

# 牛伝染性リンパ腫診断用沈降反応抗原

令和2年6月30日（告示第1246号）一部改正

牛伝染性リンパ腫ウイルス持続感染細胞より得たウイルス液を不活化した後、濃縮して調製した寒天ゲル内沈降反応抗原である。

## 1 小分製品の試験

### 1.1 同定試験

#### 1.1.1 試験材料

試験品、指示血清、参照陽性血清（付記1）、感染牛血清（付記2）、非感染牛血清（付記3）及び寒天平板（付記4）を用いる。

#### 1.1.2 試験方法

寒天平板の所定の穴に試験材料をそれぞれ50 $\mu$ Lずつ満たし、湿度を保ちながら、水平に静置して96時間反応させる。

#### 1.1.3 判定

指示血清、参照陽性血清及び感染牛血清との間に明瞭な沈降線を生じ、それらは互いに融合しなければならず、非感染牛血清に対しては、沈降線を生じてはならない。

## 1.2 力価試験

### 1.2.1 試験材料

試験品、参照抗原（付記5）及び抗血清アガロース平板（付記6）を用いる。

### 1.2.2 試験方法

抗血清アガロース平板の所定の穴に試験品並びに8単位及び12単位の参照抗原をそれぞれ35 $\mu$ Lずつ満たし、常温で湿度を保ちながら水平に静置して96時間反応させる。

### 1.2.3 判定

穴の周囲に形成されたリングの直径の2乗又は長径と短径の積をそれぞれの反応値とする。

各回の参照抗原8単位と12単位との反応値の差 $b'$ を求め、その累和 $\Sigma b'$ の値が回帰係数 $b$ の管理限界（付記7）内にあることを確認する。管理限界をはずれる場合は、試験条件を確認した後、再試験する。

次に、各回の試験品と参照抗原8単位との反応値の差 $Y'$ を求め、その累和 $\Sigma Y'$ との値が、逐次検定表（付記8）の合格域にあるときは、次式において試験品の力価（XT）を求める。

$$X T = 8 + 4 \times \frac{\Sigma Y'}{\Sigma b'}$$

試験品の力価は、8～10単位でなければならない。

判定に際し、 $\Sigma Y'$ 値が逐次検定表の検査続行の範囲内にあるときは、試験を12回まで繰り返して判定を行う。

## 付記1 参照陽性血清

牛伝染性リンパ腫ウイルス感染牛由来のgp抗体のみを含む抗牛伝染性リンパ腫ウイルス血清で、非働化したもの

力価を4～8単位に調整された参照陽性血清について、寒天平板を用いて沈降反応を行った場合、力価8単位の参照抗原に対し、明瞭な1本の沈降線を生ずる。

## 付記2 感染牛血清

適当と認められた抗牛伝染性リンパ腫ウイルス血清で、非働化したもの

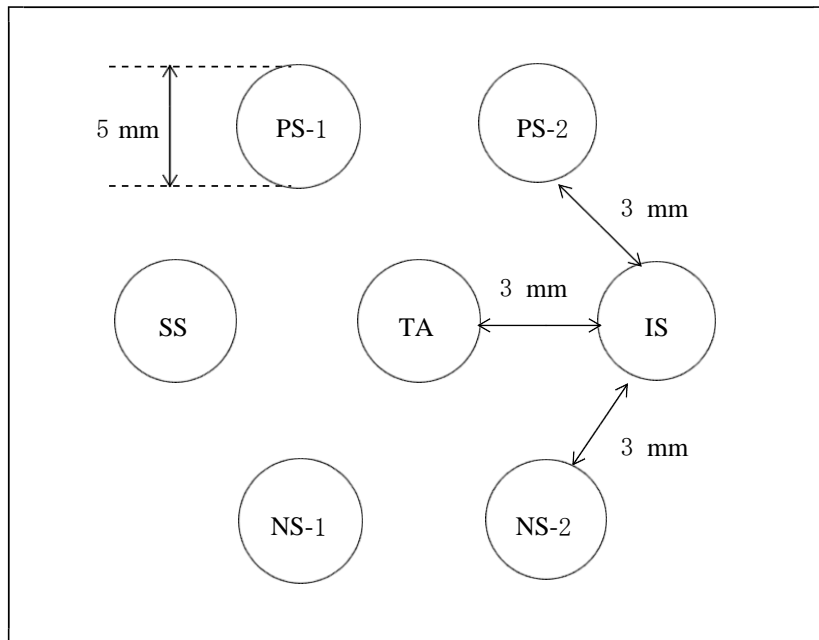
## 付記3 非感染牛血清

健康な牛由来の血清で、非働化したもの

#### 付記4 寒天平板

0.05mol/L トリス・塩酸緩衝液 (pH7.2) 100mL に8.5g の塩化ナトリウム、0.8g の寒天 (Noble Agar) 及び1 mL の10w/v %アジ化ナトリウム溶液を加え、沸騰水中で溶解させた後、スライドグラス上に5 mL 注加し、凝固させた後、下図のように穴をあけた平板である。

同定試験において試験材料を満たす穴



- TA : 試験品
- SS : 参照陽性血清
- IS : 指示血清
- PS-1 : 感染牛血清1
- PS-2 : 感染牛血清2
- NS-1 : 非感染牛血清1
- NS-2 : 非感染牛血清2

#### 付記5 参照抗原

牛伝染性リンパ腫ウイルス gp 抗原で、力価は8単位及び12単位に調整されたもの

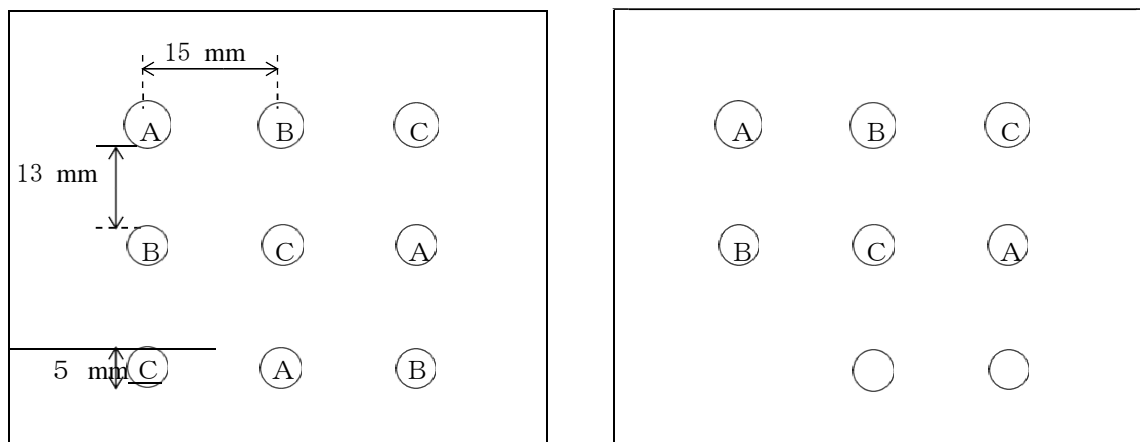
力価8単位及び12単位の抗原は抗血清アガロース平板を用いて沈降反応を行った場合、その反応値の累和 $\Sigma b'$ の値が回帰係数bの管理限界内にあるもの、また、力価8単位の抗原について、寒天平板を用いて沈降反応を行った場合、力価4～8単位の参照陽性血清に対して、明瞭な1本の沈降線を生ずる。

#### 付記6 抗血清アガロース平板

0.85w/v %の割合に塩化ナトリウムを含む0.05mol/L トリス・塩酸緩衝液 (pH7.2) に、アジ化ナトリウムを0.1w/v %となるように加えた後、アガロースを加え、沸騰水中で溶解させる。これを50℃に保温しながら、参照陽性血清を0.5単位となるように加え、十分混和した後、あらかじめ1 w/v %の寒天 (Noble Agar) 液をうすく塗布し、乾燥させたガラス板と清浄なガラス板とで組み合わせた平板容器 (縦70mm、横90mm、厚さ2 mm) 内に注入し、凝固させる。凝固させたアガロースは、平板容器のまま2～5℃で湿度を保ちながら一夜静置し、常温にもどしてから清浄なガラス板を除き、下図のようにして穴をあけた平板である。

ただし、アガロースの最終濃度は0.8w/v %である。

力価試験における試験材料を満たす穴



A : 12単位の参照抗原  
 B : 8単位の参照抗原  
 C : 試験品

付記7 回帰係数 b の管理限界

繰り返し 回数	$\Sigma b'$		
	下 限	平均	上 限
1	$\cong 14.61 \sim$	$18.00 \sim$	$\cong 21.35$
2	$\cong 29.21 \sim$	$36.00 \sim$	$\cong 42.79$
3	$\cong 43.82 \sim$	$54.00 \sim$	$\cong 64.18$
4	$\cong 58.42 \sim$	$72.00 \sim$	$\cong 85.58$
5	$\cong 73.03 \sim$	$90.00 \sim$	$\cong 106.97$
6	$\cong 87.63 \sim$	$108.00 \sim$	$\cong 128.37$
7	$\cong 102.24 \sim$	$126.00 \sim$	$\cong 149.76$
8	$\cong 116.84 \sim$	$144.00 \sim$	$\cong 171.16$
9	$\cong 131.45 \sim$	$162.00 \sim$	$\cong 192.55$
10	$\cong 146.05 \sim$	$180.00 \sim$	$\cong 213.95$
11	$\cong 160.66 \sim$	$198.00 \sim$	$\cong 235.34$
12	$\cong 175.25 \sim$	$216.00 \sim$	$\cong 256.74$

付記8 逐次検定法 ( $\Sigma Y'$ )

繰り返し回数	低力価 不合格域	検査続行域	合格域	検査続行域	高力価 不合格域
1	$\leq -26.63$	$-26.62 \sim$		$\sim 26.62$	$\geq 26.63$
2	$\leq -39.01$	$-39.00 \sim -10.53$	$-10.52 \sim 10.52$	$10.53 \sim 39.00$	$\geq 39.01$
3	$\leq -51.39$	$-51.38 \sim -22.91$	$-22.90 \sim 22.90$	$22.91 \sim 51.38$	$\geq 51.39$
4	$\leq -63.77$	$-63.76 \sim -35.29$	$-35.28 \sim 35.28$	$35.29 \sim 63.76$	$\geq 63.77$
5	$\leq -76.15$	$-76.14 \sim -47.67$	$-47.66 \sim 47.66$	$47.67 \sim 76.14$	$\geq 76.15$
6	$\leq -88.53$	$-88.52 \sim -60.05$	$-60.04 \sim 60.04$	$60.05 \sim 88.52$	$\geq 88.53$
7	$\leq -100.91$	$-100.90 \sim -72.43$	$-72.42 \sim 72.42$	$72.43 \sim 100.90$	$\geq 100.91$
8	$\leq -113.29$	$-113.28 \sim -84.81$	$-84.80 \sim 84.80$	$84.81 \sim 113.28$	$\geq 113.29$
9	$\leq -125.67$	$-125.66 \sim -97.19$	$-97.18 \sim 97.18$	$97.19 \sim 125.66$	$\geq 125.67$
10	$\leq -138.05$	$-138.04 \sim -109.57$	$-109.56 \sim 109.56$	$109.57 \sim 138.04$	$\geq 138.05$
11	$\leq -150.43$	$-150.42 \sim -121.95$	$-121.94 \sim 121.94$	$121.95 \sim 150.42$	$\geq 150.43$
12	$\leq -162.81$	$-162.80 \sim -134.33$	$-134.32 \sim 134.32$	$134.33 \sim 162.80$	$\geq 162.81$