

# アユの *Edwardsiella ictaluri* 感染症における、発病魚および保菌魚の臓器別原因菌分布状況

中居 裕, 辻 寛人

Distribution of *Edwardsiella ictaluri* in organs of diseased and carrier Ayu *Plecoglossus altivelis altivelis* in *E. ictaluri* infection

YUTAKA NAKAI AND HIROHITO TSUJI

若林(2004)によると、*Edwardsiella ictaluri*は、アメリカナマズ *Ictalurus punctatus* の腸内細菌性敗血症の原因として知られ、国内での感染例は知られていないかった。しかし、アユにおいて、2007 年に東京都、広島県、山口県で初めて感染・発病が確認されたことが Sakai et al.(2008)、Nagai et al.(2008)により報告されている。また、その後、初発を含む河川では、アユを含む複数の魚種で保菌魚が確認され(天社, 2009, Hassan et al. 2012, 間野, 2014)、その後、日本各地から *E. ictaluri* が分離されている(鈴木ほか, 2018)。

このような状況に対応するために、的確な診断および保菌検査方法の確立は不可欠となり、既に水産総合研究センター(2008a, b)によりマニュアルがまとめられている。それらの方法では、検査対象臓器は腎臓とされている。しかし、本菌の最適な分離部位を判断するために必要な臓器別の本菌分布状況についての知見は無く、腎臓が最適な検査部位であるかどうかは不明である。本研究では、検査精度向上の観点から最適な検査対象臓器を明らかにする目的で、自然発病魚、実験感染魚および野生魚における臓器別原因菌分布状況を検討した。

キーワード:アユ, *Edwardsiella ictaluri*, 診断方法, 保菌検査, 腎臓, 脾臓

## 材料と方法

### 実験 1 自然発病魚の臓器別原因菌分布状況

供試魚は、2014 年 6 月 23 日に診断した自然発病魚 1 尾(27.3g; 河川で友釣りにより採捕)を用いた。なお、供試魚は事前に本病と診断(分離菌は水産総合研究センター(2008a)による PCR により同定)されたもので、検査後、-80°Cで保存した。

検体は 4°Cで 1 時間解凍した。その後、腎臓(後部)・脾臓・肝臓・心臓(心室)・脳を摘出して計量し、乳鉢・乳棒で磨碎した後、9 倍量のハートインヒュージョン液体培地(栄研以下 HIB)で希釀した。その液をさらに HIB で 10 倍段階希釀後、ハートインヒュージョン寒天培地(栄研 以下 HIA)に 0.1mL 接種して 25°Cで培養した。したがって、検出限界は

10<sup>2</sup>CFU/g 未満となる。分離された細菌は、コロニーの色・形状で一次判別、二次判別としてオキシダーゼ試験を行った後、原因菌を計数した。なお、原因菌の一部は抗血清(日本水産資源保護協会配布)による凝集試験により同定を行った。

### 実験 2 実験感染魚の臓器別原因菌分布状況

竹上ほか(2011)の方法を参考に、以下のとおりに実施した。

供試魚は、当研究所で墨代飼育しているアユ(平均体重約 45g 琵琶湖産系)を用いた。供試魚は性成熟が進行していた。

供試菌株(EI-2014-2:2014 年に河川採捕魚より分離)は、HIB で 25°C・24 時間の振盪培養(120 回／分の円振盪)後、供試した。菌濃度は 2.6 × 10<sup>8</sup>CFU/mL であった。

感染方法は、飼育水で 10 倍に希釈した菌液 10L に供試魚 12 尾を入れ、通気しながら 1 時間浸漬した。浸漬中の液温は 22.1~22.4°C であった。浸漬後、50L 水槽に入れ、脱塩素水道水で飼育した。飼育中の水温は 20.8~24.8°C であった。対照区は無処理とし、浸漬感染魚と同様の条件で飼育した。なお、実験中は無給餌とした。

採材は、感染実験開始前(供試尾数 3 尾)、感染実験 6 時間後(供試尾数:対照区 3 尾・感染実験区 5 尾)、感染実験 3 日後(供試尾数:対照区 3 尾・感染実験区 5 尾)とした。採材は、クリーンベンチ内で行うなど、可能な限り無菌的に行つた。

供試魚は、まず採血を行つた。採血部位である尾部を水産用イソジン液 10%(Meiji Seika ファルマ)を含ませた脱脂綿でよく拭き、注射筒で採血した。血液は、滅菌済みシャーレに入れた後、マイクロピペットで素早く 0.1mL を HIA に接種した。したがつて、検出限界は 10CFU/mL 未満となる。供試魚は、採血後ビニール袋に入れ、生きたまま -80°C 冷凍庫に投入した。

凍結した供試魚を採材に供する際は、ごく軽い解凍と体表の消毒を兼ねて約 1000ppm の次亜塩素酸ナトリウム溶液(液温 20~25°C)に 5 分間浸漬した。その後、注意深く脳・心臓(心室)・腎臓(後部)・脾臓・肝臓を切り出した。脳・心臓(心室)・脾臓については基本的には全摘出であった。各臓器を計量後、乳鉢・乳棒で磨碎し、9 倍量の滅菌生理食塩水を加えて懸濁液とした。その懸濁液 0.1mL を HIA に接種して 25°C で培養した。したがつて、検出限界は 10<sup>2</sup>CFU/g 未満となる。なお、感染実験 3 日後の感染実験区 3 尾については、血液からの原因菌分離菌数から判断して各臓器の菌濃度が高いことが予想されたので、さらに 10 倍に希釈した懸濁液も用いた。分離された細菌は、コロニーの色・形状で一次判別、二次判別としてオキシダーゼ試験を行つた後、原因菌を計数した。なお、原因菌の一部は抗血清(日本水産資源保護協会配布)による同定を行つた。

### 実験 3 野生魚の臓器別原因菌分布状況 1

供試魚は、2015 年 8 月下旬に採捕されたアユ 5 尾(平均体重 115.6g; 河川で友釣りにより採捕)を用いた。供試魚は性成熟が進んでいた。なお、採捕した河川では、高水温期にアユの死亡が見られたとのことである(原因調査は行っていない)。

供試魚は生きたまま袋に入れ、-80°C 冷凍庫に投入した。したがつて、血液は採取しなかつた。解凍以後の方法は実験 2 と同じである。ただし、*E. ictaluri* の同定は水産総合研究センター(2008)に従い PCR で実施した。

### 実験 4 野生魚の臓器別原因菌分布状況 2

供試魚は、アユ 240 尾(岐阜県内河川で 2016 年 6~10 月に漁獲されたもの)を用いた。1 回あたりの供試尾数は 30 尾、計 8 回を以下のとおり実施した。

6 月:2 回実施(平均体重:33.4g, 29.4g)

7 月:2 回実施(平均体重:38.2g, 39.4g)

8 月:2 回実施(平均体重:47.2g, 53.6g)

9 月:1 回実施(平均体重:63.3g)

10 月:1 回実施(平均体重:41.4g)

供試魚は、細菌分離に供するまで氷蔵で保管された。その後、滅菌済み綿棒(メンティップ病院用綿棒「品番 1 P1502」日本綿棒製)の先端に腎臓および脾臓を付着させ、HIA に塗抹し、20°C で培養した。分離された細菌の同定は PCR8)で実施した。

## 結 果

### 実験 1 自然発病魚の臓器別原因菌分布状況

結果を第 1 表に示した。

腎臓の菌濃度が最も高く、次いで心臓がほぼ同等の菌濃度であった。他の臓器は、腎臓・心臓の約 1/100 の菌濃度であった。

### 実験 2 実験感染魚の臓器別原因菌分布状況

結果を第 2 表に示した。

6 時間後では、血液・脳では検出限界未満、心臓も 1 尾を除いて同様であった。腎臓は 1 尾を除いて *E. ictaluri* が分離され、脾臓では 5 尾すべてが検出限界以上であった。ただし、脾臓と腎臓を比較すると、5 尾すべてで脾臓の菌濃度が腎臓のそれを上回った。3 日後では、肝臓の 1 個体、脳の 2 個体を除き、検出限界以上となった。ただし、腎臓と脾臓を比較すると、脾臓の菌濃度が高いのは 1 個体、ほぼ同程度が 4 個体であった。肝臓と心臓はほぼ同程度の菌濃度であるが、腎臓・脾臓に比べて 1/10~1/100 以下であった。血液はさらに総じて低濃度であり、脳は総じて最も低濃度であった。

なお、6 時間後、3 日後とも、供試魚の外観および内部所見で病変は認められなかった。

### 実験 3 野生魚の臓器別原因菌分布状況 1

結果を第 3 表に示した。

供試魚の外観および内部所見に特に異常は認められなかつたため、供試魚はすべて健康魚と判断した。

供試魚 1 尾(N0.5)の脾臓のみ *E. ictaluri* が分離された。その脾臓中の濃度は 102CFU/g であった。

### 実験 4 野生魚の臓器別原因菌分布状況 2

腎臓のみから分離されたのは 7.1%、脾臓のみから分離さ

第1表 自然発病魚における臓器別の *Edwardsiella ictaluri* の分布状況

| 供試魚 | 体重(g) | 腎臓(CFU/g)         | 脾臓(CFU/g)         | 肝臓(CFU/g)         | 心臓(CFU/g)         | 脳(CFU/g)          |
|-----|-------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 1   | 27.3  | $3.6 \times 10^7$ | $2.0 \times 10^5$ | $3.6 \times 10^5$ | $2.0 \times 10^7$ | $9.0 \times 10^5$ |

第2表 実験感染アユにおける臓器別の *Edwardsiella ictaluri* の分布状況

| (6時間後) |       |       |            |                   |                   |           |                   |
|--------|-------|-------|------------|-------------------|-------------------|-----------|-------------------|
| 供試魚    | 体重(g) | 性別    | 血液(CFU/mL) | 腎臓(CFU/g)         | 脾臓(CFU/g)         | 肝臓(CFU/g) | 心臓(CFU/g)         |
| 1      | 37.9  | ♂(成熟) | 10>        | $4.0 \times 10^2$ | $1.9 \times 10^3$ | $10^2>$   | $10^2>$           |
| 2      | 51.7  | ♀(成熟) | 10>        | $1.0 \times 10^2$ | $5.0 \times 10^2$ | $10^2>$   | $10^2>$           |
| 3      | 43.6  | ♀(成熟) | 10>        | $4.5 \times 10^3$ | $1.3 \times 10^4$ | $10^2>$   | $2.0 \times 10^2$ |
| 4      | 54.9  | ♀(成熟) | 10>        | $10^2>$           | $1.0 \times 10^2$ | $10^2>$   | $10^2>$           |
| 5      | 48.0  | ♂(成熟) | 10>        | $4.5 \times 10^3$ | $9.5 \times 10^3$ | $10^2>$   | $10^2>$           |

  

| (3日後) |       |       |                   |                   |                   |                   |                   |
|-------|-------|-------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 供試魚   | 体重(g) | 性別    | 血液(CFU/mL)        | 腎臓(CFU/g)         | 脾臓(CFU/g)         | 肝臓(CFU/g)         | 心臓(CFU/g)         |
| 1     | 40.1  | ♀(成熟) | $1.3 \times 10^3$ | $5.4 \times 10^5$ | $10^6 \leq *$     | $9.4 \times 10^3$ | $6.7 \times 10^3$ |
| 2     | 42.0  | ♀(成熟) | $4.0 \times 10$   | $6.3 \times 10^4$ | $2.6 \times 10^4$ | $10^2>$           | $1.0 \times 10^2$ |
| 3     | 55.0  | ♂(成熟) | $1.2 \times 10^4$ | $10^6 \leq *$     | $10^6 \leq *$     | $3.7 \times 10^5$ | $2.5 \times 10^5$ |
| 4     | 47.5  | ♂(成熟) | $4.6 \times 10^2$ | $5.0 \times 10^5$ | $2.1 \times 10^5$ | $1.9 \times 10^4$ | $2.7 \times 10^3$ |
| 5     | 43.1  | ♂(成熟) | $8.0 \times 10$   | $8.1 \times 10^4$ | $8.1 \times 10^4$ | $1.1 \times 10^3$ | $3.0 \times 10^2$ |

\* :  $10^6 \leq$  は、検体の最高希釈( $10^2$ )の寒天平板において、数百個以上のコロニーが出現し、正確に計数できないため、最低限の数値を示したものである。

第3表 アユ野生魚における臓器別の *Edwardsiella ictaluri* の分布状況

| 供試魚 | 性別    | 体重(g) | 腎臓(CFU/g) | 脾臓(CFU/g)         | 肝臓(CFU/g) | 心臓(CFU/g) | 脳(CFU/g) |
|-----|-------|-------|-----------|-------------------|-----------|-----------|----------|
| 1   | ♂(成熟) | 127.3 | $10^2>$   | $10^2>$           | $10^2>$   | $10^2>$   | $10^2>$  |
| 2   | ♂(成熟) | 88.8  | $10^2>$   | $10^2>$           | $10^2>$   | $10^2>$   | $10^2>$  |
| 3   | ♂(成熟) | 120.3 | $10^2>$   | $10^2>$           | $10^2>$   | $10^2>$   | $10^2>$  |
| 4   | ♀(成熟) | 131.9 | $10^2>$   | $10^2>$           | $10^2>$   | $10^2>$   | $10^2>$  |
| 5   | ♂(成熟) | 109.6 | $10^2>$   | $1.0 \times 10^2$ | $10^2>$   | $10^2>$   | $10^2>$  |

第4表 アユ野生魚における腎臓および脾臓別の *Edwardsiella ictaluri* の分布状況

| 分離臓器   | ①腎臓のみ  | ①+③    | ②脾臓のみ  | ②+③    | ③腎臓+脾臓 | 全体     |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 分離尾数   | 17/240 | 41/240 | 25/240 | 49/240 | 24/240 | 66/240 |
| 分離率(%) | 7.1    | 17.1   | 10.4   | 20.4   | 10.0   | 27.5   |

れたのは 10.4%、腎臓と脾臓の両方から分離されたのは 10.0% であった。したがって、腎臓から分離されたのは 17.1%、脾臓から分離されたのは 20.4% であった。

## 考 察

自然発病魚の臓器別原因菌分布状況からは、以下のことと考えられた。

腎臓が最も菌濃度が高いことから、一尾の結果ではあるものの、発病魚からの分離部位は腎臓とすることが妥当と考えられた。

実験感染魚の臓器別原因菌分布状況からは、以下のことと考えられた。

6 時間後の状況から、体内に侵入した本菌は、脾臓で定着し、増殖するものと考えられた。血液中から *E. ictaluri* が検出されない理由は、体内に取り込まれた本菌は一旦各臓器へ定着し、その後血液中に遊出しなかったからと考えられた。No. 3 の脾臓は  $10^4$  CFU/g 以上となっていることから、脾臓に定着後、速やかに増殖したと考えられた。腎臓と脾臓における定着時期は、どちらが早いかは本結果からは判断できない。ただ、6 時間後と 3 日後の比較から腎臓では、定着から極早い時期は、脾臓に比べて増殖しづらいと考えられた。しかし、3 日後の状況から、腎臓では急激に増殖し、3 日後には脾臓とほぼ同じ程度にまで増殖したと考えられた。本実験ではこの時点では肉眼的に症状は発

現していないが、症状が発現する頃には、自然発病魚の臓器別原因菌分布状況にあるとおり、腎臓が最も菌濃度が高い臓器となり、脾臓は菌濃度が低下していると考えられた。これらのことからも、発病魚からの分離部位は腎臓することが妥当と考えられた。

なお、腎臓および脾臓以外の臓器は、腎臓および脾臓の1/10以下 の菌濃度であったことから、腎臓および脾臓で増殖した本菌が血流に乗って定着・増殖したものと考えられた。そのため、検査対象臓器としては、腎臓および脾臓に比べて不適と考えられた。

本実験では、6時間後には既に腎臓や脾臓で増殖していると考えられた。Nakai and Kageyama(2018)は、アユの冷水病において、アユ筋肉成分を冷水抽出した成分を主体とした培地を用いることにより、 $10^2$ CFU/mL、1時間浸漬で80%の死亡率を得たことを報告している。その手法を用いて、 $1.8 \times 10^4$ CFU/mL・1時間浸漬後に血液と脾臓の継時観察を行ったところ、血液の菌数は1日後に検出限界( $10$ CFU/mL未満)を超えることなく、脾臓の菌数は3日後に検出限界( $10^2$ CFU/g未満)を超えたことを見ている(未発表)。病原細菌の相違はあるものの、低濃度の浸漬感染では、浸漬後短時間での体内での急激な増殖は認められないことから、 $2.6 \times 10^7$ CFU/mLという高濃度浸漬により、多数の菌がほぼ同時に体内に侵入した結果、6時間後には既に腎臓や脾臓で増殖したと考えられた。

さて、実験感染魚の臓器別原因菌分布状況から、本実験においては容易に浸漬感染が成立したこととなる。金辻(2014c)はアユの成熟により本菌への感受性が高まるとしていることから、本研究では浸漬感染がより成立しやすかったと考えられる。

しかし、川口・飯田(2009)は浸漬感染が成立しなかったとし、間野(2014)は浸漬感染による死亡率は株により大きく異なるとしている。竹上ほか(2011)、川口・飯田(2009)、間野(2014)および本研究を含めて、浸漬感染強度は約 $10^7$ CFU/mLで共通している。飼育水温は、本研究が約20~25°C、竹上ら(2011)が18°C、川口・飯田(2009)が25°C、間野(2014)が20°Cであった。なお、飼育水温については、金辻(2014b)は高いほど死亡率が上昇したとしており、 $10^5$ CFU/mL・1時間浸漬で80%の死亡率を見ている。さらに、本研究の条件では、6時間後において本菌がすべての供試魚(5尾)で分離されたのに対し、川口・飯田(2009)は浸漬24時間後に腎臓からの分離を試みた(20尾)が、分離できなかったとしている。以上のことから、竹上ほか(2011)の報告は、必ずしも高水温と言えない条件で、高い死亡率を得ていることになる。

以上の研究における条件面での大きな相違点として、使用菌株や供試魚であるアユの系統および体重等が挙げられる。しかし、全国各地で本症が発病していることを考慮すると、前述のような死亡率の大きな相違の理由とは考えづらい。ただ、見逃せない条件として、竹上ほか(2011)および本研究では、増殖培地にHIBを使用しているが、川口・飯田(2009)、間野(2014)はトリプトソーヤ液体培地(以下TSB)を使用している点である。

American Fisheries Society(2016)は、トリプトソーヤ寒天培地(以下TSAB)をアメリカナマズの腸内細菌性敗血症の原因菌でもある*E. ictaluri*の分離培地として推奨している。このことを根拠にして、*E. ictaluri*の分離培養にはTSAおよびTSBが常用されてきたと考えられる。しかし、川口・飯田(2009)は、本菌を腹腔内接種したアユとの同居感染は成立しなかったとしている。また、間野(2014)も、浸漬感染により魚体通過させた菌株(3株)による浸漬感染において、3株すべてで死亡率が低下したことを見ている。以上の結果は、TSBによる培養を重ねると、アユに対する病原性が低下することを示唆するものと考えられる。それに対して、HIBを使用した金辻(2014a)は、*E. ictaluri*を浸漬感染または腹腔内接種したアユとの同居感染は容易に成立し、40%の死亡率を見ている。

以上のことから、TSAまたはTSBによる培養は、HIAまたはHIBに比べてアユに対する病原性が低下する可能性が推察される。培地によりアユに対する病原性に差があるか否かは、本症研究上、明らかにすることは必須である。なお、本研究の結果は、感染実験におけるHIAまたはHIB使用の妥当性を、臓器別の菌濃度継時観察の面からも支持するものとなったが、TSAまたはTSBと、HIAまたはHIBによる培養における病原性を比較するには、病魚からの分離に適しての厳密な条件設定による実験が必要であろう。

2015年8月下旬に採捕されたアユ5尾(平均体重115.6g)からは、1尾の脾臓のみ*E. ictaluri*が分離された。その脾臓中の原因菌濃度は $10^2$ CFU/gであった。体重に対する脾臓の割合は約0.1%程度であることがこれまでの実測により把握していることから、その数値を当てはめると、供試魚の脾臓の大きさは0.1g程度と考えられる。従って、供試魚の脾臓には10菌体程度の原因菌が定着していたものと考えられた。5尾の精査による結果ではあるが、*E. ictaluri*の保菌臓器として、脾臓の重要性が明らかになったものと考えられた。

240尾の野生アユにおける腎臓および脾臓からの*E. ictaluri*の分離状況から、腎臓のみ、脾臓のみ、腎臓と脾臓の両方から分離される割合は、それぞれ一定以上と

なることが明らかとなった。その理由として、次のことが考えられた。

自然発病魚、実験感染魚および野生健康魚における臓器別原因菌分布状況から、アユ体内に侵入した *E. ictaluri* は、まず脾臓で旺盛に増殖し、その後に腎臓が続く。ほどなく腎臓が脾臓よりも菌濃度が高くなり、その状態がしばらく続くが、治癒に向かう場合、必ずしも腎臓に最後まで *E. ictaluri* が残る訳では無く、脾臓のみに残る場合もある。また、実験感染魚における臓器別原因菌分布状況から、臓器別の *E. ictaluri* の濃度は、個体により異なっていることが伺える。

以上のことから、*E. ictaluri* の保菌状況が個体により異なっていることの反映が、本研究の結果として現れたものと考えられた。

なお、本研究では、保菌検査に用いた手法は、検体の大処理の必要性から、水産総合研究センター(2008b)に記された液体培地による方法ではなく、滅菌綿棒による寒天平板塗抹による方法とした。本方法による検出限界は、推定を含めると以下のとおりとなる。

使用した滅菌済み綿棒(メンティップ病院用綿棒「品番 1P1502」日本綿棒製)をアユ腎臓に突き刺すと、0.015g(5本の平均値)の体液を含ませることができた。綿棒で吸い取った体液の約 10%が寒天平板に塗抹されると仮定すると、約 0.001g の体液を接種したことになる。従って、本方法では  $10^3$ CFU/g 程度以上の菌濃度が無いと分離できないことになる。「方法の 3. 野生魚の臓器別原因菌分布状況 1」での脾臓の菌濃度は  $10^2$ CFU/g であったので、本方法では分離は困難と考えられる。

以上のことから、保菌率が極めて低いことが想定される検体の場合は、水産総合研究センター(2008b)に記された、綿棒を液体培地に入れてそのまま培養することで、検出限界を 10 倍以上高くする必要がある。なお、水産総合研究センター(2008b)に記された方法で行えない場合でも、分離部位を腎臓と脾臓とすることにより検査精度の向上を図る必要があるものと考えられた。

## 要 約

- アユの *E. ictaluri* 感染症における的確な診断および保菌検査方法における最適な検査対象臓器を明らかにする目的で、自然発病魚、実験感染魚および野生魚における臓器別原因菌分布状況を検討した。
- 自然発病魚および実験感染魚の臓器別原因菌分布状況から、アユ体内に侵入した *E. ictaluri* は、まず脾臓で旺盛に

増殖し、その後に腎臓が続く。ほどなく腎臓が脾臓よりも菌濃度が高くなり、その状態がしばらく続くものと考えられたため、病魚の検査部位は腎臓が最適と考えられた。

- 野生魚 5 尾の結果から、保菌臓器としての脾臓の重要性が示唆された。
- 240 尾の野生アユにおける、腎臓および脾臓からの *E. ictaluri* の分離状況から、腎臓のみ、脾臓のみ、腎臓と脾臓の両方から分離される割合がそれぞれ一定以上であったことから、検査精度向上のためには腎臓と脾臓の両方から分離する必要があるものと考えられた。

## 文 献

- American Fisheries Society. 2016. BLUE BOOK 2016 1. 2. 6 Enteric Septicemia., 7pp.
- Hassan ES, Mahmoud MM, Kawato Y, Nagai T, Kawaguchi O, Iida Y, Yuasa K, Nakai T. 2012. Subclinical *Edwardsiella ictaluri* infection of wild ayu *Plecoglossus altivelis*. Fish Pathol., 47: 64–73.
- 間野伸宏. 2014. 多摩川生息魚類における魚病細菌の分布調査. 公益財団法人どうきゅう環境財団研究助成・学術研究報告書(研究助成・学術研究 VOL.43-No.313), 34pp.
- 川口 修・飯田悦左.2009.アユのエドワジエラ・イクタルリ感染症の疫学的研究. 平成 20 年度養殖衛生管理問題への調査・研究成果報告書, 社団法人 日本水産資源保護協会, 88–97.
- 金辻宏明. 2014a. エドワジエラ・イクタルリに感染したアユと健康なアユとの同居感染試験. 平成 25 年度滋賀県水産試験場事業報告, 75.
- 金辻宏明. 2014b. アユのエドワジエラ・イクタルリ感染試験における高水温飼育の影響. 平成 25 年度滋賀県水産試験場事業報告, 76.
- 金辻宏明. 2014c. アユの成熟とエドワジエラ・イクタルリ感染との関係. 平成 25 年度滋賀県水産試験場事業報告, 77.
- Nagai, T., E. Iwamoto, T. Sakai, T. Arima, K. Tensha, Y. Iida, T. Iida and T. Nakai. 2008. Characterization of *Edwardsiella ictaluri* isolated from wild ayu *Plecoglossus altivelis* in Japan. Fish Pathol., 43, 158–163.
- Nakai Y., and T. Kageyama. 2018. New culture medium to maintain the virulence of *Flavobacterium psychrophilum*. Flavobacterium 2018 The 5th international conference on Members of the genus Flavobacterium., 50.
- Sakai T, Kamaishi T, Sano M, Tensha K, Arima T, Iida Y, Nagai T, Nakai T, Iida T. 2008. Outbreaks of *Edwardsiella*

*ictaluri* infection in ayu *Plecoglossus altivelis* in Japanese rivers. Fish Patrol., 43: 152–157.

水産総合研究センター. 2008a. アユの *Edwardsiella ictaluri* 感染症の診断 病魚からの検出., 11pp.

水産総合研究センター. 2008b. アユの *Edwardsiella ictaluri* 感染症の診断 保菌魚(種苗)からの検出., 6pp.

鈴木究真・泉庄太郎・熊川真二・坂井貴光・中易千早. 2019. 4 種のアユ病原細菌を同時に検出するマルチプレックス PCR 法. 日本水産学会誌, 85:340–342.

竹上健太郎・山本充孝・岡村貴司. 2011. エドワジエラ・イクタ

ルリの琵琶湖産アユに対する病原性. 平成 22 年度滋賀県水産試験場事業報告, 72–73.

天社こずえ・畠間俊弘. 2009. 錦川で採集されたアユ及びその他の魚類からの PCR による *Edwardsiella ictaluri* の検出状況. 山口県水産研究センター研究報告 7:77–81.

若林久嗣. 2004. 第 III 章 細菌病 エドワジエラ症 (Edwardsiellosis). 若林久嗣・室賀清邦(編), 江草周三(監修), 魚介類の感染症・寄生虫病. 恒星社厚生閣, 東京. pp.186–196.