

クルマエビ類の急性ウイルス血症 (PAV)の診断

【要約】クルマエビ養殖に重大な被害をおよぼすPAVについて、PCR法を用いて診断を行った。そして、種苗生産用親エビと養成エビで陽性反応を観察し、未発症エビでもPAVのチェックが可能であることが確認できた。また、検査を実際に行う上での各種条件についても検討し、沖縄県の養殖状況に対応した診断技術を確立した。

水産試験場 増殖室				連絡先		098-994-3593	
部会名	水産	専門	水族病理	対象	クルマエビ	分類	指導

【背景・ねらい】

1993年4月から10月にかけて西日本各地で外国産種苗を導入したクルマエビ養殖場を中心に大量斃死が発生した。沖縄県内でも約1千万尾の種苗等が斃死して甚大な被害を生じた。その後、この疾病についての原因ウイルスPRDV(Penaeid rod-shaped DNA virus)の特性が明らかにされ、PCR法によるウイルス検出法が開発された。

沖縄県内に導入される親エビや種苗等のPCR法によるPAVチェックを行って、クルマエビの安定した生産を図る。

【成果の内容・特徴】

1. 平成8～9年度にかけて親エビ、種苗、養成エビ、及びヘドロのPAVチェックを行い、親エビ3尾と養成エビ2尾に陽性反応が見られた(表1)。しかし、養成エビの2例は疑陽性の可能性が推測された。
2. PCR検査のための試料はおよそ10～60mg程度が良く反応し、またNested PCR法の感度が良かった(表2、写真1)。
3. 陰性検体混入の影響試験では陽性エビ1尾に対して陰性エビが12尾混入しても十分陽性反応を観察でき、実用上10尾をプールして検査することが可能である(表3)。
4. 通常は血液または胃上皮を用いているが、歩脚、遊泳脚でも陽性反応が観察され、PCR検査に用いることが可能である(表4)。
5. 核酸抽出のために用いる市販キット3種類と、Nested PCR法プライマー2組を組み合わせ比較検討したが、有為な差はなかった(表5)。

【成果の活用面・留意点】

今後さらに検査速度、感度、精度、及び経済性などの点から検査技術の向上が予想され、また検査部位についても採材の容易性、感度など検討しなければならない。

【具体的データ】

表1 沖縄県内におけるPAV検査状況（平成8～9年度）

	検査例数	検査個体 (サンプル) 数	陽性数 (率、%)
親エビ	21	280	3(1.1)
種苗	32	(149)	0
養成エビ	18	303	2(0.7)
ヘドロ	2	(12)	0

表2 PCR感度試験

PCR No.	検査量 (mg)	判定結果	
		1回目	Nested
1	230	-	±
2	150	-	±
3	60	+	+
4	10	±	+

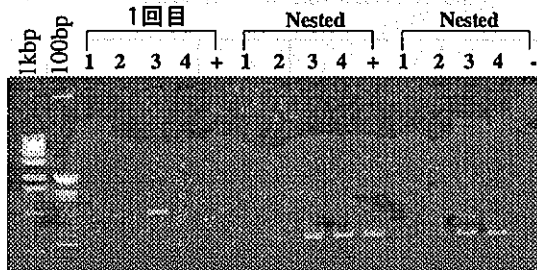


写真1 PCR感度試験

表3 陰性検体（妨害物質）混入の影響

PCR No.	陽性エビ 検査量 (mg)	陰性エビ 検査量 (mg)	判定結果
1	1	0	-
2	5	0	-
3	10	0	+
4	50	0	+
5	90	0	+
6	10	60	+
7	10	120	+
8	10	240	-

表4 検査部位の比較

PCR No.	検査材料	検査量 (mg)	判定結果
1	歩脚	10	+
2		40	+
3		70	+
4	遊泳脚	20	+
5		50	+
6		100	+
7	筋肉	10	w
8		90	w
9		500	w
10	胃上皮	10	+
11		30	+

w: 弱陽性

表5 核酸抽出法の比較

個体 No.	市販キット	Isogen		DNA zol		Pure Gene	
	プライマー 種類	A	B	A	B	A	B
1		0/5*	0/5	0/5	0/5	0/2	0/5
2		0/5	0/5	1/5	1/5	0/2	0/5
3		0/5	0/5	0/5	0/5	0/2	0/5
4		0/5	0/5	0/5	0/5	0/2	2/5
5		2/5	0/5	1/5	0/5	1/2	0/5
6		0/5	0/5	0/5	0/5	0/2	0/5
7		0/5	0/5	0/5	0/5	0/2	0/5
8		0/5	0/5	1/5	0/5	0/2	0/5
9		1/5	0/5	0/5	0/5	0/2	0/5
10		0/5	0/5	0/5	0/5	0/2	0/5

A: Nested PCR法プライマー (木村等、1996)、B: Nested PCR法プライマー (Takahashi et al., 1997)

*: 陽性数/検査数

【その他】

研究課題名: 魚類等防疫対策試験

予算区分: 県単

研究期間: 平成10年度 (平成8～9年)

研究担当者: 杉山昭博、蔵下環

発表論文等: 平成9年度沖縄県水産試験場事業報告書 (掲載予定)