

オーエスキー病ウイルス糖たん白 g I 抗体識別用酵素抗体反応 キット（抗体吸着・抗原－ペルオキシダーゼ標識抗体）

令和2年2月5日（告示第231号）一部改正

オーエスキー病ウイルスの糖たん白 gI に対するモノクローナル抗体をプレートに吸着させ、オーエスキー病ウイルス抗原と結合させたペルオキシダーゼ標識抗体を用いて酵素抗体法によりオーエスキー病ウイルス糖たん白 gI 抗体を識別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

指示陽性血清、指示陰性血清、抗オーエスキー病ウイルス糖たん白 gI モノクローナル抗体吸着プレート（以下「マイクロプレート」という。）、抗原－ペルオキシダーゼ標識モノクローナル抗体混合液（以下「抗原－抗体混合液」という。）、基質液及び停止液を用いる。

1.1.2 試験方法

マイクロプレートの各4穴に指示陽性血清及び指示陰性血清をそれぞれ50 μ L ずつ入れる。抗原－抗体混合液を50 μ L ずつ加え、プレートを密封して37℃で2時間反応させる。洗浄液（付記1）で5回洗浄した後、各穴に基質液を100 μ L ずつ加え、25℃暗所で30分間反応させる。その後、直ちに各穴に停止液を100 μ L ずつ加え反応を停止させ、450nm の波長で水を対照としてそれぞれの吸光度値を測定する。

1.1.3 判定

指示陰性血清の吸光度値は、0.8以上でなければならない。

指示陰性血清の平均吸光度値の50%を境界値とする。指示陽性血清の吸光度値は、境界値－境界値の15%未満でなければならない。

1.2 特異性試験

1.2.1 試験材料

1.2.1.1 被検材料

マイクロプレート、抗原－抗体混合液、基質液及び停止液を用いる。

1.2.1.2 対照血清

抗糖たん白 gI 欠損オーエスキー病ウイルス血清（付記2）、抗豚熱ウイルス血清（付記3）、抗豚丹毒血清（付記4）、参照陽性血清（付記5）及び参照陰性血清（付記6）を用いる。

1.2.2 試験方法

マイクロプレートの各4穴にそれぞれの対照血清を50 μ L ずつ入れる。抗原－抗体混合液を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

抗糖たん白 gI 欠損オーエスキー病ウイルス血清、抗豚熱ウイルス血清、抗豚丹毒血清及び参照陰性血清の吸光度値は、それぞれ0.8以上でなければならない。

参照陰性血清の平均吸光度値の50%を境界値とする。参照陽性血清の吸光度値は、境界値－境界値の15%未満でなければならない。

1.3 力価試験

1.3.1 試験材料

1.3.1.1 被検材料

マイクロプレート及び抗原－抗体混合液、基質液及び停止液を用いる。

1.3.1.2 対照血清

参照陽性血清及び参照陰性血清を用いる。

1.3.2 試験方法

参照陽性血清をリン酸緩衝食塩液で2倍階段希釈し、参照陰性血清とともに1.2.2を準用して試験を行う。ただし、各希釈について2穴を使用する。

1.3.3 判定

平均吸光度値が参照陰性血清の平均吸光度値の50%以下を示す参照陽性血清の最高希釈倍数をgI力価とする。参照陽性血清のgI力価は、8～32倍でなければならない。

付記1 洗浄液

ポリソルベート80 0.5mLに水を加えて1,000mLとしたもの

付記2 抗糖蛋白gI欠損オーエスキー病ウイルス血清

糖蛋白gIを欠損したオーエスキー病ウイルスで免疫した豚の血清で、中和抗体価128倍以上のもの

ただし、免疫に用いる豚は、適当と認められた規格の豚を用いる。

付記3 抗豚熱ウイルス血清

豚熱ウイルスGPE株で免疫した豚の血清で、中和抗体価64倍以上のものただし、免疫に用いる豚は、適当と認められた規格の豚を用いる。

付記4 抗豚丹毒血清

アクリフラビン耐性弱毒豚丹毒菌小金井株65-0.15株で免疫した豚の血清で、生菌発育凝集価32倍以上のもの

ただし、免疫に用いる豚は、適当と認められた規格の豚を用いる。

付記5 参照陽性血清

オーエスキー病ウイルス山形S81株で免疫した豚の血清で、中和抗体価が64倍以上のものただし、免疫に用いる豚は、適当と認められた規格の豚を用いる。

付記6 参照陰性血清

オーエスキー病ウイルスに対する抗体を保有しない豚の血清