

# マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症生ワクチン

平成 21 年 3 月 26 日（告示第 420 号） 新規追加

## 1 定義

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 6/85 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 継代及び保存

原株及び原種菌は製造に相当と認められた培地で継代する。

継代は原株では 3 代以内、原種菌では 2 代以内である。

原株及び原種菌は、凍結して  $-70^{\circ}\text{C}$  以下又は凍結乾燥して  $5^{\circ}\text{C}$  以下で保存する。

種菌は、原種菌から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

培養した種菌を製造用培地に接種し、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 3.1 の試験を行う。

#### 2.3.2 濃度調整

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、3.2 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、3.3 の試験を行う。

## 3 試験法

### 3.1 培養菌液の試験

#### 3.1.1 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

検体を希釈用培地（付記 1）又は適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。

#### 3.2.2.1.2 培地

寒天培地（付記 2）又は適当と認められた培地を用いる。

#### 3.2.2.2 試験方法

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

#### 3.2.2.3 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。

### 3.3 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、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。

#### 3.3.2 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。

#### 3.3.3 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。

#### 3.3.4 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。

#### 3.3.5 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。

#### 3.3.6 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。

##### 3.3.6.1 試験材料

###### 3.3.6.1.1 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。

###### 3.3.6.1.2 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。

###### 3.3.6.2 試験方法

試料の 30  $\mu$  L とマイコプラズマ・ガリセプチカム陽性血清 30  $\mu$  L を反应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。

###### 3.3.6.3 判定

1 分以内に凝集を認めなければならない。

#### 3.3.7 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。

##### 3.3.7.1 試験材料

###### 3.3.7.1.1 接種材料

3.3.5 で用いた試料を用いる。

###### 3.3.7.1.2 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。

###### 3.3.7.2 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囊内に注射し、37 °C で 14 日間培養し、観察する。

#### 3.3.7.3 判定

鶏胚に特異的病変を認めたものを感染とみなし、EID<sub>50</sub> 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。3.3.5 の試験で求めた生菌数から 1 EID<sub>50</sub> 当たりの生菌数を算出するとき、生菌数は 10<sup>5</sup> 個以上でなければならない。

#### 3.3.8 安全試験

##### 3.3.8.1 試験材料

###### 3.3.8.1.1 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。

###### 3.3.8.1.2 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。

###### 3.3.8.2 試験方法

試験動物 10 羽を試験群とし、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、気管及び気囊の病変の有無を観察する。

###### 3.3.8.3 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、剖検したとき、異常を認めてはならない。

#### 3.3.9 力価試験

##### 3.3.9.1 試験材料

###### 3.3.9.1.1 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。

###### 3.3.9.1.2 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。

##### 3.2.6.1.3 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。

###### 3.3.9.2 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。

###### 3.3.9.3 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

1,000 mL 中	
希釈用培地からフェノールレッドを除いたもの	90.0 mL
バクトアガー	1.0 g
水	残量

高压滅菌後冷却し、豚血清を 10mL 加える。

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。

