Astrowirusy u drobiu

ANNA JACUKOWICZ, KATARZYNA DOMAŃSKA-BLICHARZ

Zakład Chorób Drobiu, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach,
Al. Partyzanów 57, 24-100 Puławy

Otrzymano 13.10.2016

Zaakceptowano 09.03.2017

Jacukowicz A., Domańska-Blicharz K.

Astroviruses in poultry

Summary

Astroviruses are small, round, nonenveloped viruses with star-like morphology and a diameter of 25-35 nm, and their genome constitutes linear, positive-sense ssRNA of about 7 kb of size. Astroviruses are known to cause enteritis in humans, as well as in different animal species, including sheep, cattle, swine, dogs, cats and mice. In poultry, they cause enteritis combined with growth depression and higher mortality, but may also cause other pathological conditions. Duck astrovirus (DAsV) infections trigger hepatitis with a high morbidity and mortality of ducklings. Infections of chickens with avian nephritis virus (ANV) cause diarrhea, growth retardation, kidney damage and gout, resulting in increased mortality. Recently, another member of this group, chicken astrovirus (CAsV), has been described as the etiological factor of “white chicks” condition. Astroviruses have also been detected in domestic geese, guinea fowl, pigeons and different species of wild aquatic birds, and all of them belong to the Astroviridae family, the Avastrovirus genus. Initially, they were further divided into separate species, depending on their host of origin. According to these criteria, six different astroviruses were identified in avian species – in turkeys: turkey astrovirus type 1 (TAsV-1) and type 2 (TAsV-2), in chickens: ANV and chicken astrovirus, and in ducks: DAsV type 1 (DAsV-1) and type 2 (DAsV-2). However, since astroviruses can be transmitted between different species, this classification was replaced with one based on the amino acid structure of viral capsid protein. Currently, astroviruses detected in avian species are classified into three official avastrovirus species: 1, 2, and 3. This review presents data on the replication, pathogenesis, and diagnosis of astroviruses, as well as on the control and prevention of astrovirus infection.

Keywords: astroviruses, poultry, characterization, pathogenesis, diagnosis, prevention, control

Historia badań nad astrowirusami jest dość krótka. Po raz pierwszy zidentyfikowano je w 1975 r. za pomocą mikroskopu elektronowego w kale dzieci z problemami żołądkowo-jelitowymi (1). Od tamtej pory pojawiło się wiele doniesień na temat udziału astrowirusów w niezżytach jelit u ludzi, głównie niemowląt i małych dzieci. Uważa się nawet, że u ludzi astrowirusy to drugi po zakażeniach rotawirusowych etiologiczny czynnik wirusowy stanów patologicznych jelit (enteropatii) (17). Astrowirusy rozpoznano również u innych gatunków zwierząt, takich jak: owce, krowy, świnie, psy, indyki, kurczęta, jelenie, koty, myszy i norki (3, 7, 30).

W awiopatologii pierwszy kliniczny opis choroby wywołanej przez astrowirusy ukazał się w 1965 r. Choroba wystąpiła w Wielkiej Brytanii w latach 1963-1968 w stadach 2-6-tygodniowych kaczek, u których obserwowano ostre zapalenie wątroby prowadzące do wysokich upadków, sięgających 25-50% stada. Aby odróżnić wirusa wywołującego tę chorobę od czynnika etiologicznego klasycznego zapalenia wątroby kaczek, nazwano go wirusem zapalenia wątroby kaczek typu 2 (duck hepatitis virus 2 – DHV-2) i sklasyfikowano jako pikornawirus (2). Dopiero badania za pomocą mikro-

skopu elektronowego wykazały jego „astropodobną” morfologię, a konsekwencją była zmiana nazwy na astrowirus kaczki typu 1 (duck astrovirus 1 – DAsV-1) (13). Nieco później, bo w 1976 r. w literaturze światowej pojawiły się opisy kolejnej choroby, której, jak się później okazało, czynnikiem etiologicznym również jest astrowirus. Tym razem choroba pojawiła się w stadach kurcząt brojlerów w Japonii, u których obserwowano niewielkie zahamowanie wzrostu i osowienie ptaków, niekiedy także śmiertelność, a zmiany anatomopatologiczne dotyczyły głównie nerek. Wyizolowany z tych przypadków wirus nazwano wirusem zapalenia nerek (avian nephritis virus – ANV) i podobnie jak wcześniej DHV-2 zaklasyfikowano do rodziny *Picornaviridae*, rodzaju *Enterovirus*. Wykonana w 2000 r. szczegółowa analiza genomu wykazała jednak przynależność ANV do rodziny *Astroviridae* (14).

Pierwsze doniesienia o udziale astrowirusów w stanach patologicznych jelit u drobiu pojawiły się w latach 80. ubiegłego wieku i dotyczyły indyków. Indyczy astrowirus (turkey astrovirus – TAsV) po raz pierwszy został opisany przez McNulty i wsp. (19) w 1980 r. w Wielkiej Brytanii u indyków z objawami ostrej biegunki. Z kolei

w 2000 r. w USA od indyków, u których obserwowano biegunkę i podwyższoną śmiertelność, zidentyfikowano wirusa antygenowo i genetycznie odmiennego od wcześniej wykrytego w Wielkiej Brytanii. Aby je odróżnić, zaczęto stosować nazwę astrowirus indyczy typu 1 oraz 2 (TAsTV-1 i TAsTV-2). Natomiast w kale kurcząt „astropodobne” wirusy po raz pierwszy zaobserwowano w latach 90. (18). Od tamtej pory pojawiło się wiele publikacji opisujących astrowirusy kurze i przez analogię do indyczych stosuje się określenie astrowirus kurzy (chicken astrovirus – CAsTV).

Uważa się, że zakażenia astrowirusowe u większości gatunków zwierząt wywołują enteropatie raczej o łagodnym przebiegu, natomiast u drobiu choroby mają zwykle cięższą postać, czasami prowadzącą do padnięć zwierząt. Z jednej strony, może to wynikać z większej wrażliwości kur i indyków na infekcje astrowirusami, z drugiej zaś, być konsekwencją znacznej intensyfikacji chowu drobiu i występującej na tym tle immunosupresji. Sprzyja to pojawianiu się stresu u zwierząt, obniżeniu ich odporności, a w efekcie szybkemu i masowemu zakażeniu. Pojawiające się w wielkotowarowych hodowlach enteropatie powodują duże straty ekonomiczne z powodu zwiększonej śmiertelności, zmniejszonych przyrostów masy ciała, zwiększonych kosztów leczenia i zwiększonego wskaźnika wykorzystania paszy.

W terminologii drobiarskiej funkcjonuje kilka określeń opisujących stany patologiczne jelit. U indyków najczęściej spotykanym jest zespół zapalenia jelit indycząt (poult enteritis complex/syndrome – PEC/PES). Termin ten opisuje powodującą duże straty ekonomiczne chorobę manifestującą się głównie biegunką, osowieniem i osłabieniem ptaków, a w konsekwencji zahamowaniem rozwoju ptaków i zwiększonym współczynnikiem zużycia paszy. Ostatnio pojawiło się w literaturze kolejne określenie – zespół lekkich indycząt (light turkey syndrome – LTS). Podobnie jak PEC, zespół ten również charakteryzuje się biegunką i ogólnym osłabieniem ptaków, jednak jego stosowanie ma na celu podkreślenie faktu osiągania mniejszej masy ciała w końcowym okresie odchowu w porównaniu do normatywnych. Przyjmuje się, że występowanie enteropatii u ptaków w młodym wieku (3-4 tyg.) stwarza dogodne warunki do rozwoju LTS u starszych osobników (20). Chorobę o nasilonym przebiegu, kiedy oprócz ww. objawów obserwuje się również zwiększone upadki, określa się jako zespół śmiertelności na tle zapalenia jelit indycząt (poult enteritis mortality syndrome – PEMS). Z kolei u kurcząt do opisu zespołów chorobowych związanych z enteropatiami, stosuje się wymiennie nazwy: zespół zahamowania wzrostu (runting stunting syndrome – RSS) i zespół złego wchłaniania (malabsorption syndrome – MAS).

Taksonomia i charakterystyka

Przez wiele lat obowiązywał podział taksonomiczny rodziny *Astroviridae* różnicujący astrowirusy w zależności od ich źródła pochodzenia. I tak, w jej obrębie wyróżniono dwa rodzaje: *Avastrovirus* grupujący astrowirusy zidentyfikowane u ptaków oraz *Mamastrovirus*

– zidentyfikowane u ssaków. Z kolei w ramach każdego rodzaju znajdowały się wirusy pochodzące od poszczególnych gatunków zwierząt. W obrębie *Mamastrovirus* wyróżniono 6 astrowirusów – bydłęcy, koci, ludzki, świński, owczy oraz norek. Z kolei do *Avastrovirus* należały 3 astrowirusy – kurzy, indyczy oraz kaczy. W ramach poszczególnych gatunków wyróżniano różne typy astrowirusów. Sześć astrowirusów ptaków miało następującą przynależność taksonomiczną: w obrębie astrowirusów indyczych wyróżniono dwa typy, TAsTV-1 i TAsTV-2, w obrębie astrowirusów kurzych również dwa typy, tj. ANV i CAsTV, natomiast astrowirusy kacze dzieliły się na DAsTV-1 i DAsTV-2. Błyskawiczny postęp technik biologii molekularnej w ostatnich latach umożliwił identyfikację nowych astrowirusów, zarówno u ludzi, jak i u różnych gatunków zwierząt oraz potwierdził ich ogromną różnorodność. Z drugiej strony, pojawiły się dowody, że astrowirusy mają zdolność przekraczania barier gatunkowych i dość łatwo adaptują się do organizmu nowego gospodarza. Fakty te wykazały archaiczność stosowanej klasyfikacji i zrodziły potrzebę ustanowienia nowego kryterium podziału taksonomicznego astrowirusów. Powołana w ramach Międzynarodowego Komitetu ds. Taksonomii Wirusów (International Committee on Taxonomy of Viruses – ICTV) Grupa Badań Astrowirusów (*Astroviridae* Study Group) jako kryterium klasyfikacji rodziny *Astroviridae* zaproponowała budowę białka kapsydu wirusowego (5). Według klasyfikacji uwzględniającej to kryterium wyróżniono 19 gatunków w obrębie *Mamastrovirus* oraz trzy gatunki w obrębie rodzaju *Avastrovirus*. Nazwy gatunków w obu rodzajach astrowirusów oznaczono kolejnymi cyframi arabskimi. Należy zauważyć, że wyodrębnione według poprzedniej taksonomii różne typy astrowirusów indyczych znalazły się w każdym z trzech nowo wyodrębnionych gatunków aktualnego podziału taksonomicznego *Avastrovirus*, natomiast CAsTV, ze względu na brak dostępnej sekwencji wirusowego kapsydu bądź tylko niewielkiej jego części określa się jako „wirus spokrewniony, który może być sklasyfikowany do rodzaju *Avastrovirus*, lecz nie zakwalifikowany do żadnego gatunku” (related viruses which may be members of the *Avastrovirus* genus but have not been approved as species).

Astrowirusy mają kształt kulisty o średnicy 25-35 nm i nie posiadają dodatkowej białkowo-lipidowej otoczki. W mikroskopie elektronowym wirion ma charakterystyczny wygląd pięcio- lub sześcioramienną gwiazdy (stąd nazwa *astro* – gr. gwiazda). Należy dodać, że charakterystyczny „astropodobny” kształt zależy od pH środowiska i posiada go ok. 10% populacji astrowirusów w danym środowisku. Ta właściwość wirusa była przyczyną pomyłek przy identyfikacji w mikroskopie elektronowym, stąd tak częsta nieprawidłowa jego klasyfikacja do rodziny *Picornaviridae*, rodzaju *Enterovirus*. Brak otoczki wirusowej sprawia, że astrowirusy są niezwykle odporne na inaktywację chemiczną i fizyczną: kwaśne pH, chloroform, różne detergenty, podwyższona temperatura, rozpuszczalniki organiczne, a także alkohole nie eliminują wirusów ze środowiska.

Inaktywują je formaldehyd, β -priopiolakton, 90% metanol oraz środki dezynfekcyjne zawierające sole kwasu wodorosulfonowego. Astrowirusy indyków zachowują infekcyjność po przechowywaniu przez kilka tygodni w temperaturze 4°C (25).

Genom wirusa stanowi jednoniciowa cząsteczka RNA o dodatniej polarności, długości 6,8-7,9 kpz. W obrębie genomu wyróżniamy po obu stronach regiony nieulegające translacji (untranslated regions – UTR), trzy otwarte ramki odczytu (open reading frame – ORF), tj. ORF1a, ORF1b, ORF2 oraz ogonek poliA (25). Długości wszystkich ORF różnią się u różnych szczepów AstV, przy czym największe zmiany długości, spowodowane insercjami i/lub delecjami obserwowane są w obrębie ORF1a (24).

Charakterystyka molekularna różnych astrowirusów ptasich wskazuje na ich ogromną zmienność genetyczną, co z kolei utrudnia wykrywanie tych wirusów metodami serologicznymi i molekularnymi. Dotychczas zarówno w obrębie ANV, jak i TAstV-2 zidentyfikowano dwa serotypy, ale prawdopodobnie istnieje ich więcej (32). Wśród przyczyn tak dużego zróżnicowania genetycznego i antygenowego pomiędzy astrowirusami drobiu wymienia się właściwości enzymu polimerazy RNA (brak właściwości naprawczych), mechanizm „obrony” wirusa przed układem immunologicznym gospodarza oraz zjawisko rekombinacji przy zakażeniu kilkoma astrowirusami jednego gospodarza. Fakt dużej zmienności sekwencji nukleotydowej, nawet regionu ORF1b, który uznawany jest za najbardziej konserwatywny, podkreśla problemy diagnostyczne w prawidłowej identyfikacji astrowirusów (11). Aby w sposób całkowicie wiarygodny zidentyfikować przynależność taksonomiczną wirusa, należałoby zsekwencjonować cały jego genom, co ze względu na koszt oraz wspomnianą już zmienność wirusa nie jest często stosowane.

Zakres gospodarzy

Przez długi czas uważano, że poszczególne gatunki zwierząt są wrażliwe jedynie na wybrane astrowirusy. Taki pogląd odzwierciedlały również przyjęte kryteria poprzednio obowiązującej taksonomii astrowirusów, w licznie prowadzonych badaniach coraz częściej identyfikowano jednak zakażenia astrowirusami, które dotychczas uważano za gatunkowo specyficzne również w organizmach innych gospodarzy.

Indyki wrażliwe są głównie na zakażenia dwoma typami astrowirusów – TAstV-1 i TAstV-2. Oba te wirusy zidentyfikowano w latach 80. i 90. zarówno w Europie, jak i USA, przy czym wydaje się, że TAstV-2 występuje powszechniej niż TAstV-1 (15). TAstV wykrywano zarówno u indyków dorosłych, jak i młodych, przy czym wrażliwość na zakażenie wydaje się wiekowo zależna, gdyż obecności wirusa u ptaków w wieku 1-5 tygodni najczęściej towarzyszyły objawy kliniczne enteropatii. Nieco później zaczęły pojawiać się informacje o wrażliwości tego gatunku również na zakażenia ANV. W 1988 r. wykryto obecność przeciwciał przeciwko temu wirusowi w stadach indyków w Wielkiej Brytanii oraz 12 lat później w Japonii, co wskazywało na szerokie

rozprzestrzenienie ANV (21). W późniejszym czasie wykryto także wirusowe RNA przy użyciu technik biologii molekularnej w treści jelit zdrowych i chorych ptaków w USA i w Polsce, jednak występowanie ANV u tego gatunku wydaje się okazjonalne (12, 22). U kur identyfikuje się najczęściej ANV i CAsTV. Pierwotnie ANV wykryto u kurcząt klinicznie zdrowych, jednak późniejsze badania eksperymentalne wykazały, że zakażenie tym wirusem wywołuje różne objawy, począwszy od subklinicznych, poprzez objawy typowe dla RSS/MAS, niewielkie zahamowanie wzrostu, do choroby przebiegającej ze znaczną śmiertelnością. Najbardziej wrażliwe na zakażenie ANV są młode kurczęta w pierwszym miesiącu życia. Natomiast drugi z astrowirusów identyfikowanych u kur, CAsTV, jest dotychczas najmniej poznany astrowirusem. Najprawdopodobniej wynika to z faktu dużego zróżnicowania tych wirusów, co utrudnia ich diagnostykę. Wstępne badania wskazują na istnienie wielu serotypów CAsTV (24).

Kolejne badania wykazały, iż astrowirusy wykrywane u drobiu grzebiącego mają szerszy zasięg gospodarzy. Obecność ANV odnotowano również w zamarłych zarodkach kaczek i gęsi (4), gołębi (16) i perliczek (6). Zakażenia CAsTV identyfikowano w stadach indyczych w Wielkiej Brytanii. Obecność materiału genetycznego wirusów podobnych do TAstV-2 wykryto również u perliczek we Włoszech, natomiast TAsTV-1 w zamarłych zarodkach kaczek i gęsi (6-8), przy czym należy podkreślić, że w większości tych badań diagnostykę zakażeń AstV prowadzono przy użyciu metod molekularnych ze starterami ukierunkowanymi na wykrywanie konserwatywnych fragmentów genomu, najczęściej replikazy wirusowej. Natomiast w myśl aktualnie obowiązującej taksonomii o przynależności do poszczególnego gatunku decyduje analiza budowy kapsydu, tak więc wydaje się, że w części tych badań wykryte wirusy należałoby określić jako „wirus spokrewniony, który może być sklasyfikowany do rodzaju *Avastrovirus*, lecz nie zatwierdzony do żadnego gatunku”. Wykrywanie i sekwencjonowanie tego fragmentu genomu ze względu na jego zmienny charakter jest znacznie utrudnione (brak uniwersalnych starterów).

Transmisja astrowirusów

Astrowirusy łatwo rozprzestrzeniają się przez kontakt bezpośredni lub pośredni. Rozprzestrzenianie poziome odbywa się głównie drogą pokarmową, jednakże nie można wykluczyć transmisji za pośrednictwem układu oddechowego czy też rozrodczego (24). Do zakażenia wirusem dochodzi najczęściej w wyniku kontaktu z chorymi ptakami. Utrzymywanie na fermie zakażonej różnych grup wiekowych sprzyja wydłużaniu okresu słabej produktywności, ponieważ starsze ptaki ozdrowieńcy, nie wykazujące już objawów chorobowych, nadal wydają wirus. W takiej wielowiekowej fermie, u nowo wstawionych indycząt, w „oczyszczonym” budynku może wystąpić enteropatia na tle zakażeń astrowirusami. Poziomemu rozprzestrzenianiu się astrowirusów sprzyja fakt ich dużej oporności na inaktywację fizyczną i chemiczną, co skutkuje długotrwałym utrzymywaniem się

wirusa w środowisku i możliwością zakażenia młodych ptaków w obiekcie po niewłaściwej dezynfekcji (31). Ostatnie badania wskazują, że astrowirusy przenoszą się także drogą pionową (27).

Patogeneza zakażeń AstV

Objawy kliniczne towarzyszące zakażeniom TAsTV zwykle pojawiają się u młodego drobiu, pomiędzy 1.-3. tygodniem życia i utrzymują się przez 10-14 dni. Najczęściej u zakażonych indyków obserwuje się osowienie, niepokój, zjadanie ściółki, przemijającą biegunkę i obniżenie tempa przyrostu masy ciała (26, 31). Sekcyjnie stwierdza się odwodnienie, powiększone i przekrwione jelita cienkie wypełnione wodnistą treścią oraz niestrawionymi resztkami pokarmowymi, a także rozszerzone jelita ślepe, wypełnione spienioną, żółtawą treścią (25). W obrazie mikroskopowym jelit ślepych obserwuje się hiperplazję krypt oraz nacieki limfocytarne. W odróżnieniu do innych wirusów jelitowych, TAsTV nie powodują zaniku kosmków. W trzustce, wątrobie, śledzionie i nerkach obserwuje się również niewielkie nacieki limfocytarne (23). U ptaków zakażonych TAsTV-2 stwierdzano także łagodną atrofię grasicy i bursy Fabrycjusza. Zmiany w tych immunokompetentnych narządach mogą wynikać z immunosupresyjnego działania astrowirusów bądź z niedoboru składników żywieniowych powstałych jako konsekwencja zaburzeń w trawieniu i wchłanianiu przez uszkodzone jelita (22).

Generalnie, zakażenia ANV powodują zmiany w nerkach, chociaż antygen wirusowy wykrywano również w wątrobie, śledzionie, trzustce, jelicie czczym i końcowym (28). U sekcjonowanych ptaków stwierdzano odbarwienia i obrzęk nerek oraz trzewną postać skazy mocznicowej. Obserwowane zmiany mikroskopowe w nerkach to martwica i zwyrodnienie komórek nabłonka bliższej części kanalików krętego, z wyraźnym naciekiem granulocytów. Towarzyszą temu ponadto śródmiąższowe nacieki komórkowe i niewielkie zmiany włóknikowe. Odmianą patogenności i tropizmu tkankowy wykazywał belgijski izolant ANV PV2. Po eksperymentalnym zakażeniu powodował on wyraźne zahamowanie rozwoju kurcząt i długotrwałe zmiany w jelitach, trzustce i żołądku gruczołowym, nie obserwowano zaś zmian w nerkach (9). W ostatnim czasie u kurcząt i indyków z objawami RSS i/lub kulawizn zidentyfikowano nowy szczep ANV (33). Wirus zwany ANV 19 powodował biegunkę, zapalenie pochewek ścięgien i kłopoty lokomotoryczne u 3-tygodniowych kur niosek.

Zakażenie eksperymentalne 1- i 5-dniowych kurcząt izolatami CAsTV objawiało się średnio nasiloną biegunką bez zmian histopatologicznych w wątrobie, nerkach, śledzionie, grasicy i bursie Fabrycjusza. W kilku przypadkach u zakażonych ptaków odnotowano niewielkie uszkodzenia u podstawy kosmków w jelicie cienkim (3). Zakażenie eksperymentalne izolatami 612 CAsTV 1-dniowych piskląt brojlerów kurzych z przeciwciałami matczynymi powodowało jedynie zahamowanie rozwoju, natomiast u 1-dniowych piskląt SPF obserwowano niewielkie zmiany histopatologiczne w jelitach i wątro-

bie oraz nieznaczne zmiany w nerkach (29). Podobne doświadczenie przeprowadzone z użyciem szczepu CAsTV FP3 genetycznie i antygenowo odmiennego od szczepu 612 u 1-dniowych brojlerów kurzych nie skutkowało żadnymi zmianami klinicznymi, natomiast u 1-dniowych piskląt SPF wywoływało zmiany histopatologiczne w nerkach, trzustce i jelitach. W warunkach terenowych zakażenie u kurcząt brojlerów ma najczęściej przebieg subkliniczny. Wówczas w zakażonym stadzie objawy kliniczne ograniczają się u części ptaków do przejściowej biegunki w pierwszym tygodniu życia. W ostatnim czasie opisano chorobę „białych piskląt”, a jej objawy to białe upierzenie niektórych piskląt, a także zwiększona zamieralność zarodków. Podczas sekcji padłych zarodków/piskląt obserwowano podskórny obrzęk oraz zmiany w wątrobie, która była zielonkawa i/lub cętkowana (27).

Diagnostyka zakażeń AstV

Objawy kliniczne nie są patognomoniczne i nie można zatem na ich podstawie określić, czy mamy do czynienia z zakażeniem astrowirusem. Podobne objawy kliniczne/zmiany histopatologiczne w nerkach u kurcząt mogą powodować zakażenia ANV, IBV oraz CAsTV, dlatego ostateczne rozpoznanie postawić można jedynie na podstawie badań laboratoryjnych. W badaniach astrowirusów wykorzystuje się mikroskop elektronowy (ME), metody serologiczne i molekularne, tj. konwencjonalne oraz w czasie rzeczywistym RT-PCR, a także metody wirusologii klasycznej – izolację na zarodkach i w hodowli komórkowej (25).

Odróżnienie astrowirusów od innych wirusów bytujących w przewodzie pokarmowym w ME opiera się głównie na określeniu ich cech morfologicznych, a struktura „gwiazdy” astrowirusów zależna jest od pH, co w pewnych sytuacjach może prowadzić do błędnej interpretacji. W literaturze światowej jest kilka doniesień opisujących zastosowanie metod serologicznych do diagnostyki zakażeń AstV, m.in. AC-ELISA wykrywające antygeny TAsTV-1 i TAsTV-2 w próbkach homogenatów jelit, ELISA do wykrywania przeciwciał ANV i CAsTV (10). Pomimo niskich kosztów i łatwości wykonania, brak do tej pory na rynku komercyjnego testu ELISA. Powodem takiego stanu rzeczy wydaje się duże zróżnicowanie antygenowe astrowirusów, a co za tym idzie, różnorodność indukowanych przez nie przeciwciał. W diagnostyce astrowirusów używano także testu immunofluorescencji do wykrywania ANV (25). Kamieniem milowym w diagnostyce zakażeń astrowirusowych okazały się metody biologii molekularnej. Dzięki zastosowaniu metody RT-PCR, zarówno konwencjonalnej, jak i w czasie rzeczywistym, wykrywanie wirusa stało się prostsze i tańsze. Zaletami metod biologii molekularnej są ich wysoka czułość i krótki czas badania. Dodatkowo produkty PCR mogą być zsekwencjonowane i wykorzystane do analizy pokrewieństwa filogenetycznego. Metodami tymi mogą być badane różne matryce, zarówno tkanki pobrane od zakażonych ptaków, jak i wymazy kałowe czy kał. Dzięki zastosowaniu różnych zestawów i starterów specyficznych dla odmiennych regionów/

genów wirusowych możliwa jest identyfikacja wielu gatunków/typów AstV (25).

TAsTV dosyć dobrze namnażają się w 20-dniowych indyckich zarodkach zakażonych dożółtkowo lub w 24-25-dniowych zakażonych do worka owodniowo-omocznioowego, jednak próby namnażania TAsTV w hodowlach komórkowych zakończyły się niepowodzeniem (25). Kurze astrowirusy replikują się natomiast w hodowli komórek wątroby i fibroblastach zarodków kurzych lub linii ciągłej LMH oraz w zarodkach kurzych zakażonych dożółtkowo. ANV namnaża się w hodowli komórek nerki kurcząt i w zarodkach (25).

Zwalczanie i zapobieganie

Brak jest informacji odnośnie do szczepionek, środków dezynfekcyjnych czy innych środków, które byłyby skuteczne w zapobieganiu i/lub zwalczaniu zakażeń powodowanych przez astrowirusy. Opracowanie szczepionki jest uzależnione od możliwości namnożenia wirusa w hodowlach komórkowych lub tkankowych. Z drugiej strony, w związku z niepowodzeniami w namnożeniu AstV w hodowli komórkowej Sellers i wsp. (28) opracowali produkcję zrekombinowanych białek kapsydu astrowirusa w systemie ekspresyjnym bakulowirusa. Oczyszczone białka wirusowe zastosowano jako szczepionkę u kur w stadach rodzicielskich brojlerów, w celu wytworzenia specyficznych przeciwciał matczynych do ochrony potomstwa. Obecność specyficznych przeciwciał monitorowano metodą ELISA. Potomstwo zaszczepionych kur uzyskało częściową ochronę podczas eksperymentalnie wywołanego RSS, co stanowi pozytywne rokowania dla dalszych badań nad szczepionką.

Ogólnie, zaleca się przestrzeganie właściwej higieny produkcji, w której zapewnione są dobre warunki środowiskowe i higiena żywienia oraz stosowanie wzmożonego reżimu bioasekuracji, kładąc nacisk na bardzo dokładne oczyszczanie i skuteczną dezynfekcję. Astrowirusy są bardzo stabilne w środowisku i odporne na inaktywację przez większość rutynowo stosowanych środków dezynfekcyjnych. Utrzymywanie na fermie różnych grup wiekowych sprzyja przedłużaniu okresu obniżonej produktywności, ponieważ starsze ptaki ozdrowieńcy niewykazujące już objawów chorobowych nadal wydalają wirusy.

Piśmiennictwo

1. Appleton H., Higgins P.: Letter: Viruses and gastroenteritis in infants. *Lancet* 1975, 1, 1297.
2. Asplin F. D.: Duck Hepatitis. *Vet. Rec.* 1965, 77, 487-489.
3. Baxendale W., Mebatsion T.: The isolation and characterisation of astroviruses from chickens. *Avian Pathol.* 2004, 33, 364-370.
4. Bidin M., Lojic I., Bidin Z., Tislar M., Majnaric D., Mikec M.: Detection and characterisation of avian nephritis virus in ducklings. *Avian Pathol.* 2011, 40, 173-177.
5. Bosch A., Geux S., Krishana N. K., Mendez E., Monroe S. S., Pantin-Jackwood M., Schultz-Cherry S.: Family astroviridae, [w:] King A. M. Q., Adams M. J., Carstens E. B., Lefkowitz E. J. (ed.): *Virus taxonomy: ninth report of the international committee on taxonomy of viruses*. Elsevier Inc., London 2012, 953-959.
6. Canelli E., Cirdioli P., Barbieri I., Catella A., Pennelli D., Ceruti R.: Astroviruses as a causative agents of poultry enteritis: genetic characterisation and longitudinal studies on field conditions. *Avian Dis.* 2012, 56, 173-182.

7. Cattoli G., De Battisti C., Toffan A., Salviato A., Lavazza A., Cerioli M., Capua I.: Co-circulation of distinct genetic lineages of astroviruses in turkeys and guinea fowl. *Arch. Virol.* 2007, 152, 595-602.
8. Cattoli G., Toffan A., De Battisti C., Salviato A., Terregino C., Capua I.: Astroviruses found in the intestinal contents of guinea fowl suffering from enteritis. *Vet. Rec.* 2005, 156, 220-225.
9. Decaesstecker M., Charlier G., Peeters J., Meulemans G.: Pathogenicity of fowl enteroviruses. *Avian Pathol.* 1989, 18, 697-713.
10. Decaesstecker M., Meulmans G.: An ELISA for the detection of antibodies to avian nephritis virus and related entero-like viruses. *Avian Pathol.* 1991, 20, 523-530.
11. Domanska-Blicharz K., Jacukowicz A., Bocian L., Minta Z.: Astroviruses in Polish commercial turkey farms in 2009-2012. *Avian Dis.* 2014, 58, 158-164.
12. Domanska-Blicharz K., Seroke A., Minta Z.: One-year molecular survey of astrovirus infection in turkeys in Poland. *Arch. Virol.* 2011, 156, 1065-1072.
13. Gough R. E.: Laboratory confirmed outbreaks of duck virus enteritis (duck plague) in the United Kingdom from 1977 to 1982. *Vet. Rec.* 1984, 114, 262-265.
14. Imada T., Yamaguchi S., Mase M., Tsukamoto K., Kubo M., Morooka A.: Avian nephritis virus (ANV) as a new member of the family Astroviridae and construction of infectious ANV cDNA. *J. Virol.* 2000, 18, 8487-8493.
15. Koci M. D., Schultz-Cherry S.: Avian astroviruses. *Avian Pathol.* 2002, 31, 213-227.
16. Kofstad T., Jonassen C.: Screening of feral and wood pigeons for viruses harbouring a conserved mobile viral element: characterization of novel astroviruses and picornaviruses. *PLoS One* 2011, 6:e25964.
17. Matsui S. M., Angel J.: Viral infections of the gastrointestinal tract. *Curr. Opin. Gastroen.* 1997, 13, 57-63.
18. McNeilly F., Connor T. J., Calvert V. M., Smyth J. A., Curran W. L., Morley A. J.: Studies on a new enterovirus-like virus isolated from chickens. *Avian Pathol.* 1994, 23, 313-327.
19. McNulty M. S., Curran W. L., McFerran J. B.: Detection of astroviruses in turkey faeces by direct electron microscopy. *Vet. Rec.* 1980, 106, 561.
20. Mor S. K., Sharafeldin T. A., Abin M., Kromm M., Porter R. E., Goyal S. M., Patnayak D. P.: The occurrence of enteric viruses in Light Turkey Syndrome. *Avian Pathol.* 2013, 42, 497-501.
21. Nicholas R. A., Goddard R. D., Luff P. R.: Prevalence of avian nephritis virus in England. *Vet. Rec.* 1988, 123, 398.
22. Pantin-Jackwood M. J., Day J. M., Jackwood M. W., Spackman E.: Enteric viruses detected by molecular methods in commercial chicken and turkey flocks in the United States between 2005 and 2006. *Avian Dis.* 2008, 52, 235-244.
23. Pantin-Jackwood M. J., Spackman E., Day J. M.: Pathogenesis of type 2 turkey astroviruses with variant capsid genes in 2-day-old specific pathogen free poults. *Avian Pathol.* 2008, 37, 193-201.
24. Pantin-Jackwood M. J., Todd D., Koci M. D.: Avian Astroviruses, [w:] Schultz-Cherry S. (ed.): *Astrovirus Research*. Springer, Amsterdam 2013, s. 151-180.
25. Reynolds D. L., Schultz-Cherry S.: Astrovirus Infections, [w:] Saif Y. M. (ed.): *Diseases of Poultry*. Blackwell Publishing Professional, Ames Iowa 2008, s. 351-355.
26. Reynolds D. L., Saif Y. M.: Astrovirus: a cause of an enteric disease in turkey poults. *Avian Dis.* 1986, 30, 728-735.
27. Sajewicz-Krukowska J., Pać K., Lisowska A., Pikula A., Minta Z., Króliczewska B., Domańska-Blicharz K.: Astrovirus-induced "white chicks" condition – field observation, virus detection and preliminary characterization. *Avian Pathol.* 2016, 45, 2-12.
28. Sellers H., Linneman E., Icard A. H., Mundt E.: A purified recombinant baculovirus expressed capsid protein of a new astrovirus provides partial protection to runting-stunting syndrome in chickens. *Vaccine* 2010, 28, 1253-1263.
29. Shirai J., Uramoto T., Narita K., Nakamura K., Kavamura H.: Pathologically and serologically different avian nephritis virus isolates implicated in etiology of baby chick nephropathy. *Avian Dis.* 1992, 36, 369-377.
30. Smit S. L., van Leeuwen M., Kuiken T., Hammer A. S., Simon J. H., Osterhaus A. D.: Identification and characterization of deer astroviruses. *J. Gen. Virol.* 2010, 91, 2719-2722.
31. Smyth V. J., Jewhurst H., Adair B. M., Todd D.: Detection of chicken astrovirus by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Avian Pathol.* 2009, 38, 293-299.
32. Strain E., Kelly L. A., Schultz-Cherry S., Muse S., Koci M.: Genomic analysis of closely related astroviruses. *J. Virol.* 2008, 82, 5099-5103.
33. Wit J. J. de, Dam G. B., de Laar J. M., Biermann Y., Versteegen I., Edens F., Schrier C. C.: Detection and characterization of a new astrovirus in chicken and turkeys with enteric and locomotion disorders. *Avian Pathol.* 2011, 40, 453-461.

Adres autora: dr hab. Katarzyna Domańska-Blicharz, prof. nadzw., Al. Partyzanów 57, 24-100 Puławy; e-mail: domanska@piwet.pulawy.pl