

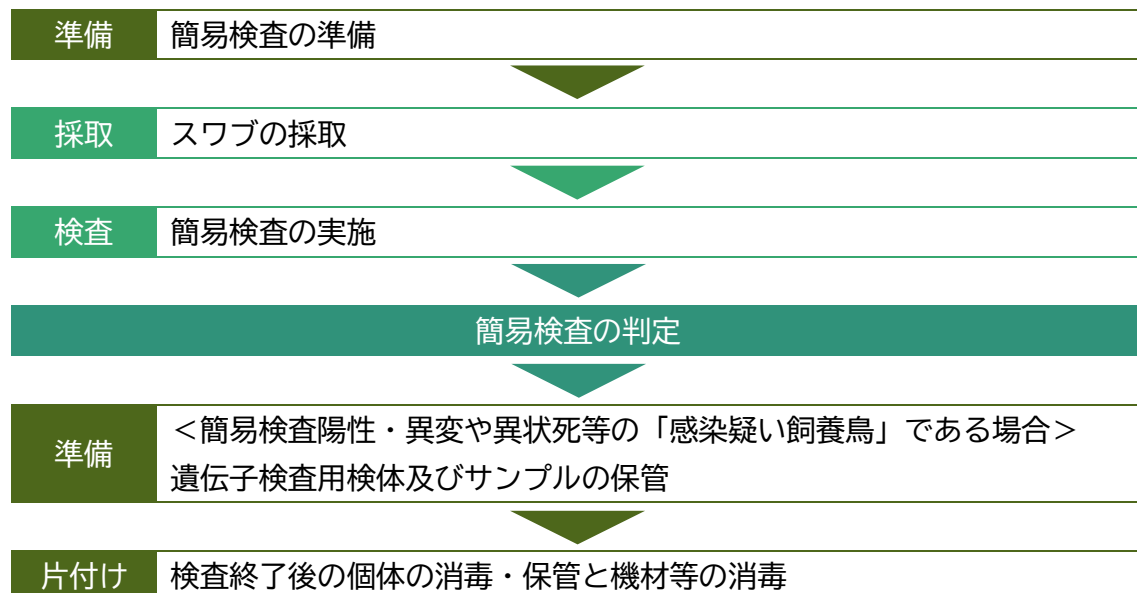
簡易検査方法

本資料で示す簡易検査方法は、高病原性鳥インフルエンザへの感染が疑われる場合（必要に応じて実施する、展示施設間における飼養鳥の移動を行う場合や傷病野鳥の受け入れる場合等を含む）におけるA型インフルエンザの簡易検査を実施する際に想定される方法について、解説している。

簡易検査は、A型インフルエンザウイルスの有無を判定するものであり、ウイルスの亜型や高病原性タイプかどうかの判定はできない。また、試料中のウイルス量や状態に影響されやすく、飼養鳥での検査精度は低いいため、偽陽性又は偽陰性となる可能性があることも留意されたい。本検査で陽性となった場合には、遺伝子検査に進むきっかけとしては有用であるが、陰性であっても感染が疑わしい場合は、遺伝子検査の実施を推奨するため、動物愛護管理主管課を通じて環境省動物愛護管理室に相談されたい。

なお、本資料は、「東北地方環境事務所版野鳥等における高病原性鳥インフルエンザ技術対応マニュアル Ver. 2023. 10. 01」や簡易検査キット販売業者が作成する説明書等を参考に作成した。

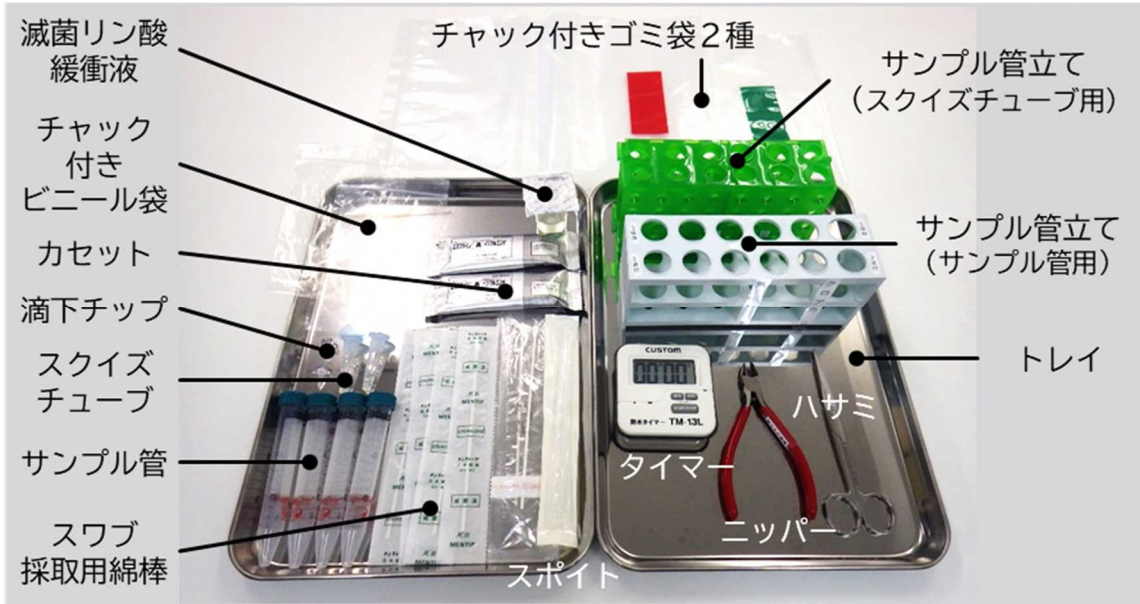
1 簡易検査における全体的な流れ



2 簡易検査に必要となる準備物等

□ 簡易検査キット

※基本的に、1個体で気管スワブとクロアカ（総排泄腔）スワブの両方を採取するため、1個体あたり、「スワブ採取用綿棒2本」、「スクイズチューブ（検体処理液入り）2本」、「滴下チップ2個」、「カセット2個」が必要となる。



▲簡易検査・遺伝子検査・予備のサンプルを保管する場合の準備物

- サンプル管立て（スクイズチューブ用）
- ラベルシール、黒サインペン
- タイマー ※消毒するため、防水よい。
- トレイ（必要に応じて）
- ハサミ（必要に応じて） ※消毒するため、分解できるものがよい。
- 死亡個体保管用ビニール袋（必要に応じて）
- チャック付きゴミ袋（感染性ゴミ用、一般ゴミ用）
- 結束バンド
- アルコール消毒薬

※遺伝子検査（検体発送）を予定する場合や予備のサンプルを各園で保管されたい場合は、下記の物品も準備する。

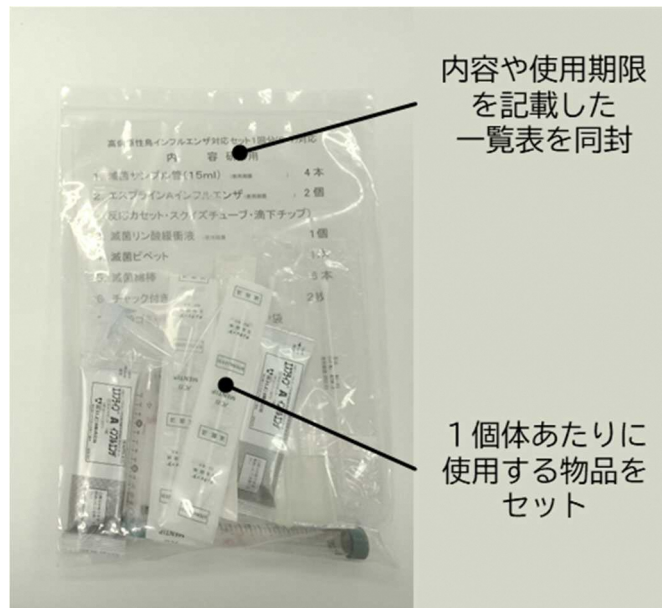
- スワブ採取用綿棒
- 滅菌リン酸緩衝液
- スポイト
- チャック付きビニール袋
- サンプル管
- サンプル管立て（サンプル管用）
- ニッパー

※感染が疑われる個体は、飼養している場所から移動させずに、その場で検査を行うことが望ましい。移動させて検査を行う場合は、移動経路や移動方法等を要検討し、感染拡大に留意する。
 ※検査は、検査者のほか、補助者を確保し、2名以上で行う。なお、生体を検査する場合は、別途、保定者を調整する。
 ※装備は、感染が疑われる飼養鳥の状態によって異なるが、感染が強く疑われる場合は、「隔離飼養時等における個人防護具（PPE）の着脱方法」を参考にされたい。

<ポイント>

□ 簡易検査キットの事前準備

- ・簡易検査キットは、予め、1 個体あたりに必要な物品を、チャック付きのビニール袋などにまとめておくとよい。
- ・このとき、内容や使用期限がわかるよう、一覧表を作成し、同封しておく。



□ チャック付きゴミ袋の事前準備

- ・チャック付きゴミ袋も簡易検査キットのセットに予め入れておくとよい。
- ・簡易検査では、感染性ゴミと一般ゴミが排出される。そのため、ゴミ袋には、色の異なるテープ（赤：感染性ゴミ、緑：一般ゴミ）を張り付けるなど、どちらのゴミが明確にわかるよう区別しておく。



3 簡易検査の準備

- ・ 簡易検査は、基本的に1個体につき、気管スワブとクロアカ（総排泄腔）スワブの両方を採取する。
- ・ 簡易検査のほか、遺伝子検査も実施する場合は、1部位あたり3検体（簡易検査用、遺伝子検査用（検体発送用）、予備）以上の試料を採取し、1検体は予備として各園で保管しておくことが望ましい。



1. 作業着を着用する

- ①検査員、補助者及び保定者は、個体が陽性である可能性を踏まえ、適切な作業着を着用する。

■ポイント

- ・感染が強く疑われる場合は、「隔離飼養時等における个人防护具（PPE）の着脱方法」を参考とした装備にするなど、感染リスクの高さに応じて、各展示施設で検討する。



2. 作業スペースを確保する

- ①作業スペースを確保する。

■ポイント

- ・テーブルがない場合は、ブルーシートやステンレストレイを使用する。
- ・感染が疑われる個体は、飼養している場所から移動させずに、その場で検査を行うことが望ましい。

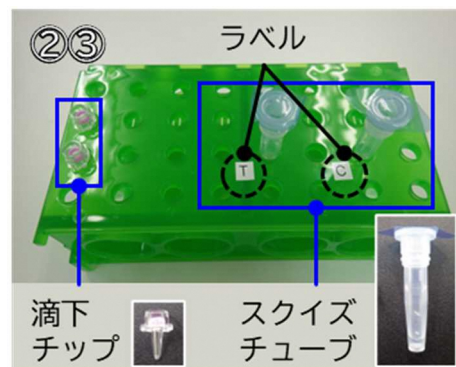
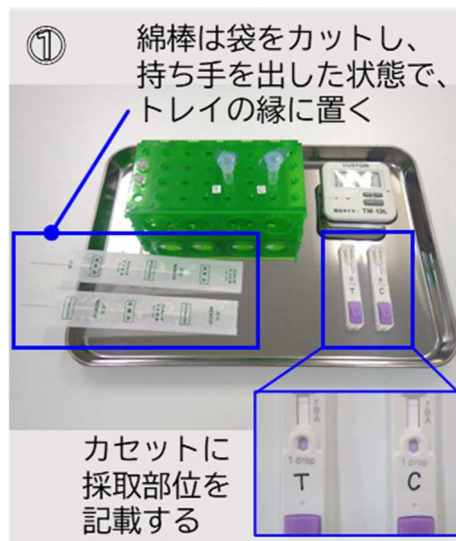


3. 機材・薬品等を準備する

- ①使用する機材や簡易検査キット等を準備する。
- ②簡易検査キットから、検査に必要なもの（スワブ採取用綿棒、スクイズチューブ等）があるかを確認しながら、検査員が作業しやすいようにトレイの上に並べる。

■ポイント

- ・1個体1部位から3検体（簡易検査用、遺伝子検査用（検体発送用）、予備）の試料を採取する場合、スワブ採取用綿棒6本、スクイズチューブ2本、サンプル管4本の用意が必要となる。



4. 簡易検査キットを準備する

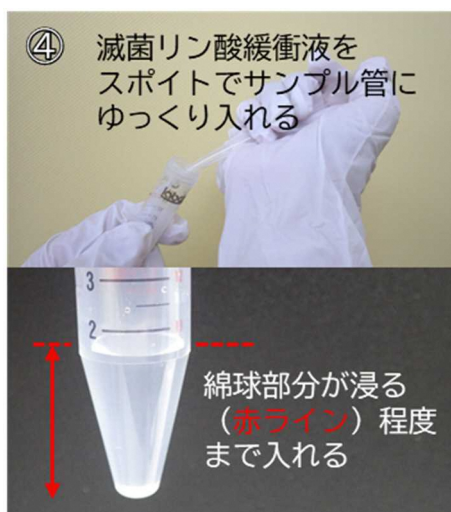
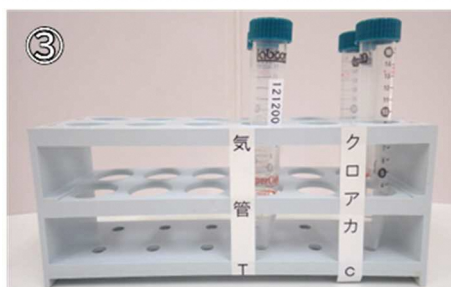
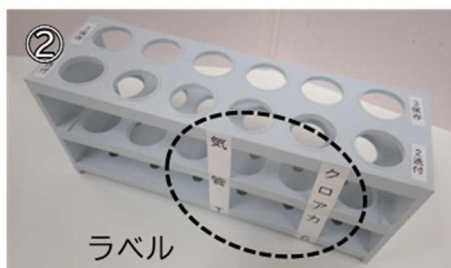
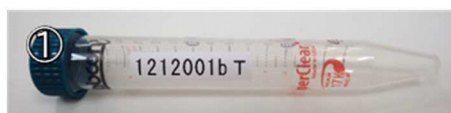
①採取本数分のスワブ採取用綿棒と採取部位（C（気管スワブ）・T（クロアカ（総排泄腔）スワブ））を記入したカセット、トレイの上に並べる。

②サンプル管立てに、採取部位（C・T）を記載したラベルを張り付ける。

③サンプル管立てに記載したラベルに合わせて、スクイズチューブ（検体処理液入り）、滴下チップ（紫色）、サンプル管を並べる。

■ポイント

- ・検査者が綿棒を取りやすいように、袋をカットし、綿棒の持ち手を出した状態で、トレイの縁に置くとよい。
- ・採取部位（C・T）を混合させないため、スクイズチューブをサンプル管立てに置くときは、サンプル管立てに採取部位（C・T）のラベルを貼り、スクイズチューブの定位置を決めておく。



5. <簡易検査陽性・異変や異状死等の「感染疑い飼養鳥」である場合> 遺伝子検査用検体及びサンプル保管の準備

※遺伝子検査用（検体発送用）及び園内で保管する予備を採取する場合は、下記も準備する。

①サンプル管に、個体番号と採取部位（C・T）を記載したラベルを貼り付ける。

②サンプル管立て（スクイズチューブを立てるサンプル管とは別）に、採取部位（C・T）を記載したラベルを張り付ける。複数個体から採取する場合は、サンプル管立てに、個体番号を記載したラベルも張り付ける。

③サンプル管立てに記載したラベルに合わせて、サンプル管を並べる。

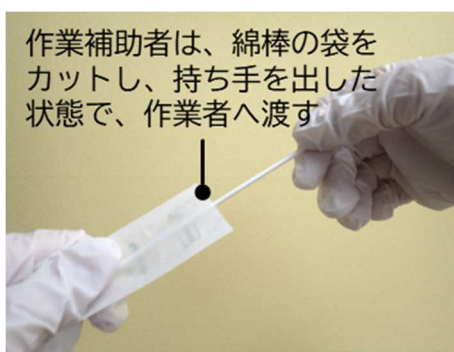
④全てのサンプル管に、滅菌リン酸緩衝液をスポイトで入れる。綿球部分が浸る（赤色のライン）程度入っていることを確認する。

■ポイント

- ・滅菌リン酸緩衝液を入れる際は、スポイトを用いて、サンプル管にゆっくり入れる。

4 簡易検査の手順

- ・ 簡易検査は、前述のとおり、基本的に1個体につき、気管スワブとクロアカ（総排泄腔）スワブの両方を採取する。
- ・ しかし、簡易検査キットの数に制限があったり、感染が疑われる個体数が多かったりするなど、事情により1個体で1検体しか検査できない場合は、一般に総排泄腔（クロアカ）より気管の方がウイルスの排出が多いため、気管スワブを優先して実施してもよい。この場合は、速やかに遺伝子検査も行うこととし、結果が判明するまでは、陽性個体と同等の管理を行う。

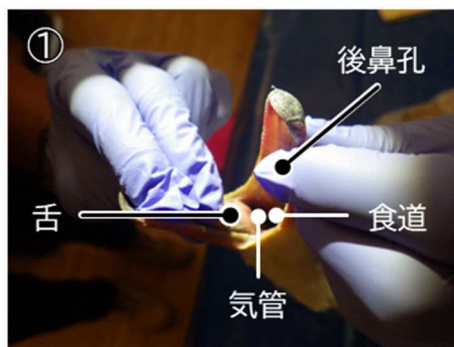


1. スワブの採取

- ①作業補助者から綿棒を受け取る。

■ポイント

- ・ 綿棒の先に手を触れないように注意する。
- ・ 検査精度が下がる場合があるため、気管スワブ及び総排泄腔（クロアカ）スワブの2種類のスワブは混合しないよう注意する。



《気管スワブ（C）の採取方法》

- ①クチバシを開け、気管を確認する。
- ②出来る限り気管の奥まで綿棒を差し込み、上下動・回転させる。

■ポイント

- ・ 暗いと見えにくいですが、気管と食道を間違えないように注意する。
- ・ 死亡個体を検査時において、気管が見えにくい場合は、左右の口角をハサミで切り、クチバシが大きく開くようにしてもよい。





《クロアカ（総排泄腔）スワブ（T）の採取方法》

①腹の正中を尻の方向に指を滑らせるように移動させ、クロアカ（総排泄腔）を探り当てる。

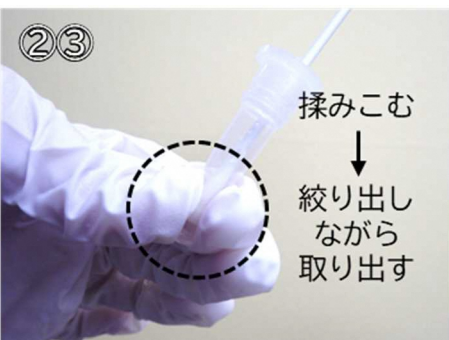


②綿棒をクロアカ（総排泄腔）に挿入し、腔壁面を擦りながらスワブ採取する。



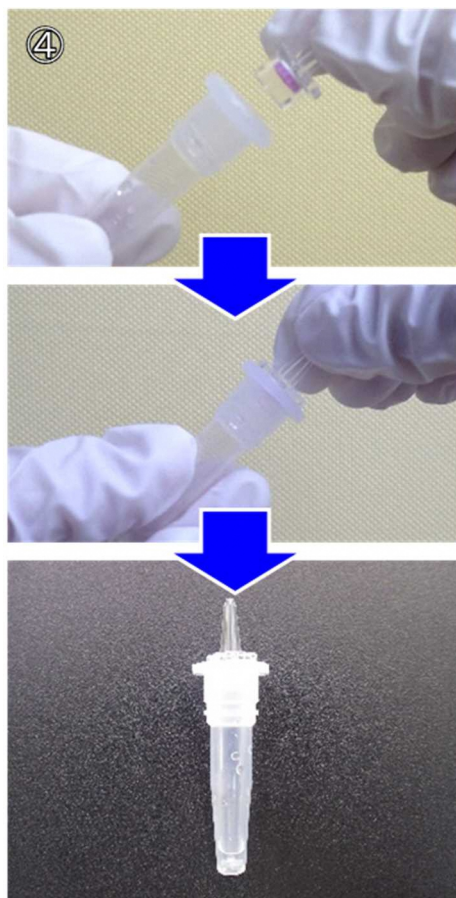
2. 簡易検査の実施

①スワブを採取した綿棒を、スクイズチューブ内の検体処理液に浸し、回転させる。



②検査処理液によるウイルスが移行するように、綿球部分を指先で十分に揉みこむ。

③綿球部分を絞り出しながら、綿棒を取り出す。



④スクイズチューブに、紫色の滴下チップを装着する。



⑤紫色の検体滴下部に、1 滴滴下する。このとき、検体滴下部から 10 mm以上離し、中央に滴下する。



- ⑥ 紫色の凸部を押し込み、反応を開始する。このとき、凸部が完全に凹んだ状態になったことを確認し、カセットを水平に静置する。
- ⑦ 計測結果が出るまで、15分待つ。このとき、タイマー等を用いて、時間を計測するとよい。

■ポイント

- ・スワブを採取した綿棒が、検査処理液を吸収しすぎると正確に検査が行えないため、この一連の作業は時間を置かず速やかに実施する。
- ・検査は、室内温度（20～37℃）で行うため、厳冬期はカセットを、25℃程度に設定した検査用ホットプレートや適温にしたお湯を入れたペットボトル等の容器を準備して、保温するとよい。

3. 簡易検査の判定法

- ① 凸部を押し込んだ 15 分後に、判定部の青バンドの位置を確認する。
- ② 必要に応じて、記録（写真撮影等）を行う。

【未使用の場合】

- ・ r の位置に、ピンク色バンドが 1 本のみ見られる。

【陰性の場合】

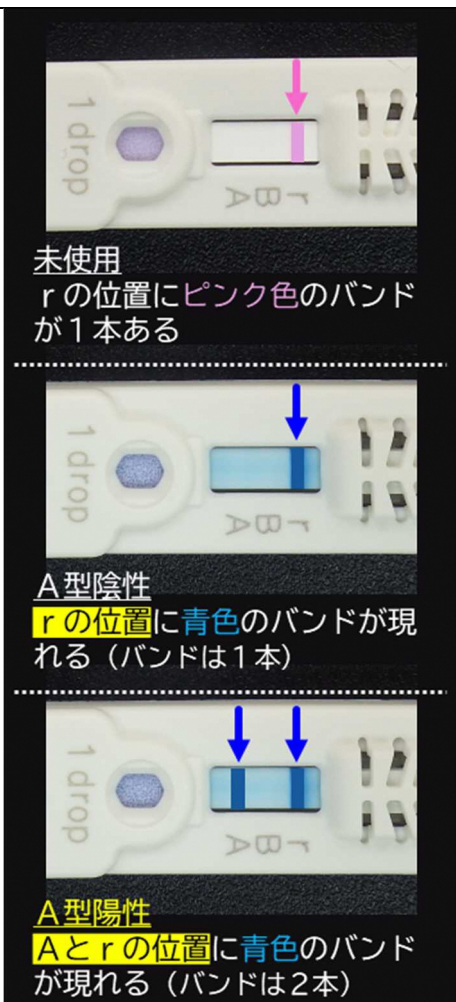
- ・ r の位置に、青色バンドが 1 本、出現する。

【陽性の場合】

- ・ r と A の位置に、青色バンドが計 2 本、出現する。

■ポイント

- ・簡易検査の判定の色が不明瞭であったり、陽性対照（レファレンス）が発色しなかったり、不明瞭、不自然な結果の場合は、再度実施する。
- ・簡易検査は早期発見の手段ではあるが、飼養鳥の場合は、簡易検査で陰性だったが遺伝子検査で陽性となる事例も多く確認されていることから、陰性であっても確実性がない（偽陰性の可能性がある）ということに留意する。
- ・また、簡易検査の結果が陰性であっても、高病原性鳥インフルエンザウイルスに感染している場合があるため、展示施設の担当獣医師等は、必要な感染防御を行いつつ、当該飼養鳥の症状の観察を注意深く続ける。



5 (必要に応じて) 遺伝子検査用検体及びサンプルの保管

- ・ 遺伝子検査を実施する場合は、動物愛護管理主管課を通じて環境省動物愛護管理室に相談されたのち、指示に従い、検体を発送するものとする。



1. スワブ採取した綿棒をサンプル管に入れる

- ① スワブ採取した綿棒をサンプル管に入れる。



- ② 綿棒がサンプル管に収まるよう、綿棒の柄の部分をニッパーで切る。



- ③ サンプル管のスクリーキャップを確実に閉める。

■ポイント

- ・ 綿球部分が滅菌リン酸緩衝液に浸っていることを確認する。



2. サンプルの保管

- ① サンプル管をチャック付きのビニール袋に入れる。
- ② サンプル管を冷蔵（4℃）で保管する。

■ポイント

- ・簡易検査で陰性であっても、国内の発生状況や臨床経過を踏まえ、普段の飼養管理状況と比して明らかな異変や異状死等の「感染疑い飼養鳥」である場合は、環境省で行う遺伝子検査の実施を推奨する。必要に応じて、動物愛護管理主管課を通じて環境省動物愛護管理室に相談されたい。
- ・検体の発送については、別添「検体の送付方法」を参照する。
- ・サンプルは、遺伝子検査結果が確定した後、適切に処分する。処分方法は、密閉したままで、ペール缶に入れ、蓋をする。（オートクレーブがある場合は、滅菌後、処分してもよい。）

6 検査終了後の個体の消毒・保管と機材等の消毒



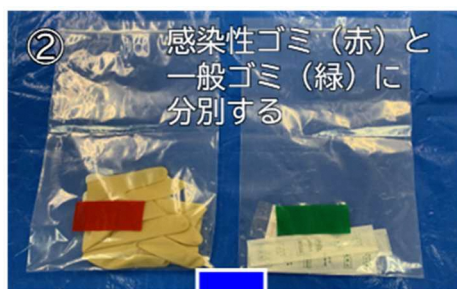
1. 検査終了後の個体への対応

【ビニール袋に入るサイズの死亡個体の場合】

- ①死亡個体は回収時の袋に入れ、結束バンド密閉し、ビニール袋全体をアルコール消毒する。
- ②さらにビニール袋に入れて（二重目）、結束バンドでとめ、ビニール袋をアルコール消毒する。袋には、検査した個体の種名、検査日の記録を記載する。
- ③さらにビニール袋に入れて（三重目）、結束バンドでとめ、ビニール袋をアルコール消毒する。
- ③三重のビニール袋に入れた死亡個体は、冷凍庫（-30℃）で保管する。死亡個体は、遺伝子検査結果が確定した後、適切に処分する。

【生体の場合】

- ①対応指針に基づき、必要な感染防御を行いつつ、当該飼養鳥の症状の観察を注意深く続け、必要に応じて、隔離飼養等を行う。
- ②感染が疑われる飼養鳥を移動させる場合は、感染拡大防止のため、飼養していた場所や通路等の消毒を適切に行う。



2. 機材等の消毒

- ①検査終了後、使用した機材や作業着、場所等は、全てアルコール消毒を行う。消毒後は、5分ほど放置したのち、ペーパータオル等でふき取り、乾燥させる。
- ②検査で発生したゴミは、感染性ゴミと一般ゴミに分別し、適切に処理する。

■ポイント

- ・分解できるもの（ハサミ等）は分解して消毒する。
- ・感染性ゴミは、空気を抜き、結束バンドで密封し、袋全体を消毒後、感染性廃棄物処理容器メディカルペールに収納・密閉する。