

伝達性海綿状脳症（TSE）スクリーニング検査要領

第1. 実験室内でのプリオン材料の取扱いについて

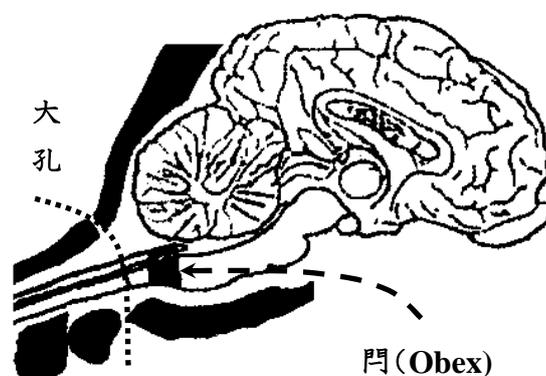
- 作業は**区画された専用の実験室内**において、原則として**安全キャビネット内**で行う。
- 作業者は傷口からの感染、飛沫による目及び口からの汚染を防ぐために、ラテックス又はビニール製手袋、マスク、予防衣及び帽子を着用し、必要に応じ防護眼鏡等も使用する。
- 作業をはじめ各種器具器材は可能なかぎり**ディスポーザブル**の製品を使用する。
- 検査材料の取扱いは**ベンチシート**上で行い、飛沫、エアロゾルを発生させないように気をつける。
- 検査材料をこぼした時及び業務終了時には、作業場所の表面を**次亜塩素酸ナトリウム溶液**で清拭する。
- 使用済みベンチシート、ディスポーザブル器具類はオートクレーブバッグに入れ、**132～134℃ 1時間の高圧蒸気滅菌**をする。
- ハサミ、ピンセット類は再使用するため、ティッシュ等の紙あるいはアルコール綿で汚れを拭い、**3～5% SDS**に浸漬して**5～10分間の煮沸**（1%に炭酸ナトリウムを添加すると金属の腐食が押さえられる。）又は**132～134℃ 1時間の高圧蒸気滅菌**をする。
- 加熱できないプラスチック器具は、**5%以上の次亜塩素酸ナトリウム**又は**2規定以上のNaOH**に2時間以上浸漬する。
- 可燃物はオートクレーブバッグに入れ、**132～134℃ 1時間の高圧蒸気滅菌**をする。
- 医療廃棄物用焼却炉が使用できる場合は、プラスチック器具及び可燃物は共にバイオハザードバックに入れて焼却する。
- 操作を続けなければならない遠心管等の外側が汚染した場合、汚染していない新しいものに移しかえて作業を続ける。
- 通常のオートクレーブしか利用できないとき、耐アルカリ容器に入れた汚染物を**1～2規定のNaOH**に浸漬して**121度30分間処理**をすることも有効な方法である。
- 焼却できない器具器材の除染を行う際は、原則として、高度に汚染している場合や組織塊等では、当然残留するプリオン量が多いため、まず紙又はアルコール綿などの可燃物で拭ってできるだけ汚れを除いた後に、滅菌処理を行う。

第2. 採材部位

頭部を図1点線のところから分離した後、大孔からスプーンあるいは薬匙を差し込んで、図1及び図2に示す**門 (Obex)** (図1中黒色に塗った部位)を含むように採材する。黒色部は頭蓋骨及び頸椎を示す。病変及びプリオンの蓄積はほぼ左右対称に起きるため、正中で2分し、一方を15%~20%濃度の緩衝ホルマリンで固定し**病理組織検査**及び**免疫組織化学検査材料**に、残りを**免疫生化学的検査 (ELISA 法、ウエスタンブロット法等)** 材料とする。

免疫生化学的検査材料の中で**門 (Obex)** を含むように横断した組織片を切り出し、スクリーニング検査試料とする。プリオンは**門 (Obex)** 中に一様に蓄積しているわけではないので、平均的に採取する必要がある。したがって、試料調整時には、切り出した組織片を、おおまかにハサミで細切して混ぜ、平均化して必要量を分取する。ただし、切り出し法以外の方法で採取する場合はこの限りではない。

図1. 牛脳の断面図



第3. 牛海綿状脳症用キット操作法

スクリーニング検査は、「プラテリア BSE」、「ダイナボット エンファーBSEテスト」、「フレライザ BSE」、「テセーBSE」、「プリオンスクリーン」又は「ニッピーブルBSE」のいずれかの検査キットを用いることとし、その操作法はそれぞれ別添1-1、別添1-2、別添1-3、別添1-4、別添1-5又は別添1-6のとおりとする。

第4. 検査結果の保管

マイクロプレートリーダーにて読み出された生データについては、**別紙様式1-1**に入力する。**別紙様式1-1**の残りの記入事項についても入力し、署名した用紙及び電子データを保管すること。また、保管する用紙にはマイクロプレートリーダーにて読み出された生データ (感光紙にあっては、普通紙に印刷したものをを用いる。) を貼付すること。なお、確認検査のために検体送付を行う際には、生データを貼付した保管データの写しを併せて送付すること。

第5. 確認検査のための検体送付

牛海綿状脳症用キットにより**陽性¹**と判定された検体については都道府県等において確認検査を実施する場合を除き、以下の方法にて、確認検査のための検体送付を行う。

1. 送付先

送付先については、平成16年4月7日付け食安監発第0407001号通知の別添によるものとする。

2. 確認検査結果の連絡方法

監視安全課から検査依頼自治体あて連絡することとする。

なお、本件に関する問い合わせ先は、監視安全課乳肉安全係（電話）03-3595-2337とする。

3. 送付部位（図2のとおり）

問（Obex）を含む周辺組織を正中で2分し、

- (1) 一方を病理組織検査及び免疫組織化学検査材料として、15%～20%濃度の緩衝ホルマリンで固定し、常温にて送付する。なお、検体を入れる容器は50 mlのものとし、緩衝ホルマリンで満たすこと。
- (2) 残りを免疫生化学的検査（ELISA法、ウエスタンブロット法等）材料として、凍結状態にて送付する。検体採取の際に残ったサンプル及びELISAに用いたサンプルの残り（ホモジナイズした乳剤サンプル等）についても凍結状態にて併せて送付すること。

4. 送付の際の連絡方法

スクリーニング検査陽性と判定された検体の送付の際には、**別紙様式1-1**の検査結果表及び**別紙様式1-2**の検体送付票を添付し、検査機関への到着日及び時間帯（午前9時から12時又は午後1時から4時）を指定の上、送付すること。

また、**別紙様式1-1**の検査結果表及び**別紙様式1-2**の検体送付票を監視安全課乳肉安全係（FAX）03-3503-7964 あてあらかじめ送付するとともに、同係（電話）03-3595-2337 あて連絡すること。

なお、休日等の緊急連絡先については追って連絡することとする。

5. 検体送付に当たっての注意

郵便規則（昭和22年逓信省令第34号）第8条第2号及び第3号に基づき、国連規格容器の適切な包装等を行い、送付すること。

また、検体送付のための運搬容器に関する情報及び梱包時の注意事項等については、別途通知することとする。

なお、差出しに当たっては、当該郵便物の輸送方法を自所の配達を受け持つ集配郵便局（以下「受持郵便局」という。）に照会し、輸送方法により次のとおり措置の上、当該郵便局に差し出すこと。

¹ 第3の再検査において陽性と判定された場合をいう。

- (1) 運送の途中において航空機による輸送が行われない検体在中郵便物
次の様式の紙片に必要事項をすべて記入し、郵便物の表面の見やすいところに貼付すること。

品 名： **牛の組織等 「危険物」** (注1)
差出人：
自治体名：
検査所名：
住 所：
電話番号：
資 格： と畜検査員 (獣医師)
氏 名：

(注1) 朱記すること。

- (2) 運送の途中において航空機による輸送が行われる検体在中郵便物 (注3)
1) 次の様式の紙片に必要事項をすべて記入し、郵便物の表面の見やすいところに貼付すること。

品 名： **牛の組織等 「危険物」** (注1)
国連番号：
差出人：
自治体名：
検査所名：
住 所：
電話番号：
資 格： と畜検査員 (獣医師)
氏 名：
ドライアイス〇〇kg 在中 (注2)

(注1) 朱記すること。

(注2) ドライアイスを入れて送付する場合は朱記すること。

- 2) 検体を格納する容器は「国連規格容器」とすること。

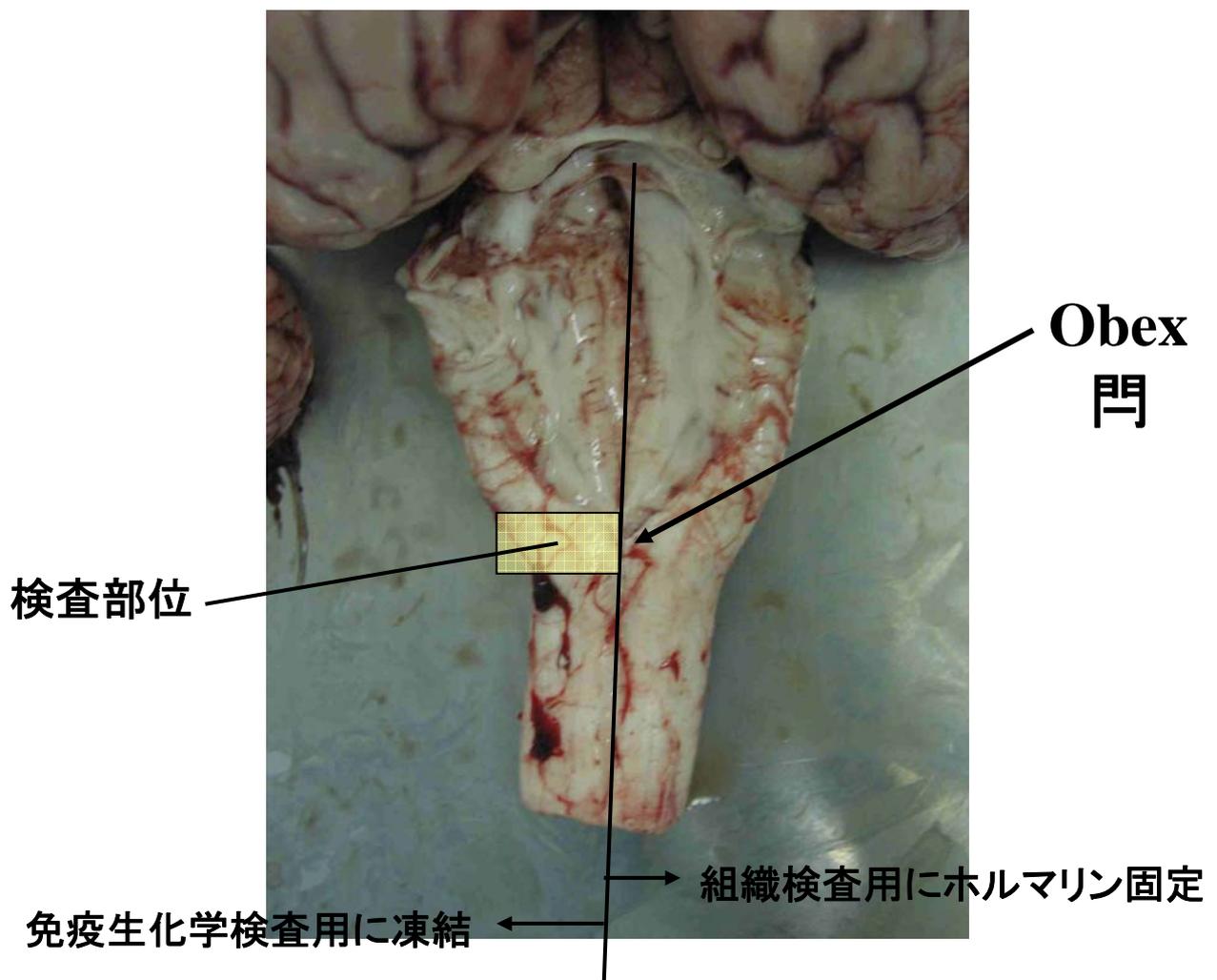
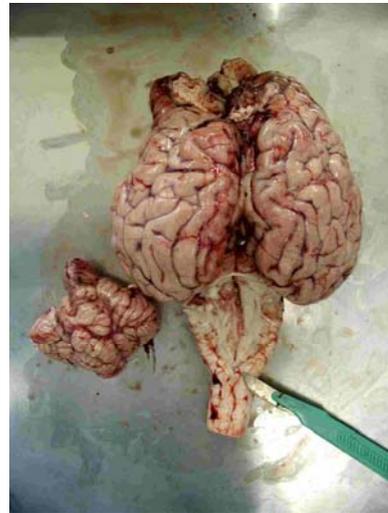
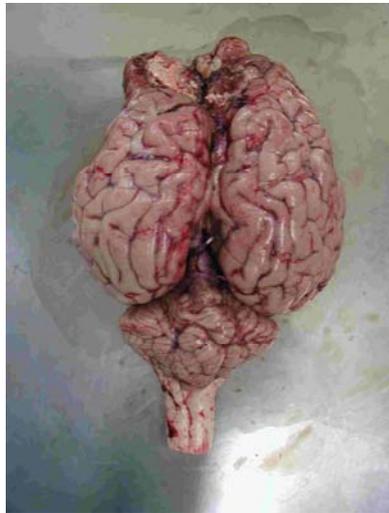
- 3) 1 容器当たりの内容量は、液体の場合は 1,000ml 未満、個体の場合は 50 g を限度とすること。
- 4) 郵便物の表面の見やすいところに輸送許容物件表示ラベル（分類番号：6.2）を貼付すること。（注 4）
- 5) 国連規格容器の外側にドライアイスを入れダンボール等で包んだ場合は、郵便物の表面の見やすいところに輸送許容物件表示ラベル（分類番号：9）を貼付すること。（注 4）
- 6) 上記 5) の場合は、郵便物の引受時に、検体が国連規格容器に格納されているかどうかを確認するため、郵便局職員が外側のダンボール等の開示を求める場合があるので、これに応じること。
- 7) 危険物申告書を 2 部作成し、小包とともに差し出すこと。（注 5）
なお、小包には、「危険物申告書在中」と記載した開封された封筒を貼付すること。郵便局において危険物申告書の内容を確認した後、返付されるので、郵便局職員立ち会いのもと、当該封筒に封入すること。

（注 3）航空機による輸送の場合、航空法第 8 6 条、航空法施行規則第 1 9 4 条及び関係告示等による規制を受ける。

（注 4）表示ラベルの様式は別紙様式 1 - 3 のとおり。（受持郵便局に必要分を請求する。）

（注 5）危険物申告書は別紙様式 1 - 4 のとおり。（なお、本件については、今回の検体輸送用に郵政公社・各航空会社間で特別に定めたものであり、他には使用できない。）

図2. BSE検査のための採材部位



完全に異常プリオン蛋白を不活化させる処理

表1. 完全に異常プリオン蛋白を不活化させる処理²

薬 剤	濃 度	処 理 時 間	温 度
ギ 酸	≥60%	2 時間	室 温
チオシアン酸グアニジン	≥ 4 M	2 時間	室 温
塩酸グアニジン	≥ 7 M	2 時間	室 温
三塩化酢酸	≥ 3 M	2 時間	室 温
S D S	≥ 3 %	5 分間	100℃
フェノール	≥50%	2 時間	室 温

表2. 汚染材料の消毒法³

薬剤・方法等	温度 (℃)	時間 (分)	対象
焼 却	≥800	—	臓器、可燃物等
オートクレーブ	134	60	各種機材、器機、臓器、その他
3% S D S 浸漬**	100	5	各種機材、器機、その他
2 規定 NaOH 浸漬	室温	60	各種機材、器機、その他
1 規定 NaOH 浸漬	室温	120	各種機材、器機、その他
1～5%次亜塩素酸 ナトリウム浸漬	室温	120	各種機材、器機、その他

症例は、解剖室などにビニールシートを敷いてその上で解剖を行い、必要最小限の解体にとどめる。頭部を取り外す際、血液を容器に受けて汚染を最小限とする。また分離した頭部はプラスチック袋に収め、頸部にはプラスチック袋をかぶせる等の処置を行って汚染の拡大を防ぐ。

² 小野寺節、北本哲之、倉田毅、佐藤猛、立石潤：クロイツフェルト・ヤコブ病診療マニュアル，（厚生省保健医療局疾病対策課監修），18-23，新企画出版社、東京（1997）

³ 同上

(試 験 ・ 再 試 験)

検 査 日 平成 年 月 日

所属自治体名

所属検査所名

検査員名 (署名)

カットオフ値

カットオフ値の-10%

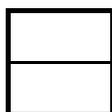
検 体 数

(陽性検体数、陰性検体数)

ロット番号

ブラテリアBSE	プロティナーゼK	精製キット	検出キット
テセーBSE	精製キット	検出キット	
ダイナボットエンファーBSE	試薬パック	抗体パック	バッファーパック
フレライザBSE	試薬Aセット	試薬Bセット	検出用試薬セット
プリオンスクリーン	試薬キット	ホモジナイズ用プレート	
ニッピブルBSE	前処理用試薬セット	前処理用器材セット	検出用試薬セット

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												



← サンプル名 (個体識別に用いている記号等) を記入

← 測定値を記入

※1 上記の表は、96穴プレートを示す。実際の検査において用いたウェルと対応して記入すること。

※2 なお、未使用のウェルには斜線を引くこと。

確認検査機関名：
受取人名：

自治体名：
担当者：
電話：

伝達性海綿状脳症確認検査検体送付票

送付年月日	検体送付元(検査所名)	検体番号	検体重量(g)	検体採取年月日	採取動物に関する情報					備考
					種類・品種	性別	月齢	臨床症状	とさつ年月日	
1			ELISA用乳剤							
			WB用							
			病理用							
			出荷者							
氏名	住所	電話	氏名	住所	電話					
2			ELISA用乳剤							
			WB用							
			病理用							
			出荷者							
氏名	住所	電話	氏名	住所	電話					

検査キットの種類・ロット番号：

検査機関への検体到着予定日及び時間帯
月 日() 午前 時～ 時
午後 時～ 時

1 輸送許容物件表示ラベル (分類番号 : 6. 2)



2 輸送許容物件表示ラベル (分類番号 : 9)



(航空輸送)

(別紙様式 1 - 4)

郵便物に含まれる危険物申告書 (牛の組織等)

下記の郵便物の品名、数量等はすべて正確であり、国連規格容器に納入し、包装、表示等は航空法及びその関連規則に従って行われています。この郵便物は航空機への積載の制限範囲内のものであり、航空機による輸送に適した状態にあります。

申告書作成年月日		平成 年 月 日	
品名	牛の組織等		
	UN2814 UN2900	人体及び動物に対し伝染性がある病 毒を移しやすい物質 (液体)	(注1) ml
	UN2814 UN2900	人体及び動物に対し伝染性がある病 毒を移しやすい物質 (固体)	(注2) g
	UN1845	ドライアイス	kg
国連規格容器の外側にドライアイスを入れて更に別の容器等で包装			

差出人 自治体名： 検査所名： 住所： 電話番号： 氏名：と畜検査員 (獣医師)
受取人 機関名： 住所： 電話： 氏名：

航空会社使用欄

(注1) 内容物が液体の場合、1容器に納めることのできる総量は1,000ml未満です。

(注2) 内容物が個体の場合、1容器に納めることのできる総量は50gまでです。

(航空輸送)

(別紙様式 1 - 4) (記入例)

郵便物に含まれる危険物申告書 (牛の組織等)

下記の郵便物の品名、数量等はすべて正確であり、国連規格容器に納入し、包装、表示等は航空法及びその関連規則に従って行われています。この郵便物は航空機への積載の制限範囲内のものであり、航空機による輸送に適した状態にあります。

申告書作成年月日		平成 14 年 10 月 30 日	
品 名		牛の組織等	
	UN 2814 UN 2900	人体及び動物に対し伝染性がある病 毒を移しやすい物質 (液体)	(注 1) ml
✓	UN 2814 UN 2900	人体及び動物に対し伝染性がある病 毒を移しやすい物質 (固体)	(注 2) 40 g
✓	UN 1845	ドライアイス	3 kg
✓	国連規格容器の外側にドライアイスを入れて更に別の容器等で包装		

差出人 自治体名 : ○○県 検査所名 : ○○食肉衛生検査所 住 所 : ○○市○○1-2-3 電話番号 : ○○○○-○○○-○○○○ 氏 名 : と畜検査員 (獣医師) ○○ ○○
受取人 機 関 名 : ○○検査センター 住 所 : 〒000-000 ○○県○○市3-2-1 電 話 : ○○○○-○○○-○○○○ 氏 名 : ○○ ○○

航空会社使用欄

(注 1) 内容物が液体の場合、1 容器に納めることのできる総量は 1,000ml 未満です。

(注 2) 内容物が個体の場合、1 容器に納めることのできる総量は 50g までです。