

ぶりびブリオ病・ α 溶血性レンサ球菌症・類結節症混合（油性アジュバント加）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・アングイラルムJ-O-3型菌、ラクトコッカス・ガルビエ及びフォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーシーズ・ピシシダの培養菌液を不活化後混合したものに油性アジュバントを添加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・アングイラルム

2.1.1.1 名称

ビブリオ・アングイラルムFt 257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・アングイラルムJ-O-3型菌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。

2.1.1.3 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 -50°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 -50°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、継代用培地又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 -50°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 ラクトコッカス・ガルビエ

2.1.2.1 名称

ラクトコッカス・ガルビエINS 050株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 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。

2.1.2.3 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 -50°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 -50°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、継代用培地又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 -50°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。

2.1.3 フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーシーズ・ピシシダ

2.1.3.1 名称

フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーシーズ・ピシシダPp 66株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーシーズ・ピシシダに一致する性状を示し、類結節症に対する免疫原性を有する。

2.1.3.3 マスターシード菌

2.1.3.3.1 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 -50°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。

2.1.3.4 ワーキングシード菌

2.1.3.4.1 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 -50°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。

2.1.3.5 プロダクションシード菌

2.1.3.5.1 増殖及び保存

プロダクションシード菌は、継代用培地又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 -50°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 ビブリオ・アングイラルム

2.2.1.1 培地

製造に適当と認められた培地を用いる。

2.2.2 ラクトコッカス・ガルビエ

2.2.2.1 培地

製造に適当と認められた培地を用いる。

2.2.3 フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーシーズ・ピシシダ

2.2.3.1 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 ビブリオ・アングイラルム

2.3.1.1 培養

プロダクションシード菌を培地に接種し、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。

2.3.1.2 不活化

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、適当と認められた方法で濃縮したものを原液とする。

原液について、3.3の試験を行う。

2.3.2 ラクトコッカス・ガルビエ

2.3.2.1 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、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。

2.3.2.2 不活化

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。

2.3.3 フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーシーズ・ピシシダ

2.3.3.1 培養

プロダクションシード菌を培地に接種し、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。

2.3.3.2 不活化

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、適当と認められた方法で濃縮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

原液及び適当と認められた希釈用液を混合し、適当と認められた油性アジュバントを添加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、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 試験方法

マスターシード菌をグラム染色し、鏡検する。

3.1.1.2.2 判定

それぞれの菌に特徴的な形態を示し、他の菌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

3.2.1.1 試験材料

3.2.1.1.1 試料

検体を試料とする。

3.2.1.1.2 培地

1.0w/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又は適当と認められた培地を用いる。

3.2.1.2 試験方法

それぞれの試料0.1mLずつを培地に接種し、それぞれの培養温度で24時間培養し、観察する。

3.2.1.3 判定

ビブリオ・アングイラルムの検体は、ビブリオ・アングイラルム以外の菌の発育を認めては

ならず、ラクトコッカス・ガルビエの検体は、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ず、フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーシーズ・ピシシダの検体は、フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーシーズ・ピシシダ以外の菌の発育を認めてはならない。

3.3 原液の試験

3.3.1 不活化試験

3.3.1.1 試験材料

3.3.1.1.1 試料

検体を試料とする。

3.3.1.1.2 培地

それぞれの製造に用いた培地又は適当と認められた培地を用いる。

3.3.1.2 試験方法

試料 1 mLを培地100mLに接種し、それぞれの培養温度で72時間培養後、菌の発育を観察する。

3.3.1.3 判定

検体に菌の発育を認めてはならない。

3.3.2 総菌数試験

3.3.2.1 試験材料

3.3.2.1.1 試料

検体を試料とする。

3.3.2.2 試験方法

菌数計算盤を用いて、顕微鏡下で菌数を数える。

3.3.2.3 判定

検体の総菌数は、1 mL中 2.5×10^9 個より多くなければならない。

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。

3.4 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 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

適当と認められた方法で試験品を処理したものを試料とし、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、0.15vol%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、その含有量とする。

3.4.4 アジュバント定量試験

3.4.4.1 脂質定量試験

適当と認められた方法で試験品を処理したものを試料とし、試料の全量を、乾燥させた活性アルミナを充てんしたガラスカラムに吸着させた後、n-ヘキサンで洗浄する。n-ヘキサンを除去後、残留分の質量から脂質含有量を求めるとき、脂質の含有量は61.5～68.0%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、その含有量とする。

3.4.4.2 乳化剤定量試験

日本薬局方一般試験法の水分測定法を準用して試験品の水分量を求め、水分量及び脂質含有量と試験品量との差から乳化剤含有量を求めるとき、乳化剤の含有量は2.0～8.5%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、その含有量とする。

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22℃、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30～100gのぶり又はかんばち110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55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を注射する。その後、それぞれ水温22℃、循環式で飼育し、21日間観察する。試験最終日に試験群及び対照群からそれぞれ10尾取り上げ、注射部位を剖検する。

3.4.5.3 判定

観察期間中、対照群においては臨床的な異常を認めてはならず、試験群においては、一過性の摂餌不良を認めることはあっても、その他の臨床的な異常を認めてはならない。また、剖検したときに、注射局所に著しい異常を認めてはならない。

3.4.6 力価試験

3.4.6.1 ビブリオ病力価試験

3.4.6.1.1 試験材料

3.4.6.1.1.1 試験動物

3.4.5の試験に用いた動物を用いる。

3.4.6.1.1.2 攻撃用菌液

ビブリオ・アングイラルムJ-O-3 型強毒菌（付記1）の培養菌液を1.5w/v%塩化ナトリウム液で希釈し、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。

3.4.6.1.2 試験方法

3.4.5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15尾以上の腹腔内に、攻撃用菌液を0.1mLずつ注射して攻撃する。攻撃した後、飼育水温25℃で14日間飼育観察して各群の生死を調べる。

3.4.6.1.3 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。

3.4.6.2 α 溶血性レンサ球菌症力価試験

3.4.6.2.1 試験材料

3.4.6.2.1.1 試験動物

3.4.5の試験に用いた動物を用いる。

3.4.6.2.1.2 攻撃用菌液

ラクトコッカス・ガルビエ強毒菌（付記2）の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。

3.4.6.2.2 試験方法

3.4.5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15尾以上の腹腔内に、攻撃用菌液を0.1mLずつ注射して攻撃する。攻撃した後、飼育水温25℃で14日間飼育観察して各群の生死を調べる。

3.4.6.2.3 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。

3.4.6.3 類結節症力価試験

3.4.6.3.1 試験材料

3.4.6.3.1.1 試験動物

3.4.5の試験に用いた動物を用いる。

3.4.6.3.1.2 攻撃用菌液

フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーシーズ・ピシシダ強毒菌（付記3）の培養菌液を1.5w/v%塩化ナトリウム液で希釈し、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。

3.4.6.3.2 試験方法

3.4.5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15尾以上の腹腔内に、攻撃用菌液を0.1mLずつ注射して攻撃する。攻撃した後、飼育水温25℃で14日間飼育観察して各群の生死を調べる。

3.4.6.3.3 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、製造後4年4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 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INS222株又はこれと同等以上の毒力を有する株

付記2 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KG9502株又はこれと同等以上の毒力を有する株

付記3 フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーシーズ・ピシシダ強毒菌

フォトバクテリウム・ダムセラ・サブスピーシーズ・ピシシダINS197株又はこれと同等以上の毒力を有する株