

各水試発トピックス

ヒラメアクアレオウイルス感染症防除のための
親魚検査マニュアル（中和試験法）を作成しました

道総研さけます・内水面水産試験場 内水面資源部 魚病防疫グループでは、ヒラメアクアレオウイルス感染症防除に向けた親魚選別のための中和試験法の改良について、令和3年から北海道栽培漁業振興公社と共同で研究を行ってきました。本研究で改良した手法を検査マニュアルとしてまとめました。

ヒラメアクアレオウイルス感染症はヒラメの種苗生産施設や養殖場で発生し、問題となるウイルス病のひとつです。本感染症はレオウイルス科に属するウイルスであるHAqRV（HeRV-1）感染により引き起こされ、発生すると飼育水槽内の仔稚魚を全滅させるほど高い致死性を示す疾病です。主に仔稚魚期に発生する疾病ですが、成魚・親魚にも感染します。成魚・親魚に対しては死に至らしめるほどの病害性を示さないため、感染した親魚は体内にウイルスを保有する状態（キャリアー）となります。キャリアーはウイルスが含まれる糞便を排出するため、糞便中のウイルスが卵表面に付着してしまい、飼育者の知り得ぬうちに仔稚魚に感染を広げる（垂直感染する）危険性をはらんでいます。

アクアレオウイルス感染症は治療法がなくワクチンによる予防もできないため、発生対策としてウイルスをできる限りゼロに近づける状況を作り出すことが重要です。その対策のひとつに親魚選別があります。HAqRVに一度でも感染したことがある親魚の血液中には、ウイルスに対する抗体が存在します。私たちは、この抗体を検出するた

めの中和試験という方法をより精度よく検出できるように改良しました。この改良中和試験法を用いて親魚の感染履歴を把握することで、親魚から仔稚魚へ垂直感染する危険性を減らすことができます。

今回まとめた中和試験を用いた親魚検査マニュアルに興味を持たれた方は、さけます・内水面水産試験場 内水面資源部 魚病防疫グループにお問い合わせください。

7. 中和試験

7-1. 中和試験用の HINAE 細胞プレートの準備について

中和試験に用いるための HINAE 細胞プレートを準備する。細胞プレートの準備は基本的に中和試験実施の前日に行う。時間経過した細胞を用いて検査することも可能だが、ウイルスの増殖に影響が出る可能性があるため推奨しない。基本的には 8-1. HINAE 細胞の維持継代方法の作業手順と同様である。中和試験では多検体を処理するため、ウェルプレートを用いて検査を実施する。加えて、検査の精度を保つため、1 検体につき 2 ウェル以上使用することが基本であることから、中和試験には 96 ウェルプレートを使用するのが一般的である。

※これら作業は全て無菌条件下で実施する。

- 1) 中和試験を実施する前日に HINAE 細胞プレートを準備する。細胞の準備は後述の「8-1. HINAE 細胞の維持継代方法」と基本的には同様で、9)まで操作を進める。9)で作製した細胞懸濁液を 96 ウェルプレートに分注する。シングルチャンネルピペットもしくはマルチチャンネルピペットを使用し、1 ウェルにつき 100 μ L の細胞懸濁液を分注する（写真9）。

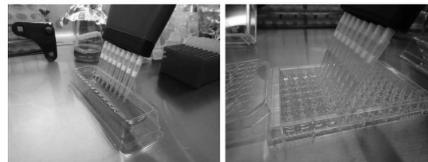


写真9

- 2) 分注後、プレートシールでふたをし、その上からプレート付属のプラスチックのふたをして 20°Cで培養する（写真10）。
作製した細胞プレートは翌日～2日後までには検査に使用することを推奨する。

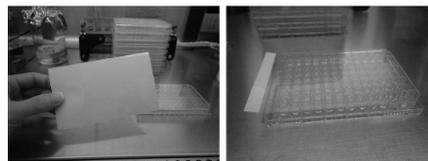


写真10

写真 中和試験を用いた親魚検査マニュアル

（西川翔太郎 さけます内水試内水面資源部）