

1. 疫学

(1) 病名と病原体

- ① 病名：タウラ症候群
英名：Taura syndrome (TS)
- ② 病原体：Taura syndrome virus (TSV) ピコルナウイルス科と考えられている。

(2) 発生地域

- ① 南北アメリカ大陸：アメリカ合衆国、メキシコ、中米諸国、ペルー、コロンビア、ブラジル。
- ② 東南アジア：インドネシア、タイ、マレーシア、ベトナム、ミャンマー、中国、台湾。

(3) 宿主域

- ① 自然発症エビ：主な宿主は、ホワイトレッグシュリンプ (*Penaeus vannamei*) であり、ブルーシュリンプ (*P. stylirostris*) でも報告されている。
- ② 実験感染エビ：ウシエビ (*P. monodon*)、クルマエビ (*P. japonicus*)、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*)、ノーザンピンクシュリンプ (*P. duorarum*)。

(4) 発症の特徴

- ① 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。ホワイトレッグシュリンプでは、0.05g から 5g 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。発症経過により急性期、移行期、慢性期の3段階に分けられる。
- ② 急性期では日間死亡率が高く、病エビは一般的に体全体が薄赤く変色し、特に尾脚と腹脚が顕著に赤くなる (写真1)。また、付属肢に部分的な上皮の壊死が認められる。明らかな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的である。
- ③ 急性期を生残したエビは移行期となる。移行期でも体色の赤色化と尾脚・腹脚の赤変は引き続き観察される (写真2)。この時期には多くの不規則な点状のメラニン沈着による上皮の病変がみられ (写真3)、このようなエビでは軟弱な上皮と赤色素胞の拡大を示すこともある。
- ④ 数日間の移行期を経過したエビは慢性期の感染状態となる。慢性期になると死亡はなくなり行動や摂餌も正常となる。肉眼で観察できる外見上の特徴は薄れ、移行期で観察されたメラニン沈着による病変も消失する。

(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) 外観症状を記録する。
- 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録する。
- ⑤ 外観症状
- (a) 体全体のやや赤い変色と尾脚・腹脚の顕著な赤色化（急性期、移行期）。
- (b) 尾脚のクチクラ上皮の部分壊死による先端部分のギザギザ模様（急性期、移行期）。
- (c) 柔らかい殻と空胃（急性期）。
- (d) 不規則で点状にメラニンが沈着した上皮（移行期）。
- (e) 慢性期では特徴的な病変は見られない。
- ⑥ 剖検所見
- 特徴的な所見に乏しい。



写真1 TSに罹病したホワイトレグシュリンプの外観症状（急性期、移行期）。体全体が赤みを帯び、特に尾脚は顕著な赤色を示す。

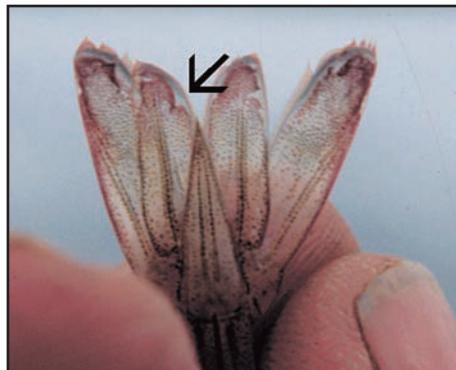


写真2 TSに罹病したホワイトレグシュリンプの外観症状（急性期、移行期）。尾脚のクチクラ上皮の部分壊死により先端部分にギザギザ模様が観察される。



写真3 TSに罹病したホワイトレグシュリンプの移行期の外観症状。体表全体の至る所で不規則に点状を示す上皮的メラニン沈着が観察される。

(2) 病理組織学的検査

① 準備

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

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）

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。
- (c) 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。
- (d) 顕微鏡を用いて組織観察を行う。

③ 病理組織学的所見

- (a) 急性期のタウラ症候群では、全ての足肢、鰓、後腸、食道、胃、体表のクチクラ上皮において、巣状ないしは拡散した上皮細胞の壊死が特徴的に観察される（写真4）。時としてクチクラ上皮下の結合組織や感染した上皮基部に接する筋繊維の細胞も感染する。
- (b) 病変部の壊死細胞では、核濃縮あるいは核崩壊した核、エオシン好性が増した細胞質、明白な細胞残渣が認められる（写真5）。この細胞残渣は、一般的にしばしばエオシン好性から薄い塩基性好性の球状体（直径1~20 μ m）であり、フォイルゲン反応（DNAに対して）陽性を示す濃縮あるいは崩壊した核からDNAを含まない細胞質内封入体として区別される（写真6）。これらの球状体および崩壊した核は“コショウがふられたような”あるいは“散弾銃の銃痕のような”様子で観察され、急性期のタウラ症候群の特徴となっている。
- (c) 移行期では、病巣に顕著な血球の浸潤および蓄積が起これ、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、このような病変はビブリオ属細菌による感染症等、他の原因によっても引き起こされる。
- (d) 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。

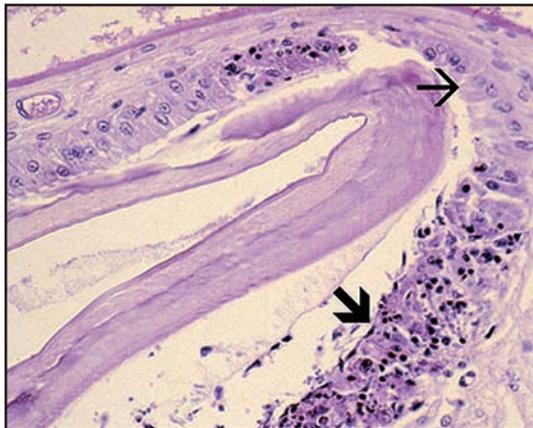


写真4 TSに罹病したホワイトレッグシュリンプの急性期の胃の病理組織像（HE染色）。クチクラ上皮の広範囲な壊死巣が観察される（太矢印）。隣接した組織では正常を示す（細矢印）。

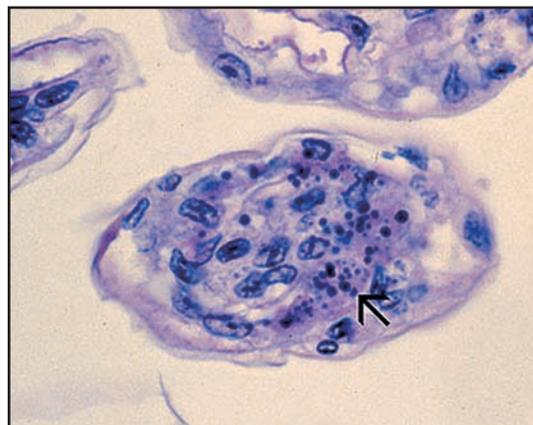


写真5 TSに罹病したホワイトレッグシュリンプの急性期の鰓の病理組織像（HE染色）。病変部の壊死細胞では、核濃縮あるいは核崩壊した核とエオシン好性が増した細胞質、および明白な細胞残渣が特徴的に認められる。

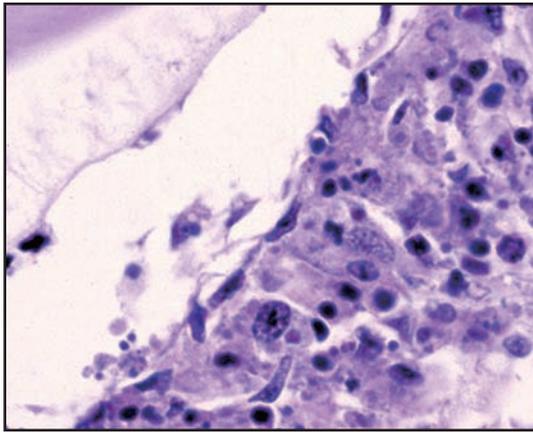


写真6 TSVに罹病したホワイトレグシュリンプの急性期の胃の病理組織像（HE染色、高倍率）。病変部のクチクラ上皮と上皮下の結合組織の細胞では、核濃縮あるいは核崩壊した核、エオシン好性が増した細胞質、様々な染色性を示す球状の細胞質封入体が認められる。これらの球状体および崩壊した核は“コショウがふられたような”あるいは“散弾銃の銃痕のような”様子で、本病で特徴的に観察される。

(3) RT-PCR 法—方法 1

① 準備

- (a) 採取した病エビの血リンパまたは組織試料
- (b) PCR法使用機器および試薬（サーマルサイクラー、マイクロピペット、マイクロチューブ、PCRチューブ、酵素・試薬類、電気泳動装置およびトランスイルミネーターなど）
- (c) プライマー

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

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

増幅産物サイズ : 213 bp

- (d) キット : The GeneAmp®, EZ rTth RNA PCR kit (アプライドバイオシステムズ社)

② 手技

- (a) RT-PCRに用いる試料は、新鮮なエビの血リンパかまたは適当なRNA抽出キットにより組織または血リンパから抽出されたRNAを用いる。これら新鮮な血リンパは1.0 μLを、抽出された全RNA（濃度：1~100ng/mL）は10 μLをテンプレートとして使用する。なお、抽出方法などについては、使用するキットのマニュアルに従うこと。

注意：10%のクエン酸ソーダは通常血リンパの血液凝固阻止剤として用いられるが、逆転写反応またはPCRに影響を与えるおそれがある。したがって、クエン酸ソーダによるPCRの反応阻害が疑われた場合は、テンプレートに使用した血リンパ原液を10倍に水で希釈して使用することを推奨する。

- (b) RT-PCRを実施する際には、テンプレートとして次の対照が必要である：a) TSV陰性の組織；b) TSV陽性の組織；c) テンプレートなし。
- (c) TSVを検出するための最適なRT-PCRの条件は、全量50 μLでの最終濃度として：5 × EZバッファー（25mM ビシン，57.5mM 酢酸カリウム，40%[w/v] グリセロール，pH8.2）中で、プライマー（各0.46 μM）、dNTPs（各300 μM）、rTth DNAポリメラーゼ（5.0U/50 μL）、酢酸マンガニン（2.5mM）である。
- (d) RNAのテンプレートとすべての試薬を混合し、逆転写をサーマルサイクラーで60℃で30分間行い、その後94℃2分間反応させる。
- (e) 逆転写の終了後、PCR反応として94℃で45秒間、60℃で45秒間を40サイクル行い、最後に60℃で7分間行う。
- (f) PCR終了後、増幅産物を適当なDNA分子量マーカータとともに、エチジウムブロマイドを添加した2.0%アガロースゲルで電気泳動を行う。
- (g) トランスイルミネーター下で分子量213 bpの増幅産物のバンドの有無を観察する。

(4) RT-PCR 法—方法 2

① 準備

- (a) 採取した病エビの血リンパまたは組織試料
- (b) PCR 法使用機器および試薬（方法 1 に同じ）
- (c) プライマー

TSV 55P1 F : 5'-GGC GTA GTG AGT AAT GTA GC-3'

TSV 55P2 R : 5'-CTT CAG TGA CCA CGG TAT AG-3'

増幅産物サイズ : 1303 bp

- (d) キット : Enhanced Avian HS RT-PCR kits (シグマアルドリッチ社)

② 手技

- (a) 試料の調製法、RT-PCR の対照等については (3) RT-PCR 方法 1 と同じ。
- (b) 酵素や試薬の濃度は使用する RT-PCR キットのマニュアルに従う。
- (c) 検査する RNA のテンプレートとすべての RT-PCR 用試薬を混合し、逆転写をサーマルサイクラーで 50℃で 45 分間行い、その後 95℃で 5 分間反応させる。
- (d) 逆転写の終了後、PCR 反応として 95℃で 60 秒、60℃で 45 秒、72℃で 90 秒を 40 サイクル行い、最後に 72℃で 5 分間行う。
- (e) PCR 終了後、増幅産物を適当な DNA 分子量マーカーとともに、エチジウムブロマイドを添加した 1.0% アガロースゲルで電気泳動を行う。
- (f) トランスイルミネーター下で分子量 1303 bp の増幅産物のバンドの有無を観察する。

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

- Brock J.A., Gose R.B., Lightner D.V. and Hasson K.W. (1997): Recent developments and an overview of Taura Syndrome of farmed shrimp in the Americas. In: Diseases in Asian Aquaculture III, Flegel T.W. and MacRae I.H., eds. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, the Philippines, 275-283.
- Erickson H.S., Zarin-Herzberg M. and Lightner D.V. (2002): Detection of Taura syndrome virus (TSV) strain differences using selected diagnostic methods: diagnostic implications in penaeid shrimp. Dis. Aquat. Org., 52(1),1-10.
- Hasson K.W., Lightner D.V., Mohny L.L., Redman R.M., Poulos B.T. and White B.L. (1999) Taura syndrome virus (TSV) lesion development and the disease cycle in the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. Dis. Aquat. Org., 36, 81-93.
- Lightner D.V. (Ed.) (1996): A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for

Diseases of Cultured Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA, 304 pp.

- Lightner D.V. and Redman R.M. (1998): Strategies for the control of viral diseases of shrimp in the Americas. *Fish Pathol.*, 33, 165-180.
- Lightner D.V. and Redman R.M. (1998): Shrimp diseases and current diagnostic methods. *Aquaculture*, 164, 201-220.
- Lightner D.V., Redman R.M., Hasson K.W. and Pantoja C.R. (1995): Taura syndrome in *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda): gross signs, histopathology and ultrastructure. *Dis. Aquat. Org.*, 21, 53-59.
- Lightner D.V., Redman R.M., Poulos B.T., Nunan L.M., Mari J.L., Hasson, K.W. and Bonami J.R. (1997): Taura syndrome: etiology, pathology, hosts and geographic distribution and detection methods. In: NRIA International Workshop New Approaches to Viral Diseases of Aquatic Animals, National Research Institute of Aquaculture, Nansei, Watarai, Mie 516-01, Japan, 190-205.
- Lotz J.M. (1997): Effect of host size on virulence of Taura virus to the marine shrimp *Penaeus vannamei* (Crustacea: Penaeidae). *Dis. Aquat. Org.*, 30, 45-51.
- Mari J., Bonami J.R. and Lightner D.V. (1998): Taura syndrome of Penaeid shrimp: cloning of viral genome fragments and development of specific gene probes. *Dis. Aquat. Org.*, 33, 11-17.
- Nunan L.M., Poulos B.T. Lightner D.V. (1998): Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) used for the detection of Taura Syndrome Virus (TSV) in experimentally infected shrimp. *Dis. Aquat. Org.*, 34, 87-91.
- Poulos B.T., Kibler R., Bradley-Dunlop D., Mohney L. L. and Lightner D.V. (1999): Production and use of antibodies for the detection of the Taura syndrome virus in penaeid shrimp. *Dis. Aquat. Org.*, 37, 99-106.