

** ご使用の際は、電子化された添付文書をよくお読みください

クラスⅢ免疫検査用シリーズ
エコーウイルスキット

エコーウイルスNT試薬「生研」

1型, 3型, 4型, 5型, 6型, 7型, 9型, 11型, 12型,
13型, 14型, 16型, 17型, 18型, 19型, 22型, 24型, 25型, 30型

【全般的な注意】

1. 本品は、体外診断用医薬品であり、それ以外の目的に使用しないでください。
2. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
- ** 3. 電子化された添付文書に記載された操作法に従って使用してください。記載された操作法及び使用目的以外での使用については、結果の信頼性を保証致しません。
- ** 4. 使用する機器の電子化された添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。

【形状・構造等(キットの構成)】

構成製品

- 1型, 3型, 4型, 5型, 6型, 7型, 9型, 11型, 12型, 13型,
14型, 16型, 17型, 18型, 19型, 22型, 24型, 25型, 30型
・エコーウイルス各型中和用抗血清 各1mL分×1本
エコーウイルス各型中和抗体(ウサギ免疫グロブリン)を含みます。

各血清は下記の血清型のうち、表示ラベルに記載の型を検出対象とします。

- 1型, 3型, 4型, 5型, 6型, 7型, 9型, 11型, 12型, 13型,
14型, 16型, 17型, 18型, 19型, 22型, 24型, 25型, 30型

【使用目的】

ヒト又は動物より分離したエコーウイルスの中和試験による
同定

【測定原理】

エコーウイルス中和用抗血清と分離ウイルスを反応させ細胞に接種し、ウイルスの増殖の有無を確認することにより判定します¹⁾ 2)。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質、採取法
検体は、「厚生省監修 微生物検査必携」³⁾等の方法に従って分離したウイルスを使用します。
2. 妨害物質・妨害薬剤
細胞増殖用培養液に加える子ウシ血清等は、非特異的中和活性がないことを確かめてから使用してください。
3. その他
 - 1) 本品を約20単位に希釈して使用した場合、GMK細胞に対する毒性はほとんど示しません。
 - 2) 培養細胞で中和試験を行いますので、器具類及び培養液などの滅菌、無菌的な操作に十分注意してください。
 - 3) エコーウイルス各型でも、分離株によっては中和されにくい場合があります。
 - 4) 攻撃ウイルスの力価が低い場合、非特異反応により、CPE^{*1}が出現しない場合がありますので、攻撃ウイルス量に注意してください。
※1: CPE; cytopathic effect 細胞変性効果

【用法・用量(操作方法)】

1. 準備する器具、機材
 - 1) 微量連続分注器及びチップ(50 μ L用～1 000 μ L用)
 - 2) マイクロピペット及びチップ(50 μ L用～1 000 μ L用)
 - 3) マイクロプレート(組織培養用、フタ付)
 - 4) 小試験管(用量5～7mL)
 - 5) 試験管ミキサー
 - 6) メスピペット
 - 7) マイクロプレート用ミキサー
 - 8) 炭酸ガス培養器(CO₂インキュベーター)
 - 9) 血球計算板
 - 10) カウンター
 - 11) 組織培養用倒立顕微鏡
2. 試薬の調製方法
 - 1) エコーウイルス各型中和用抗血清1本に滅菌精製水1mLを加えて溶解後、中和試験に使用する細胞増殖用培養液(以下「培養液」という)等で希釈して使用します。ラベルに表示の抗体価を20で割った数値で希釈すると約20単位の抗血清になります。希釈した抗血清は当日中に使用します。
 - 2) 細胞
GMK細胞などを事前に培養しておきます。
 - 3) 培養液
使用する細胞に適したもので、一般に子ウシ血清又はウシ胎児血清を加えて調製します。
3. 操作法
試験は、マイクロタイター法により行います。
 - 1) 事前に分離した被検ウイルスの感染価(TCID₅₀^{*2})を確認し、攻撃ウイルス液にするための希釈倍数を決めておきます。
 - 2) マイクロプレートのウェルに約20単位の抗血清を各型それぞれ2ウェル以上に50 μ L滴加します。
 - 3) 抗血清を滴加した各ウェルに100～320 TCID₅₀/50 μ Lに希釈した攻撃ウイルス液を50 μ L滴加し、フタをしてマイクロプレート用ミキサーで撹拌します。
 - 4) ウイルス対照は、攻撃ウイルス液を原液とし、10倍階段希釈を1万倍まで行います。各希釈列に4ウェル以上を用いて希釈ウイルス液を50 μ L滴加し、さらに培養液を50 μ L滴加します。
 - 5) 炭酸ガス培養器に入れ、35～37℃で1～2時間中和反応させます。
 - 6) 中和反応の時間中に細胞をトリプシン消化し、培養液で浮遊して、1～2×10⁵個/mLの細胞浮遊液を用意し、中和反応の終わった各ウェルに100 μ L滴加します。
 - 7) 炭酸ガス培養器に入れ35～37℃で5～7日間培養し、CPEの有無を観察して判定します。
※2: TCID₅₀; tissue culture infective dose for 50%

【測定結果の判定法】

完全にCPEの抑制を示した抗血清の型を当該ウイルスの型と判定します。

「判定上の注意」

CPEの観察は、必ず正常細胞の形状と比較しながら、毎日行ってください。

【性 能】

1. 感度
エコーウイルス各型を用いて中和試験を行ったとき、該当する型で1:320～1:640の中和抗体価を示します。
2. 正確性
他のエンテロウイルスの中和試験を行ったとき、反応しないか、又は反応しても1:80の中和抗体価よりも低値です。
3. 同時再現性
上記1. のエコーウイルスを用いて、3回、同時に中和試験を行ったとき、中和抗体価のぶれは1管差以内です。

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上(危険防止)の注意
 - 1) 本品は感染性の分離ウイルスを対象としていますので、検体の採取、操作、試料及び器具の廃棄の各場面において感染性のあるものとして取扱い、保護具(眼鏡、手袋、マスク等)を着用の上、十分注意して操作してください。なお、エコーウイルスはバイオセーフティレベル(BSL)2の病原体に該当します。
 - 2) 検体のウイルスを取り扱う際には、ウイルスが手指・衣服等に付着しないように注意し、付着した場合は速やかに消毒してください。
- * 3) 本品が、誤って目や口に入ったり皮膚に付着した場合には水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。
2. 使用上の注意
 - 1) 本品は防腐剤等を含んでいません。溶解時及び使用時には無菌的な操作に十分注意してください。
 - 2) ウイルスを希釈する場合は、すべての希釈段階ごとにピペット又はチップを交換してください。
 - 3) 本品は、指定された条件で保管し、使用期限を過ぎたものは使用しないでください。
 - 4) 容器のゴム栓は取り違えないようにしてください。
 - 5) 製造番号の異なる試薬を組み合わせたり、混ぜ合わせて使用しないでください。また、同一ロットの試薬であっても試薬間の注ぎ足しは測定誤差を生じる原因となりますので避けてください。
3. 廃棄上の注意
 - 1) 検体中には、感染性物質が存在する可能性がありますので、検体、廃液、使用済みの容器及び検査に使用したすべての器具類は、次のいずれかの方法で滅菌処理を行ってください。
 - (1) 最終濃度3.5vol%グルタルアルデヒド溶液に、30分以上浸漬する。
 - (2) 0.5w/v%次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素5 000ppm)に、1時間以上浸漬する。
 - (3) 121℃で、20分以上高圧蒸気滅菌をする。
 - 2) 試薬及び器具等を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理してください。

【貯蔵方法・有効期間】

- 1) 貯蔵方法 10℃以下に保存
- 2) 有効期間 1年
(ラベルに表示の使用期限内にご使用ください。)

【包装単位】

コードNo.	品 名	包 装
300690	エコーウイルスN T 試薬「生研」 1 型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300706	エコーウイルスN T 試薬「生研」 3 型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300713	エコーウイルスN T 試薬「生研」 4 型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300720	エコーウイルスN T 試薬「生研」 5 型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300737	エコーウイルスN T 試薬「生研」 6 型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300744	エコーウイルスN T 試薬「生研」 7 型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300751	エコーウイルスN T 試薬「生研」 9 型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300768	エコーウイルスN T 試薬「生研」 11型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300775	エコーウイルスN T 試薬「生研」 12型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300782	エコーウイルスN T 試薬「生研」 13型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300799	エコーウイルスN T 試薬「生研」 14型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300805	エコーウイルスN T 試薬「生研」 16型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300812	エコーウイルスN T 試薬「生研」 17型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300829	エコーウイルスN T 試薬「生研」 18型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300836	エコーウイルスN T 試薬「生研」 19型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300843	エコーウイルスN T 試薬「生研」 22型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300850	エコーウイルスN T 試薬「生研」 24型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300867	エコーウイルスN T 試薬「生研」 25型(凍結乾燥)	1mL分×1本
300874	エコーウイルスN T 試薬「生研」 30型(凍結乾燥)	1mL分×1本

【主要文献】

- 1) 国立予防衛生研究所学友会編:中和試験,ウイルス実験学,総論,改訂2版,丸善,260(1973)。
- 2) 国立予防衛生研究所学友会編:中和抗体価の測定,ウイルス実験学,各論,改訂2版,丸善,143(1982)。
- 3) 厚生省監修:エンテロウイルス,微生物検査必携,ウイルス・クラミジア・リケッチア検査,第3版,日本公衆衛生協会,各論1,148(1987)。

**【問い合わせ先】

デンカ株式会社 試薬学術担当
〒103-8338 東京都中央区日本橋室町二丁目1番1号
フリーダイヤル 0120-206-072
受付時間 9:00～17:00 (土日祝日・弊社休業日を除く)

* 製造販売元

デンカ株式会社
新潟県五泉市木越字鏡田1359番地1