

doi: 10.7541/2018.115

我国北方地区鲤浮肿病毒的流行情况调查与监测分析

徐立蒲¹ 王小亮¹ 李清² 王立新² 曹欢¹ 王姝¹
张文¹ 潘勇¹ 王静波¹

(1. 北京市水产技术推广站,北京100176; 2. 全国水产技术推广总站,北京100125)

摘要:为进一步确认及掌握鲤浮肿病毒(Carp Edema Virus, CEV)目前的流行现状和流行特点,于2017年重点调查了我国北方地区5省市26个正发生或曾经发生“鲤急性烂鳃病”的养殖场,随机监测了9个省市的97家鲤和锦鲤养殖场。样品采用实时荧光定量PCR(Quantitative real time PCR,qPCR)法和套式PCR(Nest PCR)方法进行检测, nest PCR法扩增出的产物进行测序和基因分析。结果重点调查的26家养殖场中有20个为CEV阳性, 1个为锦鲤疱疹病毒(Koi Herpes Virus, KHV)阳性, 1个为孢子虫感染。随机调查的97家养殖场中有50家为CEV检测阳性, 阳性率高达52%; 可测序的CEV毒株均属于Genogroup II a型; 样品按不同地区、不同采样水温、不同品种、不同规格鱼等划分, 各组均有CEV阳性检出, 但检出率均无显著差异。以上结果表明CEV感染是多省市“鲤急性烂鳃病”暴发的主要病因。另外, 该病毒病的流行水温在12—27℃。

关键词: 鲤; 锦鲤; 鲤浮肿病毒; 流行情况; 监测

中图分类号: S941.4

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2018)05-0935-07

鲤(*Cyprinus carpio* Linnaeus)是中国主要的淡水养殖品种之一。2015年, 鲤的养殖产量 3.36×10^9 kg, 占淡水鱼类养殖总产量的12.4%。其中山东省、辽宁省、河南省和黑龙江省产量最高, 均在 2×10^8 kg以上。锦鲤(*Cyprinus carpio var koi*)为鲤的变种, 是中国重要的观赏鱼养殖品种之一^[1]。近年来, 我国河南、河北、辽宁等多个省份养殖的鲤和锦鲤多次暴发一种被广大养殖者称为“鲤急性烂鳃病”的疾病。该病发病急、死亡率高, 已造成严重经济损失, 仅河南沿黄滩区每年的直接经济损失就高达5000万元以上^[2]。根据已有报道, 该病的症状和发病特点与锦鲤疱疹病毒病(Koi Herpes Virus Disease, KHVD)^[3]和鲤浮肿病(Carp Edema Virus Disease, CEVD)或称为锦鲤昏睡病(Koi Sleepy Disease, KSD)^[4,5]都有相似之处。由于KHVD自2002年在我国首次发现后一直为我国鲤科鱼类主要病毒类疾病, 故该病发生以来一直认为是KHVD, 但多次样品检测结果呈KHV阴性。于2016年在确诊我国发生了CEVD^[6—8]之后, 因为KHVD和CEVD两病症状的相

似, 引起渔业主管部门高度重视, 我们经实验室检测和对河南沿黄滩区养殖的鲤(包括锦鲤)暴发的该病调查^[9], 证实该病的主要病原为CEV。

鉴于近年该病暴发日益严重的现状, 为更多了解CEVD在我国流行现状和流行特点, 本文在暴发该病的我国北方地区5省市开展重点调查, 同时在9省市的鲤和锦鲤养殖场进行CEV的随机监测, 了解CEVD的流行现状和流行特点, 为疫病防控提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

样品来源 样品来源有2种, 一是重点调查采样, 在河北、河南、辽宁、北京、内蒙古自治区的26个正在发生或曾经发生(指发病已经停止至少15d, 但有烂鳃症状)疑似CEVD的养殖场取样。每个养殖场取3—10尾有烂鳃、凹眼等典型症状的鱼, 即为1个样品, 采集时均记录水温、品种、鱼规格等信息。样品信息见表1。二是随机监测, 依托国

收稿日期: 2017-12-11; 修订日期: 2018-03-17

基金项目: 2017年农业部水生动物重大疫病监测与防治项目; 北京市创新团队-观赏鱼产业创新团队(BAIC03-2017)资助 [Supported by the Surveillance and Control Program for the Major Aquatic Diseases in Ministry of Agriculture in 2017; the Beijing Innovation Consortium of Agriculture Research System (BAIC03-2017)]

通信作者: 徐立蒲(1972—), 男, 博士, 研究员; 主要从事鱼病诊断防控工作。E-mail:xulipu001@163.com

家水生动物疫病监测计划的鲤春病毒血症病毒(Spring Viraemia of Carp Virus, SVCV)和锦鲤疱疹病毒(Koi Herpes Virus, KHV)的监测项目。2017年4—9月,抽取了黑龙江、辽宁、内蒙古自治区、北京、山西、陕西、宁夏回族自治区、新疆维吾尔自治区和河南共9个省的97家鲤和锦鲤养殖场样品。每个养殖场随机取150尾活鱼为1个样品,样品鱼多数未出现疾病症状。采样时水温13—27℃。将样品按省市来源、采样日期、采样水温(20℃以下还是20℃以上)、品种、样品鱼规格(12 cm以下还是12 cm以上)等进行分类,样品信息见表2—表5。

仪器与试剂 PCR仪为ABI Veriti型梯度PCR仪,荧光PCR为AB 7500型。2×Master PCR Mix

试剂购自北京百泰克生物技术有限公司,DNA抽提试剂盒为德国QIAGEN公司生产,nest PCR以及qPCR所用引物、探针等均购自生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.2 方法

样品处理 样品处理参考KHV检测标准^[1]。重点调查采集的样品:取鱼鳃、肝、脑、脾、肾,混合后研磨,为保护病毒,按1:5加入含10%胎牛血清的M199细胞培养液,冻融1次以释放病毒。随机监测采集的样品:取每尾鱼的鳃、肝、脑、脾、肾,为提高病毒检出率每10—15尾鱼的组织混成1个小样,混合后研磨,按1:5加含10%胎牛血清的M199细胞培养液,冻融1次以释放病毒。样品均采

表1 重点调查的“鲤急性烂鳃病”样品的基本信息及CEV和KHV检测结果

Tab. 1 Basic information and testing results of CEV and KHV for investigating samples suspected “acute gill-rot disease of carp”

来源地区 Location	编号No.	品种Species	样品规格 Size	采样水温 Temperature (℃)	有无症 状 Signs	死亡率 Death rate (%)	CEV		KHV
							qPCR/Ct	Nest PCR	
河南Henan	1	锦鲤Koi	500 g	24	无No	~5	—	—	—
	2	鲤Carp	3—4 cm	21	有Yes	~20	+/34.5	+	—
	3	鲤Carp	20—25 cm	21	有Yes	~40	+/23.8	+	—
	4	锦鲤Koi	20—25 cm	21	有Yes	~60	+/26.0	+	—
	5	鲤Common carp	15—20 cm	21	有Yes	~50	+/28.9	—	—
	6	鲤Common carp	20—25 cm	22	有Yes	~80	—	—	—
河北Hebei	7	鲤Carp	200—250 g	24	有Yes	~60	+/22.5	+	—
	8	鲤Carp	100 g	25	有Yes	~35	+/24.1	+	—
	9	鲤Carp	100 g	26	有Yes	~60	+/31.0	+	—
	10	鲤Carp	100 g	25	有Yes	~4	—	—	+
	11	鲤Carp	200—250 g	27	有Yes	~20	+/23.5	—	—
	12	鲤Carp	4—5 cm	26	有Yes	~30	+/22.4	—	—
	13	鲤Carp	400 g	26	有Yes	~60	+/38.0	—	—
	14	鲤Carp	4—8 cm	26	有Yes	~40	+/24.6	—	—
	15	松浦镜鲤Matsuura mirror carp	200 g	25	有Yes	~15	—	—	—
	16	鲤Carp	5—10 cm	25	有Yes	~90	+/35.6	—	—
辽宁Liaoning	17	鲤Carp	1000 g	25	有Yes	~30	+/21.0	+	—
	18	松浦镜鲤Matsuura mirror carp	750 g	25	有Yes	~2	+/18.9	+	—
	19	鲤Carp	15 cm	25	有Yes	~40	+/37.0	—	—
	20	松浦镜鲤Matsuura mirror carp	750 g	25	有Yes	~30	—	—	—
	21	松浦镜鲤Matsuura mirror carp	500 g	25	有Yes	~10	—	+	—
	22	松浦镜鲤Matsuura mirror carp	500 g	25	有Yes	~10	—	—	—
	23	鲤Carp	1000—1500 g	25	有Yes	~30	+/37.0	—	—
内蒙古自治区 Inner Mongolia Autonomous Region	24	鲤Carp	1000—1500 g	25	有Yes	~30	+/23.6	+	—
	25	锦鲤Koi	2—8 cm	25	有Yes	~90	+/20.2	+	—
北京Beijing	26	鲤Carp	5000—1000 g	23	有Yes	~30	+/27.7	+	—

注:“有无症状”指鱼具有烂鳃等明显的典型症状;“—”表示阴性;“+”表示阳性

Note: “Clinical signs” means fish had noticeable and typical signs, such as gill-rot; “—”negative, “+”positive

表2 不同地区的鲤或锦鲤养殖场CEV检出率

Tab. 2 CEV-positive rates of carp or koi farms in different study regions

来源省市 Farm location	养殖场数 Number of total farms	CEV阳性场数 Number of CEV positive farms	阳性率 Positive rate (%)
内蒙古自治区 Inner Mongolia Autonomous Region	6	3	50
新疆维吾尔自治区 Xinjiang Uygur Autonomous Region	2	1	50
北京Beijing	11	6	55
河南Henan	25	17	68
陕西Shaanxi	5	1	20
辽宁Liaoning	15	9	60
黑龙江Heilongjiang	20	8	40
宁夏回族自治区 Ningxia Hui Autonomous Region	8	4	50
山西Shanxi	5	1	20
总数Total	97	50	52

表3 不同采样水温的鲤或锦鲤养殖场CEV检出率

Tab. 3 CEV-positive rates of carp or koi farms according to temperature of water samples

采样水温Water Temperature (°C)	养殖场数 Number of total farms	CEV阳性场数 Number of CEV positive farms	阳性率 Positive rate (%)
≤20	16	6	38
>20	81	44	54
总数Total	97	50	52

表4 不同样品规格的鲤或锦鲤养殖场CEV检出率

Tab. 4 CEV-positive rates of carp or koi farms according to size of fish

规格 Size	养殖场数 Number of total farms	CEV阳性场数 Number of CEV positive farms	阳性率 Positive rate (%)
≤12 cm	57	31	54
>12 cm	40	19	48
总数Total	97	50	52

表5 鲤和锦鲤养殖场CEV检出率

Tab. 5 CEV-positive rate of farms according to various species of common carps

品种 Species	养殖场数 Number of total farms	CEV阳性场数 Number of CEV positive farms	阳性率 Positive rate (%)
锦鲤Koi	40	24	60
鲤Carp	57	26	46
总数Total	97	50	52

用DNA抽提试剂盒抽提核酸, 备用。

CEV检测方法 重点调查采集的样品采用Oyamatsu等^[12]建立的nest PCR方法和英国环境、

渔业水产养殖研究中心(Center for Environment, Fisheries and Aquaculture Science, CEFAS)^[13]建立的qPCR方法进行CEV检测; 同时采用行业标准《SC/T 7212.1-2011鲤疱疹病毒检测方法 第1部分: 锦鲤疱疹病毒》进行KHV检测^[11]。随机监测的样品使用CEFAS^[13]建立的qPCR方法进行CEV检测。

按以下方法进行结果判断: qPCR方法结果以Ct值小于等于35, 且出现扩增曲线, 判定为阳性; 大于35小于40, 有扩增曲线的判为可疑, 重复1次后结果仍一致的判为阳性; 大于40, 未出现扩增曲线的判为阴性。nest PCR方法以阳性、阴性、空白对照正常情况下, 扩增出目的条带判定为阳性。qPCR和nest PCR中任何一种检测方法为阳性, 则判定样品为CEV阳性。

CEV部分基因测序与分析 将随机监测时CEV检测呈阳性的样品按CEFAS^[13]建立的nest PCR方法进行528和478 bp基因片段扩增, 扩增产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。测序结果通过NCBI的BLAST检索系统进行同源性分析, 从中选取与所测序列同源性较高毒株序列, 使用MEGA 4.0软件的邻位相连法(Neighbor-joining)构建进化树, 通过自举分析进行置信度检测, 自举数集1000次。

2 结果

2.1 重点调查的“鲤急性烂鳃病”养殖场的CEV和KHV检测结果

在河北、河南、辽宁、内蒙古自治区、北京等5个省市重点调查了26家正在发生或曾经发生过“鲤急性烂鳃病”的养殖场。22个正发病的养殖场中, 19个场检测为CEV阳性、KHV阴性; 1个养殖场为CEV阴性、KHV阳性; 另2个养殖场CEV、KHV均为阴性, 其中1个养殖场病鱼鳃丝上检测到大量孢子虫。4个曾发病的养殖场中, 1个检测为CEV阳性、KHV阴性; 3个养殖场CEV、KHV均为阴性; 检测结果详见表1。可见近年来河北、河南、辽宁、北京、内蒙古自治区等地区养殖的鲤或锦鲤暴发的“鲤急性烂鳃病”主要病因应为CEV感染, 还有少数病例为KHV感染或寄生虫感染等其他原因。

在重点调查发生CEVD的养殖场中, 规格3—40 cm的鲤、2—25 cm的锦鲤均会发病, 发病场养殖鱼类的死亡率多数在20%—50%, 个别养殖场死亡率60%以上。发生高死亡率的养殖场均是在发病过程中采取了滥用药物、大换水等刺激性措施。

2.2 CEV流行学监测特点

养殖场CEV的阳性率：在9个省市的97家鲤和锦鲤养殖场中，50家养殖场检测结果为CEV阳性，阳性率52%。

地区分布：监测的黑龙江、辽宁、河南等9个省市的鲤和锦鲤养殖场，都检出了CEV阳性。其中河南养殖场的CEV阳性率最高，为68%，随后是辽宁60%和北京55%。山西和陕西养殖场的CEV阳性率相对较低，均为20%（表2）。将不同省市来源的CEV阳性养殖场的检出率进行方差分析，结果地区对CEV的检出率的影响无显著差异($P>0.05$)。将中东部地区(黑龙江、辽宁、北京和河南)的CEV阳性养殖场的检出率与西部(内蒙古自治区、山西、陕西、宁夏回族自治区和新疆维吾尔自治区)的检出率进行方差分析，结果它们之间也无显著差异($P>0.05$)。以上结果表明CEV至少已经在这9个省市的鲤和锦鲤养殖场中流行，并且CEV的流行地区之间检出率无显著差异。

水温分布：监测的97家鲤和锦鲤养殖场中，采样时水温在12—20℃的养殖场16家，6家CEV检测为阳性，阳性率38%；采样时水温在20—27℃的养殖场81家，44家CEV检测为阳性，阳性率54%；即CEV的感染水温至少包括12—27℃（表3）。采样水温在20—27℃组的CEV的阳性率高于水温在12—20℃组，但方差分析2组之间无显著差异($P>0.05$)，提示在一定温度范围内，水温对鲤和锦鲤的CEV检出率影响不显著。

规格分布：监测的97家鲤和锦鲤养殖场中，样品鱼规格在1—12 cm的养殖场57家，31家CEV检测为阳性，阳性率54%；样品鱼规格在12—30 cm的养殖场40家，19家CEV检测为阳性，阳性率48%；即CEV感染鱼的规格至少包含体长1—30 cm（表4）。样品鱼规格1—12 cm组养殖场的CEV阳性检出率略高于样品鱼规格12—30 cm组，但方差分析结果表明两组之间无显著差异($P>0.05$)，提示我们规格对鲤和锦鲤的CEV感染率无显著影响。

品种分布：监测的97家鲤和锦鲤养殖场中，40家锦鲤养殖场，24家CEV阳性，阳性率60%；57家鲤养殖场，26家CEV阳性，阳性率46%（表5）。锦鲤养殖场的CEV检出率高于鲤养殖场，但方法分析表明两者之间无显著差异($P>0.05$)，提示鲤和锦鲤的CEV感染率无显著差异。

流行的基因型：获得的北京、辽宁、河南等地的8个CEV毒株p4a基因部分序列，构建无根进化树（图1）。分析表明，8个序列均属于Genogroup IIa型。其中河南毒株20170518-2、20170913-1和

辽宁毒株20170706-1、20170706-2、20170706-3与英国毒株R083、P054 1.3和日本毒株CyPP-3关系较近。北京毒株20170505-1与英国毒株Q098、M141、R082 1.4、R004 1.2及波兰毒株687—2014、274—2014、518—2014关系较近。

3 讨论

调查发现早在2003年河南等地就零星出现“鲤急性烂鳃病”病例，2007—2013年病例逐年增多，此后不同年份严重程度不一^[2]。该病一般发生在5—7月及9月，发病时间持续7—10d，仅鲤和锦鲤发病。病鱼出现头部凹陷、发黑，鳃丝发黑肿胀或烂鳃，凹眼，昏睡等症状。该病的发病特点和症状与已报道的KHVD和CEVD的特征最相符（表6）；但也可能是细菌性烂鳃病、寄生虫病或其他疾病。然而养殖者采用杀虫药、抗菌药、消毒药、换水等方式无法防治该病，送检的病鱼也多数检测不到柱状黄杆菌和/或某种大量寄生虫，因此基本可以排除后者。CEVD在我国确诊比KHVD晚十多年，一直未被怀疑，直到2016年CEVD在我国确诊^[6—8]，开始怀疑CEV可能与该病有关。徐立蒲等^[9]对河南暴发“鲤急性烂鳃病”的养殖场调查，认为主要病因应为CEV感染。本研究在河北、河南、辽宁、北京、内蒙古自治区等5省市26家疑似发生“鲤急性烂鳃病”的养殖场调查，发现CEV阳性率高达77%，而KHV仅为4%，确认CEV感染是目前“鲤急性烂鳃病”的主要病因。

CEV和KHV均为DNA病毒，均可感染鲤和锦鲤，并引起烂鳃、凹眼等相似的症状。但二者也存在一些差异，2种病发病水温有不同，前者发病水温范围较广，在7—27℃都有发病，而后者发病水温在16—30℃。在发病鱼上多次观察到感染CEV的鱼鳃丝有肿胀现象，鳃丝有时呈黑色，剪破后流出的血液迅速凝结；有昏睡症状，发病小鱼还出现鱼体浮肿症状^[14]；而感染KHV的鱼还未见此类症状报道^[18]。

20世纪70年代CEV首先在日本报道^[19]，之后很长一段时间仅在日本流行。1999年以后，美国、欧洲多国、印度、巴西、中国等陆续从发病的锦鲤和鲤上检出^[6—8, 13, 14, 20—26]。2013—2015年，Matras等^[13]监测了波兰的36个鲤和锦鲤场，17个CEV阳性场，阳性率达47%。本次的CEV随机监测发现，监测的9省市中CEV阳性养殖场的比率从20%—68%不等，总体上CEV阳性养殖场的比率高达52%，这与波兰情况相似。而影响鲤和锦鲤养殖的另外2种重要的病毒KHV和SVCV，我国2016年专项监测显示阳性养殖场比率仅分别为1.8%和9.3%^[27]，都远低于

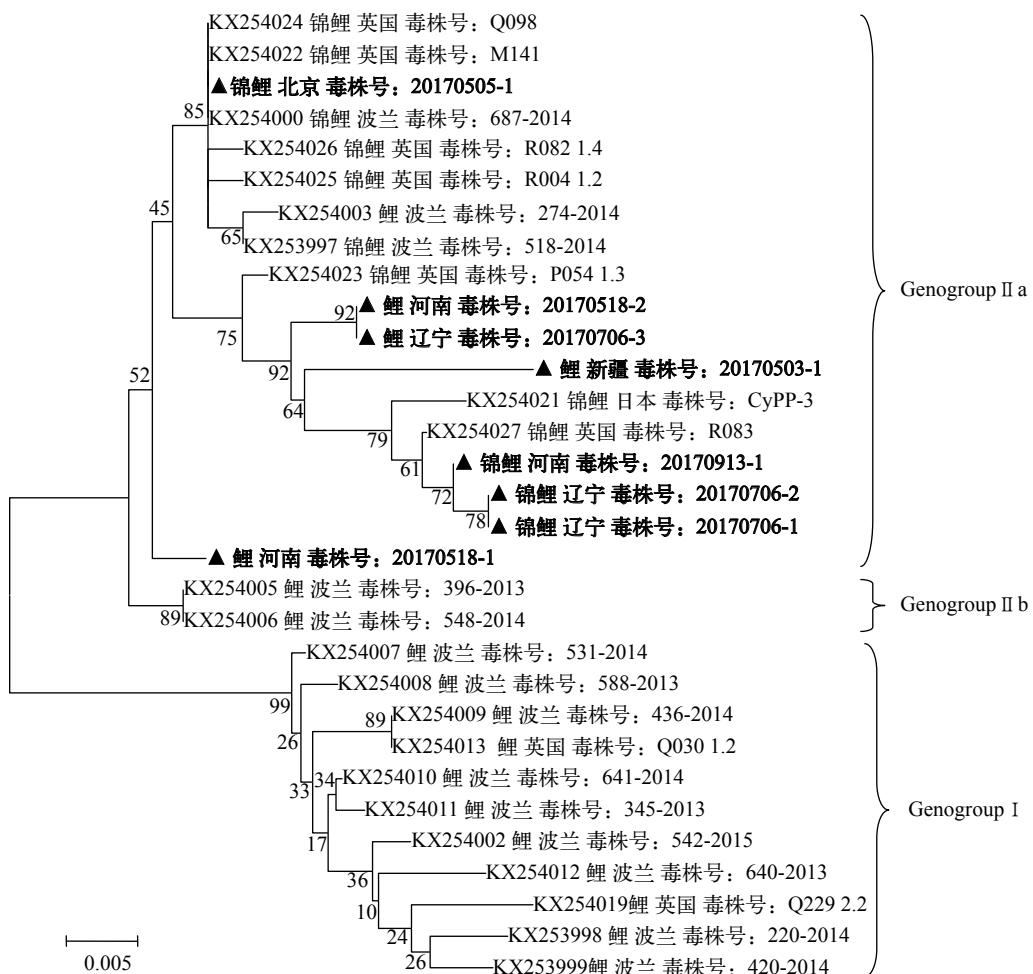
图1 基于CEV *p4a*基因部分序列构建的无根进化树Fig. 1 Unrooted phylogenetic tree based on partial *p4a* gene sequence of CEV

表6 CEV与鲤疱疹病毒的信息比较

Tab. 6 Comparing biological information among *Cyprinid herpesvirus* infected by CEV

序号No.	病毒Virus	宿主Host	症状Symptom	发病水温 Onset temperature (°C)	基因组大小 Genome size (kb)	登录号 GenBank Accession No.	参考文献 References
1	鲤浮肿病毒Carp edema virus (CEV)	鲤和锦鲤Common carp and Koi carp	烂鳃, 鳃丝肿胀, 凹眼, 昏睡, 浮肿Rot gills, Swollen gills, Sunken eyes, Lethargic behaviour, Edematous body	7—27	—	KM283182	[14]
2	鲤疱疹病毒1型 Cyprinid herpesvirus 1 (CyHV-1)	鲤和锦鲤Common carp and Koi carp	痘、乳头瘤Carp pox, Papilloma	≤20	291	JQ815363	[15—16]
3	鲤疱疹病毒2型 Cyprinid herpesvirus 2 (CyHV-2)	金鱼、鲫、银鲫 <i>Carassius auratus</i> , Crucian carp, Gibel carp	金鱼造血器官坏死Goldfish hematopoietic necrosis	15—25	290	JQ815364	[15, 17]
4	鲤疱疹病毒3型 Cyprinid herpesvirus 3 (CyHV-3)	鲤和锦鲤Common carp and Koi carp	烂鳃, 鳃出血, 凹眼, 白色斑块或皮肤起疱Rot gills, Bleeding gills, Sunken eyes, Pale patches or skin blistering	16—28	295	DQ657948	[15, 18]

CEV的检出率。结合CEV感染是“鲤急性烂鳃病”的主要病因的结果,提示CEV已成为对我国鲤和锦鲤养殖业危害最严重的病原。

据报道CEV的感染水温为7—27°C^[10]。本文检

出CEV的采样水温分布在12—27°C,由于水温12°C以下和27°C以上未采集样品,还无法确定这些水温下我国养殖场是否存在CEV感染情况。将样品按采集温度以20°C为分界限划分的两组之间在

CEV检出率上并没有显著差异,这表明在一定温度范围内,CEV并没有最适宜的感染水温;在进行CEV监测时,水温不是影响检出率的主要因素。这与SVCV检出水温集中在11—17℃^[28]和KHV检出水温主要在16—28℃^[27]明显不同(表6)。调查和监测发现各规格的鲤或锦鲤均可感染CEV,且没有对特定鲤品种或特定规格鱼感染的选择性,这与国外报道的观点一致^[13, 20—26]。2013年,英国Way等^[25]根据CEV病毒的p4a基因部分序列将CEV基因型划分为Genogroup I型和Genogroup II型,其中I型毒株仅感染鲤,II型毒株感染鲤和锦鲤。2016年,Matras等^[13]按此基因,发现II型又可分为IIa型和IIb型,其中IIa型毒株感染鲤和锦鲤,IIb型毒株感染鲤。本次调查检出的8株CEV属于IIa型,我国浙江、云南检出的CEV也属于IIa^[8, 29],提示目前我国CEV流行的主要基因型为Genogroup IIa型。

对发生CEVD的养殖场重点调查结果表明,发生CEVD前普遍存在换水、倒池、水质突变、天气突变、鱼药使用等情况,这些情况会使养殖鱼产生应激,而鱼感染病毒后体质下降遭遇应激后易发病。有的养殖场在发病后滥用各种鱼药,结果导致鲤更大规模死亡;在发病后用药少的养殖场反而鲤死亡率较低。国外的研究也表明,应激是养殖的鲤发生CEVD的主要诱因^[30]。因此养殖场要提高养殖管理水平,在发病前后避免滥用药物等能导致鱼体产生应激反应的情况,是防控CEVD和降低损失的有效措施。

致谢:

感谢河南省、河北省、辽宁省、内蒙古自治区、陕西省、新疆维吾尔自治区、黑龙江省、宁夏回族自治区、山西省等水产技术推广站在调查时给予的大力支持;感谢江育林研究员对全文进行的审阅与修改。

参考文献:

- [1] The Ministry of Agriculture Fisheries Bureau. 2016 Chinese Fishery Statistical Yearbook [M]. Beijing: China Agriculture Press. 2016, 251—252 [农业部渔业政管理局. 2016中国渔业年鉴. 北京: 中国农业出版社. 2016, 251—252]
- [2] Wang X K, Liang H R, Jia T, et al. Investigation of acute rot gills disease of carp along yellow river fish farming areas in Henan province [J]. *Animal Breeding and Feed*, 2016, 2: 55—58 [王先科, 梁红茹, 贾滔, 等. 河南沿黄渔区鲤急性烂鳃病调研. 养殖与饲料, 2016, 2: 55—58]
- [3] Hedrick R P, Gilad O, Yun S, et al. A herpesvirus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of common carp [J]. *Journal of Aquatic Animal Health*, 2000, 12(1): 44—57
- [4] Ona S I, Nagai N. A histopathological study on Juvenile colorcarp, *Cyprinus carpio* showing edema [J]. *Fish Pathology*, 1986, 21(3): 167—175
- [5] Miyazaki T, Isshiki T, Katsuyuki H. Histopathological and electron microscopy studies on sleepy disease of koi *Cyprinus carpio koi* in Japan [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2005, 65(3): 197—207
- [6] Xu L P, Wang J B, Zhang W, et al. A preliminary study on the epidemic status of carp edema virus disease [J]. *Journal of Inspection and Quarantine*, 2016, 5: 14—16 [徐立蒲, 王静波, 张文, 等. 鲤鱼浮肿病流行情况的初步研究. 检验检疫学刊, 2016, 5: 14—16]
- [7] Xu L P, Wang X L, Zhang W, et al. Testing and identification of carp edema virus disease in cultured common carp and koi [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2017, 44(2): 613—618 [徐立蒲, 王小亮, 张文, 等. 养殖锦鲤鲤鱼浮肿病的检测与鉴定. 中国畜牧兽医, 2017, 44(2): 613—618]
- [8] Zhang X D, Ni Y Y, Ye J, et al. Carp edema virus, an emerging threat to the carp (*Cyprinus carpio*) industry in China [J]. *Aquaculture*, 2017, 474: 34—39
- [9] Xu L P, Zhang W, Wang S, et al. A preliminary investigation on carp edema virus and koi herpes virus along yellow river fish farming areas in Henan province [J]. *Scientific Fish Farming*, 2017, 9: 59—61 [徐立蒲, 张文, 王姝, 等. 河南沿黄渔区鲤浮肿病和锦鲤疱疹病毒初步调查研究. 科学养鱼, 2017, 9: 59—61]
- [10] Wang X L, Xu L P, Wang S, et al. Detection and analysis of Carp edema virus (CEV) in farmed carp and Koi [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2017, 44(10): 3084—3089 [王小亮, 徐立蒲, 王姝, 等. 养殖鲤和锦鲤中的鲤浮肿病毒检测与分析. 中国畜牧兽医, 2017, 44(10): 3084—3089]
- [11] Tan A P, Ye X, Jiang L, et al. SC/T7212.1—2011 Detection methods of cyprinid herpesvirus (CyHV) Part 1: Koi herpesvirus [S]. Beijing: China Agriculture Press, 2011 [谭爱萍, 叶星, 姜兰, 等. 鲤疱疹病毒检测方法 第1部分: 锦鲤疱疹病毒. 北京: 中国农业出版社, 2011]
- [12] Oyamatsu T, Hata N, Yamada K, et al. An etiological study on mass mortality of cultured colorcarp juveniles showing edema [J]. *Fish Pathology*, 1997, 32(2): 81—88
- [13] Matras M, Borzym E, Stone D, et al. Carp edema virus in Polish aquaculture-evidence of significant sequence divergence and a new lineage in common carp *Cyprinus carp* (L.) [J]. *Journal of Fish Disease*, 2016, 40(3): 319—325
- [14] Jung-Schroers V, Adamek M, Teitge F, et al. Another potential carp killer: Carp Edema Virus disease in Germany [J]. *BMC Veterinary Research*, 2015, 11(1): 114—117
- [15] Zhang Q Y, Gui J F. Virus genomes and virus-host interactions in aquaculture animals [J]. *Science China Life Science*, 2015, 58(2): 156—169
- [16] Sano T, Morita N, Sima N, et al. Herpesvirus cyprini: lethality and oncogenicity [J]. *Journal Fish Disease*,

- 1991, **14**(5): 533—543
- [17] Goodwin A E, Khoo L, Lapatra S E, et al. Goldfish hematopoietic necrosis herpesvirus (*Cyprinid herpesvirus 2*) in the USA: molecular confirmation of isolates from diseased fish [J]. *Journal of Aquatic Animal Health*, 2006a, **18**(1): 11—18
- [18] Sano M, Ito T, Kurita J, et al. First detection of koi herpesvirus in cultured common carp *Cyprinus carpio* in Japan [J]. *Fish Pathology*, 2004, **39**(3): 165—167
- [19] Hosoya H, Suzuki M. Effect of NaCl solution bath on a disease of juvenile colorcarp accompanied by mass mortality, arising at the rainy season [J]. *Rep Niigata Prefect Inland Fish Experiment Stations*, 1976, **4**: 69—70
- [20] Hedrick R P, Antonio D B, Munn R J. Poxvirus like agent associated with epizootic mortality in juvenile koi (*Cyprinus carpio*) [J]. *FHS News*, 1997, **25**: 1—2
- [21] Hesami S, Viadanna P, Steckler N, et al. Carp edema virus disease (CEVD)/koi sleepy disease (KSD) [J/OL]. [Http://edis.ifas.ufl.edu/FA189](http://edis.ifas.ufl.edu/FA189), 2017-12-10
- [22] Way K, Stone D. Emergence of Carp edema virus-like (CEV-like) disease in the UK [J]. *CEFAS Finfish News*, 2013, **15**: 32—34
- [23] Haenen O, Way K, Stone D, et al. “Koi Sleepy Disease” voor het eerst in Nederland aangetoond in koikarpers [J]. *Tijdschr Diergeneesk*, 2014, **4**: 26—29
- [24] Lewisch E, Gorgoglione B, Way K, et al. Carp Edema virus/Koi sleepy disease: An Emerging Disease in Central-East Europe [J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2014, **62**(1): 6—12
- [25] Way K, Haenen O, Stone D, et al. Emergence of carp edema virus(CEV) and its significance to European common carp and koi *Cyprinus carpio* [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2017, **126**(2): 155—166
- [26] Swaminathan T R, Kumar R, Dharmaratnam A, et al. Emergence of carp edema virus (CEV) in cultured ornamental koi carp, *Cyprinus carpio* koi in India [J]. *Journal of General Virology*, 2016, **97**(12): 3392—3399
- [27] The Ministry of Agriculture Fisheries Bureau, National Fisheries Technical Extension Center. Analysis on the important diseases of aquatic animals in China in 2014 [M]. Beijing: China Ocean Press. 2016, 12—51&63—71 [农业部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站. 2014年我国水生动物重要疫病病情分析. 北京: 海洋出版社. 2016, 12—51&63—71]
- [28] Ahne W. The influence of environmental temperature and infection route on the immune response of carp (*Cyprinus carpio*) to spring viremia of carp virus (SVCV) [J]. *Veterinary Immunology & Immunopathology*, 1986, **12**(1-4): 383—386
- [29] Wen Z Q, Liu Y, Tang S L, et al. Identification and genogroup analyses of the carp edema virus in cultured ornamental koi carp, *Cyprinus carpio* koi, in Yunnan, China [J]. *Chinese Journal of Virology*, 2017, **33**(6): 905—913 [温智清, 刘莹, 唐绍林, 等. 云南锦鲤养殖场鲤浮肿病毒的鉴定及基因型分析. 病毒学报, 2017, **33**(6): 905—913]
- [30] Miyazaki T, Isshiki T, Katsuyuki H. Histopathological and electron microscopy studies on sleepy disease of koi *Cyprinus carpio* koi in Japan [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2005, **65**(3): 197—207

EPIDEMIOLOGICAL INVESTIGATION AND SURVEILLANCE ANALYSIS OF CARP EDEMA VIRUS SOURCED FROM NORTHERN OF CHINA

XU Li-Pu¹, WANG Xiao-Liang¹, LI Qing², WANG Li-Xin², CAO Huan¹, WANG Shu¹, ZHANG Wen¹, PAN Yong¹ and WANG Jing-Bo¹

(1. Beijing Aquaculture Technology Extension Station, Beijing 100176, China;
2. National Fisheries Technical Extension Center, Beijing 100125, China)

Abstract: In 2017, to further confirm the speculation and epidemiological traits of carp edema virus (CEV), 26 carp farms in 5 provinces of north China, where “acute rot gills disease of carp”, were occurred, surveyed, and sampled. CEV and koi herpes virus (KHV) were detected using quantitative polymerase chain reaction (qPCR) and nested PCR techniques. In addition, 97 carp farms in 9 provinces of China were randomly surveyed for CEV and PCR products for sequencing and analyzing viral DNA of CEV. The results showed that 20 farms were CEV-positive samples, 1 farm was KHV-positive sample, and 1 farm was infected by Sporozoa among 26 farms in north China. Besides, 50 farms were CEV-positive samples among 97 randomly surveyed farms, and infected strains belonged to genogroup II (GII). CEV was detected in different study regions, temperature of water, size of fish, and species of carp with high rate of infection, and there were no significant differences between them. In summary, CEV infection was found to be the major cause of “acute gill-rot disease of carp” in several provinces, and showed high-rate of positive detection in carp farms in north of China. In addition, CEV infection affected various species of common carps including koi carp with different sizes at the temperature range of 12—27°C.

Key words: Carp; Koi; Carp Edema Virus; Epidemiology; Surveillance