病性鑑定実施鶏におけるアストロウイルスの検索

東部家畜保健衛生所 山本英次

はじめに

アストロウイルスはアストロウイルス科に属する一本鎖プラス RNAのウイルスで、直径約 30nm の球形粒子であり、エンベロープを持たない。このウイルスは哺乳類における下痢症原因ウイルスとして広く認識されており、鳥類では七面鳥、アヒルでのアストロウイルス感染症、鶏では実験的に腎炎を起こす鶏腎炎ウイルス (ANV) がある。イギリス、ドイツでは発育に問題のあるブロイラー鶏群からのアストロウイルス検出事例が報告されているが、野外におけるアストロウイルスの養鶏業への経済的影響は、いまだ十分明らかにされているとはいえない。このため、野外におけるアストロウイルスの疫学情報を収集することを目的とし、病性鑑定実施鶏におけるアストロウイルスの検索を実施した。

材料

平成22年度に実施した、病性鑑定実施鶏(10件6戸37羽)の保存臓器(心、肝、腎、脾、肺、気管、腸管)を材料とした。

掛号	10円名	期の機器	検査月	林査不敢	日前		加斯名
	Α	プロイラー	4		44	死亡年款の増加	但論性気管支炎
						死亡日数の増加	但條性氣管支炎
		電玩 (七面馬)				死亡羽数の増加	原因于明
						死亡羽動の増加	州大縣附近
						死亡羽紋の増加	発大規管症、コケンジウム 症
						死亡日数の増加	真菌症、コクシンジウム症、 クロストリンウム形染症
						探査量の低下。 開管の白斑	
						\$085	つどつは固症
						死亡羽紋の増加	

方法

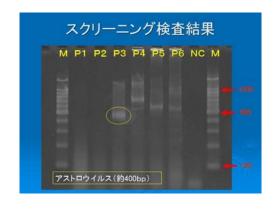
遺伝子学的検査

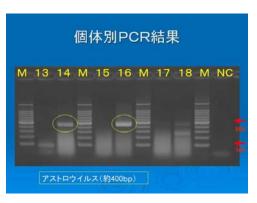
スクリーニング検査として、全保存臓器プール乳剤から抽出した RNA6 検体分をプールし、既報のアストロウイルス ORF1b 領域をターゲットとした共通プライマーを用たPCRを実施した。スクリーニング検査で陽性の検体は個体別に PCR を実施し、陽性個体を特定した。特定された陽性個体について、各臓器別に乳剤を作成してRNAを抽出、PCR を実施し、PCR 陽性臓器を特定した。その後、増幅された PCR 産物について塩基配列決定、相同性解析を実施した。ウイルス分離

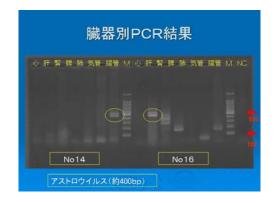
遺伝子学的検査で陽性となった臓器乳剤について、発育鶏卵漿尿膜上接種法によるウイルス分離を実施した。

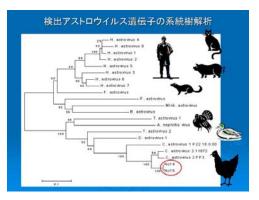
結果

遺伝子学的検査で、6 検体中 1 検体(P3)が陽性を示した。この陽性検体(P3)について個体別 PCR を実施したところ、6 検体中 2 検体(14、16)が陽性であった。これらの個体について、臓器別 PCR を実施したところ、14 は腸管、16 は肝臓が陽性を示した。これらの PCR 産物について、その塩基配列を決定し、相同性解析を実施したところ、イギリスの研究者が報告している 11672 株や FP 3 株と高い相同性を示した。



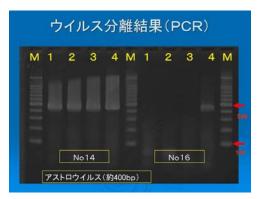






PCR で陽性を示した臓器を用いたウイルス分離の結果、材料を接種した漿尿膜は陰性対照と比較して、材料接種部位全体的に明瞭な肥厚が見られた。この漿尿膜から RNA を抽出し、PCR を実施した結果、14 では接種 1 代目から、16 では接種 4 代目で陽性を示した。





考察

このウイルスが検出された 14、16 は、3 日齢のプロイラー鶏群において、死亡羽数が増加したため病性鑑定を実施し、各種検査の結果、鶏大腸菌症と診断した 6 羽の内の 2 羽であった。病理組織学的検査において、ウイルスが検出された臓器にウイルス感染を疑う所見は見られず、本症例にアストロウイルスが関与しているかどうかは不明であった。養鶏業へのアストロウイルスの影響を明らかにするためには、同様の調査の継続とともに、健康鶏の保有状況調査など、さらに多くの疫学情報の収集、解析が必要であると考えられた。

参考文献

Finkbeiner SR, Holtz LR, Jiang Y, Rajendran P, Franz CJ, Zhao G, Kang G, Wang D. Human stool contains a previously unrecognized diversity of novel astroviruses. Virol J. 2009 Oct 8:6:161.

今田忠男

《解説》家禽類のアストロウイルスとその感染症 鶏病研報 40 巻 3 号, 141~150 (2004)

Smyth VJ, Jewhurst HL, Adair BM, Todd D.

Detection of chicken astrovirus by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. Avian Pathol. 2009 Aug;38(4):293-9.