

2021年9月に開催されたOIE水生委員会のレポートへの  
日本のコメント

Annex 20 Infection with koi herpesvirus

(表 4.1. 健康な動物のサーベイランスと臨床的に影響を受けた動物の調査のためにOIEが推奨する診断法とその検証レベル)

Method	A. Surveillance of apparently healthy animals				B. Presumptive diagnosis of clinically affected animals				C. Confirmatory diagnosis <sup>1</sup> of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis			
	Early life stages <sup>2</sup>	Juvenile s <sup>2</sup>	Adults	LV	Early life stage s <sup>2</sup>	Juvenile es <sup>2</sup>	Adults	LV	Early life stages <sup>2</sup>	Juvenile s <sup>2</sup>	Adults	LV
Wet mounts												
Histopathology <sup>3</sup>						++	++	1				
Cell – culture						++	++	1				
Real-time PCR	+++	+++	+++	3	+++	+++	+++	3				
Conventional PCR					++	+++	+++	1	++	++	++	1
Conventional nested PCR	++	++	++	1	+++	+++	+++	1	++	++	++	1
Amplicon sequencing <sup>4</sup>									+++	+++	+++	1
In-situ hybridisation												
Bioassay												
LAMP						+++	+++	1				
IFAT						+	+	1				
ELISA												
Other antigen detection methods <sup>5</sup>												
Other method <sup>5</sup>												

コメント（案）：

以下の理由から、Conventional nested PCR が Lv1、"++" および "+++" の評価をされている論拠を教えてほしい。

Conventional nested PCR は、Engelsma et al. (2013)が報告したPCR法を指していると思うが、Engelsma et al. (2013)は論文の中で検出感度や特異性を報告していない。Engelsma et al. (2013)の方法は、全く検証されていないため、一つのプラス (“+”) である、“状況によっては使用できるが、コスト、信頼性、検証の欠如、その他の要因により適用が厳しく制限される”が適当であると思われる。

しかしながら、Table 4.1 では、彼らのPCR法に対して、Lv1、“++”および“+++”の評価がなされている。Lv1の評価を受けるには検出感度や特異性に関するデータが求められる (OIE Manual 2019)。また、“++”の評価は“適切な方法であるが、さらなる検証が必要な場合がある”診断技術、“+++”の評価は“示された目的のために検証された推奨方法で、通常はOIE Validation Pathwayのステージ3に準拠している”診断技術に対して与えられる評価である。

(参考)

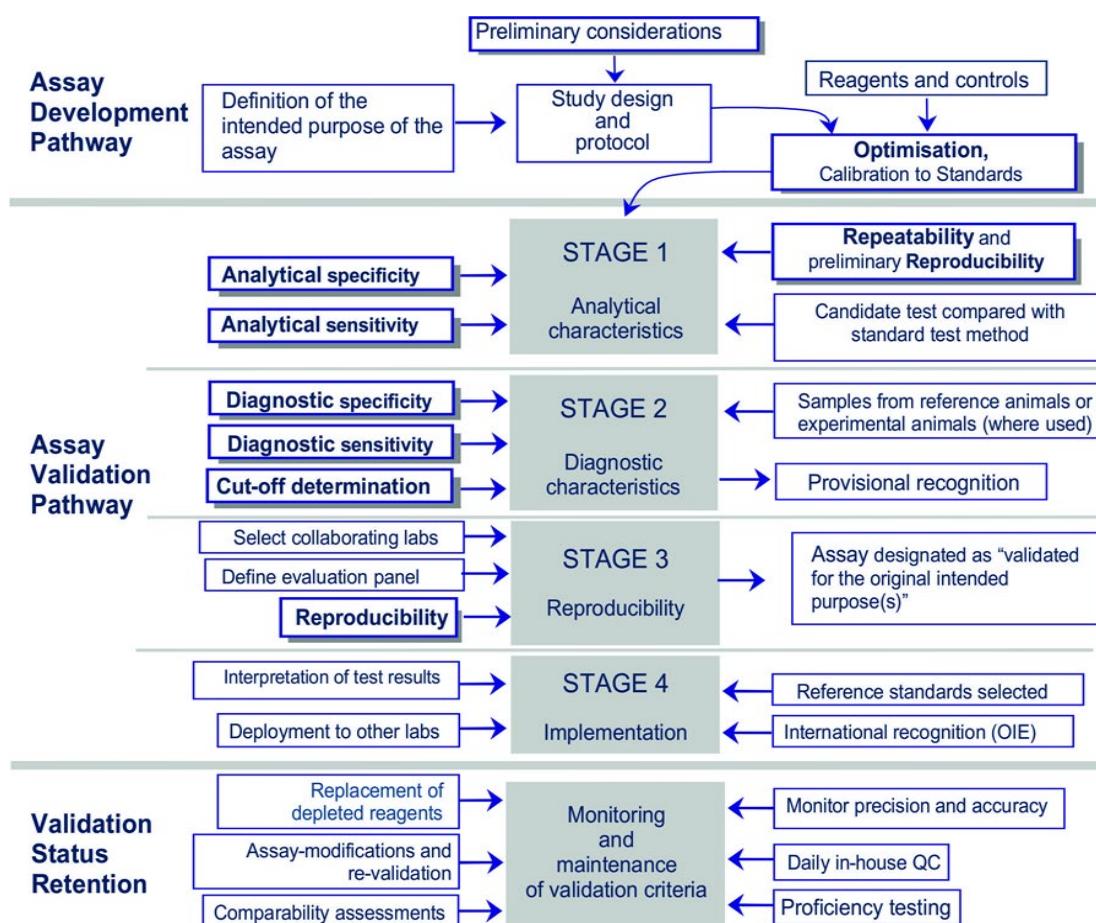
+++ = 示された目的のために検証された推奨方法で、通常はOIE Validation Pathwayのステージ3に準拠している。

++ = 適切な方法であるが、さらなる検証が必要な場合がある。

+= 状況によっては使用できるが、コスト、信頼性、検証の欠如、その他の要因により適用が厳しく制限される。

網掛け = この目的には適切ではない。

LV = 検査方法の検証レベル。以下の表のとおりに検証を行う。



OIE Manual 2019. PRINCIPLES AND METHODS OF VALIDATION OF DIAGNOSTIC ASSAYS FOR INFECTIOUS DISEASES

([https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/aahm/current/chapitre\\_validation\\_diagnostics\\_assays.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/aahm/current/chapitre_validation_diagnostics_assays.pdf)) より引用

(4.4.2. 定量 PCR) (挿入/削除)

(英文)

Furthermore, it should be noted that there is evidence that the published conventional PCR and real-time PCR methods, developed for the detection of KHV DNA in fresh tissue samples from clinically diseased carp, fail to detect other strains of cyprinid herpesvirus closely related to koi herpesvirus some KHV genotypes in clinically affected fish (Engelsma et al., 2013). Until this is resolved, in geographic locations where these variants may be present it is highly recommended that the assay described by Engelsma et al. (2013) is used i.e. it is recommended to use the nested or one tube semi-nested PCR assay or increase the cycle number of the single-round assay to detect the virus in apparently healthy carriers.

(仮訳)

さらに、臨床的に罹患したコイの新鮮な組織サンプル中の KHV DNA を検出するために開発された、公表されている従来型 PCR 法および定量 PCR 法では、臨床的に罹患した魚の KHV と近縁である、コイ科魚類に感染するヘルペスウイルスの株一部の KHV 遺伝子型を検出できないという証拠があることに留意する必要がある (Engelsma et al.、2013 年)。この問題が解決されるまでは、これらの変異体が存在する可能性のある地域では、Engelsma ら (2013) が記載したアッセイを使用することが強く推奨される。すなわち、見かけ上健康な保菌魚のウイルスを検出するためには、nested PCR または one-tube semi-nested PCRアッセイを使用するか、シングルラウンドアッセイのサイクル数を増やすことが推奨される。

コメント (案) :

“一部の KHV 遺伝子型”を“KHV と近縁である、コイ科魚類に感染するヘルペスウイルスの株”と置き換えるよう提案する。また、“この問題が解決されるまでは…”の文章を削除するよう提案する。これら提案の理由は以下のとおりである。

- 現時点では、Engelsma et al. (2013) が報告したウイルスが KHV であるという科学的根拠は十分に揃っていない。“Engelsma et al. (2013) の論文のタイトルである”コイヘルペスウイルスと近縁である、コイ科魚類に感染するヘルペスウイルスの新株”にあるように、彼らの報告しているウイルスは分類がはっきりしていない。
- Engelsma et al. (2013) が報告しているウイルスは、ウイルスのデータベースである ICTV にも登録されていない。また、当該ウイルスは病魚から分離されておらず、病原性も未知である。
- Engelsma et al. (2013) の論文では、考察の章において”本研究で得られたウイルスとコイヘルペスウイルスとのより正確な遺伝子距離を評価するには、より多くの遺伝子情報を決定する必要がある”という文も記述されている。

以上の事から、Engelsma et al. (2013) が論述した“KHV と近縁である、コイ科魚類に感染するヘルペスウイルスの株”を検出する診断方法を OIE Manual に掲載する前に、上述したような情報（当該株が KHV であるか、病原性があるか等）を収集すべきと考える。

(4.4.3. 従来型 PCR) (削除)

(英文)

~~Engelsma et al. (2013) reported that the published single-round PCR methods traditionally thought to be the most sensitive for detection of KHV DNA in fresh tissue samples fail to detect some KHV genotypes in clinically affected fish. Therefore, the assay described by Engelsma et al. (2013) is highly recommended when detecting KHV genotypes. By extending the number of cycles or using the nested second round of amplification the assay may also be suitable to detect virus in sub-clinical carriers. This method and other commonly used PCR protocols are shown in Table 4.4.3.1.~~

(仮訳)

~~Englesma et al. (2013) は、新鮮な組織サンプル中の KHV DNA を検出するのに最も感度が高いと従来から考えられていた公表済みのシングルラウンド PCR 法では、臨床的に影響を受けた魚の一部の KHV 遺伝子型を検出できないと報告している。そのため、KHV 遺伝子型を検出する際には、Engelsma ら (2013) が記載したアッセイが強く推奨される。サイクル数を増やしたり、ネスト化した第 2 ラウンドの増幅を使用したりすることで、このアッセイは不顕性キャリアのウイルス検出にも適しているかもしれない。この方法およびその他の一般的に使用される PCR プロトコルを表 4.4.3.1 に示す。~~

コメント (案) :

文章を全て削除するよう提案する。また、表 4.4.3.1 における Englesma et al. (2013) の方法を削除するよう提案する。

その理由は、パラグラフ 4.4.2 でコメントしたとおり、現時点では、Englesma et al. (2013) が報告したウイルスが KHV であるという科学的根拠は十分に揃っておらず、更なる科学的研究が必要であると考えるためである。

(5 見かけ上は健康な集団が無病であることを証明するためのサーベイランスに推奨される検査法) (挿入/削除)

(英文)

Real-time PCR is the recommended test for surveillance in apparently healthy animals to declare freedom from infection with KHV. However, there have been unpublished observations that the method may not detect the other strains of cyprinid herpesvirus closely related to koi herpesvirus KHV variants that were described by Englesma et al. (2013). ~~In geographic locations where these variants may be present, the conventional nested PCR published by Englesma et al. (2013) should also be considered.~~

(仮訳)

定量 PCR は、KHV に感染していないことを宣言するために、見かけ上健康な動物のサーベイランスに推奨される検査法である。しかし、この方法では Englesma ら (2013 年) が発表した KHV の変異株を検出できない可能性があるという未発表の見解がある。~~これらの変異株が存在する可能性がある地域では、Englesma ら (2013) が発表した従来型 nested PCR も考慮すべきである。~~

コメント (案) :

“KHV の変異株”を“KHV と遺伝的に近い、コイ科魚類に感染する他のヘルペスウイルス”と置き換えるよう提案する。加えて以下の理由から、“これらの変異株が存在する可能性がある地域では…”の文章を削除するよう提案する。

パラグラフ 4.4.2 でもコメントした通り、現時点では Englesma et al. (2013) が報告したウイルスが KHV であるという科学的根拠は十分に揃っておらず、更なる科学的研究が必要である。Englesma et al. (2013) の論文のタイトルである”コイヘルペスウイルスと近縁である、コイ科魚類に感染するヘルペスウイルスの新株”にあるように、彼らの報告しているウイルスは分類がはっきりしていない。

## (5.2 加盟国への情報)

### (5.2.1.1 新興疾病の検討—ウイルス性コイ浮腫症 (CEV))

#### (英文)

The Commission reviewed the latest scientific evidence and noted that infection with CEV continues to be reported to impact production and cause mortality events in wild and farmed populations but the severity of the impacts is unclear.

The Commission did not agree with a comment that infection with CEV did not meet the definition of an emerging disease, and reiterated that detections of infection with CEV should be reported to the OIE as an emerging disease, in accordance with Article 1.1.4. of the Aquatic Code.

The Commission encouraged Members to investigate mortality and morbidity events in carp, emphasizing that a better understanding of the virus is essential for efforts to control its possible spread and impacts on carp populations.

The Commission will continue to monitor the global situation for infection with CEV and seek further information from scientists working on the disease.

#### (仮訳)

委員会は最新の科学的証拠を検討し、CEV の感染が野生および養殖個体群の生産に影響を与え、死亡事象を引き起こすことが引き続き報告されているが、その影響の深刻さは不明であることを指摘した。

委員会は、CEV の感染は新興感染症の定義を満たしていないという意見には同意せず、CEV の感染が検出された場合には、水生生物規範の第 1.1.4 項に従って、新興感染症として OIE に報告すべきであることを改めて強調した。

委員会は、コイの死亡率や罹患率を調査するよう加盟国に奨励し、ウイルスの拡散の可能性やコイの個体群への影響を抑制するための取り組みには、ウイルスに対する理解を深めることが不可欠であることを強調した。

委員会は、CEV の感染に関する世界的な状況を引き続き監視し、この病気に取り組んでいる科学者からさらなる情報を求めていく。

#### コメント（案）：

CEV の影響の深刻さを評価するために、ウイルスの拡散や影響度に係る知見を OIE が収集することには賛成する。

しかしながら、以下の 2 つの理由から、日本は、CEV が振興疾病的定義に含まれる条件を満たしていないと考えており、現時点で CEV を新興疾病と見なすことには反対する。CEV に関する情報が不十分な状態で CEV を新興疾病とするのではなく、各国からの情報を入手後、新興疾病的定義に含まれる条件を満たすか再検討すべきである。

- OIE 水生委員会の 9 月レポートには、CEV について、「the severity of the impacts is unclear」との記載がある。このことは、CEV が、新興疾病的定義に含まれる「diseases, which has significant impact」という条件を満たしていないことを示している。
- OIE 水生委員会から、新興疾病的定義に含まれる条件を CEV が満たしていることを示す科学的根拠が提示されていない。日本は OIE 水生委員会の 2 月レポートに対して、条件 a) 及び条件 b) を満たしていない旨コメントを提出した。しかしながら、OIE 水生委員会の 9 月レポートには、こ

これらの条件を満たしているという科学的な情報の提供がない。CEV が新興疾病であるかどうかは引き続き議論が必要である。

2021 年 9 月の報告書には、根拠が記述されていない。日本は水生委員会の見解だけでなく、見解の根拠を OIE 全加盟国に向けて公開することを切実に求めている。

#### (参考 1) OIE glossary における新興疾病の定義

##### EMERGING DISEASE

means a disease, other than listed diseases, which has a significant impact on aquatic animal or public health resulting from:

- a. a change of known pathogenic agent or its spread to a new geographic area or species; or
- b. a newly recognised or suspected pathogenic agent.

##### (仮訳)

リストに掲載されている疾病以外で、以下の結果として水生動物または公衆衛生に重大な影響を及ぼす疾病を意味する。

- a) 既知の病原体の変化、または新たな地理的地域や種への広がり。
- b) 新たに認識された、または疑われる病原体。

#### (参考 2) 2021 年 2 月に開催された OIE 水生委員会レポートに対して日本が提出したコメント

Japan expresses our appreciation for providing the list of papers (Annex 8), which are rationales for that the Commission proposes that infection with CEV would be an emerging disease.

However, the papers also indicate that CEV does not meet the OIE's definition\* of an emerging disease. Thus Japan reiterates that CEV is not an emerging disease for the following reasons.

- Japan considers that CEV does not meet the condition a) of an emerging disease. Any notable change of CEV has not been reported. Then, the several articles the OIE provided have reported that the CEV has already detected in several geographic regions. For example, 'Carp edema virus from three genogroups is present in common carp in Hungary (ADAMEK et al. 2018)' says, "The hypothesis of a prolonged presence of CEV in European carp populations and suggest that previous outbreaks of KSD were not recorded or misdiagnosed."
- Japan also considers that CEV does not meet the condition b) of emerging diseases. It is true that the number of publications on CEV detection has increased in recent years; however, this is possibly due to the cascading discovery of CEV by researchers who had been previously unaware of its existence and became interested in the disease.
- In fact, according to scientific articles, CEV like virus was detected from archived samples for spring carp mortality syndrome (SCMS) in England in the late 1990s (Way et al. 2015) and in the Netherlands in the early 2000s (Haenen et al. 2016). In addition, this disease was reported as a viral disease for carp since 1970s in some scientific papers. While CEV is detected in several European countries, CEV is not currently included in the EU listed diseases (EU 2018/1882).