

マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症凍結生ワクチン

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 ts-11 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。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 継代及び保存

原株及び種菌は製造に相当と認められた培地を用い、33℃又は相当と認められた温度で継代する。

原株の継代は、原種菌の製造又は原株の恒久的な維持以外の目的で行ってはならない。

原種菌は、直接原株から連続した工程により製造し、その継代数は 3 代以内でなければならない。

種菌の継代数は原株から 10 代以内でなければならない。

原株及び種菌は、凍結して -70℃以下又は凍結乾燥して 5℃以下に保存する。

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

培養した種菌を製造用培地に接種し、培養したものを原液とする。

原液について、3.1 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、3.2 の試験を行う。

3 試験法

3.1 原液の試験

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。

3.1.2 生菌数試験

3.1.2.1 試験材料

3.1.2.1.1 試料

原液を試料とする。

3.1.2.1.2 培地

マイコプラズマ用培地を用いる。

3.1.2.2 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 μ L ずつ分注する。最初の列（縦列）の 8 穴

にそれぞれ検体を 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 $^{\circ}$ C で 2 週間培養する。

3.1.2.3 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 μ L 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 40 を乗じて 1 mL 当たり CCU を算出する。

検体の生菌数は、1mL 当たり 10^9 CCU 以上でなければならない。

3.2 小分製品の試験

3.2.1 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均質な懸濁液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。

3.2.2 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。

3.2.3 生菌数試験

試験品について 3.1.2 を準用して試験するとき、1 羽分当たり 5×10^7 ($10^{7.7}$) CCU 以上でなければならない。ただし、25 μ L 当たりの CCU を算出し、さらに、それに 1.2 を乗じて 1 羽当たりの CCU を算出する。

3.2.4 マーカー試験

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

3.2.5 安全試験

3.2.5.1 試験材料

3.2.5.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

3.2.5.1.2 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。

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、気管及び気嚢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。

3.2.5.3 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。

3.2.6 力価試験

3.2.6.1 試験材料

3.2.6.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

3.2.6.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料規格 1.1 由来の 3 ～ 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・ガリセプチカム感染症急速診断用菌液」を用いる。

3.2.6.2 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、マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症急速凝集試験を行う。

3.2.6.3 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、対照群ではすべ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

－70℃以下に保管する。

有効期間は、製造後3年間とする。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。

5 その他

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
豚血清	100 mL
新鮮イーストエキス	10 mL
0.2w/v%DNA 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分間高压滅菌する。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