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2版）
2022年6月作成（第1版）

体外診断用医薬品　　**承認番号30100EZX00006000**

ブドウ球菌キット

Qライン極東® ＰＢＰ２’

＊【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、本品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. 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. テストプレート
   - 抗PBP2’ モノクローナル抗体No.1（マウス）感作金コロイド
   - 抗PBP2’ モノクローナル抗体No.2（マウス）
2. 抽出液A
3. 抽出液B
4. 前処理試薬

（付属品）
2mLテストチューブ

【使用目的】

培養液、菌懸濁液又は分離培地上のコロニー中の、黄色ブドウ球菌のペニシリン結合蛋白2’（PBP2’）の検出（MRSA感染の診断補助）

【測定原理】

本品はイムノクロマト法を測定原理とした、血液培養液及び固形培地上の菌体中のPBP2’を検出する試薬です。

テストプレート内のメンブレンには、抗PBP2’モノクローナル抗体No.2（マウス）（以下、抗PBP2’抗体）及び抗マウスIgG抗体が固相化されています。また、テストプレート内には、抗PBP2’モノクローナル抗体No.1（マウス）感作金コロイド（以下、抗体感作金コロイド）を含むコンジュゲートパッドが内蔵されています。

抽出液Aで菌体からPBP2’を抽出し、抽出液Bで中和したものを試料とします。テストプレートの試料滴下部に試料を滴下すると、抗体感作金コロイドが溶解し、試料中のPBP2’と免疫複合体を形成します。この免疫複合体は毛細管現象により移動し、メンブレン部に固相化された抗PBP2’抗体に捕捉され、判定部のテストライン[T]に金コロイドによる赤紫色のラインを形成します。本品はこの赤紫色のラインを目視で確認し、試料中のPBP2’の存在の有無を判定します。

なお、判定部のコントロールライン[C]は、PBP2’の有無に関わらず、抗体感作金コロイドがメンブレン部を移動し、固相化された抗マウスIgG抗体に結合すると、赤紫色のラインを形成します。

【操作上の注意】

1. 検体に対する注意
   (1) 検体には血液培養陽性かつ鏡検でブドウ球菌の像が観察された血液培養液、又は寒天培地等の固形培地上のコロニー（集落）を用い、それ以外の検体は使用しないで下さい。
   (2) 血液培養液は、(1)を満たしたものを対象としますが、好気用ボトルの方が嫌気用ボトルよりも全般的にテストラインの着色が強い傾向にあります。同一患者の両ボトルが血液培養陽性となった場合は、好気用ボトルをお使い下さい。
   (3) 血液培養液は、室温又は冷蔵で保管されたものを使用し、凍結した血液培養液は使用しないで下さい。
   (4) 血液培養液は、血液培養陽性後の培養が2日以内のものを使用して下さい。
   (5) 固形培地上の集落を用いる場合は、非選択培地（血液寒天培地、チョコレート寒天培地等）又はMRSA用選択培地で培養して下さい。粘性が高い集落であっても使用できますが、集落を採取する際には注意して下さい。

2. 操作方法に対する注意
   (1) 血液培養は、各社血液培養装置及び血液培養ボトルの操作方法、血液培養検査ガイド[1)]に従い、操作して下さい。
   (2) 前処理試薬は血液培養液で使用します。菌懸濁液及び分離培地上の集落には使用しないで下さい。
   (3) 検査中はテストプレートを水平に保って下さい。
   (4) 試料滴下後に判定部に完全に展開しない場合は、試料の調製からやり直して再検査を行って下さい。
   (5) 試料や各試薬を添加した後は、必ず十分に混和してから次の操作を行って下さい。正しい結果が得られないことがあります。
   (6) 試料に抽出液Bを混和した後は、直ちにテストプレートの試料滴下部に滴下して下さい。直ちに操作しない場合、正しい結果が得られないことがあります。

3. 妨害物質
   (1) 以下の物質を以下の濃度となるように抽出液に添加して試験を行った結果、本品の判定に影響は認められませんでした。
   - 溶血ヘモグロビン（50mg/dL）
   - 抱合型ビリルビン（4mg/dL）
   - 遊離型ビリルビン（8mg/dL）

   (2) 以下の抗菌薬を以下の濃度となるように抽出液に添加して試験を行った結果、本品の判定に影響は認められませんでした。
   - バンコマイシン（200μg力価/mL）
   - テイコプラニン（12.5μg力価/mL）
   - アルベカシン硫酸塩（200μg力価/mL）
   - リネゾリド（200μg力価/mL）

4. 交差反応性

メチシリン耐性コアグラーゼ陰性ブドウ球菌（MRCNS）はPBP2’を産生するため、本品では陽性となることがあります。メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）、MRCNS以外の以下の細菌（32菌種）及び真菌（1菌種）との交差反応は認められませんでした。

(1) 細菌(10^9 CFU以上/mL 抽出液)

Acinetobacter baumannii
Bacillus cereus
Bacillus subtilis
Citrobacter freundii
Corynebacterium jeikeium
Enterobacter cloacae
Enterococcus faecalis
Enterococcus faecium
Escherichia coli
Klebsiella aerogenes
Klebsiella oxytoca
Klebsiella pneumoniae
Kocuria rhizophila
Morganella morganii
Proteus mirabilis
Serratia marcescens
Staphylococcus aureus MSSA
Staphylococcus capitis
Staphylococcus epidermidis MSCNS
Staphylococcos haemolyticus
Staphylococcus hominis
Staphylococcus hyicus
Staphylococcus intermedius
Staphylococcus lugdunensis
Staphylococcus saprophyticus
Staphylococcus simulans
Staphylococcus warneri
Staphylococcus xylosus
Streptococcus agalactiae
Streptococcus dysgalactiae
Streptococcus pyogenes

(2) 細菌(2.8×10^8 CFU/mL 抽出液)

Pseudomonas aeruginosa

(3) 真菌(10^8 CFU相当以上/mL 抽出液)

Candida albicans

【用法・用量(操作方法)】

1. 試薬の調製方法

すべての試薬はそのまま使用して下さい。冷蔵保存していた場合は、15～30℃に戻してから使用して下さい。

2. 必要な器具・機材・試薬等

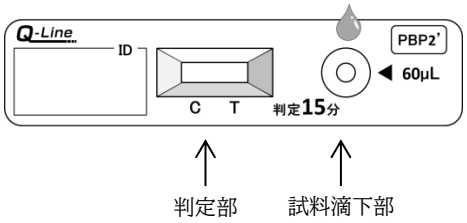
(1) 血液培養液を使用する場合
① チューブミキサー
② 微量遠心分離機
③ マイクロピペット

(2) 固形培地上の集落を使用する場合
① チューブミキサー
② マイクロピペット
③ 1μL白金耳

3. 操作方法

(1) 血液培養液を使用する場合
① 血液培養ボトルを転倒混和し、血液培養液を分取します。
② 分取した血液培養液をチューブミキサーで十分に混和し、付属の2mLテストチューブに250μLを採取します。
③ 前処理試薬を125μL加え、チューブミキサーで十分に混和します。
④ 20,000×gで2分間又は3,000×gで5分間遠心します。
⑤ マイクロピペットで上清を除去します。
⑥ ⑤の遠心沈殿物に抽出液Aを5滴(約125μL)加え、チューブミキサー又はピペッティング操作で十分に懸濁します。
⑦ 室温で5分静置します。
⑧ ⑦に抽出液Bを5滴(約125μL)加えて、チューブミキサー又はピペッティング操作で十分に混和します。
⑨ ⑧を試料滴下部にマイクロピペットで60μL滴下します。
⑩ 試料滴下15分後に、判定部に出現するラインの有無を目視にて確認します。

(2) 固形培地上の集落を使用する場合
① 付属の2mLテストチューブに抽出液Aを5滴(約125μL)加え、固形培地上で分離培養した集落を1白金耳相当分採取し、抽出液Aに懸濁します。
② 室温で5分静置します。
③ ②に抽出液Bを5滴(約125μL)加えて、チューブミキサー又はピペッティング操作で十分に混和します。
④ ③をマイクロピペットで試料滴下部に60μL滴下します。
⑤ 試料滴下15分後に、判定部に出現するラインの有無を目視にて確認します。



【測定結果の判定法】

1. 判定方法

テストプレートの判定部に出現する赤紫色のラインを目視で確認し、結果を判定します。

判定	ライン表示	確認結果
陽性	C T	テストライン[T]とコントロールライン[C]の両方が出現
陰性	C T	コントロールライン[C]のみ出現
判定不能	C T	テストライン[T]のみ出現
	C T	テストライン[T]とコントロールライン[C]の両方が出現しない

2. 判定上の注意

(1) 判定不能となった場合は、試料の調製からやり直して再検査を行って下さい。
(2) 試料滴下後15分以内に判定部のテストライン[T]とコントロールライン[C]の両方にラインが出現した場合、陽性と判定できます。陰性の判定は15分後に行って下さい。
(3) 判定時間を過ぎたテストプレートは、乾燥等により結果が変化する場合があるため、判定には使用しないで下さい。
(4) 検体中のPBP2' 抗原が本品の検出感度以下の場合は、本品では検出できないことがあります。従って、本品の陰性判定は、MRSA感染全てを否定するものではありません。
(5) 判定時に、テストライン[T]以外のメンブレン部分が赤く染まることで、テストライン[T]が白く抜ける現象が認められることがありますが、これはラインではありませんので、陰性と判定して下さい。
(6) ライン形成が不完全な場合は判定不能とし、試料の調製からやり直して再検査を行って下さい。
(7) 本品は試料中のPBP2' を検出する試薬であり、MRSAを確定することはできません。同定試験等を行い、確定して下さい。

【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. 感度試験

管理用試料1を所定の操作方法に従い試験するとき、陽性を示します。

2. 正確性試験

管理用試料1及び管理用試料2を所定の操作方法に従い試験するとき、管理用試料1は陽性、管理用試料2は陰性を示します。

3.同時再現性試験

管理用試料1及び管理用試料2を所定の操作方法に従い3回繰り返し試験するとき、それぞれ同一の反応を示します。

4.最小検出感度

recombinant PBP2'（以下rPBP2'）における最小検出感度は、滴下時の濃度で10ng/mL相当です。

＜相関性試験成績＞

黄色ブドウ球菌を含む血液培養液、又は固形培地上で発育した黄色ブドウ球菌の集落を使用した本品による方法（以下本法）と他法との相関性試験結果、及び本法における検体種間の相関性試験を行った結果は以下の通りです。

（1）固形培地上の集落を使用した本法との相関性試験

① 対照法（1）：ラテックス法

		対照法		合計
		陽性	陰性	
本法	陽性	55	0	55
	陰性	0	54	54
合計		55	54	109

陽性一致率：100%
陰性一致率：100%
全体一致率：100%

② 対照法（2）：薬剤感受性試験（セフォキシチン）

		対照法		合計
		耐性	感受性	
本法	陽性	55	0	55
	陰性	0	54	54
合計		55	54	109

陽性一致率：100%
陰性一致率：100%
全体一致率：100%

（2）本法における検体種間の相関性試験

		固形培地上の集落		合計
		陽性	陰性	
血液培養液	陽性	54	0	54
	陰性	1 ※	54	55
合計		55	54	109

陽性一致率：98%
陰性一致率：100%
全体一致率：99%

※乖離事例で用いた血液培養液は嫌気用ボトルであり、検体中のPBP2'量が検出感度以下であったため、陰性と判定されたと考えられます。

＜較正用の基準物質＞

管理用試料1：rPBP2'滴下時の濃度10ng/mL相当
管理用試料2：rPBP2'滴下時の濃度0ng/mL

【使用上または取扱い上の注意】

1. 取扱い上（危険防止）の注意

（1）本品に用いる検体は感染の危険性があるものとして、微生物の取扱いに習熟した人の指導の下、十分注意して取り扱って下さい。
（2）本品を取り扱う場合は、必ず白衣、マスク、保護メガネ、手袋等を着用して下さい。
（3）抽出液Aは5%未満の水酸化ナトリウムを含有していますので、誤って触ったりしないように注意して下さい。万一触ってしまった場合は、すぐに多量の水で洗い流して下さい。また、体に異常がみられた場合は、医師に相談して下さい。

2. 使用上の注意

（1）マイクロピペットは、校正された精度の保証されたものを使用して下さい。
（2）高温多湿、直射日光を避け、貯法に従い保管して下さい。また、誤ってキットを凍結させた場合は使用しないで下さい。
（3）テストプレートは使用直前にアルミ袋から取り出し、速やかに使用して下さい。長時間放置したテストプレートは吸湿等の影響により正しい結果が得られないことがありますので、使用しないで下さい。
（4）テストプレートの判定部に触れないで下さい。
（5）有効期限を過ぎたキットは使用しないで下さい。
（6）異なるロットの試薬を組み合わせて使用しないで下さい。同一ロットの試薬であっても、混ぜて使用しないで下さい。
（7）破損や異物など、外観や内容物に異常が認められたものは使用しないで下さい。
（8）抽出液A、抽出液B及び前処理試薬は使用後に蓋を固くしめて下さい。
（9）抽出液Bのノズルと容器の間に結晶の析出が認められることがありますが、性能には問題ありません。

3. 廃棄上の注意

（1）使用後の試薬や器具、検査に使用した検体等は感染の危険があるため、以下のいずれかの処理を行って下さい。
① 2%グルタルアルデヒド溶液に1時間以上浸漬する。
② 次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素濃度1,000ppm以上）に1時間以上浸漬する。
③ オートクレーブで121℃、20分間以上高圧蒸気滅菌する。
（2）抽出液Aはアルカリ溶液、抽出液Bは酸性溶液であるため、適切な中和処理を行って下さい。
（3）処理を行った試薬や器具等を廃棄する場合は、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廃棄して下さい。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法　2～30℃
2. 有効期間　18ヶ月

【包装単位】

コードNo.	品名	包装
62010	Qライン極東® PBP2'	10テスト用

【主要文献】

1. 検査法マニュアル作成委員会・血液培養検査ガイド作業部会編. 血液培養検査ガイド. 日本臨床微生物学雑誌. 2013, 23(S1), p. 45-58.
2. Matsui, H. et al. Development of an immuno-chromatographic strip for simple detection of penicillin-binding protein 2'. Clin. Vaccine Immunol. 2011, 18 (2), p. 248-253.
3. 松井秀仁，津田愛美，花木秀明．血液培養ボトルからのMRSA簡易検出方法の確立．MRSAフォーラム2015プログラム・抄録集. 2015, p. 34.
4. 松井秀仁，花木秀明．MRSAのPBP2'を血液培養液から検出可能な「Qライン極東® PBP2'」のキットの評価．医学と薬学. 2020, 77(10), p. 1459-1466.

【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

本品は、学校法人北里研究所北里大学大村智記念研究所で開発されたPBP2'検出法[2、3]を基に製品化しました。

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