

牛サルモネラ症（サルモネラ・ダブリン・サルモネラ・ティフィムリウム）（アジュバント加）不活化ワクチン

平成 19 年 5 月 18 日（告示第 692 号） 新規追加
平成 21 年 3 月 26 日（告示第 420 号） 一部改正
平成 25 年 5 月 7 日（告示第 1495 号） 一部改正

1 定義

サルモネラ・ダブリン及びサルモネラ・ティフィムリウムをそれぞれ液状培地で培養し、不活化した後、アジュバントを添加したものを混合したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 サルモネラ・ダブリン

2.1.1.1 名称

サルモネラ・ダブリン 17636 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

子牛に経口投与すると、下痢、発熱、元気消失又は菌血症等の臨床症状を呈し、接種菌数によっては死に至る。

サルモネラ・ダブリンの感染による発病を防御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、継代用培地（付記 1）又は適当と認められた培地で継代する。

原株及び種菌の継代は、ともに 3 代以内でなければならない。

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

2.1.2 サルモネラ・ティフィムリウム

2.1.2.1 名称

サルモネラ・ティフィムリウム 81 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

子牛に経口投与すると、下痢、発熱、元気消失又は菌血症等の臨床症状を呈し、接種菌数によっては死に至る。

サルモネラ・ティフィムリウムの感染による発病を防御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、継代用培地又は適当と認められた培地で継代する。

原株及び種菌の継代は、ともに 3 代以内でなければならない。

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

2.2 製造用材料

2.2.1 培地

液状培地（付記 2）、サルモネラ・ダブリン用液状培地（付記 3）、サルモネラ・ティフィムリウム用液状培地（付記 4）又は適当と認められた液状培地を用いる。

2.3 サルモネラ・ダブリン及びサルモネラ・ティフィムリウムの原液

2.3.1 培養

液状培地又は適当と認められた液状培地で培養した各菌株の種菌を、サルモネラ・ダブリンにあつてはサルモネラ・ダブリン用液状培地又は適当と認められた液状培地で培養したものを培養菌液とし、サルモネラ・ティフィムリウムにあつてはサルモネラ・ティフィムリウム用液状培地又は

適当と認められた液状培地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 不活化

培養菌液にホルマリン若しくは適当と認められた不活化剤を加えて感作したもの、又は感作後集菌したものを、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。

2.3.3 アジュバントの添加

不活化菌液の菌濃度をリン酸緩衝食塩液又は適当と認められた希釈溶液で所定の濃度となるよう調整した後、アジュバントを添加したものを原液とする。

適当と認められた保存剤を添加してもよい。

原液について、3.3 の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液を混合したものを最終バルクとする。

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、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 1 を準用して試験するとき、サルモネラ・ダブリン及びサルモネラ・ティフィウム以外の菌の発育を認めてはならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法とする。

3.1.2 生菌数試験

3.1.2.1 試験材料

検体を階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.1.2.2 試験方法

試料を 2 枚以上の試験用培地 1 (付記 5) 又は適当と認められた寒天培地に接種し、37 °C で 48 時間培養した後、生じたサルモネラ菌の集落を数える。希釈段階ごとの平均値、希釈倍率及び培地への接種量から、生菌数を算出する。

3.1.2.3 判定

検体の生菌数は、1 mL 当たり 10^9 個以上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、その生菌数とする。

3.2 不活化菌液の試験

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

0.5w/v % ビーフエキスを含有する液体チオグリコール酸培地又は 0.5w/v % ビーフエキスを含有しない液体チオグリコール酸培地、及びソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地をそれぞれ試験管 10 本ずつ用いる。

3.2.1.2 試験方法

試料 1 mL をそれぞれの試験管に接種し、液体チオグリコール酸培地にあつては 30 ~ 35 °C で 14 日間、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地にあつては 20 ~ 25 °C で 14 日間培養して観察す

る。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法とする。

3.2.1.3 判定

いずれの試験管にも菌の増殖を認めてはならない。

3.2.2 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。ただし、3.3.1 の試験を行うときは、本試験を実施しなくてもよい。

3.3 原液の試験

3.3.1 無菌試験

3.2.1 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、3.2.2 の試験を行うときは、本試験を実施しなくてもよい。

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、異物及び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 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。

3.4.3 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。

3.4.4 チメロサル定量試験

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。

3.4.5 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、0.3vol %以下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、その含有量とする。

3.4.6 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 1.8 mg以下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、その含有量とする。

3.4.7 毒性限度確認試験

一般試験法の毒性限度確認試験法 1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、注射後の体重測定は、4 日目に行う。

3.4.8 力価試験

3.4.8.1 試験材料

3.4.8.1.1 注射材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で 4 倍及び 16 倍に希釈したものを注射材料とする。

3.4.8.1.2 試験動物

約 4 週齢の ICR 系マウス 60 匹以上を用いる。

3.4.8.1.3 攻撃菌液

サルモネラ・ティフィムリウム菌株（付記 6）及びサルモネラ・ダブリン菌株（付記 7）を用いる。凍結乾燥保存した各菌株を試験用培地 2（付記 8）で溶解した後、それぞれ試験用培地 1 に移植し、37 °C で 18 時間増殖させ、スムーズ型のコロニー 1 個を釣菌して試験用培地 2 に移植し、37 °C で 18 時間静置培養する。

攻撃直前に、沈殿菌を除いた培養菌液を培地総量の約 1/20 量となるように試験用培地 2 に移植し、培養菌液の OD 値（600nm）が約 0.5 になるまで、37 °C で振とう培養したものを攻撃菌液とする。

3.4.8.2 試験方法

試験動物 40 匹を試験群とし、20 匹を対照群とする。

注射材料を 4 倍又は 16 倍希釈したものを、0.5mL ずつ各 20 匹の試験群のマウスに腹腔内注射する。注射後 3 週目に、0.01w/v %ゼラチン加リン酸緩衝食塩液（付記 9）で濃度を約 200LD₅₀/mL に調整したサルモネラ・ティフィムリウムの攻撃株又はサルモネラ・ダブリンの攻撃株を、各希釈 1 群 10 匹ずつ及び対照群 1 群 10 匹の計 30 匹に 0.5mL ずつ腹腔内接種し、2 週間観察する。なお、攻撃菌については、試験用培地 1 を用い、生菌数を測定して攻撃菌数が約 100LD₅₀/匹であることを確認する。

3.4.8.3 判定

対照群においては 80 %以上のマウスが死亡し、試験群においては各 2 群のうち 1 群以上のマウスが 80 %以上生残しなければならない。

3.4.9 エンドトキシン定量試験

日本薬局方の一般試験法のエンドトキシン試験法を準用するとき、エンドトキシンの含有量は、10,000EU/mL 以下でなければならない。

3.4.10 C3H/HeN マウスを用いた安全試験

3.4.10.1 試験材料

3.4.10.1.1 注射材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で 5 倍、50 倍及び 500 倍に希釈する。希釈した試験品と 40mg/mL ガラクトサミン水溶液を等量混合したものを注射材料とする。

3.4.10.1.2 試験動物

約 10 週齢の C3H/HeN 系の雌マウス 30 匹以上を用いる。

3.4.10.2 試験方法

注射材料を 0.5mL ずつ各 10 匹のマウスに腹腔内注射する。

注射後 3 日間マウスの生死を観察する。

3.4.10.3 判定

試験動物の死亡数から LD₅₀(log)を計算し、LD₅₀ が 2.0 以下となるか、1,000 倍希釈ワクチン注射マウスが全て生残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には、その期間とする。

付記 1 継代用培地

1,000mL 中

ブレイン・ハート・インフュージョン培地 37 g

普通寒天 15 g

精製水 残 量

pH を 7.2 に調整した後、121 °C で 15 分間高压滅菌する。

付記 2 液状培地

1,000mL 中

トリプトース 20 g

塩化ナトリウム 5 g

グルコース 1 g

精製水 残 量

pH を 6.8 ~ 7.2 に調整した後、121 °C で 20 分間高压滅菌する。

付記 3 サルモネラ・ダブリン用液状培地

1,000mL 中	
トリプトン	17 g
ソイトン	3 g
グルコース	2.5 ~ 10 g
塩化ナトリウム	5 g
リン酸水素ナトリウム	2.5 g
精製水	残 量

pH を 6.8 ~ 7.2 に調整した後、121 °C で 20 分間高圧滅菌する。

付記 4 サルモネラ・ティフィムリウム用液状培地

1,000 mL 中	
ビーフエキストラクト	6 g
ラクトアルブミン	10 g
塩化ナトリウム	5 g
グルコース	5 g
精製水	残 量

pH を 6.8 ~ 7.2 に調整した後、121 °C で 20 分間高圧滅菌する。

付記 5 試験用培地 1

市販のソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地を 121 °C で 15 分間高圧滅菌したもの。

付記 6 サルモネラ・ティフィムリウム菌株

サルモネラ・ティフィムリウム岩手株又は適当と認められた菌株を、試験用培地 1 で 2 代継代した後、凍結乾燥して 5 °C 以下又は凍結して - 70 °C 以下に保存したもの。

付記 7 サルモネラ・ダブリン菌株

サルモネラ・ダブリン大栄株又は適当と認められた菌株を試験用培地 1 で 2 代継代した後、凍結乾燥して 5 °C 以下又は凍結して - 70 °C 以下に保存したもの。

付記 8 試験用培地 2

市販のソイビーン・カゼイン・ダイジェスト液状培地を 121 °C で 15 分間高圧滅菌したもの。

付記 9 0.01w/v %ゼラチン加リン酸緩衝食塩液

1,000mL 中	
リン酸二水素ナトリウム二水和物	0.45 g
リン酸水素二ナトリウム十二水和物	2.53 g
塩化ナトリウム	6.00 g
ゼラチン	0.10 g
精製水	残 量

pH を 7.2 に調整した後、ろ過滅菌して用いる。
使用直前に調製する。