

13. ヒストモナス病における遺伝子並びに抗体検査を活用した補助診断の確立

大分家畜保健衛生所

○病鑑 武石秀一・病鑑 壁村光恵・病鑑 内田雅春

【はじめに】 2013年4月より、県内でヒストモナス病が散発、4農場10羽に及んだ。

ヒストモナス病は、*Histomonas meleagridis* 原虫 (*H. m*) の感染によっておこる疾病で、盲腸、肝臓に病変を形成し、生産性の低下を引き起こす。診断では、*H. m* の確認は難しく、病理組織学的検査を用いるが、迅速性、感染初期の診断等の課題がある。

そこで、ヒストモナス病の補助診断として、*H. m* の特異遺伝子の検出を目的としたPCR法と血清中の抗体検出を目的としたストロプトアビジン・ビオチン (SAB) 法の有用性を検討した。

【材料と方法】

試験1 PCR法による*H. m* 特異遺伝子の検出

(1) *H. m* 特異遺伝子の検出感度：発症鶏3羽の主要臓器、盲腸の生材料とパラフィン切片を用い、K. Huberらの報告に基づきPCR法を実施。両者の検出感度を比較。

(2) *H. m* 特異遺伝子の相同性：発症鶏10羽、発生農場で診断に至らなかった同居鶏2羽、疫学的に関連のある農場の2羽、非発生農場の12羽、計26羽について、肝臓及び盲腸の病理組織所見とPCR法によるパラフィン切片中の*H. m* 特異遺伝子の検出結果を比較。

試験2 SAB法による抗体測定

(1) 感度および特異性の評価：*H. m* が多数確認された盲腸組織をシランコート4穴スライドガラスに貼り、抗原スライドとし、発症鶏4羽、非発症鶏 (4日齢未満) 10羽の血清を用いて、4℃一晩インキュベートした後、定法に従いSAB反応-DAB発色させ、抗体価を測定した。

(2) 抗体保有状況：モクソグ事業で採材した10農場の血清について、1農場3検体を1プールとし、1,000倍希釈した後、SAB反応-DAB発色させ、抗体の保有状況を調査した。

【検査成績】

試験1 (1) *H. m* 特異遺伝子の検出感度

生材料 (n=3)：心1/3、肺1/3、肝3/3、腎3/3、脾3/3、盲腸2/3、計13/18 (72.2%)

パラフィン切片 (n=3)：心0/3、肺0/3、肝3/3、腎0/3、脾0/3、盲腸3/3、計6/18 (33.3%)

(2) *H. m* 特異遺伝子の特異性 (病理組織所見と*H. m* 特異遺伝子の検出成績)

発症鶏 (n=10)：病変形成 (盲腸10/10、肝5/10)、*H. m* 検出 (盲腸10/10、肝6/10)

発生農場の同居鶏 (n=2)：病変形成 (盲腸1/2、肝1/2)、*H. m* 検出 (盲腸0/2、肝2/2)

疫学関連農場 (n=2)：病変形成 (盲腸1/2、肝0/2)、*H. m* 検出 (盲腸0/2、肝2/2)

非発生農場 (n=12)：病変形成 (盲腸5/12、肝0/12)、*H. m* 検出 (盲腸1/12、肝0/12)

試験2 (1) 感度および特異性の評価

発症鶏 (n=4) の抗体価 (GM) は、2,152倍 (1,280倍～5,120倍)、非発症鶏 (n=10) の抗体価は、すべて500倍未満でした。

(2) 抗体保有状況：採卵鶏1/3、肉用鶏0/3、地鶏4/4、計5/10 (50%) であった。

【まとめ及び考察】 *H. m* 特異遺伝子の検出を比較すると、パラフィン切片は生材料に比べ低率を示したが、病変が形成される盲腸、肝臓での検出率は100%と高く、また、病理組織所見とも高い相同性を示した。一方、SAB法を用いた抗体測定では、発症鶏に高い抗体が検出され、また、スクリーニング検査として、*H. m* 浸潤農場の識別も可能であった。

ヒストモナス病における遺伝子並びに抗体検査については、国内で実施した例はなく、今後、検査の迅速化並びにスクリーニング検査等、補助診断として活用が期待される。