

Edwardsiella tarda
(*E. piscicida*)
(*E. anguillarum*)

ウナギ、ヒラメ、マダイなどのエドワジエラ症原因菌(ウナギではパラコロ病と呼ばれる)。従来 *E. tarda* と同一種とされてきた魚類病原細菌を *E. tarda* から分離し、*E. piscicida*(ヒラメの病原菌)と *E. anguillarum* (マダイの病原菌)の2種に再分類しようとする意見がある(Abayneh et al, 2012; Shao et al., 2015)。下表では、これら3種を区別して記載している。

区分	手法名 (文献)	プライマー		反応温度条件	増幅産物 bp	備考	推奨度
		名称	配列(5'-3')				
PCR	gyrBF1/gyrBR1 (Lan et al. 2015)	gyrBF1	GCATGGAGACCTTCAGCAAT	(94°C60秒、51.5°C30秒、72°C30秒)×30サイクル→72°C10分	415	gyrB 遺伝子を標的としたPCR。 <i>tarda</i> , <i>piscicida</i> , <i>anguillarum</i> の3者を区別せず。 他の腸内細菌は増幅しない。 原報はTaq polymerase (MBI)を使用	☆☆
		gyrBR1	GCGGAGATTTTGCTCTTCTT				
	EDtT (Sakai et al. 2009)	EDtT-F	TTCCGCAACCATGATCAAAG	94°C3分→(94°C30秒、65°C30秒、72°C60秒)×40サイクル→72°C5分	268	<i>E. piscicida</i> 特異的 fimbrial gene cluster上流部 原報はTakara Ex Taq(Takara Bio)を使用	☆☆
		EDtT-R	AGGGCATATATCCACTCACTG				
	EDtA (Sakai et al. 2009)	EDtA-F	GAACAGCGCCTCTGTCTG	94°C3分→(94°C30秒、65°C30秒、72°C60秒)×40サイクル→72°C5分	230	<i>E. anguillarum</i> 特異的だが、臓器から直接行う場合にはあまり反応性がよくない。 fimbrial gene cluster上流部 原報はTakara Ex Taq(Takara Bio)を使用	☆☆
		EDtA-R	AATTGCTCTATACGCACGC				
	<i>E. piscicida</i> (Griffin et al 2014)	EPF	CTTTGATCATGGTTGCGGAA	95°C5分→(95°C15秒、58°C15秒、72°C15秒)×35サイクル→72°C5分	130	<i>E. piscicida</i> 特異的 原報はEconoTaq PLUS GREEN 2X Master Mix (Lucigen) を使用	—
		EPR	CGGCGTTTTCTTTTCTCG				
	<i>E. piscicida</i> -like (Griffin et al. 2014)	EPLF	TTTGATCGGGTACGCTGT	95°C5分→(95°C15秒、58°C15秒、72°C15秒)×35サイクル→72°C5分	128	<i>E. anguillarum</i> 特異的 原報はEconoTaq PLUS GREEN 2X Master Mix (Lucigen) を使用。原報で <i>E. piscicida</i> -like とされている菌は <i>E. anguillarum</i> 。	☆☆
		EPLR	AATTGCTCTATACGCACGC				
リアルタイムPCR	<i>E. tarda</i> (Reichley et al. 2015)	ET3518F	CAGTGATAAAAAGGGGTGGA	95°C15分→(95°C15秒、60°C60秒)×40サイクル→60°C(時間指定なし)	—	<i>E. tarda</i> を特異的に検出する。 <i>E. piscicida</i> と <i>E. anguillarum</i> を検出しない。原報ではプローブの5'末端は 6-carboxyfluorescein, 3'末端はblack hole quencher-1 で標識。	—
		ET3632R	CTACACAGCAACGACAACG				
		ET3559P (probe)	AGACAACAGAGGACGGATGTGGC				
	<i>E. piscicida</i> (Reichley et al. 2015)	EP14529F	CTTTGATCATGGTTGCGGAA	95°C15分→(95°C15秒、60°C60秒)×40サイクル→60°C(時間指定なし)	130	<i>E. piscicida</i> を特異的に検出する。原報ではプローブの5'末端は 6-carboxyfluorescein, 3'末端はblack hole quencher-1 で標識。	—
		EP14659R	CGGCGTTTTCTTTTCTCG				
		EP14615P (probe)	CCGACTCCGCGCAGATAACG				
	<i>E. piscicida</i> -like (Reichley et al. 2015)	EPL1583F	GATCGGGTACGCTGTCAT	95°C15分→(95°C15秒、60°C60秒)×40サイクル→60°C(時間指定なし)	—	<i>E. anguillarum</i> を特異的に検出する。原報で <i>E. piscicida</i> -like とされている菌は <i>E. anguillarum</i> 。 原報ではプローブの5'末端は 6-carboxyfluorescein, 3'末端はblack hole quencher-1 で標識。	—
		EPL1708R	AATTGCTCTATACGCACGC				
		EPL1611P (probe)	CCCGTGGCTAAATAGGACGCG				

文献

Griffin, M. J., Ware, C., Quiniou, S. M., Steadman, J. M., Gaunt, P. S., Khoo, L. H., and Soto, E. (2014) *Edwardsiella piscicida* identified in the southeastern USA by *gyrB* sequence, species-specific and repetitive wequence-mediated PCR.

Lan., J., Zhang, X.-H., Wang, Y., Chen, J., and Han, Y. (2008) Isolation of an unusual strain of *Edwardsiella tarda* from turbot and establish a PCR detection technique with the *gyrB* gene. *Journal of Applied Microbiology*, 105, 645-651.

Reichley, S. R., Ware, C., Greenway, T. E., Wise, D. J., and Griffin, M. J. (2015) Real-time polymerase chain reaction assays for the detection and quantification of *Edwardsiella tarda*, *Edwardsiella piscicida*, and *Edwardsiella piscicida*-like speies in catfish tissues and pond water. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 27(2), 130-139.

Sakai, T., Yuasa, K., Sano, M., and Iida, T. (2009) Identification of *Edwardsiella ictaluri* and *E. tarda* by species-specific polymerase chain reaction targeted to the upstream region of the fimbrial gene. *Journal of Aquatic Animal Health* 21, 124-132.

