

マイコプラズマ・シノピエ感染症凍結生ワクチン

弱毒マイコプラズマ・シノピエの培養菌液を凍結したワクチンである。

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 試験材料

1.2.1.1 培地

試験用培地（付記 1）を用いる。

1.2.2 試験方法

96 穴の平底マイクロプレートの各穴に培地を 225 μL ずつ分注する。最初の列（縦列）の 8 穴にそれぞれ試験品を 25 μL ずつ分注後、10 倍階段希釈し、 10^{-1} から 10^{-10} の希釈列を作製する。11 及び 12 列は無接種対照とする。プレートをシールし、33℃ で 2 週間培養する。

1.2.3 判定

培地の色調変化を示した穴を有する行（横列）の希釈の高い方から連続した 3 つの希釈列又は連続した 2 つの希釈列と最初の色調変化した穴が全く認められない希釈列の合計 3 希釈列のいずれかを用いて判定する。これら 3 希釈列より最確数表（付記 2）から最確数を求め、3 希釈列の最初の希釈倍数を乗じて 25 μL 当たりの色調変化単位（以下「CCU」という。）を算出し、さらに、それに 1.2 を乗じて生菌数を算出する。試験品の生菌数は、1 羽分当り $10^{7.35}$ CCU 以上でなければならない。

1.3 マ - カ - 試験

1.2 を準用して試験するとき、33℃ 培養の生菌数は 39.5℃ 培養の生菌数より、100 倍以上多くななければならない。ただし、マイクロプレート 4 枚を用い、2 枚は 33℃ で、残りの 2 枚は 39.5℃ で培養する。

1.4 安全試験

1.4.1 試験材料

1.4.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

1.4.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 3 ～ 4 週齢の鶏を用いる。

1.4.2 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 10 羽分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、気嚢及び関節（滑膜）の病変の有無を観察する。

1.4.3 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。また、剖検で異常を認めてはならない。

1.5 力価試験

1.5.1 試験材料

1.5.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

1.5.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 3 ～ 4 週齢の鶏を用いる。

1.5.2 試験方法

試験動物の 10 羽を試験群、3 羽を対照群とする。

接種材料 1 羽分を試験群に点眼接種する。接種 6 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「マイコプラズマ・シノピエ感染症急速診断用菌液」を用いて凝集反応を行う。

1.5.3 判定

試験群の 70 %以上が凝集抗体陽性でなければならず、対照群では、すべて凝集抗体陰性でなければならない。

付記 1 試験用培地

1,000mL 中

マイコプラズマ用基礎培地 (PPLO 培地) *	22.5 g
塩酸システイン *	0.1 g
酢酸タリウム *	0.1 g
ブドウ糖 *	1 g
0.6w/v % フェノ - ルレッド液	5 mL
正常豚血清	100 mL
新鮮イ - ストエキス	10 mL
0.2w/v % DNA 液	10 mL
1 w/v % β - NAD 液	10 mL
ベンジルペニシリンカリウム	5,000 単位
水	残 量

* 印の成分を加温溶解した後、121 で 15 分間高圧滅菌する。これに、あらかじめろ過滅菌してある他の成分を無菌的に添加する。

付記 2 最確数表

連続した 3 つの希釈列 に認められた培地色調 変化の穴の数	最確数 (MPN)	連続した 3 つの希釈列 に認められた培地色調 変化の穴の数	最確数 (MPN)
8 8 7	208	7 0 1	1.83
8 8 6	139	7 0 0	1.55
8 8 5	98.2	6 6 1	3.08
8 8 4	70.2	6 6 0	2.77
8 8 3	51.0	6 5 1	2.73
8 8 2	38.5	6 5 0	2.44
8 8 1	30.1	6 4 2	2.69
8 8 0	24.0	6 4 1	2.41
8 7 8	59.6	6 4 0	2.14
8 7 7	50.8	6 3 2	2.38
8 7 6	43.3	6 3 1	2.11
8 7 5	36.9	6 3 0	1.86
8 7 4	31.4	6 2 2	2.09
8 7 3	26.7	6 2 1	1.84
8 7 2	22.6	6 2 0	1.60

8	7	1	19.1	6	1	2	1.82
8	7	0	15.9	6	1	1	1.58
8	6	6	28.4	6	1	0	1.35
8	6	5	25.0	6	0	2	1.56
8	6	4	21.8	6	0	1	1.34
8	6	3	18.9	6	0	0	1.13
8	6	2	16.3	5	5	1	2.07
8	6	1	13.8	5	5	0	1.85
8	6	0	11.5	5	4	1	1.84
8	5	6	21.3	5	4	0	1.63
8	5	5	18.9	5	3	2	1.82
8	5	4	16.6	5	3	1	1.61
8	5	3	14.4	5	3	0	1.41
8	5	2	12.3	5	2	2	1.60
8	5	1	10.30	5	2	1	1.40
8	5	0	8.42	5	2	0	1.21
8	4	5	14.8	5	1	2	1.39
8	4	4	13.0	5	1	1	1.20
8	4	3	11.1	5	1	0	1.01
8	4	2	9.40	5	0	2	1.19
8	4	1	7.74	5	0	1	1.01
8	4	0	6.22	5	0	0	0.83
8	3	5	11.8	4	4	0	1.28
8	3	4	10.2	4	3	1	1.27
8	3	3	8.67	4	3	0	1.10
8	3	2	7.18	4	2	1	1.09
8	3	1	5.82	4	2	0	0.93
8	3	0	4.67	4	1	2	1.08
8	2	4	8.07	4	1	1	0.92
8	2	3	6.72	4	1	0	0.76
8	2	2	5.50	4	0	2	0.91
8	2	1	4.45	4	0	1	0.75
8	2	0	3.62	4	0	0	0.60
8	1	3	5.22	3	4	0	1.01
8	1	2	4.27	3	3	1	1.00
8	1	1	3.50	3	3	0	0.85
8	1	0	2.87	3	2	1	0.85
8	0	2	3.38	3	2	0	0.70
8	0	1	2.80	3	1	2	0.84
8	0	0	2.31	3	1	1	0.70
7	7	1	5.47	3	1	0	0.56
7	7	0	4.84	3	0	2	0.69
7	6	2	5.30	3	0	1	0.55
7	6	1	4.71	3	0	0	0.41
7	6	0	4.15	2	4	0	0.79

7	5	2	4.58	2	3	1	0.79
7	5	1	4.04	2	3	0	0.66
7	5	0	3.55	2	2	1	0.65
7	4	3	4.46	2	2	0	0.52
7	4	2	3.95	2	1	1	0.52
7	4	1	3.47	2	1	0	0.39
7	4	0	3.04	2	0	2	0.51
7	3	3	3.86	2	0	1	0.38
7	3	2	3.40	2	0	0	0.26
7	3	1	2.98	1	3	0	0.49
7	3	0	2.59	1	2	1	0.49
7	2	3	3.33	1	2	0	0.36
7	2	2	2.92	1	1	1	0.36
7	2	1	2.55	1	1	0	0.24
7	2	0	2.20	1	0	2	0.36
7	1	3	2.87	1	0	1	0.24
7	1	2	2.51	1	0	0	0.12
7	1	1	2.17	0	2	0	0.23
7	1	0	1.86	0	1	1	0.23
7	0	2	2.14	0	1	0	0.11
				0	0	1	0.11