

# カエルツボカビPCR検査について (暫定版ガイド)

国立環境研究所・麻布大学





## <検査を希望される前に…>

1. 検査は、**病気が疑われる個体**を対象とします。
2. 飼育して少なくとも**2ヶ月以上元気に飼われている個体**については、そのまま病気に気を付けて、飼育を続けて下さい。むやみに病院に連れていくことは、カエルにストレスを与えることになります。
3. **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。
4. 業者の商品については**安全性を保証(品質保証)するための検査は受け付けません**。ただし、異常個体が見つければ、検査を無料で行います。
5. 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)。
6. 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**。

# PCR検査とは

- カエル体表に存在するカビの**DNA**を調べることで、ツボカビの感染を確認する方法です。
- PCR**（遺伝子増幅法）により、ツボカビ菌**DNA**の**ITS-5.8S**遺伝子領域を増幅させます。
- DNA**が増幅されれば、感染していることとなります（陽性）。
- ITS-DNA**が増幅されなければ、ツボカビ菌は**検出限界以下**と判定されます。（ツボカビが本当にゼロかは分かりません！）

# PCR検査用綿棒 サンプルの採材方法

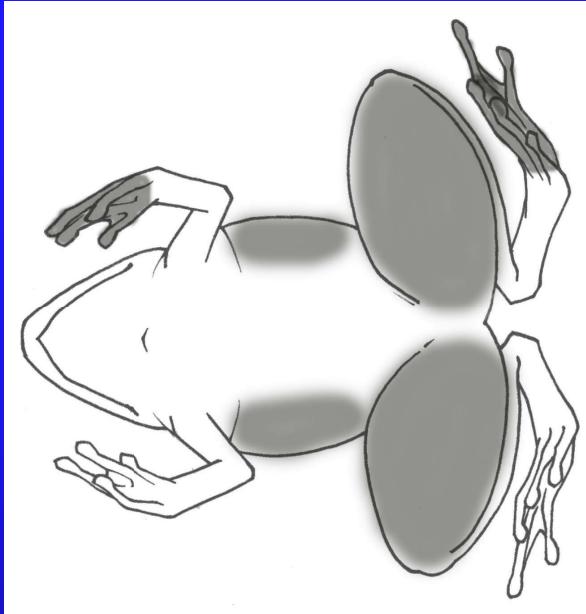
## ○準備するもの

- ・綿棒（滅菌済みのもの。ただし抗菌剤入りは厳禁！）
- ・ゴム手袋
- ・滅菌サンプルチューブ（1.5mL）、もしくはチャック付き小袋
- ・送付票

## ○採材するにあたっての注意

- ・汚染を防ぐため、カエルを触る手袋は個体ごとに交換もしくは消毒する。
- ・使用した器具類および実験台は、使用後に必ず消毒・滅菌する

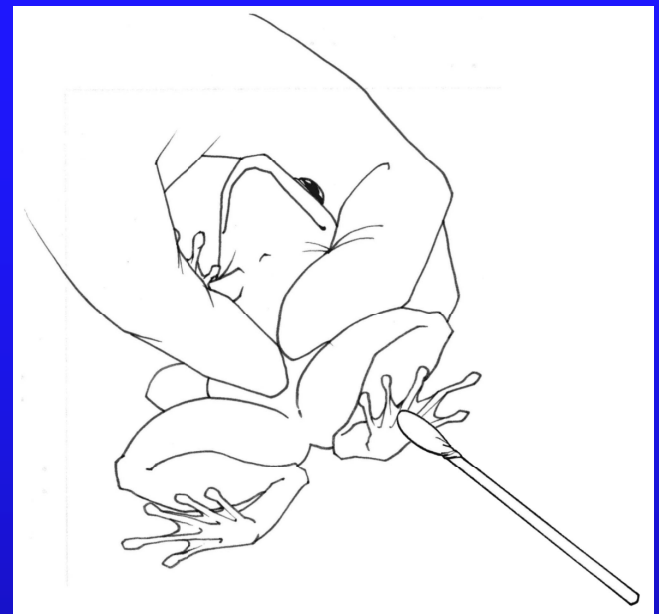
# 採材部位 (綿棒で下記の部位をくまなく採材する)



最もよくツボカビが  
検出される部位(灰色部分、左右指端)



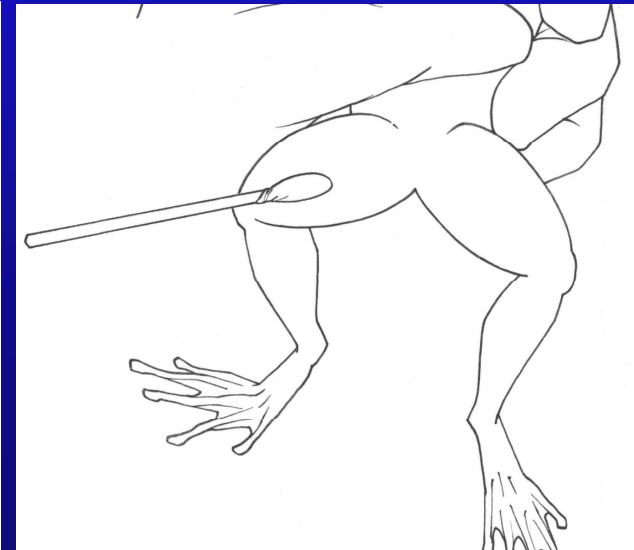
腹部皮膚



指の先



趾の先



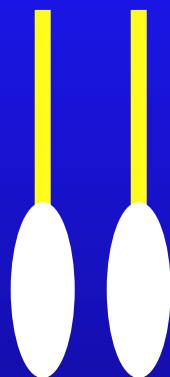
太ももの内側



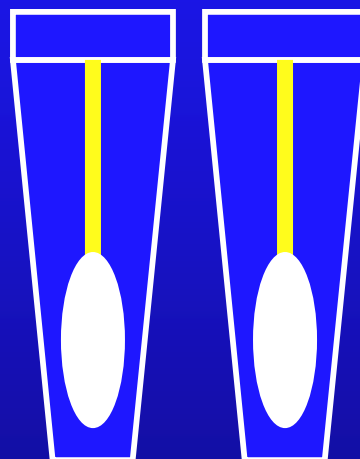
すすけて見えたり、一枚膜あるいは  
粘液が被っているような部位

# 採材した綿棒サンプルの送付方法

綿棒swabサンプル  
1個体につき2本



マイクロチューブなど  
に個体別に隔離保管



ラベルを添付

・サンプル名  
(送付票に記入して  
いるコード等)

国立環境研究所へ  
クール宅急便発送

注意！  
送付標はサンプルと  
隔離した状態で  
梱包！

# サンプル送付上の注意

- 綿棒の保管はマイクロチューブもしくはそれに類似する容器を使用して下さい。サランラップなどで包むのは厳禁。
- 送付標とサンプルの内容確認をお願いします。
- 冷凍クール宅急便を使用して下さい。  
品名に「**PCR検査サンプル**」と明記して下さい。
- 近日中にプロトコル映像を配信予定です。

サンプル送付先

〒**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 宛

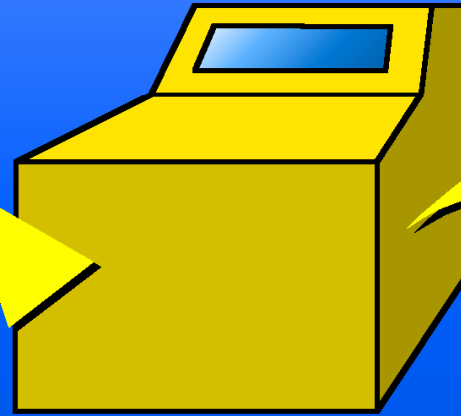
電話番号：**029-850-2480**



# PCR反応でカエルツボカビDNAを増やす

サーマルサイクラー  
(PCR反応をする機械)

カエル体表カビDNA



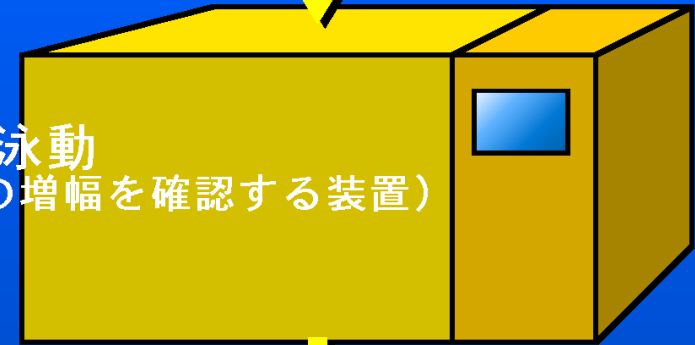
DNAポリメラーゼ  
(DNA合成酵素)



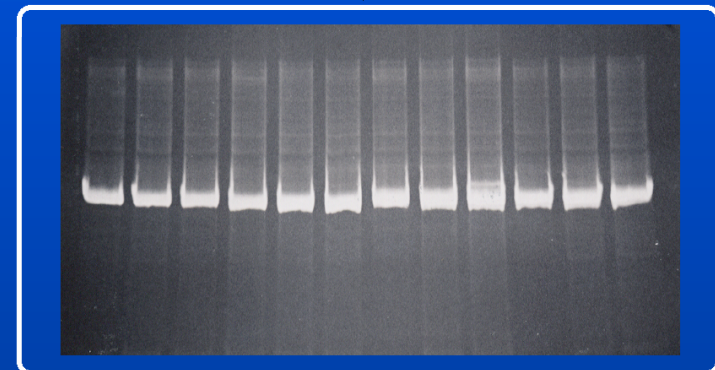
プライマー  
(DNA合成のスターター)

デオキシヌクレオチド3リン酸  
(DNAの原料)

電気泳動  
(DNAの増幅を確認する装置)



カエルツボカビ  
DNAの増幅を確認



## 検査結果の扱いについて(獣医師の先生方へ)

- PCR検査は「安心」を得るためのものであり、「安全」を保証するものではありません。
- PCR検査でツボカビが検出されなかったとしても、ツボカビがゼロであることを保証するものではありません。
- PCR検査で検出されない→ツボカビ菌濃度が検出限界以下。
- カビは生物であり、わずかでも残っていれば増えることができます。また、別ルートから侵入してくることもあります。
- 検査結果が「陰性」の場合でも、飼育管理には厳重な注意を払うようご指導願います。
- PCR検査結果のプライオリティは国立環境研究所および麻布大学に属します。無断の転用・発表は一切禁止します。

# PCR検査の結果を聞いたら・・・(飼育者の方へ)

## ○もし、陽性(感染)という結果が出たら。

- ・飼育個体は獣医師に引き取っていただき、飼育を続けたい場合は治療を受けて下さい。
- ・飼育用品類は全て消毒して下さい。また飼育水も消毒して下水に流して下さい。そのまま外には捨てないで下さい。
- ・カエル個体を処分する場合も、焼却処分して下さい。そのまま外には遺棄しないで下さい。

## ○陰性(非感染)という結果が出たら。

- ・飼育個体はそのまま飼育を続けて頂いて結構です。ただし、飼育用品類の消毒、および飼育水の管理により、ツボカビの発生を防除して下さい。
- ・たとえPCR検査で陰性という結果が出ても、カエルツボカビ菌はまたどこから侵入してくるかわかりません。嚴重な注意を続けて下さい。
- ・陰性の個体でも、飼育個体をむやみに外に逃がさないで下さい。飼育個体は死ぬまで面倒を見ることが、飼育の最低限のマナーです。