

2 甲 殼 類

(1) イエローヘッド病
Yellow head disease (YHD)

担当	検査チャート
都道府県	<pre> graph TD A["(1)疫学調査"] --- J1(()) B["(2)臨床検査"] --- J1 J1 --- C["(3)剖検"] C --- D["(4)①RT-PCR 検査"] D --- E(()) E --- F["(一)"] E --- G["(+、±)"] F --- H["判定 －"] G --- I["(4)②Nested-PCR 検査 および配列解析"] I --- J(()) J --- K["(+) 判定 ＋"] J --- L["(一) 判定 －"] </pre>
水産技術研究所	(一) (4)②Nested-PCR 検査 および配列解析 (+) (一)
判定	－ ＋ －
その他	国内で発生が疑われる事例が確認された場合は、別途、病理組織の観察を行うことが望ましい。

疾病名：イエローヘッド病

Yellow head disease (YHD)

病原体：Yellow head virus (YHV genotype 1)(ロニウイルス科 オカウイルス属)

(1)疫学調査

- ①宿主域：自然感染は、主にウシエビ(ブラックタイガー)(*Penaeus monodon*)で、その他、クルマエビ(*P. japonicus*)、テンジクエビ(バナナエビ)(*P. merguensis*)、ホワイシユリンブ(*P. setiferus*)、ヨシエビ(*M. ensis*)等で報告されている。実験感染では、シロアシエビ(ホワイシユリンブ、バナマイエビ)(*P. vannamei*)、ブルーシユリンブ(*P. stylirostris*)、ブラウンシユリンブ(*P. aztecus*)など多くのクルマエビ類等が感受性を示す。実験的に感染可能な宿主範囲は広いが、自然での発症はウシエビ(ブラックタイガー)(*P. monodon*)、バナマイエビ(*P. vannamei*)であるので、この種の移動には特に注意が必要である。
- ②発生地域：中国、インド、インドネシア、マレーシア、フィリピン、スリランカ、台湾、タイ、ベトナム
- ③感染ステージ：YHV は、ポストラーバ(PL)15 以降のものが感染しやすい。

(2)臨床検査

- ①全身の退色が認められる。
- ②数日間過剰な摂餌行動を示した後、摂餌不良となる。
- ③養殖池隅の水面近くを緩慢に遊泳する。
- ④肝臓の黄色化により頭胸部が薄黄色化を示す個体も認められる。

(3)剖検所見

重症のエビは体部が黄色味を帯びた白色を呈し、しばしば頭胸部が膨れる。鰓は白色あるいは薄黄色を呈し、時として肝臓も薄黄色化が認められる。

(4)診断法

①初動診断法：RT-PCR 検査

材料；新鮮な鰓あるいはリンパ様器官。

プライマー；

GY1：5'-GAC-ATC-ACT-CCA-GAC-AAC-ATC-TG-3'

GY4：5'-GTG-AAG-TCC-ATG-TGT-GTG-AGA-CG-3'

増幅産物サイズ；794bp

PCR 反応；抽出した核酸および対照 RNA をテンプレートとして、上記のプライマーセット(GY1/GY4)を用いて 1 ステップの RT-PCR 反応を行う(キット※用)。反応は、50℃で 30 分間逆転写反応後、94℃で 2 分間処理し、次いで PCR 反応として、95℃で 30 秒間、66℃で 30 秒間、68℃で 45 秒間を 35 サイクル、最後に 68℃で 7 分間。

②最終診断法：Nested-PCR 検査

i) 1st PCR；初動診断法と同じ。

ii) 2nd PCR

材料；(4)②i) 1st PCR の増幅産物

プライマー；

GY2：5'-CAT-CTG-TCC-AGA-AGG-CGT-CTA-TGA-3'

Y3 : 5'-ACG-CTC-TGT-GAC-AAG-CAT-GAA-GTT-3'

増幅産物サイズ ; 277bp

PCR 反応 ; 反応は、95℃で 15 分の後、95℃で 30 秒間、66℃で 30 秒間、72℃で 45 秒間を 35 サイクル行い、最後に 72℃で 7 分間。

増幅産物の配列解析を行い、遺伝子型を確認する。

(5)病理組織学的所見

本疾病に感染した場合、組織に強い壊死が散在し、核濃縮と核崩壊が認められる。

特にリンパ様器官、造血組織、鰓、皮下組織、筋肉、腸、生殖腺等外胚葉由来および中胚葉由来組織において、均一に濃く塩基性に染まる球状の直径 2μm 以下の細胞質内封入体が多数認められる。

(6)類似疾病検査

YHVはロニウイルス科オカウイルス属に分類される。イエローヘッド複合ウイルス群には、8つの遺伝子型が知られ、YHVは遺伝子型1であり、イエローヘッド病の病原体である。遺伝子型2であるGill-associated virus (GAV)およびその他4つの遺伝子型(3~6)は、東アジア、アジアおよびオーストラリアの健康なウシエビで一般的に検出されるが、イエローヘッド病とほとんど関連がない。遺伝子型7の病原性は不明である。遺伝子型8は病エビから検出されている。YHVとGAVは類似ウイルスであるが、RT-PCRにより区別できる。

また、病理所見がタウラ症候群 (Taura syndrome (TS))と類似しているが、RT-PCRによって区別できる。

(7)消毒

- ①60℃15 分の加熱処理で不活化される。
- ②30ppt(0.03mg/ml)の塩素処理で不活化される。

(8)その他

有効な予防、治療法は知られていない。

(2) 壊死性肝膵炎
Necrotising hepatopancreatitis (NHP)

担 当	検査チャート		
都 道 府 県	<pre> graph TD A["(1)疫学調査"] --- B["(2)臨床検査"] A --- B B --- C["(3)剖検"] C --- D["(4)①PCR検査"] D --- E["(+、±)"] D --- F["(-)"] </pre>		
水 産 技 術 研 究 所	<pre> graph TD G["(4)②リアルタイムPCR検査"] --- H["(+)"] G --- I["(-)"] </pre>		
判 定	<pre> graph TD J["(+)"] --- K["+"] L["(-)"] --- M["-"] </pre>		
その他			

疾病名：壊死性肝膵炎

Necrotising hepatopancreatitis (NHP)

病原体：*Hepatobacter penaei*, Necrotising hepatobacterium (NHPB)又は Rickettsial-like organism (RLO)(プロテオバクテリア門アルフォプロテオバクテリア綱の未分化の細菌)

(1)疫学調査

- ①本疾病は分離培養法が確立されていない細胞内寄生細菌である *Candidatus* *Hepatobacter penaei* に起因する。
- ②宿主域：ほとんどの *Penaeus* 属のエビは宿主になると思われるが、当該細菌に感受性が高いのは、バナメイエビ(*P. vannamei*)である。その他に、ブルーシュリンプ(*P. stylirostris*) ノースブラウンシュリンプ(*P. aztecus*)、ノーザンホワイット(*P. setiferus*)、*P. marginatus*、バナナエビ(*P. merguensis*)、ウシエビ(*P. monodon*)、ノーザンピンク(*P. duorarum*)についても感受性があると思われる。アメリカンロブスター(*Homarus americanus*)においては感染の確認はされていないが、PCRで陽性を示すことがある。
- ③発生地域：ベリーズ、ベネズエラ、ブラジル、コロンビア、コスタリカ、エクアドル、エルサルバドル、グアテマラ、ホンデュラス、メキシコ、ニカラグア、パナマ、ペルー、アメリカ合衆国
- ④*P. vannamei* では稚エビ、親エビの感染が報告されている。
- ⑤塩分濃度の上昇(約40ppt)変化や、30℃程度の高水温が持続すると発症しやすい。

(2)臨床検査

- ①緩慢な動き、摂餌量の減少、付着生物による甲殻のひどい汚れが認められる。
- ②食欲減退や成長不良、痩せ、甲殻の軟化が認められる。
- ③二次的な細菌の甲殻への感染が認められる。

(3)剖検所見

- ①消化盲嚢(肝膵臓)の萎縮が認められ、消化管は空で摂餌物がみられない。
- ②鰓の色の暗色化が認められる。

(4)診断法

- ①初動診断法：PCR 検査

材料；肝膵臓組織の抽出 DNA。

プライマー；

NHPF2: 5'-CGT-TGG-AGG-TTC-GTC-CTT-CAG-T-3'

NHPR2: 5'-GCC-ATG-AGG-ACC-TGA-CAT-CAT-C-3'

増幅産物サイズ；379 bp

PCR 反応；最初に 95℃で 5 分、次に 95℃で 30 秒、60℃で 30 秒、72℃で 30 秒を 35 サイクル、最後に 60℃で 1 分、72℃で 2 分間。

または

プライマー；

FlgE1143F: 5'-AGG-CAA-ACA-AAC-CCT-TG-3'

FlgE1475R: 5'-GCG-TTG-TTG-TTG-GGA-AAG-TT-3'

増幅産物サイズ ; 333 bp

PCR 反応 ; 最初に 95°Cで 5 分、次に 95°Cで 30 秒、62°Cで 30 秒、72°C
で 30 秒を 35 サイクル、最後に 72°Cで 5 分間。

②最終診断法 : リアルタイム PCR 検査

材料 ; 肝臓組織の抽出 DNA。

プライマー ;

NHP1300F: 5'-CGT-TCA-CGG-GCC-TTG-TAC-AC-3'

NHP1366R: 5'-GCT-CAT-CGC-CTT-AAA-GAA-AAG-
ATA-A-3'

TaqMan プローブ

NHP: 5'-FAM-CCG-CCC-GTC-AAG-CCA-TGG-AA-TAMRA-3'

増幅産物サイズ ; 67 bp

リアルタイム PCR 反応 ; 最初に 95°Cで 3 分、次に 95°Cで 15 秒、60°C
で 1 分を 40 サイクル。

または

プライマー ;

NHPFlgE3qF: 5'-AAC-ACC-CTG-TCT-CCC-CAA-TTC-3'

NHPFlgE3qR: 5'-CCA-GCC-TTG-GAC-AAA-CAC-CTT-3'

TaqMan プローブ

NHP: 5'-FAM-CGC-CCC-AAA-GCA-TGC-CGC-TAMRA-3'

増幅産物サイズ ; 63 bp

リアルタイム PCR 反応 ; 最初に 95°Cで20秒、次に 95°Cで 1 秒、60°C
で 20秒を 40 サイクル。

(5)病理組織学的所見

病気の進行により、発症期、急性期、移行期、慢性期の4つに分類される。感染初期を除いて通常のヘマトキシリン・エオシン染色で容易に診断可能である。標的臓器は肝臓である。

(感染初期)

感染初期では、PCRなど分子学的検索を用いた検出が診断には必要となる。

(急性期)

盲嚢管を構成する肝臓上皮細胞はやや萎縮し、肝臓上皮の壊死や管腔への脱落がみられる。上皮細胞内に細菌塊がみられ、盲嚢管を覆う結合組織に無数の浸潤細胞が集積し盲嚢管を蝸集する。蝸集像は多数みられ、多巣性を呈する。しかし、肝臓上皮内の脂肪滴の減少はない。

(移行期)

盲嚢管を覆う結合組織は無数の浸潤細胞で埋まり、肝臓全体が水腫状

を呈して、肝脾臓上皮細胞に壊死や脱落がみられ、盲嚢上皮は萎縮し、上皮細胞内の脂肪滴は著しく減少、上皮細胞高が低くなる。無数の細菌塊を持った肝脾臓上皮が高率で観察され、しばしば浸潤細胞が集積し、結節状を呈し、結節の中心にも細菌塊がみられる。

（慢性期）

肝脾臓は浸潤細胞の集積に置き換わり、水腫や多巣性の病巣は減る。細菌塊を含む細胞は顕著に減少し、線維化やメラニンの沈着が見られる。

〔6〕類似疾病検査

情報なし。

〔7〕消毒

文献情報はないが、本細菌は塩素剤等通常の消毒剤により不活化されと考えられる。

〔8〕その他

薬剤療法や免疫賦活剤の投与、選抜育種などの対策は報告されていない。

(3) タウラ症候群
Taura syndrome (TS)

担 当	検査チャート		
都 道 府 県	(1)疫学調査 (2)臨床検査 (3)剖検 (4)①RT－PCR検査 (＋、±) (－)		
水 産 技 術 研 究 所	(4)②RT－PCR検査 (＋) (－)		
判 定	＋	－	－
その他	病気を発症している場合は組織学的検査もあわせて行うことが望ましい。		

疾病名：タウラ症候群

Taura syndrome (TS)

病原体：Taura syndrome virus (TSV) (ジシストロウイルス科アパラウイルス属)

(1)疫学調査

- ①宿主域：主な自然感染宿主は、シロアシエビ（ホワイトレグシュリンプ、バナメイエビ）(*Penaeus vannamei*)である。ブルーシュリンプ(*P. stylirostris*)でも自然感染は報告されているが、感受性は低い。実験感染では、ウシエビ(ブラックタイガー)(*P. monodon*)、クルマエビ(*P. japonicus*)とコウライエビ(*P. chinensis*)、ノーザンホワイトシュリンプ(*P. setiferus*)、サウザンホワイトシュリンプ(*P. schmitti*)、ノーザンブラウンシュリンプ(*P. aztecus*)とノーザンピンクシュリンプ(*P. duorarum*)で認められている。
- ②発生地域：中南米諸国、アメリカ合衆国、インドネシア、タイ、マレーシア、中国、台湾
- ③当該種苗は上記の地域から輸入したものである。
- ④当該養殖場は過去に上記地域から種苗を導入したことがある。
- ⑤ポストラバ、稚エビから成エビまで感染するが、特に稚エビから未成エビでの感染が顕著である。

(2)臨床検査

- ①シロアシエビでは、0.05 g から 5 g 以下の稚エビで明らかな症状を示し、急性感染して高い死亡率をもたらす。
- ②症状は急性期、移行期、慢性期の3段階に分けられる。
- ③急性期及び移行期では、一般的に体全体が薄赤く変色し、特に尾鰭と腹脚が明らかに赤くなる。付属肢に部分的な上皮の壊死が認められる。
- ④明らかに急性期の病変を示しているエビでは、柔らかい殻と空胃が特徴である。
- ⑤急性期を生残した移行期のエビでは多くの不規則で点状のメラニン沈着した上皮の病変がみられ、このようなエビでは軟弱な上皮と赤色色素胞の拡大を示すこともある。
- ⑥移行期を生残したエビは慢性期の感染状態になる。慢性期の特徴は、死亡の停止、正常行動の回復、肉眼で観察できるメラニン沈着した病変の消失などがあげられる。

(3)剖検所見

特徴的な所見に乏しい。

(4)診断法

- ①初動診断法：RT-PCR 検査(逆転写ポリメラーゼ連鎖反応法：キット※用)

材料：血リンパ、鰓、リンパ様器官の抽出RNA。

プライマー；

TSV 9195 : 5'-TCA-ATG-AGA-GCT-TGG-TCC-3'

TSV 9992 : 5'-AAG-TAG-ACA-GCC-GCG-CTT-3'

増幅産物サイズ；213bp

逆転写反応；60℃で 30 分間反応後、94℃で 2 分間処理。

PCR 反応；94℃で 45 秒、60℃で 45 秒を 40 サイクル、最終 60℃で 7 分間。

- ②最終診断法：RT-PCR 検査

上記の RT-PCR 法に加えて次の方法も実施。

材料：血リンパ、鰓、リンパ様器官の抽出RNA。

プライマー；

TSV55P1：5'-GGC-GTA-GTG-AGT-AAT-GTA-GC-3'

TSV55P2：5'-CTT-CAG-TGA-CCA-CGG-TAT-AG-3'

増幅産物サイズ:1303 bp

逆転写反応；50℃で 45 分間反応後、95℃で 5 分間処理。

PCR 反応；95℃で 60 秒、60℃で 45 秒、72℃で 90 秒を 40 サイクル、
最終 72℃で 5 分間。

(5)病理組織学的所見

- ①急性期では、全ての足肢、鰓、後腸、食道、胃、体表に巣状ないしは拡散したクチャ上皮細胞の壊死が認められる。
- ②壊死細胞には、しばしばエオジン好性から薄い塩基性好性の球状体(直径 1-20μm)の細胞残査が認められる。
- ③移行期では、病巣に顕著な血球の浸潤及び蓄積が起こり、これらが黒点を形成するメラニン沈着を引き起こす。ただし、このような病変は他の原因によっても引き起こされる。
- ④慢性期では、急性期にみられる組織病変は消失し、顕著な病変はみられない。

(6)類似疾病検査

情報なし。

(7)消毒

文献情報はないが、本ウイルスは塩素剤等通常の消毒剤により不活化されと考えられる。

(8)その他

垂直感染をさけるため、卵は清浄な海水でよく洗浄し、卵や幼生が親エビの糞便等による汚染を受けないようにする。

(4) 伝染性皮下造血器壊死症

Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis (IHHN)

担 当	検査チャート
都 道 府 県	(1)疫学調査 (2)臨床検査 ↓ (3)剖検 ↓ (4)①PCR検査 ↓ ↓ (+、±) (－)
水 産 技 術 研 究 所	(4)②PCR検査 ↓ ↓ (+) (－)
判 定	↓ ↓ ↓ + － －
その他	国内で発生が疑われる事例が確認された場合、別途、病理組織の観察を行うことが望ましい。

疾病名：伝染性皮下造血器壊死症(IHHN)

Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis: IHHN

病原体：Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus

(IHHNV)(パルボウイルス科ペンステイルハマパルボウイルス属)

(1)疫学調査

- ①宿主域：ブルーシュリンプ(*Penaeus stylirostris*)、シロアシエビ(ホワイトレッグシュリンプ、バナメイエビ) (*P. vannamei*)、ウシエビ(ブラックタイガー) (*P. monodon*)、イエローシュリンプ (*P. californiensis*)及びノーザンホワイトシュリンプ (*P. setiferus*)が感受性宿主である。可能性があるものとして、ノーザンブラウンシュリンプ (*P. aztecus*)が挙げられる。
- ②発生地域：アメリカ合衆国南東海岸、中南米諸国、ハワイ、グアム、タヒチ、ニューカレドニア、シンガポール、タイ、マレーシア、フィリピン、インドネシア、ミャンマー、イラン、オーストラリア
- ③当該種苗は上記の地域から輸入したものである。
- ④当該養殖場は過去に上記地域から種苗を導入したことがある。
- ⑤稚エビで発病しやすい。
- ⑥ウシエビには、内因性ウイルス因子 (endogenous viral element: EVE) と呼ばれる感染性のないIHHNVのゲノムが挿入されている場合がある。PCR検査でも偽陽性となるため注意が必要である。

(2)臨床検査

・ブルーシュリンプ

- ①感染個体は死に至るまで、水面近くを緩慢に遊泳し、そこから底面にゆっくりと沈降する行動を繰り返す。
- ②特徴的な外観症状は乏しいが、表皮(特に腹部のつなぎ目)に白あるいは黄褐色の斑点がみられ、まだら模様のようにみえることもある。
- ③瀕死個体では薄青みがかり、腹部筋肉の色がくすんでみえることもある。

・シロアシエビ(ホワイトレッグシュリンプ、バナメイエビ)

- ①高い死亡率は稀で慢性疾病を引き起こす。
- ②RDS(Runt deformity syndrome)と呼ばれる、屈曲した額角、しわのよった触角、変形した外皮等の奇形症状がみられる。
- ③RDSを示す集団では各個体の大きさがばらつき、特に矮小な個体が目立つ。

(3)剖検所見

特徴的な所見は乏しい。

(4)診断法

①初動診断法：PCR検査

材料；鰓等のクチクラ上皮を含む組織又は血リンパの抽出DNA。

プライマー；

389F：5'-CGG-AAC-ACA-ACC-CGA-CTT-TA-3'

389R：5'-GGC-CAA-GAC-CAA-AAT-ACG-AA-3'

増幅産物サイズ；389bp

PCR反応；94℃で5分間、続いて 94℃で 30 秒間、60℃で 30 秒間、72℃で 30 秒間を 35サイクル、最後に 72℃で7分間。

②最終診断法：PCR検査

初動診断法のPCR検査に加えて、次の方法も実施。

材料；鰓等のクチクラ上皮を含む組織あるいは血リンパの抽出DNA。

プライマー；

392F：5'-GGG-CGA-ACC-AGA-ATC-ACT-TA-3'

392R：5'-ATC-CGG-AGG-AAT-CTG-ATG-TG-3'

増幅産物サイズ；392bp

PCR反応；95℃で5分間、続いて 95℃で 30 秒間、60℃で 30 秒間、72℃で 30 秒間を 35 サイクル、最後に 72℃で7分間。

(5)病理組織学的所見

◎外胚葉由来組織(クチクラ上皮、前腸及び後腸上皮、神経索、神経節)及び中胚葉由来組織(造血器官、触角腺細胞上皮、リンパ様器官等)の細胞に核の肥大が観察され、クロマチンは核周縁部に偏在している。

◎上記核内にエオシン好性のCowdry A型封入体が認められる。

(6)類似疾病検査

情報なし。

(7)消毒

池等の消毒には塩素剤及びヨード剤が有効である。

(8)その他

なし。

(5) 急性肝膵臓壊死病

Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND)

(Early Mortality Syndrome (EMS))

担当	検査チャート
都道府県	(1)疫学調査 (2)臨床検査 (3)剖検 (4)①Nested-PCR 検査 (－) (＋、±)
水産技術研究所	(4)②Nested-PCR 検査 および配列解析 (＋) (－)
判定	－ ＋ －
その他	最終診断法は Nested-PCR と増幅産物の配列解析で行うが、国内で発生が疑われる事例が確認された場合は、別途、分離菌の性状試験および病理組織の観察を行うことが望ましい。

疾病名：急性肝膵臓壊死病

Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND)

(Early Mortality Syndrome (EMS))

病原体：Vibrio parahaemolyticus (ビブリオ科ビブリオ属)

(1)疫学調査

- ①本疾病の原因細菌である *Vibrio* 属細菌はグラム陰性の常在菌である。原因菌は、プラスミド DNA に由来する毒素を産生する株であり、当該プラスミドないし毒素遺伝子を保有していれば本疾病の原因となり得る。
- ②宿主域：シロアシエビ(ホワイトレッグシュリンプ、バナメイエビ)(*P. vannamei*)、ウシエビ (*P. monodon*)、コウライエビ (*P. chinensis*)。
- ③発生地域：中国、マレーシア、タイ王国、ベトナム、フィリピン、バングラディシュ、韓国、台湾、オーストラリア、メキシコ、アメリカ合衆国
- ④ステージ：稚エビの池収容後、10 日～30 日で発症する。

(2)臨床検査

- ①肝膵臓の白色化が認められる。
- ②外骨格の軟化、腸管内容物が摂餌不良のため部分的にしか見られないか、もしくは認められない。
- ③重篤感染個体は底に沈降する。

(3)剖検所見

- ①肝膵臓が委縮し、硬化する。
- ②肝膵臓に黒点や黒筋が認められることがある。

(4)診断法

- ①初動診断法：Nested-PCR 検査

材料：肝膵臓より抽出した DNA。

(1st)

プライマー；

AP4-F1：5'- ATGAGTAACAATATAAAACATGAAAC -3'

AP4-R1：5'- ACGATTTTCGACGTTCCCCAA -3'

増幅産物サイズ；1269 bp

PCR 反応；94℃で 2 分の熱変性後、94℃で 30 秒、55℃で 30 秒、72℃で 90 秒を 30 サイクル行い、最後に 72℃で 2 分間。

(2nd)

プライマー；

AP4-F2：5'- TTGAGAATACGGGACGTGGG -3'

AP4-R2：5'- GTTAGTCATGTGAGCACCTTC -3'

増幅産物サイズ；230 bp

PCR 反応；94℃で 2 分の熱変性後、94℃で 20 秒、55℃で 20 秒、72℃で 20 秒を 25 サイクル行う。

- ①最終診断法：Nested-PCR 検査

初動診断法と同じ。PCR の後、増幅産物の配列解析を行う。

(5)病理組織学的所見

以下の病変が報告されているが必ずしも本疾病に特異的なものではない。

- ①肝脾臓の R、B、F 細胞の減少に続く E 細胞の分裂活性の減少を伴う、急性的な進行性萎縮が認められる。
- ②病変は近位(口側)から遠位(肛門側)に進展し、R、B、F、E 細胞の機能障害、肝脾臓細管粘膜細胞の顕著な核肥大を示し、肝脾臓細管内腔で包囲化され崩壊する。
- ③崩壊した肝脾臓細胞より放出された基質は細菌増殖を助長し、重度の二次的細菌感染を引き起こす。末期には肝脾臓は完全に崩壊する。
- ④肝脾臓細管上皮細胞の初期の崩壊および二次的細菌感染への進展に付随し、顕著な細管内血球凝集、血球による壊死した肝脾臓細管の包囲化あるいは肝脾臓細管のより近位部におけるメラニン化が起きる。

(6)類似疾病検査
情報なし。

- (7)消毒
- ①数週間の冷凍あるいは 55℃で 5 分や 80℃で 1 分の加熱処理により増殖能は減少するが、冷蔵ではそれほど減少しない。
 - ②15 分の酸性処理(pH5)により、原因菌は増殖能を失う。
 - ③原因菌は汽水で 9 日間、海水で 18 日間生存可能。

(8)その他
なし。

(6) 伝染性筋壊死症
Infectious myonecrosis (IMN)

担当	検査チャート
都道府県	(1)疫学調査 (2)臨床検査 (3)剖検 (4)①RT-PCR 検査 (－) (＋、±)
水産技術研究所	(4)②Nested-PCR 検査 (＋) (－)
判定	－ ＋ －
その他	最終診断法は Nested-PCR で行うが、国内で発生が疑われる事例が確認された場合は、別途、病理組織の観察を行うことが望ましい。

疾病名：伝染性筋壊死症(IMN)

Infectious myonecrosis: IMN

病原体：Infectious myonecrosis virus (IMNV) (トチウイルス科トチウイルス属)

(1)疫学調査

①宿主域：

バナメイエビ (*P. vannamei*) , オーストラリアタイガー(*P. esculentus*) および、バナナエビ (*P. merguensis*)の3種。ウシエビ(ブラックタイガー) (*P. monodon*)、ブルーシュリンプ(*P. stylirostris*)は死亡がないが、感受性を示すとされ、サザンブラウンエビ(*P. subtilis*)はPCRで陽性を示す。

②発生地域：ブラジル東北部、インド、インドネシア、東南アジア、マレーシア、エジプト

③ステージ：バナメイエビの稚エビ、未成エビで重篤。

(2)臨床検査

①水温、塩分濃度などの環境変化や網入れなどのストレス負荷直後に発症し高率で死亡する(バナメイエビ)。

②ストレス負荷直前までは盛んに摂餌し、消化管が餌で満たされていることもある。

③体側筋の点状あるいは広範囲な壊死による白濁(特に末端節腹部および尾扇部)。

(3)剖検所見

体側筋の点状あるいは広範囲な壊死による白濁(特に腹部末端節および尾扇部)。リンパ様器官の肥大(通常の3～4倍の大きさ)が認められる。

(4)診断法

①初動診断法：RT-PCR 検査

材料；PCR 用に採取した血球(血リンパ)、筋肉組織、あるいはリンパ様器官。

プライマー；

4587F : 5'- CGA-CGC-TGC-TAA-CCA-TAC-AA -3'

4914R : 5'- ACT-CGG-CTG-TTC-GAT-CAA-GT -3'

増幅産物サイズ；328bp

PCR 反応；55℃で 30 分、95℃で 2 分の逆転写反応後、95℃で 15 秒、60℃で 30 秒， 68℃45秒を 39 サイクル行い、最後に 60℃で 2 分間。

②最終診断法：Nested-PCR 検査

i) 1st RT-PCR；初動診断法①と同じ。

ii) 2nd PCR

材料；(4)②i)1st PCR の増幅産物。

プライマー；

4725NF : 5'- GGC-ACA-TGC-TCA-GAG-ACA -3'

4863NR : 5'- AGC-GCT-GAG-TCC-AGT-CTT-G -3'

増幅産物サイズ；139bp

PCR 反応；95℃で 2 分の熱変性後、95℃で 30 秒、65℃で 30 秒、72℃で 30 秒を 39 サイクル行い、最後に 72℃で 2 分間。

(5)病理組織学的所見

以下の病変が報告されているが、必ずしも本疾病に特異的なものではない。

- ①血球浸潤を伴う体側筋繊維の凝固壊死および進行した融解壊死が認められる。
- ②体側筋組織に壊死，細胞浸潤，線維化がみられる。
- ③生体防御反応と考えられる、細胞の集まった球状組織の増生によるリンパ様器官の肥大が起こる。
- ④上記の球状組織はしばしば鰓、心臓、触角腺、腹部神経索などにも認められる。

(6)類似病検査

腹節の筋肉は本疾病以外のさまざまな原因で白濁する。クルマエビ類やオニテナガエビ (*Macrobrachium rosenbergii*) のホワイトテール病は本疾病と似た外観症状を呈するが、本疾病とは異なるそれぞれのノダウイルスにより起こる。また、急性に本疾病に罹患しても必ずしも肉眼的に明確に筋肉が白濁しない場合もあり、PCR によって判断する必要がある。

(7)消毒

文献情報はないが、本ウイルスは塩素剤等通常の消毒剤により不活化されと考えられる。

(8)その他

不顕性感染しているエビから本ウイルスを検出するためには、活エビから採取した血リンパをサンプルに用い、かつ初動診断の RT-PCR のプロトコルを以下のように変更して行うとよい場合がある。

プライマー；初動診断の項（４）①に同じ

増幅産物サイズ；328bp

PCR 反応；55℃で 30 分、95℃で 2 分の逆転写反応後、95℃で 15 秒、60℃で 30 秒、68℃で 45 秒 を 39 サイクル行い、最後に 68℃で 2 分間。

(7) バキュロウイルス・ペナエイ感染症
Tetrahedral baculovirosis

担 当	検査チャート
都 道 府 県	<pre> graph TD A["(1)疫学調査"] --- J1(()) B["(2)臨床検査"] --- J1 J1 --- C["(3)剖検"] C --- D["(4)①(ア)肝臓・中腸の検鏡"] D --- E1["(+、±)"] D --- E2["(-)"] E2 --- F["(4)①(イ)PCR検査"] F --- G1["(+、±)"] F --- G2["(-)"] E1 --- H1(()) G1 --- H1 H1 --- I["(4)②PCR検査"] I --- J1["(+)", J2["(-)"]] J1 --- K1["+"] J2 --- K2["-"] G2 --- K3["-"] </pre>
水 産 技 術 研 究 所	
判 定	+ - -
その他	国内で発生が疑われる事例が確認された場合、別途、病理組織の観察を行うことが望ましい。

疾病名：バキュロウイルス・ペナエイ感染症

Tetrahedral baculovirus

病原体：Baculovirus penaei (BP) (バキュロウイルス科ヌクレオポリヘドロウイルス属)

(1)疫学調査

- ①本疾病は *Baculovirus penaei* (BP)に起因する。
- ②宿主域：クルマエビ類が感受性を有する可能性がある。
- ③発生地域：ハワイ及び南北アメリカ諸国、台湾。
- ④当該種苗は上記の地域から輸入したものである。
- ⑤当該養殖場は過去に上記地域から種苗を導入したことがある。

(2)臨床検査

摂餌量が減少し、成長が悪くなる。

(3)剖検所見

重篤な感染個体は中腸に白濁が認められることが多い。

(4)診断法

①初動診断法：

(ア)肝臓及び中腸を押しつぶして検鏡し、四面体型の包埋体を確認する。

(イ)PCR 検査

材料；肝臓及び中腸の抽出 DNA。

プライマー；

BPA：5'-GAT-CTG-CAA-GAG-GAC-AAA-CC-3'

BPF：5'-TAC-CCT-GCA-TTC-CTT-GTC-GC-3'

増幅産物サイズ；196bp

反応；95℃で3分間、続いて94℃で30秒間、60℃で30秒間、72℃で1分間を30サイクル、最後に72℃で5分間。

②最終診断法：PCR 検査

初動診断法のPCR検査に加えて、次の方法も実施する。

材料；肝臓及び中腸の抽出 DNA。

プライマー；

6581：5'-TGT-AGC-AGC-AGA-GAA-GAG-3'

6582：5'-CAC-TAA-GCC-TAT-CTC-CAG-3'

増幅産物サイズ；644bp

PCR 反応；95℃で5分間、続いて95℃で30秒間、65℃で30秒間、72℃で1分間を35サイクル、最後に72℃で7分間。

(5)病理組織学的所見

肝臓又は中腸の上皮細胞の核が顕著に肥大し、クロマチンの減少及び周縁への移動がみられ、その核内に四面体型の包埋体が認められる。

(6)類似疾病検査

バキュロウイルス性中腸腺壊死症(BMN:Baculovirus Mid-gut Gland Necrosis)と比較すると顕微鏡による感染細胞の病理組織像は類似しているが、BMN は包埋体を形成しない。

(7)消毒

文献情報はないが、本ウイルスは塩素剤等通常の消毒剤により不活化されと考えられる。また、低 pH (pH3 で 30 分)、熱 (60-90℃で 10 分)、紫外線照射 (累積線量 $7.08 \times 10^6 \mu\text{Wsec}/\text{cm}^2$) により不活化されるという報告がある。

(8)その他

なし

(8) エビの潜伏死病
Covert mortality disease of shrimp (CMD)

担当	検査チャート
都道府県	<pre> graph TD A["(1)疫学調査"] --- J1(()) B["(2)臨床検査"] --- J1 J1 --- C["(3)剖検"] C --- J2(()) J2 --- D["(4)①(ア)病理組織の観察"] J2 --- E["(4)②(イ)RT-PCR 検査"] D --- F["(一)"] D --- G["(+、±)"] E --- H["(+、±)"] E --- I["(一)"] G --- J3(()) H --- J3 J3 --- K["(4)③Nested-PCR 検査"] K --- L["(+)"] K --- M["(一)"] F --- N["ー"] I --- O["ー"] L --- P["+"] M --- Q["ー"] </pre>
水産技術研究所	
判定	ー + ー ー
その他	初動診断法は病理組織検査あるいは RT-PCR のいずれかを行う。 最終診断法は Nested-PCR を行う。

疾病名：エビの潜伏死病(CMD)

Covert mortality disease of shrimp: CMD

病原体：Covert mortality nodavirus (CMNV)(ノダウイルス科(Nodaviridae)の未分類ウイルス)

(1)疫学調査

①宿主域：シロアシエビ（ホワイトレグシュリンプ、バナメイエビ）(*P. vannamei*)、クルマエビ(*P. japonicas*)、コウライエビ(*P. chinensis*)、ウシエビ（ブラックタイガー）(*P. monodon*)、オニテナガエビ(*Macrobrachium rosenbergii*)。近年では、中国のエビ池や沿岸水域でよく見られるキグチ *Larimichthys polyactis* や ヒラメ *Paralichthys olivaceus* 等の魚種でCMNVの自然感染が報告され、脊椎動物が本ウイルスを媒介する可能性も指摘されている。

②発生地域：中国のエビ養殖場で初めて発生が確認された。現在では、アジア南部、ラテンアメリカにも分布が拡大している。

(2)臨床検査

①肝臓の変色や萎縮、横紋筋の白色化と壊死が認められる。

②感染個体は池の底に深く隠れて、浅瀬、表層に現れない。

(3)剖検所見

①肝臓が変色（白色、赤色、灰色）し、萎縮、壊死が認められる。

②胃、腸の空洞化や殻の軟化が認められる。

③横紋筋の白色化と壊死が認められる。

(4)診断法

①初動診断法：(ア)病理組織の観察

使用部位；横紋筋、肝臓およびリンパ様器官を採取する。

固定；Davidson 液で固定しヘマトキシリン・エオジン染色を行う。

病変の観察；横紋筋の凝固壊死、肝臓およびリンパ様器官の細管上皮の好酸性封入体、筋肉およびリンパ様器官の核濃縮を観察する。

(イ)RT-PCR 検査

材料；RT-PCR 用に採取した肝臓、横紋筋あるいはリンパ様器官から RNA を抽出する。

プライマー；

CMNV-7F1: 5'-AAA-TAC-GGC-GAT-GAC-G-3'

CMNV-7R1: 5'-ACG-AAG-TGC-CCA-CAG-AC-3'

増幅産物サイズ；619bp

RNA 熱変性；65℃で 5 分変性後急冷。

RT-PCR 反応；50℃で 1 時間反応後、70℃15 分。その後、94℃で 4 分変性。その後、94℃で 30 秒、45℃で 30 秒、72℃で 40 秒を 35 サイクル行い、72℃で 7 分反応。

②最終診断法：Nested-PCR 検査

i) 1st PCR；初動診断法①(イ)と同じ。

ii) 2nd PCR

材料；(4)②i)1st PCR の増幅産物。

プライマー；

CMNV-7F2: 5'-CAC-AAC-CGA-GTC-AAA-CC-3'

CMNV-7R2: 5'-GCG-TAA-ACA-GCG-AAG-G-3'
増幅産物サイズ ; 165bp

PCR 反応 ; 94℃で 4 分変性。その後、94℃で 20 秒、40℃で 20 秒、72℃で 20 秒を 30 サイクル行い、72℃で 7 分反応。

(5)病理組織学的所見

横紋筋の凝固壊死、肝臓およびリンパ臓器の細管上皮の好酸性封入体、筋肉およびリンパ臓器の核濃縮が認められる。

(6)類似疾病検査

情報なし。

(7)消毒

文献情報はないが、本ウイルスは塩素剤等通常の消毒剤により不活化されと考えられる。

(8)その他

電子顕微鏡観察で肝臓にエンベロープを持たない直径 25nm のウイルス様粒子が認められる。

CMNV-7Probe-F : 5'-GGC-GAT-GAC-GGC-TTG-A-3' と CMNV-7Probe-R : 5'-GGC-GGT-GAG-ATG-GAT-TTT-3' を用いた蛍光インサイチュアハイブリダイゼーションによる診断法がある。

CMNVのRNA依存RNAポリメラーゼ遺伝子の登録塩基配列はaccession No. KM112247である。

(9) 鰓随伴ウイルス病
Gill-associated virus disease (GAV)

担当	検査チャート
都道府県	<pre> graph TD A["(1)疫学調査"] --- J1(()) B["(2)臨床検査"] --- J1 J1 --- C["(3)剖検"] C --- D["(4)①RT-PCR検査"] D --- E(()) E --- F["(−)"] E --- G["(+、±)"] </pre>
水産技術研究所	<pre> graph TD G["(+、±)"] --- H["(4)②Nested-PCR 検査 および配列解析"] H --- I(()) I --- J["(+)", J --- K["(−)"] </pre>
判定	− + −
その他	国内で発生が疑われる事例が確認された場合は、別途、病理組織の観察を行うことが望ましい。

疾病名：鰓随伴ウイルス病：

Gill-associated virus disease (GAV)

病原体：Gill-associated virus (genotype 2)(ロニウイルス科 オカウイルス属)

(1)疫学調査

①宿主域：自然感染はウシエビ(*Penaeus monodon*)のみであるが、実験感染はブラウンタイガープローン (*P. esculentus*)、バナナエビ(*P. merguensis*)、クルマエビ(*P. japonicus*)でも起こり、死亡を引き起こす。

②発生地域：オーストラリア、タイ、ベトナム

オーストラリアでは本病によるウシエビの死亡が報告されている。タイ、ベトナムでは発症は報告されていないが、健康なウシエビから本ウイルスが検出されている。

③感染ステージ：クルマエビにおいて本ウイルスは、20 g 以上の大きな個体は、6~13 g の小さな個体よりも感受性が低い。

④キャリアー：自然下では、本ウイルスに感染したウシエビ(*P. monodon*)。実験下では、ブラウンタイガープローン (*P. esculentus*)、バナナエビ(*P. merguensis*)、クルマエビ(*P. japonicus*)が宿主となることが明らかになっているため、これらのエビ類もキャリアーになる可能性がある。

(2)臨床検査

①胴体及び脚が赤くなる。

②水面近くや池の端を遊泳する。摂餌しなくなる。

(3)剖検所見

鰓のピンク色から黄色への退色が認められる。

(4)診断法

①初動診断法：RT-PCR 検査

材料；新鮮な鰓あるいはリンパ様器官

プライマー；

GY1：5'-GAC-ATC-ACT-CCA-GAC-AAC-ATC-TG-3'

GY4：5'-GTG-AAG-TCC-ATG-TGT-GTG-AGA-CG-3'

(YHV および GAV 共通。増幅産物サイズ；794bp)

PCR反応；抽出した核酸および対照RNA をテンプレートとして、上記のプライマーセット(GY1/GY4) を用いて 1 ステップのRT-PCR 反応を行う(キット※用)。反応は、50℃で 30 分間逆転写反応後、94℃で 2 分間処理し、次いで PCR 反応として、95℃で 30 秒間、66℃で 30 秒間、68℃で 45 秒間を 35 サイクル、最後に 68℃で 7 分間。

②最終診断法：Nested-PCR 検査

i) 1st PCR；初動診断法①と同じ。

ii) 2nd PCR

材料；(4)②i) 1st PCR の増幅産物

プライマー；

GY2：5'-CAT-CTG-TCC-AGA-AGG-CGT-CTA-TGA-3'

G6：5'-GTA-GTA-GAG-ACG-AGT-GAC-ACC-TAT-3'

増幅産物サイズ；406bp

注：GY2 の 7 番目の塩基は T であるが、この位置の塩基は GAV の配列に完全に一致させるためには C にする必要がある。ただし、これまで T のままでも GAV の増幅に支障があるという報告はない。

PCR 反応；反応は、95℃で15分の後、95℃で30 秒間、66℃で30秒間、72℃で 45秒間を35サイクル行い、最後に72℃で7分間。

増幅産物の配列解析を行い、遺伝子型を確認する。

(5)病理組織学的所見

詳しい病理学的所見は無い。

(6)類似疾病検査

イエローヘッド複合ウイルス群(ロニウイルス科 オカウイルス属)には、8つの遺伝子型が知られ、gill-associated virus (GAV) はそのうちの遺伝子型2 である。YHV は遺伝子型1 であり、イエローヘッド病の病原体である。ウシエビにおいて YHV (遺伝子型 1)は、ポストラバ(PL)15以降のものが感染しやすい。その他4つの遺伝子型(3~6)は、東アジア、アジアおよびオーストラリアの健康なウシエビで一般的に検出されるが、イエローヘッド病とほとんど関連がない。遺伝子型7の病原性は不明である。遺伝子型8については他(EMS/AHPNS)の感染症に罹患したエビより検出された。YHVとGAVは類似ウイルスであるが、RT-PCRにより区別できる。

(7)消毒

文献情報はないが、本ウイルスは塩素剤等通常の消毒剤により不活化されと考えられる。

(8)その他

有効な予防、治療法は知られていない。

(10) モノドン型バキュロウイルス感染症
Spherical Baculovirosis

担 当	検査チャート
都 道 府 県	<pre> graph TD A["(1)疫学調査"] --- B["(2)臨床検査"] A --- C["(3)剖検"] B --- C C --- D["(4)①(ア)肝臓・中腸の検鏡"] D --- E["(+, ±)"] D --- F["(4)①(イ) PCR検査"] E --- G["(4)②PCR検査"] F --- H["(+, ±)"] F --- I["(-)"] G --- J["(+)"] G --- K["(-)"] </pre>
水 産 技 術 研 究 所	<pre> graph TD L["(4)②PCR検査"] --- M["(+)"] L --- N["(-)"] </pre>
判 定	+ - -
その他	国内で発生が疑われる事例が確認された場合、別途、病理組織の観察を行うことが望ましい。

疾病名：モノドン型バキュロウイルス感染症
Spherical Baculovirosis

病原体：Penaeus monodon-type baculovirus (MBV)(バキュロウイルス科、ヌクレオポリ
ヘドロウイルス属)

(1)疫学調査

◎本疾病は Penaeus monodon-type baculovirus (MBV 又は PemoNPVN P V)に起因
する。

◎宿主域：ウシエビ(ブラックタイガー)(Penaeus monodon)、テンジクエビ(P.
merguinensis)など。

◎発生地域：中国・台湾を始めとする太平洋・インド洋、中近東、地中海、アフリカ、ハ
ワイ、タヒチ、南北アメリカ諸国

④当該種苗は上記の地域から輸入したものである。

⑤当該養殖場は過去に上記地域から種苗を導入したことがある。

(2)臨床検査

摂餌量が減少し、成長が悪くなる。

(3)剖検所見

重篤な感染個体は中腸に白濁が認められることが多い。

(4)診断法

①初動診断法：(ア)肝臓及び中腸を押しつぶして検鏡し、球状の包埋体を確認する。

(イ)PCR 検査

材料；肝臓及び中腸の抽出 DNA。

プライマー；

261F：5'-AAT-CCT-AGG-CGA-TCT-TAC-CA-3'

261R：5'-CGT-TCG-TTG-ATG-AAC-ATC-TC-3'

増幅産物サイズ；261bp

PCR 反応；95℃で5分間、続いて 94℃で 30 秒間、60℃で 30 秒
間、72℃で 30 秒間を 35 サイクル、最後に 72℃で7分間。

②最終診断法：PCR 検査

初動診断法の PCR 検査に加えて、次の方法も実施する。

材料；肝臓及び中腸の抽出 DNA。

プライマー；

MBV1.4F：5'-CGA-TTC-CAT-ATC-GGC-CGA-ATA-3'

MBV1.4r：5'-TTG-GCA-TGC-ACT-CCC-TGA-GAT-3'

増幅産物サイズ；533bp

反応；96℃で5分間、続いて 94℃で 30 秒間、65℃で 30 秒間、72℃
で1分間を 40 サイクル、最後に 72℃で7分間。

(5)病理組織学的所見

肝臓又は中腸腺の上皮細胞の核が顕著に肥大し、クロマチンの減少及び周縁への
移動が認められ、その核内に球状の包埋体が認められる。

(6)類似疾病検査

バキュロウイルス性中腸腺壊死症(BMN:Baculovirus Mid-gut Gland Necrosis)と比

較すると光顕観察による感染細胞の病理組織像は類似しているが、BMN は包埋体を形成しない。

(7)消毒

文献情報はないが、本ウイルスは塩素剤等通常の消毒剤により不活化されと考えられる。

(8)その他

垂直感染をさけるため、卵は清浄な海水でよく洗浄し、卵や幼生が親エビの糞便等による汚染を受けないようにする。

(1 1) 十脚目イリドウイルス症

Infection with Decapod iridescent virus 1 : DIV1

担 当	検査チャート
都 道 府 県	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (3) 剖検 (4) ① PCR検査 (+ , ±) (-)
水 産 技 術 研 究 所	(4) ② リアルタイム PCR検査 および遺伝子配列解析 (+) (-)
判 定	+ - -
その他	国内で発生が疑われる事例が確認された場合、別途、病理組織の観察を行うことが望ましい。

疾病名：十脚目イリドウイルス症

Infection with Decapod iridescent virus 1: DIV1

病原体：Decapod iridescent virus 1 (DIV1)

(イリドウイルス科ベータイリドウイルス亜科デカポドイリドウイルス属)

(1) 疫学調査

①本疾病はDecapod iridescent virus 1 (DIV1) に起因する。

②宿主域：

・ WOA の aquatic code 1.5.章の感受性宿主の基準を満たす種

アメリカザリガニ (*Procambarus clarkii*)、テナガエビ (*Macrobrachium nipponense*)、オニテナガエビ (*Macrobrachium rosenbergii*)、レッドクロー (*Cherax quadricarinatus*)、クルマエビ (*Penaeus japonicus*)、バナメイエビ (*Penaeus vannamei*)、ガザミ (*Portunus trituberculatus*)

③発生地域：アジア太平洋地域。

④死亡率：100%に達する場合がある。

⑤感染例：バナメイエビの感染実験では幼生から若齢エビまで発症と死亡がみられた。2017～2018年の中国での調査では全ての体長のエビ、ザリガニでウイルスが検出され、検出率が高かったのは体長4～7cmであったが、成長段階と死亡率の関係は不明である。クルマエビ *P. japonicus* においても注射による感染試験が成立し、空の胃や腸、黄変を伴う肝臓の萎縮、赤身、柔らかい殻など、典型的な臨床症状および100%に達する死亡率を示した。

(2) 臨床検査

①感染個体の体は赤みを帯びる。

②殻の軟化、摂餌不良、活力の低下を引き起こす。

③オニテナガエビにおいては、額角の付け根の甲殻の下に白い三角形の領域が観察される。

(3) 剖検所見

肝臓の退色と萎縮が認められる。

(4) 診断法

①初動診断法：PCR 検査

材料；鰓、リンパ様器官、肝臓のいずれかの臓器（検体が体長7cm未満あるいは臓器の採取が難しい場合は頭胸部）の抽出 DNA。

プライマー；

SHIV-F1：5'-GGG-CGG-GAG-ATG-GTG-TTA-GAT-3'

SHIV-R1：5'-TCG-TTT-CGG-TAC-GAA-GAT-GTA-3'

反応；95℃で3分間、続いて95℃で30秒間、59℃で30秒間、72℃で30秒間を35サイクル、最後に72℃で30秒間。

増幅産物サイズ；457 bp

判定；目的サイズのバンドが検出された個体（サンプル）を陽性、されなかった個体（サンプル）を陰性と判定する。

②最終診断法：リアルタイム PCR 検査および遺伝子配列解析

材料；鰓、リンパ様器官、肝臓のいずれかの臓器（検体が体長7cm未満あるいは臓器の採取が難しい場合は頭胸部）の抽出 DNA。

プライマー；

SHIV-F：5'-AGG-AGA-GGG-AAA-TAA-CGG-GAA-AAC-3'

SHIV-R：5'-CGT-CAG-CAT-TTG-GTT-CAT-CCA-TG-3'

TaqManプローブ

[FAM]-CTG-CCC-ATC-TAA-CAC-CAT-CTC-CCG-CCC-[TAMRA]

増幅産物サイズ；188 bp

反応；最初に95℃で10分間、次に95℃で 10 秒間^注、60℃で 30 秒間を 40 サイクル。

注：なお、100秒間という文献もあるが、水産技術研究所による再現性試験の結果、10秒間が適当と判断としている。

方法および判定；検査個体（サンプル）がリアルタイムPCR 検査により陽性と判定された場合、別途①PCR 検査を実施し、その増幅産物の配列解析を行い、データベースに登録されているDIV1の塩基配列を参考に判定する。

（５）病理組織学的所見

造血組織、上皮、リンパ様器官、鰓の血球、胸脚、肝臓洞の細胞において核濃縮が見られ、細胞質に好塩性部分に囲まれた、あるいは好塩性部分と混ざった、暗い好酸性封入体が見られる。

（６）類似疾病検査

なし。

（７）消毒

①3mol/L NaCl 溶液への 1 時間の暴露、pH3.1 未満あるいは pH9.6以上への 1 時間の暴露により感染力が失われる。

② 1 %TritonX-100 や 1 %ホルムアルデヒドによっても不活化する。

③次亜塩素酸カルシウム 16.25～130 ppm、過酸化水素 8.75～70 ppm、ポビドンヨウド3～24 ppm、塩化ベンザルコニウム 20～160 ppm、ホルマリン 25～200 ppm を 24 時間の処理で失活する。

（８）その他

なし

(1 2) 中腸腺微孢子虫症

Hepatopancreatic microsporidiosis : HPM

担 当	検査チャート
都 道 府 県	(1) 疫学調査 (2) 臨床検査 (3) 剖検 (4) ① PCR検査 (+ 、 ±) (-)
水 産 技 術 研 究 所	(4) ② リアルタイム PCR検査 および遺伝子配列解析 (+) (-)
判 定	+ — —
その他	国内で発生が疑われる事例が確認された場合、別途、病理組織の観察 あるいは肝臓の押しつぶし標本の観察を行うことが望ましい。

疾病名：中腸腺微孢子虫症

Hepatopancreatic microsporidiosis：HPM

病原体：*Enterocytozoon hepatopenaei*（EHP）

（微孢子虫門 Enterocytozoonidae 科 Enterocytozoon 属）

（１）疫学調査

①本疾病は *Enterocytozoon hepatopenaei*（EHP）に起因する。

②宿主域：

ウシエビ（*Penaeus monodon*）、バナメイエビ（*Penaeus vannamei*）、ブルーシュリンプ（*Penaeus stylirostris*）で感染・発症が確認されている。感染実験の結果からクルマエビ（*Penaeus japonicus*）も感受性を有していると考えられる。

③発生地域：

タイ、インド、ベトナム、ブルネイ、マレーシア、インドネシア、中国、韓国。

④感染経路・環境要因：

感染したエビの糞便から放出された胞子の摂取、または感染したエビの共食いによって水平感染する。垂直感染は不明であるが、感染した雌から得られたノープリウスやゾエアのステージでは PCR で陽性が確認されている。

⑤致死性は低い。

（２）臨床検査

①成長の遅延が特徴的であり、外観症状が見られないことが多い。

②本疾病は体内の細菌叢の変化をもたらし、有用な細菌を減らし、他の病原体の感染あるいは日和見感染の誘因となることが考えられる。EHP が感染したエビでは、ビブリオ属の日和見感染を伴うことがあり、本疾病が急性肝膵臓壊死症（AHPND）および敗血症性肝膵臓壊死症（septic hepatopancreatic necrosis: SHPN）への感受性や死亡率が上がるなどの危険因子となることが指摘されている。

（３）剖検所見

肝膵臓の組織切片を作製し、ヘマトキシリン・エオシン染色を施すと、細管上皮細胞内には好塩基性の初期ライフステージの胞子および好酸性から好塩基性の胞子、細管内腔には遊離胞子が確認できる。

(4) 診断法

①初動診断法：PCR 検査

材料；肝臓（検体が体長7cm未満あるいは臓器の採取が難しい場合は頭胸部）の抽出 DNA。

プライマー；

EHP-510F：5'-GCC-TGA-GAG-ATG-GCT-CCC-ACG-T-3'

EHP-510R：5'-GCG-TAC-TAT-CCC-CAG-AGC-CCG-A-3'

増幅産物サイズ；510 bp

反応；94°Cで3分間、続いて 94°Cで 30 秒間、60°Cで 30 秒間、72°Cで30 秒間を 35 サイクル、最後に 72°Cで5分。

判定；目的サイズのバンドが検出された個体（サンプル）を陽性、されなかった個体（サンプル）を陰性と判定する。

②最終診断法：リアルタイム PCR 検査および遺伝子配列解析

材料；肝臓（検体が体長7cm未満あるいは臓器の採取が難しい場合は頭胸部）の抽出 DNA。

プライマー；

qEHP-F157：5'-AGT-AAA-CTA-TGC-CGA-CAA-3'

qEHP-R157：5'-AAT-TAA-GCA-GCA-CAA-TCC-3'

TaqManプローブ

[FAM]-TCC-TGG-TAG-TGT-CCT-TCC-GT-[TAMRA]

増幅産物サイズ；157 bp

PCR 反応；最初に95°Cで30 秒間、次に95°Cで 5 秒間、60°Cで 30 秒間を 40 サイクル。

方法および判定；検査個体（サンプル）がリアルタイムPCR 検査により陽性と判定された場合、別途①PCR 検査を実施し、その増幅産物の配列解析を行い、データベースに登録されているEHPの塩基配列を参考に判定する。

(5) 病理組織学的所見

- ①病理組織学的観察によって、肝臓（中腸腺）の細管（盲嚢）上皮細胞（tubule epithelial cells）における微孢子虫類の各ライフステージの存在、溶解または脱落した細管上皮細胞から細管腔（tubule lumens）へ放出された胞子を見ることができる。これらの特徴は、標準的なヘマトキシリン・エオシン染色組織切片を用いて観察することができる。胞子は1 μ m と非常に小さいので油浸レンズを用いる必要がある。軽度の感染では、胞子と宿主の組織細片などと区別ができない。
- ②肝臓の押しつぶし標本の観察では、重度の感染の場合は胞子や胞子形成過程の組織の様子が観察できる。染色はフロキシシン B、マラカイトグリーン、エオシンが使用される。塗抹標本をヘマトキシリン・エオシン染色すると、より明確に胞子や胞子形成過程の組織が観察できる。

(6) 類似疾病検査

なし。

(7) 消毒

本疾病の病原体の孢子については、下記の方法で不活化が確認されている。

- ① -20℃で 2 時間凍結、15ppm KMnO₄ 15 分間、40ppm 次亜塩素酸カルシウム（さらし粉、有効塩素 65%）15 分、10ppm 次亜塩素酸カルシウム（前に同じ）24 時間、20%エタノール 15 分間などの処理で、極管の弾出が観察されなくなり、不活化が確認されている。
- ② 200ppm のホルマリン 24 時間処理では 95%の孢子が不活化される。
- ③70℃ 15 分間の処理で孢子が不活化される。

(8) その他

なし