

ぶりα溶血性レンサ球菌症不活化ワクチン（注射型）

平成 22 年 3 月 3 日（告示第 394 号） 新規追加

1 定義

ラクトコッカス・ガルビエの培養菌液を不活化後、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

ラクトコッカス・ガルビエ KG9408 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

ラクトコッカス・ガルビエ KG(－)型に一致する性状を示し、α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 7℃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。

不活化菌液について 3.2 の試験を行う。

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

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、3.4 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、ラクトコッカス・ガルビエ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

3.1.2.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で 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（付記 1）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、適当と認められた温度及び時間で培養後、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 不活化菌液の試験

3.2.1 不活化試験

3.3.2 の不活化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。

3.2.1.1 試験材料

3.2.1.1.1 接種材料

検体を接種材料とする。

3.2.1.2 試験方法

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 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。

3.3.2 不活化試験

3.2.1 の不活化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。

3.3.2.1 試験材料

3.3.2.1.1 接種材料

検体を接種材料とする。

3.3.2.1.2 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。

3.3.2.2 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℃で 7 日間培養後、集落の有無を観察する。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。

3.3.2.3 判定

接種したすべての培地に集落を認めてはならない。

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。

3.4.2 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。

3.4.3 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。

3.4.4 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。

3.4.5 安全試験

3.4.5.1 試験材料

3.4.5.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.5.1.2 試験動物

水温 25℃、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 30g 以上のかんぱち又はぶり 30 尾以上を用いる。

3.4.5.2 試験方法

試験動物は 24 時間以上餌止めした後、1 群 15 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リン酸緩衝食塩液（付記 2）を注射する。その後、それぞれ水温 25℃、循環式で飼育し、14 日間観察する。

3.4.5.3 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。

3.4.6 力価試験

3.4.6.1 試験材料

3.4.6.1.1 試験動物

3.4.5 の試験に用いた動物を用いる。

3.4.6.1.2 攻撃用菌液

ラクトコッカス・ガルビエ強毒菌（付記 3）の液体培養菌液をリン酸緩衝食塩液で希釈し、対照群の死亡率が 80 %と予測される希釈菌液を攻撃用菌液とする。

3.4.6.2 試験方法

3.4.5 の試験最終日の前日から 24 時間餌止めした試験群及び対照群に、攻撃用菌液 0.1mL ずつを腹腔内に注射して攻撃した後、水温 25℃で 14 日間観察して各群の生死を調べる。

3.4.6.3 判定

試験群の生存率は、対照群のそれより有意に高い値を示さなければならない（Fisher の直接確率計算法、 $P < 0.05$ ）。この場合、対照群は、60 %以上が死亡しなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、1 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 トッド・ヘビット寒天培地

1,000 mL 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

加熱溶解後、pH を 7.8 に調整し、121℃ 15 分間高压滅菌する。

付記 2 リン酸緩衝食塩液

1,000 mL 中

塩化ナトリウム	8.0 g
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	2.52 g
水	残 量

pH を 7.2 に調整し、121 °C 15 分間高圧滅菌する。

- 付記 3 ラクトコッカス・ガルビエ強毒菌
ラクトコッカス・ガルビエ強毒菌 **KG9502** 株又はこれと同等以上の毒力を有する株