使用の前に本電子化された添付文書をよく読むこと

体外診断用医薬品

**製造販売届出番号：13E1X00068000095

**令和5年　5月 改訂 （第3版）
*平成22年　7月 改訂 （第2版）

薬剤感受性（抗酸菌）キット

ミジットシリーズ　ピラジナミド

【全般的な注意】

1. 本品は体外診断用のみに使用し、それ以外の目的に使用しないこと。
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を行うこと。
** 3. 本電子化された添付文書に記載された使用方法以外での使用については保証しない。
** 4. 本電子化された添付文書の注意事項をよく読み、正しく検査を行うこと。
** 5. 使用する機器の注意事項等情報及び取扱い説明書をよく読んでから使用すること。

【形状・構造等（キットの構成）】

1. PZA 感受性薬剤（BACTEC™ MGIT™ 960 PZA Drug, Lyophilized）
   成分：ピラジナミド
2. PZA サプリメント（BACTEC™ MGIT™ 960 PZA Supplement）
3. PZA チューブ（BACTEC™ MGIT™ 960 PZA Medium）
   成分：トリス 4, 7 ジフェニルー 1, 10 フェナントロリン塩化ルテニウム五水和物

【使用目的】

抗酸菌のピラジナミドに対する感受性検査

***【測定原理】**

ミジットシリーズ ピラジナミドは 4～21 日で薬剤感受性試験を行います。試験は薬剤（ピラジナミド）入りのチューブにおける結核分離菌の発育と、薬剤が入っていないチューブ（発育コントロール）における発育とを比較して行います。PZA チューブには、蛍光物質のトリス 4,7 ジフェニルー1,10 フェナントロリン塩化ルテニウム五水和物がシリコンに埋め込まれ、試験管の底に入っており、これはブロス内の溶存酸素に敏感に反応します。最初はブロス内の大量の溶存酸素が発光を阻害し蛍光は見られません。その後、活発に呼吸を行う微生物が酸素を消費すると、蛍光が観察されるようになります。BD バクテック MGIT システムはチューブの蛍光増加を 1 時間毎にモニターし予め規定したアルゴリズム（薬剤入りチューブにおける発育と、発育コントロールにおける発育との比較）から自動的に結核分離菌の薬剤（ピラジナミド）に対する感受性の結果判定、報告を行います。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質、採取法

（1）検体の調製

以下に記載する調製方法は *Mycobacterium tuberculosis* の培養菌からの調製方法です。使用する菌が純粋な培養菌であることを確認して下さい。

<u>固形培地からの分離菌の調製：</u>

1） ミドルブルック 7H9 ブロス（あるいは MGIT ブロス）4mL を 8～10 個のガラスビーズを入れた 16.5×128mm の試験管（キャップ付き）に加えます。
2） コロニー形成後、最高 14 日目までの固形培地から、培地を取らないようにできるだけ多くのコロニーを白金耳でかき取ります。コロニーをミドルブルック 7H9 ブロスに懸濁します。懸濁液の濁度はマックファーランド#1.0（3×10^8CFU/mL）を超えるようにします。
3） 大きな菌塊を壊すため 2～3 分ボルテックスミクサーで攪拌します。
4） 混濁液を 20 分間静置します。
5） 上清を別の 16.5×128mm のキャップ付き滅菌試験管にピペットなどで移し（沈殿物を移さないように注意して下さい）、更に 15 分間静置します。
6） 上清（塊がない均一な液）を再び 16.5×128mm の試験管に移します。
7） 滅菌生理食塩水を用いて、上記 6）の懸濁液をマックファーランド#0.5（1.5×10^8CFU/mL）に調製します。
8） マックファーランド#0.5 に調製した混濁液 1.0mL を滅菌生理食塩水 4mL で希釈します。（5 倍希釈）

<u>ミジット分離培養剤からの調製：</u>

* 1） 培養同定・抗酸菌キット「ミジット分離培養剤」を BD バクテック MGIT 装置で測定した場合、初めて陽性になっ

た日の次の日（1 日後）から 5 日後までの間、ミジットチューブの陽性ブロスを試験接種菌の調製のために使用可能です。5 日目を過ぎた陽性チューブは、ミジットサプリメント入りの新たなミジットチューブでサブカルチャーし、本装置で陽性になるまで培養し、陽性を示した日の 1 日後から 5 日後までの間に使用します。

2） ミジットチューブが陽性 1 日後か 2 日後である場合は、3.測定（操作）法　感受性試験のための接種方法の項に進んで下さい。

3） ミジットチューブが陽性 3 日後、4 日後、もしくは 5 日後である場合は、陽性ブロスの 1.0mL を 4mL の滅菌生理食塩水に溶かします（5 倍希釈）。この希釈懸濁液を接種に使用します。

（2）固形培地から得られた懸濁液は、ガラスビーズと共に、攪拌した後に一定時間静置させる必要があります。

（3）固形培地から接種菌を調製するときに、比濁計を用いないでマックファーランド#0.5 を調製すると、正確な結果が得られないことがあります。

（4）*M. tuberculosis* の純粋な培養菌のみを使用して下さい。雑菌が混入していたり、複数の抗酸菌を含む培養液を使うと、正確な結果が得られないことがあります。

（5）薬剤を溶解する滅菌蒸留又は滅菌脱イオン水の容量が正しくないと、正確な結果が得られないことがあります。

【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製方法

PZA 感受性薬剤のバイアルを 2.5mL の滅菌蒸留又は脱イオン水で溶かし、8,000μg/mL の PZA 保存溶液を調製します。PZA サプリメント、PZA チューブはそのまま使用します。

*** 2. 必要な器具・器材・試料等**

感染の拡大を防ぐことを考慮して器具を準備します。
ピペット
ピペット用フィルター付チップ
微生物感受性分析装置（BD バクテック MGIT 装置、以下 MGIT 装置）
AST キャリア

3. 測定（操作）法

<u>薬剤感受性検査のための接種方法</u>

* （1）試験分離菌ごとに PZA チューブ 2 本に菌名を表示します。それぞれの PZA チューブに GC（発育コントロール PZA と表示します。2 本用の AST キャリアに、チューブを正しい順番に並べます（BD バクテック MGIT システムユーザーズマニュアルを参照して下さい）。

（2）各 PZA チューブに 0.8mL の PZA サプリメントを無菌的に添加します。注意：正しいサプリメントを使用することが大切です（【使用上又は取扱い上の注意】参照）。

（3）薬剤の添加：ピペットを使って、8,000μg/mL PZA 保存溶液を PZA と表示した PZA チューブに 100μL 無菌的に加えます。
GC と表示した PZA チューブ（GC チューブ）には薬剤を加えないで下さい。

薬剤	溶解後の薬剤濃度※※	PZA チューブへ加える薬剤溶液の量	PZA チューブの最終濃度
PZA	8,000μg/mL	100μL	100※μg/mL

※CDC 推奨臨界薬剤濃度に相当。（菌液接種前の薬剤濃度：菌液接種後は 95μg/mL）
※※これらの薬剤は滅菌蒸留・脱イオン水 2.5mL で溶解し、上記の濃度にしなければなりません。

（4）GC チューブの調製および接種：
ピペットを使って、検体懸濁液 0.5mL（「検体の調製」参照）を滅菌生理食塩水 4.5mL に無菌的に加え、10 倍希釈の発育コントロール懸濁液を調製します。発育コントロール懸濁液を十分に混和し、その 0.5mL を GC チューブに無菌的に加えます。

（5）薬剤を添加した PZA チューブへの検体接種：
ピペットを使って検体懸濁液 0.5mL（「検体の調製」参照）をもう一方の PZA 薬剤入り PZA チューブ（PZA と表示）に無菌的に加えます。

（6）キャップをしっかり閉めて十分混合して下さい。

* <u>MGIT 装置による測定：</u>

（1）AST セット操作機能を用いて、AST セットを MGIT 装置に登録・設置します（BD バクテック MGIT システムユーザーズマニュアル、以下ユーザーズマニュアル参照）。薬剤チューブの順番が、画面に表示されている薬剤順通りに正しくセットされていることを確認して下さい。

（2）検体懸濁液 0.1mL をトリプチケースソイⅡ 5%ヒツジ血液寒天培地（C#251239, 251261）に接種して下さい。プラスチック袋に入れて袋を閉じ、35～37℃のインキュベーターで培養して下さい。

（3）48 時間後に血液寒天培地に雑菌混在がないか確認します。血液寒天培地に菌の発育が見られない場合は、AST 試験を進めます。菌の発育が見られる場合、AST セットは廃棄して（ユーザーズマニュアル参照）、純粋培養菌を用いて試験をやり直して下さい。

*【測定結果の判定法】

MGIT 装置は感受性あるいは耐性の判定が行われるまで AST セットをモニターします。セット試験が完了すると MGIT 装置により結果が報告されます。（ユーザーズマニュアル参照）

【性能】

1. 再現性：臨床検査機関 3 施設で評価を行い、ミジットシリーズ ピラジナミドの再現性を検討しました。その結果、再現性は 86%～100%であり、ミジットシリーズ ピラジナミドの再現性は 95%と判定されました。
2. 相関性：結核菌臨床分離株 101 株を用い、感受性試験を 3 種のシステムで行いました。ミジットシリーズ ピラジナミドに対する比較試験を Pzase assay、PZA 薬剤感受性液体培地（他社）を用いて行った結果、下記の結果が得られました [1]（主要文献 1 の Table 1 を改変）。

（1）結核菌臨床分離株 101 株におけるミジットシリーズ ピラジナミドの感受性結果と Pzase assay との比較
本品と Pzase assay 法との間で相関試験を検討した結果、一致率は 93%となり、良好な相関が得られました。

		Pzase assay			
		S	R	計	
ミジットシリーズ ピラジナミド（100 μg/mL）※	S	56	1	57	一致率：93%（94/101）
	R	6	38	44	
	計	62	39	101	

（2）結核菌臨床分離株 101 株におけるミジットシリーズ ピラジナミドと PZA 薬剤感受性液体培地（他社）との感受性結果の比較
本品と結核菌薬剤感受性 PZA 液体培地との間で相関試験を検討した結果、一致率は 91%となり、良好な相関が得られました。

		PZA 薬剤感受性液体培地（他社）			
		S	R	計	
ミジットシリーズ ピラジナミド（100 μg/mL）※	S	53	4	57	一致率：91%（92/101）
	R	5	39	44	
	計	58	43	101	

※菌液接種前の薬剤濃度（菌液接種後は 95 μg/mL）

3. 較正用の基準物質 ：ATCC（American Type Culture Collection）標準菌株

【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）検査に用いられる検体は感染の危険があります。「ユニバーサル・プレコーション（すべての患者の体液・排泄物は汚染の可能性があるものとして扱うガイドライン）」および各研究機関が定めたガイドラインに沿って、器具を取り扱い破棄して下さい [2]。
Mycobacterium tuberculosis の取扱いにはバイオセイフティー・レベルⅢの操作、格納機器、設備が必要です。CDC 基準を確認して下さい [3]。

2. 使用上の注意

（1）使用に際しては、該当するすべてのパッケージに入っている説明書の内容をよく読み、指示に従って下さい。
（2）使用前にチューブとバイアルを調べて、汚染や破傷がないことを確認して下さい。不適切と見受けられるものや、使用前に蛍光を発する分離培養剤（ミジット）、ミジットチューブ、PZA チューブはすべて破棄して下さい。
** （3）使用者の品質管理
ミジットシリーズ ピラジナミドの新しいロット番号の製品を使用する時には、*M. tuberculosis* ATCC27294 をテストすることをお勧めします（「感受性試験のための接種方法」の項をご参照下さい）。4～20 日内に以下に示すような正しい結果が観察されれば、本品を用いて患者からの分離菌の試験に用いることができます。以下に示すような結果が観察されなかった場合は、品質管理テストをもう一度繰り返して下さい。その後も適切な結果が観察されなかった場合は本品の使用をお控えいただくと共に、日本ベクトン・ディッキンソン株式会社 カスタマーサービスへご連絡ください。

菌株	GC（発育コントロール）	薬剤（ピラジナミド）添加
M. tuberculosis ATCC27294	発育	発育阻止

感受性試験を行う時は、同じコントロール菌のバッチ品質管理を毎週実施して下さい。バッチ品質管理の結果が正しくない場合は、その試験期間に行われたその薬剤に対する患者検体の結果を報告しないで下さい。品質管理テストが不適切な場合、関係する薬剤と患者からの分離菌について再度品質管理を行って下さい。その後も適切な結果が観察されなかった場合は、患者検体の結果を報告せずに本品の使用をお控えいただくと共に、日本ベクトン・ディッキンソン株式会社 カスタマーサービスへご連絡下さい。

(4) GC チューブへ接種する分離菌を 10 倍に希釈しなかった場合は、不正確な結果を出す恐れがあります。
* (5) AST キャリアへチューブを正しい順番で入れなかった場合、正確な結果が得られないことがあります。
(6) 本試験に PZA サプリメントを使用しなかった場合は、正確な結果が得られないことがあります
(7) 本試験にミジット分離培養剤のミジットサプリメントを使用しないでください。
(8) 貯蔵方法を守ってご使用下さい。
PZA 感受性薬剤： 未開封のバイアルは 2～8℃で保管して下さい。溶解後の薬剤溶液は－20℃以下で 6 ヶ月間保管できます。ただし、使用期限を過ぎたものは使用しないで下さい。解凍後は直ちに使用し、残った液は廃棄して下さい。
PZA サプリメント： 暗所にて 2 ～8℃で保管して下さい。凍結、加熱を避け、遮光保存して下さい。使用期限を過ぎたものは使用しないで下さい。

3. 廃棄上の注意

(1) 接種済みのミジットチューブ、PZA チューブはすべて破棄前にオートクレーブ滅菌して下さい。
* (2) 検体がチューブからこぼれたり、チューブが破損したりした場合：
1）装置のラックを閉じ、2）装置の電源を切り、3）その場から速やかに退去し、4）各施設/CDC ガイドラインに従って下さい。
(3) 検体チューブが割れたり、菌液が大量にこぼれた場合は、各施設のガイドラインに準じて装置の除菌を行って下さい。保守作業を実施する前に除菌の手順書を作業員に提示し、忠告して下さい。
チューブのキャップ周りに垂れた程度の液漏れは、抗酸菌殺菌（消毒）剤で殺菌した後、2%グルタールアルデヒド（pH7.5～8.5 に炭酸水素ナトリウムで調製）で消毒して下さい。グルタールアルデヒドは、加熱すると分解して刺激性の煙やフューム（一酸化炭素、二酸化炭素）を生成します。殺菌の際には、充分に換気し適切な保護具（衣）を装着して行って下さい。また、本薬剤が皮膚に触れた場合、眼に入った場合、吸入・誤飲した場合は、労働安全法及び施設のガイドラインに則って適切な応急措置をして下さい。万が一、チューブを落としてしまった場合は、注意深く破損箇所が無いか確認して下さい。破損部があった場合は、そのチューブは破棄して下さい。

【貯蔵方法・有効期間】

構成試薬	貯蔵方法	有効期間
PZA 感受性薬剤	2～8℃	18 ヶ月
PZA サプリメント	2～8℃	18 ヶ月
PZA チューブ	2～25℃	18 ヶ月

【包装単位】

カタログ番号	製品名	構成品	入り数（本）
251827	ミジットシリーズ ピラジナミド (BACTEC™ MGIT™ 960 PZA Kit)	PZA 感受性薬剤 PZA サプリメント	1 3
245115	PZA チューブ (BACTEC™ MGIT™ 960 PZA Medium)	PZA チューブ	25

【主要文献】

1. Aono, A., Hirano, K., Hamasaki, S. and Abe, C. Evaluation of BACTEC MGIT 960 PZA medium for susceptibility testing of *Mycobecterium tuberculosis to pyrazinamide*（PZA）: compared with the results of pyrazinamidase assay and Kyokuto PZA test. Diagn Microbiol Infect Dis 2002, 44 : 347-352.
2. Washington.D.C.Bloodborne pathogens.Code of Federal Regulations.Title 29, Part 1910.1030.Federal Register 1991, 56 : 64175－64182.
3. Kent,P.T.,and G.P.Kubica.1985. Public health mycobacteriology : a guide for the level III laboratory. USDHHS. Center for Disease Control, Atlanta.

【問い合わせ先】

日本ベクトン・ディッキンソン株式会社
** カスタマーサービス
TEL 0120-8555-90

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

日本ベクトン・ディッキンソン株式会社
** 東京都港区赤坂４－１５－１　赤坂ガーデンシティ
TEL 0120-8555-90