

馬伝染性貧血診断用酵素抗体反応キット

馬伝染性貧血ウイルスを培養細胞で増殖させて得たウイルス液を濃縮し、エーテル処理した後、透析した抗原をプレートに吸着させ、酵素抗体法により馬伝染性貧血ウイルス抗体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

指示陽性血清、指示弱陽性血清及び指示陰性血清を用いる。

1.1.1.2 反应用抗原

抗原吸着プレートを用いる。

1.1.1.3 標識抗体

ペルオキシダーゼ標識抗馬 IgG(H + L) 山羊抗体 (以下「標識抗体」という。) を用いる。

1.1.2 試験方法

抗原吸着プレートを洗浄液 (付記 1) で 2 回洗浄し、ブロッキング剤 (付記 2) を全ての穴に 100 μ L ずつ加え、37 $^{\circ}$ C で 60 分間反応させた後、洗浄液で 3 回洗浄する。指示陽性血清、指示弱陽性血清及び指示陰性血清をそれぞれ血清希釈液 (付記 3) で 800 倍に希釈したものそれぞれを、プレートに 50 μ L ずつ 6 穴以上に加え、37 $^{\circ}$ C で 40 分間反応させる。ブランクには何も入れない。プレートを洗浄液で 3 回洗浄後、標識抗体を酵素標識抗体希釈液 (付記 4) で 500 倍に希釈したものをブランクを除く全穴に 50 μ L ずつ加え、37 $^{\circ}$ C で 20 分間反応させる。プレートを洗浄液で 3 回洗浄後、基質・発色剤 (付記 5) をブランクを含む全穴に 50 μ L ずつ加え、常温で 10 分間反応させた後、反応停止液 (付記 6) を 50 μ L ずつ加え、主波長 450nm 副波長 550 ~ 600nm で各穴の吸光度値を測定する。

1.1.3 判定

指示陽性血清の平均吸光度値は、0.7 以上でなければならず、指示陰性血清の平均吸光度値は、0.3 未満でなければならない。指示弱陽性血清の平均吸光度値は、指示陽性血清の平均吸光度値未満であり、指示陰性血清の平均吸光度値を超えなければならない。

1.2 力価試験

1.2.1 試験材料

1.2.1.1 被検材料

抗原吸着プレートを用いる。

1.2.1.2 参照血清

参照陽性血清 (付記 7) 及び参照陰性血清 (付記 8) を用いる。

1.2.1.3 抗体

1.1.1.3 の標識抗体を用いる。

1.2.2 試験方法

抗原吸着プレートを洗浄液で 2 回洗浄し、ブロッキング剤を全ての穴に 100 μ L ずつ加え、37 $^{\circ}$ C で 60 分間反応させた後、3 回洗浄する。参照陽性血清及び参照陰性血清をそれぞれ血清希釈液で 800 倍に希釈したものをプレートの 6 穴以上に加え、37 $^{\circ}$ C で 40 分間反応させる。ブランクには何も入れない。プレートを洗浄液で 3 回洗浄後、標識抗体を酵素標識抗体希釈液で 500 倍に希釈したものをブランクを除く全穴に 50 μ L ずつ加え、37 $^{\circ}$ C で 20 分間反応させる。プレートを洗浄液で 3 回洗浄後、基質・発色剤をブランクを含む全穴に 50 μ L ずつ加え、常温で 10 分間反応させた後、反応停止液を 50 μ L ずつ加え、主波長 450nm 副波長 550 ~ 600nm で各穴の吸光度値を測定する。

1.2.3 判定

参照陽性血清の平均吸光度値は、0.3以上でなければならず、参照陰性血清の平均吸光度値は、0.3未満でなければならない。

付記 1 洗淨液

生理食塩液にポリソルベート80を0.05vol%となるように加えたもの

付記 2 ブロッキング剤

水にゼラチンを1 w/v%となるように加えたもの

付記 3 血清希釈液

リン酸緩衝食塩液に牛血清アルブミンフラクションVを1 w/v%となるように加えたもの

付記 4 酵素標識抗体希釈液

リン酸緩衝食塩液にポリソルベート20を0.05vol%となるように加えたもの

付記 5 基質・発色剤

市販の基質・発色剤

付記 6 反応停止液

0.5mol/Lの硫酸

付記 7 参照陽性血清

馬伝染性貧血ウイルスに感染した馬の血清を吸光度値が0.472程度となるように健康馬の血清で希釈したもの

付記 8 参照陰性血清

馬伝染性貧血ウイルスに対する抗体を持たない健康馬血清で、吸光度値が0.3未満のもの