

マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症生ワクチン（シード）

平成 21 年 7 月 1 日（告示第 861 号） 新規追加

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・ガリセプチカムの培養菌液を凍結乾燥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・ガリセプチカム G210 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

鶏赤血球を凝集し、マイコプラズマ・ガリセプチカムを予防する免疫原性を有する。

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°C 以下又は凍結乾燥して 5°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。

2.1.4 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°C 以下又は凍結乾燥して 5°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。

2.1.5 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は、ワクチンの製造ごとに用時調製する。

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

2.3.1 培養

プロダクションシード菌を培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。相当と認められた方法で濃縮してもよい。

培養菌液について 3.2 の試験を行う。

2.3.2 原液

培養菌液の菌数を必要に応じて濃度調整したものを原液とする。相当と認められた安定剤を加えてもよい。

原液について、3.3 の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液に相当と認められた安定剤を加えて最終バルクとする。

2.5 小分製品

最終バルクを小分容器に分注して凍結乾燥し、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 1.4.2.2.1.1 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。

3.2 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、適合しなければならない。

3.3 原液の試験

3.3.1 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。

3.3.2 生菌数試験

3.3.2.1 試験材料

3.3.2.1.1 試料

検体を希釈培地（付記 1）又は相当と認められる培地で 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.2.1.2 培地

希釈培地及び寒天培地（付記 2）又は相当と認められた培地を用いる。

3.3.2.2 試験方法

試料の 25 μ L を寒天培地 2 枚に接種し、又は混濁培養により 37 $^{\circ}$ C、5 vol %炭酸ガス下で 14 日間培養する。

3.3.2.3 判定

形成された集落数から生菌数を算出する。試料の生菌数は 1mL 当たり $10^{9.2}$ 個以上でなければならない。ただし特に承認されたものはその生菌数とする。

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乾燥物でなければならない。溶解したものは、固有の色調を有する液体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 真空度試験

一般試験法の真空度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 含湿度試験

一般試験法の含湿度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。

3.4.4 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。

3.4.5 生菌数試験

3.2.2 を準用して試験するとき、試験品の生菌数は、1羽当たり $10^{6.9}$ 個以上でなければならない。

ただし、特に承認されたものはその生菌数とする。

3.4.6 同定試験

本試験を規定していない製剤については、実施しなくてもよい。

3.4.6.1 試験材料

3.4.6.1.1 試料

試験品 1,000羽分を 30mL のリン酸緩衝食塩液又は溶解用液に溶解したものを試料とする。

3.4.6.1.2 マイコプラズマ・ガリセプチカム陽性血清

マイコプラズマ・ガリセプチカム陽性血清（付記3）を用いる。

3.4.6.2 試験方法

試料の 30 μ L とマイコプラズマ・ガリセプチカム陽性血清 30 μ L を反応用ガラス板上で混合し、ガラス板を前後左右に傾けながら反応を観察する。

3.4.6.3 判定

1分以内に凝集顆粒を認めなければならない。

3.4.7 マーカー試験

本試験を規定していない製剤については、実施しなくてもよい。

3.4.7.1 試験材料

3.4.7.1.1 接種材料

3.4.5 で用いた試料を用いる。

3.4.7.1.2 発育鶏卵

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の6日齢の発育鶏卵を用いる。

3.4.7.2 試験方法

試料 0.1mL ずつをそれぞれ 10 個の発育鶏卵の卵黄嚢内に注射し、37℃で 14 日間培養し、観察する。

3.4.7.3 判定

鶏胚に特異的病変を認めたものを感染とみなし、EID₅₀ を計算する。ただし、接種後 24 時間以内に死亡したものは除外する。3.4.5 の試験で求めた生菌数から 1 EID₅₀ 当たりの生菌数を算出するとき、生菌数は 10^5 個以上でなければならない。

3.4.8 安全試験

3.4.8.1 試験材料

3.4.8.1.1 接種材料

試験品をリン酸緩衝食塩液又は溶解用液で 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。

3.4.8.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 2～4 週齢の鶏を用いる。

3.4.8.2 試験方法

試験動物 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。

3.4.8.3 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。

3.4.9 力価試験

3.4.9.1 試験材料

3.4.9.1.1 接種材料

試験品をリン酸緩衝食塩液又は溶解用液で 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。

3.4.9.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の 2～4 週齢の鶏を用いる。

3.4.9.1.3 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 4）を用いる。

3.4.9.2 試験方法

試験動物 10 羽を試験群、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。

3.4.9.3 判定

3 分以内に試験群の 70 %以上が凝集抗体陽性でなければならない。この場合、対照群はすべてが凝集抗体陰性でなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は 3 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 希釈用培地

1,000 mL 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
リン酸二水素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 8.0 に調整した後、ろ過滅菌する。

付記 2 寒天培地

希釈用培地からフェノールレッドを除いたもの 90.0 mL に、バクトアガー 1.0 g を加え、121 °C で 15 分間高圧滅菌し、約 50 °C に冷却後、豚血清を 10mL 加えたもの

付記 3 マイコプラズマ・ガリセプチカム陽性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の鶏をマイコプラズマ・ガリセプチカム R 株又は適当と認められた株で免疫して得られた血清で、血清平板凝集反応抗体陽性を示すもの。1 分以内に凝集を示す力価を有するもの。

付記4 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 10^{10} 個/mL となるようにリン酸緩衝食塩液で調整した後、チメロサー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。