

カンピロバクター病診断用菌液

1 定義

カンピロバクター・フィタスの死菌液で調製した腔粘液凝集反応用抗原である。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

カンピロバクター・フィタスのベネレアル型 UM 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

カタラーゼ陽性で、フィタス型との共通抗原を有する。

2.1.3 継代及び保存

原株及び種菌は、チオール培地（付記 1）及び牛血液加寒天培地又は適当と認められた培地で継代する。

継代は、両培地又は適当と認められた培地による培養を 1 代とみなし、原株では 3 代以内、種菌では 2 代以内でなければならない。

原株及び種菌は、凍結乾燥して 5 以下で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 培地

製造用培地として、チオール培地又は牛血清加ブイヨン、及び牛血液加寒天培地を用いる。

2.3 原液

2.3.1 培養菌液

種菌をチオール培地又は牛血清加ブイヨンに移植し、30 ~ 37 で 3 ~ 10 日間培養した菌液 3 ~ 5 mL を牛血液加寒天培地に移植し、窒素ガス 85vol %、炭酸ガス 10vol % 及び酸素ガス 5 vol % の混合気相下で、30 ~ 37 で 3 ~ 10 日培養し、菌を生理食塩液に浮遊させたものを培養菌液とする。

培養菌液について、3.1 の試験を行う。

2.3.2 殺菌、集菌及び濃度調整

本培養菌液に 0.3vol % となるようにホルマリンを加え、5 で 24 時間静置して殺菌し、5 に保存する。ガ - ゼと脱脂綿でろ過後、0.3vol % ホルマリン加生理食塩液（以下「希釈用液」という。）で 2 回洗浄する。

菌液の濃度を McFarland 混濁管 No. 4 と等しくなるように調整し、死菌浮遊液とする。

死菌浮遊液について、3.2 の試験を行う。

2.3.3 抗原価の調整

カンピロバクター・フィタスのベネレアル型参照血清（付記 2）及びフィタス型参照血清（付記 3）を希釈用液で 10 倍に希釈し、更に 2 倍階段希釈により 2,560 倍まで希釈する。死菌浮遊液を適当な間隔で希釈する。各段階の希釈後のそれぞれ 0.5mL ずつを混合してボックスを組み、37 で 18 ~ 24 時間反応させる。それぞれの血清が所定の凝集力価を示す死菌浮遊液の希釈倍数を求め、希釈用液で抗原価を調整し、原液とする。なお、50% 以上の凝集を示す血清の最高希釈倍数を凝集力価とする。

原液について、3.3 の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液を混合し、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、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 培養菌液の試験

3.1.1 夾雑菌否定試験

検体を牛血液加普通寒天平板 2 枚に塗抹し、37 で 3 ~ 4 日間好氣的に培養するとき、菌の発育を認めてはならない。

3.2 死菌浮遊液の試験

3.2.1 生菌否定試験

検体 1.0mL ずつをチオール培地 20mL 4 本に接種し、30 ~ 37 で 48 時間培養するとき、菌の発育を認めてはならない。

3.3 原液の試験

3.3.1 菌濃度試験

検体を生理食塩液で希釈し、分光光度計又は濁度計によって検体の濃度を求めるとき、McFarland 混濁管 No. 3 にほぼ相当する濃度でなければならない。

3.3.2 力価試験

3.3.2.1 試験材料

検体並びに参照陽性血清として、ベネレアル型参照血清及びフィタス型参照血清を用いる。

3.3.2.2 試験方法

参照陽性血清を希釈用液で 10 倍に希釈した後、更に 2 倍階段希釈し、各希釈血清 0.5mL に検体を等量に加えて混和し、37 で 18 ~ 24 時間反応させた後、標準混濁管（付記 4）と対比して凝集度を判定する。

3.3.2.3 判定

ベネレアル型血清及びフィタス型血清は、それぞれ所定の凝集価を示さなければならない。

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、固有の色調を有する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。

3.4.2 特異性試験

力価既知の陽性及び陰性兔血清各 2 例を、それぞれ希釈用液で 10 倍に希釈した後、更に 2 倍階段希釈する。各段階の希釈液 0.5mL と等量の試験品とを混合し、37 で 18 ~ 24 時間反応させ判定するとき、陽性血清は、それぞれ所定の凝集価を示さなければならない。陰性血清の凝集価は、いずれも 20 倍未満でなければならない。

3.4.3 力価試験

3.3.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

4 貯法及び有効期間

有効期間は、1 年間とする。ただし、特に承認されたものは、その期間とする。

5 その他

5.1 添付文書等記載事項

- 1 発情時に採取した膣粘液は、感染牛でもまれに陽性を示さないことがある旨
- 2 膣粘液の採取は牛相互の感染を起こさないよう、採取用器材を衛生的に扱う旨

付記 1 チオ - ル培地

1,000mL 中

ペプトン

10 g

酵母エキス

5 g

ブドウ糖	1	g
塩化ナトリウム	5	g
チオール複合体	8	g
寒天	1	g
4 - アミノ安息香酸	0.05	g
水		残 量

pH を 7.2 に調整し、121 で 15 分間高圧滅菌する。

付記 2 ベネレアル型参照血清

兔にカンピロバクター・フィタスのベネレアル型 UM 株菌液（湿菌 1 mg/mL）を増量的に接種して得られた免疫血清で、UM 株に対する凝集価が 1,280 倍のもの

付記 3 フィタス型参照血清

兔にカンピロバクター・フィタスのフィタス型 822-4 株を付記 2 と同様に接種して得られたもので、その凝集価が 822-4 株には 1,280 倍以上、ベネレアル型 UM 株には 320 ~ 1,280 倍、ベネレアル型 1,336 株には 20 倍以下であるもの

付記 4 標準混濁管

判定の基準			比濁管の作り方		
凝集	記号		A : B	混合希釈液	B
100 %	++++	凝集沈殿し、上清は、まったく透明	0 : 4	0.5mL	0.5 mL
75 %	+++	強い凝集沈殿があるが上清は、かすかに混濁	1 : 3	0.5mL	0.5mL
50 %	++	かなりの凝集混濁があり、上清もかなり混濁	2 : 2	0.5mL	0.5mL
25 %	+	わずかな凝集塊の沈殿を認める。	3 : 1	0.5mL	0.5mL
0 %	-	凝集を認めない。	4 : 0	0.5mL	0.5mL

A : 診断用菌液

B : 0.3vol %ホルマリン加生理食塩液