

さけ科魚類ビブリオ病不活化ワクチン

1 定義

ビブリオ属菌 sp. J-O-1 型菌及びビブリオ・アングイラルム J-O-3 型菌の培養菌液を不活化したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 ビブリオ属菌 sp.

2.1.1.1 名称

ビブリオ属菌 sp. J-O-1 型菌 VA1669 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 継代及び保存

原株及び種菌は継代用培地（付記 1）又は適当と認められた培地で継代する。

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。ただし、特に承認されたものは、その継代数以内とする。

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

2.1.2 ビブリオ・アングイラルム

2.1.2.1 名称

ビブリオ・アングイラルム J-O-3 型菌 VA775 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 継代及び保存

原株及び種菌は継代用培地又は適当と認められた培地で継代する。

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。ただし、特に承認されたものは、その継代数以内とする。

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

2.2 製造用材料

2.2.1 培地

製造用培地（付記 2）又は製造に適当と認められた培地を用いる。

2.3 原液

2.3.1 培養

培養した種菌をそれぞれの培地に接種し、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 不活化

それぞれの培養菌液にホルマリン又は適当と認められた不活化剤を加えて不活化したものを原液とする。

原液について、3.2 の試験を行う。

2.4 最終バルク

それぞれの原液を混合したものを、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、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、ビブリオ属菌以外の菌の発育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

継代用培地を用いる。

3.1.2.2 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、25℃ で 48 時間培養後、生じた集落数を数える。

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 10^9 個以上でなければならない。

3.2 原液の試験

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。

3.2.2 不活化試験

3.2.2.1 試験材料

3.2.2.1.1 試料

検体を試料とする。

3.2.2.1.2 培地

1.5w/v %塩化ナトリウム加ブレイン・ハートインフュージョン寒天培地又は適当と認められた培地を用いる。

3.2.2.2 試験方法

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、25℃ で 7 日間培養後、集落の有無を観察する。

3.2.2.3 判定

接種したすべての培地平板に集落を認めてはならない。

3.2.3 型別試験

3.2.3.1 試験材料

3.2.3.1.1 試料

検体 10mL を約 2,000 G で 30 分間遠心した沈殿を試料とする。

3.2.3.1.2 抗血清

抗ビブリオ属菌 sp.J-O-1 型血清（付記 3）及び抗ビブリオ・アングイラルム J-O-3 型血清（付記 4）を用いる。

3.2.3.2 試験方法

試料 1 白金耳ずつとそれぞれの抗血清 0.03mL とを各々スライドグラス上で混合し、急速凝集反応を行う。

3.2.3.3 判定

検体は、ホモの抗血清では速やかに凝集し、ヘテロの抗血清では凝集してはならない。

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 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。

3.3.3 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。

3.3.4 ホルマリン定量試験

ホルマリン添加製剤については、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、ホルマリンの含有量は、0.3vol %以下でなければならない。

3.3.5 安全試験

3.3.5.1 試験材料

3.3.5.1.1 接種材料

試験品を飼育水で 10 倍に希釈したものを接種材料とする。

3.3.5.1.2 試験動物

体重 2 ~ 50g のにじますを用いる。

3.3.5.2 試験方法

試験動物は 24 時間以上餌止めした後、1 群 120 尾以上ずつの 2 群に分ける。接種材料 1,000mL 当たり、試験動物の総体重 500g 以下となる割合で 1 群の試験動物を通気しながら 2 分間浸漬し、試験群とする。他の 1 群は対照群とし、試験群と同様の操作で飼育水に浸漬させる。その後それぞれ水温 12 ~ 18 °C、流水式で飼育し、21 日間観察する。

3.3.5.3 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。

3.3.6 力価試験

3.3.6.1 試験材料

3.3.6.1.1 試験動物

3.3.5 の試験に用いた動物を用いる。

3.3.6.1.2 攻撃用菌液

ビブリオ属菌 sp. J-O-1 型強毒菌（付記 5）及びビブリオ・アンゲイラルム J-O-3 型強毒菌（付記 6）の液体培養菌液を 1 w/v % 塩化ナトリウム加飼育水で 10 倍階段希釈し、対照群の死亡率が 80 % と予測される希釈とその前後の希釈の 3 段階の希釈菌液を攻撃用菌液とする。

なお、攻撃用菌液量は、菌浴する試験動物の総体重の 5 ~ 20 倍とする。

3.3.6.2 試験方法

3.3.5 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をそれぞれ 20 尾以上の 6 群ずつに分ける。各 3 群ずつをビブリオ属菌 sp. の攻撃用菌液に、他の各 3 群ずつをビブリオ・アンゲイラルムの攻撃用菌液に、それぞれ通気しながら 20 分間浸漬し、14 日間観察して各群の生死を調べる。

3.3.6.3 判定

それぞれの攻撃菌により、それぞれの対照群の 60 % 以上が死亡した最少の攻撃菌量で攻撃した場合に、試験群の生残率が対照群のそれより 40 % 以上高い値を示さなければならない。

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 継代用培地

1,000 mL 中

カゼイン製ペプトン 10.0 g

酵母エキス 5.0 g

ブドウ糖 2.5 g

塩化ナトリウム 10.0 g

寒天 15.0 g
水 残 量
pH を 7.4 ~ 7.6 に調整して、121 で 20 分間滅菌する。

付記 2 製造用培地
1,000 mL 中
カゼイン製ペプトン 10.0 g
酵母エキス 5.0 g
ブドウ糖 2.5 g
塩化ナトリウム 10.0 g
水 残 量
pH を 7.4 ~ 7.6 に調整して、121 で 20 分間滅菌する。

付記 3 抗ビブリオ属菌 sp. J-O-1 型血清
ビブリオ属菌 sp. J-O-1 型菌で免疫した兔の血清で、ビブリオ属菌 sp. J-O-1 型菌を特異的に凝集するもの

付記 4 抗ビブリオ・アンゲイラルム J-O-3 型血清
ビブリオ・アンゲイラルム J-O-3 型菌で免疫した兔の血清で、ビブリオ・アンゲイラルム J-O-3 型菌を特異的に凝集するもの

付記 5 ビブリオ属菌 sp. J-O-1 型強毒菌
ビブリオ属菌 sp. J-O-1 型菌 N-7802 株又はこれと同等以上の毒力を有する株

付記 6 ビブリオ・アンゲイラルム J-O-3 型強毒菌
ビブリオ・アンゲイラルム J-O-3 型菌 NCMB571 株又はこれと同等以上の毒力を有する株