

鶏伝染性コリーザ（A・C型）・マイコプラズマ・ガリセ プチカム感染症混合（アジュバント・油性アジュバント 加）不活化ワクチン（シード）

平成 25 年 5 月 7 日（告示第 1495 号） 新規追加
平成 28 年 4 月 18 日（告示第 1020 号） 一部改正

1 定義

シードロット規格に適合したヘモフィルス・パラガリナルム A 型菌及び C 型菌の培養菌液をそれぞれ不活化し、アルミニウムゲルアジュバントを添加したものと並びに同規格に適合したマイコプラズマ・ガリセプチカムの培養菌液を不活化し、油性アジュバントを添加したものを混合したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 ヘモフィルス・パラガリナルム A 型菌

2.1.1.1 名称

ヘモフィルス・パラガリナルム A 型菌 No.221 株又はこれと同様と認められた株

2.1.1.2 性状

鶏及び発育鶏卵に対して病原性を示す。牛、馬、羊、鶏及びモルモットの赤血球を凝集する。

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、SPF 動物規格の 1.1 に適合した発育鶏卵で増殖させ、連続した工程により作製し、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最高継代数は、10 代以内でなければならない。

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、SPF 動物規格の 1.1 に適合した発育鶏卵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。

2.1.1.5 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、SPF 動物規格の 1.1 に適合した発育鶏卵で増殖する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°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は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.2 ヘモフィルス・パラガリナルム C 型菌

2.1.2.1 名称

ヘモフィルス・パラガリナルム C 型菌 G-1 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

鶏及び発育鶏卵に対して病原性を示す。

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、SPF 動物規格の 1.1 に適合した発育鶏卵で増殖させ、連続した工程により作製し、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最高継代数は、10 代以内でなければならない。

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、SPF 動物規格の 1.1 に適合した発育鶏卵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。

2.1.2.5 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、SPF 動物規格の 1.1 に適合した発育鶏卵で増殖する。

プロダクションシード菌を保存する場合は、凍結して -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°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は、3.1.3 の試験を行う。

2.1.3 マイコプラズマ・ガリセプチカム

2.1.3.1 名称

マイコプラズマ・ガリセプチカム SAS 株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

鶏に対して病原性を示す。

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、連続した工程により作製し、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最高継代数は、10 代以内でなければならない。

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 -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。

2.1.3.5 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、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 -70°C 以下又は凍結乾燥して 5°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は、3.1.3 の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 ヘモフィルス・パラガリナルムの各型菌

2.2.1.1 発育鶏卵

2.2.1.1.1 マスターシード菌、ワーキングシード菌及びプロダクションシード菌の増殖、継代及び保存に用いる発育鶏卵

SPF 動物規格の 1.1 に適合した 5～7 日齢のものを用いる。

マスターシード菌及びワーキングシード菌を増殖、継代及び保存する場合の発育鶏卵並びにプロダクションシード菌を増殖及び保存する場合の発育鶏卵について、3.2 の試験を行う。

2.2.1.2 培地

2.2.1.2.1 原液の製造に用いる培地

製造に相当と認められた培地を用いる。

2.2.2 マイコプラズマ・ガリセプチカム

2.2.2.1 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 ヘモフィルス・パラガリナルムの各型菌原液

2.3.1.1 培養

プロダクションシード菌を製造用培地で培養したものを更に製造用培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.3 の試験を行う。

2.3.1.2 不活化

培養菌液を相当と認められた界面活性剤で処理した後、遠心して得た菌をリン酸緩衝食塩液に浮遊させたものに、チメロサル又は相当と認められた不活化剤を添加し、不活化したものを不活化菌液とする。

不活化菌液について、3.4.1.1 及び 3.4.2.1 の試験を行う。

2.3.1.3 アジュバントの添加

不活化菌液を濃度調整し、相当と認められたアルミニウムゲルアジュバントを添加し、原液とする。ただし、最終バルクの調製時にアジュバントを添加してもよい。

原液について、3.5 の試験を行う。

2.3.2 マイコプラズマ・ガリセプチカム原液

2.3.2.1 培養

プロダクションシード菌を製造用培地で培養したものを更に製造用培地に接種し、培養したものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.3.1 の試験を行う。

2.3.2.2 不活化

培養菌液にホルマリンを加えて不活化した後、遠心し、相当と認められた希釈用液に浮遊したものを不活化菌液とする。

不活化菌液について、3.4.1.2 及び 3.4.2.2 の試験を行う。

2.3.2.3 アジュバントの添加

不活化菌液を濃度調整し、相当と認められた油性アジュバントを添加し、原液とする。ただし、最終バルクの調製時にアジュバントを添加してもよい。

原液について、3.5.1 の試験を行う。

2.4 最終バルク

ヘモフィルス・パラガリナルム A 型菌原液及びヘモフィルス・パラガリナルム C 型菌原液並びに

マイコプラズマ・ガリセプチカム原液を混合したものを最終バルクとする。この場合、適当と認められた保存剤を添加してもよい。

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、3.6 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。

3.1.2 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菌の試験

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 発育鶏卵の試験

3.2.1 孵卵性状試験

シードロット規格の 3.2.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3 培養菌液の試験

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 ヘモフィルス・パラガリナルム

3.4.2.1 の総菌数試験を実施するものについては、この試験を行わなくてもよい。

3.3.2.1.1 試験材料

3.3.2.1.1.1 試料

検体を普通ブイヨンで 10 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.3.2.1.1.2 培地

鶏血清加寒天培地（付記 1）を用いる。

3.3.2.1.2 試験方法

各試料 0.1mL ずつをそれぞれ 2 枚以上の試験用培地に接種して培地表面に拡散させ、37 °C、5 vol %炭酸ガス下で 48 時間培養した後、集落数を数える。

3.3.2.1.3 判定

各段階の希釈液ごとの集落数から生菌数を算出する。

検体の生菌数は、1 mL 中 10^8 個以上でなければならない。

3.4 不活化菌液の試験

3.4.1 不活化試験

3.4.1.1 ヘモフィルス・パラガリナルム

3.4.1.1.1 試験材料

3.4.1.1.1.1 接種材料

検体を接種材料とする。

3.4.1.1.1.2 培地

鶏血清加寒天培地又は適当と認められた培地を用いる。

3.4.1.1.2 試験方法

接種材料 0.1mL ずつを2枚以上の培地に接種して培地表面に拡散させ、37℃、5 vol %炭酸ガス下で48時間培養した後、集落の有無を観察する。

3.4.1.1.3 判定

接種材料を接種した全ての培地上に、ヘモフィルス・パラガリナルムA型菌又はヘモフィルス・パラガリナルムC型菌の集落を認めてはならない。

3.4.1.2 マイコプラズマ・ガリセプチカム

3.4.1.2.1 試験材料

3.4.1.2.1.1 接種材料

検体を試料とする。

3.4.1.2.1.2 培地

適当と認められた液体培地及び寒天平板培地を用いる。

3.4.1.2.2 試験方法

液体培地 100mL に試料 1 mL を接種し、37℃で14日間培養する。培養中に増殖の徴候が認められたときは、寒天平板培地に塗抹し、37℃で7日間培養し、マイコプラズマ・ガリセプチカムの発育の有無を調べる。

3.4.1.2.3 判定

増殖の徴候が認められないとき又は増殖の徴候があっても寒天培地でマイコプラズマ・ガリセプチカムの発育が認められないときは、この試験に適合とする。

3.4.2 総菌数試験

3.4.2.1 ヘモフィルス・パラガリナルム

3.3.2.1の生菌数試験を実施するものについては、この試験を行わなくてもよい。

3.4.2.1.1 試験材料

3.4.2.1.1.1 試料

検体又は検体をリン酸緩衝食塩液で至適濃度に希釈したものを試料とする。

3.4.2.1.2 試験方法

試料の吸光度を分光光度計で測定する。

3.4.2.1.3 判定

標準検量線、吸光度の測定値及び検体の希釈度から総菌数を算出する。

検体の総菌数は、1 mL 中 8×10^9 個以上でなければならない。

3.4.2.2 マイコプラズマ・ガリセプチカム

3.4.2.2.1 試験材料

3.4.2.2.1.1 試料

検体又は検体をリン酸緩衝食塩液で至適濃度に希釈したものを試料とする。

3.4.2.2.2 試験方法

試料の吸光度を分光光度計で測定する。

3.4.2.2.3 判定

標準検量線、吸光度の測定値及び検体の希釈度から総菌数を算出する。

検体の総菌数は、1 mL 中 5.6×10^9 個以上でなければならない。

3.5 原液の試験

3.5.1 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。

3.5.2 pH 測定試験

一般試験法の pH 測定試験法を準用して試験するとき、pH は、固有の値を示さなければならない。

い。

3.5.3 チメロサル定量試験

チメロサル添加製剤については、一般試験法のチメロサル定量法を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.5.4 アルミニウム定量試験

一般試験法のアルミニウム定量法を準用して試験するとき、アルミニウムの含有量は、1 mL 中 1.0mg 以下でなければならない。

3.6 小分製品の試験

3.6.1 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。

3.6.2 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。

3.6.3 ホルマリン定量試験

ホルマリン添加製剤については、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、0.25vol % 以下でなければならない。

3.6.4 安全試験

3.6.4.1 試験材料

3.6.4.1.1 注射材料

試験品を注射材料とする。

3.6.4.1.2 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 30 ~ 35 日齢の鶏を用いる。

3.6.4.2 試験方法

試験動物の 10 羽を試験群、3 羽を対照群とする。

注射材料 1 羽分ずつを試験群の脚部筋肉内に注射し、対照群と共に 4 週間観察し、試験最終日に注射部位を剖検する。

3.6.4.3 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、剖検したときに注射部位に著しい異常を認めてはならない。

3.6.5 力価試験

3.6.5.1 鶏伝染性コリーザ (A・C型) 力価試験

3.6.5.1.1 試験材料

3.6.5.1.1.1 試験動物

3.6.4 の試験に用いた動物を用いる。

3.6.5.1.1.2 赤血球凝集抗原

「鶏伝染性コリーザ (A型) 診断用赤血球凝集抗原」及び鶏伝染性コリーザ (C型) 赤血球凝集抗原 (付記 2) を用いる。

3.6.5.1.2 試験方法

3.6.4 の試験最終日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、鶏伝染性コリーザ (A型) 赤血球凝集抑制試験及び鶏伝染性コリーザ (C型) 赤血球凝集抑制試験を行う。

3.6.5.1.3 判定

赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数を赤血球凝集抑制抗体価 (以下この項において「HI 抗体価」という。) とする。HI 抗体価 5 倍以上を陽性とする。

それぞれの赤血球凝集抑制試験において、試験群の 70 % 以上が陽性でなければならない。この

場合、対照群では、全て陰性でなければならない。

3.6.5.2 マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症力価試験

3.6.5.2.1 試験材料

3.6.5.2.1.1 試験動物

3.6.4 の試験に用いた動物を用いる。

3.6.5.2.1.2 赤血球凝集抗原

マイコプラズマ・ガリセプチカム赤血球凝集抗原（付記3）を用いる。

3.6.5.2.2 試験方法

3.6.4 の試験最終日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・ガリセプチカム赤血球凝集抑制試験を行う。

血清をリン酸緩衝食塩液で2倍階段希釈し、各希釈血清 25 μ L に等量の4単位のマイコプラズマ・ガリセプチカム赤血球凝集抗原を加えて混合し、15～20分間処理した後、0.25vol %鶏赤血球浮遊液を50 μ L ずつ加えて振とう混合し、4℃で1夜静置した後、赤血球凝集の有無を観察する。

3.6.5.2.3 判定

赤血球の凝集が抑制された血清の最高希釈倍数をHI抗体価とする。

試験群の70%以上がHI抗体価4倍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は、その幾何平均値とする。この場合、対照群では、全てHI抗体価4倍未満でなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後1年6か月間とする。ただし、農林水産大臣が特に認めた場合は、その期間とする。

付記1 鶏血清加寒天培地

1,000mL 中

ペプトン

1 g

塩化ナトリウム

5 g

寒天

15 g

鶏肉水

残 量

pHを7.0～7.4に調整し、121℃で15分間高圧滅菌する。

約50℃に冷却した後、鶏の非働化血清を3～5 vol %となるように加える。

なお、適当と認められたV因子を加えてもよい。

付記2 鶏伝染性コリーザ（C型）赤血球凝集抗原

ヘモフィルス・パラガリナルムC型菌を適当な方法で処理し、1 vol %固定鶏赤血球を用いて反応を行うとき、赤血球凝集価が80倍以上のもの。

付記3 マイコプラズマ・ガリセプチカム赤血球凝集抗原

製造用株を培養し、ホルマリンを加えて不活化した菌液を遠心洗浄した後、再浮遊し、これにグリセリンを等量加え、-20℃以下に保存したもの。