

豚コレラ診断用蛍光抗体

1 定義

豚コレラウイルス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

製造に相当と認められた豚コレラウイルス株

2.1.3 継代及び保存

原株及び種ウイルスは、豚又は相当と認められた培養細胞で継代する。

継代は、原株では3代以内、種ウイルスでは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、その継代数とする。

原株及び種ウイルスは、凍結して - 70 以下又は凍結乾燥して 5 以下で保存する。

2.2 製造用材料

2.2.1 動物

豚又は相当と認められた動物を用いる。

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

相当と認められた方法で動物を免疫し、血清を採取して抗豚コレラウイルス血清とする。

抗豚コレラウイルス血清について、3.1 の試験を行う。

2.3.2 免疫グロブリンの調製

抗豚コレラウイルス血清を、硫酸アンモニウム塩析法又は相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に調製する。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、相当と認められた方法でゲルろ過及びカラムクロマトグラフィーにより精製を行い、色素対蛋白結合分子比が 1 ~ 2 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

蛍光標識抗体液をアセトン乾燥豚臓器粉末で吸収し、リン酸緩衝食塩液又は生理食塩液で希釈して染色力価が 8 倍以上となるように調製し、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

原液を混合し、メンブランフィルターでろ過し、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 抗豚コレラウイルス血清の試験

3.1.1 抗体価測定試験

抗豚コレラウイルス血清の豚コレラウイルスに対する中和抗体価を適当と認められた方法で測定するとき、5,000倍以上でなければならない。

3.2 免疫グロブリンの試験

3.2.1 蛋白含有量試験

免疫グロブリンの蛋白含有量を波長 280nm で測定するとき、1 w/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

蛍光標識抗体液の吸光度を波長 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、1～2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、豚コレラウイルス感染材料として感染豚の扁桃の凍結切片及び GPE 株を感染させた豚由来培養細胞、対照材料として正常培養細胞、健康豚の扁桃及び肺の凍結切片並びに日本脳炎ウイルス、豚パルボウイルス、豚伝染性胃腸炎ウイルス、オーエスキー病ウイルス、豚サイトメガロウイルス、豚流行性下痢ウイルス、豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス、豚サーコウイルス及び豚ロタウイルス感染培養細胞を用いる。

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 60 分間染色し、観察する。

3.4.1.3 判定

豚コレラウイルス感染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 抗原阻止試験

3.4.2.1 試験材料

検体、3.4.1.1 を準用して作製した豚コレラウイルス感染材料のうちいずれか 1 種類、中和抗体価 1,000 倍以上の抗豚コレラウイルス血清及び陰性血清を用いる。

3.4.2.2 試験方法

抗豚コレラウイルス血清又は陰性血清でそれぞれ豚コレラウイルス感染材料を前処理し、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。

3.4.2.3 判定

抗豚コレラウイルス血清で前処理した標本では、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。陰性血清で前処理した標本では、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。

3.4.3 力価試験

3.4.3.1 試験材料

3.4.3.1.1 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。

3.4.3.1.2 感染材料

3.4.1.1 を準用して作製した豚コレラウイルス感染材料のうちいずれか 1 種類を用いる。

3.4.3.2 試験方法

試料で感染材料を 37℃ で 60 分間染色し、観察する。

3.4.3.3 判定

特異蛍光が認められる検体の最終希釈倍数は、8 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

一般試験法の特異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 特異性試験

3.4.1 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.5.4 抗原阻止試験

3.4.2 を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.5.5 力価試験

3.4.3 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