この電子添文をよく読んでからご使用下さい

＊＊2023 年 4 月改訂（第 4 版）
＊2020 年 5 月改訂（第 3 版）

体外診断用医薬品　　**届出番号　08A2X00006000030**

薬剤感受性（抗酸菌）キット

極東　結核菌感受性ビットスペクトルーＳＲ

＊＊【全般的な注意】

1. 本品は体外診断用医薬品です。それ以外の目的には使用しないで下さい。
2. 疾病の診断は、本キットの試験成績と併せて、他の関連する検査や臨床症状等の総合的な所見から、最終的には医師により診断されるものです。
3. 治療のための薬剤選択は、試験結果に基づき医師によって行われるものです。
4. 電子添文に記載された操作方法以外については保証いたしません。

【形状・構造等（キットの構成）】

1. マイクロタイタープレート
   - ・硫酸ストレプトマイシン（SM）
   - ・イソニアジド（INH）
   - ・リファンピシン（RFP）
   - ・塩酸エタンブトール（EB）
   - ・硫酸カナマイシン（KM）
   - ・硫酸エンビオマイシン（EVM）
   - ・エチオナミド（TH）
   - ・サイクロセリン（CS）
   - ・パラアミノサリチル酸ナトリウム（PAS）
   - ・レボフロキサシン（LVFX）

◇薬剤配置図

1%小川培地に2,3diphenyl-5-(2-thienyl)tetrazolium chloride（STC）を50mg/L添加した培地を基礎として、それぞれの抗結核薬を下記配置の濃度となるように添加しました。1ウェルあたりの分注量は0.25mLです。

濾紙スリット

C+	C+	C 1/100	C 1/100	C−	C−
SM 10	SM 10	INH 0.2	INH 0.2	INH 1.0	INH 1.0
RFP 40	RFP 40	EB 2.5	EB 2.5	KM 20	KM 20
EVM 20	EVM 20	TH 20	TH 20	CS 30	CS 30
PAS 0.5	PAS 0.5	LVFX 1.0	LVFX 1.0	C+	C+

注1：C＋、C1/100、C－は対照培地のため抗結核薬を含みません。
注2：表中上段は薬剤名、下段は薬剤濃度（μg/mL）です。

【使用目的】

抗酸菌薬剤感受性検査

【測定原理】

STC添加1%小川培地（マイクロタイター法）を用いた一濃度比率法

【操作上の注意】

1. 操作及び判定はセーフティキャビネット内で行うなど、感染予防には十分注意して下さい。
2. 試験菌株は純培養であることを確認し、感受性検査を行って下さい。また、操作中の雑菌汚染に注意して下さい。室温に戻してから開封し使用して下さい。
3. 小川培地又は液体分離培地で分離された新鮮な純培養菌を用いて下さい。検体は感染予防上、取扱いには十分注意して下さい。
4. 純培養菌は、液体培地による前培養を行い、菌液を調整して試験に使用して下さい。
5. 古くなった培養菌株では試験精度が低下しますので、必ず発育後4週間以内の新鮮培養菌株を用いて下さい。
6. 菌液調整は濁度計又は分光光度計を用いて正確に行って下さい。
7. 培養はインキュベーターの上段など、温度が均一な場所で行って下さい。

＊【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製法
   そのまま使用します。
2. 必要な器具・器材・試料等
   滅菌精製水
   滅菌試験管
   マイクロピペット
   チューブミキサー
   インキュベーター（36±1℃）
   濁度計又は分光光度計
   専用ドロッパー（0.02mL）
3. 前培養法

   本品は試験精度を向上させるため、液体培地で前培養した均等菌液を用い光学的に菌液濃度を調整し使用します。前培養は必ず以下の液体培地で行って下さい。
   「マイコビーズ」、「マイコブロス」（別売品）

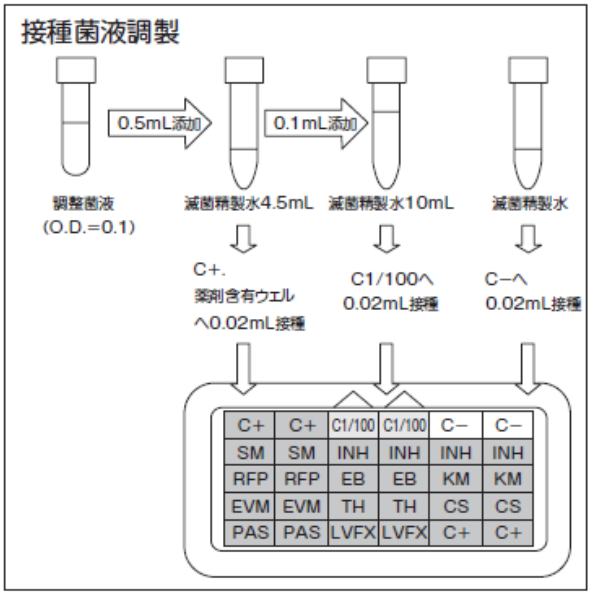
   （1）小川培地で発育したコロニーを白金耳又は滅菌綿棒にて約1/2白金耳量採取し、コロニーを前培養用液体培地の試験管壁に擦り付けながら、培地中に菌塊を懸濁させます。液体培地のキャップをしめ、チューブミキサーで15～30秒間攪拌します。

   ※古くなった培養菌株では試験精度が低下しますので、必ず発育後4週間以内の新鮮培養菌株を用いて下さい。
   ※液体培地にて分離培養を行った菌株をそのまま前培養に用いる場合は、純培養菌であることを確認後、菌液0.5mLを液体培地に接種して下さい。

   （2）通常大気（36±1℃）で、吸光度530nmO.D.＝0.1（1mg/mLに相当）に達するまで培養します。
4. 接種及び培養法
   （1）前培養後の菌液を撹拌し、菌塊が沈むまで静置（15分程度）します。静置後、上層の均質な菌液を用いて、530nmO.D.＝0.1（1mg/mLに相当）に調整します。

   ※「濁度計Vi-SpecⅡ」（別売品）などを用い、必ず光学的に菌液調整を行って下さい。
   ※液体培地で対数増殖期にある菌では、530nmで吸光度を測定したとき、O.D.＝0.1程度で1mg/mLに相当する生菌単位が得られます。

(2) (1)の菌液を滅菌精製水4.5mL入滅菌試験管に0.5mL添加しチューブミキサーでよく撹拌します。これを10倍希釈菌液とします。
(3) (2)の10倍希釈菌液を滅菌精製水10mL入滅菌試験管に0.1mL添加しチューブミキサーでよく撹拌します。これを1000倍希釈菌液とします。
(4) 培地密封用テープをはがし蓋を取ります。(テープは菌接種後も使用しますので丁寧に取扱って下さい。)
(5) (2)で調整した10倍希釈菌液をC+、薬剤含有ウェルに滅菌済み専用ドロッパー(別売品)にて1滴(0.02mL)ずつ接種します。
(6) (3)で調整した1000倍希釈菌液をC1/100のウェルに1滴(0.02mL)ずつ接種します。
(7) 滅菌精製水をC−のウェルに1滴(0.02mL)ずつ接種します。
((5)〜(7)はどの順番に接種しても支障ありません。)
(8) 容器内の濾紙を滅菌精製水(1〜2mL)で十分に湿らせます。(余った菌液を使用することもできます。)
(9) 容器に蓋をしてテープで密封します。
(10) 通常大気(36±1℃)にて培養します。
(インキュベーターの上段に並べ、温度が均一な場所で行って下さい。)



【測定結果の判定法】

1. 判定時期
判定日数7日、10日、14日目に観察を行い、C+ウェルの3/4以上が赤く呈色している時点で判定を行います。(判定の際、C1/100の呈色がC+の呈色面積の1/4以下であることを確認して下さい。)
2. 培養成績の記入
C−を0、C+の呈色を4+とし、C1/100の呈色を1+とします。
薬剤含有ウェルの呈色をC−、C1/100及びC+のウェルと比較し、0〜4+とスコア化します。
3. 判定結果の記入
薬剤含有ウェルのスコアが0又は1+(C1/100と同等の呈色)ならば感受性(S)と判定し、スコアが2+以上ならば耐性(R)と判定します。

※培養14日目にC+の呈色が不十分である場合には、培養を延長し最長21日を限度として判定を行って下さい。菌の発育が遅く、C+の十分な呈色が21日以降になる場合、その成績は参考程度にとどめて下さい。
※上記のように発育が遅い株や、呈色能が低い株に関しては、液体培地を用いた薬剤感受性試験法(弊社ブロスミックMTB-Ⅰなど)を推奨します。
※培養14日目にC1/100の呈色が認められない、あるいは微小な呈色しか認められない場合は、C1/100のスコアを0として判定を行い、薬剤含有ウェルのスコアが0ならば感受性(S)と判定し、スコアが1+以上ならば耐性(R)と判定します。ただし、C1/100の呈色が認められない場合にEB(塩酸エタンブトール)のウェルにのみ微小呈色を示した場合は、非特異的な呈色である場合がありますので、別法の薬剤感受性試験法(弊社ブロスミックMTB-Ⅰなど)にて再試験をして下さい。
※INHに関し、0.2μg/mLを耐性判定基準値としていますが、多剤耐性結核菌では1.0μg/mLの成績を参考として下さい。

【性能】

＜性能＞
弊社において本品を操作方法に従い下記の試験を行った場合、以下の規格に適合します。

1. 感度及び正確性試験

菌株	SM	INH	RFP	EB	KM	EVM	TH	CS	PAS	LVFX
M. tuberculosis (ATCC27294)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
M. tuberculosis (ATCC35820)	R									
M. tuberculosis (ATCC35822)		R								
M. tuberculosis (ATCC35838)			R							
M. tuberculosis (ATCC35837)				R						
M. tuberculosis (ATCC35827)					R					

※感受性(S)、耐性(R)を示します。
※本品の場合、感度とは耐性の程度であり、正確性とは耐性菌が耐性菌として捉えられることであると考えますので、上記の結果により感度及び正確性を規定します。

2. 同時再現性試験
感度試験、正確性試験を3回繰り返した時、それぞれの規格に適合します。

＜相関性試験成績＞
臨床分離株(50株)を用いて試験を行った結果、WHO で承認されているLöwenstein-Jensen培地による一濃度比率法との相関は以下のとおりでした。
(カッコ内はLöwenstein-Jensen培地との一致件数/総件数を示します。)

SM		本 法	
		S	R
対照法 (4.0μg/mL)	S	41	0
	R	3	6

一致率:94.0%(47/50)

INH		本 法	
		S	R
対照法 (0.2μg/mL)	S	37	0
	R	0	13

一致率:100%(50/50)

RFP		本 法	
		S	R
対照法 (40μg/mL)	S	38	2
	R	0	10

一致率:96.0%(48/50)

EB		本 法	
		S	R
対照法 (2.0μg/mL)	S	38	0
	R	4	8

一致率:92.0%(46/50)

KM		本 法	
		S	R
対照法 (20μg/mL)	S	42	1
	R	0	7

一致率:98.0%(49/50)

EVM		本 法	
		S	R
対照法 (20μg/mL)	S	47	1
	R	0	2

一致率:98.0%(49/50)

TH		本 法	
		S	R
対照法 (20μg/mL)	S	48	0
	R	0	2

一致率:100%(50/50)

CS		本 法	
		S	R
対照法 (30μg/mL)	S	50	0
	R	0	0

一致率:100%(50/50)

PAS		本 法	
		S	R
対照法 (0.5μg/mL)	S	42	3
	R	0	5

一致率:94.0%(47/50)

LVFX		本 法	
		S	R
対照法 (1.0μg/mL)	S	43	2
	R	0	5

一致率:96.0%(48/50)

＜較正用の基準物質＞

M. tuberculosis ATCC27294
M. tuberculosis ATCC35820
M. tuberculosis ATCC35822
M. tuberculosis ATCC35838
M. tuberculosis ATCC35837
M. tuberculosis ATCC35827

【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) 微生物の取扱いに習熟した人の指導のもとにバイオハザード対策を実施した上で使用して下さい。
   (2) 本品を取扱う場合には、必ず白衣、マスク、保護メガネ、手袋等を着用して下さい。
2. 使用上の注意
   (1) 有効期限切れの製品は使用しないで下さい。
   (2) 容器の破損、プレートへの異物混入が認められるものは使用しないで下さい。
   (3) 本キットの容器、付属品は他の目的に転用しないで下さい。
   (4) 誤って凍結させたプレート及び凍結した恐れのあるプレートは使用しないで下さい。品質が変化して正しい結果が得られません。
   (5) 培地が赤味を帯びている場合がありますが、菌の発育、判定には支障はありません。
3. 廃棄上の注意
   (1) 使用後のプレートは必ず高圧蒸気滅菌(121℃、30分以上)後、適切な処置を行い廃棄して下さい。
   (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制に従って処理して下さい。
   (3) 使用後の廃棄方法については、各自治体の医療系産業廃棄物又は医療系一般廃棄物並びに産業廃棄物・一般廃棄物の区分けが異なる為、各自治体の指示に従い廃棄して下さい。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法:2～10℃
2. 有効期間:3ヶ月

【包装単位】

コードNo.	品名	包装
08330	極東 結核菌感受性ビットスペクトル-SR	1検体用
08331	極東 結核菌感受性ビットスペクトル-SR	12検体用
08332	極東 結核菌感受性ビットスペクトル-SR	100検体用

＜別売品＞

コードNo.	品名	包装
06700	マイコブロス	4mL×20本
08800	マイコビーズ	20本入
62200	ドロッパー(針付)	6本
63190	濁度計Vi-SpecⅡ	1台

***【主要文献】**

1) 日本結核病学会薬剤耐性検査検討委員会:結核菌の薬剤感受性試験. 特に試験濃度改変と比率法導入への提案. 結核. 1997, 72, p.597-598
2) 山根 誠久, 他:酸化還元反応呈色色素を用いたマイクロプレート法での結核菌薬剤感受性試験の検討:NCCLS M24-Pを参照法とした複数施設での共同評価. 臨床病理. 1996, 44, p.456-464
3) 阿部 千代治:薬剤感受性試験の新しい考え方. 資料と展望. 1998, 25, p.1-12
4) 斎藤 肇:【抗酸菌薬剤感受性測定法－最近の動き】試験濃度の改訂と比率法導入の提案. 臨床と微生物. 1999, 26, p.165-168
5) 阿部 千代治:【抗酸菌薬剤感受性測定法－最近の動き】結核菌薬剤感受性測定法の問題点. 臨床と微生物. 1999, 26, p.169-174
6) 小栗 豊子:薬剤感受性検査. 結核菌検査指針2007. 2007, p.98-121
7) 日本結核・非結核性抗酸菌症学会:抗酸菌検査ガイド2020. 一般社団法人 日本結核・非結核性抗酸菌症学会2020, p.91-101

【問い合わせ先】

極東製薬工業株式会社 営業学術部
〒103-0024 東京都中央区日本橋小舟町7-8
電話 03(5645)5664
FAX 03(5645)5703

製造販売元 極東製薬工業株式会社
茨城県高萩市上手綱朝山3333−26
本社住所 東京都中央区日本橋小舟町7−8