

プロファイルリスト

1. 病名	Infection with <i>Aphanomyces astaci</i> (Crayfish plague) ザリガニのアファノマイセス症	
2. 病原体	<i>Aphanomyces astaci</i>	
	a) 分類	クロミスタ界(Chromista)またはスタラメノパイル(Stramenopiles)亜界 卵菌類(Oomycetida)、 <i>Aphanomyces</i> 属 水生菌類の1種。本病原体が属する卵菌類(Oomycetida)は長らく真菌とされていたが、現在は原生動物のクロミスタ界あるいはスタラメノパイル亜界に分類されている
	b) 形態	・栄養菌糸は無隔壁で通常7-9 μm(5 - 10 μm)の範囲 ・若く活性のある菌糸は細胞質内におびただしい小球の粗顆粒が密集
	c) 特徴	4グループ(A-D)に分類 (RAPD PCR) ・A: ヨーロッパザリガニ(<i>Astacus</i>)株 ヨーロッパザリガニ(<i>Astacus astacus</i>)、ザリガニの1種(<i>Astacus leptodactylus</i>)から分離、ヨーロッパに古くから分布。 ・B: ウチダザリガニ (<i>Pacifastacus</i>) 株I スウェーデンのヨーロッパザリガニとアメリカのウチダザリガニ (<i>Pacifastacus leniusculus</i>) から分離。ウチダザリガニからヨーロッパに導入 ・C: ウチダザリガニ株II カナダのウチダザリガニから分離 ・D: アメリカザリガニ (<i>Procambarus</i>) 株 スペインのアメリカザリガニ (<i>Procambarus clarkii</i>)から分離北欧で分離された株と比較し、高水温環境で良く生育する ・ヨーロッパザリガニ株(グループA)は弱毒化しており、1960年代にアメリカからヨーロッパに侵入したウチダザリガニ由来の株と比較して低病原性
3. 地理的分布	・北アメリカのザリガニの全生息域(ヨーロッパ、北アメリカ、イタリア、北部ドイツ、ロシア、フィンランド、スウェーデン、スペイン、ノルウェーなど)。2011年現在、オーストラリアとニュージーランドには侵入していない。	
4. 宿主	<ul style="list-style-type: none"> ・全ての淡水ザリガニは感受性があると想定 ・ヨーロッパのザリガニ <ul style="list-style-type: none"> ヨーロッパザリガニ (<i>Astacus astacus</i>) : 北西ヨーロッパ ホワイトクロウドザリガニ (<i>Austroptamobius pallipes</i>) : 南西、西ヨーロッパ ストーンクレイフィッシュ (<i>Austroptamobius torrentium</i>) : 南西ヨーロッパ山間部 ターキッシュクレイフィッシュ (<i>Astacus leptodactylus</i>) 東ヨーロッパ、小アジア ・オーストラリアのザリガニ類(実験感染) ・北アメリカのザリガニ類(通常では症状なし) <ul style="list-style-type: none"> ウチダザリガニ (<i>Pacifastacus leniusculus</i>) アメリカザリガニ (<i>Procambarus clarkii</i>) オルコネクテス属 (<i>Orconectes</i> spp) ・淡水ザリガニ以外の甲殻類では、中国モクズガニ (<i>Chinese mitten crab</i>, <i>Eriocheir sinensis</i>) が唯一感受性あり 	
5. 発生情報		
	a) 潜伏期間	—
	b) キャリアー	・北アメリカザリガニ(全ての北アメリカ大陸由来のザリガニに不顕性感染しうるため、北アメリカからの移入種等が長期にわたってキャリアーとなる懸念)
	c) 感染経路	・水平感染(同居、飼育水経由)
	d) ベクター	魚、網、ブーツ、衣服など
	e) 蔓延状況(死亡率、罹患率など)	・ヨーロッパザリガニでは極めて高い死亡率 ・北アメリカの種では感染はするが症状は示さない
	f) 感染ステージ	・全ステージ
	g) 感染要因	・発病には水温が関与。4-20°Cで増殖し、高水温ほど増加傾向 ・アメリカザリガニ株のみ27°C内でも胞子形成胞子形成 ・胞子形成は、pH 5-8 (至適 pH 5-7)、遊走子活性はpH4.5-9 (至適 pH 6-7.5)
6. 症状		
	a) 臨床症状	<ul style="list-style-type: none"> ・症状は条件などにより様々 ・日中出てきて、逃避行動も示さなくなる。 ・病巣が肉眼で観察(皮下の筋肉が白濁) ・時として表皮、筋肉が茶色に着色(菌糸が観察)(北アメリカのザリガニ) ・時として体表にメラニン沈着
	b) 組織検査	—

7. 検査法	
a) 標的器官	<ul style="list-style-type: none"> ・外骨格クチクラ ・ヨーロッパザリガニでは表皮を貫通して体内に侵入(全器官に感染) ・北アメリカザリガニでは、感染は外骨格のクチクラ層に局限
b) 簡易検査法	・ウェットマウント:体表の菌糸観察
c) サーパーランス	PCR, qPCR
d) 確定診断	in situ ハイブリダイゼーション, PCR, qPCR, シーケンス
(参考)ウイルス/細菌分離	
培養細胞/分離培地	培地: 12.0 g 寒天; 1.0 g 酵母エキス; 5.0 g グルコース、10 mg オキシリン酸、1.0gペニシリン/1 L 河川水
培養条件	16°C ~ 24°C
CPE/コロニー性状	<ul style="list-style-type: none"> ・無色の菌糸のコロニーを形成 ・栄養菌糸は無隔壁で通常7 - 9 μm (5 - 10 μm)の範囲 ・若く活性のある菌糸は細胞質内におびただしい小球の粗顆粒が密集
その他	-
(参考)PCR	
DNA 抽出法	市販のDNA抽出キット
プライマー、産物サイズ	<p>1. PCR: ITS領域</p> <p>BO 42: 5'-GCT-TGT-GCT-GAG-GAT-GTT-CF-3'</p> <p>BO 640: 5'-CTA-TCC-GAC-TCC-GCA-TTC-TG-3'</p> <p>569 bp +シーケンス</p> <p>2. Taqman real time PCR : ITS領域</p> <p>AphAstITS-39F: 5'-AAG-GCT-TGT-GCT-GGG-ATG-TT-3'</p> <p>AphAstITS-97R: 5'-CTT-CTT-GCG-AAA-CCT-TCT-GCT-A-3'</p> <p>TaqMan MGB probe</p> <p>AphAstITS-60T: 5'-6-FAM-TTC-GGG-ACG-ACC-CMG-BNF-Q-3'</p> <p>(59 bp)</p>
プロトコル	<p>1. PCR (1st, 2nd)</p> <p>96°C 5分</p> <p>96°C 1分、59°C 1分、72°C 1分 (x 40 サイクル)</p> <p>72°C 7分</p> <p>2. Taqman real time PCR</p> <p>50°C 2分、95°C 10分</p> <p>95°C 15秒、58°C 1分 (x 50 サイクル)</p>
8. 対策	
a) 殺菌・滅菌方法	<ul style="list-style-type: none"> ・60°C又は-20°C以下、48時間以上 ・塩素剤、ヨード剤は器具洗浄に有効 ・十分な乾燥(24時間以上)
b) ワクチン	-
c) その他	-
9. 発生事例	<ul style="list-style-type: none"> ・1860年イタリアで初めて報告 ・黒海沿岸からドイツ、ロシアへ伝播 ・1907年にはスエーデンで発生 ・1960年代にはスペイン、1980年代にはイギリス、トルコ、ギリシャ、ノルウエーで発生 ・2014年、北海道河川のアメリカザリガニから本菌が検出
10. その他	<ul style="list-style-type: none"> ・実験室の人工培地ではよく育つが、自然界では宿主がいないと生存不可 ・蒸留水中で遊走子は3日間活動可能で、シストは2週間生存 ・胞子は2°Cで2ヶ月生残