

# オーエスキー病ウイルス糖たん白 g X 抗体識別用酵素抗体反応 キット

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糖たん白 gX 遺伝子を挿入した大腸菌から抗原を精製してプレートに吸着させ、酵素抗体法によりオーエスキー病ウイルス糖たん白 gX 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

指示陽性血清及び指示陰性血清を用いる。

##### 1.1.1.2 反作用抗原

抗原吸着プレートを用いる。

##### 1.1.1.3 標識抗体

酵素標識抗体希釈液11mL に濃縮酵素標識抗体0.05mL を加えて調製したペルオキシダーゼ標識抗オーエスキー病ウイルス糖たん白 gX モノクローナル抗体（以下「標識抗体」という。）を用いる。

#### 1.1.2 試験方法

指示陽性血清及び指示陰性血清を抗原吸着プレートの各3穴に、100 $\mu$ Lずつ入れる。blankとして血清希釈液を抗原吸着プレートの2穴に100 $\mu$ Lずつ入れる。抗原吸着プレートを密閉して20～25 $^{\circ}$ Cで40分間反応させる。濃縮洗浄液を水で20倍に希釈した洗浄液で4回洗浄を行った後、標識抗体を100 $\mu$ Lずつ各穴に入れ、密閉して20～25 $^{\circ}$ Cで40分間反応させる。洗浄液で4回洗浄を行った後、1本の1、2-フェニレンジアミン二塩酸塩希釈液を混ぜ、2分間静置して調製した基質液100 $\mu$ Lずつを各穴に入れ、密閉して20～25 $^{\circ}$ Cの暗所で15分間反応させる。反応終了後直ちに、反応停止液を50 $\mu$ Lずつ各穴に入れ、492nmの波長でそれぞれの吸光度値を測定する。

#### 1.1.3 判定

指示陰性血清の平均吸光度値（付記1）は、0.8以上でなければならない。また、指示陰性血清の平均吸光度値から指示陽性血清の平均吸光度値を引いた値は、0.6以上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

抗原吸着プレートを用いる。

##### 1.2.1.2 対照血清

抗豚熱ウイルス血清（付記2）、抗糖たん白 gX 欠損オーエスキー病ウイルス血清（付記3）、抗豚丹毒血清（付記4）、参照陽性血清（付記5）、参照陰性血清（付記6）をそれぞれ血清希釈液で等量に希釈したもの及び指示陰性血清を用いる。

##### 1.2.1.3 標識抗体

1.1.1.3の標識抗体を用いる。

#### 1.2.2 試験方法

抗原吸着プレートの各4穴にそれぞれの対照血清を100 $\mu$ Lずつ入れ、1.1.2を準用して試験を行う。

#### 1.2.3 判定

参照陽性血清の吸光度率（付記7）は40%以下でなければならない。抗豚熱ウイルス血清、抗糖たん白 gX 欠損オーエスキー病ウイルス血清、抗豚丹毒血清及び参照陰性血清の吸光度率は、75%以上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

抗原吸着プレートを用いる。

#### 1.3.1.2 対照血清

参照陽性血清、参照陰性血清及び指示陰性血清を用いる。

#### 1.3.1.3 標識抗体

1.1.1.3 の標識抗体を用いる。

### 1.3.2 試験方法

参照陽性血清を参照陰性血清で2倍階段希釈し、等量の血清希釈液と混合したものをそれぞれ抗原吸着プレートの2穴に100 $\mu$ Lずつ入れ、指示陰性血清と共に1.1.2を準用して試験を行う。

### 1.3.3 判定

吸光度率が70%未満となる参照陽性血清の最高希釈倍数を gX 力価とする。

参照陽性血清の gX 力価は、8～32倍でなければならない。

#### 付記1 平均吸光度値

平均吸光度値は下記の計算式により算出する。

被検材料の吸光度値＝被検材料の読み取り値－（各ブランクの読み取り値の和／ブランク穴数）

平均吸光度値＝被検材料の各吸光度値の和／被検材料の穴数

#### 付記2 抗豚熱ウイルス血清

豚熱ウイルス GPE<sup>+</sup>株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 抗糖蛋白 gX 欠損オーエスキー病ウイルス血清

糖蛋白 gX 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4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16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

#### 付記7 吸光度率

吸光度率は下記の計算式により算出する。

吸光度率（%）＝（被検血清の平均吸光度値／指示陰性血清の平均吸光度値）×100