

プロファイルリスト

1. 病名		Gill-associated virus disease 鰓随伴ウイルス病
2. 病原体		Gill-associated virus (GAV)
	a) 分類 ¹⁾	一本鎖RNA +鎖 Nidovirales (ニドウイルス目) <i>Okavirus</i> (オカウイルス属) 本ウイルスは6種類の遺伝子型をもつイエローヘッド複合ウイルス群のうち遺伝子型2といわれるものである。 ※イエローヘッド病の原因ウイルスで知られているYellowhead virus; YHVは遺伝子型1
	b) 形態 ^{2, 3)}	エンベロープ; 有 ヌクレオカプシドの大きさ; 166~435nm x 16~18nm エンベロープに包まれたウイルスの大きさ; 183~200nm x 34~42nm
	c) 特徴	-
3. 地理的分布 ^{1, 3)}		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。
4. 宿主		自然感染はウシエビ (<i>P. monodon</i>) のみであるが ⁶⁾ 、実験感染はブラウンタイガープローン (<i>P. esculentus</i>)、バナナエビ (<i>Fenneropenaeus merguensis</i>)、クルマエビ (<i>M. japonicus</i>) でも起こり、死亡を引き起こす。クルマエビでは、20g以上の大きな個体は、6~13gの小さな個体よりも感受性が低い ⁴⁾ 。
5. 発生情報		
	a) 潜伏期間	不明
	b) キャリアー	自然下では、本ウイルスに感染したウシエビ (<i>P. monodon</i>)。実験下では、ブラウンタイガープローン (<i>P. esculentus</i>)、バナナエビ (<i>Fenneropenaeus merguensis</i>)、クルマエビ (<i>M. japonicus</i>) が宿主となることが明らかになっているため ⁴⁾ 、これらのエビ類もキャリアーになる可能性がある。
	c) 感染経路	本ウイルスと同様にイエローヘッド複合ウイルス群のウイルスの1つであるイエローヘッドウイルス (遺伝子型1) は、共食いや同居飼育による水平感染が成立することから、本ウイルスでもこれらの経路により容易に感染すると想定される。
	d) ベクター	知られていない
	e) 蔓延状況 (死亡率、罹患率など)	日本では未発生である。オーストラリアでは、天然のウシエビの有病率が100%に達するところもある ⁶⁾ 。オーストラリアのウシエビ養殖場では本疾病の感染により、死亡率が80%に達することがある ⁷⁾ 。注射により実験感染させたウシエビ及びクルマエビの死亡率は100%であった ³⁾ 。実験感染を耐過したブラウンタイガープローンは、少なくとも50日間の慢性的な感染が続く ⁸⁾ 。
	f) 感染ステージ	クルマエビにおいて本ウイルスは、20g以上の大きな個体は、6~13gの小さな個体よりも感受性が低い ⁴⁾ 。ウシエビにおいて遺伝子型1のYHVは、ポストラーバ(PL)15以降のものが感染しやすい。
	g) 感染要因	垂直感染は雌雄どちらを介しても起こり、卵及び精子表面に病原体が付着していること及び受精卵の周りの組織が感染していることが要因であると考えられている ⁵⁾ 。人為感染では、病エビの組織からの抽出物を濾過し細菌を取り除いたものを注射すると感染が成立する ³⁾ 。
6. 症状		
	a) 臨床症状	臨床症状として、水面近くや池の端を遊泳する、摂餌しなくなる、胴体及び脚が赤くなる、鰓がピンク色から黄色に退色する等があげられる ³⁾ 。
	b) 組織検査	不明
7. 検査法		
	a) 標的器官	リンパ様器官、鰓をはじめとするエビ類の各臓器
	b) 簡易検査法	-
	c) サーベランス	RT-nested PCR法、RT-qPCR法
	d) 確定診断 ⁹⁾	RT-nested PCR法、RT-qPCR法
(参考)細菌分離		
	分離培地	-
	培養条件	-
	コロニー性状	-
	その他	-

(参考)PCR		
RNA 抽出法 ^{9), 10)}	RT-PCR キット: SuperScript III One-Step RT-PCR (インビトロジェン社)	
プライマー、産物サイズ ^{9), 10)}	<p>1. RT-PCR 法—(RT-nested PCR)⁹⁾</p> <p>サンプリング部位: 病エビのリンパ組織、鰓あるいは血リンパの抽出RNA プライマー; 【1st RT-PCR】 (YHVおよびGAV共通。増幅産物サイズ; 794bp) GY1: 5'-GAC ATC ACT CCA GAC AAC ATC TG-3' GY4: 5'-GTG AAG TCC ATG TGT GTG AGA CG-3'</p> <p>【2nd PCR】 (YHV 特異的。増幅産物サイズ; 277bp) GY2: 5'-CAT CTG TCC AGA AGG CGT CTA TGA-3' Y3: 5'-ACG CTC TGT GAC AAG CAT GAA GTT-3'</p> <p>(GAV特異的。増幅産物サイズ; 406bp) GY2: 5'-CAT CTG TCC AGA AGG CGT CTA TGA-3' G6 : 5'-GTA GTA GAG ACG AGT GAC ACC TAT-3'</p> <p>2. RT-qPCR法¹⁰⁾ GAVQPF1: 5' -GGG ATC CTA ACA TCG TCA ACG T-3' GAVQPR1: 5' -AGT AGT ATG GAT TAC CCT GGT GCA T-3' TaqMan probe FAM labeled TAMRA GAVprobe1: 5' -6FAM-TCA GCC GCT TCC GCT TCC AAT G-3' (増幅産物サイズ : 81 bp)</p>	
プロトコル ^{9), 10)}	<p>1. RT-nested PCR法⁹⁾</p> <p>【1st RT-PCR】 i. 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。反応は、60°Cで30 分間逆転写反応後、94°Cで2 分間処理し、次いでPCR 反応として、95°Cで30 秒間、66°Cで30 秒間、72°Cで45 秒間を35 サイクル、最後に72°Cで7 分間行う。 ii. RT-PCR 反応液5 μL を採取し、電気泳動用サンプル緩衝液と混合後、増幅産物を適当なDNA 分子量マーカーとともに1%程度のアガロースゲルで電気泳動を行い、増幅産物のバンドの有無を観察する。</p> <p>【2nd PCR】 i. 1st RT-PCR 反応液(1 μL) および陽性対照cDNA をテンプレートとして、上記のプライマーセット(GY2/Y3) を用いてPCR 反応を行う。反応は、95°Cで30 秒間、66°Cで30 秒間、72°Cで45 秒間を35 サイクル、最後に72°Cで7 分間行う。 ii. PCR 終了後、増幅産物を適当なDNA 分子量マーカーとともに2%程度のアガロースゲルで電気泳動を行い、増幅産物のバンドの有無を観察する。</p> <p>2. RT-qPCR法¹⁰⁾ 抽出した核酸および対照RNA をテンプレートとして、random hexamer primerを用いた逆転写反応を行う。逆転写反応後、上記のプライマーセット(GAVQPF1/GAVQPR1およびTaqman probe) qPCR反応を行う。すなわち、95°Cで10 分間処理し、次いで95°Cで15秒間、60°Cで1分間の反応を45サイクル繰り返す。</p>	
8. 対 策		
	a) 殺菌・滅菌方法	情報はないが、通常の殺菌剤で不活化できるものと思われる。
	b) ワクチン	-
	c) その他	有効な予防、治療法は知られていない。 ORF1a/1b replicase genesを標的としたdsRNAの投与が感染個体のウイルス量を減少させることは知られているが、生残率の向上には寄与しない。 ¹¹⁾
9. 発生事例	日本では未発生である。オーストラリアでは、天然のウシエビの有病率が100%に達するところもある ⁶⁾ 。オーストラリアのウシエビ養殖場では本疾病の感染により、死亡率が80%に達することがある ⁷⁾ 。注射により実験感染させたウシエビ及びクルマエビの死亡率は100%であった ³⁾ 。実験感染を耐過したブラウンタイガーブローンは、少なくとも50日間の慢性的な感染が続く ⁸⁾ 。	
10. その他	-	

出典

- 1) Wijegoonawardane et al., (2008). Genetic diversity in the yellow head nidovirus complex. *Virology* 380, 213–225.
- 2) Cowley et al., (2012) Family Roniviridae. In: *Virus Taxonomy, IXth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, King A., Adams M., Carstens E. & Lefkowitz E.J., eds. Elsevier, Academic Press, London, UK, 797–801.
- 3) Spann et al., (1997) A yellow-head-like virus from *Penaeus monodon* cultured in Australia. *Dis. Aquat. Organ.*, 31, 169–179.
- 4) Spann et al., (2000) Differences in susceptibility of some penaeid prawn species to gill-associated virus (GAV) infection. *Dis. Aquat. Organ.*, 42, 221–225.
- 5) Cowley et al., (2002) Vertical transmission of gill-associated virus (GAV) in the black tiger prawn *Penaeus monodon*. *Dis. Aquat. Organ.*, 50, 95–104.
- 6) Cowley et al., (2000) Detection of Australian gill-associated virus (GAV) and lymphoid organ virus (LOV) of *Penaeus monodon* by RT-nested PCR. *Dis. Aquat. Organ.*, 39, 159–167.
- 7) Oanh et al., (2011) Pathogenicity of gill-associated virus and Mourilyan virus during mixed infections of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *J. Gen. Virol.*, 92, 893–901.
- 8) Spann et al., (2003) Detection of gill-associated virus (GAV) by in situ hybridisation during acute and chronic infections in *Penaeus monodon* and *Penaeus esculentus* shrimp. *Dis. Aquat. Org.*, 56, 1–10.
- 9) OIE Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals 2014 (2012), chapter 2.2.8. Yellow Head Disease
- 10) Vega et al. (2004) Quantitative real-time RT-PCR demonstrates that handling stress can lead to rapid increases of gill-associated virus (GAV) infection levels in *Penaeus monodon*. *Dis. Aquat. Organ.*, 95, 195–203.
- 11) Sellars et al. (2014) Reduced loads of pre-existing Gill-associated virus (GAV) infection in juvenile *Penaeus monodon* injected with single or multiple GAV-specific dsRNAs. *Aquaculture*, 434, 272–276.