

鶏コクシジウム感染症（アセルブリナ・テネラ・マキシマ・ミチス）混合生ワクチン

平成26年11月6日（告示第1554号）新規追加

平成29年1月19日（告示第89号）一部改正

平成30年4月27日（告示第968号）一部改正

1 定義

弱毒アイメリア・アセルブリナ、弱毒アイメリア・テネラ、弱毒アイメリア・マキシマ及び弱毒アイメリア・ミチスをそれぞれ鶏腸管内で増殖させて得たオーシストを混合したワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 アイメリア・アセルブリナ株

2.1.1.1 名称

アイメリア・アセルブリナHP株又はこれと同等と認められた株

2.1.1.2 性状

主要な増殖部位は、鶏の十二指腸及び空腸の粘膜上皮細胞である。

SPF鶏に経口投与したとき、臨床症状を発現せず、発育に悪影響を与えない。

2.1.1.3 継代及び保存

原株、原種コクシジウム及び種コクシジウムは、生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の約5週齢の鶏で継代する。

原株の継代は、原種コクシジウム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。

原種コクシジウムは、原株から製造し、その継代数は5代以内でなければならない。種コクシジウムは、原種コクシジウムから3代以内に製造しなければならない。

原株は凍結して -100°C 以下で、原種コクシジウム及び種コクシジウムは $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ で保存する。

2.1.2 アイメリア・テネラ株

2.1.2.1 名称

アイメリア・テネラHP株又はこれと同等と認められた株

2.1.2.2 性状

主要な増殖部位は、鶏の盲腸粘膜上皮及び固有層の細胞である。

SPF鶏に経口投与したとき、臨床症状を発現せず、発育に悪影響を与えない。

2.1.2.3 継代及び保存

原株、原種コクシジウム及び種コクシジウムは、生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の約5週齢の鶏で継代する。

原株の継代は、原種コクシジウム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。

原種コクシジウムは、原株から製造し、その継代数は5代以内でなければならない。種コクシジウムは、原種コクシジウムから3代以内に製造しなければならない。

原株は凍結して -100°C 以下で、原種コクシジウム及び種コクシジウムは $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ で保存する。

2.1.3 アイメリア・マキシマ株

2.1.3.1 名称

アイメリア・マキシマCP株及びMFP株又はこれらと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

主要な増殖部位は、鶏の空腸及び回腸の粘膜上皮細胞である。

SPF鶏に経口投与したとき、臨床症状を発現せず、発育に悪影響を与えない。

2.1.3.3 継代及び保存

原株、原種コクシジウム及び種コクシジウムは、生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の約5週齢の鶏で継代する。

原株の継代は、原種コクシジウム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。

原種コクシジウムは、原株から製造し、その継代数は5代以内でなければならない。種コクシジウムは、原種コクシジウムから3代以内に製造しなければならない。

原株は凍結して -100°C 以下で、原種コクシジウム及び種コクシジウムは $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ で保存する。

2.1.4 アイメリア・ミチス株

2.1.4.1 名称

アイメリア・ミチスHP株又はこれと同等と認められた株

2.1.4.2 性状

主要な増殖部位は、鶏の十二指腸及び空腸の粘膜上皮細胞である。

SPF鶏に経口投与したとき、臨床症状を発現せず、発育に悪影響を与えない。

2.1.4.3 継代及び保存

原株、原種コクシジウム及び種コクシジウムは、生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の約5週齢の鶏で継代する。

原株の継代は、原種コクシジウム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。

原種コクシジウムは、原株から製造し、その継代数は5代以内でなければならない。種コクシジウムは、原種コクシジウムから3代以内に製造しなければならない。

原株は凍結して -100°C 以下で、原種コクシジウム及び種コクシジウムは $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 鶏

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の約5週齢の鶏を用いる。

2.3 原液

2.3.1 オーシストの増殖

2.3.1.1 アイメリア・アセルブリナ株

種コクシジウムを鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便に水を加えて均一化し、ろ過した後、遠心して得た沈渣を飽和食塩液に混合し、遠心して上清を採取する。これを洗浄してオーシストを収集した後、 $1\text{ w/v}\%$ ニクロム酸カリウム溶液（付記1）に浮遊させ、アイメリア・アセルブリナ株オーシスト浮遊液とする。

アイメリア・アセルブリナ株オーシスト浮遊液について、3.1.1の試験を行う。

2.3.1.2 アイメリア・テネラ株

種コクシジウムを鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便に水を加えて均一化し、ろ過した後、遠心して得た沈渣を飽和食塩液に混合し、遠心して上清を採取する。これを洗浄してオーシストを収集した後、 $1\text{ w/v}\%$ ニクロム酸カリウム溶液に浮遊させ、アイメリア・テネラ株オーシスト浮遊液とする。

アイメリア・テネラ株オーシスト浮遊液について、3.1.1の試験を行う。

2.3.1.3 アイメリア・マキシマ株

種コクシジウムを鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便に水を加えて均一化し、ろ過した後、遠心して得た沈渣を飽和食塩液に混合し、遠心して上清を採取する。これを洗浄してオーシストを収集した後、 $1\text{ w/v}\%$ ニクロム酸カリウム溶液に浮遊させ、アイメリア・マキシマ各株オーシスト浮遊液とする。

アイメリア・マキシマ各株オーシスト浮遊液について、3.1.1の試験を行う。

2.3.1.4 アイメリア・ミチス株

種コクシジウムを鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便に水を加えて均一化し、ろ過した後、遠心して得た沈渣を飽和食塩液に混合し、遠心して上清を採取する。これを洗浄してオーシストを収集した後、1 w/v%ニクロム酸カリウム溶液に浮遊させ、アイメリア・ミチス株オーシスト浮遊液とする。

アイメリア・ミチス株オーシスト浮遊液について、3.1.1の試験を行う。

2.3.2 孢子形成

各株のオーシスト浮遊液を、それぞれ25～30℃で2～3日間通気して孢子を形成させ、各株の孢子形成オーシスト液とする。

各株の孢子形成オーシスト液について、3.2の試験を行う。

2.3.3 除菌

各株の孢子形成オーシスト液に含まれる孢子形成オーシストを適当と認められた方法により除菌及び洗浄し、滅菌リン酸緩衝食塩液に再浮遊させたものを、各株の原液とする。

各株の原液について、3.3の試験を行う。

2.4 最終バルク

各株の原液を濃度調整し、混合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、密栓して小分製品とする。

小分製品について、3.4の試験を行う。

3 試験法

3.1 オーシスト浮遊液の試験

3.1.1 オーシスト含有量試験

3.1.1.1 試験材料

検体を試料とする。

3.1.1.2 試験方法

試料に含まれるオーシスト数を顕微鏡下で計数し、製造に用いたSPF鶏1羽当たりの排泄オーシスト数を算出する。

3.1.1.3 判定

次の株又はこれらと同等と認められた株の製造に用いたSPF鶏1羽当たりの排泄オーシスト数は、以下の範囲内でなければならない。

アイメリア・アセルブリナHP株	$6 \times 10^6 \sim 6 \times 10^8$ 個
アイメリア・テネラHP株	$2 \times 10^6 \sim 2 \times 10^8$ 個
アイメリア・マキシマCP株	$7 \times 10^5 \sim 7 \times 10^7$ 個
アイメリア・マキシマMFP株	$4 \times 10^5 \sim 4 \times 10^7$ 個
アイメリア・ミチスHP株	$3 \times 10^6 \sim 3 \times 10^8$ 個

3.2 孢子形成オーシスト液の試験

3.2.1 孢子形成オーシスト率試験

3.2.1.1 試験材料

検体を試料とする。

3.2.1.2 試験方法

試料に含まれるオーシスト数及び孢子形成オーシスト数を顕微鏡下で計数し、次式により孢子形成オーシスト率を算出する。

$$\text{孢子形成オーシスト率 (\%)} = (\text{孢子形成オーシスト数}) / (\text{オーシスト数}) \times 100$$

3.2.1.3 判定

検体中に含まれる次の株又はこれらと同等と認められた株の孢子形成オーシスト率は、以下の値でなければならない。

アイメリア・アセルブリナHP株	60%以上
アイメリア・テネラHP株	65%以上
アイメリア・マキシマCP株	55%以上
アイメリア・マキシマMFP株	50%以上
アイメリア・ミチスHP株	65%以上

3.3 原液の試験

3.3.1 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。

3.3.2 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定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 迷入ウイルス否定試験

試験品を必要に応じて適当と認められた方法で処理したものを試料とする。

一般試験法の迷入ウイルス否定試験法2.1及び2.2.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、これらの試験を3.4.6において実施する製剤については、本試験を実施しなくてもよい。

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、固有の色調で少量の沈殿を認めるが、振とうすると固有の色調の液体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。

3.4.2 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。

3.4.3 無菌試験

一般試験法の無菌試験法により試験するとき、これに適合しなければならない。

3.4.4 マイコプラズマ否定試験

一般試験法のマイコプラズマ否定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 オーシスト含有量試験

3.4.5.1 試験材料

試験品を水で希釈したものを試料とする。

3.4.5.2 試験方法

試料に含まれる孢子形成オーシスト数を顕微鏡下で計数する。

3.4.5.3 判定

試験品 1 mLあたりに含まれる孢子形成オーシスト数の総数は 4.6×10^5 個以上、そのうち大きさ $30 \mu\text{m}$ 以上の孢子形成オーシスト数は 4.0×10^4 個以上でなければならない。

3.4.6 迷入ウイルス否定試験

試験品を適当と認められた方法で処理したものを試料とする。

一般試験法の迷入ウイルス否定試験法2.1、2.2.1及び2.2.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。ただし、3.3.3を実施する製剤については、一般試験法の迷入ウイルス否定試験法2.1及び2.2.2を準用して実施する試験を実施しなくてもよい。

3.4.7 安全試験

3.4.7.1 試験材料

3.4.7.1.1 接種材料

試験品を接種材料とする。

3.4.7.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の0～1日齢の鶏を用いる。

3.4.7.2 試験方法

試験動物の15羽ずつを試験群及び対照群とする。

試験群には接種材料150羽分を75gの実験動物用幼雛用飼料に混合して経口投与し、対照群には75gの実験動物用幼雛用飼料のみを投与する。試験開始翌日からは両群とも不断給餌し、共に3週間観察する。試験開始時及び試験終了時に体重を測定し、下式により個体別に増体率を算出した後、群ごとの平均増体率を算出する。

なお、試験動物は、試験開始の前夜から約半日間断餌した後使用する。

(試験終了時の体重) - (試験開始時の体重)

$$\text{増体率 (\%)} = \frac{\text{(試験終了時の体重)} - \text{(試験開始時の体重)}}{\text{(試験開始時の体重)}} \times 100$$

3.4.7.3 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ず、試験群の個体の平均増体率は、対照群の個体の平均増体率の80%以上でなければならない。

3.4.8 力価試験

3.4.8.1 試験材料

3.4.8.1.1 接種材料

試験品を水で0.1mL中1羽分となるように調整したものを接種材料とする。

3.4.8.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の0～1日齢の鶏を用いる。

3.4.8.2 試験方法

試験動物の15羽を試験群、5羽を対照群とする。

接種材料0.1mLずつを試験群に経口投与する。投与後96～168時間に排泄される糞便を24時間ごとに全量回収し、排泄オーシスト数を計数する。

3.4.8.3 判定

投与後96～120、120～144及び144～168時間に排泄される総オーシスト数は、それぞれ1羽当たり 5×10^5 、 6×10^5 及び 6×10^5 個以上でなければならない。この場合、対照群ではオーシストの排泄を認めてはならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、製造後11か月間とする。

付記1 1 w/v%ニクロム酸カリウム溶液

ニクロム酸カリウム1gに水を加えて100mLとしたもの。