

ブルセラ症急速診断用菌液

令和2年6月30日（告示第1246号）一部改正

1 定義

ブルセラ・メリテンシスの死菌液で調製し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

ブルセラ・メリテンシス 99 株又はこれと同等と認められた株

2.1.2 性状

炭酸ガス非要求性のS型菌で、ブルセラのA単相血清で特異的に凝集し、かつ、M及びR単相血清で凝集しない。

2.1.3 継代及び保存

原株及び種菌は、10vol%牛血清加寒天培地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。

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

10vol%牛血清加寒天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10vol%牛血清加寒天培地に移植し、37℃で48時間培養後、生理食塩液に浮遊させたものを、製造用培地に接種し、37℃で培養して得た菌液を培養菌液とする。

培養菌液について、3.1の試験を行う。

2.3.2 殺菌、集菌及び濃度調整

培養菌液を80℃で30分間加熱殺菌し、濃縮した後、遠心集菌する。沈殿菌を生理食塩液で2回遠心洗浄し、0.5w/v%フェノール加生理食塩液（以下「希釈用液」という。）でMcFarland混濁管No.1の350倍濃厚な菌液とする。2～5℃で7日間以上静置し、死菌浮遊液とする。

死菌浮遊液について、3.2の試験を行う。

2.3.3 抗原価の調整

ブルセラ症急速診断用菌液用参照血清（付記1。以下「参照血清」という。）を希釈用液で50倍（1 mL中20単位）及び33倍（1 mL中30単位）に希釈したものをそれぞれ1滴（0.02mL）と死菌浮遊液2滴（0.04mL）ずつとを混合し、平板凝集反応を行う。この場合、温度は、24～26℃に保つ。1 mL中30単位の参照血清では、2～5分間で凝集し、1 mL中20単位のものでは、5分間以内には凝集しないように抗原価を調整し、原液とする。

原液について、3.3の試験を行う。

2.3.4 最終バルク

原液を混合し、最終バルクとする。

2.3.5 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、3.4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

検体 0.05mL ずつを 10vol%牛血清加寒天平板に塗末し、37℃で48時間培養するとき、ブルセ

ラ・メリテンシス以外の菌を認めてはならない。

3.1.2 変異試験

検体を希釈用液で McFarland 混濁管 No. 1 の 10 倍濃厚な菌液に希釈したものを試料とし、その 0.5mL に 0.2w/v% アクリフラビン液を等量加え、37 °C で 18 ~ 24 時間処理するとき、凝集してはならない。

3.2 死菌浮遊液の試験

3.2.1 生菌否定試験

検体 1 mL ずつをソイビーン・カゼイン・ダイジェスト液状培地 100mL 4 本に接種し、37 °C で 48 時間培養後、10vol% 牛血清加寒天平板に塗抹し、37 °C で 48 時間培養するとき、菌の発育を認めてはならない。

3.3 原液の試験

3.3.1 菌濃度試験

検体を生理食塩液で希釈し、分光光度計又は濁度計による測定値と希釈倍数から検体の濃度を求めるとき、McFarland 混濁管 No. 1 の 150 ~ 250 倍でなければならない。

3.3.2 変異試験

検体を希釈用液で McFarland 混濁管 No. 1 の 10 倍濃厚な菌液に希釈したものを試料とし、次の試験を行う。

3.3.2.1 酸凝集試験

Clark and Lubs 緩衝液 (pH 2.4、4.6 及び 6.8) 各 0.5mL に等量の試料を加え、37 °C で 18 ~ 24 時間反応させるとき、凝集してはならない。

3.3.2.2 熱凝集試験

試料を 100 °C で 30 分間加熱するとき、凝集してはならない。

3.3.2.3 アクリフラビン凝集試験

0.2w/v% アクリフラビン液 0.5mL に等量の試料を加え、37 °C で 18 ~ 24 時間処理するとき、凝集してはならない。

3.3.3 力価試験

検体、参照抗原 (付記 2) 及び参照血清を用い、2.3.3 の方法に準じて試験するとき、1 mL 中 30 単位では、5 分以内に凝集を示さなければならず、20 単位では、5 分以内に凝集を示してはならない。この場合、参照抗原は、所定の力価を示さなければならず、

3.4 小分製品の試験

3.4.1 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。

3.4.2 特異性試験

試験品及び 3 例の陰性牛血清を用いて、5 回以上平板凝集反応を行うとき、いずれも凝集してはならない。

3.4.3 力価試験

3.3.3 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、2 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

検査は、四季を通じ、20 ~ 25 °C で行われるよう留意し、戸外では、直射日光やほこりのひどい所は避ける旨

付記1 ブルセラ症急速診断用菌液用参照血清

国際標準血清と同様の方法で免疫して得た抗ブルセラ牛血清の力価を急速凝集反応によって調整した後、凍結乾燥したもので、1管（1 mL）中に 1,000 国際単位を含むもの

付記2 参照抗原

「ブルセラ症急速診断用菌液」又は動物医薬品検査所がこれと同等と認めるもの