

オーエスキー病ウイルス糖たん白 g III 抗体識別用酵素抗体反応キット

オーエスキー病ウイルス糖たん白 g III 遺伝子を挿入した牛伝染性鼻気管炎ウイルスを不活化した抗原をマイクロストリップに吸着させ、酵素抗体法によりオーエスキー病ウイルス糖たん白 g III 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 抗原

抗原吸着マイクロストリップを用いる。

1.1.1.3 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 g III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

抗原吸着マイクロストリップの各4穴に指示陰性血清及び指示陽性血清を100 μ Lずつそれぞれ入れ、別に4穴をブランクとする。マイクロストリップを密閉して23~25 $^{\circ}$ Cで2時間反応させる。洗浄液（付記1）で3回洗浄を行った後、洗浄液を除去する。ブランク以外の各穴に標識抗体を100 μ Lずつ加え、23~25 $^{\circ}$ Cで30分間反応させる。その後、洗浄液でマイクロストリップを5回洗浄し、洗浄液を除去する。常温の基質液I及びIIを等量ずつ混合し、その混合液100 μ Lずつをブランクを合む各穴に入れる。23~25 $^{\circ}$ Cで20分間反応後、停止液を50 μ Lずつ各穴に加え反応を停止させ、630nmの波長で各穴の吸光度を測定する。

1.1.3 判定

指示陰性血清の吸光度値は、いずれも0.5~1.2でなければならず、指示陰性血清に対する指示陽性血清の吸光度値の比は、0.64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

抗原吸着マイクロストリップを用いる。

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 g III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）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

抗原吸着マイクロストリップの各穴にそれぞれの対照血清を100 μ Lずつ入れ、1.1.2を準用して試験を行う。

1.2.3 判定

指示陰性血清に対して抗豚熱ウイルス血清、抗糖たん白 g III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値の比は、0.75以上でなければならず、参照陽性血清の吸光度値の比は、0.64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

抗原吸着マイクロストリップを用いる。

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 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1.1.2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が50%以下となる参照陽性血清の最高希釈倍数をg III力価とする。

参照陽性血清のg III力価は、4～32倍でなければならない。

付記1 洗浄液

塩化ナトリウム8.8g、トリスアミノメタン6.1g 及びエチレンジアミン四酢酸0.3g を水で溶解し、1,000mL とし、pH を7.2に調整したもの

付記2 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3 抗糖蛋白g III欠損オーエスキー病ウイルス血清

糖蛋白g III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8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