

さけ科魚類ビブリオ病 2 価不活化ワクチン（シード）

令和 2 年 12 月 11 日（告示第 2406 号）新規追加

1 定義

シードロット規格に適合したビブリオ属菌 sp. J-O-1 型菌及びビブリオ・アンガイラルム J-O-3 型菌の培養菌液を不活化したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 ビブリオ属菌 sp.

2.1.1.1 名称

ビブリオ属菌 sp. J-O-1 型菌 VA1669 株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

ビブリオ・アンガイラルム J-O-1 型に一致する性状を示し、J-O-1 型ビブリオ病に対する免疫原性を有する。

2.1.1.3 マスターシード菌

2.1.1.3.1 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、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 -70°C 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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数とする。

2.1.1.4 ワーキングシード菌

2.1.1.4.1 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 -70°C 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。

2.1.1.5 プロダクションシード菌

2.1.1.5.1 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する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して -70°C 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について、3.1.3 の試験を行う。

2.1.2 ビブリオ・アンガイラルム

2.1.2.1 名称

ビブリオ・アンガイラルム J-O-3 型菌 VA775 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

ビブリオ・アンガイラルム J-O-3 型に一致する性状を示し、J-O-3 型ビブリオ病に対する免疫原性を有する。

2.1.2.3 マスターシード菌

2.1.2.3.1 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、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 -70°C 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。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合には、その継代数とする。

2.1.2.4 ワーキングシード菌

2.1.2.4.1 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 -70°C 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。

2.1.2.5 プロダクションシード菌

2.1.2.5.1 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する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結乾燥して 5°C 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について、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1）又は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

培養したワーキングシード菌又はプロダクションシード菌をそれぞれの培地に接種し、これを更に培地に接種して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 不活化

それぞれの培養菌液にホルマリン又は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

それぞれの原液を混合したものを、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 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を準用して試験を実施するとき、適合しなければならない。

3.1.1.2 夾雑菌否定試験

3.1.1.2.1 培地

0.5w/v%塩化ナトリウム加ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地（付記2）を用いる。

3.1.1.2.2 試験方法

検体0.2mLずつを培地10本以上に接種し、そのうち5本以上については22℃で、残り5本以上については37℃で7日間以上培養する。

3.1.1.2.3 判定

ビブリオ属菌sp.又はビブリオ・アングイラルム以外の菌の発育を認めてはならない。

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

3.1.1.2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の試験

3.1.3.1 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 培養菌液の試験

3.2.1 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、ビブリオ属菌以外の菌の発育を認めてはならない。

3.2.2 生菌数試験

3.2.2.1 試験材料

3.2.2.1.1 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。

3.2.2.1.2 培地

継代用培地（付記3）又は0.5w/v%塩化ナトリウム加ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地を用いる。

3.2.2.2 試験方法

各試料0.1mLずつを培地平板2枚以上に接種して培地表面に拡散させたものを、25℃で24時間以上培養後、生じた集落数を数える。

3.2.2.3 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 10^9 CFU以上でなければならない。

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

3.3.2.1 試験材料

3.3.2.1.1 試料

検体を試料とする。

3.3.2.1.2 培地

3.2.2.1.2の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

試料0.1mLずつを培地平板5枚以上に接種して培地表面に拡散させたものを、25℃で7日間以上培養後、集落の有無を観察する。

3.3.2.3 判定

接種した全ての培地平板に集落を認めてはならない。

3.3.3 型別試験

3.3.3.1 試験材料

3.3.3.1.1 試料

検体10mLを約2,000Gで30分間遠心した沈殿を試料とする。

3.3.3.1.2 抗血清

抗ビブリオ属菌sp.J-O-1型血清（付記4）及び抗ビブリオ・アングイラルム J-O-3型血清（付記5）を用いる。

3.3.3.2 試験方法

試料1白金耳ずつとそれぞれの抗血清0.03mLとを各々スライドグラス上で混合し、急速凝集反応を行う。

3.3.3.3 判定

検体は、同じ血清型の抗血清では速やかに凝集し、異なる血清型の抗血清では凝集してはならない。

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等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 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

ホルマリン添加製剤については、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、0.3vol%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 接種材料

試験品を飼育水で10倍に希釈したものを接種材料とする。

3.4.4.1.2 試験動物

体重2～50gのにじますを用いる。

3.4.4.2 試験方法

試験動物は24時間以上餌止めした後、1群120尾以上ずつの2群に分ける。接種材料1,000mL当たり、試験動物の総体重500g以下となる割合で1群の試験動物を通気しながら2分間浸漬し、試験群とする。他の1群は対照群とし、試験群と同様の操作で飼育水に浸漬させる。その後それぞれ水温12～18℃、流水式で飼育し、21日間観察する。

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。

3.4.5 力価試験

3.4.5.1 試験材料

3.4.5.1.1 試験動物

3.4.4の試験に用いた動物を用いる。

3.4.5.1.2 攻撃用菌液

ビブリオ属菌sp. J-O-1型強毒菌（付記6）及びビブリオ・アングイラルムJ-O-3型強毒菌（付記7）の液体培養菌液を1 w/v%塩化ナトリウム加飼育水で10倍階段希釈し、対照群の死亡率が80%と予測される希釈とその前後の希釈の3段階の希釈菌液を攻撃用菌液とする。

なお、攻撃用菌液量は、菌浴する試験動物の総体重の5～20倍とする。

3.4.5.2 試験方法

3.4.4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をそれぞれ20尾以上の6群ずつに分ける。各3群ずつをビブリオ属菌sp.の攻撃用菌液に、他の各3群ずつをビブリオ・アングイラルムの攻撃用菌液に、それぞれ通気しながら20分間浸漬し、14日間観察して各群の生死を調べる。

3.4.5.3 判定

それぞれの攻撃菌により、それぞれの対照群の60%以上が死亡した最少の攻撃菌量で攻撃した場合に、試験群の生残率が対照群のそれより40%以上高い値を示さなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、2年3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 製造用培地

1,000 mL中

カゼイン製ペプトン 10.0 g

酵母エキス 5.0 g

ブドウ糖 2.5 g

塩化ナトリウム 10.0 g

水 残量

pHを7.4～7.6に調整して、高圧滅菌する。

付記2 0.5w/v%塩化ナトリウム加ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地

1,000mL中

カゼイン製ペプトン 15.0 g

大豆製ペプトン 5.0 g

塩化ナトリウム 10.0 g

寒天 15.0 g

水 残量

pHを7.1～7.5に調整して、高圧滅菌する。

付記3 継代用培地

1,000 mL中	
カゼイン製ペプトン	10.0 g
酵母エキス	5.0 g
ブドウ糖	2.5 g
塩化ナトリウム	10.0 g
寒天	15.0 g
水	残 量

pHを7.4～7.6に調整して、高压滅菌する。

付記4 抗ビブリオ属菌sp.J-O-1型血清

ビブリオ属菌sp.J-O-1型菌で免疫した兎の血清で、ビブリオ属菌sp. J-O-1型菌を特異的に凝集するもの

付記5 抗ビブリオ・アングイラルムJ-O-3型血清

ビブリオ・アングイラルムJ-O-3型菌で免疫した兎の血清で、ビブリオ・アングイラルムJ-O-3型菌を特異的に凝集するもの

付記6 ビブリオ属菌sp.J-O-1型強毒菌

ビブリオ属菌sp.J-O-1型菌N-7802株又はこれと同等以上の毒力を有する株

付記7 ビブリオ・アングイラルムJ-O-3型強毒菌

ビブリオ・アングイラルムJ-O-3型菌NCMB571株又はこれと同等以上の毒力を有する株