

マイコプラズマ・シノビエ感染症急速診断用菌液

1 定義

マイコプラズマ・シノビエの濃厚死菌液にクリスタルバイオレットを加えた急速凝集反応用抗原である。

2 製法

2.1 製造用株

2.1.1 名称

マイコプラズマ・シノビエ WVU1853 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 継代及び保存

原株及び種菌は、マイコプラズマ・シノビエ用培地（付記1）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

マイコプラズマ・シノビエ用培地又は製造に適当と認められた培地を用いる。

2.3 原液

2.3.1 培養菌液

種菌を培地に移植し、37 で2～3代継代して十分に発育させたものをさらに培地に移植し、37 で2～7日間培養し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 集菌

培養菌液を遠心し、沈殿菌をリン酸緩衝食塩液に浮遊させ、濃厚菌液とし、2～5 で一夜以上静置する。

2.3.3 濃度調整及び加薬

濃厚菌液を McFarland 混濁管 No.1 の25倍濃厚となるようにリン酸緩衝食塩液で調整する。これにチメロサル及びクリスタルバイオレットをそれぞれ 0.01w/v%となるように加え、2～5 で1週間以上静置して不活化及び染色したものを原液とする。

原液について、3.2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、3.3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

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。

3.2 原液の試験

3.2.1 特異性試験

3.2.1.1 試験材料

検体、抗マイコプラズマ・シノビエ兔血清（付記2）及び抗マイコプラズマ・ガリセプチカム兔

血清（付記3）を用いる。

3.2.1.2 試験方法

抗マイコプラズマ・シノビエ兔血清及び抗マイコプラズマ・ガリセプチカム兔血清の各1滴（約0.03mL）に検体を1滴（約0.03mL）ずつ加え、反应用ガラス板上でよく混合し、凝集の有無を観察する。

3.2.1.3 判定

抗マイコプラズマ・シノビエ兔血清では1分以内に凝集しなければならず、抗マイコプラズマ・ガリセプチカム兔血清では2分以内に凝集してはならない。

3.2.2 力価試験

3.2.2.1 試験材料

検体、参照抗原（付記4）、マイコプラズマ・シノビエ抗体陽性鶏（付記5）の血清及び血液各5例以上並びにマイコプラズマ・シノビエ抗体陰性鶏（付記6）の血清及び血液各5例以上を用いる。

3.2.2.2 試験方法

血清を試験材料とする場合

検体及び参照抗原の各1滴（約0.03mL）と血清の各1滴（約0.03mL）ずつとを反应用ガラス板上でよく混合し、凝集の有無を観察する。

血液を試験材料とする場合

検体及び参照抗原の各2滴（約0.06mL）と血液の各1滴（約0.03mL）ずつとを反应用ガラス板上でよく混合し、凝集の有無を観察する。

3.2.2.3 判定

陽性鶏の血清では1分以内に、血液では2分以内に凝集しなければならず、陰性鶏の血清及び血液では2分以内に凝集してはならない。検体及び参照抗原の凝集出現時間は、おおむね一致しなければならない。

3.3 小分製品の試験

3.3.1 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ず、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。

3.3.2 特異性試験

3.2.1を準用して試験するとき、適合しなければならない。

3.3.3 力価試験

3.2.2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 検査は、常時20～25℃で行われるように留意し、戸外では直射日光及び塵埃のひどい場所は避ける旨
- 2 血清を材料とする場合は、新鮮なものを使い、凍結又は長期保存したものは用いない旨
- 3 菌液は、使用前及び使用中、時どきよく振って均等にする旨

付記1 マイコプラズマ・シノビエ用培地

1,000mL 中

獣肉製ペプトン

10.0 g

酵母エキス

5.0 g

塩化ナトリウム	5.0	g
塩化カリウム	0.4	g
硫酸マグネシウム七水和物	0.2	g
リン酸水素二ナトリウム十二水和物	1.6	g
リン酸二水素カリウム	0.1	g
精製水に加温溶解後、次のものを加える。		
ブドウ糖	9.0	g
-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド[酸化型]	0.1	g
1 w/v% L - システイン塩酸塩試液	10	mL
酢酸タリウム	0.25	g
ベンジルペニシリンカリウム	25	万単位
非働化豚血清	100	mL
水	残	量

pHを8.3～8.5に調整し、220nmのメンブランフィルターでろ過滅菌して用いる。

付記2 抗マイコプラズマ・シノビエ兔血清

マイコプラズマ・シノビエで兔を免疫して得た血清を、1 mLずつ分注し、凍結乾燥したもので、参照抗原を用いて試験管凝集反応を行う時、凝集価が20倍以上のもの

付記3 抗マイコプラズマ・ガリセプチカム兔血清

マイコプラズマ・ガリセプチカムで兔を免疫して得た血清を、1 mLずつ分注し、凍結乾燥したもので、マイコプラズマ・ガリセプチカム感染症急速診断用菌液の参照抗原を用いて試験管凝集反応を行うとき、凝集価が20倍以上のもの

付記4 参照抗原

「マイコプラズマ・シノビエ感染症急速診断用菌液」又は動物医薬品検査所がこれと同等と認めるもの

付記5 マイコプラズマ・シノビエ抗体陽性鶏

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏にマイコプラズマ・シノビエを感染させたもので、参照抗原を用いて試験管凝集反応を行うとき、血清の凝集価が20倍以上のもの

付記6 マイコプラズマ・シノビエ抗体陰性鶏

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏で、参照抗原を用いて試験管凝集反応を行うとき、血清の凝集価が5倍未満のもの