

動物用生物学的製剤基準の一部を改正する件 新旧対照表

○動物用生物学的製剤基準（平成14年10月3日農林水産省告示第1567号）（抄）

改正後	改正前
<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p><u>鶏コクシジウム感染症（アセルブリナ・テネラ・マキシマ）混合生ワクチン（シード）</u></p> <p>1 定義 <u>シードロット規格に適合した弱毒アイメリア・アセルブリナ、弱毒アイメリア・テネラ及び弱毒アイメリア・マキシマ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。</u></p> <p>2 製法</p> <p>2.1 製造用株</p> <p>2.1.1 アイメリア・アセルブリナ株</p> <p>2.1.1.1 名称 <u>アイメリア・アセルブリナNa-P75株又はこれと同等と認められた株</u></p> <p>2.1.1.2 性状 <u>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。平飼い条件においてオーシストを飼料中に混合して5日齢の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。</u></p> <p>2.1.1.3 マスターシードコクシジウム</p> <p>2.1.1.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数 <u>マスターシードコクシジウムは、シードロット規格の4に適合した鶏で増殖させ、連続した工程により作製し、保存用の容器に分注する。</u> <u>分注したマスターシードコクシジウムは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-100°C以下で保存する。</u> <u>マスターシードコクシジウムについて、3.1.1の試験を行う。</u> <u>マスターシードコクシジウムは、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシードコクシジウム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。</u></p> <p>2.1.1.4 ワーキングシードコクシジウム</p> <p>2.1.1.4.1 増殖、継代及び保存 <u>ワーキングシードコクシジウムは、シードロット規格の4に適合した鶏で増殖及び継代する。</u></p>	<p>ワクチン（シードロット製剤）の部</p> <p>(新設)</p>

ワーキングシードコクシジウムは、2～6℃又は凍結して-100℃以下で保存する。

ワーキングシードコクシジウムについて、3.1.2の試験を行う。

2.1.1.5 プロダクションシードコクシジウム

2.1.1.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードコクシジウムは、シードロット規格の4に適合した鶏で増殖する。

プロダクションシードコクシジウムを保存する場合は、2～6℃又は凍結して-100℃以下で保存する。

プロダクションシードコクシジウムを保存する場合について、3.1.3の試験を行う。

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Nt-P110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。平飼い条件においてオーストを飼料中に混合して5日齢の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 マスターシードコクシジウム

2.1.2.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードコクシジウムは、シードロット規格の4に適合した鶏で増殖させ、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コクシジウムは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-100℃以下で保存する。

マスターシードコクシジウムについて、3.1.1の試験を行う。

マスターシードコクシジウムは、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシードコクシジウム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 ワーキングシードコクシジウム

2.1.2.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードコクシジウムは、シードロット規格の4に適合した鶏で増殖及び継代する。

ワーキングシードコクシジウムは、2～6℃又は凍結して-100℃以下で保存する。

ワーキングシードコクシジウムについて、3.1.2の試験を行う。

2.1.2.5 プロダクションシードコクシジウム

2.1.2.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードコクシジウムは、シードロット規格の4に適合した鶏で増殖する。

プロダクションシードコクシジウムを保存する場合は、2～6℃又は凍結して

-100°C以下で保存する。

プロダクションシードコクシジウムを保存する場合について、3.1.3の試験を行う。

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Nm-P102 株又はこれと同等と認められた株

2.1.3.2 性状

主要な増殖部位は、鶏の十二指腸、空腸及び回腸の粘膜上皮細胞である。平飼い条件においてオーシストを飼料中に混合して5日齢の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 マスターシードコクシジウム

2.1.3.3.1 作製、保存及び小分製品までの最高継代数

マスターシードコクシジウムは、シードロット規格の4に適合した鶏で増殖させ、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コクシジウムは、特定の製造番号又は製造記号を付し、凍結して-100°C以下で保存する。

マスターシードコクシジウムについて、3.1.1の試験を行う。

マスターシードコクシジウムは、ワクチンの製造以外の目的で継代しない。マスターシードコクシジウム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 ワーキングシードコクシジウム

2.1.3.4.1 増殖、継代及び保存

ワーキングシードコクシジウムは、シードロット規格の4に適合した鶏で増殖及び継代する。

ワーキングシードコクシジウムは、2～6°C又は凍結して-100°C以下で保存する。

ワーキングシードコクシジウムについて、3.1.2の試験を行う。

2.1.3.5 プロダクションシードコクシジウム

2.1.3.5.1 増殖及び保存

プロダクションシードコクシジウムは、シードロット規格の4に適合した鶏で増殖する。

プロダクションシードコクシジウムを保存する場合は、2～6°C又は凍結して-100°C以下で保存する。

プロダクションシードコクシジウムを保存する場合について、3.1.3の試験を行う。

2.2 製造用材料

2.2.1 鶏

シードロット規格の4に適合した鶏を用いる。

マスターシードコクシジウム及びワーキングシードコクシジウムを増殖、継代及び保存する場合の鶏並びにプロダクションシードコクシジウムを増殖及び保

存する場合の鶏について、3.2の試験を行う。

2.3 原液

2.3.1 アイメリア・アセルブリナ株原液

2.3.1.1 製造用コクシジウム及び原液の調製

プロダクションシードコクシジウムを鶏に経口投与し、一定期間糞便を採取する。糞便を洗剤液で增量してろ過した後、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（付記1）に混合し加温して胞子形成させ、胞子形成オーシスト液とする。この胞子形成オーシスト液に含まれる胞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（付記2）を添加したリン酸緩衝食塩液に混合し、オーシスト数を調整してアイメリア・アセルブリナ株原液とする。

アイメリア・アセルブリナ株原液について、3.3の試験を行う。

2.3.2 アイメリア・テネラ株原液

2.3.2.1 製造用コクシジウム及び原液の調製

プロダクションシードコクシジウムを鶏に経口投与し、一定期間糞便を採取する。糞便を洗剤液で增量してろ過した後、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胞子形成させ、胞子形成オーシスト液とする。この胞子形成オーシスト液に含まれる胞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リン酸緩衝食塩液に混合し、オーシスト数を調整してアイメリア・テネラ株原液とする。

アイメリア・テネラ株原液について、3.3の試験を行う。

2.3.3 アイメリア・マキシマ株原液

2.3.3.1 製造用コクシジウム及び原液の調製

プロダクションシードコクシジウムを鶏に経口投与し、一定期間糞便を採取する。糞便を洗剤液で增量してろ過した後、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胞子形成させ、胞子形成オーシスト液とする。この胞子形成オーシスト液に含まれる胞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リン酸緩衝食塩液に混合し、オーシスト数を調整してアイメリア・マキシマ株原液とする。

アイメリア・マキシマ株原液について、3.3の試験を行う。

2.4 最終バルク

各株の原液を混合し、リン酸緩衝食塩液及びソルビン酸加エタノールを加えて各オーシスト数を調整し、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、3.4の試験を行う。

3 試験法

3.1 製造用株の試験

3.1.1 マスターシードコクシジウム

3.1.1.1 同定試験

適当な形態学的性状試験法、PCR検査法、酵素電気泳動法その他の承認された試験法によってそのコクシジウム同定のための試験を実施するとき、適合しなければならない。

3.1.1.2 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

3.1.1.3 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をするとき、適合しなければならない。

3.1.1.4 外来性ウイルス否定試験

3.1.1.4.1 共通ウイルス否定試験

一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.3、2.1及び2.2を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.4.2 特定ウイルス否定試験

3.1.1.4.2.1 特定ウイルス否定一般試験

鶏脳脊髄炎ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.3及び3.1.2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、鶏脳脊髄炎ウイルスについて3.1.1.4.2.2に規定する試験を実施する製剤については、本試験を実施しなくてもよい。

3.1.1.4.2.2 個別ウイルス否定試験

鶏白血病ウイルス、細網内皮症ウイルス及び鶏脳脊髄炎ウイルスについて、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の1.3、3.2.1、3.2.2及び3.2.10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、鶏脳脊髄炎ウイルスについて3.1.1.4.2.1に規定する試験を実施する製剤については、一般試験法の外来性ウイルス否定試験法の3.2.10の試験を実施しなくてもよい。

3.1.1.5 対象動物を用いた免疫原性試験

一般試験法の対象動物を用いた免疫原性試験法によって試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.6 対象動物を用いた安全性確認試験

一般試験法の対象動物を用いた安全性確認試験法によって試験するとき、適合しなければならない。

3.1.1.7 病原性復帰確認試験

一般試験法の病原性復帰確認試験法によって試験するとき、適合しなければならない。

3.1.2 ワーキングシードコクシジウム

3.1.2.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

3.1.2.2 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をするとき、適合しなければならない。

3.1.3 プロダクションシードコクシジウム

貯蔵するものについて次の試験を行う。

3.1.3.1 無菌試験

一般試験法の無菌試験法を準用して試験をするとき、適合しなければならない。

3.1.3.2 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をするとき、適合しなければならない。

3.2 鶏の試験

3.2.1 発育試験

対照鶏を、ワクチンシードを接種することなく、ワクチンシードの作製時と同じ条件で飼育し、観察するとき、異常を認めてはならない。

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をするとき、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をするとき、適合しなければならない。

3.3.3 オーシスト含有量試験

3.3.3.1 試験材料

検体又は検体を水で希釀したものを試料とする。

3.3.3.2 試験方法

試料に含まれる胞子形成オーシスト数を顕微鏡下でオーシストの鑑別点（付記3）に準じて計数する。

3.3.3.3 判定

検体1mL中に次の数の胞子形成オーシストが含まれていなければならない。

アイメリア・アセルブリナ株 $1.5 \times 10^6 \sim 1.5 \times 10^7$ 個

アイメリア・テネラ株 $6 \times 10^5 \sim 6 \times 10^6$ 個

アイメリア・マキシマ株 $3 \times 10^5 \sim 3 \times 10^6$ 個

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。

3.4.2 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 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。

3.4.4 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。

3.4.5 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。

3.4.6 オーシスト含有量試験

3.3.3を準用して試験するとき、試験品1mL中に胞子形成オーシストは総数で $8 \times 10^4 \sim 8 \times 10^5$ 個、そのうち長径 $25\mu\text{m}$ 以上の胞子形成オーシストは $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ 個含まれていなければならない。

3.4.7 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。

3.4.8 安全試験

3.4.8.1 試験材料

3.4.8.1.1 投与材料

試験品を投与材料とする。

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5日齢の鶏を用いる。

3.4.8.2 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の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。

(試験終了時の体重) - (試験開始時の体重)

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

3.4.8.3 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、対照群のそれの80%以上でなければならない。

3.4.9 力価試験

3.4.9.1 試験材料

3.4.9.1.1 投与材料

試験品を投与材料とする。

3.4.9.1.2 試験動物

生ワクチン製造用材料の規格1.1由来の5日齢の鶏を用いる。

3.4.9.1.3 攻撃オーシスト

強毒のアイメリア・アセルブリナ株、アイメリア・テネラ株及びアイメリア・マキシマ株を用いる。

攻撃オーシスト量は、それぞれ1羽当たり $4 \times 10^5/0.3\text{mL}$ 、 $1 \times 10^5/0.3\text{mL}$ 及び $4 \times 10^5/0.3\text{mL}$ とする。

3.4.9.2 試験方法

試験動物の30羽を試験群、40羽を対照群とする。

試験群には投与材料の30羽分を150g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200gの実験動物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、3週間後に両群の10羽ずつにそれぞれの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各攻撃株に対する死亡数を算出する。また、攻撃日及びアイメリア・アセルブリナ株攻撃群では攻撃後6日目、アイメリア・テネラ株及びアイメリア・マキシマ株攻撃群では攻撃後7日目に体重を測定する。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。

(試験終了日の体重) - (攻撃日の体重)

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

3.4.9.3 判定

各攻撃株について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。

各攻撃株について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、各攻撃株の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、製造後1年5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	<u>2 w/v%重クロム酸カリウム溶液</u> <u>重クロム酸カリウム2gに水を加えて100mLとしたもの。</u>
付記 2	<u>ソルビン酸加エタノール</u> <u>100mL中</u> ソルビン酸 10.0 g エタノール 残量
付記 3	<u>オーシストの鑑別点</u> <u>アイメリア・アセルブリナ株オーシスト：長径14.6～21.9 μm、短径12.2～17.1 μm、無色、オーシスト壁は薄く、卵形から橢円形を示す。</u> <u>アイメリア・テネラ株オーシスト：長径19.5～24.4 μm、短径12.2～17.1 μm、無色、オーシスト壁は比較的厚く卵円形から卵形を示す。</u> <u>アイメリア・マキシマ株オーシスト：長径24.4～34.2 μm、短径19.5～29.3 μm、やや茶褐色味を呈し、オーシスト壁は厚く、卵円形～卵形を示す。</u>
	鶏コクシジウム感染症（アセルブリナ・テネラ・マキシマ2価・ミチス）混合生ワクチン（シード）
(略)	(略)

鶏コクシジウム感染症（アセルブリナ・テネラ・マキシマ2価・ミチス）混合生ワクチン（シード）