

マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症・マイコプラズマ・シノビエ感染症混合生ワクチン

平成22年4月22日（告示第647号） 新規追加

弱毒マイコプラズマ・ガリセプチカムの培養菌液を凍結乾燥したワクチン（以下「マイコプラズマ・ガリセプチカム乾燥ワクチン」という。）と、弱毒マイコプラズマ・シノビエの培養菌液を凍結乾燥したワクチン（以下「マイコプラズマ・シノビエ乾燥ワクチン」という。）とを組み合わせたワクチンである。

1 小分製品の試験

1.1 夾雑菌否定試験

一般試験法の無菌試験法により試験を行い、これに適合しなければならない。

1.2 生菌数試験

1.2.1 マイコプラズマ・ガリセプチカム

1.2.1.1 試験材料

1.2.1.1.1 試料

試験品のマイコプラズマ・ガリセプチカム乾燥ワクチン 1,000 羽分を 30mL の希釈用培地 1（付記 1）で溶解し、10 倍階段希釈したものを試料とする。

1.2.1.1.2 培地

希釈用培地 1 と寒天培地 1（付記 2）を用いる。

1.2.1.2 試験方法

試料の 25 μ L を 2 枚の寒天培地 1 に接種し、37℃、5 vol %炭酸ガス下で 14 日間培養する。

1.2.1.3 判定

形成された集落数から生菌数を算出する。試験品の生菌数は 1 羽分当たり $10^{6.9}$ 個以上でなければならない。

1.2.2 マイコプラズマ・シノビエ

1.2.2.1 試験材料

1.2.2.1.1 試料

試験品のマイコプラズマ・シノビエ乾燥ワクチン 1,000 羽分を 30mL の希釈用培地 2（付記 3）で溶解し、10 倍階段希釈したものを試料とする。

1.2.2.1.2 培地

希釈用培地 2 と寒天培地 2（付記 4）を用いる。

1.2.2.2 試験方法

試料の 25 μ L を 2 枚の寒天培地 2 に接種し、37℃、5 vol %炭酸ガス下で 14 日間培養する。

1.2.2.3 判定

形成された集落数から生菌数を算出する。試験品の生菌数は 1 羽分当たり $10^{6.6}$ 個以上でなければならない。

1.3 安全試験

1.3.1 試験材料

1.3.1.1 接種材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で 0.1mL 当たり 10 羽分となるように調整したものを接種材料とする。

1.3.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 2～3 週齢の鶏を用いる。

1.3.2 試験方法

試験動物の 10 羽を試験群、5 羽を対照群とする。

接種材料 0.1mL を試験群に点眼接種し、対照群とともに 3 週間観察する。試験最終日に剖検し、鼻腔、眼窩下洞、気管及び気嚢の病変の有無を観察する。

1.3.3 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。また、剖検で異常を認めてはならない。

1.4 力価試験

1.4.1 マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症力価試験

1.4.1.1 試験材料

1.4.1.1.1 接種材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で 0.03mL 当たり 1 羽分となるように調整したものを接種材料とする。

1.4.1.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 2～3 週齢の鶏を用いる。

1.4.1.1.3 凝集反応抗原

マイコプラズマ・ガリセプチカム不活化抗原（付記 5）を用いる。

1.4.1.2 試験方法

試験動物 10 羽を試験群とし、3 羽を対照群とする。

接種材料 0.03mL ずつを試験群に点眼接種する。4 週間後に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、凝集反応抗原を用いて凝集反応を行う。

1.4.1.3 判定

試験群の 70 %以上が 3 分以内に凝集反応陽性を示さなければならない。この場合、対照群はすべて凝集反応陰性でなければならない。

1.4.2 マイコプラズマ・シノビエ感染症力価試験

1.4.2.1 試験材料

1.4.2.1.1 接種材料

試験品をリン酸緩衝食塩液で 0.03mL 当たり 1 羽分となるように調整したものを接種材料とする。

1.4.2.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 2～3 週齢の鶏を用いる。

1.4.2.1.3 凝集反応抗原

マイコプラズマ・シノビエ不活化抗原（付記 6）を用いる。

1.4.2.2 試験方法

試験動物 10 羽を試験群とし、3 羽を対照群とする。

接種材料 0.03mL ずつを試験群に点眼接種する。4 週間後に試験群及び対照群から得られた各個体の血清について、凝集反応抗原を用いて凝集反応を行う。

1.4.2.3 判定

試験群の 70 %以上が 3 分以内に凝集反応陽性を示さなければならない。この場合、対照群はすべて凝集反応陰性でなければならない。

付記 1 希釈用培地 1

1,000mL 中

プロテオーゼ・ペプトン

7.4 g

イーストエキストラクト

2.5 g

デキストロース	4.0 g
塩化ナトリウム	5.0 g
リン酸水素二ナトリウム二水和物	1.8 g
フェノールレッド	15 mg
水	残 量

pH を 8.2 に調整した後、ろ過滅菌する。

付記 2 寒天培地 1

100mL 中

付記 1 からフェノールレッドを除いたもの	90 mL
バクトアガー	1.0 g

高圧滅菌後冷却し、正常豚血清を 10mL 加える。

付記 3 希釈用培地 2

1,000mL 中

プロテオーゼ・ペプトン	7.4 g
イーストエキストラクト	2.5 g
デキストロース	4.0 g
塩化ナトリウム	5.0 g
リン酸水素二ナトリウム二水和物	1.8 g
フェノールレッド	15 mg
ニコチンアミド	100 mg
水	残 量

p H を 8.2 に調整した後、ろ過滅菌する。

付記 4 寒天培地 2

100mL 中

付記 3 からフェノールレッド及びニコチンアミドを除いたもの	90 mL
バクトアガー	1.0 g

高圧滅菌後冷却し、ニコチンアミド 10mg 及び正常豚血清を 10mL 加える。

付記 5 マイコプラズマ・ガリセプチカム不活化抗原

マイコプラズマ・ガリセプチカム S6 株の液体培養液菌から集菌し、生菌数が約 10^{10} 個/mL となるようにリン酸緩衝食塩液で調整した後、チメロサルで不活化してクリスタルバイオレットで染色したもの。

マイコプラズマ・ガリセプチカム S6 株又はこれと同等と認められた株の免疫血清を用いて血清平板凝集反応を行うとき、3分以内に凝集を認め、非免疫対照鶏及びマイコプラズマ・シノビエで免疫した鶏の血清では3分以内に凝集を認めない。

付記 6 マイコプラズマ・シノビエ不活化抗原

マイコプラズマ・ガリセプチカム SG 株の液体培養液菌から集菌し、生菌数が約 10^{10} 個/mL となるようにリン酸緩衝食塩液で調整した後、チメロサルで不活化してクリスタルバイオレットで染色したもの。

マイコプラズマ・ガリセプチカム SG 株又はこれと同等と認められた株の免疫血清を用いて血清平板凝集反応を行うとき、3分以内に凝集を認め、非免疫対照鶏及びマイコプラズマ・ガ

リセプチカムで免疫した鶏の血清では3分以内に凝集を認めない。