

# ヨ一ネ病診断用抗原固相化酵素抗体反応キット（予備的検出用）

平成 20 年 6 月 6 日（告示第 914 号）新規追加  
令和 8 年 3 月 26 日（告示第 428 号）一部改正

マイコバクテリウム・アビウムの菌体から抽出した抗原をプレートに固相化し、加熱処理マイコバクテリウム・フレイの菌体から抽出した抗原を吸収剤として処理した血清について、酵素抗体法により特異抗体を予備的に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

試験品を用いる。

#### 1.1.2 試験方法

指示陽性血清及び指示陰性血清を、試料希釈吸収液でそれぞれ20倍に希釈し、 $21 \pm 5^\circ\text{C}$ で15分間吸収させる。吸収した各血清を抗原固相化マイクロプレートの各4ウェルに $100 \mu\text{L}$ ずつ分注し、 $21 \pm 5^\circ\text{C}$ で45分間反応させる。プレートを洗浄液（付記1）で3回洗浄後、標識抗体希釈液で100倍に希釈したペルオキシダーゼ標識抗体液を各ウェルに $100 \mu\text{L}$ ずつ加え、 $21 \pm 5^\circ\text{C}$ で30分間反応させる。プレートを洗浄液で3回洗浄後、発色液を各ウェルに $100 \mu\text{L}$ ずつ加え、遮光して $21 \pm 5^\circ\text{C}$ で10分間反応させた後、反応停止液を各ウェルに $100 \mu\text{L}$ ずつ加え、 $450\text{nm}$ で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 $0.7 \sim 2.0$ であり、指示陽性血清の平均吸光度値と指示陰性血清の平均吸光度値の比は $7.0$ 以上でなければならない。

## 1.2 特異性試験

### 1.2.1 特異性試験 1

#### 1.2.1.1 試験材料

試験品（指示陽性血清を除く。）、参照陽性血清（付記2）及び特異性検定用血清（付記3）を試験材料とする。

#### 1.2.1.2 試験方法

1.1.2を準用して指示陰性血清、参照陽性血清及び特異性検定用血清の吸光度値を測定する。

#### 1.2.1.3 判定

特異性検定用血清の参照陽性血清に対するS/P値（付記4）を求める。

特異性検定用血清の参照陽性血清に対するS/P値は、 $50$ 未満でなければならない。

### 1.2.2 特異性試験 2

#### 1.2.2.1 試験材料

試験品及び特異性検定用血清を試験材料とする。

#### 1.2.2.2 試験方法

1.1.2を準用して指示陽性血清、指示陰性血清及び特異性検定用血清の吸光度値を測定する。

#### 1.2.2.3 判定

1.2.1.3によりS/P値を求める。ただし、Pは指示陽性血清の平均吸光度値とする。

特異性検定用血清の指示陽性血清に対するS/P値は、 $50$ 未満でなければならない。

## 1.3 力価試験

### 1.3.1 試験材料

試験品（指示陽性血清を除く。）、参照陽性血清及び力価検定用血清（付記5）を用いる。

### 1.3.2 試験方法

1.1.2を準用して指示陰性血清、参照陽性血清及び力価検定用血清の吸光度値を測定する。ただし、力価検定用血清は試料希釈吸収液で20倍に希釈する。

### 1.3.3 判定

1.2.1.3により力価検定用血清のS/P値を算出する。ただし、Tは力価検定用血清の希釈液の平均吸光度値とする。

力価検定用血清の参照陽性血清に対するS/P値は、31～61でなければならない。

#### 付記1 洗浄液

濃縮洗浄液を水で20倍に希釈したもの

#### 付記2 参照陽性血清

マイコバクテリウム・パラツベルクローシス感染牛から得た血清を、1.1を準用して試験を行うとき吸光度値が0.7～2.0を示すようにマイコバクテリウム・パラツベルクローシス非感染牛血清を用いて調製したもの

#### 付記3 特異性検定用血清

マイコバクテリウム・フレイ5865-KB株の培養菌を不活化後、水酸化アルミニウムゲルアジュバントを混合して健康牛に注射し、4週間後に採血した血清で、1.2.2を準用して試験を行うとき50未満のS/P値を示すように、ヨーネ病陰性と診断された健康な牛由来の血清を用いて調製したもの

#### 付記4 S/P値

特異性検定用血清の平均吸光度値をT、参照陽性血清の平均吸光度値をP、及び指示陰性血清の平均吸光度値をNとして、S/P値は下記の計算式により算出する。

$$S/P値 = \frac{100 \times (T - N)}{(P - N)}$$

#### 付記5 力価検定用血清

マイコバクテリウム・パラツベルクローシス感染牛から得た血清を、1.2.2を準用して試験を行うときS/P値が31～61を示すようにマイコバクテリウム・パラツベルクローシス非感染牛血清を用いて調製したもの