

使用前には必ず本説明書を読み、注意事項を守って使用して下さい。

動物用医薬品 体外診断用医薬品

## “京都微研”，日本脳炎検査用抗原

### 製法及び性状

この抗原は、乳のみマウス脳で増殖させた日本脳炎ウイルスをショ糖・アセトン法で抽出し、凍結乾燥した赤血球凝集抑制 (HI) 反応用抗原である。

乾燥抗原は灰白色又は帯褐黄褐色の乾燥物で、これにホウ酸緩衝食塩液 (BBS) を加えて振盪すると容易に溶解し、均質な液体となる。

添付の2種の指示血清は日本脳炎ウイルスで免疫した豚又は馬の陽性血清と、同ウイルスに対する豚又は馬の抗体陰性血清を凍結乾燥したものである。乾燥指示血清はいずれも淡黄褐色又は淡橙褐色の乾燥物で、滅菌精製水を加え溶解すると黄褐色又は淡橙褐色の透明な液体となる。

また、BBSは白色の乾燥物で、滅菌精製水を加え溶解すると透明な液体となり、pHは8.95~9.05である。赤血球希釈用液 (VAD) も白色の乾燥物で、滅菌精製水を加え溶解すると透明な液体となり、pHは5.95~6.05である。

### 成分及び分量

○乾燥赤血球凝集 (HA) 抗原 1バイアル (20検体以上) 中 日本脳炎ウイルス中山株HA抗原	HA価	8倍以上
○乾燥抗原・血清希釈用液 (ホウ酸緩衝食塩液：BBS) 1バイアル (60mL溶解) 中 塩化ナトリウム	420.8	mg
ほう酸	185.5	mg
水酸化ナトリウム	57.6	mg
牛血清アルブミン	240.0	mg
ゼラチン末 (豚、皮膚由来)	0.6	mg
○乾燥赤血球希釈用液 (赤血球希釈用液：VAD) 1バイアル (60mL溶解) 中 塩化ナトリウム	1.227	g
りん酸水素二ナトリウム・12水	1.203	g
りん酸二水素ナトリウム二水和物	1.348	g
○指示血清 指示陽性血清 1バイアル (1 mL溶解) 中 抗日本脳炎ウイルス豚又は馬血清	HI抗体価	80倍
指示陰性血清 1バイアル (1 mL溶解) 中 日本脳炎ウイルス抗体陰性豚又は馬血清	HI抗体価	20倍未満

### 使用目的

豚及び馬血清中の日本脳炎ウイルスに対するHI抗体の検出

### 使用方法

ホウ酸緩衝食塩液 (BBS)：滅菌精製水60mLを加えて溶解する。

赤血球希釈用液 (VAD)：滅菌精製水60mLを加えて溶解する。

抗原：溶解したBBS 7 mLを加えて溶解する。

指示陽性血清・陰性血清：それぞれ滅菌精製水 1 mLで溶解し、アセトン処理、血球吸取処理後非働化して用いる。

被検血清：アセトン処理、血球吸取処理後非働化して用いる。

赤血球浮遊液：がちょう又は1日齢鶏ひなの赤血球を生理食塩液で上清が透明になるまで洗浄し、1,500Gで7分間遠心してできた沈渣血球と生理食塩液で8.0vol%赤血球浮遊液を作る。これをVADでさらに24倍希釈したものを0.33vol%赤血球浮遊液とし、試験に用いる。

マイクロプレート：U型96穴マイクロプレート

### 検査方法

#### 1. 材料

##### (1) 検体の処理

豚血清：アセトン処理、血球吸取処理後非働化 (56℃30分間) する。

ろ紙溶出血清：カオリン処理、血球吸取処理する。

馬血清：アセトン処理、血球吸取処理後非働化 (56℃30分間) する。

##### (2) 血球浮遊液の調製：がちょう又は1日齢鶏ひなの赤血球を生理食塩液で上清が透明になるまで洗浄し、1,500Gで7分間遠心してできた沈渣血球と生理食塩液で8.0vol%赤血球浮遊液を作る。これをVADでさらに24倍希釈したものを0.33vol%赤血球浮遊液とし、試験に用いる。

##### (3) マイクロプレート：96穴U型のものを用いる。

#### 2. 方法

赤血球凝集 (HA) 反応で抗原量を測定したのち、8単位の抗原を用いて赤血球凝集抑制 (HI) 反応を行い、検体の抗体価を測定する。

##### (1) HA反応の術式 (抗原の一次定量)

ホール番号	1	2	3	4	5	6	7	8
抗原希釈倍数	1:2	4	8	16	32	64	128	血球対照
B B S	0.025 mL	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
抗 原	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
B B S	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
赤血球浮遊液	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
振盪後 37℃ 1時間静置								
判定例	+	+	+	+	-	-	-	-

上例は抗原の1単位はHA価1:16であり、HI抗体価の測定には8単位の抗原量を使用するので抗原を2倍に希釈して用いる。

(2) HI反応の術式 (抗体価の測定)

ホール番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
血清希釈倍数	1:20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	20480	20(血清対照)
B B S	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
血清												
抗原(8単位)	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
振盪後 4℃ 18時間静置												
赤血球浮遊液	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
判定例	振盪後 37℃ 1時間静置											
HI価20倍未満	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
2560倍	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-

(3) HI反応使用抗原量の確認術式 (抗原の二次定置)

ホール番号	1	2	3	4	5	6	7	8
抗原単位	8	4	2	1	1/2	1/4	1/8	血球対照
B B S	-	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
使用抗原	0.025 mL	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
B B S	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
振盪後 4℃ 18時間静置								
赤血球浮遊液	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
判定例	振盪後 37℃ 1時間静置							
	+	+	+	+	-	-	-	-

上例は抗原量が8単位で正確に使用されたことを示す。

(4) 判定

HI価は完全に血球凝集を抑制した血清の最高希釈倍数であらわす。

判定にあたっては次の点に注意すること。

- 1) 血球対照及び血清対照が凝集像を示さないこと。
- 2) 指示血清のHI価が規定の値を示すこと。
- 3) 使用抗原が8単位であること。

使用上の注意

【一般的注意】

- (1) 本剤は定められた使用方法を厳守すること。
- (2) 本剤は定められた目的にのみ使用すること。

【使用時の注意】

- (1) 日本脳炎ウイルスHA抗原のHA価はpH依存性であり、pHのわずかな変化でHA価が変動するので、使用器具を十分洗浄する等の注意をすること。
- (2) 血球添加後の温度が規定温度より変動すると反応に影響することがあるので、HA及びHI反応は必ず所定の温度で行うこと。
- (3) 血球添加後はミキサーで振盪し十分に混和すること。
- (4) 血球濃度によりHA価が変動するため、血球濃度は正確に調整すること。
- (5) 使用する血球は新鮮なものを用いること。使用前に生理食塩液で十分に洗浄すること。
- (6) 反応用の希釈液は長時間経過するとpHに若干の変動がおこなうことがあるので、使用時にpHの測定を行うこと。
- (7) 指示血清はアセトン処理及び血球吸収処理後非働化して用いること。
- (8) 1日齢鶏ひな血球においても個体によってHA価に差を生じることがあるので、予めHA性を確かめたものを使用すること。
- (9) VADは溶解後すぐに使用した場合に対照血球像が不明瞭となることがあるので、VADは必ず試験前日に予め溶解して2~5℃に保存したものをを用いること。
- (10) 指示陽性血清のHI抗体価は80倍、指示陰性血清のHI抗体価は20倍未満なので、これらのHI抗体価が著しく異なった場合は再試験を行うこと。

【取扱い上の注意】

- (1) 外観又は内容に異常を認めたものは使用しないこと。
- (2) 使用期限が過ぎたものは使用しないこと。
- (3) 本剤は同一製造番号の試薬を用いた場合に、正確な結果が得られるよう調整されているので、使用に先立って必ず各構成品の製造番号を確認すること。又、他の製造番号の診断試薬と組み合わせ使用しないこと。
- (4) 一度開封した抗原及び指示血清は速やかに使用すること。使い残りの抗原及び指示血清は雑菌の混入や効力低下のおそれがあるので、使用しないこと。
- (5) 開封時にアルミキャップの切断面で手指を切るおそれがあるので注意すること。
- (6) 瓶内は、真空になっており破裂をすることがあるので、強い衝撃を与えないこと。
- (7) 使用済みの容器は、地方公共団体条例等に従い処分すること。

【保管上の注意】

- (1) 小児の手の届かないところに保管すること。
- (2) 直射日光、加温又は凍結は品質に影響を与えるので、避けること。

貯法及び有効期間

- 1 遮光して、2~10℃に保存すること。
- 2 有効期間は2年間(最終有効年月は外箱及びラベルに表示)

包装

1セット 20検体分(指示陽性血清、指示陰性血清、ホウ酸緩衝食塩液、赤血球希釈用液添付)

製造販売元



株式会社 微生物化学研究所  
 京都府宇治市横島町24、16番地  
 TEL: 0774-22-4518 FAX: 0774-24-1407

25020050B  
 J-HA④