

ブルセラ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

1 定義

ブルセラ・メリテンシスの可溶性抗原物質を含む補体結合反応用抗原である。

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 48～72 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 集菌、洗浄及び菌体の秤量

培養菌液を生菌のまま遠心集菌する。沈殿菌を生理食塩液で3回洗浄した後、水分を取り除いて湿菌重量を秤量する。

2.3.3 抗原の抽出

湿菌 1 g に対して 2 w/v%フェノール加生理食塩液を 10mL の割合となるように加えて、均等な浮遊液とし、22℃で 14 日間静置して抗原を抽出する。その後、約 6,000G で 30 分間遠心して透明な上清を採取し、3 倍量の生理食塩液に対して 常温で一夜透析する。更に約 10 倍量の 0.5w/v% フェノール加生理食塩液に対し、5℃で 48 時間透析し、抗原液とする。

2.3.4 抗原価の調整

抗原液を 0.01w/v%硫酸マグネシウム加生理食塩液（以下「希釈用液」という。）で 2 倍階段希釈する。参照陽性血清（付記 1）を 5 倍に希釈した後、非働化したものを 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 0.25mL を混合してボックスを組み、2 単位の補体 0.5mL を加え、4℃で一夜静置する。2 vol%羊血球浮遊液と、2 単位の溶血素の等量を混合した感作血球液 0.5mL を加え、37℃で 30 分間反応させ、抗体価を測定する。抗体価は 50 %以上の溶血阻止を示す血清の最高希釈倍数とする。参照陽性血清の所定の力価を示す抗原液の最高希釈倍数を求め、0.5w/v%フェノール加生理食塩液で 0.25mL 中に 200 単位含まれるように抗原価を調整し、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

原液を混合して、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

検体 0.05mL ずつを 10vol%牛血清加寒天平板 2 枚に塗抹し、37 °Cで 48 時間培養するとき、ブルセラ・メリテンシス以外の菌の発育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 原液の試験

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。

3.2.2 力価試験

2.3.4 の方法に準じて補体結合反応を行うとき、検体は、参照陽性血清に対して参照抗原（付記 2）とほぼ等しい反応パターンを示し、抗原価は、0.25mL 中 200 単位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液体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

3.3.2.1 試験材料

検体を 100 倍に希釈した試料、陰性牛血清を非働化したものを用いる。

3.3.2.2 試験方法

5 例の陰性牛血清を、希釈用液でそれぞれ 5 倍に希釈し、更に 2 倍階段希釈する。各血清希釈に試料を加え、補体結合反応を行う。

3.3.2.3 判定

陰性血清では、いずれも 5 倍未満でなければならない。また、20 単位の抗原で抗補体作用を認めてはならない。

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

抗体価を明示した指示陽性血清を添付する旨

付記 1 参照陽性血清

ブルセラ・メリテンシスに感染した牛の血清で、補体結合反応抗体価は 1,280 倍のもの

付記 2 参照抗原

「ブルセラ症診断用補体結合反応抗原」又は動物医薬品検査所がこれと同等と認めるもの