

表 4 使用した培地・試薬などの準備状況(事後アンケートの集計)つづき

自由記載欄の意見など

- 1 昨年度までは日常検査でコレラ菌の遺伝子検査を実施していなかったが、検出マニュアルが作成された時点で検査項目に追加し、必ず実施するようにした。
単糖代謝確認、アミノ酸脱炭酸、O/129ディスク感受性試験、ヒツジ赤血球溶血性、ポリミキシンB感受性については、コレラ菌の通常の検査では実施しておらず、今回の外部精度管理でも実施していないが、必要に応じて実施することとしている。
- 2 リジン脱炭酸試験をLIM培地で実施した。なお、今回は実施していないが、通常、単糖代謝の確認は、簡易同定キットで実施している。
- 3 PCR法によるCT遺伝子検査用プライマーは、小林ら(感染症誌, 64:1323-1329, 1990)を使用している。
- 4 その他の性状試験について、O/129ディスク感受性およびポリミキシンB感受性の試験については、必要に応じて実施することもある。
- 5 コレラ菌検査の依頼は、ほとんどありません。今回、精度管理として実際に遺伝子検査を行うことが出来たため、今後は遺伝子検査を導入していきます。
- 6 PCRの陽性コントロール(O1及びO139)については、入手が難しいと思います。研究班で手配等していただけるとありがたいです。
- 7 RPLA: キットを準備しているが実施していない。
- 8 病原体検出マニュアルの各種プライマーを、今後は日常検査で使用する予定。
- 9 今回の精度管理ではRPLAによるCT産生性の確認のための検査を実施していませんがVET-RPLAは常備しています。
- 10 クロモアガーVibrioは、期限切れのものを使用しました。また免疫血清は、日常検査で使用しているものとは別に新調しました。
当方では、コレラ菌検査は数年に1例程度しかなく、期限内の試薬類すべてを常備するための予算を獲得するのに苦慮しています。他所さんは如何でしょうか。
- 11 実施項目を『三類感染症検査に係る「コレラ菌」の同定』ではなく、『三類感染症の原因となる「コレラ菌」の同定』にしていいただければNo.2の判定が判りやすかったと思います。
- 12 血清凝集反应用試薬およびRPLA試薬は常備していましたが、期限切れであったため今回新たに購入しました。

表 5 実際の検査手順および検査内容の詳細(事後アンケートの集計)

a. 安全キャビネットの使用状況

作業内容	安全キャビネット 使用施設数
試料の開封	25
培地への接種	28
培地の観察	11
血清凝集反応	19
テンプレート作製	25
PCR反応液の作製	15 (5)
使用していない	30
カッコ内アはクリーンベンチ使用施設数	

b. O1 抗原の型別実施状況

・ 試料1			・ 試料2		
免疫血清	ラテックス	施設数	免疫血清	ラテックス	施設数
生菌で稲葉型	稲葉型	24	生菌で小川型	小川型	26
生菌で稲葉型	判定不能	5	生菌で小川型	判定不能	2
生菌で稲葉型	未実施	27	生菌で小川型	未実施	28
加熱死菌で稲葉型	稲葉型	4	加熱死菌で小川型	小川型	8
加熱死菌で稲葉型	判定不能	2	加熱死菌で小川型	未実施	4
加熱死菌で稲葉型	未実施	2	混合のみ実施	小川型	1
生菌で彦島型	彦島型	1	判定不能	判定不能	1
加熱死菌で彦島型	彦島型	1			
加熱死菌で判定不能	判定不能	1			
加熱死菌で判定不能	未実施	2 ^a			
混合のみ実施	判定不能	1 ^b			

a 1施設はPCR法でO1抗原陽性と判定
b PCR法でO1抗原陽性と判定

c. 生物型別の実施状況

実施の有無(判定結果) ^a	検査項目	施設数 ^b
実施した(エルツール型)		29
	VP試験	14
	ニワトリ赤血球凝集性	2
	ヒツジ赤血球溶血性	1
	ポリミキシンB感受性	1
	ファージ感受性	0
	ヘモリシン遺伝子の鑑別 ^c	24
	rtx因子の有無	2
実施した(判定不能)		2
	VP試験	2
	ニワトリ赤血球凝集性	1
実施しなかった		39

a 試料1と試料2は同じ結果であった

b 検査項目は複数実施した施設がある

c マニュアルに記載の生物型別用PCRなど

d. 毒素産生試験に使用した培地

培地名	施設数
CAYE培地, CAYE-L培地	16
Syncase培地, コレラ菌毒素産生培地	8
食塩加普通寒天培地, 食塩加BHI寒天培地	3
酵母エキスブイヨン	2
AKI培地	1
BHIブロス	1
試薬添付文書記載培地	1
記載なし	1

BHI:ブレインハートインフュジョン

e. 対照(株)の使用状況

検査項目	回答数 ^a	陽性/ 陰性	対照使用 施設数(%) ^b	使用株など ^c									
				A	B	C	D	E	F	G	H	I	
選択分離培地でのコロニー観察	70	陽性	12 (17.1)	4	10	6	1		1	1			
	58	陰性	5 (8.6)								2	3	
生化学的性状の確認	69	陽性	10 (14.5)	3	9	5	1			1			
	57	陰性	5 (8.8)								2	2	1
血清凝集反応;コレラ菌免疫血清	70	陽性	12 (17.1)	5	11	5	1		1	1			
	58	陰性	16 (27.6)								2	4	10
血清凝集反応;コレラ菌AD	50	陽性	8 (16.0)	2	5	3		2	1	1			
	43	陰性	7 (16.3)								1	3	3
PCR法によるCT遺伝子確認	67	陽性	56 (83.6)	17	30	17	2	6	1				8
	66	陰性	59 (89.4)								2	57	
RPLA法によるCT産生確認	35	陽性	21 (60.0)		3	2		18					
	33	陰性	15 (45.5)					3		1	3	8	
PCR法による <i>V. cholerae</i> 確認	35	陽性	26 (74.3)	7	20	5	1		1	1			
	34	陰性	29 (85.3)								1	28	
PCR法によるO1, O139抗原確認	50	陽性	38 (76.0)	12	26	29	3		1				3
	47	陰性	40 (85.1)								2	39	

a 当該検査項目を実施しなかった施設、未記入を除く

b 実施施設にしめる使用施設数の割合

c A. *V. cholerae* O1 稲葉型 CT陽性

B. *V. cholerae* O1 小川型 CT陽性

C. *V. cholerae* O139 CT陽性

D. *V. cholerae* non-O1, O139 C CT陽性

E. 試薬に添付の陽性対照

F. *V. cholerae* O1 小川型 CT陰性

G. *V. cholerae* non-O1, O139 CT陰性

H. 滅菌水

I. その他

f. 行政報告に必要な検査項目

検査項目	陽性判定に必要	陰性判定に必要
TCBSでのコロニー観察	65	66
TSI寒天培地の性状	61	54
LIM培地の性状	61	54
オキシダーゼ	54	47
無塩ブロスでの発育	52	47
VP試験	46	40
その他の生化学性状	10	9
PCRによる <i>V. cholerae</i> の確認	15	19
血清凝集反応	67	51
PCRによるO1抗原, O139抗原の確認	27	27
CT遺伝子の確認	65	57
CT産生性の確認	25	16
生物型の確認	13	3
その他	4	4

g. コレラ菌の保存培地と保存条件

	スキム ミルク	マイクロ バンク	グリセリン 加培地	カジトン 培地	ドルセット 卵培地	半流動(軟 寒天)培地	その他	
保存温度	-80°C	23	20	5			4	
	-20~-70°C	1	1	1			1	
	4°C				2			
	室温 ^a				18	2	2	5
保存期間	永年, 無期限 ^b	19	9	5	11			6
	20年以上	1			1			
	10~20年	1	2		1			
	数年	1	4	1	3	1		
	1年		3		1		1	
	数ヶ月				1		1	3
	未記入	2	3		2	1		1

a 常温, 22.5°C, 25°Cを含む

b 決めていないを含む

h. 自由記載欄の意見・質問など

安全キャビネットの使用状況

- 1 血清凝集反応は、混和までは安全キャビネット内で行ったが、観察は困難であったため安全キャビネット外で実施。また、テンプレート作製も、菌液調整までは安全キャビネット内で行ったが、加熱・遠心は安全キャビネット外で実施。

血清型別

- 2 試料1のコレラ菌ラテックスキットの結果について：感作ラテックスaとcに対して明瞭な凝集が見られたが、感作ラテックスbに対しても弱い凝集が見られたため、判定不能とした。
- 3 試料2 生菌で実施したが判定不能であった。
- 4 コレラ菌免疫血清→試料1と試料2はコレラ菌免疫血清(混合)を使用しました。試料1は(+), 試料2は(2+)です。
- 5 試料1のラテックスによる凝集反応は、ラテックスa及びcに凝集後、わずかに遅れてラテックスbにも凝集し、判定に迷った。

行政への報告に必要な検査項目

- 6 血清凝集反応が不明瞭の場合、10.PCRIによるO1抗原、O139抗原の確認を実施、CTの確認については、11または12どちらかを実施するばよいと考えます。
- 7 陰性判定の根拠とする検査項目は事例により異なると考えますが、TCBS上で疑わしいコロニーが明らかに認められない場合には、その段階で陰性との判定は可能だと考えます。

菌株保存

- 8 イフキ懶製造販売の菌株保存用バイアル“マイクロバンク”を使用。保存期間の定めは特に指定していないが、コレラ菌株保存の場合、4年間保存でも性状が失われないことを確認済み。
- 9 菌株保存については、標準作業書に期間を設定していないので、回答欄を空欄にしています。
- 10 コレラ菌株の保存において、適切な継代培養の頻度(何週間に一回等)があれば教えていただきたい。
- 11 コレラ菌株で最も古いものは平成13年に保存したものです。

その他

- 12 0%NaCl加ブロスでの発育が、試料1は(-)、試料3は極弱い発育(±)で、培地を作り直して再検査しても同様で、判定に迷いました。
- 13 実際の検査手順や内容についてという質問であるのに、通常の行政への対応や菌株保存という質問があり、紛らわしい。
- 14 報告されているPCR用プライマーは様々あるため、使用可能なものについてはマニュアル等で併記してもらいたい。特に今回の検体のように、*V. cholerae*でO1であるにもかかわらずCT遺伝子(-)のような場合は、別のプライマーで確認する等必要ではないかと感じた。
一部非典型的な性状だった場合、コレラの届け出にはならないのは防疫上問題ないのか不安である。
- 15 検査マニュアルについての質問
・Ⅲ-1-a-③耐塩性試験培地について、食塩を添加するとpHが低下するがpH調整は必要ないでしょうか。
・Ⅲ-1-c-⑥-1*V. cholerae*確認用PCRのPCRの条件について、伸長反応68°Cは正しいでしょうか。
・Ⅲ-1-c-⑥-3生物型確認用PCRのPCR反応液の組成について、dNTP混合液0.5 μL/25 μL反応系は正しいでしょうか。
- 16 市販血清の期限管理について教えていただきたい(冷凍状態での期限等)。
- 17 「*V. cholerae* non-O1, non-O139 の CT(+)」は感染症法の届出対象外になるのかと思われるますが、取扱い上の注意点や感染症としての問題はないと考えていいのでしょうか。

回答

15 耐塩性試験培地のpHについて

*Vibrio*属菌の多くはpH7~8を好むとされていますが、*V. cholerae*はpH6.0~9.6で発育します(出典:食品由来感染症と食品微生物)。使用する培地に応じて、必要な場合はpHを調整してください。

*V. cholerae*確認用PCRの伸長反応の温度

PCR条件は、使用するTaqにあわせて変更してください。

マニュアルはKOD-FX-Neoを使用した場合の条件を記載しましたが、説明不足であった点をお詫びします。

生物型確認用PCRのdNTP混合液の量

原著論文(Riveraら, Appl. Environ. Microbiol. 67:2421-2429)を参考に記載しましたが、使用するTaq等にあわせて変更して下さるようお願いいたします。

16 市販血清を冷凍保存した場合の使用(有効)期限

デンカ生研の添付文書には、凍結をさけるよう記載されています。

「凍結させた場合は、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ください。」と明記されていますので、ご理解ください。

17 *V. cholerae* non-O1, O139 CT陽性株の取扱い上の注意点や感染症としての問題点

特定病原体にはなりませんが、腸炎ビブリオなど同様の「病原体」としての取扱いをお願いします。

また、食中毒の場合は「ナグビブリオ」に該当します。

CT陽性のnon-O1, O139 *V. cholerae*は貴重な研究材料ですので、感染研へ血清型別等を依頼されることをお勧めします。

取扱様式 8 海外用
 WHO コラボレーションセンター
 国内用

特定病原体等分与（譲渡）申請書

国立感染症研究所長 殿

申請日 平成 27年9月10日
 申請者 細菌第一部（センター・室）長
 氏 名 大西 真 ㊟

国立感染症研究所病原体等安全管理規程第 20 条第 2 項の規定に基づき、特定病原体等の分与について申請します。

1. 分与する特定病原体等の名称(種別, BSL) (毒素にあつては種類及び数量)	Vibrio cholerae (コレラ菌) 01, 0139 (特定四種, BSL2)			
2. 家畜伝染病予防法に基づく輸入品分与許可の有無	(有 ・ <input checked="" type="checkbox"/> 無) 有の場合は、許可証明書の写しを添付すること。 無の場合は、その理由を次の中から選ぶこと。 <input checked="" type="checkbox"/> 1. 国内分離株のため 2. 監視伝染病の病原体でないため 3. その他：理由 ()			
3. 移 動 理 由	外部精度管理のため			
4.	許可または届出の有無 (二種及び三種)注②			
	分与先機関名	別添 (73箇所)		
	分与先機関の移動責任者	所 属	別添	
		氏 名	別添	
連 絡 先	住 所	別添		
	TEL:	別添	e-mail:別添	
5. 移 動 方 法 注③	<input checked="" type="checkbox"/> 1. 郵便 2. 配達業者 () 3. その他 ()			
6.	分 与 担 当 官	職 名：主任研究官 氏 名：荒川英二 ㊟		
	庁舎名・搬出実験室名	庁舎名：戸山庁舎 実験室名：02-047		
	BSL2 実験室運営責任者、又は BSL3, 4 実験室運営責任者	泉谷秀昌	㊟	
	BSL2 特定病原体等取扱責任者 又は BSL3, 4 病原体等取扱責任者	泉谷秀昌	㊟	
7. 移 動 予 定 日 注④	平成 27年 10月 1 および 2 日 公安委員会届出年月日 届出者 届出公安委員会名			
8. 備 考	承認日： 整理番号：			

注意事項

- ①この申請書は、特定病原体等を感染研以外の機関へ分与する場合に提出する。分与の承認を受けている場合は、病原体等分与承認書(写)の承認日及び整理番号を備考欄に記入すること。
- ②「4. 許可の有無」の欄は、感染症法に基づく分与先の二種病原体等許可所持者の許可の有無または三種病原体所持届出の有無を記載すること。
- ③カッコ内には具体的な名称ないし方法を記入する。
- ④二種及び三種病原体の分与の際には、移動予定日のほか公安委員会への届出にかかる事項を記載すること。

国立感染症研究所での病原体等輸送に関わるチェックシート ト輸送分類“カテゴリーA”

国立感染症研究所病原体輸送要領、および WHO 病原体等輸送ガイダンスは、バイオセーフティ管理室の HP に掲載されています。

特に、カテゴリーA 病原体の例については要参照のこと。感染症法では、一種、二種、三種病原体等は運搬について公安委員会の運搬許可証が必要となるので管理室に要相談。表やフロー図を参照し輸送分類を決めてください。

NIID-Biosafety 番号 : 20 - (バイオセーフティ管理室記入)		平成 27 年 10 月 1 日
荷送人 : 荒川英二	所属部/室/センター : 室 : 細菌第一部 第二室	戸山・村山・ハンセン内線番号 : E-mail :
受取人 : 別添	送り先住所 : 〒 別添	電話:別添 E-mail :別添
送付内容(病原体等名) : コレラ菌 非特定・ 特定 (一種・二種・三種・ 四種)	一次容器の種類と個数及び検体量 : チューブ、3、各_____	輸送分類“カテゴリーA” : レ
バイオリスク運営委員(サイン):泉谷秀昌 所属 (部/室/センター):		内線番号 : 2 2 3 0 E-mail : izumiya
バイオセーフティ管理室	(サイン) :	年月日 : 平成 年 月 日
事務担当官	(サイン) :	荷物の追跡結果 : 平成 年 月 日

基本三重梱包 (Basic triple packaging system) のチェックシート

チェック項目	Yes	No
1. 国連規格の病原体輸送容器を使用し、正しく梱包しているか		
2. 検体を入れる一次容器は防水性で密閉性(防漏性)があるか		
3. 液体検体か (Yes の場合は 3-1 へ、No の場合は 4 へ)		
3-1. 液体検体を全量吸収出来る、十分な吸収材を入れたか		
3-2. 一次容器のキャップに適切なシールを施したか		
4. 複数検体を入れたか(Yes の場合は 4-1 へ、No の場合は 5 へ)		
4-1. 検体は何種類で何本か (種類 ・ 本)		
4-2. 複数検体は個別包装し相互に接触しないか		
4-3. 三次容器の内側に無関係な物質を入れていないか		
5. 適切なクッション材を二次容器と三次容器に入れたか		
6. 送付検体一覧表を二次容器と三次容器の間に入れたか		
7. 冷却剤は使用しているか(Yes の場合は 7-1 へ、No の場合は次ページへ)		
7-1. 冷却剤の種類は [氷 ・ 保冷材 ・ ドライアイス ・ その他()]		
注) 液体室素を使用する場合はバイオセーフティ管理室に要事前連絡		
7-2. 冷却材にドライアイスを使用している場合は、二次容器より外側に入れたか		非該当

送付内容の項目及び 7-1 では該当するものを○で囲んで下さい。

一次容器と二次容器はしっかりと密封し、バイオリスク管理運営委員によるチェック後、外装(三次)容器とオーバーパックを閉じずに指定の場所までお持ち下さい。

バイオセーフティ管理室のチェックを受けて下さい。

輸送分類 “カテゴリーA” の包装、ラベル、書類のチェックシート

チェック項目	Yes	No
分与等の要領の様式5（病原体等移動（分与）申請書）に対する承認書または様式8（病原体等移動（分与）届）に対する受理書、特定病原体の場合は管理規程の取扱様式8（特定病原体等分与（譲渡）申請書に対する承認書はあるか または 写しを添付したか		
病原体等は特定一種～三種病原体等であり、公安委員会への届出・証明書が揃っている		非該当
荷送人は輸送業者・荷受人と連絡がとれているか ※二種・三種の場合別途の書類		
〔梱包：国連規格の病原体輸送容器を使用〕		
1. 以下のいずれかの要件に合致しているか		
1-1. 陸上または海上輸送であり、固体検体 400Kg または液体検体 450ℓ 以内である		非該当
1-2. 航空輸送であり、カテゴリーA病原体で 50g 又は 50ml 以内である		非該当
1-3. 航空輸送であり、カテゴリーA病原体で 50g 又は 50ml を超え、4Kg 又は 4ℓ 以内である		非該当
2. 特定病原体等で液体検体の場合または非特定病原体等で 50ml 以上の液体検体の場合、一次容器の口が上を向いているか		非該当
〔三次容器への表示・標識〕		
3. 荷送人の住所・氏名・電話番号の記載はあるか		
4. 輸送荷物を熟知している責任者(通常荷送人)の氏名及び電話番号の記載はあるか		
5. 荷受人の住所・氏名・電話番号の記載はあるか		
6. ヒトに関わる病原体等の場合「区分 6.2 標識ラベル」が貼付され、「UN2814 Infectious substance affecting humans」及び正味量(Net Qty)の表示		非該当
7. 動物のみに関わる病原体等の場合「区分 6.2 標識ラベル」が貼付され、「UN2900 Infectious substance affecting animals」及び正味量(Net Qty)の表示		非該当
8. 三次容器にドライアイス梱包した場合は「第 9 分類標識ラベル」が貼付され、「DRYICE UN1845」及び正味量(Net Qty)の表示		非該当
9. 遺伝子組換え生物または微生物を梱包した場合は「UN3245 ラベル」が貼付され、「Genetically modified (micro) organisms」及び正味量(Net Qty)の表示		非該当
10. 上記 2 に該当する場合、天地無用ラベルを貼付したか		非該当
11. 貯蔵温度の要件があれば記入(オプション) ----- (室温 冷蔵 冷凍)		
〔オーバーパックへの表示〕		
12. オーバーパック（三次容器の外から保冷または複数の三次容器を一まとめ）を使用しているか (Yes の場合は 12-1 へ、No の場合は 13 へ)		非該当
12-1. 発泡スチロールを用いた場合は段ボールやプラダン等で覆われているか		非該当
12-2. オーバーパック表面に上記 3～11 と同じ表示		
12-3. オーバーパック表面に「OVERPACK」の表示		
12-4. 保冷剤にドライアイスを使用した場合は「第 9 分類標識ラベル」が貼付され、「DRYICE」、 「UN1845」、及び正味量(Net Qty)の記載		非該当
〔文書〕		
13. 航空輸送か (Yes の場合は 13-1 へ、No の場合は 14 へ)		非該当
13-1. 危険物申告書及び航空貨物運送状はあるか		
13-2. 見積送り状 (Proforma Invoice) はあるか		非該当
13-3. 輸出入許可書及び申告書等はあるか (必要な場合)		非該当
〔その他〕		
14. ゆうパックを利用するか		非該当
14-1. 送り状に品名「病原体」及び注意書き「危険物」の記載はあるか		
14-2. 金属製のオーバーパック（四次容器）を使用しているか		
14-3. ドライアスを梱包した場合は、送り状の摘要欄に「ドライアイス在中」の記載はあるか		非該当

簡易版チェックシート（数字は参加施設リストに振られた番号となる）

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. 関連規格の病原体輸送容器を使用し、正しく梱包しているか	Yes															
2. 検体を入れる一次容器は防水性で密閉性（防漏性）があるか	Yes															
3. 液体検体か（Yesの場合は3-1へ、Noの場合は4へ）	No															
4. 複数検体を入れたか（Yesの場合は4-1へ、Noの場合は5へ）	Yes															
4-1. 検体は何種類で何本か（ 3 種類 ・ 3本 ）	—															
4-2. 複数検体は個別包装し相互に接触しないか	Yes															
4-3. 三次容器の内側に無関係な物質を入れていないか	Yes															
5. 適切なクッション材を二次容器と三次容器に入れたか	Yes															
6. 送付検体一覧表を二次容器と三次容器の間に入れたか	Yes															
7. 冷却剤は使用しているか（Yesの場合は7-1へ、Noの場合は次ページへ）	NO															
分与等の要領の様式5（病原体等移動（分与）申請書）に対する承認書または様式8（病原体等移動（分与）届）に対する受理書、特定病原体の場合は管理規程の取扱様式8（特定病原体等分与（譲渡）申請書）に対する承認書はあるか または 写しを添付したか	Yes															
病原体等は特定一種～三種病原体等であり、公安委員会への届出・証明書が揃っている	—															
荷送人は輸送業者・荷受人と連絡がとれているか ※二種・三種の場合別途の書類	Yes															
1. 以下のいずれかの要件に合致しているか																
1-1. 陸上または海上輸送であり、固体検体400Kgまたは液体検体450L以内である	Yes															
1-2. 航空輸送であり、カテゴリーA病原体で50g又は50ml以内である	—															
1-3. 航空輸送であり、カテゴリーA病原体で50g又は50ml を超え、4Kg又は4L以内である	—															
2. 特定病原体等で液体検体の場合または非特定病原体等で50ml以上の液体検体の場合、一次容器の口が上を向いているか	—															
3. 荷送人の住所・氏名・電話番号の記載はあるか	Yes															
4. 輸送荷物を熟知している責任者（通常荷送人）の氏名及び電話番号の記載はあるか	Yes															
5. 荷受人の住所・氏名・電話番号の記載はあるか	Yes															
6. ヒトに関わる病原体等の場合「区分6.2標識ラベル」が貼付され、「UN2814 Infectious substance affecting humans」及び正味量(Net Qty)の表示	Yes															
7. 動物のみに関わる病原体等の場合「区分6.2標識ラベル」が貼付され、「UN2900 Infectious substance affecting animals」及び正味量(Net Qty)の表示	—															
8. 三次容器にドライアイスを梱包した場合は「第9分類標識ラベル」が貼付され、「DRYICE UN1845」及び正味量(Net Qty)の表示	—															
9. 遺伝子組換え生物または微生物を梱包した場合は「UN3245ラベル」が貼付され、「Genetically modified (micro) organisms」及び正味量(Net Qty)の表示	—															
10. 上記2)に該当する場合、天地無用ラベルを貼付したか	—															
11. 貯蔵温度の要件があれば記入(オプション)……………(室温 冷蔵 冷凍)	室温															
12. オーバーバック（三次容器の外から保冷または複数の三次容器を一まとめ）を使用しているか	Yes															
(Yesの場合は12-1へ、Noの場合は13へ)																
12-1. 発泡スチロールを用いた場合は段ボールやブラダン等で覆われているか	—															
12-2. オーバーバック表面に上記3～11と同じ表示	Yes															
12-3. オーバーバック表面に「OVERPACK」の表示	Yes															
12-4. 保冷剤にドライアイスを使用した場合は「第9分類標識ラベル」が貼付され、「DRYICE」、「UN1845」、及び正味量(Net Qty)の記載	—															
13. 航空輸送か（Yesの場合は13-1へ、Noの場合は14へ）	NO															
14. ゆうパックを利用するか	Yes															
14-1. 送り状に品名「病原体」及び注意書き「危険物」の記載はあるか	Yes															
14-2. 金属製のオーバーバック（四次容器）を使用しているか	Yes															
14-3. ドライアスを梱包した場合は、送り状の簡要欄に「ドライアイス在中」の記載はあるか	—															

平成 27 年 8 月 17 日

各衛生研究所長 様

地方衛生研究所全国協議会精度管理部会
厚生労働科学研究「精度管理研究」班
研究代表者 佐多徹太郎
(富山県衛生研究所長)

細菌感染症検査における外部精度管理の実施について (ご案内)

平素より地方衛生研究所全国協議会の活動にご協力いただきありがとうございます。

また、昨年から実施している「地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と継続的实施のための事業体制の構築に関する研究 (研究代表者 佐多徹太郎)」につきまして、アンケート調査等にご協力頂きありがとうございました。今年度は、このアンケート結果を参考にした細菌感染症の「外部精度管理調査」をまず行いたいと思います。ウイルス感染症については別途シーケンス検査を実施予定としております。ご多忙とは存じますが、下記の実施予定および参加条件をご理解の上、ご参加くださいますようお願いいたします。参考とする「コレラ菌検査・診断マニュアル」は感染研 HP に掲載されました (<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/VibrioCholerae20150701.pdf>)。

なお、参加に際し「参加依頼書」等が必要な場合は、ご連絡下さい。別途送付させていただきます。

記

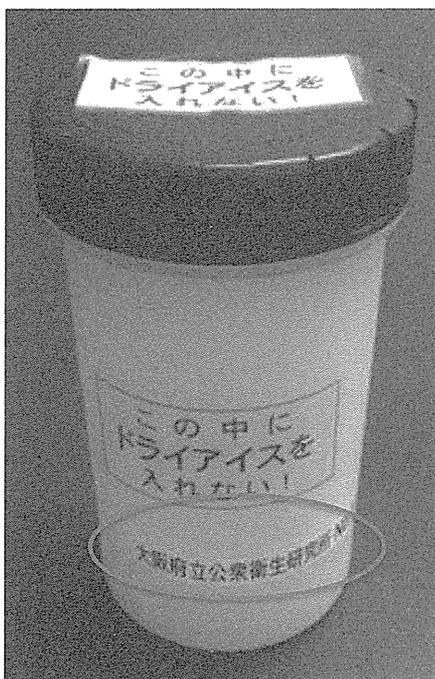
1. 実施項目：三類感染症検査に係る「コレラ菌」の同定
2. 実施時期：平成 27 年 10 月 5 日検体配付 (参加施設に到着予定)
平成 27 年 10 月 26 日結果提出締め切り
3. 参加条件：
 - (1) 検体は国立感染症研究所細菌第一部 (感染研) からゆうパックで送ります。参加施設は、別紙 1 (菌株搬送容器の準備) に記載のとおり準備した「菌株搬送容器」に自施設の所有する小型温度記録装置を入れ、後日連絡する指定日に、到着するよう感染研に送付してください。別紙 2 (菌株搬送容器チェックシート) を参考に遺漏のないようお願いします。
 - (2) 検体到着後に、発送から到着までの温度記録解析データを提出していただきます。
 - (3) 配付検体は特定病原体を含む試料ですので、その取扱いや保管等については、あらかじめ参加申込書の中で誓約し提出していただきます。

- (4) 検体受領後すみやかに検査を実施し、締切日までに結果を送付してください。
- (5) 実施時と実施後にアンケート調査に回答していただきます。
4. 参加申し込み：平成27年8月26日締め切り
別紙3(参加申込書及び誓約書)に記入の上、下記メールアドレスへ送信してください。
seidokanri2015@iph.pref.osaka.jp
5. 問い合わせ先：研究代表者 佐多徹太郎
toyamaeiken_do@vanilla.ocn.ne.jp

以上

別紙1 菌株発送容器の準備

1. 地研名を記載した二次容器に、一次容器を包むための吸収材（ペーパータオルなど）とエアクッションとを入れます。



2. 三次容器には国連規格容器を使用し、感染性物質であること、UN2814、荷受人（地研名）、荷送人（感染研）、緊急連絡先（感染研）、内容量（3 mL）、天地無用マークを表示します。（四次容器と同じ表示）。



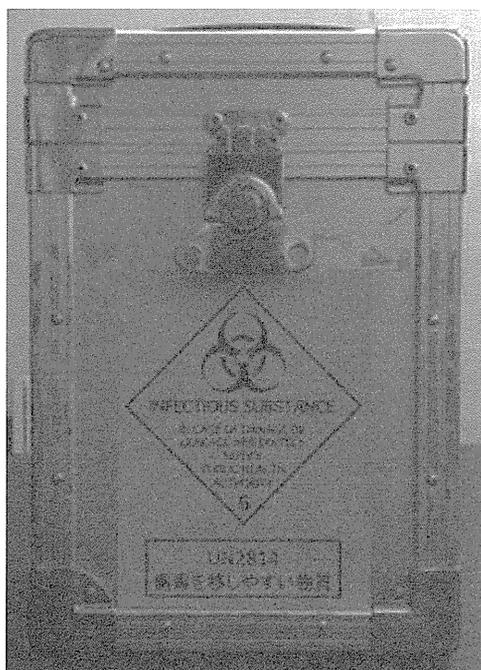
国連マークをラベルで隠さないようにしてください

3. 菌株搬送容器(四次容器)には、ゆうパック 80サイズ(三辺の計が80cm以内)までの大きさのものを使用します。



$$a + b + c = 80 \text{ cm 以内}$$

4. 菌株搬送容器の1面に感染性物質であることを表示します。



5. 菌株搬送容器の別の1面に荷受人、荷送人、緊急連絡先を明示します。荷送人、緊急連絡先は記載例のとおりにしてください。



【記載例】

荷受人 大阪府立公衆衛生研究所
感染症部 細菌課
勢戸 和子
〒537-0025
大阪市東成区中道1-3-69
TEL 06-6972-1321

荷送人 国立感染症研究所 細菌第一部
荒川 英二
〒162-8640
東京都新宿区戸山1-23-1
TEL 03-5285-1111

緊急連絡先 荒川 英二
TEL 03-5285-1525

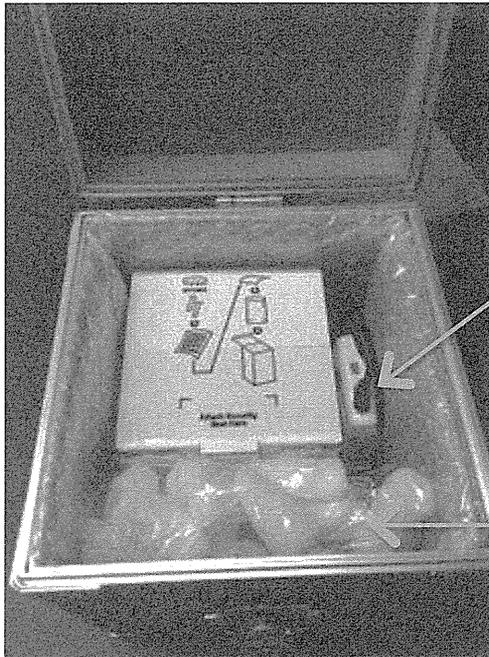
6. 菌株搬送容器に内容量(3 mL)、OVERPACK、天地無用マークの表示をしてください。



OVERPACK

UN2814 Infectious substance
affecting humans
NET QUANTITY: 3 mL

7. 三次容器と菌株搬送容器の間に小型温度記録装置を入れます。



小型温度記録装置

センサー部分をエアクッション
などで包まないでください。
この写真では菌株搬送容器内
のエアクッションシートに貼り
付けています。

隙間にはクッション材を入れて
ください。

8. ゆうパック送り状に宛先、差出人などを記載して、菌株搬送容器に
貼り付けます。

◎ 大切なお荷物を、しっかりと丁寧にお届けします。

① ゆうパック専用
集荷お申込み先
0800-0800-111(無料)
お問い合わせ先
0800-0800-222(無料)
(携帯電話ご利用のお客様)
0570-0800-22
配達状況お問い合わせ
http://www.post.japanpost.jp
～同一あて先割引～
※1回限り有効
※利用済

TO 郵便番号 〇〇〇〇-〇〇〇〇
おとこ 荷受人の住所
施設名
担当者名
電話番号 様
おなまえ ()
先 宛先
FROM 郵便番号 1628640
おとこ 新宿区戸山1-23-1
国立感染症研究所
おなまえ 細菌第一部
荒川 英二 様
でんわ 03-5285-1111

お届け通知 必要・不要
お問い合わせ番号 6401-0404-3154
配達希望日 10月5日
受付日 年 月 日
配達予定日 年 月 日
配達希望時間帯
午前中 12時～14時 14時～16時 16時～18時 18時～20時 20時～21時 希望しない
品名 危険物, 病原体
※必ず記載してください。
この「これもの」は「なまもの」、「ビン類」、「逆さま厳禁」、「下積み厳禁」
取扱所
担当

日本郵便

太枠内を強くお書きください。電話番号・郵便番号をお忘れなく!

9. 準備が整った菌株搬送容器を紙袋に入れて封をし、元払いで送ってください。



【送り先】

〒162-8640
東京都新宿区戸山1-23-1
国立感染症研究所 細菌第一部
荒川 英二 先生
TEL 03-5285-1111

【配達希望日】

9月24日, 25日, 28日のいずれかを
記載する

【品名】

菌株搬送空容器(精度管理参加)

付録 適当な大きさに印刷してお使いください。



UN2814
病毒を移しやすい物質

荷送人 国立感染症研究所 細菌第一部
荒川 英二
〒162-8640
東京都新宿区戸山1-23-1
TEL 03-5285-1111

緊急連絡先 荒川 英二
TEL 03-5285-1525

OVERPACK

UN2814 Infectious substance
affecting humans
NET QUANTITY: 3 mL

菌株搬送容器発送チェックシート

二次容器（ねじ蓋プラスチック容器）

- 三次容器とセットになった国連規格容器を使用している。
- 二次容器に地研名を記載している。
- 二次容器にエアクッションと吸収材（ペーパータオルなど）を入れている。

三次容器（紙箱）

- 二次容器とセットになった国連規格容器を使用している。
- 三次容器に感染性物質であることを表記している。
- 三次容器に荷受人（地研）、荷送人（感染研）、緊急連絡先（感染研）、天地無用マークを表記している。
- 三次容器に内容量（3mL）を記載している。
- 三次容器に二次容器を入れている。

菌株搬送容器（四次容器；ジュラルミンケース）

- 菌株搬送容器に感染性物質であることを表記している。
- 菌株搬送容器に荷受人（地研）、荷送人（感染研）、緊急連絡先（感染研）、天地無用マークを表記している。
- 菌株搬送容器に内容量（3mL）を記載し、OVERPACK と表記している。
- 菌株搬送容器に三次容器と小型温度記録装置を入れている。
- 菌株搬送容器に記入済みのゆうパック送り状を貼っている。
- 菌株搬送容器を紙袋に入れて封をしている。

発送

- 感染研への到着日は、9月24日、25日、28日のいずれかを指定している。
- 品名に「菌株搬送空容器（精度管理参加）」と記入している。

参加申込書及び誓約書

地方衛生研究所全国協議会精度管理部会

厚生労働科学研究「精度管理研究」班

研究代表者 佐多徹太郎 様

(検体発送担当：国立感染症研究所 細菌第一部 大西 真 様)

平成27年8月17日付けでご案内いただいた「細菌感染症検査における外部精度管理」について、参加条件を了承し、参加を申し込みます。実施にあたっては、特定病原体四種に応じた施設基準、保管、使用、運搬、滅菌等の基準（厚生労働省令）を遵守いたします。

施設名 _____

所属部課名 _____

実施担当者 _____

住所 _____

電話番号 _____

メールアドレス _____

特定病原体移動責任者 _____

申込書送付先： 細菌小班外部精度管理調査事務局（大阪府立公衆衛生研究所） E-mail： seidokanri2015@iph.pref.osaka.jp
--

別添 2

From: 富山県衛生研究所所長室

Sent: Wednesday, September 2, 2015 3:12 PM

Subject: 細菌感染症検査における外部精度管理の実施について(参加担当者へのご案内)

平成27年9月2日

参加担当者 様

地方衛生研究所全国協議会精度管理部会
厚生労働科学研究「精度管理研究」班
研究代表者 佐多徹太郎
(富山県衛生研究所長)

細菌感染症検査における外部精度管理の実施について(参加担当者へのご案内)

地方衛生研究所全国協議会および研究班の活動にご協力いただきありがとうございます。
さて、平成27年8月17日付けでご案内しました標記の件について、参加の申込をいただきまして、ありがとうございます。
つきましては、実施に当たり、下記の書類を送付いたしますので、締切日(平成27年10月26日)までにご回答くださるよう、お願い致します。

記

1. 実施項目: 三類感染症検査に係る「コレラ菌」の同定
2. 実施時期: 平成27年10月5日検体配布(参加施設に到着予定)
平成27年10月26日結果提出締め切り
3. 送付書類: ①検査手順書
②検査結果報告書
③コレラ菌検査経過記録書
④感染症検査体制のアンケート
4. 留意事項:
 - ①先に配付した書類に従い、菌株搬送容器、小型温度記録装置等を指定日に感染研に到着するように送付してください。なお、温度記録の時間間隔は10分毎の設定をお願いいたします。設定が困難な装置にあっては、この間隔でなくても構いません(1時間以内)。小型温度記録装置の電源はONの状態を送付してください。ONにした日付と時間を記録し添付してください。また、感染研からの搬送状況確認のために、送付する容器に貼り付けた送付状(郵パック伝票)の番号を必ず記録しておいてください。
 - ②温度記録解析に必要なことから、送られてきた容器の受取開封時間は必ず記録し、印刷した記録紙に記載してください。
5. 結果の送付: 平成27年10月26日締め切り
検査結果報告書(別紙4)を下記メールアドレスへ送信してください。
seidokanri2015@iph.pref.osaka.jp
6. 問い合わせ先: 研究代表者 佐多徹太郎
toyamaeiken_do@vanilla.ocn.ne.jp

地衛研精度管理研究班による平成 27 年度外部精度管理細菌検査手順書
ーコレラ菌定性検査の精度管理手順書ー

・精度管理内容

地衛研精度管理研究班による平成 27 年度外部精度管理細菌検査については、模擬臨床検体（分離株）からコレラ菌の同定を実施することとする。

なお、検査法の詳細は、「コレラ菌検査・診断マニュアル」感染研 HP

(<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/VibrioCholerae20150701.pdf>)を参考に行うこと。

・操作法

1. 試験の概要

試料を受領後、開封時の時間とデータログのチェックをし、記録する。

送付試料は非選択寒天平板及び選択分離寒天平板に直接塗抹する。生化学的性状試験や血清学的検査、毒素産生性試験を行い、コレラ菌と確定する。必要に応じて、遺伝子検査法を組み合わせ同定を行う。

配布試料数は 3 本（試料 1、試料 2、試料 3）です。試料の数や表記が異なっていた場合、平板塗抹後、菌の発育が認められなかった場合は、研究代表者：富山県衛生研究所 佐多徹太郎（0766-56-5506）までご連絡ください。

2. 培地、試薬および抗血清

1) 非選択寒天平板培地

- ・ NaCl 加普通寒天培地など

2) 選択分離寒天平板培地

- ・ TCBS 寒天培地、ビブリオ寒天培地、PMT 寒天培地、クロモアガービブリオなど

3) 生化学性状確認用培地および試薬類

必要に応じて、以下の培地、試薬などを用意する。

- ・ NaCl 加 TSI（Triple Sugar Iron）寒天培地：最終 NaCl 濃度が 1～2%になるように NaCl を加え、高層斜面培地として使用する。
- ・ NaCl 加 LIM（Lysin Indole Motility）培地：最終 NaCl 濃度が 1～2%になるように NaCl を加え、高層培地として使用する。
- ・ NaCl 加 VP（Voges Proskauer）半流動培地：最終 NaCl 濃度が 1～2%になるように NaCl を加え、高層培地として使用する。
- ・ 耐塩性（salt tolerance）試験培地：Nutrient Broth（BD、MERCK など）：肉エキス 0.3%、ペプトン 0.5%）に NaCl をそれぞれ、無添加（0%）、3%、6%、8%、10%の割合で加える。