

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）（油性アジュバント加）不活化ワクチン

平成 24 年 7 月 4 日（告示第 1622 号） 新規追加
平成 28 年 4 月 18 日（告示第 1020 号） 一部改正

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、油性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・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 E-926 株及び E-136 株、又はこれら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。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。

原株及び種菌は、凍結して－40℃以下又は凍結乾燥して 5℃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 T-023 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。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。

原株及び種菌は、凍結して－40℃以下又は凍結乾燥して 5℃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たもの又はそれを濃縮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。

2.3.1.3 アジュバントの添加

不活化菌液を必要に応じ濃度調整し、油性アジュバントを添加したものを原液とする。

原液について、3.3 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たもの又はそれを濃縮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。

2.3.2.3 アジュバントの添加

不活化菌液を必要に応じ濃度調整し、油性アジュバントを添加したものを原液とする。

原液について、3.3 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、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、3.4 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を準用して試験するとき、夾雑菌の集落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

検体を生理食塩水で 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

適当と認められた寒天培地を用いる。

3.1.2.2 試験方法

各試料 1 mL ずつを混釈法によりそれぞれ 2 枚以上の培地に接種し、37 °C で 24 時間培養した後、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から生菌数を算出する。

検体の生菌数は、サルモネラ・エンテリティディスについては 1 mL 中 $10^{8.7}$ 個以上、サルモネラ・ティフィムリウムについては 1 mL 中 $10^{8.4}$ 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

適当と認められた液状培地及び適当と認められた寒天培地を用いる。

3.2.1.2 試験方法

液状培地 100mL に試料 1 mL を接種し、37 °C で 24 時間培養する。培養液 0.1 mL ずつをそれぞれ 2

枚以上の寒天培地に接種して、37℃で24時間培養する。

3.2.1.3 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。

3.2.2 総菌数試験

3.2.2.1 試験材料

3.2.2.1.1 試料

検体又は検体を適当と認められたリン酸緩衝食塩液で希釈したものを試料とする。

3.2.2.2 試験方法

分光光度計を用いて試料の吸光度を測定する。

3.2.2.3 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、サルモネラ・エンテリティディスについては1 mL中 $10^{9.0}$ 個以上、サルモネラ・ティフィムリウムについては1 mL中 $10^{8.7}$ 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、その総菌数とする。

3.3 原液の試験

3.3.1 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。

3.4 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均質な懸濁液でなければならない。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 ホルマリン定量試験

適当と認められた方法で試験品を処理したものを試料とし、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、0.2 vol %以下でなければならない。

3.4.4 安全試験

3.4.4.1 試験材料

3.4.4.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.4.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の5～7週齢の鶏を用いる。

3.4.4.2 試験方法

試験動物 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頸部皮下に注射する。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。

3.4.4.3 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、注射部位に著しい異常を認めてはならない。

3.4.5 力価試験

3.4.5.1 鶏サルモネラ症（サルモネラ・エンテリティディス）力価試験

3.4.5.1.1 試験材料

3.4.5.1.1.1 試験動物

3.4.4の試験に使用した試験動物を用いる。

3.4.5.1.1.2 凝集反応用抗原

「ひな白痢急速診断用菌液」を用いる。

3.4.5.1.2 試験方法

3.4.4 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非働化された血清について、マイクロタイター法で凝集反応を行う。

生理食塩液で5倍に希釈した試験群及び対照群の血清、参照陽性血清（付記1）並びに参照陰性血清（付記2）を生理食塩水で2倍階段希釈し、各希釈血清に100倍に希釈した「ひな白痢急速診断用菌液」を等量加え、振とう混合後、37℃で2時間感作する。感作終了後、4℃で1夜静置し、凝集像を観察する。

3.4.5.1.3 判定

完全凝集が認められた血清の最高希釈倍数を抗体価とする。

試験群の抗体価から、抗体価の幾何平均値を算出したとき、試験群は、100倍以上でなければならない。この場合、対照群では、全て10倍以下でなければならない。また、参照陽性血清は、凝集抗体価160～320倍の値を示さなければならない、参照陰性血清は、10倍未満でなければならない。

3.4.5.2 鶏サルモネラ症（サルモネラ・ティフィムリウム）力価試験

3.4.5.2.1 試験材料

3.4.5.2.1.1 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の5～7週齢の鶏を用いる。

3.4.5.2.1.2 攻撃用菌液

サルモネラ・ティフィムリウムのリファンピシン耐性強毒株（付記3）をハートインフュージョン液体培地に接種して37℃で振とう培養する。これを $10^{8.7} \sim 9.7$ 個/mLの菌量に濃度を調整したものを攻撃用菌液とする。

3.4.5.2.2 試験方法

試験動物の10羽を試験群、10羽を対照群とする。

注射材料1羽分ずつを、試験群の頸部皮下に注射する。注射4週後に、攻撃用菌液を試験群及び対照群のそ嚢内に1mLずつ接種して攻撃する。攻撃後5日目に、試験群及び対照群から個体別に盲腸便約1gを採取し、これに9倍量のハーナテトラチオン酸塩加基礎培地を添加した後、よく混合したものを攻撃菌回収用試料とする。攻撃菌回収用試料をリン酸緩衝食塩液で10倍階段希釈し、 10^0 、 10^2 、 10^4 及び 10^6 希釈のそれぞれ0.025mLを試験用培地（付記4）に接種し、37℃で24時間培養した後、発育した菌集落数を数え、盲腸便1g中の生菌数を算出する。

3.4.5.2.3 判定

試験群の盲腸便中の生菌数は、対照群のそれより有意に低い値を示さなければならない（スチューデントt検定、 $P < 0.05$ ）。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、3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。

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 参照陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏をサルモネラ・エンテリティディスで免疫して得た血清であって、「ひな白痢急速診断用菌液」を用いてマイクロタイター法で凝集反応を行ったとき、

凝集抗体価 160 ～ 320 倍を示すものであり、小分けし、凍結して－ 20 °C以下で保存する。

付記 2 参照陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏から得た血清で、「ひな白痢急速診断用菌液」を用いてマイクロタイター法で凝集反応を行ったとき、凝集抗体価 10 倍未満を示すものであり、小分けし、凍結して－ 20 °C以下で保存する。

付記 3 サルモネラ・ティフィムリウムのリファンピシン耐性強毒株

サルモネラ・ティフィムリウム T-023 株又はこれと同等以上の毒力を有するリファンピシン耐性強毒株

付記 4 試験用培地

DHL 寒天培地にリファンピシンを 100 μ g/mL となるように加えたもの。