濃縮した菌を相当と認められた希釈溶液に浮遊させたものを原液とする。

原液について 3.3 の試験を行う。

2.3.2 ラクトコッカス・ガルピエ原液

2.3.2.1 培養

培養した種菌を適当と認められた培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について 3.1 の試験を行う。

2.3.2.2 不活化

培養菌液にホルマリンを加えて不活化したものを不活化菌液とする。

不活化菌液について 3.2 の試験を行う。

2.3.2.3 原液

不活化菌液又はこれを遠心して濃縮した菌を適当と認められた希釈溶液に浮遊させたものを原液とする。

原液について 3.3 の試験を行う。

2.4 最終バルク

それぞれの原液を調製して混合し、最終バルクとする。

2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注し、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 培養菌液の試験

3.1.1 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、ピブリオ・アングイラルムの検体は、ピブリオ・アングイラルム以外の菌の発育を認めてはならない。ラクトコッカス・ガルピエの検体は、ラクトコッカス・ガルピエ以外の菌の発育を認めてはならない。ただし、特に承認されたものは、その試験法とする。

3.1.2 生菌数試験

3.1.2.1 試験材料

3.1.2.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.1.2.1.2 培地

それぞれの製造に適当と認められた培地に寒天を 1.5vol% 加えて作製した寒天培地又は適当と認められた培地を用いる。

3.1.2.1.3 試験方法

各試料 0.1mL ずつを培地平板 2 枚以上に接種して培地表面に拡散させたものを、適当と認められた温度及び時間で培養後、生じた集落を数える。

3.1.2.1.4 判定

各試料ごとの集落数から生菌数を算出する。

ピブリオ・アングイラルムの検体の生菌数は 1mL 中 10^8 個以上でなければならない。

ラクトコッカス・ガルピエの検体の生菌数は 1mL 中 10^9 個以上でなければならない。

3.2 不活菌液の試験

3.2.1 不活化試験

3.2.1.1 試験材料

3.2.1.1.1 試料

検体を試料とする。

3.2.1.1.2 培地

試料の培養に適当と認められた培地を用いる。

3.2.1.1.3 試験方法

各試料 0.1mL ずつを培地平板 5 枚以上に接種して培地表面に拡散させたものを適当と認められた温度で、7 日間培養後、集落の有無を観察する。

3.2.1.1.4 判定

接種したすべての培地に集落を認めてはならない。

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。

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を準用して試験するとき、固有の色調を有する懸濁液でなければならず、異物又は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 pH 測定試験

一般試験法の pH 測定試験法を準用して試験するとき、pH は固有の値を示さなければならない。

3.4.3 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。

3.4.4 ホルマリン定量試験

一般試験法のホルマリン定量法を準用して試験するとき、ホルマリンの量は、0.3vol% 以下でなければならない。

3.4.5 安全試験

3.4.5.1 試験材料

3.4.5.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.5.1.2 試験動物

水温 25℃、循環式で 7 日以上飼育し、異常のないことを確認した体重 30g 以上のかんぱち又はぶり 30 尾以上を用いる。

3.4.5.1.3 試験方法

試験動物は、24 時間以上餌止めした後、1 群 15 尾以上ずつの 2 群に分ける。1 群の試験動物に注射材料 0.1mL を腹腔内に注射し、試験群とする。他の 1 群は対照群とし、試験群と同様の方法でリン酸緩衝食塩液を注射する。その後、それぞれ水温 25℃、循環式で飼育し、14 日間観察する。

3.4.5.1.4 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。

3.4.6 力価試験

3.4.6.1 ビブリオ病力価試験

3.4.6.1.1 試験材料

3.4.6.1.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.6.1.1.2 試験動物

水温 20℃、循環式で 7 日以上飼育し、異常のないことを確認した体重 30g 以上のかんぱち又はぶり 20 尾以上を用いる。

3.4.6.1.1.3 試験方法

試験動物は、24 時間以上餌止めした後、1 群 10 尾以上ずつの 2 群に分ける。1 群の試験動物に、注射材料 0.1mL を腹腔内に注射し、試験群とする。他の 1 群は、対照群とし、試験群と同様の方法でリン酸緩衝食塩液を注射する。その後、それぞれ水温 20℃、循環式で飼育し、14 日後に試験群及び対照群のそれぞれ 10 尾ずつを取り上げて採血し、45℃ で 20 分間非働化した血清について、

マイクロタイタ - 法で凝集試験を行う。

試験群と対照群の血清、参照陽性血清(付記 1)及び参照陰性血清(付記 2)をリン酸緩衝食塩液で 2 倍階段希釈し、各希釈血清に凝集反応用抗原(付記 3)を等量加えて、25 で 2 時間反応させ、更に 4 で一夜静置した後、管底の凝集の有無を観察する。

3.4.6.1.1.4 判定

凝集を認めた血清の最高希釈倍数を凝集抗体価とする。

試験群の血清の抗体価の幾何平均値は 16 倍以上でなければならない。対照群では、抗体価の幾何平均値は 2 倍以下でなければならない。また、参照血清は所定の抗体価を示さなければならない。

3.4.6.2 溶血性レンサ球菌症力価試験

3.4.6.2.1 試験材料

3.4.6.2.1.1 試験動物

3.4.5 の試験に用いた動物を用いる。

3.4.6.2.1.2 攻撃用菌液

ラクトコッカス・ガルピエ強毒菌(付記 4)の液体培養菌液をリン酸緩衝食塩液で希釈し、対照群の死亡率が 80%と予想される希釈液を攻撃用菌液とする。

3.4.6.2.1.3 試験方法

3.4.5 の試験最終日の前日から 24 時間餌止めした試験群及び対照群に、攻撃用菌液 0.1mL ずつを腹腔内に注射して攻撃した後、水温 25 で 14 日間観察して各群の生死を調べる。

3.4.6.2.1.4 判定

試験群の生存率は、対照群のそれより有意に高い値を示さなければならない(Fisher の直接確率計算法、 $P < 0.05$)。この場合、対照群は、60%以上が死亡しなければならない。

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は、その期間とする。

付記 1 参照陽性血清

ビブリオ・アンゲイラルム J-O-3 型の加熱死菌をぶりに注射して得た血清で、凝集抗体価が 256 ~ 512 倍となるよう調製し、凍結又は凍結乾燥したもの

付記 2 参照陰性血清

健康なぶりの血清で、凝集抗体価が 2 倍未満であり、凍結又は凍結乾燥したもの

付記 3 凝集反応用抗原

ビブリオ・アンゲイラルム J-O-3 型の加熱死菌をリン酸緩衝食塩液で McFarland 混濁管 No. 1 ~ 3 の濃度になるように浮遊させたもので、既知抗体価の陽性血清に対し所定の凝集抗体価を示すことを確認したもの

付記 4 ラクトコッカス・ガルピエ強毒菌

ラクトコッカス・ガルピエ KG9502 株又はこれと同等以上の毒力を有する株