

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

2012年8月改訂(第1版)

MIZUHO MEDY Co., Ltd.

IMP型メタロ-β-ラクタマーゼ
(β-ラクタム薬耐性因子)検出試薬

クイックチェイサー[®] IMP

【はじめに】

近年、抗生物質を中心とした各種抗菌薬の発達により、細菌等の感染症による死亡率は著しく減少した反面、各種抗菌薬の大量使用に伴う薬剤耐性菌の出現が問題となっている。

日常検査で検出される腸内細菌や緑膿菌やアシネトバクター等のグラム陰性桿菌に認められる耐性因子としてβ-ラクタマーゼがある。β-ラクタマーゼはβ-ラクタム系薬剤を加水分解し不活化してしまう酵素であり、その多くはプラスミドによって伝播される。そのため、菌同士の接触により耐性因子が伝達され容易に菌が耐性を獲得することができる。さらには、菌株や菌種も超えて伝達されるため、耐性菌が広範囲に劇的に増殖しやすいことを意味する。これらは施設内や環境内にも拡散・伝播しやすいため細心の注意が必要とされる。そのため、感染防止対策として迅速な検出が求められている。β-ラクタマーゼはいくつかのタイプに分類され、メタロ-β-ラクタマーゼ(MBL)、基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)及びAmpC β-ラクタマーゼがよく知られている。国内のグラム陰性桿菌からはIMP型のMBLが高頻度に検出される。IMP型MBLは第3世代セフェムだけでなく、最後の砦とされるイミペネムのようなカルバペネム系抗菌薬も分解するため、特に問題視されている。

「クイックチェイサー[®] 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IMP型MBL(以下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菌体(コロニー)を用いることで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)本品はIMP型MBLを検出します。MBLには他にもNDM型、VIM型やSIM-1型を始めとする多くの型が存在することが報告されています。この中でもNDM型やVIM型MBLとは交叉反応を示しません。ただし、SIM-1型MBLのようにIMP型MBLと類似の構造を有するMBLとは交叉反応する可能性があります。

【試薬の構成および成分】

- 1)テストプレート
 - ・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

【使用目的】

IMP型MBL産生細菌の確認

【測定試料】

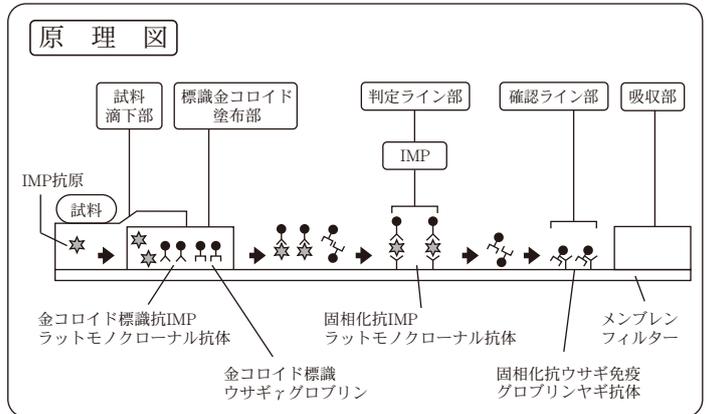
測定試料は寒天平板培地で分離培養された菌のコロニーを用いて下さい。

【測定原理】

「クイックチェイサー[®] IMP」はイムノクロマト法に基づいたIMPを検出する研究用試薬です。

テストプレート内にセットされてい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されている抗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グロブリンが塗布されています。また、メンブレンフィルター上の判定ライン部には抗IMPラットモノクローナル抗体が固相化されており、確認ライン部には抗ウサギ免疫グロブリンヤギ抗体が固相化されています。

試料にIMPが存在する場合、試料滴下部から移動してきた試料中のIMPは、標識金コロイド塗布部において金コロイド標識抗IMP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IMP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。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、IMPの有無にかかわらず赤紫色のラインが出現します。

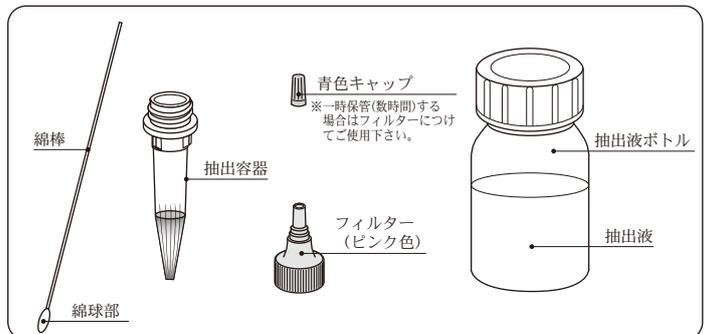


【操作上の注意】

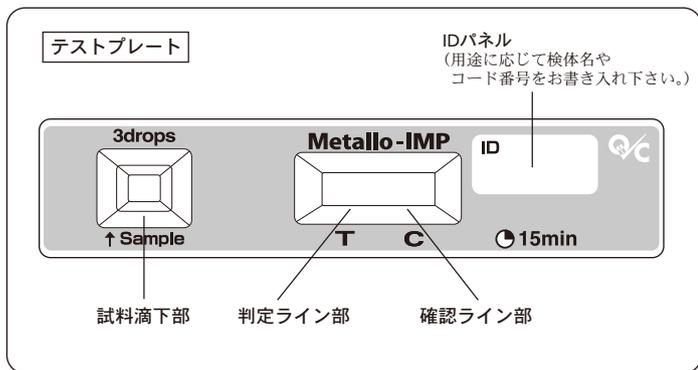
- 1)採取したコロニーは調製方法に従い試料の調製を行い、調製後は出来るだけ早く使用して下さい。
- 2)試料の滴下量は所定の量(3滴)を守って下さい。所定量以外の場合、正確な判断が行われなことがあります。
- 3)テストプレート及び抽出液は15~30℃に戻して使用して下さい。

【用法・用量(操作方法)】

●抽出容器各部名称

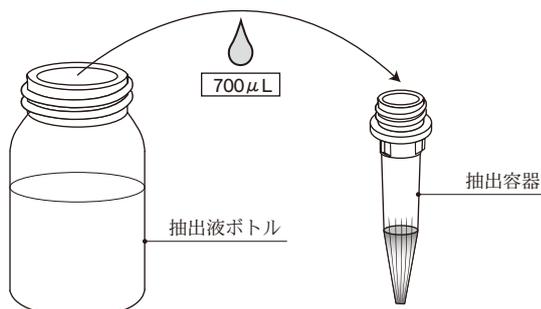


●テストプレート



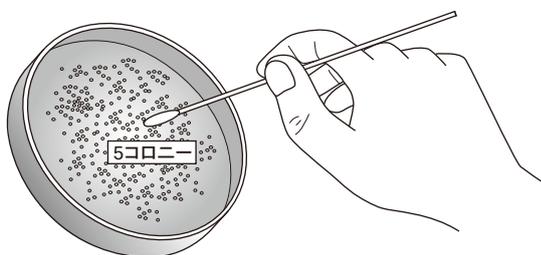
●試料の調製

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。



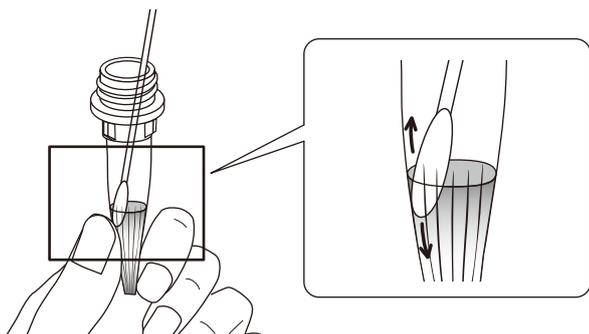
②培地上の生育コロニーを5コロニー程度採取して下さい。

※ 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。

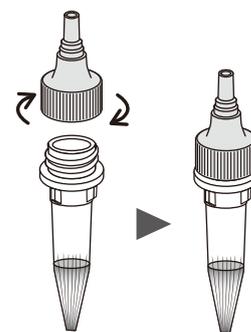


③採取したコロニーを破碎するため、綿球部のコロニーが付着した部分を容器内側の凹凸部分にこすりつけます。この時、抽出液の液面付近で綿球部をこすりつけると、効率良くコロニーを破碎し、抽出液に溶かすことができます。最初から綿球部を奥まで入れると、コロニーが浮遊してうまく破碎できない可能性があります。

綿球部を抽出容器の外から挟みこみ懸濁を行い、綿球部をしばらく出しながら綿棒を取り出して下さい。



④フィルター(ピンク色)を抽出容器に装着して、数回軽く左右に揺すって混和したものを試料とします。



※コロニーを細かく壊すことにより、菌体内の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。

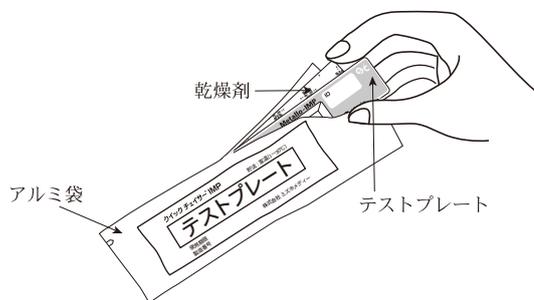
●操作方法

1)試薬の調製方法

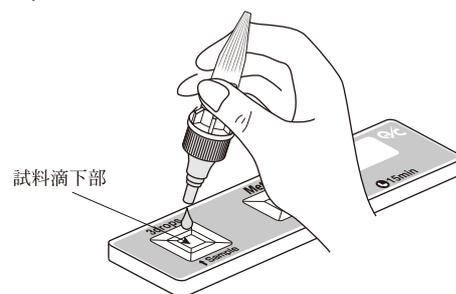
テストプレート：そのまま使用します。

2)測定方法

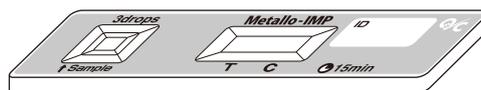
①アルミ袋からテストプレートを取り出して下さい。



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。

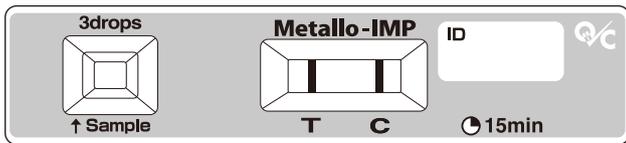


④目視にて判定ライン部及び確認ライン部に出現するラインで判定して下さい。

【測定結果の判定方法】

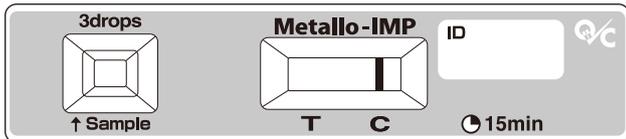
《陽性》

確認ライン部にラインが出現し、判定ライン部にもラインが出現した場合を陽性と判定して下さい。



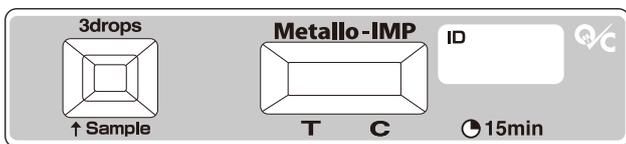
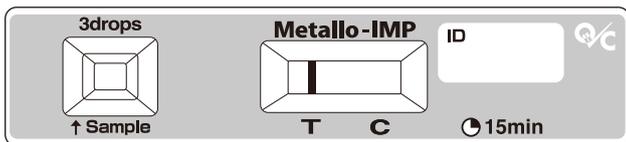
《陰性》

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。



《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】

		PCR法		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	318	0	318
	陰性	0	60	60
計		318	60	378

		SMA法		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	285	33	318
	陰性	1	59	60
計		286	92	378

緑膿菌250株と腸内細菌128株の計378株について、本品によるIMP(タンパク質)検査と、PCR法による bla_{IMP} (遺伝子)検査との結果を比較すると、 bla_{IMP} (遺伝子)陽性の318株全てにおいて本品は陽性を示し、 bla_{IMP} (遺伝子)陰性の60株全てにおいて本品は陰性を示した。PCR法との相関は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318株のうちSMA法では285株が陽性であり、SMA法で陰性と示した33株にはPCR法にて bla_{IMP} (遺伝子)の存在が認められた。また、本品にて陰性となった60株のうちSMA法では59株が陰性であり、SMA法で陽性と示した1株にはPCR法にて bla_{IMP} (遺伝子)の存在が認められなかった。

【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。
- ⑦付属の青色キャップには密封性はありません。輸送及び保存の目的には使用しないで下さい。

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アルミ袋開封後のテストプレートはただ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。
- ⑤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。
- ⑥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。
- ⑦使用前の綿棒の綿球部分には手を触れないようにして下さい。
- ⑧テストプレート、綿棒、抽出容器(フィルターやキャップ類も含む)は1回のみを使いきりとして下さい。
- ⑨試料の調製後、綿棒を取り出す際に試料が飛び跳ねないように注意して下さい。

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りますため、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：24ヵ月

【包装単位】

クイックチェイサー® 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
- 綿棒 10本
- スタンド(抽出容器用) 1個
- 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
- ネームシール 1シート

【参考文献】

- 1) Sekiguchi J. et al.: Antimicrob. Agents Chemother., 49(9), 3734~3742(2005)
- 2) Sekiguchi J. et al.: J. Clin. Microbiol., 45(3), 979~989(2007)
- 3) Kouda S. et al.: J. Antimicrob. Chemother., 64(1), 46~51(2009)
- 4) Kitao T. et al.: Int. J. Antimicrob. Agents., 39(6), 518~521(2012)
- 5) Kitao T. et al.: J. Microbiol. Methods., 87(3), 330~337(2011)

文献請求及びお問い合わせは

株式会社 ミズホメディアー 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)ミズホメディアーの登録商標です。

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