

この説明書をよく読んでから使用してください。

研究用試薬

※2011年11月改訂(第3版)
※2011年8月改訂(第2版)

MIZUHO MEDY Co., Ltd.

AAC(6')-Iae(アミノグリコシド薬耐性因子)
及びIMP(βラクタム薬耐性因子)同時検出

クイックチェイサー® Iae・IMP

【はじめに】

近年、国内外の医療現場において薬剤耐性菌による院内感染が問題になっている。耐性菌としては、従来問題となっていたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)、バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)以外に、多剤耐性緑膿菌(MDRP)等のグラム陰性桿菌が各地の医療機関から高頻度に単離されている。多剤耐性緑膿菌の検査室レベルでの迅速診断は早急な院内感染対策に直結し、感染制御を考える上で有益な手段である。

薬剤耐性緑膿菌感染症は5類感染症定点把握疾患に定められており、薬剤耐性緑膿菌感染症が疑われた患者から感染症の起因菌として分離された緑膿菌がカルバペネム系薬剤(βラクタム剤)、アミカシン(アミノグリコシド剤)及びフルオロキノロン剤の3剤に対し、16 µg/mL以上、32 µg/mL以上及び4 µg/mL以上の最小発育阻止濃度(MIC)値を示した場合には、感染症法に従い届出を行う必要がある。さらに、近年では上記3剤に対して128 µg/mL以上の高いMIC値を示す高度な薬剤耐性を有する多剤耐性緑膿菌株の存在が明らかになっており、それらの株はアミノグリコシド修飾酵素の一つであるアミノグリコシド6'-N-アセチル基転移酵素AAC(6')-Iae及びIMP型メタロβラクマーゼを産生するという特徴を持つことが多い。

「クイックチェイサー® Iae・IMP」はイムノクロマト法の原理に基づき簡便なステップで迅速かつ特異的にAAC(6')-Iae及びIMPを検出する研究用試薬であり、測定試料として培地で培養した緑膿菌のコロニーを用いることでAAC(6')-Iae及びIMP産生株を鑑別できる。

【全般的な注意】

- 1)本品は研究用試薬であり、それ以外の目的に使用しないで下さい。
- 2)本品には、保存剤として微量アジ化ナトリウムが含まれていますので、誤って目や口に入ったり、皮膚に付着したりした場合には大量の水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けて下さい。
- 3)緑膿菌が有する薬剤耐性因子のうち、本品で検出できるのはAAC(6')-Iae及びIMPのみです。他の薬剤耐性因子に関しては検出できません。

【試薬の構成および成分】

1)テストプレート

- ・抗AAC(6')-Iaeラットモノクローナル抗体
- ・金コロイド標識抗AAC(6')-Iaeラットモノクローナル抗体
- ・抗IMPラットモノクローナル抗体
- ・金コロイド標識抗IMPラットモノクローナル抗体

2)抽出液

0.09%アジ化ナトリウムを含む200mM Tris/HCl 緩衝液 pH7.4

【測定試料】

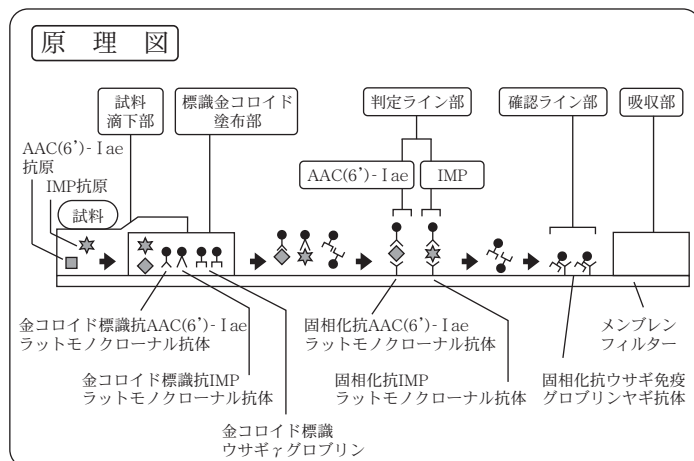
測定試料は寒天平板培地で分離培養された緑膿菌のコロニーを用いて下さい。

【測定原理】

「クイックチェイサー® Iae・IMP」はイムノクロマト法に基づいたアミノグリコシド6'-N-アセチル基転移酵素AAC(6')-Iae及びIMP型メタロβラクマーゼを検出する研究用試薬です。

テストプレート内にセットしてあるメンブレンフィルター上の標識金コロイド塗布部にはそれぞれ金コロイド標識してある抗AAC(6')-Iaeラットモノクローナル抗体、抗IMPラットモノクローナル抗体及び確認ライン用のウサギγグロブリンが塗布してあります。また、メンブレンフィルター上の2箇所の判定ライン部には、AAC部に抗AAC(6')-Iaeラットモノクローナル抗体を、IMP部に抗IMPラットモノクローナル抗体をそれぞれ固相化し、確認ライン部には抗ウサギ免疫グロブリンヤギ抗体を固相化してあります。

試料にAAC(6')-Iae抗原が存在する場合、試料滴下部から移動してきた試料中のAAC(6')-Iae抗原は、標識金コロイド塗布部において金コロイド標識抗AAC(6')-Iaeラットモノクローナル抗体と結合し、複合体を形成します。イムノクロマト法の原理により移動したこの複合体が、判定ライン部において固相化されている抗AAC(6')-Iaeラットモノクローナル抗体に捕捉され、これらでサンドイッチ型の複合体を形成することにより、金コロイドによる赤紫色のラインが出現します。また、試料にIMP抗原が存在する場合も同様に抗IMPラットモノクローナル抗体によるサンドイッチ型の複合体を形成することにより赤紫色のラインが出現します。なお、同時に金コロイド標識ウサギγグロブリンも移動して確認ライン部で抗ウサギ免疫グロブリンヤギ抗体に捕捉されるため、AAC(6')-IaeおよびIMP抗原の有無にかかわらず赤紫色のラインが出現します。

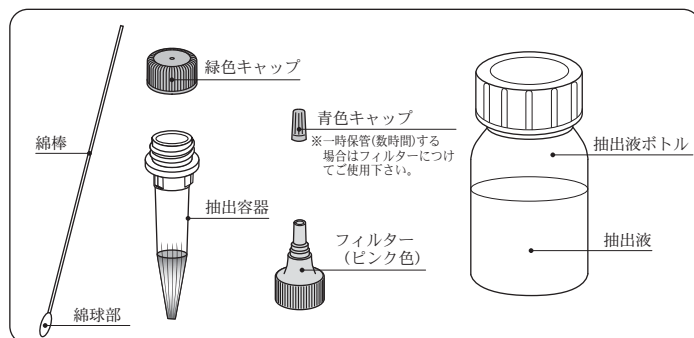


【操作上の注意】

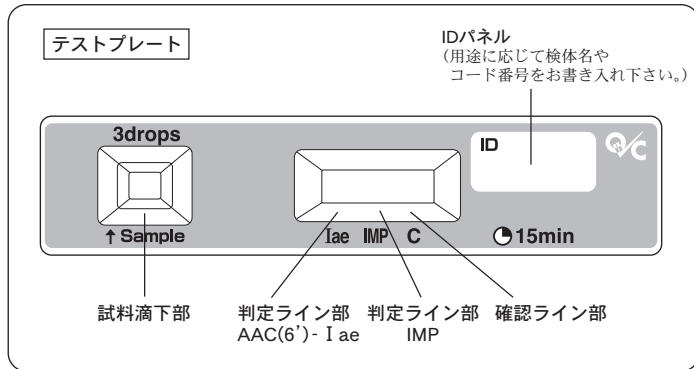
- 1)採取した緑膿菌コロニーは調製方法にしがたい試料の調製を行い、調製後は出来るだけ早く使用して下さい。
- 2)試料の滴下量は所定の量(3滴)を守って下さい。所定量以外の場合、正確な判断が行われなことがあります。
- 3)テストプレート及び抽出液は15～30℃に戻して使用して下さい。

【用法・用量(操作方法)】

●抽出容器各部名称

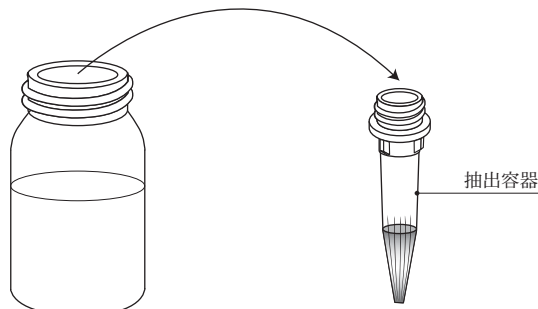


●テストプレート



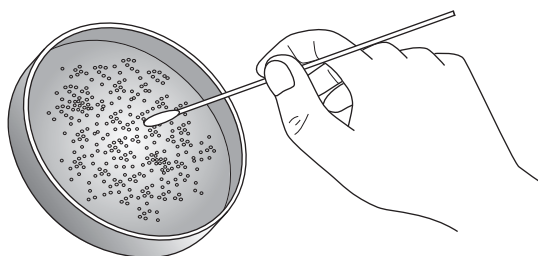
●試料の調製

①抽出液ボトルから抽出容器に700 μ L分注してください。

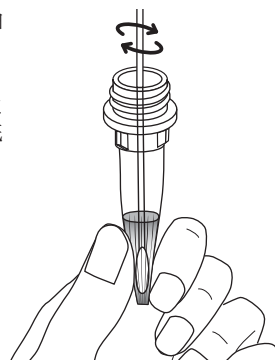


②緑膿菌を培養した培地から緑膿菌のコロニーを採取して下さい。

※培地によるテストへの影響を避けるため、コロニー採取の際は抽出液への培地の混入を最小限にして下さい。

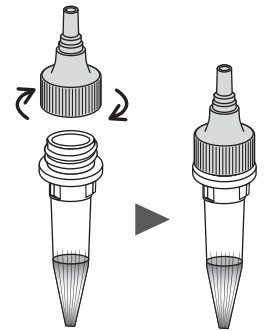


③コロニーを採取した綿球部を抽出容器の底まで入れて下さい。
抽出容器の外から綿球部をはさむ様に押さえ、綿棒を5回左右に回転させ、抽出容器の側面及び底面にこすりつけて下さい。



④フィルター(ピンク色)を抽出容器に装着して、容器の溝部分を外側から指ではさんでこすり擦り合わせ、菌塊を細かく壊し、数回軽く左右に揺すって混和したものを試料とします。

※菌塊を細かく壊すことにより、菌体内のAAC(6')-I ae及びIMP抽出効率を高めると共に菌塊によるフィルターの詰まりを防ぐことができます。



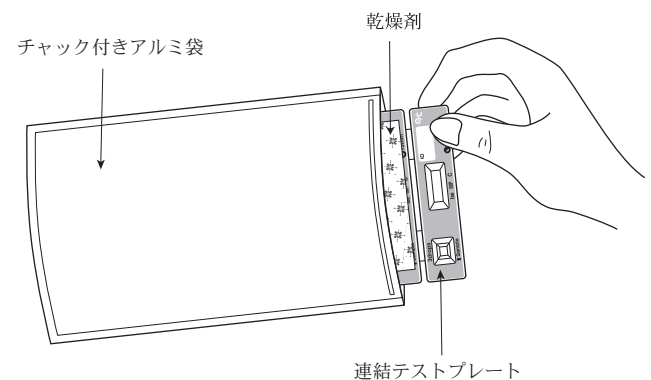
●操作方法

1)試薬の調製方法

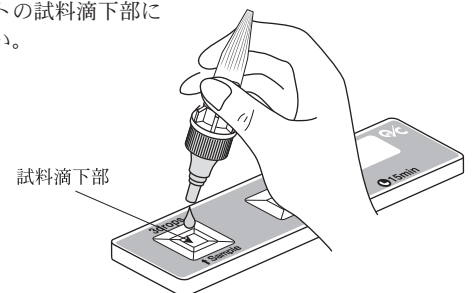
テストプレート：そのまま使用します。

2)測定方法

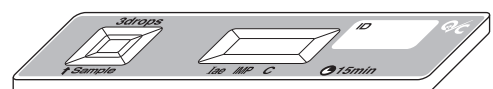
①チャック付きアルミ袋からテストプレートを取り出して下さい。
使用するテスト数を切り取ります。残りのテストプレートはチャック付きアルミ袋に乾燥剤と共に戻し、チャックを閉めます。



②平たい場所に置き、抽出容器内で調製した試料3滴(約100 μ L)をテストプレートの試料滴下部に滴下して下さい。



③15 ~ 30℃で15分間静置して反応させて下さい。

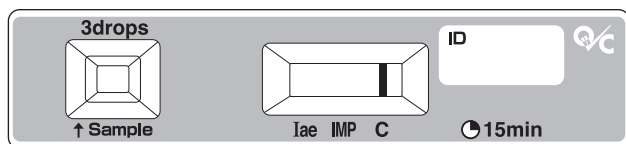


④目視にて判定ライン部及び確認ライン部に出現するラインで判定して下さい。

【測定結果の判定方法】

《陰 性》

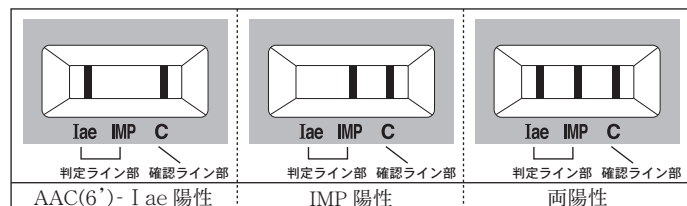
確認ライン部にのみ赤紫色のラインが出現した場合を陰性と判定して下さい。



判定ライン部 確認ライン部

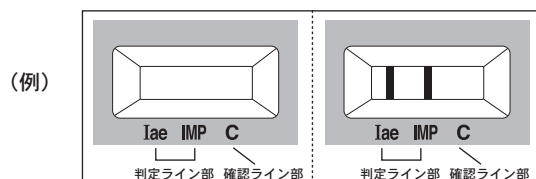
《陽 性》

確認ライン部にラインが出現し、判定ライン部にも1本もしくは2本のラインが出現した場合を陽性と判定して下さい。



《再測定》

判定ライン部のラインの出現の有無にかかわらず、確認ライン部にラインが出現しなかった場合は、試料量不足等の操作上のミス等が考えられますので、再度操作方法を確認の上、新しい試薬で操作を行って下さい。



●判定上の注意

判定時間は15分です。それ以前に金コロイドの流れにより一時的にスジ状のライン等が現れることがありますが、これは判定ラインではありませんのでご注意ください。

【性 能】

【AAC(6')-Iae】

		PCR法		計
		+	-	
本品	+	157	0	157
	-	0	91	91
計		157	91	248

緑膿菌248株についての本品によるAAC(6')-Iae(タンパク質)検査と、PCR法によるaac(6')-Iae(遺伝子)検査との結果を比較すると、aac(6')-Iae(遺伝子)陽性の157株全てにおいて本品は陽性を示し、aac(6')-Iae(遺伝子)陰性の91株全てにおいて本品は陰性を示した。PCRとの相関は100%であった。

【IMP】

		PCR法		計
		+	-	
本品	+	191	0	191
	-	0	57	57
計		191	57	248

緑膿菌248株についての本品によるIMP(タンパク質)検査と、PCR法によるblaIMP(遺伝子)検査との結果を比較すると、blaIMP(遺伝子)陽性の191株全てにおいて本品は陽性を示し、blaIMP(遺伝子)陰性の57株全てにおいて本品は陰性を示した。PCRとの相関は100%であった。

また、本品によるIMP(タンパク質)検査の結果とメタロβラクタマーゼ(MBL)の阻害剤であるメルカプト酢酸ナトリウム(SMA)を用いたMBL産生株スクリーニング検査(SMA法)の結果を比較したところ、本品にて陽性となった191株のうちSMA法では166株が陽性であり、SMA法で陰性と示した25株にはPCR法にてblaIMP(遺伝子)の存在が認められた。

また、本品にて陰性となった57株のうちSMA法では56株が陰性であり、SMA法で陽性と示した1株にはPCR法にてblaIMP(遺伝子)の存在が認められなかった。

		SMA法		計
		+	-	
本品	+	166	25	191
	-	1	56	57
計		167	81	248

【使用上又は取扱い上の注意事項】

1)取扱い上(危険防止)の注意

- ①試料(検体)は、感染のあるものとして取り扱ってください。使用に当たっては、感染の危険を避けるため、使い捨て手袋やゴーグル及びマスク等の着用をお勧めします。
- ②使用に際しては、試料(検体)や抽出液が直接皮膚に付着したり、目に入ったりしないように注意して下さい。
- ③試料(検体)や抽出液が誤って目や口に入った場合には、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下さい。
- ④試料(検体)の採取は十分習熟した人、またはその指導の下で行って下さい。
- ⑤テストプレートに使用しているメンブレンの材質はニトロセルロースです。ニトロセルロースは極めて燃焼性が高いため、火気の近くで操作を行わないで下さい。
- ⑥試料(検体)が飛散した場合は消毒用アルコール等を用いてふき取って下さい。

2)使用上の注意

- ①本品は研究用試薬です。疾病の治療・診断・予防を目的として使用しないで下さい。
- ②本品は異なる製造番号の製品、あるいは別の製品の構成試薬と組み合わせて使用しないで下さい。
- ③使用期限を過ぎた試薬は使用しないで下さい。
- ④試薬は凍結を避け、貯法に従い保存して下さい。凍結させた試薬は、品質が変化して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。
- ⑤チェック付きアルミ袋の開封は、端をハサミで切って行って下さい。
- ⑥必要な分のテストプレートをチェック付きアルミ袋から取り出し、直ちに使用して下さい。室内に長時間放置すると、湿気を帯びて反応しないことがあります。
- ⑦残ったテストプレートは、チェック付きアルミ袋に乾燥剤と共に戻し、チェックを閉めて保存し、その後早めに使い切るようにして下さい。
- ⑧使用済みのテストプレートはチェック付きアルミ袋に入れないで下さい。
- ⑨テストプレートを切り離す際は、IDパネル部を持ち、切り離し部に折り目を入れた後、丁寧に切り離して下さい。
- ⑩切り離れた切断面に小さな突起やザラつきを生じることがありますので、手や指を傷つけないように注意して下さい。
- ⑪テストプレートの試料滴下部に直接手を触れないで下さい。
- ⑫使用前の滅菌綿棒の綿球部分には手を触れないようにして下さい。

3)廃棄上の注意

- ①使用後の抽出容器及びテストプレート、試料(検体)に接触した綿棒は、感染性があるものとして、グルタルアルデヒド溶液(2vol%, 1時間以上浸漬)または、次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素濃度1000ppm以上、1時間以上浸漬)による消毒処理、あるいはオートクレーブ(121℃, 20分以上)による滅菌処理を行って下さい。
- ②アジ化ナトリウムは鉛管や銅管と反応して爆発性の金属アジドを生成する場合があるため、廃棄の際は大量の水と共に流して下さい。
- 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下さい。

*【貯蔵方法・有効期間】

- ・貯蔵方法：室温(1～30℃)
- ・有効期間：18ヵ月

**【包装単位】

クイックチェイサー®Iae・IMP 10回用

- ・テストプレート10テスト
- ・抽出液(抽出液ボトル).....15mL×1本
- ・付属品 抽出容器10本
- 滅菌綿棒10本
- フィルター(抽出容器用).....10個
- 青色キャップ(抽出容器の一時保管用).....10個

※この他にも包装がございますので、お問い合わせ下さい。

【参考文献】

- 1)Kitao T. et al.; J. Antimicrob. Chemother. (2010) 65 (7): 1382-1386.
- 2)Sekiguchi J. et al.; Antimicrob. Agents Chemother. (2005) 49 (9):3734-3742.
- 3)Sekiguchi J. et al.; J. Clin. Microbiol. (2007) 45(3):979-989.
- 4)Sekiguchi J. et al.; J. Infect. Chemother. (2007) 13(6):418-422.
- 5)Kouda S. et al.; J. Antimicrob. Chemother. (2009) 64(1):46-51.
- 6)霜島 正浩ほか: 第21回日本臨床微生物学会総会 抄録集.(2009)19(4)119.

文献請求及びお問い合わせは

株式会社 ミズホメディー 学術担当窓口
佐賀県鳥栖市藤木町5番地の4 フリーダイヤル 0120-12-4636
FAX 0942-85-0335

「クイックチェイサー」は(株)ミズホメディーの登録商標です。

株式会社 ミズホメディー
佐賀県鳥栖市藤木町5番地の4