

鶏コクシジウム感染症（ネカトリックス）生ワクチン

平成22年7月12日（告示第1038号）新規追加

平成26年11月6日（告示第1554号）一部改正

平成29年1月19日（告示第 89号）一部改正

1 定義

弱毒アイメリア・ネカトリックスを鶏腸管内で増殖させて得たオーシストを調製した生ワクチンである。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

アイメリア・ネカトリックスNn-P125 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

主要な増殖部位は、鶏の小腸及び盲腸である。

平飼いの条件においてオーシストを飼料中に混合して若齢鶏に投与したとき、臨床症状を発現せず、発育に悪影響を与えない。

2.1.3 継代及び保存

原株、原種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1～8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、直接原株からの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。種コクシジウムは、原種コクシジウムから5代以内に製造しなければならない。

原株は凍結して-70℃以下で、種コクシジウムは5℃以下で保存する。

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1～8週齢の鶏を用いる。

2.3 原液

2.3.1 種コクシジウム及び原液の調製

原株を解凍した後、リン酸緩衝食塩液で増量して鶏に経口投与し、一定期間糞便を採取する。糞便からオーシストを収集し、孢子形成させた後、洗浄及び数量調整を行い、鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便からオーシストを収集して種コクシジウムとし、鶏に経口投与して一定期間糞便を採取する。糞便を洗剤液で増量してろ過した後、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、2 w/v%重クロム酸カリウム溶液に混合し加温して孢子形成させ、孢子形成オーシスト液とする。こ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、さらに精製した後、ソルビン酸加エタノールを添加した滅菌アルセバーを加えオーシスト数を調整し、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

原液に滅菌アルセバー及びソルビン酸加エタノールを加えてよく混合し、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、3.2の試験を行う。

3 試験法

3.1 原液の試験

3.1.1 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。

3.1.2 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。

3.1.3 オーシスト含有量試験

3.1.3.1 試験材料

検体又は検体を水で希釈したものを試料とする。

3.1.3.2 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。

3.1.3.3 判定

検体 1 mL中に $2.5 \times 10^4 \sim 2.5 \times 10^5$ 個の孢子形成オーシストが含まれていなければならない。

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ず、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。

3.2.2 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。

3.2.3 サルモネラ否定試験

一般試験法のサルモネラ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。

3.2.4 生菌数限度試験

一般試験法の生菌数限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。

3.2.5 オーシスト含有量試験

3.1.3を準用して試験するとき、試験品 1 mL中に $2.5 \times 10^3 \sim 2.5 \times 10^4$ 個の孢子形成オーシストが含まれていなければならない。

3.2.6 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。

3.2.7 安全試験

3.2.7.1 試験材料

3.2.7.1.1 投与材料

試験品を投与材料とする。

3.2.7.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の6日齢鶏を用いる。

3.2.7.2 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。

試験群には投与材料150羽分を75gの実験動物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与える。試験開始翌日からは両群とも不断給餌し、共に4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、群ごとに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。

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

3.2.7.3 判定

試験期間中、試験群及び対照群に臨床的異常を認めてはならず、試験群の平均増体率は、対照群のその80%以上でなければならない。

3.2.8 力価試験

3.2.8.1 試験材料

3.2.8.1.1 投与材料

試験品を投与材料とする。

3.2.8.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の6日齢鶏を用いる。

3.2.8.1.3 攻撃オーシスト

強毒アイメリア・ネカトリックス株を用いる。

攻撃オーシスト量は、1羽当たり 5×10^4 個とする。

3.2.8.2 試験方法

試験動物の10羽を試験群、20羽を対照群とする。

試験群には投与材料の10羽分を50gの実験動物幼雛用飼料に混合して経口投与し、対照群には100gの実験動物用幼雛用飼料のみを与える。試験開始翌日からは両群とも不断給餌し、4週間後に両群の10羽ずつに攻撃オーシストを経口投与して攻撃する。対照群の残り10羽は非攻撃対照群とする。攻撃後臨床観察を行い、試験群と攻撃対照群の死亡数を算出する。また、攻撃日及び攻撃後8日目に試験動物の体重を測定し、下式により個体別に増体率を算出した後、各群ごとに平均増体率を算出する。

$$\text{増体率 (\%)} = \frac{(\text{試験終了時の体重}) - (\text{攻撃日の体重})}{(\text{攻撃日の体重})} \times 100$$

3.2.8.3 判定

Fisherの直接確率計算法により有意水準5%で試験群の死亡数が攻撃対照群のそれより有意に少ない場合には、適合とする。

両群間の死亡数に有意差が認められない場合には、平均増体率により評価する。

試験群の平均増体率は、攻撃対照群のそれを上回らなければならない。この場合、攻撃対照群における平均増体率は非攻撃対照群のそれよりも有意に低くなければならない（t検定、有意水準5%）。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、9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。