

アナプラズマ症診断用補体結合反応抗原

令和2年6月30日（告示第1246号）一部改正

アナプラズマ・マージナーレを感染させた摘脾牛の赤血球から調製した補体結合反応用抗原である。

1 小分製品の試験

1.1 同定試験

1.1.1 試験材料

試験品、参照陽性血清（付記1）、参照陰性血清（付記2）、指示陽性血清、指示陰性血清、2単位補体及び感作血球液（2単位溶血素、2 vol %羊赤血球浮遊液）を用いる。

1.1.2 試験方法

参照陽性血清、参照陰性血清、指示陽性血清及び指示陰性血清を各々ゼラチン・ペロナール緩衝食塩液（付記3。以下「GBV」という。）で5倍に希釈し非働化した後、更に2倍階段希釈する。各希釈血清 0.1mLに抗原価が2単位含まれるように調整した試験品 0.1mLを加えて混合し、次に各々2単位補体 0.2mLを加え、2～5℃で一夜処理する。その後感作血球液 0.2mLを加え、37℃で30分間反応させ抗体価を測定する。

また、抗補体作用を調べるため試験品 0.1mL、2単位補体 0.2mL及びGVB0.1mLを混合し、2～5℃で一夜処理した後、感作血球液 0.2mLを加え、37℃で30分間反応させる。

1.1.3 判定

100%溶血阻止を示す血清の最高希釈倍数を補体結合反応抗体価とすると、いずれの陽性血清とも所定の抗体価を示さなければならず、陰性血清はいずれも抗体価5倍未満でなければならない。また、8単位の抗原で抗補体作用を認めてはならない。

1.2 力価試験

1.2.1 試験材料

試験品、参照抗原（付記4）、参照陽性血清、指示陽性血清、2単位補体及び感作血球液（2単位溶血素、2 vol %羊赤血球浮遊液）を用いる。

1.2.2 試験方法

試験品及び参照抗原を各々GVBで2倍階段希釈する。参照陽性血清及び指示陽性血清を各々GBVで5倍に希釈し非働化した後、2倍階段希釈する。各段階の希釈した抗原と血清のそれぞれ0.1mLずつを混合してボックスを組み、次に各々に2単位補体 0.2mLを加え、2～5℃で一夜処理する。その後感作血球液 0.2mLを加え、37℃で30分間反応させる。

1.2.3 判定

試験品は、参照陽性血清及び指示陽性血清に対して参照抗原とほぼ等しい反応パターンを示し、抗原価は0.1mL中8単位でなければならない。

付記1 参照陽性血清

アナプラズマ・マージナーレ人工感染牛から得た血清で、小分けして凍結乾燥し保存する。参照抗原を用いて補体結合反応を行うとき、抗体価は80～160倍でなければならない。

付記2 参照陰性血清

アナプラズマ・マージナーレに対する抗体陰性の健康牛から得た血清で、小分けして凍結乾燥し保存する。

参照抗原を用いて補体結合反応を行うとき、抗体価は5倍未満でなければならない。

付記3 GVB

A液 5倍量ペロナール緩衝食塩液

1,000mL 中	
塩化ナトリウム	42.50 g
バルビタール	2.79 g
バルビタールナトリウム	1.88 g
塩化マグネシウム	0.84 g
塩化カルシウム	0.14 g
水	残 量

バルビタールを水で加温溶解後、他の薬剤を順次溶解して、1,000mL とし、121 °C で 15 分間高圧滅菌する。

B 液 2w/v %ゼラチン液

1,000mL 中	
精製ゼラチン	20 g
水	残 量

加温溶解後、121 °C で 15 分間高圧滅菌する。

A 液、**B 液**及び水をそれぞれ 4 : 1 : 15 の割合で無菌的に混合して用いる。

付記 4 参照抗原

法第83 条第 1 項の規定により読み替えて適用される法第43条第 1 項の規定による検定に合格し、かつ、有効期限内のアナプラズマ症診断用補体結合反応用抗原又は動物医薬品検査所がこれと同等と認めるもの