

# 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）

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、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

指示陽性血清及び指示陰性血清を用いる。

##### 1.1.1.2 反作用抗原

不活化オーエスキー病ウイルスを用いる。

##### 1.1.1.3 反作用抗体

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を用いる。

##### 1.1.1.4 標識抗体

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 gI 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

マイクロプレートの4穴に指示陽性血清を、6穴に指示陰性血清を50 $\mu$ Lずつ入れる。指示陽性血清及び指示陰性血清を分注した各4穴には抗原液を50 $\mu$ Lずつ、指示陰性血清を分注した残り2穴はブランクとして反作用緩衝液（付記1）を50 $\mu$ Lずつそれぞれ加え、混和した後、プレートを密閉して37 $^{\circ}$ Cで2時間反応させる。洗浄液（付記2）で5回及び水で1回洗浄した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に反応の終了した被検材料を50 $\mu$ Lずつ入れる。各穴に標識抗体を50 $\mu$ Lずつ加え、密閉後、37 $^{\circ}$ Cで60分間反応させる。洗浄液で3回及び水で1回洗浄した後、各穴に基質液（付記3）を100 $\mu$ Lずつ加え、常温で15分間反応させる。その後、直ちに各穴に停止液（付記4）を100 $\mu$ Lずつ加え反応を停止させ、450nm の波長でそれぞれの吸光度値を測定する。

### 1.1.3 判定

ブランクの平均吸光度値は、0.2以下でなければならず、指示陰性血清の4穴の吸光度値は、それぞれ1.0以上でなければならない。また、指示陽性血清の平均吸光度値は、指示陰性血清の平均吸光度値の50%以下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及び標識抗体を用いる。

#### 1.2.1.2 対照血清

抗豚熱ウイルス血清（付記5）、抗糖たん白gI 欠損オーエスキー病ウイルス血清（付記6）、抗豚丹毒血清（付記7）、参照陽性血清（付記8）及び参照陰性血清（付記9）を用いる。

### 1.2.1.3 反作用抗原

1.1.1.2 の反作用抗原を用いる。

### 1.2.2 試験方法

マイクロプレートの各3穴にそれぞれの対照血清を50 $\mu$ L ずつ入れる。抗原液を50 $\mu$ 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

抗豚熱ウイルス血清、抗糖たん白gI 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3穴の吸光度値は、それぞれ1.0以上、参照陽性血清の3穴の吸光度値は、いずれも0.4以下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

抗オーエスキー病ウイルス糖蛋白 gI モノクローナル抗体吸着プレート及び標識抗体を用いる。

### 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。

### 1.3.1.3 抗原

1.1.1.2 の抗原を用いる。

### 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。

### 1.3.3 判定

参照陰性血清の吸光度値の50%以下を示す参照陽性血清の吸光度値の希釈倍数を 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 反应用緩衝液

1,000mL 中

無水リン酸水素二ナトリウム	1.15 g
リン酸二水素カリウム	0.2 g
塩化カリウム	0.2 g
塩化ナトリウム	5.9 g
牛血清アルブミン	10 g
ポリソルベート80	0.5 g
水	残量

### 付記2 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3 基質液

A 液 2

mL 中

テトラメチルベンチジン	12 mg
ジメチルスルホキシド	残量

B液

1,000mL 中

酢酸ナトリウム	9.02 g
水	残量

飽和クエン塩酸を用いて pH を5.5に調整する。

A液0.125mL と B液10mL に 3 vol %過酸化水素水溶液0.01mL を加えて調製したもの

### 付記4 停止液

水1,000mL に濃硫酸110mL を加えたもの

付記5 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 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7 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8 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9 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