

ひらめβ溶血性レンサ球菌症不活化ワクチン

平成 25 年 5 月 7 日（告示第 1495 号）新規追加

1 定義

ストレプトコッカス・イニエの培養菌液を不活化した後、濃縮したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

ストレプトコッカス・イニエ F2K 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

ストレプトコッカス・イニエ 38 ータイプに一致する性状を示し、β溶血性レンサ球菌症に対する免疫原性を有する。

2.1.3 継代及び保存

原株及び種菌は、継代に相当と認められた培地により継代する。

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。

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

2.2 製造用材料

2.2.1 培地

製造に相当と認められた培地を用いる。

2.3 原液

2.3.1 培養

培地で培養した種菌を製造用培地に接種し、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

培養菌液にホルマリンを添加し、不活化したものを不活化菌液とする。

2.3.3 原液

不活化菌液を遠心して濃縮した菌を相当と認められた希釈用液に浮遊し濃度調整したものを、必要に応じて相当と認められた pH 調整液で pH を調整し、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

原液を混合し、濃度調整し、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、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

検体又は検体をリン酸緩衝食塩液（以下この項において「PBS」という。）で 10 倍階段希釈した各段階の希釈液を試料とする。

3.1.1.1.2 培地

トッド・ヘビット寒天培地（付記1）又は適当と認められた培地を用いる。

3.1.1.2 試験方法

各試料 0.1mL ずつを培地 2 枚以上に接種して培地表面に拡散させたものを、25 ～ 27 °C で 24 時間培養する。

3.1.1.3 判定

ストレプトコッカス・イニエ以外の菌の発育を認めてはならない。

3.1.2 生菌数試験

3.2.3 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。

3.1.2.1 試験材料

3.1.2.1.1 試料

検体を PBS 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

トッド・ヘビット寒天培地又は適当と認められた培地を用いる。

3.1.2.2 試験方法

各試料 0.1mL ずつを培地 2 枚以上に接種して培地表面に拡散させたものを、25 ～ 27 °C で 24 時間培養した後、生じた集落を数える。

3.1.2.3 判定

各試料ごとの集落数から生菌数を算出する。

検体中の生菌数は、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 接種材料

検体を接種材料とする。

3.2.2.1.2 培地

トッド・ヘビット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

接種材料 0.1mL ずつを培地 5 枚に接種して培地表面に拡散させたものを、25 ～ 27 °C で 5 ～ 7 日間培養した後、集落の有無を観察する。

3.2.2.3 判定

接種したいずれの培地にも集落を認めてはならない。

3.2.3 総菌数試験

3.1.2 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。

3.2.3.1 試験材料

検体を PBS で適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、試料の濁度を測定する。その数値をあらかじめ作成した標準検量線に挿入し、希釈倍率から検体の総菌数を算出する。

3.2.3.3 判定

総菌数は、1 mL 中 10^9 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 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.3.5.1.2 試験動物

水温 20℃、循環式で7日間以上飼育し、異常のないことを確認した体重 30～150g のひらめ 40尾以上を用いる。

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 20尾以上ずつの2群に分ける。1群の試験動物に注射材料 0.1mL を腹腔内に注射し、試験群とする。他の1群は対照群とし、試験群と同様の方法で PBS を注射する。その後、それぞれ水温 20℃、循環式で飼育し、14日間観察する。ただし、安全試験最終日の前日から約1日かけて飼育水温を 25℃に上昇させる。

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

3.3.6.1.2.1 浸漬攻撃用菌液

ストレプトコッカス・イニエ強毒菌（付記2）の液体培養菌液を人工海水で希釈し、対照群の死亡率が 60%以上の希釈菌液を攻撃用菌液とする。

3.3.6.1.2.2 腹腔内注射攻撃用菌液

ストレプトコッカス・イニエ強毒菌の液体培養菌液を PBS で希釈し、対照群の死亡率が 80%以上の希釈菌液を攻撃用菌液とする。

3.3.6.2 試験方法

浸漬法又は腹腔内注射法によって行う。

3.3.6.2.1 浸漬法

3.3.5 の試験最終日の前日から 24時間以上餌止めした試験群及び対照群それぞれ 20尾以上を、浸漬攻撃用菌液に通気しながら 30分間浸漬して攻撃した後、飼育水温 25℃を 2～4時間かけて 27℃に上昇させ、14日間飼育観察して各群の生死を調べる。

3.3.6.2.2 腹腔内注射法

3.3.5 の試験最終日の前日から 24時間以上餌止めした試験群及び対照群それぞれ 20尾の腹腔内に、腹腔内注射攻撃用菌液を 0.1mL ずつ注射して攻撃した後、飼育水温 25℃を 2～4時間かけて 27℃に上昇させ、14日間飼育観察して各群の生死を調べる。

3.3.6.3 判定

次式により試験品の有効率を求めるとき、有効率は、60%以上でなければならない。この場合、

浸漬法における対照群は 60 %以上、腹腔内注射法における対照群は 80 %以上が死亡しなければならない。

$$\text{有効率 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{試験群の死亡率}}{\text{対照群の死亡率}} \right) \times 100$$

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は、その期間とする。

付記1 トッド・ヘビット寒天培地

1,000mL 中

牛心臓浸出物	3.1 g
ネオペプトン	20.0 g
ブドウ糖	2.0 g
塩化ナトリウム	2.0 g
リン酸水素二ナトリウム	0.4 g
炭酸ナトリウム	2.5 g
寒天	15.0 g
水	残量

加熱溶解した後、pH を 7.8 に調整し、121 °C 15 分間高圧滅菌する。

付記2 ストレプトコッカス・イニエ強毒菌

ストレプトコッカス・イニエ強毒菌 CIN 株又はこれと同等以上の毒力を有する株