

# 鶏伝染性コリーザ（A型）診断用赤血球凝集抗原

平成 21 年 11 月 12 日 (告示第 1569 号)一部改正

平成 22 年 7 月 12 日 (告示第 1038 号)一部改正

## 1 定義

ヘモフィルス・パラガリナルムA型菌の濃厚死菌液で調整した生赤血球を用いる赤血球凝集抑制反応用抗原である。

## 2 製法

### 2.1 製造用株

#### 2.1.1 名称

ヘモフィルス・パラガリナルムA型菌 No.221 株又はこれと同等と認められた株

#### 2.1.2 性状

鶏及び発育鶏卵に対して病原性を示す。牛、馬、羊、鶏及びモルモットの赤血球を凝集する。

#### 2.1.3 継代及び保存

原株及び種菌は、生ワクチン製造用材料の規格 1.1 の 5～7 日齢の発育鶏卵又は継代用培地（付記 1）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。

原株及び種菌は、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 培地

製造用培地（付記 2）又は製造に相当と認められた培地を用いる。

### 2.3 原液

#### 2.3.1 培養菌液

発育鶏卵の卵黄嚢で培養した種菌を製造用培地に接種し、37℃で 1～2 日間培養し、培養菌液とする。ただし、卵黄の採取は、種菌接種後 30 時間以内に鶏胚が死亡したものに限られる。

培養菌液について、3.1 の試験を行う。

#### 2.3.2 集菌及び洗浄

培養菌液を遠心し、沈殿菌をリン酸緩衝食塩液で洗浄後、濃厚菌液とし、2～5℃で一夜以上静置する。

#### 2.3.3 濃度調整及び不活化

濃厚菌液を McFarland 混濁管 No. 2 の 10 倍濃厚となるようにリン酸緩衝食塩液で調整する。これにチメロサールを 0.01w/v%となるように加え、2～5℃で 1 週間以上静置し、不活化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、参照抗原（付記3）、参照陽性血清（付記4）、陰性血清（付記5）及び3.2.2.1の鶏赤血球浮遊液を用いる。

##### 3.2.1.2 試験方法

検体及び参照抗原の濃度が0.4mL中4単位となるように抗原液を調整する。参照陽性血清3例、陰性血清3例をそれぞれ生理食塩液で5倍に希釈し、更に2倍階段希釈する。希釈血清0.2mLずつに等量の抗原液を加えて混合し、10分間処理した後、鶏赤血球浮遊液を0.4mLずつ加えて振盪混合し、60分間静置後、判定する。

##### 3.2.1.3 判定

検体及び参照抗原により、参照陽性血清は、いずれも所定の赤血球凝集抑制抗体価を示さなければならない。陰性血清の抗体価は、5倍未満でなければならない。

### 3.2.2 力価試験

#### 3.2.2.1 試験材料

検体、参照抗原及び2羽以上の6～18週齢の鶏の血液を採取、混合し、生理食塩液で3回洗浄後、0.5vol%となるように調整した鶏赤血球浮遊液を用いる。

#### 3.2.2.2 試験方法

検体及び参照抗原をそれぞれ生理食塩液で10倍に希釈し、更に2倍階段希釈し、試料とする。試料0.4mLずつに等量の鶏赤血球浮遊液を加えて振盪混合し、60分間静置後、判定する。

#### 3.2.2.3 判定

赤血球が完全凝集を示した最高希釈倍数を抗原価とするとき、検体の抗原価は、80倍以上でなければならない。参照抗原は、所定の抗原価を示さなければならない。

### 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。

#### 3.3.2 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、農林水産大臣が特に認めた場合には、その期間とする。

#### 付記1 継代用培地

1,000mL中

鶏肉水	500 mL
ペプトン	5 g
塩化ナトリウム	5 g
寒天	15 g
水	残量

水に加熱溶解後、pHを7.4～7.6に調整し、121℃で15分間高圧滅菌する。

約 50℃に冷却後、鶏非働化血清 50mL を加える。  
なお、適当と認められた V 因子を加えてもよい。

付記 2 製造用培地

1,000mL 中

鶏肉水	200 mL
獣肉製ペプトン	5 g
塩化ナトリウム	5 g
水	残 量

水に加熱溶解後、pH を 7.4 ~ 7.6 に調整し、121℃で 15 分間高圧滅菌する。  
冷却後、鶏非働化血清 10mL を加える。

付記 3 参照抗原

「鶏伝染性コリーザ (A 型) 診断用赤血球凝集抗原」又は動物医薬品検査所がこれと同等と認めるもの

付記 4 参照陽性血清

動物医薬品検査所が配布するもので、ヘモフィルス・パラガリナルム A 型菌 No.221 株で生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏を免疫して得た血清で、1 mL ずつ分注し、凍結乾燥したもの

参照抗原を用いて赤血球凝集抑制反応を行うとき、抗体価は、それぞれ 160 ~ 320 倍、40 ~ 80 倍及び 10 ~ 20 倍である。

付記 5 陰性血清

生ワクチン製造用材料の規格 1.1 由来の鶏の血清で、1 mL ずつ分注し、凍結乾燥したもの  
参照抗原を用いて赤血球凝集抑制反応を行うとき、抗体価は、5 倍未満である。