

牛ウイルス性下痢診断用酵素抗体反応キット

令和2年6月30日（告示第1246号）一部改正

牛ウイルス性下痢ウイルスに対する3種類のモノクローナル抗体をプレートに吸着させ、酵素抗体法により牛ウイルス性下痢ウイルス抗原を検出するためのキットである。

1 小分製品の試験

1.1 吸光度試験

1.1.1 試験材料

1.1.1.1 被検材料

指示陽性抗原及び指示陰性抗原を用いる。

1.1.1.2 反応用抗体

抗体吸着プレートを用いる。

1.1.1.3 検出抗体液

ビオチン化抗ペスチウイルスやぎ IgG を用いる。

1.1.1.4 標識抗体

ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン液（以下この項において「標識抗体」という。）を用いる。

1.1.2 試験方法

抗体吸着プレートの4穴に検出抗体液 50 μ L を、そのうちの2穴ずつに指示陽性抗原及び指示陰性抗原をそれぞれ 50 μ L ずつ加える。プレートを密閉して 37 $^{\circ}$ C で2時間又は2～8 $^{\circ}$ C で12～18時間反応させる。検出抗体液及び被検材料を除去した後、10倍濃縮洗浄液を水で10倍に希釈した洗浄液 300 μ L ずつで5回洗浄する。洗浄した各穴に標識抗体 100 μ L ずつ加え、密閉して18～25 $^{\circ}$ C で30分間反応させる。標識抗体を除去した後、洗浄液 300 μ L ずつで5回洗浄する。発色基質液 100 μ L ずつ各穴に加え、遮光して18～25 $^{\circ}$ C で10分間反応させる。反応終了後、反応停止液を100 μ L ずつ各穴に加え、450nmの波長で各穴の吸光度値を測定する。

1.1.3 判定

被検材料の平均吸光度値を算出する。

指示陽性抗原の平均吸光度値から指示陰性抗原の平均吸光度値を引いた値は0.15以上でなければならず、指示陰性抗原の平均吸光度値は、0.25以下でなければならない。

1.2 力価試験

1.2.1 試験材料

1.2.1.1 被検材料

抗体吸着プレートを用いる。

1.2.1.2 対照抗原

参照陽性抗原（付記1）、参照陰性抗原（付記2）及び指示陰性抗原を用いる。

1.2.1.3 検出抗体液

1.1.1.3の検出抗体液を用いる。

1.2.1.4 標識抗体

1.1.1.4の標識抗体を用いる。

1.2.2 試験方法

抗体吸着プレートの各6穴に検出抗体液 50 μ L を加え、そのうちの2穴ずつに参照陽性抗原、参照陰性抗原及び指示陰性抗原をそれぞれ 50 μ L ずつ加え、1.1.2の試験方法を準用して試験を行う。

1.2.3 判定

対照抗原の平均吸光度値を算出する。

参照陽性抗原及び参照陰性抗原のそれぞれの平均吸光度値から指示陰性抗原の平均吸光度値を差し引いた値は、それぞれ 0.70 以上であって 1.80 以下及び 0.20 未満でなければならない。

付記 1 参照陽性抗原

牛ウイルス性下痢ウイルス 1 型を牛ウイルス性下痢ウイルス陰性の牛血清で希釈したもので、1.2 の試験を準用して試験を行うとき、その値が 0.70 以上であって 1.80 以下を示すもの。

付記 2 参照陰性抗原

牛ウイルス性下痢ウイルス陰性の牛血清であって、1.2 の試験を準用して試験を行うとき、その値が 0.20 未満を示すもの。