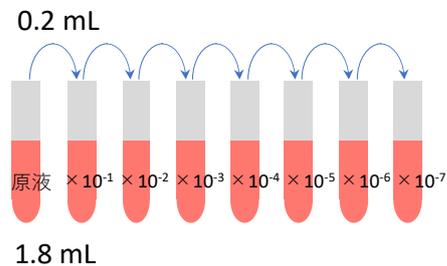


感染症流行予測術式_COVID19 補足資料（1）

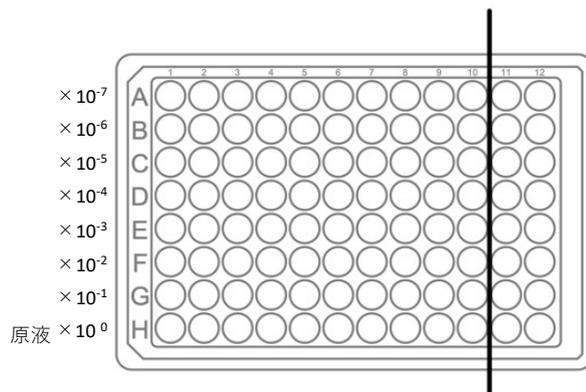
試験管法を用いたバックタイトレーション

中和反応に用いたウイルス希釈液の接種ウイルス量を確認するためにバックタイトレーションを行う。術式本文（5頁）においては、96穴プレートを用いて試験液を希釈・調整しているが、次の様に試験管法を用いた希釈法を行っても良い。

- 1) 細胞培養液を中試験管に 1.8 mL ずつ分注しておく(左下図)。
- 2) 中和反応に用いたウイルス希釈液の残余を原液として、0.2 mL ずつ段階希釈していく。
- 3) 96 穴プレート各ウェルに 100 μ L ずつ添加 (各段階 10 ウェルずつ) する(右下図)。
- 4) 細胞浮遊液を 100 μ L ずつ添加する。
- 5) 37°C の CO₂ 培養器内で 5-6 日間培養する。



バックタイトレーション用プレート



(2) 参照抗血清の希釈方法 (流行予測事業 R6 年度)

- ①、② 維持培地を各ウェルに下記の通り分注する。
- ③ あらかじめ 50 倍希釈したオミクロン株用参照抗血清 を添加する。
 - ・ R6 年度オミクロン株用参照抗血清：抗 BA.5 ウサギ血清 No.11
(XBB1.5 に対する中和抗体価は期待値 4000 倍である。
よって、2000～8000 倍が試験成立の許容範囲。)
 - ・ 50 倍希釈：参照抗血清 20 μ L + 培地 980 μ L
- ④ B～G 行まで 60 μ L ずつ 2 倍階段希釈を行う。

