

豚丹毒生ワクチン（シード）

平成23年5月11日（告示第939号）新規追加
令和2年12月11日（告示第2406号）一部改正

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒豚丹毒菌の培養菌液を凍結乾燥したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

アクリフラビン耐性弱毒豚丹毒菌小金井65-0.15株

2.1.2 性状

0.02w/v%アクリフラビン加寒天培地で発育する。

豚丹毒抗体陰性豚の皮下に注射した場合、注射部位に限局した善感反応（小丘疹の形成）を呈するが、全身症状を認めず、注射後3週目に豚丹毒菌の強毒株で攻撃した場合、耐過生存する。

4週齢のマウスの皮下に注射した場合、その90%以上が関節炎を呈するが、100%が耐過生存し、注射後10日目に豚丹毒菌の強毒株で攻撃した場合、耐過生存する。

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、普通ブイヨン又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、保存安定剤（付記1）又は適当と認められた安定剤を添加し、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結乾燥して5℃以下で保存する。

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最高継代数は、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、普通ブイヨン又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、保存安定剤又は適当と認められた安定剤を添加し、凍結乾燥して5℃以下で保存する。

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、普通ブイヨン又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、保存安定剤又は適当と認められた安定剤を添加し、凍結乾燥して5℃以下で保存する。

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

製造用培地（付記2）又は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

プロダクションシード菌を培地で溶解した後、培地に接種し、培養したもの又は遠心集菌後の濃縮菌液を培養菌液とする。

培養菌液について、3.2の試験を行う。

2.3.2 安定剤の添加

培養菌液に保存安定剤又は相当と認められた安定剤を添加し、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

原液を混合して、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、凍結乾燥し、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1.4.2.2.1.1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 マーカー試験

3.1.1.2.1 試験材料

検体及び0.02w/v%アクリフラビン加寒天培地を用いる。

3.1.1.2.2 試験方法

検体0.1mLを0.02w/v%アクリフラビン加寒天培地2枚以上に接種し、培地表面に拡散させ、37℃で48時間培養し、観察する。

3.1.1.2.3 判定

豚丹毒菌の発育が認められなければならない。

3.1.1.3 夾雑菌否定試験

3.1.1.3.1 液状チオグリコール酸培地培養法

一般試験法の無菌試験法を準用して試験するとき、豚丹毒菌以外の菌の発育を認めてはならない。

3.1.1.3.2 普通寒天培地斜面培養法

3.1.1.3.2.1 培地

斜面の普通寒天培地を用いる。

3.1.1.3.2.2 試験方法

検体0.5mLずつを普通寒天培地4本の斜面部に接種し、2本を30～32℃で10日間、残りの2本を22～25℃で14日間培養し、観察する。

3.1.1.3.2.3 判定

豚丹毒菌以外の菌の発育を認めてはならない。

3.1.1.4 生菌数試験

3.1.1.4.1 試験材料

3.1.1.4.1.1 試料

検体を普通ブイヨン又は適当と認められた培地で10倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.1.1.4.1.2 培地

普通寒天培地又は適当と認められた培地を用いる。

3.1.1.4.2 試験方法

試料 1 mLずつを平板混濁培養法により培地 2 枚以上に接種し、37°Cで48時間培養後、生じた豚丹毒菌の集落数を数える。

3.1.1.4.3 判定

各段階の希釈液ごとの集落数の平均値、希釈倍数及び培地への接種量から生菌数を算出する。

検体の生菌数は、1 mL中 5×10^7 個以上でなければならない。

3.1.1.5 対象動物を用いた免疫原性試験

3.1.1.5.1 試験材料

3.1.1.5.1.1 検体

マスターシード菌及びそれを10代継代したものを検体とする。ただし、試験のために充分量のマスターシード菌が利用できない場合は、最も継代数の少ないワーキングシード菌を検体とする。

3.1.1.5.1.2 試験動物

品種及び系統（SPF等）が明らかで健康な、豚丹毒菌に対する抗体陰性の2～3か月齢の豚8頭以上を用いる。

3.1.1.5.2 試験方法

試験動物を、試験群2群（1群3頭以上）及び対照群（2頭以上）1群に分ける。

試験群には、各々の検体を生菌数が1 mL中 10^6 個となるように調整したものを1.0mLずつ、肩部皮下に注射する。

注射後3週目に、豚丹毒菌藤沢株又は適当と認められた菌株の培養菌液を0.1mL（生菌数1 mL中 10^8 個）ずつ各群の皮内に注射し、10日間臨床観察する。

3.1.1.5.3 判定

試験群は、いずれも、攻撃局所に限定された局所反応（発赤）を呈することがあっても、全身反応を呈することなく耐過生存しなければならない。この場合、対照群は、いずれも定型的な豚丹毒の症状が認められなければならない。

3.1.1.6 対象動物を用いた安全性確認試験

3.1.1.6.1 試験材料

3.1.1.6.1.1 検体

マスターシード菌を検体とする。ただし、試験のために十分な量のマスターシード菌が利用できない場合は、最も継代数の少ないワーキングシード菌を検体とする。

3.1.1.6.1.2 試験動物

品種及び系統（SPF等）が明らかで健康な、豚丹毒菌に対する抗体陰性の2～3か月齢の豚4頭以上を用いる。

3.1.1.6.2 試験方法

試験動物を2頭以上ずつの試験群及び対照群に分ける。

試験群には、検体を生菌数が1 mL中 5×10^7 個以上となるように調整したものを10mLずつ肩部皮下に注射する。対照群は、非投与とする。

投与後21日間、臨床症状を観察する。

3.1.1.6.3 判定

試験群は、いずれも注射局所に善感反応が認められなければならないが、全身の異常を認めてはならず、生存しなければならない。対照群は、いずれも善感反応に類似する反応が認められてはならず、生存しなければならない。

3.1.1.7 マウスを用いた安全性確認試験

3.1.1.7.1 試験材料

3.1.1.7.1.1 検体

マスターシード菌を検体とする。ただし、試験のために十分な量のマスターシード菌が利用できない場合は、最も継代数の少ないワーキングシード菌を検体とする。

3.1.1.7.1.2 試験動物

4週齢のマウスを用いる。

3.1.1.7.2 試験方法

マウス10匹を試験群、10匹を対照群とする。

検体を生菌数が1 mL中 1×10^8 個となるように調整したものを0.1mLずつ試験群の内股部皮下に注射し、対照群と共に10日間臨床観察する。

3.1.1.7.3 判定

試験群は、いずれも生存しなければならず、90%以上に関節炎が認められなければならない。対照群は、いずれも生存しなければならず、関節炎が認められてはならない。

3.1.1.8 病原性復帰確認試験

一般試験法の病原性復帰確認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。

3.1.1.9 力価試験（マウス注射試験）

3.1.1.9.1 試験材料

3.1.1.9.1.1 検体

マスターシード菌を検体とする。ただし、試験のために十分な量のマスターシード菌が利用できない場合は、最も継代数の少ないワーキングシード菌を検体とする。

3.1.1.9.1.2 試験動物

4週齢のマウスを用いる。

3.1.1.9.2 試験方法

試験動物の10匹を試験群、10匹を対照群とする。

検体を生菌数が1 mL中 10^4 個となるように調整したものを0.1mLずつ、試験群の左内股部皮下に注射する。注射後10日目に、藤沢株又は適当と認められた菌株の培養菌液を0.1mL中1,000致死量となるように希釈したものを0.1mLを両群の右内股部皮下に注射し、10日間臨床観察する。

3.1.1.9.3 判定

試験群は、全て無症状で耐過生存しなければならない。この場合、対照群は、全て死亡しなければならない。

3.1.2 ワーキングシード菌の試験

3.1.2.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.3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、普通寒天培地斜面培養法の培養温度及び培養期間は、37℃で7日間とする。

3.1.3 プロダクションシード菌の試験

3.1.3.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.3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、普通寒天培地斜面培養法の培養温度及び培養期間は、37℃で7日間とする。

3.2 培養菌液の試験

3.2.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.3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、普通寒天培地斜面培養法の培養温度及び培養期間は、37℃で7日間とする。

3.3 原液の試験

3.3.1 夾雑菌否定試験

3.1.1.3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、普通寒天培地斜面培養法の培養温度及び培養期間は、37℃で7日間とする。

3.3.2 生菌数試験

3.1.1.4を準用して試験するとき、検体の生菌数は、1 mL中 1×10^9 個以上でなければならない。

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乾燥物でなければならない。溶解したものは、固有の色調を有する液体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 真空度試験

一般試験法の真空度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 含湿度試験

一般試験法の含湿度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 夾雑菌否定試験

3.1.1.3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、普通寒天培地斜面培養法の培養温度及び培養期間は、37℃で7日間とする。

3.4.5 生菌数試験

3.1.1.4を準用して試験するとき、試験品の生菌数は、1 頭分当たり 1×10^8 個以上でなければならない。

3.4.6 安全試験（マウス注射試験）

3.4.6.1 試験材料

3.4.6.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.4.6.1.2 試験動物

4 週齢のマウスを用いる。

3.4.6.2 試験方法

試験動物10匹を試験群、5匹を対照群とする。

注射材料0.1mLずつを試験群の内股部皮下に注射し、対照群と共に10日間生死を観察する。

3.4.6.3 判定

全ての試験動物が生存しなければならない。

3.4.7 毒力試験

3.4.7.1 試験動物

3.4.6の試験に用いた動物を用いる。

3.4.7.2 試験方法

3.4.6の試験の観察期間中、関節炎の発生の有無を検査する。

3.4.7.3 判定

試験群の80%以上に関節炎が認められなくてはならない。この場合、対照群の全てに関節炎が認められてはならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後1年9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 保存安定剤

1 脱脂乳液

1,000mL中

脱脂粉乳

100 g

水

残 量

加温溶解後、100メッシュでろ過したろ液を、110～115℃で20分間滅菌したもの

2 酵母エキス液

1,000 mL中

酵母エキス

50 g

水

残 量

加温溶解後、121℃で15分間滅菌したもの

使用時に1及び2を等量混合する。

付記2 製造用培地

1,000mL中

ペプトン

20.0 g

塩化ナトリウム

5.0 g

ポリソルベート80

1.0 mL

肉水

残 量

pH7.8～8.0に調整し、121℃で15分間高压滅菌する。