

# 鳥インフルエンザ診断用酵素標識抗体反応キット（競合法）

鳥インフルエンザウイルスを不活化した抗原をプレートに吸着させ、競合酵素抗体法により鳥インフルエンザ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

キットを用いる。

#### 1.1.2 試験方法

抗原吸着プレートの2穴に指示陽性血清及び指示陰性血清をそれぞれ  $100\ \mu\text{L}$  ずつ分注し  $18\sim 26^\circ\text{C}$  で  $60\pm 5$  分間反応させた後、約  $350\ \mu\text{L}$  の洗浄液を用いて、抗原吸着プレートを5回洗浄する。コンジュゲートを  $100\ \mu\text{L}$  ずつ分注し  $18\sim 26^\circ\text{C}$  で  $30\pm 2$  分間反応させた後、約  $350\ \mu\text{L}$  の洗浄液を用いて、抗原吸着プレートを5回洗浄する。TMB 溶液を  $100\ \mu\text{L}$  ずつ分注し  $18\sim 26^\circ\text{C}$  で  $15\pm 1$  分間反応させた後、反応停止液を  $100\ \mu\text{L}$  ずつ分注する。波長  $650\text{nm}$  で吸光度を測定する。

#### 1.1.3 判定

指示陰性血清の平均 OD 値は  $0.600$  以上、指示陽性血清の平均 OD 値と指示陰性血清の平均 OD 値の比は、 $0.50$  未満でなければならない。

## 1.2 力価試験

### 1.2.1 試験材料

#### 1.2.1.1 被検材料

キットを用いる。

#### 1.2.1.2 参照血清

3種類の参照血清（パネル A～C）（付記1）を用いる。

### 1.2.2 試験方法

抗原吸着プレートの2穴に3種類の参照血清（パネル A～C）及び指示陰性血清をそれぞれ  $100\ \mu\text{L}$  ずつ分注し  $18\sim 26^\circ\text{C}$  で  $60\pm 5$  分間反応させた後、約  $350\ \mu\text{L}$  の洗浄液を用いて、抗原吸着プレートを5回洗浄する。コンジュゲートを  $100\ \mu\text{L}$  ずつ分注し  $18\sim 26^\circ\text{C}$  で  $30\pm 2$  分間反応させた後、約  $350\ \mu\text{L}$  の洗浄液を用いて、抗原吸着プレートを5回洗浄する。TMB 溶液を  $100\ \mu\text{L}$  ずつ分注し  $18\sim 26^\circ\text{C}$  で  $15\pm 1$  分間反応させた後、反応停止液を  $100\ \mu\text{L}$  ずつ分注する。波長  $650\text{nm}$  で吸光度を測定し、各参照血清の平均吸光度を S、指示陰性血清の平均吸光度を N とし、S/N 比を算出する。

### 1.2.3 判定

パネル A の S/N 比は  $0.70$  以上  $1.30$  以下、パネル B の S/N 比は  $0.05$  以上  $0.50$  以下、パネル C の S/N 比は  $0.40$  以下でなければならない。

## 付記1 参照血清

抗 A 型インフルエンザウイルス抗体陽性鶏血清（SPF 鶏を A 型インフルエンザウイルス（H9N2 Turkey/Wisconsin/1966）株で免疫して得られた血清で 1.2 の試験を準用して試験を行うとき、S/N 比が  $0.30$  以下を示すもの）及び抗 A 型インフルエンザウイルス抗体陰性鶏血清（抗 A 型インフルエンザウイルス抗体陰性が確認されている鶏血清で 1.1 の試験を準用して試験を行うとき、OD 値が  $0.900\sim 1.500$  を示すもの）を用いて製する血清である。 $-20^\circ\text{C}$  以下で保存する。

パネル A 抗 A 型インフルエンザウイルス抗体陰性鶏血清を用いて、1.2 の試験を準用して

試験を行うとき、S/N 比が 0.70~1.30 を示すもの。

パネル B 1.2 の試験を準用して試験を行うとき、S/N 比が 0.05~0.50 を示すように抗 A 型インフルエンザウイルス抗体陽性鶏血清を抗 A 型インフルエンザウイルス抗体陰性鶏血清で希釈したもの。

パネル C 1.2 の試験を準用して試験を行うとき、S/N 比が 0.40 以下を示すように抗 A 型インフルエンザウイルス抗体陽性鶏血清を抗 A 型インフルエンザウイルス抗体陰性鶏血清で希釈したもの。