

動物用医薬品

体外診断用医薬品

NDエリーザキット 使用説明書

(鶏のニューカッスル病抗体検査用キット)

本キットは、不活化・精製したニューカッスル病(ND)ウイルスB1株をコーティングした96ウェルマイクロプレートを主剤とし、酵素抗体検査法に必要な試薬を副剤としたものである。

成分及び分量

1 NDエリーザプレート (不活化・精製したNDウイルスB1株をコーティングした96ウェル平底マイクロプレート)	5 枚
2 指示陽性血清(SPF鶏由来抗NDウイルス免疫血清)	1.9 mL
3 指示陰性血清(SPF鶏由来血清)	1.9 mL
4 ラベル血清(HRPO標識抗ニワトリ免疫グロブリンGヤギ血清)	50 mL
5 血清希釈液(アジ化ナトリウム0.1%含有リン酸緩衝液)	235 mL
Aa TMB濃厚液(テトラメチルベンチジン液)	30 mL
Ab TMB希釈液(過酸化水素溶液)	30 mL
B 反応停止液(0.12%フッ化水素酸溶液)	50 mL

使用目的

ニワトリのニューカッスル病(ND)ウイルスに対する抗体の検出

貯蔵方法

2~5°Cの冷暗所

有効期間

製造後10か月間

STEP 1 ワークシートの作成

- ワークシートを作成する(エリーザプレートの使用計画をたてる)

*ウェル(図-I 参照)A1、A2は指示陰性血清用、A3、A4は指示陽性血清用なので空けておくこと

図-I エリーザプレートのウェル番号

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	N	N	P	P	O	O	O	O	O	O	O	O
B	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
C	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
D	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
E	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
F	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
G	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
H	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O

N: 指示陰性血清

P: 指示陽性血清

STEP 2 被検血清の予備希釀

(前処理として被検血清を125倍に希釀する)

- 希釀用プレートを別に用意する
- ウェル番号A1～A4以外のすべてのウェルに血清希釀液を250 μL(0.25 mL)ずつ分注する
- ワークシートに従って被検血清を2 μL(0.002 mL)ずつ所定のウェルに加え、2分間振とうする

STEP 3 被検血清の最終希釀

(被検血清は500倍に希釀したものを使用する)

- エリーザプレートのウェル番号A1～A4以外のすべてのウェルに血清希釀液を75 μL(0.075 mL)ずつ分注する
- エリーザプレートのA1、A2のウェルには指示陰性血清を、A3、A4のウェルには指示陽性血清をそれぞれ100 μL(0.1 mL)ずつ分注する
- エリーザプレートに「4.」で予備希釀した被検血清を所定のウェルに25 μL(0.025 mL)ずつ分注し、2分間振とうする

STEP 4 エリーザプレートの抗原と血清中の抗体を反応させる

8. 30分間室温(20~25°C)にて反応させた後、蒸留水で4回洗浄する

STEP 5 ラベル血清を加える

9. すべてのウェルにラベル血清を100 μL(0.1 mL)ずつ分注する

10. 30分間室温(20~25°C)にて反応させた後、蒸留水で4回洗浄する

* 反応時間に次の「STEP 6」で使用するTMB溶液を調製する

TMB溶液はエリーザプレート1枚につきTMB濃厚液6 mLに

TMB希釀液6 mLの割合で希釀し、調製する

STEP 6 TMB溶液を加える

11. すべてのウェルにTMB溶液を100 μL(0.1 mL)ずつ加える

12. 15分間室温(20~25°C)にて反応させる

STEP 7 反応停止液を加える

13. すべてのウェルに反応停止液を100 μL(0.1 mL)ずつ加える

14. 2分間振とうする

STEP 8 OD値を測定する

15. 650 nmの干渉フィルターを用いてOD値を測定する

*この時、指示陰性血清の平均OD値(NCx)は 0.150以下、指示陽性血清の平均OD値と指示陰性血清の平均OD値の差(PCx-NCx)は 0.075以上でなければならない

STEP 9 S/P比を計算する

16. 次の式によりS/P比を求める

$$\text{S/P 比} = \frac{\text{S(A650)} - \text{NCx}}{\text{PCx} - \text{NCx}}$$

S(A650)=被検血清のOD値

PCx = 指示陽性血清(A3、A4)の平均OD値

NCx = 指示陰性血清(A1、A2)の平均OD値

STEP 10 判定

17. 判定基準は次のとおりである

S/P≤0.20の場合は陰性と判定する

S/P>0.20の場合は陽性と判定する

使用上の注意

【一般的注意】

- 1) 定められた使用方法を厳守すること。
- 2) 使用目的において定められた目的にのみ使用すること。

【使用時の注意】

- 1) 検体の非働化は行わないこと。
- 2) 口でピペットを吸わないこと。
- 3) 検体及びキットの試薬を取り扱う場所で飲食又は喫煙をしないこと。
- 4) TMB溶液及び反応停止液は刺激性があるので、皮膚や目に付着した場合は直ちに大量の水で洗い流すこと。
- 5) 洗浄は、プレートウォッシャー又はマルチチャネルピペットを用いて行うこと。
- 6) インキュベート中及び洗浄前後に、ウェルが乾燥しないように注意すること。
- 7) プレート洗浄後、検体や洗浄液が残らないようにすること。
- 8) より正確なデータを必要とする場合は、1検体につき2ウェル以上の平均OD値を使用してS/P比を求めるこ。

【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) 使用期限の過ぎたキットは使用しないこと。
- 3) ロットの異なる試薬を組み合わせて使用しないこと。
- 4) 使用時には、室温(20~25°C)に戻してから検査に使用すること。使用後は、未使用の試薬類を直ちに2~5°Cの冷暗所で保存すること。
- 5) 室温(20~25°C)に戻した試薬に結晶や沈殿物が観察された場合は、転倒混和や振とうを十分に行ってから使用すること。
- 6) TMB溶液は強い光や酸化剤に曝さないこと。
- 7) TMB溶液の取扱いはガラス又はプラスチック容器で行うこと。
- 8) 反応停止液を加えて振とうした後、すぐに吸光度を測定すること。
- 9) 一度ボトルから出した試薬は、ボトルに戻さないこと。
- 10) 検査は清潔な環境下で行い、試薬及び検体同士の混入あるいは試薬の雑菌汚染に注意すること。
- 11) 試薬には保存剤としてアジ化ナトリウムを含むものがあるので廃棄の際は大量の水で希釈して廃棄すること。
- 12) 検体、試薬及び使用済みの器具・容器等は、消毒又は滅菌後に地方公共団体条例等に従い処分若しくは感染性廃棄物として処分すること。

【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、高温、凍結又は加温は品質に影響を与えるので避けること。

【その他の注意】

- 1) 正確な測定結果を得るために、ピッティングや洗浄は慎重に実施すること。また、プレートウォッシャーやピペットなどの使用器具については定期的にメンテナンスを実施すること。

製造販売元

アイデックス ラボラトリーズ株式会社
東京都杉並区和泉1-22-19

製造元

IDEXX Laboratories, Inc.
米国メイン州