

牛レプトスピラ病（アジュバント加）不活化ワクチン （シード）

令和4年4月7日(告示第697号)新規追加

1 定義

シードロット規格に適合したレプトスピラ・ボルグピータセニイ血清型ハージョ（以下この項において「L・ハージョ」という。）の培養菌液を不活化し、アルミニウムゲルアジュバントを加えたワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

L・ハージョ 181 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

レプトスピラの細菌学的・生化学的性状に一致し、抗 L・ハージョ血清（付記1）に対して特異的に凝集する。

2.1.3 マスターシード菌

2.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシード菌は、適当と認められた培地で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。

分注したマスターシード菌は、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して -60°C 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

マスターシード菌について、3.1.1 の試験を行う。

マスターシード菌は、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシード菌から小分製品までの継代数は、10 代以内でなければならない。

2.1.4 ワーキングシード菌

2.1.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシード菌は、適当と認められた培地で増殖及び継代する。

ワーキングシード菌は、凍結して -30°C 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

ワーキングシード菌について、3.1.2 の試験を行う。

2.1.5 プロダクションシード菌

2.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、適当と認められた培地で増殖させる。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して -30°C 以下で保存する。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その保存温度とする。

プロダクションシード菌を保存する場合は、3.1.3 の試験を行う。

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 培養

ワーキングシード菌又はプロダクションシード菌を培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.2 の試験を行う。

2.3.2 原液

培養菌液に適当と認められた不活化剤を加えて不活化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

原液にアルミニウムゲルアジュバントを加え、適当と認められた方法で不活化剤を中和し、適当と認められた溶液で濃度調整したものを最終バルクとする。このとき、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 製造用株の試験

3.1.1 マスターシード菌の試験

3.1.1.1 同定試験

シードロット規格の 1.4.2.4.1.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.2 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、適合しなければならない。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その試験法とする。

3.1.2 ワーキングシード菌の試験

3.1.2.1 同定試験

3.1.1.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.2.2 夾雑菌否定試験

3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.3 プロダクションシード菌の試験

3.1.3.1 同定試験

3.1.1.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.3.2 夾雑菌否定試験

3.1.1.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.2 培養菌液の試験

3.2.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.2 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 生菌数測定試験

培養菌液を階段希釈し、適当と認められた方法で培養菌液中の菌数を計算するとき、培養菌液中の菌数は、1 mL 中 8×10^8 個以上でなければならない。

3.3 原液の試験

3.3.1 同定試験

適当と認められた方法で試験するとき、適合しなければならない。

3.3.2 不活化試験

検体をろ過したメンブランフィルターを適当と認められた培地に接種し、28 ~ 32 °C で 13 ~ 15 日間培養し、観察するとき、レプトスピラの増殖を認めてはならない。

レプトスピラの増殖が認められない場合は菌液を継代、培養し、初代接種後 27 ~ 29 日目に観察するとき、レプトスピラの増殖を認めてはならない。

なお、L・ハージョ生菌液をろ過したメンブランフィルターを用いた陽性対照においてレプトスピラの増殖が認められない場合は、適当と認められた培養期間を追加し、観察する。

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懸濁液でなければならず、異物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 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、総ホルムアルデヒド濃度として 1 L 中 0.2 g 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、その試験法とする。

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 中固有の値以下でなければならない。

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、4 日目の体重を測定する。

3.4.8 力価試験

3.4.8.1 及び 3.4.8.2 の試験を行う。ただし、原液を含む中間工程で 3.4.8.1 と同等の試験を実施する場合には、小分製品における 3.4.8.1 の試験を省略することができる。

3.4.8.1 力価試験 1

3.4.8.1.1 試験材料

3.4.8.1.1.1 注射材料

試験品を生理食塩液で 10 倍に希釈したものを注射材料とする。

3.4.8.1.1.2 試験動物

20 匹のハムスターを用いる。

3.4.8.1.2 試験方法

試験動物の 10 匹を試験群、10 匹を対照群とする。注射材料 0.5mL ずつを試験群の皮下に注射する。対照群に注射は行わない。注射後 14 ～ 16 日目にレプトスピラ攻撃菌液 1 mL を試験群及び対照群の腹腔内に投与し、更に 14 ～ 16 日間観察する。

観察終了後試験動物から腎臓を採取し、腎臓を処理・培養した培養液を暗視野で鏡検し、レプトスピラ生菌の有無を観察する。

3.4.8.1.3 判定

レプトスピラ生菌が認められたものを感染陽性とするとき、試験群の感染陽性匹数は 2 匹以下でなければならない。このとき、対照群の感染陽性匹数は 8 匹以上でなければならない。

3.4.8.2 力価試験 2

3.4.8.2.1 試験材料

3.4.8.2.1.1 注射材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で 10 倍希釈したものを注射材料とする。

3.4.8.2.1.2 試験動物

体重約 300g のモルモットを用いる。

3.4.8.2.1.3 凝集反应用菌液

L・ハージョの生菌浮遊液を用いる。

3.4.8.2.2 試験方法

注射材料 1 mL ずつを 10 匹の試験動物に 7 日間隔で 2 回皮下注射する。2 回目注射後 14 日目に得られた各個体の血清について、凝集反应用菌液を用いて、マイクロプレート生菌凝集反応を行う。

3.4.8.2.3 判定

プレートの各穴を暗視野顕微鏡で観察し、菌の凝集を認めた血清の最高希釈倍数を凝集抗体価とする。凝集抗体価が 32 倍以上のとき、凝集抗体陽性とする。

試験動物の凝集抗体陽性率は、いずれも 70 % 以上でなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後 2 年 7 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。

付記 1 抗 L・ハージョ血清

L・ハージョで免疫した兎又はモルモットの血清