

鶏サルモネラ症（サルモネラ・エンテリティディス・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28年7月14日（告示第1475号） 新規追加

1 定義

サルモネラ・エンテリティディス及びサルモネラ・ティフィムリウムのそれぞれの培養菌液を不活化し、濃縮したものを混合し、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 サルモネラ・エンテリティディス

2.1.1.1 名称

サルモネラ・エンテリティディスNT991株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

サルモネラ・エンテリティディス基準株に一致する生物学的性状及び血清学的性状を示す。

2.1.1.3 継代及び保存

原株及び種菌は、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2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A723株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

サルモネラ・ティフィムリウム基準株に一致する生物学的性状及び血清学的性状を示す。

2.1.2.3 継代及び保存

原株及び種菌は、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2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 以下で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 培地

製造に適当と認められた培地を用いる。

2.3 原液

2.3.1 サルモネラ・エンテリティディス原液

2.3.1.1 培養

種菌を培地に接種し、培養したものを更に培地に接種し、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、濃縮したものを原液とする。

原液について、3.2の試験を行う。

2.3.2 サルモネラ・ティフィムリウム原液

2.3.2.1 培養

種菌を培地に接種し、培養したものを更に培地に接種し、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、濃縮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

各原液を必要に応じ濃度調整して混合し、アルミニウムゲルアジュバント、ホルマリン及び適当と認められた緩衝液を添加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

3.1.1.1 試験材料

3.1.1.1.1 試料

検体を試料とする。

3.1.1.2 試験方法

試料0.01mLをスライドグラス上に塗抹し、乾燥・固定した後にグラム染色して標本を作製する。標本は、約1,000倍に拡大して30視野以上を鏡検する。

3.1.1.3 判定

サルモネラ以外の菌を認めてはならない。

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

適当と認められた寒天培地を用いる。

3.2.2.2 試験方法

検体0.1mLずつを3枚以上の寒天培地に接種して、37°Cで48時間培養する。

3.2.2.3 判定

いずれの寒天培地上においても、菌の発育を認めてはならない。

3.2.3 総菌数試験

3.2.3.1 試験材料

3.2.3.1.1 試料

検体を適当と認められたリン酸緩衝食塩液で適当な濃度に希釈したものを試料とする。

3.2.3.2 試験方法

分光光度計を用いて、600nmの波長で試料の吸光度を測定する。

3.2.3.3 判定

標準検量線、吸光度の測定値及び検体の希釈度から総菌数を算出するとき、検体中の総菌数は、1 mL中 1.6×10^{10} 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均質な懸濁液でなければなら

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。

3.3.2 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。

3.3.3 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。

3.3.4 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、ホルマリンの含有量は、0.2vol%以下でなければならない。

3.3.5 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4.4mg以下でなければならない。

3.3.6 安全試験

3.3.6.1 試験材料

3.3.6.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.3.6.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の5週齢の鶏を用いる。

3.3.6.2 試験方法

試験動物の10羽を試験群、3羽を対照群とする。

注射材料1羽分ずつを試験群の脚部筋肉内に注射する。対照群と共に4週間観察を行い、試験最終日に注射部位を剖検する。

3.3.6.3 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。また、剖検したとき、注射局所に著しい異常を認めてはならない。

3.3.7 力価試験

3.3.7.1 サルモネラ・エンテリティディス力価試験

3.3.7.1.1 試験材料

3.3.7.1.1.1 試験動物

3.3.6の試験に使用した試験動物を用いる。

3.3.7.1.1.2 酵素抗体反応（以下この項において「ELISA」という。）用抗原

SE精製べん毛抗原（付記1）を用いる。

3.3.7.1.2 試験方法

3.3.6の試験の2週目に、試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ELISAを行う。

試験群と対照群の血清、SE参照陽性血清（付記2）及び参照陰性血清（付記3）を5 w/v%スキムミルク加洗浄液（付記4）で100倍に希釈したものを、SE抗原固相化プレート（付記5）のそれぞれ4穴に50 μ Lずつ加え、37°Cで1時間反応させた後、洗浄液（付記6）で洗浄する。各穴に酵素標識抗体（付記7）を50 μ Lずつ加え、37°Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。基質液（付記8）を100 μ Lずつ加え、遮光して25°Cで30分間反応させた後、反応停止液（付記9）を50 μ Lずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長492nm、副波長630nmで測定する。

3.3.7.1.3 判定

4穴の吸光度の最高値と最低値を除いた2穴の値の平均値を吸光度値としたとき、試験群の70%以上が、試験群血清の吸光度値/SE参照陽性血清の吸光度値 ≥ 1 でなければならない。この場合、対照群では、全てSE参照陽性血清の吸光度値/対照群血清の吸光度値 ≥ 2 でなければならない。また、SE参照陽性血清は、吸光度値0.3~0.7の値を示さなければならない、参照陰性血清は、吸光度値0.1以下を示さなければならない。

3.3.7.2 サルモネラ・ティフィムリウム力価試験

3.3.7.2.1 試験材料

3.3.7.2.1.1 試験動物

3.3.6の試験に使用した試験動物を用いる。

3.3.7.2.1.2 ELISA用抗原

ST精製べん毛抗原（付記10）を用いる。

3.3.7.2.2 試験方法

3.3.6の試験の2週目に、試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、ELISAを行う。

試験群と対照群の血清、ST参照陽性血清（付記11）及び参照陰性血清を5 w/v%スキムミルク加洗浄液で100倍に希釈したものを、ST抗原固相化プレート（付記12）のそれぞれ4穴に50 μ Lずつ加え、37 $^{\circ}$ Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴に酵素標識抗体を50 μ Lずつ加え、37 $^{\circ}$ Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。基質液を100 μ Lずつ加え、遮光して25 $^{\circ}$ Cで30分間反応させた後、反応停止液を50 μ Lずつ加えて反応を停止させ、各穴の吸光度を主波長492nm、副波長630nmで測定する。

3.3.7.2.3 判定

4穴の吸光度の最高値と最低値を除いた2穴の値の平均値を吸光度値としたとき、試験群の70%以上が、試験群血清の吸光度値/ST参照陽性血清の吸光度値 ≥ 1 でなければならない。この場合、対照群では、全てST参照陽性血清の吸光度値/対照群血清の吸光度値 ≥ 3 でなければならない。また、ST参照陽性血清は、吸光度値0.3~0.7の値を示さなければならない、参照陰性血清は、吸光度値0.1以下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、2年6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。

5 その他

5.1 添付文書等記載事項

- 1 本剤を鶏に使用する場合は、事前に最寄りの家畜保健衛生所に相談の上、指示を受け、標識した無注射鶏を1%程度残す旨
- 2 本剤を投与した鶏はひな白痢の抗体検査で陽性を示す旨
- 3 本剤の投与と併せて、国が定めた鶏卵のサルモネラ総合対策指針に基づき、総合的な衛生管理対策を実施する旨

付記1 SE精製べん毛抗原

サルモネラ・エンテリティディスNT991株の培養菌液から作製したべん毛抗原を、ゲルろ過及びイオン交換クロマトグラフィーにより精製し、リン酸緩衝食塩液で透析したもので、凍結して-20 $^{\circ}$ C以下で保存する。本抗原を用いて3.3.7.1.2の試験によりELISAを実施するとき、SE参照陽性血清の吸光度値が0.3~0.7、参照陰性血清の吸光度値が0.1以下を示し、使用時の蛋白質量は0.04~0.34 μ g/mLとなるように炭酸緩衝液（付記13）で調製する。

付記2 SE参照陽性血清

サルモネラ・エンテリティディスNT991株で免疫した生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、3.3.7.1.2の試験によりELISAを実施するとき、吸光度値が0.3~0.7を示す。凍結して-20 $^{\circ}$ C以下で保存する。

付記3 参照陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、3.3.7.1.2及び3.3.7.2.2の試験によりELISAを実施するとき、いずれの試験においても吸光度値が0.1以下を示す。凍結して-20 $^{\circ}$ C以下で保

存する。

付記4 5 w/v% スキムミルク加洗浄液

洗浄液（付記6）にスキムミルクを5 w/v%となるように加え、溶解したもの。

付記5 SE抗原固相化プレート

SE精製べん毛抗原を炭酸緩衝液で希釈し、96穴プレートの各穴に50 μ Lずつ加え、37°Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴に5 w/v% スキムミルク加洗浄液を200 μ Lずつ加え、37°Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄したものを用いる。

付記6 洗浄液

1,000mL中

塩化ナトリウム	8.0 g
塩化カリウム	0.2 g
リン酸二水素カリウム	0.2 g
リン酸水素二ナトリウム十二水和物	2.89 g
ポリソルベート20	0.5 mL
水	残量

pHを7.2~7.4に調整する。

付記7 酵素標識抗体

ペルオキシダーゼ標識抗ニワトリIgG (H+L)抗体で、3.3.7.1.2及び3.3.7.2.2の試験によりELISAを実施するとき、SE参照陽性血清及びST参照陽性血清の吸光度値が0.3~0.7を示し、参照陰性血清の吸光度値が0.1以下を示すように5 w/v% スキムミルク加洗浄液で調製する。

付記8 基質液

o-フェニレンジアミン二塩酸塩10mgをリン酸クエン酸緩衝液（付記14）25mLに遮光して溶解し、使用直前に過酸化水素水を10 μ L添加する。

付記9 反応停止液

1,000mL中

硫酸	112.2mL
水	残量

付記10 ST精製べん毛抗原

サルモネラ・ティフィムリウムA723株の培養菌液から作製したべん毛抗原を、ゲルろ過及びイオン交換クロマトグラフィーにより精製し、リン酸緩衝食塩液で透析したもので、-20°C以下に保存する。本抗原を用いて3.3.7.2.2の試験によりELISAを実施するとき、ST参照陽性血清の吸光度値が0.3~0.7、参照陰性血清の吸光度値が0.1以下を示し、使用時の蛋白質量は0.07~0.36 μ g/mLとなるように炭酸緩衝液で調製する。

付記11 ST参照陽性血清

サルモネラ・ティフィムリウムA723株で免疫した生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の鶏の血清で、3.3.7.2.2の試験によりELISAを実施するとき、吸光度値が0.3~0.7を示す。凍結して-20°C以下で保存する。

付記12 ST抗原固相化プレート

ST精製べん毛抗原を炭酸緩衝液で希釈し、96穴プレートの各穴に50 μ Lずつ加え、37°Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄する。各穴に5 w/v% スキムミルク加洗浄液を200 μ Lずつ加え、37°Cで1時間反応させた後、洗浄液で洗浄したものをを用いる。

付記13 炭酸緩衝液

1,000mL中

炭酸ナトリウム

1.59 g

炭酸水素ナトリウム

2.93 g

水

残 量

pHを9.6に調整する。

付記14 リン酸クエン酸緩衝液

1,000mL中

クエン酸（無水）

4.67 g

リン酸水素二ナトリウム十二水和物

19.95 g

水

残 量

pHを5.0に調整する。