

体外診断用医薬品

クラス I 細菌検査用シリーズ

薬剤感受性（抗酸菌）キット

ブロスミック MTB-I

ストレプトマイシン、エタンブトール、カナマイシン、イソニアジド、
リファンピシン、リファブチン、レボフロキサシン、シプロフロキサシン

**【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)】

- 接種用培地
- 薬剤乾燥固着マイクロプレート
 - ストレプトマイシン(SM)
 - エタンブトール(EB)
 - カナマイシン(KM)
 - イソニアジド(INH)
 - リファンピシン(RFP)
 - リファブチン(RBT)
 - レボフロキサシン(LVFX)
 - シプロフロキサシン(CPFX)

◇薬剤乾燥固着マイクロプレート薬剤配置図

数字は各ウェルの最終薬剤濃度($\mu\text{g/mL}$)を表す。

Cont.:陽性コントロール

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
SM	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06
EB	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06
KM	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06
INH	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	Cont.
RFP	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	Cont.
RBT	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	0.015	0.008	0.004
LVFX	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	Cont.
CPFX	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	Cont.

【使用目的】

結核菌の抗菌性物質に対する感受性を測定することを目的とし、液体培地希釈法を用いたキット。主に臨床上的の疾病の治療の選択その他に使用される。

【測定原理】

液体培地希釈法

*【操作上の注意】

1. 貯蔵方法を厳守して下さい。
2. 室温に戻してから開封し使用して下さい。
3. 検体は感染予防上、取扱いには十分注意して下さい。
4. 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、操作中の雑菌汚染に注意して下さい。
5. 純培養菌は、液体培地「マイコブロス」(別売品)、又は「マイコビーズ」(別売品)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。
6. 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。
7. 保存菌株を使用する際には、一度継代培養を行ってから使用して下さい。
8. 菌液調整は、濁度計又は分光光度計を用いて、正確に調整して下さい(測定機器が無い場合はMcFarland No.1の標準液を対照として調整して下さい)。
9. 培養中及び判定時は振動や衝撃を与えないよう静かに取扱して下さい。

*【用法・用量(操作方法)】

1. 接種菌液調整法及び接種法
本品は試験精度向上のため、液体培地「マイコブロス」、又は「マイコビーズ」による前培養を採用しています。純培養菌であることを確認し、以下の操作を行って下さい。
 - (1) 試薬の調製
薬剤乾燥固着マイクロプレート: 室温に戻してから開封し、そのまま使用して下さい。
接種用培地: そのまま使用して下さい。
 - (2) 必要な器具・器材・試料等
マイコブロス又はマイコビーズ
滅菌綿棒又は白金耳
チューブミキサー
濁度計又は分光光度計
試験管立て
インキュベーター($36\pm 1^{\circ}\text{C}$)(炭酸ガス培養可)
滅菌ピペット
 - (3) 接種用菌液の調整
 - 1) 小川培地に発育した新鮮な分離菌株(発育後4週間以内)のコロニーを、「マイコブロス」又は「マイコビーズ」に1/2~1白金耳量接種し、キャップをしめてチューブミキサーで15~30秒間懸濁します(簡便な懸濁方法として、滅菌綿棒にてコロニーを採取し接種する方法を推奨します)。
 - 2) 「マイコブロス」又は「マイコビーズ」を通常大気培養($36\pm 1^{\circ}\text{C}$)にてMcFarland No.1に相当する濁度まで、5~7日間培養します。培養中は毎日1回、チューブミキサーで10秒間程度攪拌します。

- 3) 2)の菌液をMcFarland No.1に相当する濁度(吸光度530nm:0.16~0.20)に調整します。これを調整菌液とします。菌液の調整には「濁度計 Vi-Spec II」(別売品)の使用をお勧めします。菌液の調整は10秒間攪拌し、約15分静置後に濁度を測定して下さい。
- 4) 3)で調整した菌液210 μ Lを接種用培地に加えチューブミキサーでよく攪拌します。これを接種用菌液とします。
- (4) 接種及び培養
 - 1) (3)~4)で調整した接種用菌液を薬剤乾燥固着マイクロプレートの陽性コントロールを含む各ウェルに200 μ Lずつ接種します。
 - 2) 1)で接種したプレートにプレートシールを貼り、蓋をした後、5~10%CO₂条件下(36 $\pm$ 1℃)で培養します。プレートシールは、3層になっています。はじめに下側の台紙(台紙両端はフィルムを剥がした後に剥がします)を剥がしプレートに貼付後、上面のフィルムを剥がしプレートに密着させます。
 - 3) 培養開始1日後に、雑菌汚染がないかを目視にて確認します。雑菌汚染が確認された場合は検査を中止し、再度純培養から開始します。

*【測定結果の判定法】

培養7日目に判定を行います。判定には判定鏡「マイクロプレートリーディングミラー(判定鏡)」(別売品)又は「薬剤感受性検査測定装置PICTMIC」(別売品)の自動判定機能の使用をお勧めします。

1. 陽性コントロールに十分な発育が認められることを目視で確認します。培養7日目における陽性コントロールの発育が不十分な場合は、最長10日目まで培養を延長し判定を行います。培養10日目で陽性コントロールの発育が不十分な場合は判定不能とします。
2. 目視判定の際の各薬剤のMICは以下のように判定します。菌の発育が全く認められないかあるいは微量発育(ピンホール状)しか認められないウェルの最小濃度をMICとします。

<参考判定カテゴリー>

M. tuberculosis in vitro MIC判定カテゴリー

薬剤	MIC		
	S	I ※ ¹	R
SM	≤4	8~16	≥32
EB	≤2	4	≥8
KM	≤4	8~16	≥32
INH	≤0.5	1	≥2
RFP	≤0.06	0.125~2	≥4
RBT	≤0.015	0.03~0.5	≥1
LVFX	≤0.5	1	≥2
CPFX	≤0.5	—	≥1

単位: μ g/mL

※ 上記参考判定カテゴリーは文献⁹⁾及び社内検討結果により設定したものです。

※¹ 本キットの測定結果がIに判定された場合の投薬については、臨床医の総合判断で行って下さい。

【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. 感度試験及び正確性試験
既知の管理用菌株を試験するとき、MICは既知のMICを示します。
2. 同時再現性試験
既知の管理用菌株について、感度試験及び正確性試験を繰り返し行うとき、感度試験及び正確性試験の規格を満たします。

<相関性試験成績>

臨床分離株(50~55株)を用いて試験を行った結果、CLSI法との相関は以下の通りです。

薬剤	CLSI法との一致件数/総測定件数(%頻度)
SM	53/55(96.4)
EB	55/55(100)
KM	54/55(98.2)
INH	55/55(100)
RFP	55/55(100)
RBT	50/50(100)
LVFX	55/55(100)
CPFX	52/55(94.5)

<校正用の基準物質>

M. tuberculosis ATCC27294

【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) プレートシールはガス透過性を有しますので、添付のプレートシール以外は使用しないで下さい。
 - (5) 誤って凍結させたプレート、培地及び凍結した恐れのあるプレート、培地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。
 - (6) 異なるロットを混ぜて使用しないで下さい。
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: 6ヶ月

＊【包装単位】

コードNo.	品名	包装
10050	プロスミックMTB- I	5検体

<別売品>

コードNo.	品名	包装
06700	マイコプロス	4mL×20本
08800	マイコビーズ	20本入
63190	濁度計 Vi-Spec II	1台
68090	マイクロプレートリーディングミラー (判定鏡)	1台
63206	薬剤感受性検査測定装置PICTMIC	1台

＊【主要文献】

- 1) 森 享:多剤薬剤耐性結核. 臨床と微生物. 1998, 25, 2, p.131-135
- 2) 河合 健:多剤耐性結核への対応. 治療学. 1996, 30, 7, p.777-781
- 3) 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
- 4) 山根 誠久, 他:結核菌を対象とした薬剤感受性試験-異なる培地組成でのマイクロプレート法の検討. 臨床と微生物. 1995, 22, 3, p.361-369
- 5) Yajko DM, et al.:Colorimetric Method for Determining MICs of Antimicrobial Agents for *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol. 1995, 33, p.2324-2327
- 6) R. Wallance, et al.:Susceptibility Testing of Slowly Growing Mycobacteria by a Microdilution MIC Method with 7H9 Broth. J Clin Microbiol. 1986, 24, p.976-981
- 7) 山根 誠久, 他:Middlebrook合成培地での抗酸菌薬剤感受性試験(第2報):薬剤固着マイクロプレートを用いた微量液体希釈法での最小発育阻止濃度の測定(国内3施設における共同評価). 臨床病理. 1998, 46, 7, p.719-727
- 8) 山根 誠久:抗酸菌の検査-薬剤感受性検査-. Medical Technology. 1998, 26, 4, p.361-365
- 9) 山根 誠久, 他:Middlebrook合成培地での抗酸菌薬剤感受性試験(第3報):微量液体希釈法を原理とする BrothMIC MTBの多施設評価-施設間再現性とAgar Proportion法との判定互換性の解析. 臨床病理. 1999, 47, 8, p.754-766
- 10) 比嘉 美也子, 他:結核菌薬剤感受性試験に関する小川培地を用いた比率法と微量液体希釈法. BrothMIC MTBの判定互換性. 結核. 2002, 77, 2, p.61-66
- 11) 吉多 仁子, 他:小川法INH0.1μg/ml耐性株のプロスミックMTB-1法を用いた検討. 結核. 2002, 77, 7, p.533-535
- 12) 阿野 裕美, 他:INH-MIC低濃度耐性結核菌株での耐性遺伝子変異の検討. 結核. 2006, 81, 12, p.709-713
- 13) 潮平 知佳, 山根 誠久:BrothMIC MTB法で Rifampicin判定保留となった *Mycobacterium tuberculosis* Complexの *rpoB* 遺伝子変異の解析:フィノスLiPA・Rif TBとの比較解析. JARMAM. 2006, 17, 2, p.107-114
- 14) 小栗 豊子:薬剤感受性検査. 結核菌検査指針2007. 2007, p.98-121

- 15) 松本 智成, 阿野 裕美, 他:当センターで得られた *Mycobacterium tuberculosis* 株におけるrifampinとrifabutinのminimum inhibitory concentrationの検討. 結核. 2010, 85, 4, p.370
- 16) 日本結核病学会, 他:抗酸菌検査ガイド2016. 一般社団法人日本結核病学会. 2016,p.87-97

【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