体外診断用医薬品

＊＊2023年 4月改訂(第4版)
＊2020年 4月改訂(第3版)

承認番号　16200EZZ01504000

** 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
パラインフルエンザウイルスキット

パラインフルエンザウイルスＮＴ試薬「生研」

１型（ＨＡ－２），２型（ＣＡ），３型（ＨＡ－１），４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以外の使用方法については，結果の信頼性を保証致しません。

【形状・構造等(キットの構成)】

・１型(ＨＡ－２)
パラインフルエンザウイルス１型(ＨＡ－２)中和用抗血清　1mL分　1本
パラインフルエンザウイルス１型(ＨＡ－２)中和抗体(ウサギ免疫グロブリン)を含みます。
・２型(ＣＡ)
パラインフルエンザウイルス２型(ＣＡ)中和用抗血清　1mL分　1本
パラインフルエンザウイルス２型(ＣＡ)中和抗体(ウサギ免疫グロブリン)を含みます。
・３型(ＨＡ－１)
パラインフルエンザウイルス３型(ＨＡ－１)中和用抗血清　1mL分　1本
パラインフルエンザウイルス３型(ＨＡ－１)中和抗体(ウサギ免疫グロブリン)を含みます。
・４型
パラインフルエンザウイルス４型中和用抗血清　1mL分　1本
パラインフルエンザウイルス４型中和抗体(ウサギ免疫グロブリン)を含みます。

【使用目的】

ヒト又は動物より分離したパラインフルエンザウイルス各型の中和試験による同定

【測定原理】

パラインフルエンザ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
トリプシンに感受性が高い細胞では，細胞維持用培養液に加えるトリプシンの濃度によって，細胞が剥がれることがありますので注意してください。

３．その他
1) 本品は約20単位に希釈して使用した場合，Vero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) 同一型のパラインフルエンザウイルスでも，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
1) マイクロピペット及びチップ(100～1 000μL用)
2) ローラーチューブ及びゴム栓
3) 小試験管(容量5～7mL)
4) 試験管ミキサー
5) メスピペット
6) 培養器(孵卵器)
7) 斜位型試験管立
8) 組織培養用顕微鏡

２．試薬の調製
1) パラインフルエンザウイルス各型中和用抗血清各1本に滅菌精製水1mLずつ加えて溶解後，中和試験に使用する細胞維持用培養液でラベルに表示の抗体価を20で割った数値で希釈すると各々約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
ローラーチューブにVero細胞などを事前に培養しておきます。
3) 細胞維持用培養液
使用する細胞に適したもので，一般にウシ血清アルブミンを0.2w/v%加えて使用します。さらに，パラインフルエンザウイルス１型と４型の培養に用いる細胞維持用培養液には，結晶トリプシンを1mg/mLの割合で生理食塩液に溶解したものを，0.2mL/100mLの割合で細胞維持用培養液に加えて使用します。

３．操作法
中和試験には，マイクロプレート法と試験管法がありますが，以下に試験管法による試験法を記載します。
1) 事前に，分離した被検ウイルスの感染価($TCID_{50}$※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) 小試験管4本に約20単位の各抗血清を0.3mL採取します。
3) 次いで抗血清を入れた小試験管に100～320$TCID_{50}$/0.1mLに希釈した攻撃ウイルス液を0.3mL加え，ゴム栓をして試験管ミキサーでよく混和します。
4) 35～37℃で1～2時間中和反応させます。
5) ローラーチューブ8本(各型用2本)に培養したVero細胞の細胞増殖用培養液を各々1mLの細胞維持用培養液に液交換し，中和反応が終わった抗血清とウイルスの混合液を各々0.2mLずつ接種します。
6) 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1万倍まで行ったものを0.5mLずつ用意します。抗血清の代わりに細胞維持用培養液を各々の希釈ウイルス液に0.5mLずつ加え混合します。4)と同様の反応後，各希釈列当たりローラーチューブ4本の細胞を用意し，ウイルスと培養液の各混合液を0.2mLずつ接種し，攻撃ウイルス量の確認をします。
7) 培養器に入れ35～37℃で4～6日間培養し，ＣＰＥの有無，又はHAD※3を観察して判定します。
＜ＨＡＤによる判定法は以下のように行います＞
(1)4～6日間培養後，PBS(－)で2回細胞面を洗います。
(2)0.1vol%新鮮モルモット赤血球浮遊液を1mL加え，軽く振盪します。
(3)細胞面が赤血球浮遊液に浸るようにして，4℃で30分間静置します。
(4)顕微鏡下でモルモット赤血球の吸着の有無を観察します。赤血球が吸着していない型が，分離したウイルスの型と判定されます。

(5)但し，ウイルス対照でモルモット赤血球の吸着が確認できなかった場合は，再度振盪し，室温で30分間静置します。
(6)それでもなお，ウイルス対照でモルモット赤血球の吸着が見られない場合，その試験は無効ですので，再度試験を行ってください。
※2：$TCID_{50}$；tissue culture infective dose for 50%
※3：HAD；Hemadsorption　血球吸着

【測定結果の判定法】
完全にCPEを抑制するか，HADを抑制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
同一型のパラインフルエンザウイルスを用いて中和試験を行ったとき，1:320～1:640の中和抗体価を示します。

２．正確性
型の異なるパラインフルエンザ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の中和抗体価より低値です。

３．同時再現性
上記１．のパラインフルエンザウイルスを用いて，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，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，十分注意をして操作してください。なお，パラインフルエンザ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) 試験に用いた検体，検体の接触した容器等は感染性のあるものとして取り扱ってください。
3) 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。

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) 使用期限を過ぎた製品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。

３．廃棄上の注意
1) 検体中には感染性のウイルスが存在しますので，廃液，使用済み器具などは，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分間以上浸漬する。
(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分間以上高圧蒸気滅菌をする。
2) 本品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】
貯蔵方法　10℃以下で保存
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.	製品名	包装
300492	パラインフルエンザウイルスＮＴ試薬「生研」１型(HA-２)	1mL分×1本
300508	パラインフルエンザウイルスＮＴ試薬「生研」２型(ＣＡ)	1mL分×1本
300515	パラインフルエンザウイルスＮＴ試薬「生研」３型(HA-１)	1mL分×1本
300522	パラインフルエンザウイルスＮＴ試薬「生研」４型	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：ウイルス学的診断法，ウイルス実験学，各論，改訂2版，丸善，339(1982).
3) 厚生省監修:パラインフルエンザウイルス，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1，25(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