

** ご使用の際は、電子化された添付文書をよくお読みください

ブドウ球菌キット
MRSA-LA「生研」

【全般的な注意】

1. 本品は、体外診断用医薬品であり、それ以外の目的に使用しないでください。
2. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
- ** 3. 電子化された添付文書に記載された操作法に従って使用してください。記載された操作法及び使用目的以外での使用については、結果の信頼性を保証致しません。
- ** 4. 使用する機器の電子化された添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。

【形状・構造等(キットの構成)】

1. 感作ラテックス 1.3mL×1本
抗PBP2'モノクローナル抗体(マウス)感作ラテックス
粉末を含む液剤
保存剤としてアジ化ナトリウムを0.08w/v%含みます。
2. 対照ラテックス 1.3mL×1本
保存剤としてアジ化ナトリウムを0.08w/v%含みます。
3. 抽出試薬1 10mL×1本
0.1mol/L水酸化ナトリウム液
4. 抽出試薬2 2.5mL×1本
りん酸二水素カリウム液

付属品

- ・スライド凝集反応板 30枚
- ・攪拌棒 110本

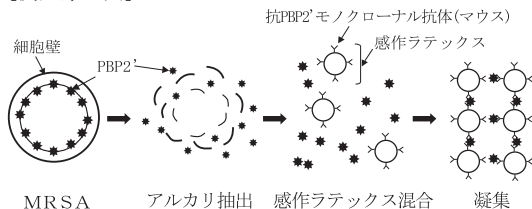
【使用目的】

黄色ブドウ球菌のペニシリン結合蛋白2' (PBP2' ^{*1}) の検出
※1: Penicillin-Binding Protein 2'

【測定原理】

黄色ブドウ球菌と同定された菌(検体)を希アルカリ溶液を用いて処理することによりPBP2'は溶液中に抽出されます。ラテックス粒子に感作されたPBP2'に対する特異モノクローナル抗体は、抽出液中のPBP2'を抗原として抗原抗体反応を起こし、感作ラテックス粒子が凝集塊を形成します。本品は、この抗原抗体反応を利用したスライドラテックス凝集法を測定原理としています。

【測定原理図】

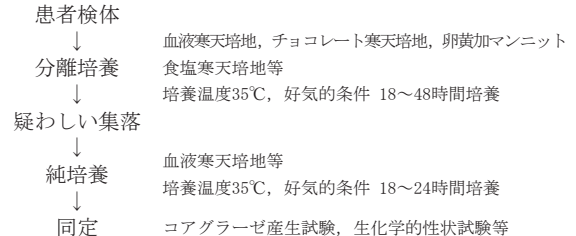


【操作上の注意】

測定試料の性質、採取法

1. 黄色ブドウ球菌と同定された菌株を検体とします。MRSA検査の際の培養温度は35℃で行うことが推奨されています。

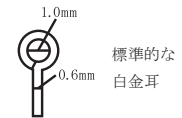
黄色ブドウ球菌の分離法例



2. 後述のアルカリ抽出法において得られた試料は速やかにスライドラテックス凝集反応を行ってください。やむを得ず中断する場合は遠心分離終了後、沈渣の混入を避けるため試料を他の容器に移し、当日中に試験する場合は2~10℃で保存し、翌日以降の場合は-80℃以下で凍結保存し、凍結融解を繰り返さないでください。

【用法・用量(操作方法)】

1. 準備する器具、機材、培地
 - 1) 血液寒天培地等の増菌培地
 - 2) 白金耳
 - 3) マイクロ遠心チューブ(0.5~1.5mL容量)(1検体につき1本)
 - 4) マイクロピペット及びチップ(50μL用)
 - 5) ビーカー(1000mL程度)
 - 6) 三脚
 - 7) 金網及びバーナー(又は95~100℃に設定可能なヒートブロック)
 - 8) 遠心機(卓上遠心機で3000rpm:1500~2000×g又はマイクロチューブ遠心機で6000rpm:2000×g以上)



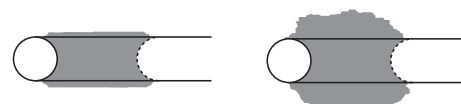
2. 試薬の調製方法

試薬名	調製方法	開栓後の安定性
感作ラテックス	そのまま使用します	開栓後2~10℃ 保存で有効期間 内は安定です
対照ラテックス	そのまま使用します	
抽出試薬1	そのまま使用します	
抽出試薬2	そのまま使用します	

試薬使用時には、常温(15~25℃)に30分間以上放置してから使用してください。

3. 操作法

1. 菌株の培養
 - (1) 黄色ブドウ球菌と同定された菌株を血液寒天培地などの増菌培地に接種します。
 - (2) 好気的条件下で35℃、18~24時間培養したものを検体とします。
2. アルカリ抽出法
 - (1) 1検体につき1本のマイクロ遠心チューブに抽出試薬1を4滴(約200μL)滴加します。
 - (2) (1)で得られた検体を下図のように菌体が白金耳からはみ出さないように採取し、抽出試薬1に懸濁します。この操作を2回行い、2白金耳量の菌懸濁液を調製します。(採取菌量が多い場合、非特異的な凝集が認められることがあります。)



○

×

- (3) 1 000mLビーカーなどに適当量の水を入れて加熱，沸騰させます（ヒートブロックの場合は95～100℃に設定します）。
 - (4) 菌懸濁液の入ったマイクロ遠心チューブを沸騰水中（又はヒートブロック）で3分間加熱します（5分間を超えると感度の低下，1分間以下では非特異的な凝集が認められることがあります）。
 - (5) 常温（15～25℃）で1～2分間放冷後，抽出試薬2を1滴（約50 μ L）菌懸濁液に滴加し，撹拌します。
 - (6) 遠心機で5分間遠心分離します。
 - (7) 上清をスライドラテックス凝集反应用試料とします（上清を採取する際は沈渣ができるだけ混入しないように留意して行ってください。沈渣の混入は非特異的な凝集の原因となる場合があります）。
- 3) スライドラテックス凝集反応
- (1) 試料50 μ Lずつをマイクロピペットなどで採取し，スライド凝集反応板の2つのサークルに滴加します。
 - (2) 感作ラテックス1滴（約25 μ L）をスライド凝集反応板の一方のサークルに滴加し，撹拌棒を用いて試料と混合します。
 - (3) 対照ラテックス1滴（約25 μ L）をもう一方のサークルに滴加し，新たな撹拌棒を用いて試料と混合します。
 - (4) スライド凝集反応板を前後左右に3分間揺り動かし，反応を行います。
 - (5) 反応終了後スライド凝集反応板を静置し，速やかに目視で観察しながら【測定結果の判定法】に従って判定します。

【測定結果の判定法】

判定は，以下の基準に従って行います。

黒い背景に強い凝集塊が観察されるもの	3+
わずかに白色を帯びた背景に凝集塊が観察されるもの	2+
乳白色の背景に明らかなラテックス粒子の凝集塊が観察されるもの	1+
均一な乳濁を示し，凝集塊が観察されないもの	—

1+以上を凝集とします。

感作ラテックス滴加サークルに凝集が認められ，対照ラテックス滴加サークルに凝集が認められないもの	陽	性
感作ラテックス滴加サークル及び対照ラテックス滴加サークルに凝集が認められないもの	陰	性
対照ラテックス滴加サークルに凝集が認められるもの	判定保留	

「判定上の注意」

- 1) まれに，PBP2' 産生が非常に低い菌株の場合には，本品で陰性と判定される可能性があります。このような菌株ではスライドラテックス凝集反応の撹拌時間を延長したとき陽性となることもあります，非特異的な凝集が認められる菌も存在します。撹拌時間を延長して陽性と判定された菌は，薬剤感受性試験，PCR法など他の試験法を併用して判定してください。
- 2) 本品で陰性と判定された菌株については，薬剤感受性試験を行い有効な薬剤の検索を行ってください。また，臨床治療の経過を観察しながら繰り返し試験を行い，必要に応じてPCR法による*mecA*遺伝子検出試験等を併用してください。
- 3) 本品で陰性と判定された後，薬剤感受性試験でMRSAと判定される菌株は，オキサシリンまたはセフトキシムなどを含む培地で誘導培養することにより本品で陽性となることがあります。
- 4) 判定保留となった検体は，検体処理における煮沸時間，遠心条件などの操作を確認後，再試験を行ってください。再試験の後，再び判定保留となった場合は薬剤感受性試験等，他の方法で試験を行ってください。
- 5) 本品で陽性と判定され，薬剤感受性試験でMSSAと判定された菌株の中には，PCR法で*mecA*遺伝子が陽性と判定される株が存在することが報告されています。このような菌株では抗生物質の投与により耐性化する可能性がありますので，臨床治療の経過を慎重に観察し，薬剤感受性試験を併用しながら繰り返し試験を行ってください。

- 6) MRSA以外にもPBP2' を産生する菌が存在しますので，MRSAを判定する場合はコアグラゼ試験，生化学的性状試験などにより黄色ブドウ球菌の同定を行ってください。
- 7) 本品は黄色ブドウ球菌にのみ使用してください。
MRCNS（メチシリン耐性コアグラゼ陰性ブドウ球菌：Methicillin-Resistant Coagulase Negative Staphylococci）もPBP2' を産生し多剤耐性を示すことが知られていますが，本品のMRCNSに対する性能は確認しておりません。
- 8) 本品はPBP2' を検出するもので，本品のみでMRSAを判定することはできません。

【臨床的意義】

MRSA（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌：Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*）は院内感染の原因菌として重視されていますが， β -ラクタム剤をはじめとする種々の抗生物質に耐性を示すため，感染症を起こした場合に難治性となることが多いとされています。MRSA感染症に対して無効な抗生物質の投与を行うことはMRSAを選択的に増殖させ，かえって症状の悪化を引き起こす場合もあることから，患者から分離された黄色ブドウ球菌がMRSAか否かを判定することは治療薬の選択及びその効果上の理由から重要な検査となっています。更に，MRSAの判定は，単にMRSAに対する治療面だけでなく，MSSA（メチシリン感受性黄色ブドウ球菌：Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus*）に対して不要なMRSA用の治療を行わず，MRSA感染症治療薬に対する耐性菌の増加を防ぐ面からも重要となっています。MRSAをはじめとする多剤耐性ブドウ球菌にはPBP2' が特異的に存在することが知られています。本品は，抗PBP2' モノクローナル抗体（マウス）感作ラテックスと，アルカリ抽出法を組み合わせ，寒天培地上に発育した黄色ブドウ球菌からPBP2' の検出を行うスライドラテックス凝集反応試薬^{1) 2) 3)}です。

【性能】

1. 性能

1) 感度

下記のMRSA参照株ANJ-10株より得られた感度試験管理用検体を，りん酸塩緩衝塩化ナトリウム液を用いて2倍系列希釈したものを試料として試験を行ったとき，陽性と認められる最も高い希釈倍数は1:8～1:16を示します。

感度試験用菌株

菌 株	<i>mecA</i> ^{*2}	薬剤感受性 ^{*3}
MRSA参照株 ANJ-10	陽 性	耐 性

※2: PCR法を用いた*mecA*遺伝子（メチシリン耐性遺伝子）検出法

※3: NCCLS オキサシリン寒天法（オキサシリン：6 μ g/mL，4w/v%塩化ナトリウムを含むミューラーヒントン寒天培地）

2) 正確性

下記の特異性試験用菌株を用いて試験を行ったとき，MRSA参照株では陽性を示し，MSSA参照株では陰性を示します。

特異性試験用菌株

菌 株	<i>mecA</i>	薬剤感受性
MRSA参照株 ANJ-10	陽 性	耐 性
ANJ-12	陽 性	耐 性
ANJ-131	陽 性	耐 性
MSSA参照株 FDA209P	陰 性	感受性
ATCC25923	陰 性	感受性

3) 同時再現性

下記の同時再現性試験用菌株を用いて同時に5回試験を行ったとき，MRSA参照株ではいずれも陽性を示し，MSSA参照株ではいずれも陰性を示します。

同時再現性試験用菌株

菌 株	<i>mecA</i>	薬剤感受性
MRSA参照株 ANJ-10	陽 性	耐 性
MSSA参照株 FDA209P	陰 性	感受性

2. 相関性

本品によるPBP2'の検出とオキサシリン(MPIP)を用いた薬剤感受性試験によるMRSA判定法との比較、あるいはPCR法による*mecA*遺伝子の検出との比較を2施設において行った結果、下記のような結果が得られました²⁾³⁾。

＜薬剤感受性試験との比較：A＞

		薬剤感受性試験 ^{※4}		
		MRSA	MSSA	計
本 品	陽性	68	0	68
	陰性	1 ^{※5}	16	17
	計	69	16	85

陽性一致率 99% ※4：NCCLSオキサシリン寒天法
陰性一致率 100% ※5：PCR法では*mecA*遺伝子陽性
一致率 99%
不一致率 1%
陽性的中率 100%
陰性的中率 94%

＜薬剤感受性試験との比較：B＞

		薬剤感受性試験 ^{※6}		
		MRSA	MSSA	計
本 品	陽性	51	4 ^{※7}	55
	陰性	1 ^{※7}	32	33
	計	52	36	88

陽性一致率 98% ※6：NCCLS微量液体希釈法
陰性一致率 89% ※7：PCR法では*mecA*遺伝子陽性
一致率 94%
不一致率 6%
陽性的中率 93%
陰性的中率 97%

＜PCR法との比較：A＞

		PCR法		計
		<i>mecA</i> 陽性	<i>mecA</i> 陰性	
本 品	陽性	68	0	68
	陰性	1 ^{※8}	16	17
	計	69	16	85

陽性一致率 99% ※8：薬剤感受性試験(NCCLSオキサシリン寒天法)ではMRSA
陰性一致率 100%
一致率 99%
不一致率 1%
陽性的中率 100%
陰性的中率 94%

＜PCR法との比較：B＞

		PCR法		計
		<i>mecA</i> 陽性	<i>mecA</i> 陰性	
本 品	陽性	55	0	55
	陰性	3 ^{※9}	30	33
	計	58	30	88

陽性一致率 95% ※9：薬剤感受性試験(微量液体希釈法)
陰性一致率 100% ではMSSA2例、MRSA1例
一致率 97%
不一致率 3%
陽性的中率 100%
陰性的中率 91%

【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) 本品は感染性の臨床検体を対象としていますので、検体の採取、キットの操作、試料及び器具の廃棄の各場面において感染性のあるものとして取扱い、保護具(眼鏡、手袋、マスク等)を着用の上、十分注意して操作してください。なお、黄色ブドウ球菌はバイオセーフティレベル(BSL)2に該当します。
 - 2) 本品が、誤って目や口に入ったり皮膚に付着した場合には水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。

2. 使用上の注意

- 1) 本品は凍結を避け、貯蔵方法に従い保存してください。凍結させた場合、品質が変化して正しい成績が得られないことがあります。また、使用時には常温(15～25℃)に戻してから使用してください。
 - 2) ラテックス試薬は、使用の直前に十分攪拌して、均一な懸濁液とし、瓶を垂直に立てて滴加してください。
 - 3) 本品は、指定された条件で保管し、使用期限を過ぎたものは使用しないでください。
 - 4) スライド凝集反応板は点線部を折り立てて使用してください。
 - 5) 各試薬のキャップは取り違えないようにしてください。
 - 6) 製造番号の異なる試薬を組み合わせたり、混ぜ合わせて使用しないでください。また、同一ロットの試薬であっても試薬間の注ぎ足しは測定誤差を生じる原因となりますので避けてください。
3. 廃棄上の注意
- 1) 検体中には、感染性物質が存在する可能性がありますので、検体、廃液、使用済みの容器及び検査に使用したすべての器具類は、次のいずれかの方法で滅菌処理を行ってください。
 - (1) 最終濃度3.5vol%グルタルアルデヒド溶液に、30分間以上浸漬する。
 - (2) 0.5w/v%次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素5 000ppm)に、1時間以上浸漬する。
 - (3) 121℃で、20分間以上高圧蒸気滅菌をする。
 - 2) 構成試薬中の感作ラテックス、対照ラテックスは、アジ化ナトリウムを0.08w/v%含んでいます。アジ化ナトリウムは、鉛や銅と反応して爆発性のある重金属アジ化物を生成することがありますので、大量の水とともに廃棄してください。
 - 3) 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定に従って処理してください。

【貯蔵方法・有効期間】

- 1) 貯蔵方法 遮光して2～10℃に保存
- 2) 有効期間 1年
(外箱、ラベルに表示の使用期限内にご使用ください。)

【包装単位】

コードNo.	品 名	包 装
230744	MRSA－LA「生研」	50回用×1箱

【主要文献】

- 1) Nakatomi, Y., et al.: A rapid latex agglutination assay for the detection of penicillin-binding protein 2', Microbiol. Immunol., 42, 739 (1998).
- 2) 大塚和久：スライドラテックス凝集法によるMRSA鑑別試薬の評価, 医学と薬学, 40, 1083 (1998).
- 3) 花木秀明ら：ラテックススライド凝集法によるペニシリン結合蛋白質2' 検出用キットの臨床的有用性, 医学と薬学, 41, 749 (1999).

***【問い合わせ先】

デンカ株式会社 試薬学術担当
〒103-8338 東京都中央区日本橋室町二丁目1番1号
フリーダイヤル 0120-206-072
受付時間 9:00～17:00 (土日祝日・弊社休業日を除く)

* 製造販売元

デンカ株式会社
新潟県五泉市木越字鏡田1359番地1