

ツボカビ症の 検査手順マニュアル

～ 個体サンプルの取扱 ～

(野外サンプル受け入れ機関向け)

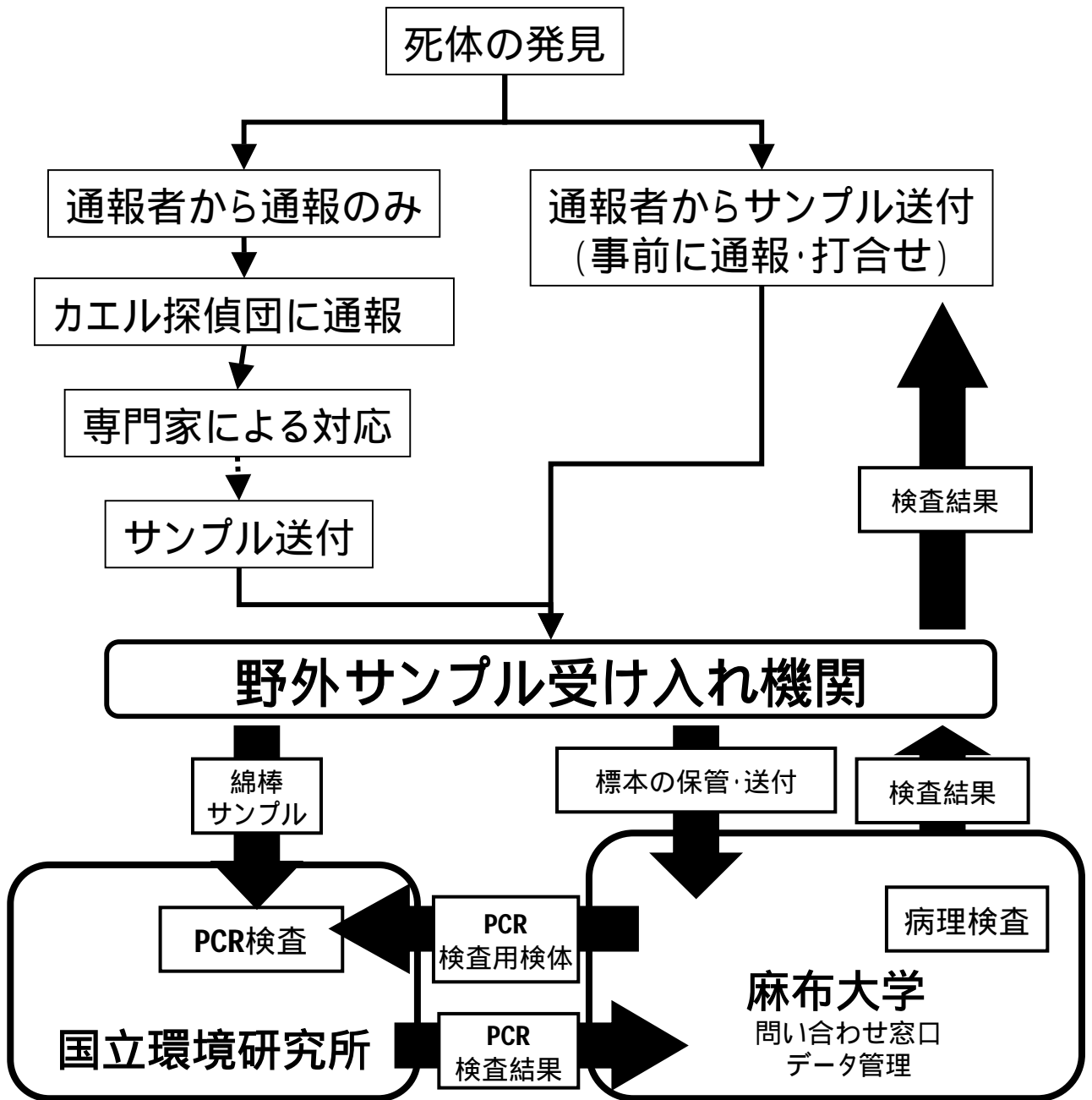


麻布大学病理学研究室
爬虫類と両生類の臨床と病理の研究会
国立環境研究所
環境リスク研究センター
カエル探偵団

1. 検査は、ツボカビ症が疑われる個体を対象とします。
2. 検査費用は無料です。国立環境研究所と麻布大学病理学研究室が負担します。
3. ツボカビ検査は当面、緊急措置として国立環境研究所および麻布大学が研究活動の一環として行いますが、逐次、検査体制の変更を行う場合がありますことを予めご了承下さい(恒久的ではありません)。
4. ツボカビ検査はツボカビ感染状況を把握することを目的とする調査活動です。検査結果を目的外に使用して生じた損害については国立環境研究所および麻布大学病理学研究室は一切の責任を負いません。
5. 検査受付期間：病理検査は 。PCR検査は 月より。死体引取りは。
6. この検査マニュアルは、野外で発見されたツボカビ感染が疑われる、野外サンプル受け入れ機関向けのもので、野外調査員向け簡易マニュアル、ツボカビ解説書(詳細版)を併せてご利用下さい。

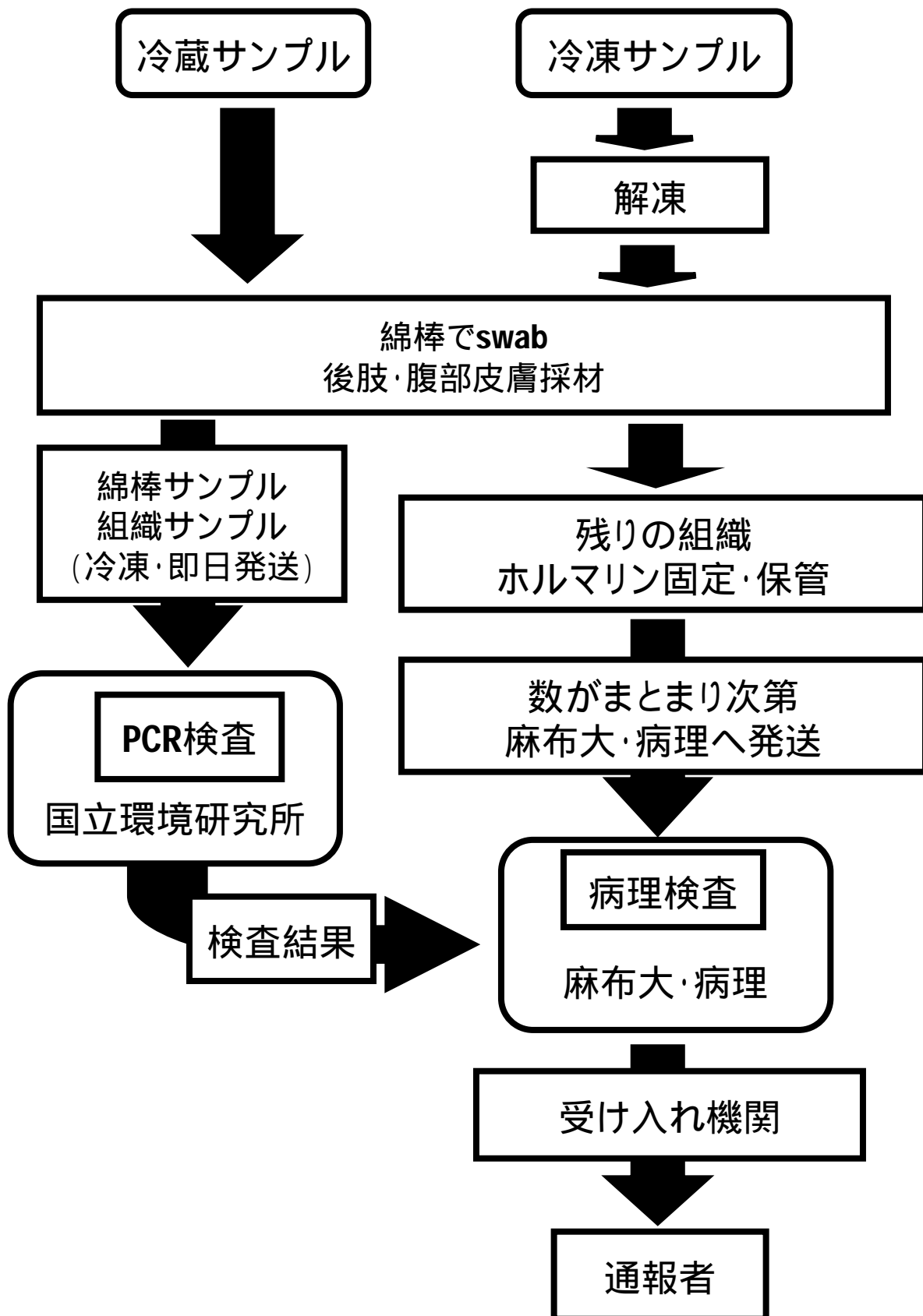
無断転載、転用を慎んでください。本マニュアルの著作権は上記の団体にあります。

カエルツボカビ疑惑个体検査体制



各地区受け入れ機関の先生が不在の場合は、一旦カエル探偵団で通報を受けつけます。
総合メールアドレスはメーリングリスト形式になっています。

サンプル受け入れ後の流れ



【診断方法】

1: 病理組織検査

2: PCR法

(注: 病変はカエルの場合、指端に現れることが多い。オタマジャクシは口器)

【検体の採取および保存方法】

1: 冷蔵・冷凍サンプルの場合

後肢(太ももから指端)綿棒swab2本

(1本ずつ1.5mlチューブなどに入れる。柄が長い場合は切り落とす)

後肢・前肢(いずれも片足), 腹部皮膚1片をチューブに **冷凍保存**

PCR検査用

(カエルの大きさによって適宜判断)

残りの臓器は体ごと10%ホルマリンで固定し、容器に室温保存

病理組織診断用



病変好発部位:

指端、内股部(水飲みパッチ)と腹部

【送付方法】

1: ホルマリン固定標本(= 病理学検査用のため、冷凍は禁忌)

ホルマリン溶液にサンプルを入れた密閉容器を2重に密閉すること(ビニール袋であれば袋を2重。ホルマリン溶液が漏れることが決して無いようにする)、室温にて麻布大学に送付。

2: 凍結サンプル(= PCR検査用)

サンプルを密閉容器に入れ、2重に密閉し(ビニール袋であれば2重に袋詰め)、必ず冷凍保存のまま、国立環境研究所に送付。

3: 送付時には、必要書類を添付すること

調査票(通報者用), 調査票(受け入れ機関用)

【検体の送付先および検査機関】

送付の際には事前に送付先機関に連絡願います。
不明な点については麻布大学までご連絡願います。

サンプル採取した場合

PCR用サンプルはPCR検査用検体として国立環境研究所へ。
病理検査用検体は麻布大学へ。

固定標本の場合

病理検査用検体として麻布大学へ。

病理検査用検体（ホルマリンサンプル、固定サンプル）送付先
〒229-8501 神奈川県相模原市淵野辺1-17-71
麻布大学獣医学部病理学研究室

電話：042-769-1628（FAX兼用）、E-mail：v-path@azabu-u.ac.jp

*お問い合わせは、原則メールでお願いします。電話でのお問い合わせの際には、「ツボカビ」の件とお伝え下さい。

PCR検査用検体送付先

〒305-8506 茨城県つくば市小野川16-2

国立環境研究所 環境リスク研究センター 五箇公一・今藤夏子

電話：029-850-2480、FAX029-850-2582 E-mail：goka@nies.go.jp

*お問い合わせの際には、「ツボカビDNA」の件と伝えてください。

PCR検査および微生物学的検査アドバイザー

〒253-0087 神奈川県茅ヶ崎市下町屋1-3-1

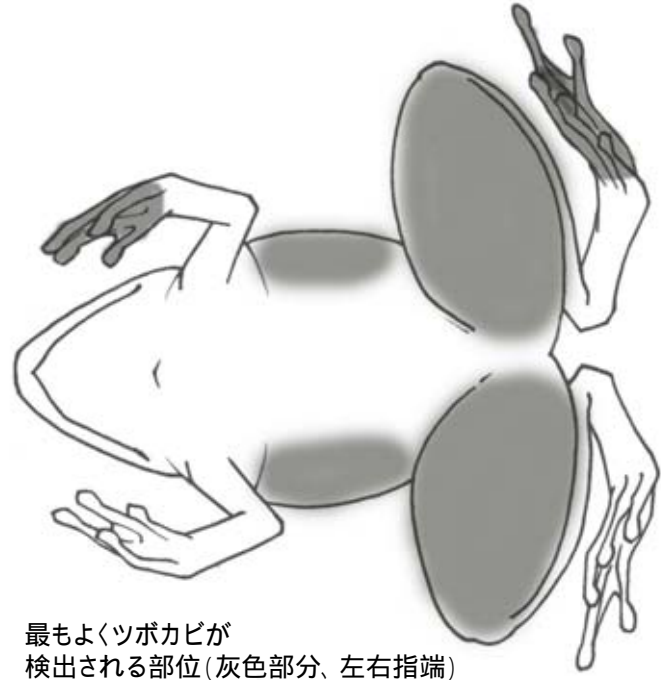
神奈川県衛生研究所微生物部 黒木俊郎

*黒木先生へのお問い合わせは、麻布大学が仲介いたします。

【注意点】

- 1 . ツボカビを疑うカエルおよびオタマジャクシを扱う際には、極力ディスポーザブル製品を用いること
 - 2 . 手袋、器具などは1匹ずつ交換するあるいは、完全に消毒すること
 - 3 . 感染を拡散させないように、取り扱い、消毒などに十分配慮すること。
 - 4 . もしカエルが死亡していたら、標本はできる限り速やかに冷蔵保存する（カエルは死後すぐに腐敗して検査が難しくなる）。そして、目的に応じた処理を行う。なお、冷凍すると病理検査には不適となる。
 - 5 . 病理検査用材料：10%中性緩衝ホルマリンで固定、保存する。口よりホルマリンを注入する。さらに腹部を切開し、腸管を注入固定してカエルの体を約10倍量の保存液の中に入れる。カエルの全身を送付できない場合、ツボカビ症の好発部位である指端、大腿部内側(内股部)を採取する。
(ツボカビ症以外の病性鑑定のためには内臓諸臓器が必要)
 - 6 . PCRなどの分子生物学的検査材料：冷凍保存する。
- * もし、多くのカエルが到着したら、いくつかは固定・保存し、いくつかは冷凍する。死亡したカエルの場合は、各種の検査のために、各部を検査に適した方法で保存する。たとえば、ホルマリン固定は病理検査用に、冷凍材料は分子生物学的検査用に保存する。
- 7 . 容器には少なくともカエル種名、採取日付、採取地名が分かるようにラベルしておく。
 - 8 . 全てのカエルは別々にしておくことを忘れてはならない。
(送付方法の詳細については、要問合せ、麻布大学)

採材部位



最もよくツボカビが
検出される部位(灰色部分、左右指端)



腹部皮膚



趾の先



指の先



太ももの内側



すすけて見えたり、
一枚膜あるいは
粘液が被っているような部位

野外個体調査票（通報者用）

送付日： 年 月 日

(1) 通報者(機関)の情報

氏名・機関名:
住所:〒
電話番号: () ファックス: ()
e-mail:

(2) 状況調書(分かる範囲で詳しく書いて下さい)

1. 最初に死を発見した日: 年 月 日 時刻 : 死んだ日が異なる場合は下に詳しく書いて下さい。
2. 死んでいたカエルの種類と数(同じ地域および周辺での他の動物の死体の有無)
3. サンプル採取: なし あり(下段に種類ごとの頭数を記入) サンプルの状態: 冷凍 冷蔵 ホルマリン固定 アルコール固定
4. 死体の状態(外傷の有無、死体の姿勢{仰向けか、うつぶせか、まるまっているか等)、位置{水中、水際、陸地等})
5. 死体の発見された範囲(面積や死体と死体との距離)
6. 発見場所の環境(どのような水田か、どんな川か等)
7. 死体の処理: 行った 行っていない その他()
8. その他気付いたこと

- できるだけ死体の写真(複数)と周辺の写真をこの調書に添えて提出して下さい。

(1) 受け入れ機関の情報

氏名・機関名:
住所:〒
電話番号: () ファックス: ()
e-mail:

(2) サンプル提供者(機関)の情報

氏名・機関名:
住所:〒
電話番号: () ファックス: ()
e-mail:

(3) サンプル情報

No.1	種類:	性別:	不明
	発見 場所:	水中 水際 陸上 その他()	
	腐敗可能性:	なし あり	
	外傷の有無:	なし あり (具体的に)	
	備 考:		

No.2	種類:	性別:	不明
	発見 場所:	水中 水際 陸上 その他()	
	腐敗可能性:	なし あり	
	外傷の有無:	なし あり (具体的に)	
	備 考:		

No.3	種類:	性別:	不明
	発見 場所:	水中 水際 陸上 その他()	
	腐敗可能性:	なし あり	
	外傷の有無:	なし あり (具体的に)	
	備 考:		

No.4	種類:	性別:	不明
	発見 場所:	水中 水際 陸上 その他()	
	腐敗可能性:	なし あり	
	外傷の有無:	なし あり (具体的に)	
	備 考:		

•(サンプル数が4を越える場合には、この用紙を複写して利用して下さい)