

# 牛肝てつ症診断用皮内反応抗原

## 1 定義

牛肝てつ虫体から抽出した抗原物質を含む皮内反応用抗原である。

## 2 製法

### 2.1 製造用材料

牛肝てつ感染牛から採集した肝てつファッシオラ・ヘパティカ又はファッシオラ・ギガンティカ虫体を水洗し、凍結保存したもの

### 2.2 原液

#### 2.2.1 抗原の抽出

凍結保存虫体を融解し、滅菌生理食塩液で 20w/v%乳剤とし、2,000G で 20 分間遠心する。上清に硫酸アンモニウムを 50 %飽和となるように加え、生じた沈殿を遠心して集め、滅菌生理食塩液で原量に溶解する。同様の塩析操作を再度行って、得られた沈殿物を秤量する。これを流水透析し、リン酸緩衝食塩液（以下「希釈用液」という。）で沈殿量の 32 倍となるように調整してメンブランフィルターでろ過し、濃厚抗原液とする。

濃厚抗原液について、3.1 の試験を行う。

#### 2.2.2 力価の調整

濃厚抗原液を希釈用液で 5 倍に希釈し、更に 2 倍階段希釈し、各希釈材料を 10 頭以上の牛の尾根部皺襞の異った部分の皮内に 0.2mL ずつ注射し、15 及び 30 分後に各注射部の腫張の大きさを測定する。試験牛の皮内反応測定値と特徴的な病変の有無との関係から最適抗原濃度を求め、希釈用液で希釈後、適当と認められた保存剤を添加し、原液とする。

原液について、3.2 の試験を行う。

### 2.3 最終バルク

原液を混合し、最終バルクとする。

### 2.4 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 濃厚抗原液の試験

#### 3.1.1 無菌試験

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 無菌試験

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。

#### 3.2.2 力価試験

##### 3.2.2.1 試験動物

牛 15 頭以上を用いる。

##### 3.2.2.2 試験方法

検体 0.2mL ずつを尾根部皺襞の皮内に注射し、15 及び 30 分後に腫張の大きさを測定し、試験動物を剖検する。

##### 3.2.2.3 判定

腫張の径 15mm 以上を陽性、10mm 以下を陰性とし、陽性牛 5 頭、陰性牛 5 頭を選び剖検するとき、肝てつ虫体又は肝てつ症に特徴的な病変は、陽性牛で 80 %以上に認められ、陰性牛では 20 %以下でなければならない。

### 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 pH 測定試験

一般試験法の pH 測定試験法を準用して試験するとき、pH は、固有の値を示さなければならない。

#### 3.3.3 無菌試験

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。

#### 3.3.4 チメロサル定量試験

チメロサル添加製剤については、一般試験法のチメロサル定量法を準用して試験するとき、チメロサルの含有量は、0.005w/v%以下でなければならない。

#### 3.3.5 異常毒性否定試験

一般試験法の異常毒性否定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。

ただし、モルモットに対する注射量は、1 mLとする。

#### 3.3.6 非特異反応否定試験

##### 3.3.6.1 試験動物

体重約 350g のモルモットを用いる。

##### 3.3.6.2 試験方法

試験品 0.2mL ずつを 3 匹の試験動物の背側部皮内に注射し、15 分後及び 24 時間後に観察する。

##### 3.3.6.3 判定

局所の反応は、無視し得る程度でなければならない。

#### 3.3.7 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。