

# 伝染性皮下造血器壊死症

## IHHN : Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis

### 1. 疫学

#### (1) 病名と病原体

① 病名：伝染性皮下造血器壊死症

英名：Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis (IHHN)

② 病原体：パルボウイルス科の IHHN ウイルス（国際ウイルス分類命名委員会では、暫定的にパルボウイルス科 *Brevdensovirus* 属の PstDENV としている）

少なくとも 4 つの遺伝子型が知られ、アメリカ大陸および東南アジアの遺伝子型がブルーシュリンプやウシエビ等に感染する。

#### (2) 発生地域

① 南北アメリカ大陸：アメリカ合衆国南東海岸、メキシコ、中南米諸国、カリブ海諸国

② 太平洋諸島：ハワイ、グアム、タヒチ、ニューカレドニア

③ 東南アジア・インド洋水域：シンガポール、フィリピン、タイ、マレーシア、インドネシア、ミャンマー、イラン、オーストラリア

#### (3) 宿主域

① 自然発病は、主にブルーシュリンプ (*Penaeus stylirostris*)、ホワイトレッグシュリンプ (*P. vannamei*)、ウシエビ（ブラックタイガー）(*P. monodon*)。

② 実験感染では多くのえび類等が感受性を示す。

③ 本ウイルスは地域、宿主範囲が広いことが特徴である。

#### (4) 発症経過

① ブルーシュリンプでは、稚エビが急性 IHHN となった場合、摂餌が顕著に低下し、次いで行動や外観が変化する。罹病エビでは、養成池の水面までゆっくりと上昇し、回転後、腹面を上にしてゆっくり沈むなどの行動異常が観察される。この行動は体力が衰弱するか、共食いされるまでの数時間続く。

② ブルーシュリンプでは、稚エビ期の本疾病は急性であり、高い死亡率をもたらす。垂直感染した幼生、または早期のポストラーバでは病気は発生しないが、PL35 付近またはそれより後に発病し、大量死をもたらす。成エビへの感染では、病状が現れたり死亡することはまれである。

③ ホワイトレッグシュリンプにおいては、典型的な慢性病となる。

④ IHHNV 感染後、生存している個体は生涯ウイルスキャリアーとなり、水平および垂直感染によって次の世代や他の群へウイルスを伝染させる。

#### (5) 消毒

池等の消毒には塩素剤およびヨード剤が有効である。

### 2. 診断手法

#### (1) 臨床検査、剖検

##### ① 準備

解剖道具、スライドグラス、顕微鏡、チャック付きポリ袋、氷、記録用ノート

##### ② 取り上げ前

遊泳状況を観察する。

③ 取り上げ

- (a) 少なくとも 10 尾の瀕死エビまたは死亡直後の個体を採取する。
- (b) 外観症状を記載する。

④ 剖検

- (a) 体長、体重を測定する。
- (b) ハサミ・ピンセットを用いて解剖する。
- (c) 内臓の異常の有無を調べ、解剖所見を記載する。

⑤ 外観症状

- (a) ブルーシュリンプでは、特徴的な外観症状は乏しいが、腹部側甲継ぎ目のクチクラに白色または黄褐色のスポットが生じ、斑にみえる個体もある（写真 1）。この斑はやがて不鮮明となる。
- (b) 瀕死のブルーシュリンプとウシエビでは、青色化し、腹部筋肉組織が不透明化する個体もある。
- (c) ホワイトレッグシュリンプでは高頻度に RDS（Runt Deformity Syndrome：成育不良性変形症候群）が生じる。RDS 発症稚エビは額角の湾曲または変形、第 2 触角の波形変形、クチクラの粗化または変形を起こす（写真 2、3）。また、発症稚エビは全体的に成育不良であるとともに、サイズのばらつきが大きい。サイズのばらつきにおける変動係数は、RDS 非発症稚エビ（IHNN ウイルスフリー）が 10%から 30%であるのに対し、発症稚エビは 30%から 50%に達する。

⑥ 剖検所見

特徴的な所見は乏しい。



写真 1 IHNN に罹病したブルーシュリンプの外観症状。体表に白色または黄褐色の斑点 (矢印) が観察される。(D. V. Lightner 博士提供)



写真 2 IHNN に罹病し、成長不良性変形症候群を呈するホワイトレッグシュリンプ。額角および触覚の湾曲、変形が観察される。(D. V. Lightner 博士提供)

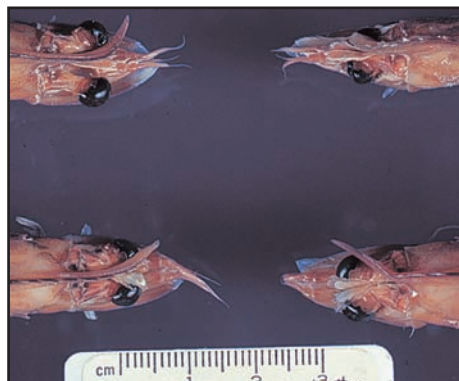


写真 3 IHNN に罹病し、成長不良性変形症候群を呈するホワイトレッグシュリンプの頭部。額角および触覚の湾曲、変形が観察される。(D. V. Lightner 博士提供)

## (2) PCR 法—方法 1

### ① 準備

- (a) 採取した病エビの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
- (b) PCR 法使用機器 (サーマルサイクラー、マイクロピペット、エッペンドルフチューブ、電気泳動装置、トランスイルミネーターなど) および試薬 (酵素など)
- (c) 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

### ② 手 技

- (a) 採取した病エビ試料を適当な DNA 抽出キットにより核酸抽出する。抽出法などは、使用するキットのマニュアルに従う。
- (b) PCR に際しては、テンプレートとして次の対照が必要である : a) IHHNV 陰性エビ組織から同様な方法で抽出した DNA、b) IHHNV 陽性エビ組織から同様な方法で抽出した DNA (IHHNV 陰性のエビ組織に陽性対照 cDNA プラスミド等を加えたものから抽出しても良い)、c) テンプレートなし。
- (c) 抽出した核酸および対照 DNA をテンプレートとして、上記のプライマーを用いて PCR 反応を行う。反応は、95℃で 5 分間、次いで 95℃で 30 秒間、55℃で 30 秒間、72℃で 1 分間を 35 サイクル、最後に 72℃で 7 分間行う。
- (d) PCR 終了後、増幅産物を適当な DNA 分子量マーカーとともに 1.5% 程度のアガロースゲルで電気泳動を行う。
- (e) 臭化エチジウム存在下、トランスイルミネーターにより分子量 389bp の増幅産物のバンドの有無を観察する。

## (3) PCR 法—方法 2

### ① 準備

- (a) 採取した病エビの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
- (b) PCR 法使用機器 (サーマルサイクラー、マイクロピペット、エッペンドルフチューブ、電気泳動装置、トランスイルミネーターなど) および試薬 (酵素など)
- (c) 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

### ② 手 技

- (a) 試料の調製法および PCR については、方法 1 と同じ。
- (b) 方法 1 と同様にして、PCR 終了後、電気泳動により分子量 392bp の増幅産物のバンドの有無を観察する。

## (4) 病理組織学的検査

### ① 準備

- (a) 解剖道具、シリンジ、固定用サンプル瓶、スライドガラス、カバーガラス、顕微鏡
- (b) ダビッドソン固定液 (95%エタノール 330mL、ホルマリン 220mL、酢酸 115mL、蒸留水 335mL)
- (c) パラフィン切片の作製に必要な器具および試薬、ヘマトキシリン・エオシン染色等の染色に必要な器具および試薬

## ② 手 技

- (a) サンプルの頭胸部等にダビッドソン固定液を注射（体重の5~10%）する。
- (b) サンプルの頭胸部等をダビッドソン固定液中で12~24時間固定し、その後70%エタノールに保存する。

常法によりパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオシン染色等を施す。

- (c) 顕微鏡を用いて組織観察を行う。

## ③ 病理組織学的所見

- (a) 外胚葉由来組織（鰓、前腸および後腸上皮、神経索、神経節）および中胚葉由来組織（造血器官、触覚腺細胞上皮、リンパ器官等）に炎症および核の肥大が観察される。
- (b) 上記組織の核内にエオシン好性のCowdry A型封入体（CAIs）が観察される（写真4、5）。

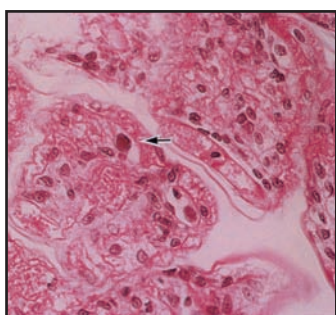


写真4 IHNN 罹病エビの鰓の病理組織像 (HE 染色)。核内にエオシンに染まった封入体 (矢印) が観察される。(D.V.Lightner 博士提供)



写真5 IHNN 罹病エビの鰓の病理組織像 (HE 染色、高倍)。核内にエオシンに染まった封入体 (矢印) が観察される。(D.V.Lightner 博士提供)

## 3. 診断のための養殖研究所への試料の送付

- ① PCR 検査で陽性または疑陽性と診断された個体の試料・記録を養殖研究所へ送付する。
- ② 送付するもの：臨床検査・剖検記録、PCR の泳動像写真、PCR 検査用組織試料（凍結、冷蔵あるいは70%エタノール固定）および病理組織学的検査用固定サンプル（ダビッドソン固定液で固定後、70%エタノールに置換・保存したもの）

## 4. 類似疾病検査

特になし。

## 5. 参考文献

- Bell, A.T. and D.V. Lightner (1988): A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology. The World Aquaculture Society.
- Fauquet C.M., M.A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger and L.A. Ball (2005): Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press, 1259 pp.
- Lightner, D.V. (Ed.) (1996): A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp. The World Aquaculture Society.
- World Organisation for Animal Health (OIE)(2006): Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals, Chapter 2.3.6.; [http://www.oie.int/eng/normes/fmanual/A\\_00053.htm](http://www.oie.int/eng/normes/fmanual/A_00053.htm).