

マイコプラズマ・シノビエ感染症凍結生ワクチン(シード)

平成25年9月26日(告示第2480号)新規追加
令和元年8月26日(告示第723号)一部改正

1 定義

シードロット規格に適合した弱毒マイコプラズマ・シノビエの培養菌液を凍結したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

マイコプラズマ・シノビエMS-H株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

33℃でのマイコプラズマ用培地(付記1)における増殖は、39.5℃での増殖を上回り、その差は100倍以上である。また、感受性鶏の腹腔内に接種しても病原性を示さない。

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、製造に相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℃以下又は凍結乾燥して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、製造に相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℃以下又は凍結乾燥して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、製造に相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、凍結して-70℃以下又は凍結乾燥して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

製造に相当と認められた培地を用いる。

2.3 原液

プロダクションシード菌を培地に接種し、培養したものを原液とする。

原液について、3.2の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液を必要に応じ濃度調整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、凍結し、小分製品とする。

小分製品について、3.3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 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、適合しなければならない。

3.1.1.3 対象動物を用いた免疫原性試験

一般試験法の対象動物を用いた免疫原性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。

3.1.1.4 対象動物を用いた安全性確認試験

一般試験法の対象動物を用いた安全性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。

3.1.1.5 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。

3.1.2 ワーキングシード菌の試験

3.1.2.1 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、適合しなければならない。

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

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。

3.2 原液の試験

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、適合しなければならない。

3.2.2 生菌数試験

3.2.2.1 試験材料

3.2.2.1.1 試料

検体を試料とする。

3.2.2.1.2 培地

マイコプラズマ用培地又は適当と認められた培地を用いる。

3.2.2.2 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 μ Lずつ分注する。最初の列（縦列）の8穴にそれぞれ試料を25 μ L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。1試験に2枚のプレートを用いる。プレートをシールし、33°Cで2週間培養する。

3.2.2.3 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つの希釈列と色調変化した穴が最初に全く認められなくなった希釈列の合計3希釈列のいずれかを用いて判定する。これら3希釈列の色調が変化した穴の数をを用いて最確数表（付記2）から最確数を求め、3希釈列の最初の希釈倍数から1を引いた倍数を乗じて22.5 μ L当たりの色調変化単位（以下この項において「CCU」という。）を算出し、更に、それに44.4を乗じて1 mL当たりのCCUを算出する。

検体の生菌数は、1 mL 当たり $10^{8.0}$ CCU以上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、その生菌数とする。

3.3 小分製品の試験

3.3.1 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、融解したものは、固有の色調を有する半透明で均質な懸濁液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。

3.3.2 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、適合しなければならない。

3.3.3 生菌数試験

試験品について3.2.2を準用して22.5 μ L当たりのCCUを算出し、更に1.33を乗じて1羽分当たりのCCUを算出する。

試験品の生菌数は、1羽分当たり $10^{6.4}$ CCU以上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、その生菌数とする。

3.3.4 マーカー試験

3.3.3を準用して試験するとき、33°C培養の生菌数は、39.5°C培養の生菌数より100倍以上多くななければならない。

3.3.5 安全性試験

3.3.5.1 試験材料

3.3.5.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

3.3.5.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格1.1に適合した発育鶏卵由来の3～4週齢の鶏を用いる。

3.2.5.2 試験方法

試験動物の10羽を試験群とし、5羽を対照群とする。

接種材料10羽分ずつを試験群10羽に点眼接種し、対照群と共に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。

試験開始時及び試験終了時に体重を測定する。

3.3.5.3 判定

観察期間中、試験群及び対照群の動物に臨床的な異常を認めてはならない。また、剖検したとき、異常を認めてはならない。

3.3.6 力価試験

3.3.6.1 試験材料

3.3.6.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

3.3.6.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料規格1.1に適合した発育鶏卵由来の3～4週齢の鶏を用いる。

3.3.6.1.3 凝集反応抗原

「マイコプラズマ・シノビエ感染症急速診断用菌液」を用いる。

3.3.6.2 試験方法

試験動物の10羽を試験群とし、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・シノビエ感染症急速凝集反応を行う。

3.3.6.3 判定

試験群の70%以上が凝集抗体陽性でなければならない。この場合において、対照群では、全て凝集抗体陰性でなければならない。

4 貯法及び有効期間

凍結して、 -70°C 以下で保管する。

有効期間は、製造後4年間とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、この限りでない。

付記1 マイコプラズマ用培地

1,000mL中

マイコプラズマ用基礎培地 (PPLO培地) *	22.5 g
ブドウ糖*	1 g
塩酸システイン*	0.1 g
酢酸タリウム*	0.1 g
0.6w/v%フェノールレッド液	5 mL
正常豚血清	100 mL
新鮮イーストエキス	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°C 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	10.3	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