

カンピロバクター病診断用蛍光抗体

1 定義

カンピロバクター・フィタスの多価免疫抗体に蛍光色素を結合させ、凍結乾燥した蛍光標識抗体である。

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 株及び 1,336 株、又はこれらと同等と認められた株並びにフィタス型今帰仁株及び 661 株、又はこれらと同等と認められた株

2.1.2 性状

今帰仁株及び 661 株は、1%グリシン加培地で発育するが、UM 株及び 1,336 株は、発育しない。

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 動物

羊を用いる。

2.2.2 蛍光色素

フルオレセイン・イソチオシアネートを用いる。

2.3 原液

2.3.1 免疫

各株ごとに製造に適当と認められた方法で動物を所定の力価に達するまで免疫し、血清を採取して、それぞれの抗カンピロバクター・フィタス血清とする。

抗カンピロバクター・フィタス血清について、3.1 の試験を行う。

2.3.2 免疫グロブリンの調製

それぞれの抗カンピロバクター・フィタス血清を等量混合して硫酸アンモニウム塩析法その他の製造に適当と認められた方法でグロブリン画分を収集し、免疫グロブリンとする。

免疫グロブリンについて、3.2 の試験を行う。

2.3.3 蛍光標識抗体液の調製

免疫グロブリンをリン酸緩衝食塩液又は生理食塩液で 1 ~ 2 w/v% の蛋白溶液となるよう調整し、これにフルオレセイン・イソチオシアネートを標識した後、ゲルろ過し、イオン交換クロマトグラフィー等により精製を行い、色素対蛋白結合分子比が 1 ~ 3 の画分を収集し、蛍光標識抗体液とする。

蛍光標識抗体液について、3.3 の試験を行う。

2.3.4 原液の調製

各株の菌に対する染色力価が 4 倍以上になるように蛍光標識抗体液をリン酸緩衝食塩液又は生理食塩液で希釈して原液とする。

原液について、3.4 の試験を行う。

2.4 最終バルク

原液をメンブランフィルターでろ過滅菌し、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、凍結乾燥し、小分製品とする。

小分製品について、3.5 の試験を行う。

3 試験法

3.1 抗カンピロバクター・フィタス血清の試験

3.1.1 抗体価測定試験

免疫に用いたそれぞれの菌株で「カンピロバクター病診断用菌液」の製法を準用して作成した抗原で、凝集反応により抗体価を測定するとき、それぞれの抗体価は、5,000 倍以上でなければならない。

3.1.2 目的外抗体の否定試験

抗カンピロバクター・フィタス血清のブルセラ・アボルタスに対する抗体価を試験管凝集反応で測定するとき、抗体価が 100IU 以下でなければならない。

3.2 免疫グロブリンの試験

3.2.1 蛋白含量試験

免疫グロブリンの蛋白含量を波長 280nm で測定するとき、1w/v% 以上でなければならない。

3.3 蛍光標識抗体液の試験

3.3.1 色素対蛋白結合分子比試験

蛍光標識抗体の吸光度を 495nm 及び 280nm で測定して色素対蛋白結合分子比を算出するとき、1 ~ 3 でなければならない。

3.4 原液の試験

3.4.1 特異性試験

3.4.1.1 試験材料

検体、UM 株、1,336 株、今帰仁株及び 661 株の塗抹材料並びに対照材料として、大腸菌、枯草菌及びコリネバクテリウム・レナーレの各塗抹材料をそれぞれ火焰固定して用いる。

3.4.1.2 試験方法

検体でそれぞれの材料を直接法により 37 で 30 分間染色し、蛍光顕微鏡で観察する。

3.4.1.3 判定

カンピロバクター・フィタス各菌株の塗抹材料では特異蛍光を認めなければならず、対照材料では類似の蛍光を認めてはならない。

3.4.2 力価試験

3.4.2.1 試験材料

3.4.2.1.1 試料

検体をリン酸緩衝食塩液で 2 倍階段希釈し、各段階の希釈液を試料とする。

3.4.2.1.2 塗抹材料

3.4.1.1 を準用して作成したカンピロバクター・フィタス各菌株の塗抹材料を用いる。

3.4.2.2 試験方法

試料で塗抹材料を 37 で 30 分間染色し、蛍光顕微鏡で観察する。

3.4.2.3 判定

特異蛍光が認められる検体の最終希釈倍数は、免疫に用いたそれぞれの菌株に対していずれも 4 倍以上でなければならない。

3.5 小分製品の試験

3.5.1 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乾燥物でなければならない。溶解したものは、固有の色調を有する液体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。

3.5.2 真空度試験

一般試験法の真空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。

3.5.3 抗原阻止試験

3.5.3.1 試験材料

検体、3.4.1.1を準用して作成したカンピロバクター・フィタス各菌株の塗抹材料、凝集抗体価1,000倍以上の混合抗カンピロバクター血清及び陰性血清を用いる。

3.5.3.2 試験方法

混合抗カンピロバクター・フィタス血清又は陰性血清でそれぞれカンピロバクター・フィタス塗抹材料を前処置し、それぞれの標本について3.4.1.2を準用して試験を行う。

3.5.3.3 判定

混合抗カンピロバクター・フィタス血清で前処置した標本では、特異蛍光は認められず、又は著しく減弱しなければならない。陰性血清で前処置した標本では、特異蛍光を認めなければならず、染色性に異常を認めてはならない。

3.5.4 力価試験

3.4.2を準用して試験するとき、特異蛍光が認められる試験品の最終希釈倍数は、4倍以上でなければならない。

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

溶解した蛍光標識抗体は、使用前に3,000rpmで15分間遠心又は非吸着性のメンブランフィルターでろ過して使用する旨

付記1 チオール培地

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 0.05g

水 残 量

pHを7.2に調整し、121℃で15分間高圧滅菌する。