

プロフィールリスト

1. 病名	Epizootic hematopoietic necrosis (EHN) (1) (2) (3) 流行性造血器壊死症	
2. 病原体	EHNV	
	a) 分類	イリドウイルス科 (Iridoviridae) ラナウイルス属 (Ranavirus)
	b) 形態	150~180nm, ウイルス粒子は正二十面体 (4)(5)(6)
	c) 特徴	DNAウイルス (dsDNA) DNAの大きさ: 127,011 bp (末端の重複を含めない場合) 20種のウイルスタンパク質: 分子量20~152Kda (5)
3. 地理的分布	・オーストラリア (レッドフィンパーチはオーストラリア南東部 (Victoria州、New South Wales州、South Australia州、およびAustralia Capital Territory (7) (8)にかけて広がっている。ニジマスはNew South Wales州の一部の水系の養殖場に限られる(7。))	
4. 宿主	<p>(自然発症)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・レッドフィンパーチ (<i>Perca fluviatilis</i>) (2) (3) ・ニジマス (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) (9) <p>(人為感染)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・カダヤシ (<i>Gambusia affinis</i>) (10) ・タイセイヨウサケ (<i>Salmo salar</i>) (10) ・Australian bass (<i>Macquaria novemaculeata</i>) (10) ・golden perch (<i>Macquaria ambigua</i>) (10) ・macquarie perch (<i>Macquaria australasica</i>) (10) ・mountain galaxias (<i>Galaxias olidus</i>) (10) ・murray cod (<i>Maccullochella peelii</i>) (10) ・silver perch (<i>Bidyanus bidyanus</i>) (10) ・black bullhead (<i>Ameirus melas</i>) (11) ・pike (<i>Esox lucius</i>) (12) 	
5. 発生情報		
	a) 潜伏期間	—
	b) キャリアー	ニジマス (13) (14) (15) (16), レッドフィンパーチ(14) (3)がキャリアーとなると考えられる他、murray codやタイセイヨウサケ(10), pike(11)がキャリアーとなる可能性がある。
	c) 感染経路	・水平感染 ・環境中に長く感染性を保持したまま残っている原因ウイルスや保菌状態の魚から感染すると推定
	d) ベクター	・汚染したネット, ポート, 釣り用の餌魚, 鳥
	e) 蔓延状況(死亡率、罹患率など)	・レッドフィンパーチでは大量死を伴う。 ・ニジマスでは大量死を伴わない(日間死亡率0.2%以下, 累積死亡率4%)。
	f) 感染ステージ	・全てのステージ
	g) 感染要因	<p>ニジマス</p> <ul style="list-style-type: none"> ・劣悪な飼育環境(過密, 給水不足, 残餌の腐敗) ・病気の発生は11-20°C <p>レッドフィンパーチ</p> <ul style="list-style-type: none"> ・病気の発生は夏に多い。抗体を持たない当歳魚が餌となるプランクトンの多い水深の浅い高温なところに群れることで発症する。一方親魚は底生生物を餌とし、水深の深い水温の低いところにいるので発症しにくい(11)。 ・人為感染の場合水温により発症までの期間が異なり、低温(12-18°C)では遅く(10-28日)、高温(18-21°C)では早い(10-11日)。なお親魚は12°C以下では発症しない(11)。 ・ヨーロッパのレッドフィンパーチにおいても水温により感受性が異なることが知られている(13)。
6. 症状		

a) 臨床症状	<p>全体</p> <ul style="list-style-type: none"> ・特異的な症状はない。少数個体に、腎臓・肝臓・脾臓の肥大が見られる。肝臓の壊死領域に白色または黄色の点が認められることがある。 <p>レッドフィンパーチ (2) (3) (17)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・異常遊泳 ・鼻腔周辺の発赤 ・幼魚では体側筋中に浮腫 ・鰭基部の点状出血 ・成魚では肝臓に1～3 mmの白斑 ・幼魚では肝臓の退色 ・幼魚の脾臓では肥大, 退色, ゼラチン様 <p>ニジマス (9) (17)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・摂餌不良 ・腹部膨満 ・眼球突出 ・平衡失調 ・皮膚および鰭の褐色斑
b) 組織検査	<p>レッドフィンパーチ (2) (3) (17)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・腎臓の造血組織, 肝臓, 脾臓, 膵臓にも壊死 ・腎臓の造血細胞の球形化, 核濃縮 ・核肥大, 細胞質に封入体 <p>ニジマス (9) (17)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・腎臓造血組織, 脾臓, 肝臓および消化管上皮細胞の壊死 ・肝臓, 腎臓および脾臓に封入体

7. 検査法

EHN	a) 標的器官	肝臓, 腎臓(頭腎), 脾臓
	b) 簡易検査法	・ウイルス分離
	c) サーベランス	<ul style="list-style-type: none"> ・ELISA (抗原検出) ・PCR-REA (PCR産物の制限酵素切断パターン解析)
	d) 確定診断	<ul style="list-style-type: none"> ・ELISA (抗原検出) ・PCR-REA (PCR産物の制限酵素切断パターン解析) ・PCR-シーケンス解析
	(参考)ウイルス分離	
	培養細胞/分離培地	BF-2, FHM, EPC, CHSE-214/MEM培地
	培養条件	15～22℃
	CPE/コロニー性状	球形化, プラーク
	その他	-
	(参考)PCR	
DNA 抽出法	他のDNAウイルスのDNA抽出法に準じてよいと考えられる。	
プライマー、産物サイズ	<p>(1) PCR-REA</p> <p>MCP-1 (321 bp)</p> <p>M151: 5'-AACCCGGCTTTTCGGGCAGCA-3'</p> <p>M152: 5'-CGGGGCGGGTTGATGAGAT-3'</p> <p>MCP-2 (625 bp)</p> <p>M153: 5'-ATGACCGTCGCCCTCATCAC-3'</p> <p>M154: 5'-CCATCGAGCCGTTTCATGATG-3'</p> <p>(2) PCR-シーケンス解析</p> <p>forward primer: 5'-CGCAGTCAAGGCCTTGATGT-3'</p> <p>reverse primer: 5'-AAAGACCCGTTTTGCAGCAAAC-3'</p>	

	プロトコル	(1)PCR-REA 94°C, 3分 94°C30秒、50°C30秒、72°C1分、35サイクル 72°C, 5分 →MCP-1は制限酵素PflM I, MCP-2はHinc II, Acc I, Fnu4H I で処理後、泳動(OIEマニュアル記載の断片のパターンでEHNVを確認) (2)PCR-シーケンス解析 95°C60秒、55°C60秒、72°C1分 35サイクル 72°C15分 →シーケンス解析
8. 対 策		
	a) 殺菌・滅菌方法	・70 %エタノール, 200 mg / L 次亜塩素酸, 60°C・15分間の熱処理 (15) ・クロルヘキシジン(150 mg / L, 1分) (19) ・ペルオキシ-硫酸カリウム(200 mg / L, 1分) (19)
	b) ワクチン	なし
	c) その他	ニジマスでは、飼育密度を減らすことや適切な水質管理で被害を低減できる。皮膚を健全にすることが効果を発揮しているものと考えられる。
9. 発生事例		1984 オーストラリアのレッドフィンパーチ(2)(3) 1986 オーストラリアのニジマス(9) 酷似したイリドウイルス症が フランスのcatfish (<i>Ictalurus melas</i>) (ECV)(21), ドイツのsheatfish (<i>Silurus glanis</i>) (ESV)(22), デンマークの turbot (<i>Scophthalmus maximus</i>) (22)や フィンランドの幾つかの魚種 (23)で発生している。
10. その他		ECVとESVは同一のウイルスであり、一時OIEにEHNの病原体としてEHNVとともにこれらのウイルスも入れられていた時期があったが、現在では外され、EHNVのみとなっている。

出典

- (1) Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals 2014 Section 2.3 Diseases of fish
- (2) Langdon J. S., Humphrey J. D., Williams L. M., Hyatt A.D. & Westbury H. A. (1986). First virus isolation from Australian fish: an iridovirus-like pathogen from redfin perch, *Perca fluviatilis* L. *J. Fish Dis.*, 9, 263-268.
- (3) Langdon J. S., Humphrey J. D. (1987). Epizootic Hamatopoietic Necrosis a new Viral Disease in Redfin Perch *Perca fluviatilis* L in Australia. *J. Fish Dis.*, 9, 263-268.
- (4) Eaton B. T., Hyatt A. D. & Hengstberger S., (1991) Epizootic haematopoietic necrosis virus: Purification and classification, *J. Fish Dis.*, 14, 157-169.
- (5) Hedrick R. P., McDowell T., S., Ahne W., Torhy C. & de Kinkelin P. (1992). Properties of three iridovirus-like agents associated with systemic infections of fish. *Dis. Aquat. Org.*, 13, 203-209.
- (6) Hengstberger S. G., Hyatt A. D. & Coupar B. E. H. (1993). Comparison of epizootic haematopoietic necrosis and Bole iridovirus, recently isolated Australian iridoviruses. *Dis. Aquat. Org.*, 15, 93-107.
- (7) Wittington R. J., Becker J. A.. (2010). Iridovirus infections in finfish- critical review with emphasis on ranaviruses. *J. Fish Dis.*, 33, 95-122.
- (8) Wittington R. J., Kearns C., Hyatt A. D., Hengstberger S. & Rutzou T. (1996). Spread of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHN) in red fin perch (*Perca fluviatilis*) in southern Australia. *Aust. Vet. J.*, 73, 112-114.
- (9) Langdon J. S., Humphrey J. D. & Williams L. M. (1988). Outbreaks of an EHN-like iridovirus in cultured rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, in Australia *J. Fish Dis.*, 11, 93-96
- (10) Langdon J. S. (1989). Experimental transmission and pathogenicity of epizootic hamatopoietic necrosis virus (EHN) in redfin perch, *Perca fluviatilis* L., and 11 other teleosts. *J. Fish Dis.*, 12, 295-310.
- (11) Gobbo F., Cappellozza E., Pastore M. R. & Bovo G. (2010). Susceptibility of black bullhead *Ameiurus melas* to a panel of ranavirus isolates. *Dis. Aquat. Org.*, 90, 167-174.
- (12) Bang Jensen B., Ersboll A. K. & Ariel E. (2009). Susceptibility of pike *Esox lucius* to a panel of ranavirus isolates. *Dis. Aquat. Org.*, 83, 169-179.
- (13) Wittington R. J., Philbey A., Reddacliff G., & Maggown A. R. (1994). Epidemiology of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHN) infection in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum): findings based on virus isolation, antigen capture ELISA and serology. *J. Fish Dis.*, 17, 205-218.
- (14) Wittington R. J. & Reddacliff G. (1995). Influence of environmental temperature on experimental infection of redfin perch (*Perca fluviatilis*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with epizootic haematopoietic necrosis virus, an Australian iridovirus. *Aust. Vet. J.*, 72, 421-424.

- (15) Wittington R. J., Reddacliff L. A., Marsh I., Kearns C., Zupanovic Z. & Callinan R. B. (1999). Further observations on the epidemiology and spread of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) in farmed rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in southeastern Australia and a recommended sampling strategy for surveillance. *Dis. Aquat. Org.*, 35, 125–130.
- (16) Ariel E. & Bang Jensen B. (2009). Challenge studies of European stocks of redfin perch, *Perca fluviatilis* L., and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), with epizootic haematopoietic necrosis virus. *J. Fish Dis.*, 32, 1017–1025.
- (17) Reddacliff G. & Wittington R. J. (1996). Pathology of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) and redfin perch (*Perca fluviatilis* L.). *J. Comp. Pathol.*, 115, 103–115.
- (18) Langdon J. S. (1989). Experimental transmission and pathogenicity of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) in redfin perch, *Perca fluviatilis* L. in Australia. *J. Fish Dis.* 12, 289–298.
- (19) Bryan et al., (2009). Efficacy of select disinfectants at inactivating Ranaviruses. *Dis Aquat. Org.*, 84, 89–94.
- (20) Pozet F., Morand M., Moussa A., Torhy C. & De Kinkelin P. (1992). Isolation and preliminary characterization of a pathogenic icosahedral deoxyribovirus from the catfish (*Ictalurus melas*). *Dis Aquat Org.*, 14, 35–42.
- (21) Arne W., Bearzotti M., Bremont M. & Essbauer S. (1998). Comparison of European systemic piscine and amphibian iridoviruses with epizootic haematopoietic necrosis virus and frog virus 3. *J. Vet. Med. [B]*, 45, 373–383.
- (22) Bloch B. & Larsen J. L. (1993). An iridovirus-like agent associated with systemic infection in cultured turbot *Scophthalmus maximus* fry in Denmark. *Dis. Aquat. Org.*, 15, 235–240.
- (23) Ariel E. & Bang Jensen B. (2009). Comparison of Pike-perch (*Stizostedion lucioperca*), cod (*Gadus morhua*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) iridovirus isolates with reference to other piscine and amphibian iridovirus isolates. *European Association of Fish Pathologists, VII. International Conference on Diseases of Fish and Shellfish, Rhodes, Greece, 20–24 September.*