

豚ボルデテラ感染症（アジュバント加）不活化ワクチン （シード）

平成 21 年 11 月 12 日（告示第 1569 号） 新規追加

1 定義

シードロット規格に適合したボルデテラ・ブロンキセプチカの培養菌液を不活化し、アルミニウムゲルアジュバントを添加したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

ボルデテラ・ブロンキセプチカ I 相菌 L₃-72 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

ボルデー・ジャング培地上に隆起した小円形の集落を形成し、β溶血性を示す。また、K抗原を有し、既知のボルデテラ・ブロンキセプチカ I 相菌の免疫血清によって特異的に凝集される。

生後 7 日齢以内の豚に点鼻接種すると萎縮性鼻炎を起こす。生菌又は超音波処理菌液をモルモットの皮内に注射すると強い出血及び壊死を認める。

2.1.3 マスターシード菌

2.1.3.1 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平板培地で増殖させ、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して 5℃以下で保存する。

マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの継代数は 10 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、その継代数以内とする。

2.1.4 ワーキングシード菌

2.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた平板培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して 5℃以下で保存する。

ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。

2.1.5 プロダクションシード菌

2.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた平板培地で増殖する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して－70℃以下又は凍結乾燥して 5℃以下で保存する。

プロダクションシード菌を保存する場合について、3.1.3 の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 培地

製造に適当と認められた平板培地及び液状培地を用いる。

2.3 原液

2.3.1 培養

平板培地に接種して培養したワーキングシード菌又はプロダクションシード菌を液状培地に接種し、培養したもの、又は更に液状培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.2 の試験を行う。

2.3.2 不活化

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後、遠心して得た菌を適量の希釈用液（付記2）又は適当と認められた希釈用液に浮遊させたもの、又は培養菌液を遠心して得た菌を希釈用液で菌濃度を調整し、ホルマリンを加えて不活化後、希釈用液で遠心洗浄し、適量の希釈用液に再浮遊させたものを不活化菌液とする。

不活化菌液について、3.3 の試験を行う。

2.3.3 アジュバントの添加

不活化菌液に適量のアルミニウムゲルアジュバントを添加し、原液とする。

ただし、アジュバントは、最終バルクの調製時に添加してもよい。

原液について、3.4 の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液を混合したもの、又は原液を混合し、濃度調整をしたものを、最終バルクとする。この場合、適当と認められた保存剤を添加してもよい。

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、3.5 の試験を行う。

3 試験法

3.1 製造用株の試験

3.1.1 マスターシード菌の試験

3.1.1.1 同定試験

シードロットの規格 1.4.2.4.1.1 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 夾雑菌否定試験

3.1.1.2.1 液状チオグリコール酸培地培養法

一般試験法の無菌試験法 1 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の発育を認めてはならない。

3.1.1.2.2 平板培地培養法

3.1.1.2.2.1 培地

ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた平板培地を用いる。

3.1.1.2.2.2 試験方法

検体 0.05mL ずつを平板培地 2 枚以上に接種して培地表面に拡散させ、37℃で7日間培養する。

3.1.1.2.2.3 判定

ボルデテラ・ブロンキセプチカ以外の菌の発育を認めてはならない。

3.1.2 ワーキングシード菌の試験

3.1.2.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.3 プロダクションシード菌の試験

3.1.3.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2 培養菌液の試験

3.2.1 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法 1 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の

発育を認めてはならない。

3.2.2 型別試験

3.2.2.1 試験材料

3.2.2.1.1 試料

検体又は検体を希釈用液又は適当と認められた希釈用液で至適濃度に希釈したものを試料とする。

3.2.2.1.2 因子血清

ボルデテラ・ブロンキセプチカのK因子血清（付記3）及びO因子血清（付記4）を用いる。

3.2.2.2 試験方法

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

3.2.2.3 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ぬ。

3.2.3 生菌数試験

3.3.2 の総菌数試験を実施するものについては、本試験を実施しなくてもよい。

3.2.3.1 試験材料

3.2.3.1.1 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。

3.2.3.1.2 培地

ボルデー・ジャング培地又は適当と認められた培地を用いる。

3.2.3.2 試験方法

試料 0.1mL ずつを平板培地 2 枚以上に接種し、培地表面に拡散させた後、37℃で 48 時間培養後、生じた集落数を数える。

3.2.3.3 判定

各段階の希釈液ごとの集落数から生菌数を算出するとき、検体の生菌数は、1 mL 中 1×10^{10} 個以上でなければならない。

3.3 不活化菌液の試験

3.3.1 不活化試験

一般試験法の無菌試験法 1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3.2 総菌数試験

3.2.3 の生菌数試験を実施するものについては、本試験を実施しなくてもよい。

最終バルクの調製時にアジュバントを添加する製剤については、原液で本試験を準用して実施する。

3.3.2.1 試料

検体を希釈用液又は適当と認められた希釈用液で至適濃度に希釈したものを試料とする。

3.3.2.2 試験方法

試料の濁度を分光光度計で測定する。

3.3.2.3 判定

標準検量線、濁度の測定値及び検体の希釈倍率から総菌数を算出するとき、検体中の総菌数は、1 mL 中 1×10^{11} 個以上でなければならない。

3.4 原液の試験

3.4.1 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。

3.5 小分製品の試験

3.5.1 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。

3.5.2 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。

3.5.3 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。

3.5.4 無毒化試験

3.5.4.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.4.2 試験動物

体重約 350g のモルモットを用いる。

3.5.4.3 試験方法

注射材料 0.1mL ずつを試験動物 2 匹の背部皮内に注射し、10 日間観察する。

3.5.4.4 判定

注射反応は、無視しうる程度以下でなければならない。試験動物は、すべて生存しなければならない。

3.5.5 チメロサル定量試験

チメロサル添加製剤については、一般試験法のチメロサル定量法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.5.6 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、ホルマリンの含有量は、0.25vol% 以下でなければならない。

3.5.7 アルミニウム定量試験

一般試験法のアルミニウム定量法を準用して試験するとき、アルミニウムの含有量は、1 mL 中 2.8mg 以下でなければならない。

3.5.8 安全試験

3.5.8.1 試験材料

3.5.8.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.5.8.1.2 試験動物

約 4 週齢の豚を用いる。

3.5.8.2 試験方法

試験動物の 2 頭を試験群、1 頭を対照群とする。

注射材料の子豚 1 頭分を、更に 7 日後に子豚の追加免疫の 1 頭分を試験群の筋肉内に注射し、対照群とともに 3 週間観察する。

3.5.8.3 判定

観察期間中、試験動物に臨床的な異常を認めてはならない。

3.5.9 力価試験

3.5.9.1 試験材料

3.5.9.1.1 試験動物

3.5.8 の試験に用いた動物を用いる。

3.5.9.1.2 凝集反応用抗原

ボルデテラ・ブロンキセプチカ凝集反応用抗原（付記 5）を用いる。

3.5.9.2 試験方法

3.5.8 の試験最終日に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について凝集試験を行う。

血清をリン酸緩衝食塩液（付記 6）で 5 倍に希釈し、更に 2 倍階段希釈した後、ボルデテラ・ブロンキセプチカ凝集反応用抗原を用いて試験管内凝集反応を行う。

3.5.9.3 判定

試験管内に凝集を認めた血清の最高希釈倍数で凝集価を表す。

試験群では、いずれも凝集価 40 倍以上でなければならない。この場合、対照群では、10 倍以下でなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後 2 年 3 か月間とする。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 ボルデー・ジャング培地

1,000mL 中

ジャガイモエキス	4.5 g
ペプトン	10.0 g
塩化ナトリウム	5.5 g
寒天	20.0 g
グリセリン	10.0 mL
水	残 量

水 990mL にグリセリン 10mL を加えて溶解し、次に他の成分を加えて加熱溶解後、pH を 6.6 ~ 7.0 に調整し、121 °C で 15 分間高圧滅菌する。

約 50 °C に冷却後、必要に応じて馬血液又は羊血液を 5 ~ 20vol% となるように添加する。

付記 2 希釈用液

1,000mL 中

塩化ナトリウム	7.4 g
無水リン酸水素二ナトリウム	1.81 g
リン酸二水素カリウム	3.17 g
水	残 量

pH を 6.2 ~ 6.6 に調整し、121 °C で 15 分間高圧滅菌する。

付記 3 K 因子血清

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

付記 4 O 因子血清

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

付記 5 ボルデテラ・ブロンキセプチカ凝集反応用抗原

ボルデテラ・ブロンキセプチカ I 相菌のホルマリン死菌を適当と認められた希釈用液に 1 mL 中 1×10^{10} 個と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て所定の凝集価を示し、陰性血清に対して凝集しないことを確認したもの

付記 6 リン酸緩衝食塩液

1,000mL 中

塩化ナトリウム 6.8 g

無水リン酸水素二ナトリウム 1.2 g

リン酸二水素カリウム 0.7 g

水 残 量

pH を 6.8 ~ 7.2 に調整し、121 °C で 15 分間高圧滅菌する。