

馬パラチフス診断用菌液

1 定義

サルモネラ・アボルトラス・エクイのホルマリン死菌液で調製した凝集反応用抗原である。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

サルモネラ・アボルトラス・エクイ北大株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

サルモネラ・アボルトラス・エクイのS型菌で、O抗原として4及び12を、H抗原としてe、n及びxを有する。

2.1.3 継代及び保存

原株及び種菌は、普通寒天培地又は適当と認められた培地で継代する。

継代は、原株では3代以内、種菌では5代以内でなければならない。ただし、特に承認されたものは、その継代数以内とする。

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

製造用培地には、普通寒天培地又は製造に適当と認められた寒天培地、及び普通ブイヨン培地又は製造に適当と認められた液状培地を用いる。

2.3 原液

2.3.1 培養菌液

種菌を寒天培地に移植し、37 で20時間培養する。

発育したS型菌を釣菌し、液状培地で37 18 ~ 24時間培養した後、寒天培地で37 18 ~ 24時間培養後、滅菌生理食塩液に均等に浮遊し、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 殺菌及び濃度調整

培養菌液にホルマリンを1 vol%となるように加え、37 で24時間処理殺菌後、1 vol%ホルマリン加生理食塩液で遠心洗浄し、McFarland 混濁管 No.2 の約15倍の濃度となるように希釈し、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

陽性、疑陽性及び陰性の各参照血清（付記1、2及び3）2例ずつと、それぞれ15倍に希釈した参照菌液（付記4）及び死菌浮遊液とを用いて、試験管凝集反応を行う。死菌浮遊液の抗原価が参照菌液と、おおむね一致するように抗原価を調整し、原液とする。

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 0.05mL ずつを普通寒天平板培地 2 枚以上に塗抹し、37℃ で 24 時間培養するとき、サルモネラ・アボルトス・エキ以外の菌の発育を認めてはならない。

3.1.2 変異試験

遠心集菌した菌を McFarland 混濁管 No.2 の濃度となるように生理食塩液に浮遊し、0.2w/v% アクリフラビン液を等量加え、37℃ で 24 時間処理するとき、凝集してはならない。

3.1.3 特異性試験

遠心集菌した菌を McFarland 混濁管 No.2 の 15 倍の濃度となるように生理食塩液に浮遊したものを試料とし、急速凝集反応を行うとき、既知の抗サルモネラ・アボルトス・エキ血清には凝集しなければならず、陰性血清には、凝集してはならない。

3.2 死菌浮遊液の試験

3.2.1 生菌否定試験

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 原液の試験

3.3.1 変異試験

3.3.1.1 試験材料

検体を遠心集菌し、McFarland 混濁管 No.2 の濃度となるように生理食塩液に浮遊し、試料とする。

3.3.1.2 自発凝集試験

試料を 37℃ で 24 時間静置するとき、凝集してはならない。

3.3.1.3 熱凝集試験

試料を 100℃ で 30 分間加熱するとき、凝集してはならない。

3.3.2 力価試験

3.3.2.1 試験材料

検体、各 2 例ずつの参照陽性、疑陽性及び陰性血清並びに参照菌液を用いる。

3.3.2.2 試験方法

試験は、15 ~ 20℃ で行わなければならない。生理食塩液で 10 倍に希釈した血清 0.05mL、0.03mL、0.02mL 及び 0.01mL と菌液 0.05mL ずつとを平板上で攪拌混和し、15 分間前後左右に傾斜して反応させる。

3.3.2.3 判定

反応終了時、凝集の程度を観察し、次の記号により記録する。

- : 凝集を認めないもの
- ± : わずかに凝集していると思われるもの
- + : 明らかな凝集の認められるもの

判定を次の基準で行うとき、検体は、参照菌液とともに各参照血清の既知の反応パターンに一致する抗原性を示さなければならない。

判定	10 倍希釈参照血清			
	0.05mL	0.03mL	0.02mL	0.01mL
陰性	-	-	-	-
	±	-	-	-
疑陽性	+	-	-	-
	+	+	-	-
陽性	+	+	+	-
	+	+	+	+

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 変異試験

3.1.2 及び 3.3.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.4.3 力価試験

3.4.3.1 急速凝集反応

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。

3.4.3.2 試験管凝集反応

3.4.3.2.1 試験材料

検体、各 2 例ずつの参照陽性、疑陽性及び陰性血清並びに参照菌液を用いる。

3.4.3.2.2 試験方法

各参照血清を生理食塩液で 10 倍に希釈し、その 0.5mL ずつを 2 倍階段希釈する。検体及び参照菌液を生理食塩液で 15 倍に希釈し、その 0.5mL ずつを各希釈血清に加え、50 で 2 時間反応させたのち 4 で一晩静置し、判定する。

3.4.3.2.3 判定

次の区分により凝集像を判定する。なお、+ 以上の凝集を示した血清の最高希釈倍数をその血清の凝集価とする。

- +++ : 管底には著しく強い凝集像が認められ、上層部は完全に透明。
- ++ : 管底には著しく強い凝集像が認められ、上層部はほぼ透明。
- +: 管底には明瞭な凝集像が認められ、かつ非凝集抗原の管底中央への沈降はまったく認められない。上層部にはやや混濁が認められる。
- : 管底には非凝集抗原の目玉状沈降が認められ、上層部は強く混濁する。

検体及び参照菌液は、各参照血清の既知の凝集抗体価に一致する抗原性を示さなければならない。

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

検査は、四季を通じ、15 ~ 20 で行われるよう留意し、戸外では、直射日光及び塵埃のひどい所は避ける旨

付記 1 参照陽性血清

馬をサルモネラ・アボルトス・エクイの生菌で免疫して得られた血清であり、急速凝集反応において、0.02mL 以下で凝集を認めるもの
0.5mL ずつを 1 アンプル中に分注し、凍結乾燥する。

付記 2 参照疑陽性血清

馬をサルモネラ・アボルトス・エクイの生菌で免疫して得られた血清であり、急速凝集反応において、0.05mL で凝集を認め、0.02mL では凝集しないもの
0.5mL ずつを 1 アンプル中に分注し、凍結乾燥する。

付記 3 参照陰性血清

サルモネラ・アボルトス・エクイに対する抗体を保有しない馬の血清であり、急速凝集反応において、0.05mL で凝集を認めないもの

0.5mL ずつを 1 アンプル中に分注し、凍結乾燥する。

付記 4 参照菌液

「馬パラチフス診断用菌液」又は動物医薬品検査所がこれと同等と認めるもの