

豚ボルデテラ感染症生ワクチン

1 定義

弱毒ボルデテラ・ブロンキセプチカの培養液を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 名称

弱毒ボルデテラ・ブロンキセプチカ ts-S34・u⁺株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

ボルデー・ジャング培地に接種するとき、32℃で増殖し、小円形の集落を形成して溶血を示し、尿素分解能陰性である。

7日齢以下の豚の鼻腔内接種で病原性を示さない。易熱性壊死毒素の産生はボルデテラ・ブロンキセプチカS 1株の1/30以下である。

2.1.3 継代及び保存

原株及び原種菌はボルデー・ジャング培地（付記1）又は適当と認められた培地を用い、32℃で培養する。

原株の継代は、原種菌の製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行ってはならない。原種菌は、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は、3代以内でなければならない。種菌は、原種菌から2代以内に製造しなければならない。

原株及び原種菌は、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して5℃以下で保存する。

種菌は、原種菌からワクチンの製造ごとに用時調整する。

2.2 製造用材料

2.2.1 培地

ボルデー・ジャング培地又は製造に適当と認められた液状培地を用いる。

2.3 原液

2.3.1 培養

ボルデー・ジャング培地で培養した種菌を、製造用液状培地に接種し、32℃で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 濃度調整

培養菌液の生菌数をリン酸緩衝食塩液で調整し、原液とする。

原液について、3.2の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液に安定剤を加えて最終バルクとする。

2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注して凍結乾燥し、小分製品とする。

小分製品について、3.3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、ボルデテラ・ブロンキセプチカ以外の菌を認めてはならない。

3.1.2 生菌数試験

3.1.2.1 試験材料

3.1.2.1.1 試料

検体を普通ブイヨンで 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

ハ・トインフュ・ジョン寒天培地又は適当と認められた培地を用いる。

3.1.2.2 試験方法

試料 1 mL ずつをそれぞれ 3 枚以上のシャーレに分注し、平板混釈培養法により 32 ℃ で 120 時間培養後、発育した集落数を数える。

3.1.2.3 判定

各段階の希釈液ごとの集落数の平均値、希釈倍数及び培地への接種量から生菌数を算出する。

検体の生菌数は、1 mL 中 6×10^7 個以上でなければならない。

3.1.3 型別試験

3.1.3.1 試験材料

検体、ボルデテラ・ブロンキセプチカの K 因子血清（付記 2）及び O 因子血清（付記 3）を用いる。

3.1.3.2 試験方法

検体の約 0.03mL ずつとそれぞれの因子血清約 0.03mL をスライドグラス上で混合し、急速凝集反応を行う。

3.1.3.3 判定

検体は、K 因子血清では速やかに凝集しなければならず、O 因子血清では難凝集性を示さなければならない。

3.2 原液の試験

3.2.1 夾雑菌否定試験

3.1.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2.2 生菌数試験

3.1.2 を準用して試験するとき、検体の生菌数は、1 mL 中 6×10^7 個以上でなければならない。

3.3 小分製品の試験

3.3.1 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液体でなければならず、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。

3.3.2 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。

3.3.3 含湿度試験

一般試験法の含湿度試験を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3.4 夾雑菌否定試験

3.1.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3.5 生菌数試験

3.1.2 を準用して試験するとき、試験品の生菌数は、1 頭分中 $3 \times 10^6 \sim 1 \times 10^8$ 個でなければならない。

3.3.6 マーカー試験

3.3.6.1 尿素分解マーカー試験

3.3.6.1.1 試験材料

試験品を用いる。

3.3.6.1.2 試験方法

試験品の 0.1mL を尿素培地（付記 4）1 mL に接種し、32 ℃ で 24 時間培養する。

3.3.6.1.3 判定

培地の色調が紅変するものを尿素分解能陽性とするとき、尿素分解能陰性でなければならない。

3.3.6.2 温度感受性マーカー試験

3.3.6.2.1 試験材料

3.3.6.2.1.1 試料

試験品をリン酸緩衝食塩液で 100 倍に希釈したものを試料とする。

3.3.6.2.1.2 培地

ボルデー・ジャング培地を用いる。

3.3.6.2.2 試験方法

試料の 0.1mL ずつを 4 枚のボルデー・ジャング培地に塗沫接種し、2 分して 2 枚ずつを、32℃ 及び 37℃ で 3 日間培養する。

3.3.6.2.3 判定

32℃ では発育して集落を形成しなければならず、37℃ で集落を認めないか、又は 32℃ での集落と比較して明らかに小さくなければならない。

3.3.7 異常毒性否定試験

一般試験法の異常毒性否定試験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、試験動物は約 5 週齢の SPF マウス（付記 5）及び体重 350g の SPF モルモット（付記 6）を用いる。

3.3.8 力価試験

3.3.8.1 試験材料

3.3.8.1.1 接種材料

試験品を溶解用液の半量で溶解したものをを用いる。

3.3.8.1.2 試験動物

体重約 350g の SPF モルモットを用いる。

3.3.8.1.3 攻撃用菌液

ボルデテラ・ブロンキセプチカの S 1 株の 相菌又はこれと同等以上の毒力を有する株の 相菌を 1 mL 中約 10^9 個を含むものを用いる。

3.3.8.2 試験方法

試験動物 20 匹を 10 匹ずつ 2 群に分け、1 群は接種材料を左右の鼻腔内に計 0.25mL 接種して試験群とし、他は対照群とする。接種 4 週後に攻撃用菌液計 0.25mL を試験群及び対照群の左右の鼻腔内に接種し、7 日間臨床観察する。

3.3.8.3 判定

試験群では、70 % 以上が耐過生存しなければならない。この場合、対照群では、80 % 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、1 年間とする。ただし、特に承認されたものは、その期間とする。

付記 1 ボルデー・ジャング培地

1,000 mL 中

ジャガイモエキス 4.5 g

塩化ナトリウム 5.5 g

寒天 20 g

グリセリン 10 mL

水 残量

水 990mL にグリセリン 10mL を加えて溶解し、次に成分を加えて加熱溶解後、pH を 6.6 ~ 7.0 に調整して、121℃ で 15 分間滅菌する。

約 50 に冷却後、必要に応じて馬血液又は羊血液を 5 ~ 10vol % になるように添加する。

付記 2 K 因子血清

ボルデテラ・ブロンキセプチカ 相菌の免疫血清で、相菌に対する凝集価を 80 倍以上に、相菌に対する凝集価を 10 倍以下に調整したもの

付記 3 O 因子血清

ボルデテラ・ブロンキセプチカ 相菌の免疫血清で、相菌に対する凝集価を 80 倍以上に、相菌に対する凝集価を 10 倍以下に調整したもの

付記 4 尿素培地

1,000mL 中

カゼイン製ペプトン	2.0 g
塩化ナトリウム	5.0 g
尿素	30.0 g
リン酸水素二ナトリウム二水和物	3.0 g
リン酸二水素カリウム	9.0 g
フェノールレッド	0.01 g
水	残量

pH を 6.0 ~ 6.2 に調整して、ろ過滅菌する。

付記 5 SPF マウス

下表に掲げた検査及び処置又はこれらと同等と認められた検査及び処置により、表に掲げた病原体の感染がないことが確認されたもの。

なお、検査は、毎月 1 回、退役動物から 20 匹を無作為抽出して供試する。

病原体	供試抗原	検査方法	処置
Sendai virus	MN 株	補体結合反応	抗体陽性群及び同居群は全殺
MHV	Pr 株	補体結合反応	抗体陽性群及び同居群は全殺
<i>Salmonella</i> spp.		菌分離	菌検出群及び同居群は全殺
<i>Salmonella</i> Typhimurium	K-28 株	凝集反応	抗体陽性群及び同居群は全殺
<i>Salmonella</i> Enteritidis	EC-5 株		
<i>Pasteurella pneumotropica</i>		菌分離	菌検出群及び同居群は全殺
<i>Escherichia coli</i>	0115a,c:k(B)	菌分離	菌検出群及び同居群は全殺
<i>Corynebacterium kutscheri</i>	CK-1 株	菌分離	菌検出群及び同居群は全殺
		凝集反応	抗体陽性群及び同居群は全殺
<i>Mycoplasma</i> spp.		菌分離	抗体陽性群及び同居群は全殺
Tyzzler's organism	MSK 株	剖検、病理組織学的	陽性群及び同居群は全殺
	RT 株	検査、補体結合反応	
<i>Syphacia</i> spp.		鏡検	虫体陽性群及び同居群は全殺
<i>Giardia muris</i>		鏡検	原虫陽性群及び同居群は全殺
<i>Hexamita muris</i>		鏡検	原虫陽性群及び同居群は全殺

Trichomonas muris		鏡	検	原虫を認めた場合は種群を更新
Entamoeba muris		鏡	検	原虫を認めた場合は種群を更新

付記6 SPF モルモット

下表に揚げた検査及び処置又はこれらと同等と認められた検査及び処置により、表に揚げた病原体の感染がないことが確認されたもの。

なお、検査は、毎月1回、退役動物から20匹を無作為抽出して供試する。

病 原 体	供試抗原	検査方法	処 置
Sendai virus	MN 株	補体結合反応	抗体陽性群及び同居群は全殺
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>		菌 分 離	菌検出群及び同居群は全殺
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		菌 分 離	菌検出群及び同居群は全殺
<i>Salmonella</i> spp.		菌 分 離	菌検出群及び同居群は全殺
<i>Salmonella</i> Typhimurium	K-28 株	凝 集 反 応	抗体陽性群及び同居群は全殺
<i>Salmonella</i> Enteritidis	EC-5 株		
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	64L 株	菌 分 離 凝 集 反 応	菌検出群及び同居群は全殺 抗体陽性群及び同居群は全殺
<i>Mycoplasma caviae</i>		菌 分 離	菌検出群及び同居群は全殺
Tyzzler's organism	MSK 株 RT 株	剖検、病理組織学的検査、 補体結合反応	陽性群及び同居群は全殺
<i>Eimeria</i> spp.		鏡 検	原虫を認めた群及び同居群は全殺
<i>Trichomonas muris</i>		鏡 検	原虫を認めた群及び同居群は全殺