動物用体外診断用医薬品

製品コード　E-VK04

薬剤感受性（一般細菌・ディスク法）キット

VKBディスク® '栄研' オルビフロキサシン

1 **VKBディスク® '栄研' オルビフロキサシンは動物専用フルオロキノロン系抗菌薬の動物用体外診断用医薬品です。**

2 **本ディスクの活用は獣医師の適切な薬剤選択に役立ちます。**

3 **本ディスクの活用はオルビフロキサシン製剤の適正使用につながります。**

bah 物産アニマルヘルス

DRUG INFORMATION

【製品の添付文書をよく読んでご使用下さい。】

動物用体外診断用医薬品

薬剤感受性（一般細菌・ディスク法）キット

VKBディスク®'栄研'オルビフロキサシン

開発の経緯及び特徴

薬剤感受性検査は、感染症治療のための適切で有効な抗菌薬選択に用いられる。また、抗菌薬の不適切な使用や不必要な投与による耐性菌出現を防ぐための重要な検査である。

近年、家畜に抗菌薬が使用された場合、選択圧による耐性菌がヒトの健康に影響を及ぼす可能性が懸念され、現在そのリスク評価等が行われている。かかる中で、耐性菌の出現を防止・抑制のために抗菌薬を適切に選択し、慎重に使用することが望まれている。

本剤はKirby-Bauer法によるディスク拡散法[1),2)]を測定原理としてオルビフロキサシンの細菌に対する阻止円径を測定し、Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI)のガイドラインに準拠した製品である[3),4),5)]。

成分及び分量

本剤は、直径6.35mmの円形ろ紙（ディスク）にオルビフロキサシン10μgを含有させ、乾燥したものであり、ディスクには薬剤略号としてOBFX（最後の51枚目は斜線付きOBFX）が表示されている。

使用目的

オルビフロキサシンの細菌に対する阻止円径の測定

用法・用量（操作方法）[3),4)]

1. 必要な器具・器材・試料等

1）滅菌生理食塩水（菌液調製用）
2）増殖用培地（パールコア　トリプトソイブイヨン培地 '栄研' 等）
3）感受性試験用培地（パールコア　ミュラーヒントンS寒天培地 '栄研' 等）
4）McFarland標準濁度0.5の懸濁液（標準菌濁度液A '栄研' ）
5）その他（シャーレ, 白金耳, 滅菌綿棒, 培養器, ノギス, ピンセット又はディスペンサー）

2. 使用方法

1）感受性試験用培地

ポアメディア　ミュラーヒントンS寒天培地,ポアメディア　ミュラーヒントンSヒツジ血液寒天培地等の市販あるいは自家調製した培地を使用する。自家調製する場合は、各培地の使用方法に従って調製し、培地の厚さが4mmとなるように作製する。内径8.5cmのシャーレでは25mLを分注すると、培地の厚さはほぼ4mmとなる。
代表的な菌種について使用する培地は以下のとおりである。

菌　種	培　地
腸内細菌科, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Acinetobacter* 属菌, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Staphylococcus* 属菌, *Enterococcus*属菌	ミュラーヒントン寒天培地
*Haemophilus*属菌	ヘモフィルステスト寒天培地（HTM）（ミュラーヒントン寒天培地に次のサプリメントを添加する。15μg/mL β-NAD,15μg/mL　bovine 又はporcine hematin,5g/L yeast extract）
肺炎球菌, β溶血レンサ球菌, ビリダンスレンサ球菌, 髄膜炎菌	ミュラーヒントンヒツジ血液寒天培地（ミュラーヒントン寒天培地にヒツジ脱線維素血液を5%の割合に添加して調製）
淋菌	GC 培地に次のサプリメントを1%に添加する。 1.1g L-cystine, 0.03g guanine HCl, 3 mg thiamine HCl, 13mg PABA, 0.01g vitamin B12, 0.1g cocarboxylase, 0.25g NAD, 1g adenine, 10g L-glutamine, 100g glucose, 0.02g ferric nitrate, 25.9g L-cysteine HCl 以上を精製水1,000mLに溶解してろ過滅菌する。

2）菌液の調製

一夜培養した非選択寒天培地上の被検菌体を釣菌して滅菌生理食塩水又はパールコア　トリプトソイブイヨン培地'栄研'等に懸濁する方法（直接法）と、一旦、被検菌体をパールコア　トリプトソイブイヨン培地'栄研'等から調製した液体培地4～5mLに接種して35±2℃で2～6時間培養した後、滅菌生理食塩水又はパールコア　トリプトソイブイヨン培地'栄研'等で菌液濃度を調整する方法（増殖法）とがある。菌種別の菌液調製方法は、CLSIに記載されている方法に従う[3),4)]。いずれの場合も、菌液濃度はMcFarland標準濁度0.5と同じ濁度に合わせる。

3）菌液の接種

2）で調製した被検菌液を調製後15分以内に、1）で調製した寒天培地上に滅菌綿棒で均一に塗抹する。被検菌液に綿棒を浸した後、試験管の内壁上部に綿球を強く押しつけて数回まわし、過剰の菌液を取り除く。培地を分注、凝固させた円形シャーレでは、上記の綿棒を用いて寒天培地全面に塗抹した後、平板を60°回転させ再度塗抹し、更に60°回転させ塗抹する。

4）VKBディスクを置く

VKBディスク'栄研'オルビフロキサシンは、そのままピンから取り出し使用する。カートリッジから消毒したピンセット等を用いてディスクを取り出し、被検菌を接種した寒天培地上にディスクとディスクの間が24mm以上となるようにディスクを置く。ディスペンサーを用いてディスクを置いてもよい。菌液を塗抹した寒天培地は3～5分間静置し15分までの間にディスクを置く。ディスクは平板培地上に完全に密着させること。

5）培養

ディスクを置いた寒天培地は、ディスク設置後15分以内に培養器に入れ、下記に示す条件でそれぞれ培養する。

菌　名	菌液調製	培養条件
腸内細菌科, *P.aeruginosa*, *V.cholerae*	直接法又は増殖法	35±2℃:好気環境:16～18時間
*Acinetobacter*属菌, *B.cepacia*, *S.maltophilia*	直接法又は増殖法	35±2℃:好気環境:20～24時間
*Staphylococcus*属菌	直接法	35±2℃（MRSは35℃を超えると検出できない場合がある）:好気環境:16～18時間
*Enterococcus*属菌	直接法又は増殖法	35±2℃:好気環境:16～18時間
*Haemophilus*属菌	直接法	35±2℃:5%CO_2環境:16～18時間
肺炎球菌, β溶血レンサ球菌, ビリダンスレンサ球菌, 髄膜炎菌	直接法	35±2℃:5%CO_2環境:20～24時間
淋菌	直接法	36±1℃（37℃を超えない）:5%CO_2環境:20～24時間

6）阻止円の測定

完全に菌の発育が阻止されている阻止円の直径をシャーレの裏側からノギスでミリ単位まで測定し、小数点以下は四捨五入する。その際、黒地をバックに反射光を用いて測定する。血液寒天培地等の不透明な培地を使用した場合は、シャーレのふたを取って反射光で培地表面から測定する。

7）精度管理

試験方法の正確性、試験に用いられる試薬の性能確認、試験実施者の能力を監視する目的で、必要に応じ、以下の精度管理菌株を用いてオルビフロキサシンに対する阻止円の直径が精度管理基準の範囲にあることを確認する。

精度管理菌株
菌株1　*Escherichia coli* ATCC 25922
菌株2　*Staphylococcus aureus* ATCC 25923
精度管理幅
菌株1　29～37mm
菌株2　24～30mm

貯蔵方法・有効期間

貯蔵方法:室温保存　　有効期間:36ヵ月間

包装単位・製品コード

製品名	包装単位	製品コード
VKBディスク '栄研' オルビフロキサシン	51枚×1	E-VK04

主要文献

1）Bauer,A.W.,et al.:Am.J.Clin. Pathol.,45:493-496,1966
2）WHO:Technical Report Series,610:98-128,1977.
3）Clinical and Laboratory Standards Institute:CLSI Approved Standard Third ed.,M31-A3,2008.
4）Clinical and Laboratory Standards Institute : CLSI Approved Standard Tenth ed.,M2-A10,2009.
5）Clinical and Laboratory Standards Instiyute : CLSI Nineteenth Informational Supplement, M100-S19,2009.

参考情報

CLSI　M31-A3[3)]（Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals ; Approved Standard -Third Edition,2008年2月改訂版）では、測定した阻止円の直径を下表の判定基準と照合して、感性,中間,及び耐性と判定することが示されている。

	判定基準:阻止円の直径（mm）		
	耐性	中間	感性
ネコ（皮膚）	≦17	18－22	≧23
イヌ（皮膚、尿路感染）*Enterobacteriaceae* *Staphylococcus* spp. Other organisms	≦17	18－22	≧23

VKBディスク、パールコア及びポアメディアは栄研化学株式会社の登録商標です。

■販売元　物産アニマルヘルス株式会社
大阪市中央区本町2-5-7

■製造販売元　栄研化学株式会社
〒329-0114　栃木県下都賀郡野木町野木143番地