

【総説】

*Actinobacillus pleuropneumoniae*の生物型および血清型について
—アップデート2021—

伊藤 博哉

農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門札幌研究拠点 衛生管理研究領域 病理・生産病グループ

-----北獣会誌 65, 149~156 (2021)

1. はじめに

Actinobacillus pleuropneumoniae (App) は、世界各国で多発し、養豚産業に多大な経済的損失を与える豚胸膜肺炎の原因菌である^[1-6]。本稿ではAppの疫学解析マーカーとして現在最もよく利用されている血清型について概説する。さらにAppではその存在があまり知られていないと思われる生物型についても概説する。

2. 生物型について

2.1 はじめに

Appは発育の際のV因子（ニコチンアミド・アデニン・ジヌクレオチド：NADおよびニコチンアミド・アデニン・ジヌクレオチドリノ酸：NADP）の要求性に基づき、2つの生物型に型別される^[1-6]。V因子要求性の生物型1は、かつては*Haemophilus pleuropneumoniae*に、一方、V因子非要求性の生物型2は、*Pasteurella haemolytica-like organism*に分類されていたが、両菌種ともに1983年に同一菌種のAppに再分類された^[7]。生物型1による豚胸膜肺炎は世界的に多発し、アウトブレイク例も多いが、生物型2による豚胸膜肺炎の発生報告は少なく、あっても散発例が多い^[1,2,4,5]。日本では口頭発表などによる生物型2の分離報告が2例あるだけである^[1,2,4]。これまで生物型2は生物型1よりも病原性が弱いため、生物型2の分離率が低いと考えられてきた^[1,4-6]。しかし、スペインでは生物型2が豚胸膜肺炎に強く関与している可能性が報告されている^[1,4,6]。“App=V因子要求性”というイメージが強く、Appと他のV因子非要求性の*Actinobacillus*に属する細菌の表現

型性状が類似しているため、生物型2のAppが見逃されている可能性がある^[1,4-6]。

App生物型1の培養に適した培地はいくつかあるが、筆者はNADおよび馬の脱繊維血液を添加した培地を主に使用している。なお羊の血液は一般細菌の培養に用いられることが多いと思われるが、羊の血液にはV因子分解酵素が多量に含まれるため、V因子を加えても分解されてしまう^[8]。一方、馬の血液にはV因子分解酵素が少量しか含まれない。そのため、App生物型1などのV因子要求性細菌の培養には馬の血液の使用が推奨される。

2.2 生物型別法について

生物型1と2の識別は、V因子含有ディスク等を用いた表現型検査により可能である。生物型2はNAD合成に必要な遺伝子のひとつである*nadV*を保有し、*nadV*が正常に機能しているため発育にNADを要求しない。一方、生物型1は、元は*nadV*として機能していたのに、変異によって機能タンパク質を合成する機能を失った偽遺伝子しか保有しないため、発育にNADを要求する^[4,9,10]。そのため、無傷の*nadV*と変異した*nadV*の偽遺伝子の塩基配列の違いを利用した生物型別用PCRが開発されている^[9,10]。このPCRでは、生物型1および2は、それぞれPCR陰性および陽性である。

3. 血清型について

3.1 はじめに

Appは莢膜多糖（CPS）の抗原性の違いに基づき、血清型別される^[1,3-6]、これまでに19の血清型（莢膜血清型）が提唱されている^[10]。2002年までは15の血清型の存在が提唱されていたが^[1-3]、2015年には血清型

16^[4,5,11,12]、2018年には血清型17および18^[9]、さらに2021年には血清型19^[10]が新たに提唱された。生物型1では、血清型14を除くすべての血清型の分離が報告されている^[1,4,6,9-11]。一方、生物型2では、血清型2、4、7、9、11、13、14、17のみが分離されている^[1,4,6,9]。

血清型別はAppの野外株の疫学解析に現在最も使用されている方法である^[3]。血清型別が広く行われている主な理由は、Appの全血清型の株は胸膜肺炎を引き起こすものの、血清型によって病原性に差が認められることや、ワクチンの有効性は血清型（群）特異的であることがあげられる^[1,4,6]。

3.2 血清型別法について

抗血清を用いた古典的な血清型別法では、スライド凝集試験、共凝集試験やラテックス凝集試験(Latex agglutination: LA)などの凝集試験が、分離株の簡易・迅速な方法として広く用いられている^[1,3-5]。血清学的型別には、高力価で特異性の高い血清型別用抗血清が必要であるが、市販されていない。そのため血清型別には、通常はホルマリン不活化した各血清型参考株の全菌体をウサギに免疫して作製した自家製の抗血清が用いられている。しかしこの方法で作製した抗血清中には、血清型特異抗原に対する抗体だけでなく、異なる血清型間が保有する共通抗原を含む様々な菌体抗原に対するポリクローナルな抗体を含有する。そのため、異なる血清型間で交差反応がしばしば認められ、血清型別不能となることがある^[1,3-5]。

交差反応が認められた場合には、ゲル内免疫沈降反応や間接赤血球凝集試験(Indirect haemagglutination: IHA)による確定診断を実施することが推奨されている^[1,3-5]。

3.3 交差反応について

上述したように、野外株の血清型別の際にはしばしば異なる血清型間での交差反応が認められるが、リポ多糖LPSのO多糖抗原(O抗原)が一部の(莢膜)血清型間で共通であることがその一因と考えられている^[1,3-6]。すなわち、血清型1/9/11、血清型3/6/8/15、血清型4/7(/13)のO抗原の化学構造、抗原性および合成遺伝子の構造は同一であるか、あるいは類似しているため、それぞれの血清型間ではしばしば交差反応が認められると考えられる^[1,3-6]。一方、血清型2、5、10、12、14、16は、各血清型に特異的なO抗原の化学構造、抗原性および合成遺伝子の構造を保有している^[1,3-6,12]。血清型13のO抗原の化学構造は、血清型4/7と類似しているが、交差反応が認められる株と、認められない株が

存在する。しかし、その理由は不明である^[4]。血清型17は血清型3/6/8/15のO抗原合成遺伝子と同一または類似した遺伝子を保有し、確定診断法のIHAでも血清型8と交差反応を示す^[9]。血清型18は血清型4/7のO抗原合成遺伝子と類似した遺伝子を保有し、簡易・迅速な型別法であるLAでは、血清型7と交差するが、IHAでは交差反応は認められない^[9]。血清型19には、血清型3/6/8/15のO抗原合成遺伝子と類似した遺伝子を保有する株(デンマーク分離株)と、血清型7と同一のO抗原合成遺伝子を保有する株(カナダ分離株)の2タイプが存在する^[10]。デンマーク分離株は、血清型3/6/8/15との共通抗原であるO抗原合成遺伝子を保有するが、IHAでは血清型1~18参考株で作製した抗血清のうち、血清型1参考株で作製した抗血清のみと強く反応する。しかし、血清型19のデンマーク株を免疫して作製した抗血清でIHAを実施すると、血清型1~18参考株の抗原との交差反応は認められない^[10]。一方、カナダ分離株では、血清型1~18参考株で作製した抗血清のみならず、血清型19のデンマークおよびカナダ分離株を免疫して作製したいずれの抗血清を用いた場合もIHAでの反応性を欠くが、その理由は不明である^[10]。このように交差反応に関しては、簡単には説明できない事例が複数存在する。

なお交差反応が認められる場合には、交差反応した血清型株の抗原で吸収した免疫血清を使用によって解決できる場合がある。

4. 世界各国の主要な血清型について

日本の豚から分離されたAppの血清型を表1-Aに示した^[4,13-23]。日本では血清型2が最も多く分離され、次いで血清型1、5と続く^[4,16,18,20,22]。これらの3つの血清型に対して効果・効能が認められる不活化ワクチンが、わが国では販売されている。その他の血清型については、最近の過去約10年では、血清型6、7、8および15の分離が認められているが^[13,14,18,20,22]、血清型1、2および5と比較してその例数は少ない。日本では血清型4、10、14、16~19の分離報告例はない。

日本以外の国の豚から分離されるAppの主要な血清型および分離されたことのある血清型を表1-Bにまとめた^[4,14,24-29]。日本以外のアジアでは、日本同様血清型1、2または5の分離が多い^[4]。北米では、かつては血清型1および5の分離が多かったが^[28]、近年では血清型5、7および12の分離が多い^[4,29]。欧州では血清型2が分離される国が多いが、血清型1または9が分

表 1-A. 日本の豚から分離された App の血清型

文献	分離年	血清型													株数
		1	2	3	5	6	7	8	9	11	12	13	15	型別不能	
4	1986-2000	620 (19.8%)	2,107 (67.4%)	26	270 (8.6%)	7	55 (1.8%)	28	3	0	8	0	0	-	3,124
	2001-2003	159 (15.5%)	694 (67.8%)	4	87 (8.5%)	4	3 (0.3%)	0	0	1	3	5	23 (2.2%)	-	1,023
	1986-2003 小計	779 (18.8%)	2,801 (67.5%)	30	357 (8.6%)	11	58 (1.4%)	28	3	1	11	5	23 (5.1%)	-	4,147
13	2012-2013	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7 (血清型15荚膜欠損株)	2	9
14	2003-2013	-	-	0	-	0	-	1	-	-	-	-	29	-	30
15	2013	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
16	2015	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
17	2016	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
18	2017	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
19	2017	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
20	2014、 2016-2018	11 (7.2%)	110 (72.4)	0	19 (12.5%)	5 (3.3%)	3 (2.0%)	0	0	0	0	0	3 (2.0%)	1 (0.7%)	152
21	2019	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2 (血清型15荚膜 およびLPS欠損株)	2
22	2019	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
23	2019	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1

離される国もある [4,25,26]。スペイン、英国および豪州では、他国では分離例の少ない血清型 4、8 および 15 がそれぞれ主要な血清型である [4,24]。血清型 3 は非病原性かあるいは非常に弱いと考えられている [4]。血清型 14、16~18 はそれぞれ欧州 [4]、ハンガリー [4,11,26]、北米/欧州 [9]、欧州 [9] およびカナダ/デンマーク [10] のみで分離されている。

世界各国における App の各血清型に対する抗体陽性率を表 2-A に示した [4,27,30]。抗体陽性率においても日本および欧州では血清型 2 が主要な血清型であるが [4]、北米では血清型 4/7、12 および 3/6/8 が主要な血清型である [4]。

上述したように、ワクチンの有効性は血清型特異的であるため、分離株の血清型別は重要である [1-4,6]。バクテリア（菌体をホルマリン等で不活化した全菌体ワクチン）や毒素を混合したサブユニットワクチンが世界各国で市販されているが、全ての血清型に効果・効能を示すワクチンはまだ開発されていない [31]。そのため各農場にどの血清型が浸潤しているか把握し、ワクチンの選択およびワクチンプログラムの検討を行うために、分離株を血清型別することは、重要な検査項目のひとつであると言える。

5. App の CPS 合成遺伝子 (cps) 領域について

App の血清型は CPS の化学構造および抗原性にに基づき決定される [4,5]。血清型 9 および 11 の cps 領域塩基配列はほぼ同じであるが [9]、各血清型はそれぞれ血清型特異的な cps 領域を保有する [4,5,9,10,12,32]。血清型 1~15 の CPS の化学構造、全血清型の cps 領域の塩基配列と

その遺伝子構造がすでに明らかにされているが、遺伝子構造の特徴に基づき各血清型の CPS は 4 つのグループに分けられる [4-6,9,10,12,32]。ホスホジエステル結合した直鎖オリゴポリマーで構成されるタイプ I に属する血清型 1、4、12、14、15、18 および 19 には、cps1A (CPS リン酸転移酵素) が存在し、荚膜のリニアパックボーンを構築するリン酸結合に関与する [4,5,9,10,32]。タイコ酸ポリマーで構成されるタイプ II に属する血清型 2、3、6~9、11、13 および 17 には、タイコ酸の合成に関与する cps2A (タイコ酸グリセロール転移酵素遺伝子) および、cps2B (グリセロール-3-リン酸シチジル転移酵素遺伝子) と、機能不明な cps2C 遺伝子等が存在する [4,5,9,32]。単純なオリゴポリマーで構成されるタイプ III の血清型 5 および 10 には、単糖 3-デオキシ-d-マンノ-2-オクツロソン酸 (dOclA) の合成に必要な kdsA (dOclA 8 リン酸合成酵素) ホモログが存在する [4]。最も新しく同定されたタイプ IV に属する血清型 16 には、他の血清型にはないユニークな cps16B (ヒアルロン酸合成遺伝子) および cps16C (他の血清型の荚膜には認められない糖であるラムノース合成遺伝子) などを含めた荚膜合成遺伝子 cps16ABCDEF を保有する [5,12,32]。

6. PCR による血清型の推定について

血清型別には、高力価で特異性の高い血清型別用抗血清が必要であるが、市販されていない。またしばしば共通抗原に由来した交差反応が問題となることが多い。これらの問題に対処するために、各国・各地域で重要な血清型を遺伝子型別するための様々なシングルプレックスおよびマルチプレックス PCR 法がこれまでに多数開発

表 1 - B. 日本以外の国の豚から分離された App の血清型

地域および国	州・省	文献	引用文献5での 引用文献	分離年	検査株数	主要な血清型 (%)	分離されたことのある 血清型	型別方法
アジア								
韓国		4	126	不明	100	2 (56)、5 (28)	2、5、6、7	従来法 ^a
		4	208	2006-2009	68	5 (66)、2 (16)	1、2、4、5、7	従来法
		4	208	2010	34	5 (38)、1 (35)	1、2、4、5、7、8	従来法
		4	96	2011-2012	48	2 (42)、5 (33)	1、2、4、5、7、12	<i>cps/apx/omLA</i> PCR
		4	111	2012-2013	54	5 (37)、1 (28)、UT(24)	1、2、5、7、12	<i>cps</i> PCR
		4	29	不明	20	7 (30)、5 (25)、3 (20)	3、4、5、7、8	従来法
中国	山東省	4	29	不明	20	7 (30)、5 (25)、3 (20)	3、4、5、7、8	従来法
台湾		4	21	不明	60	1 (53)	1、2、5	従来法
		4	179	2007-2008	56	1 (79)	1、2、4、5、7	従来法
		4	206	2002-2007	211	1 (65)、2 (34)	1、2、5	従来法
イスラエル		4	167	2007-2008	不明	記載なし	13	従来法
欧州								
イギリス		4	156	1994	51	8 (35)、6 (28)、3 (18)	2、3、6、7、8、9、10	従来法
		4	156	2004	96	3 (52)、8 (27)	2、3、6、7、8、12	従来法
		4	156	2004	66(同一株)	3 (52)、8 (30)	2、3、6、7、8、12	従来法
		4	156	2009	378	8 (32)	2、3、6、7、8、12	<i>cps</i> PCR
		4	156	2009	378	8 (78)	2、3、6、7、8、12	<i>cps</i> PCR
		24	1995-2007	378	8 (78)、6 (10)	2、3、6、7、8、12	<i>cps</i> PCR	
		24	2008-2014	113	8 (72)	2、6、7、8、12、NT ^b	<i>cps</i> PCR	
オランダ		4	93	不明	不明	9 (49)、3 (32)	1、2、3、5、7、8、9	従来法
		4	34	2008	63	2 (70)、9 (25)	2、9、13、9/11	従来法
ドイツ		25		2010-2019	213	2 (64)、9/11(15)	2、5、6、7、8、9/11、 12、13、16、17、18、NT	従来法
チェコ		4	176	1999-2000	122	9 (66)、2 (16)	1、2、3、5、7、8、9	従来法
		4	143	2001-2003	238	1/9/11(41)、9 (34)、 2 (22)	2、8、9、11、12、1/9/11	従来法
		4	102	2003-2004	254	9/11(55)	2、4、5、7、11、12、 1/9/11、9/11	従来法
フランス		4	23	1989-1996	1,154	1/9/11、2	2、4、5、7、10、12、 1/9/11、3/6/8	従来法
ベルギー		4	32	1991-1992	199	2 (48)、3 (21)	2、3、5、7、9、10、11	従来法
ハンガリー		4	35	不明	不明		13	従来法
		4	175	不明	不明		16	従来法
		26		2012-2016	91	2 (39.5)、13(15.4)、 NT(13.2)	2、5、8、9、11、12、13、 14、16	従来法
スペイン		4	60	不明	71	4 (42)、7 (23)	1、2、3、4、6、7、8、 9、12	従来法
		4	59	1997-2004	229	2 (41)、4 (40)	1、2、4、5、6、7、8、11	従来法
デンマーク		4	122	2002-2008	不明	7 (69)、NT(21)	1、2、7、11	従来法
		4	57	不明	不明	2、6、12(>90)		従来法
		4	86	不明	不明	2 (63)、6 (26)	2、5、6	従来法
		4	151	不明	不明		14	従来法
		4	56	不明	100(扁桃由来)	2 (45)、12(27)	2、5、6、8、9、10、12	従来法
	4	56	1996	102(肺由来)	2 (56)、6 (27)	1、2、5、6、8、9、10、12	従来法	
フィンランド		27		2011-2014	20	2		PCR
北米								
カナダ	ケベック州	28		1970-1990	3,306(肺炎由来)	1 (68)、5 (23)	1、2、3/6/8、7、10、12	従来法
	ケベック州			不明	140(鼻腔・扁桃由来)	5 (35)、1 (34)、7 (22)	1、2、3、5、6、7、8、12	従来法
		4	52	2012-2014	134	5 (39)、7 (37)	1 (4.5)、2、5、7、8、12	従来法
		29		2015-2020	142	7 (50)、5 (26)、12(8.4)	1 (2.8)、2、5、6、7、8、 12、13、15、17	従来法
米国およびカナダ		4	51	2007-2013	96 ^c		6、8、3/6 ^d 、(15?)	<i>cps</i> PCR
		4	13	不明			13(K13:O10 ^e)	従来法
		4	51	2007-2013	74 ^c	8 (72)、NT(15)、6 (12)	6、8、3/6 (3、15なし)	<i>cps3/6/8/15</i> PCR
中南米								
ブラジル		4	107	1993-1999	94	5 (35)、3 (34)	1、3、4、5、7、11、12	従来法
		4	107	2000-2006	144	10(29)、6 (26)、5 (24)、 3 (21)	1、3、4、5、6、7、8、 10、11	従来法
ベネズエラ		4	197	不明	不明	7 (48)、5 (25)、1 (22)	1、2、5、7	従来法
		4	165	1989-1994	50	1 (48)、7 (24)	1、2、3、4、6、7	従来法
アルゼンチン		14		2001-2010	17 ^c	2001-2010	8	<i>cps3/6/8/15</i> PCR
オセアニア								
豪州		4	12	不明	378	15(38)、1 (28)、7 (22)	1、2、5、7、15	従来法
ニュージーランド		4	172	不明	27	5 (56)、7 (37)	5、7、8	従来法

^a従来血清型法；^b型別不能；^c血清型3、6、8、15抗血清で交差する株；^dPCRでは血清型3か6か識別できない株[4]；

^e荚膜血清型13であるが、血清型10のLPS O抗原を保有する株

表 2. 世界各国における App の各血清型に対する豚 (A) およびイノシシ (B) の抗体陽性率 (%)

(A) 豚

地域および国	県、地域または州	文献	引用文献 4 での引用文献	調査年	頭数 (感染率)	農場数 (感染率)	主要な血清型 (%)	陽性となったことのある血清型	備考
アジア									
日本	複数県	4	106	1982-1983	119	18	2 (44)	2	血清型 2 のみ検査
	岐阜県	4	104	1983-1984	200	48	2 (52)	2	血清型 2 のみ検査
	九州 (3 県)、関東 (2 県)、東北 (1 県)	4	141	1985	64	6	5 (39)、2 (39)	2、5	血清型 2、5 のみ検査
	長崎県	4	83	1983-1986	629	220	2 (62)、5 (10)	2、5	血清型 2、5 のみ検査
	秋田県	4	207	1992	473	1	5 (91)、2 (83)、1 (47)、6 (44)、7 (17)	1、2、5、6、7	血清型 1、2、5-7 のみ検査
	新潟県	4	188	2012-2013		31	2 (74)、5 (61)、1/9/11 (19)	1/9/11、2、5	血清型 1/9/11、2、5 のみ検査
					144		2 (62)、5 (25)	1/9/11、2、5	血清型 1/9/11、2、5 のみ検査
韓国		4	96	2011-2012	452		2 (19)	1/9/11、2、3/6/8、4/7、5	
タイ		4	7	不明	549		1/9/11 (29)、3/6/8 (26)、5 a (26)	1/9/11、3/6/8、5 a、5 b、12	
欧州									
ベルギー		4	118	不明		150	3 (90)、2 (81)、9 (39)		農場内平均感染率 血清型 2、3、9 のみ検査
		4	119	不明		50	2 (57)、3 (54)、9 (41)		農場内平均感染率 血清型 2、3、9 のみ検査
オランダ		4	34	2008	500		2 (35)、12 (28)、4/7 (21)、3/6/8 (17)	1/9/11、2、3/6/8、4/7、5 a/5 b、10、12	
スウェーデン		4	199	2000	500		4/7 (59)、2 (49)、3 (39)		農場内平均感染率
フィンランド		30		不明	不明		2	2、3、4、5、6	ELISA
		4	112	不明	692		3 (51)、2 (26)		
		27		2011-2014	20		2		LPS ELISA 血清型 2 のみ検査
北米									
カナダ		4	115	2003	50		4/7 (26)、12 (17)、3/6/8 (15)	1/9/11、2、3/6/8、4/7、5、12	

(B) イノシシ

地域および国	州または準州	文献	調査年	頭数 (感染率)	主要な血清型 (%)	抗体陽性となったことのある血清型	備考
北米							
カナダ	サスカチュワン州	38	2013	20 (100%)	12 (75)、14 (35)、3/6/8/15 (20)	3/6/8/15、4/7、12、13、14	LPS ELISA
米国	アーカンソー州、アラバマ州、ジョージア州、フロリダ州、ルイジアナ州	39	2011-2012	44 (69.7%)	4/7 (35)、3/6/8/15 (31)、12 (30)	1/9/11、2、3/6/8/15、4/7、5、10、12、13、14	LPS ELISA
	グアム準州	40	2015	162 (93.2%)	3/6/8/15 (86)、4/5/7 (73)、1/2/9/11 (57)、10/12 (27)	1/2/9/11、3/6/8/15、4/5/7、10/12	LPS ELISA

されている [1-6,10,12,32]。血清型は CPS の化学構造および抗原性に基づき型別されることから、特に PCR の標的遺伝子としては、cps 領域を標的にした PCR 法による遺伝子型別法が多数開発されている [4,5,10,12,32]。筆者も日本で分離される血清型のほとんどをカバーできる血清型 1、2、5、7 および 15 型別用マルチプレックス PCR 法を開発した [4,5]。血清型 9 と 11 は識別できないが、血清型 1 ~ 8、9/11、10 および 12 ~ 19 を遺伝子型別可能な、ほぼ全血清型対応のマルチプレックス PCR 法も開発されている [10,32]。しかし、遺伝子型別 PCR 陽性であるが血清型別不能な株が、日本、欧州および豪州 [4,13,21,33,34] で確認されており、PCR 法 (遺伝子型) と血清学的方法 (表現型) による結果が一致しない例もある。

7. 血清型別不能株について

血清型別を実施すると型別不能な株がしばしば見つかる。著者らは血清型 15 およびゲル内沈降反応で型別不能な株が分離される農場の分離株の CPS 合成遺伝領域 (cps 領域) の遺伝子解析を実施した [13]。その結果、元々血清型 15 であった株の cps 領域に挿入配列 (Insertion sequence : IS) ISApII が挿入されて血清型別不能となったことを明らかにした。その後、LPS O 抗原の合成遺伝子 wbaP に ISApII が挿入されたために、元々血清型 15 であった株が型別不能となった可能性のある株も日本で分離されている [21]。前述の「3. 2 血清型別法について」で説明したカナダで分離された血清型 19 の株は、全ゲノム解析によって血清型 19 莢膜合成遺伝子が検出されるが、既知の血清型および自己の抗血清のいずれとも反

応しない血清型別不能であり、遺伝子型と表現型が一致しない1例である。

8. 血清型特異的な抗体検査法について

Appに対する抗体検査は生前診断法として古くから行われてきている。補体結合反応は血清型特異的な抗体検査法として、古くから実施されてきており、かつてはGold Standardであった。しかし、感受性および特異性の観点から、現在はELISAに取って代わられている^[1,2,4,6]。血清型特異的な抗体検査用のELISA抗原として、精製LPSがよく使用されている。LPSは、簡易、安価かつ大量に精製できるために、血清型特異的なELISA抗原に適していると考えられている。非特異性反応の原因となる短鎖（低分子量）のLPSをゲルろ過で取り除いた画分（長鎖LPS）を、診断用抗原に用いたELISA（長鎖LPS ELISA）が海外で開発されている^[1,2,4,6]。血清型1/9/11、血清型3/6/8/15/17および血清型4/7は、それぞれの血清型間でO抗原の構造および抗原性が同じか非常に類似しているため、識別はできない。したがって、血清学的というよりも、血清群特異的な抗体検査法と言える^[4,6]。現在、血清型1/9/11、血清型2、血清型3/6/8/15、血清型4/7、血清型5、血清型10、血清型12、血清型13および血清型14の感染抗体を検出できる長鎖LPS ELISAが開発され、海外では商品化されている^[4,6]。しかし、日本では体外診断薬として未承認のため、試験研究目的には使用できるが、診断目的には使用できない。また近年提唱された血清型17の抗体検査に血清型3/6/8/15用ELISAを利用可能か検討されている^[35]。その結果、血清型3/6/8/15用ELISA（ELISA抗原は、血清型3の長鎖LPS）を血清型17感染抗体検出に使用可能であるが、血清型17の長鎖LPSをELISA抗原に用いた方がより高感度であった^[35]。日本では血清型1、2および5^[36]、血清型3/6/8/15^[37]感染抗体検出用のLPS ELISAの開発が試みられているが、ELISA抗原には、長鎖LPSではなく、短鎖LPSを含む全LPSを使用している。

9. イノシシのApp各血清型に対する抗体陽性率について

Appは宿主特異性が非常に高く、一部の例外を除き、豚（*Sus scrofa domestica*）およびイノシシ（*Sus scrofa scrofa*）を唯一の自然宿主とする^[6]。日本のイノシシにおけるAppの感染状況については公表されていない。この項では、海外のイノシシにおけるAppの感染状況

について概説する。

表2-Bにカナダ^[38]およびアメリカ^[39,40]でのイノシシにおけるAppに対する抗体保有率を示したが、いずれの調査結果でも抗体保有率は69.7~100%と非常に高い。さらに複数の血清型のAppに感染したイノシシも多い。血清型に関しては、カナダで2013年に実施された抗体調査では、血清型12（75%）、3/6/8/15（20%）に抗体陽性を示すイノシシが多く、血清型4/7に対する抗体（5.0%）を保有するイノシシも検出されている^[38]。一方、カナダで2003年に実施された豚での抗体調査^[4]では、血清型4/7（26%）、12（17%）、3/6/8（15%）であり、豚とイノシシ間で共通性が認められている（表2-A）。なお、豚では血清型14のApp感染例の報告が北米ではないのにも関わらず^[4]、イノシシの約1/3が血清型14（35%）に対する抗体を保有していた事は興味深い^[38]。

病豚からの菌分離調査では、2012~2014年のカナダにおける主要な血清型は、5（39%）、7（37%）^[4]、2015~2020年では、7（50%）、5（26%）であった^[29]（表1-A）。一方検査法は異なるが、イノシシの抗体調査では、血清型5に対する感染抗体が認められた例はなく、この点で豚とイノシシ間で違いが認められた（表2-B）。

引用文献

- [1] 伊藤博哉： *Actinobacillus pleuropneumoniae* の生物型及び血清型について、All About Swine、36、2-9（2010）
- [2] 伊藤博哉： 豚胸膜肺炎、All About Swine、42、23-28（2013）
- [3] 伊藤博哉： *Actinobacillus pleuropneumoniae* の血清型及び宿主特異性について、豚病会報、61、14-21（2013）
- [4] 伊藤博哉： 豚胸膜肺炎の起因菌 *Actinobacillus pleuropneumoniae* の生物型、血清型及び遺伝子型について、家畜衛生学雑誌、42、2-60（2016）
- [5] 伊藤博哉： 動物由来のパスツレラ科に属する細菌のPCRによる同定・検出及び血清型の同定法ならびにRTX毒素について、家畜衛生学雑誌、45、1-38（2019）
- [6] Gottschalk M, Broes A: Actinobacillosis, Diseases of Swine, 11th ed, 749-766, Zimmerman JJ, et al. eds, Wiley-Blackwell, Oxford, UK (2019)
- [7] Pohl S, Bertschinger HU, Frederiksen W, Mannheim W: Transfer of *Haemophilus pleuropneumoniae* and the *Pasteurella haemolytica*-like organism causing

- porcine necrotic pleuropneumonia to the genus *Actinobacillus* (*Actinobacillus pleuropneumoniae*) on the basis of phenotypic and deoxyribonucleic acid relatedness, *Int J Sys Bacteriol*, 33, 510-514 (1983)
- [8] Artman M, Franki G: Nicotinamide adenine dinucleotide and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate splitting enzyme(s) of sheep and rabbit erythrocytes; their effect on the growth of *Haemophilus*, *Can J Microbiol*, 8, 696-702 (1982)
- [9] Bossé JT, Li Y, Sárközi R, Fodor L, Lacouture S, Gottschalk M, Amoribietta MC, Angen Ø, Nedbalcova K, Holden MTG, Maskell DJ, Tucker AW, Wren BW, Rycroft AN, Langford PR, BRADPIT consortium: Proposal of serovars 17 and 18 of *Actinobacillus pleuropneumoniae* based on serological and genotypic analysis, *Vet Microbiol*, 217, 1-6 (2018)
- [10] Stringer, OW, Bossé JT, Lacouture S, Gottschalk M, Fodor L, Angen Ø, Velazquez E, Penny P, Lei L, Langford PR, Li Y: Proposal of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 19, and reformulation of previous multiplex PCRs for capsule-specific typing of all known serovars, *Vet Microbiol*, 255, 109021. doi: 10.1016/j.vetmic. (2021)
- [11] Sárközi R, Makrai L, Fodor L: Identification of a proposed new serovar of *Actinobacillus pleuropneumoniae*; serovar 16, *Acta Vet Hung*, 63, 444-450 (2015)
- [12] Bossé JT, Li Y, Sárközi R, Gottschalk M, Angen Ø, Nedbalcova K, Rycroft AN, Fodor L, Langford PR: A unique capsule locus in the newly designated *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 16 and development of a diagnostic PCR assay, *J Clin Microbiol*, 55, 902-907 (2017)
- [13] Ito H, Ogawa T, Fukamizu D, Morinaga Y, Kusumoto M: Nucleotide sequence analysis of a DNA region involved in capsular polysaccharide biosynthesis reveals the molecular basis of the nontypeability of two *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates, *J Vet Diagn Invest*, 28, 632-637 (2016)
- [14] To H, Teshima K, Nagai S, Zielinski GC, Koyama T, Lee J, Bessone FA, Nagano T, Oshima A, Tsutsumi N: Characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* field strains antigenically related to the 3-6-8-15 group from diseased pigs in Japan and Argentina, *Rev Argent Microbiol*, 50, 12-22 (2018)
- [15] 石原未希: 豚の *Actinobacillus pleuropneumoniae* 7型による線維素性壊死性胸膜肺炎、日獣会誌、68、637 (2015)
- [16] 河上 友: 豚の *Actinobacillus pleuropneumoniae* 2型による線維素性壊死性胸膜肺炎、日獣会誌、70、106-107 (2017)
- [17] 千葉脩史: 豚の *Actinobacillus pleuropneumoniae* 血清型2による脳が多発性微小膿瘍、日獣会誌、72、110-111 (2019)
- [18] 土佐 進: 豚の *Actinobacillus pleuropneumoniae* 血清型15による線維素性化膿性胸膜肺炎、日獣会誌、72、107-108 (2019)
- [19] 秦 温子、樋渡佐知子、三浦奈緒美、松尾保雄、芝原友幸、伊藤博哉: と畜場搬入豚における *Actinobacillus pleuropneumoniae* 血清型8による疣贅性心内膜炎及び肺動脈炎、日獣会誌、72、555-559 (2019)
- [20] 動物医薬品検査所: 野外流行株の薬剤耐性調査(病畜由来細菌のモニタリング)の結果、(オンライン) https://www.maff.go.jp/nval/yakuzai/yakuzai_p3-2.html (参照2021-04-20)
- [21] To H, Teshima K, Kon M, Yasuda S, Akaike Y, Shibuya K, Nagai S, Sasakawa C: Characterization of nontypeable *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates, *J Vet Diagn Invest*, 32, 581-584 (2020)
- [22] 金森健太: 豚の *Actinobacillus pleuropneumoniae* 血清型1感染による線維素性壊死性胸膜肺炎、日獣会誌、73、732 (2020)
- [23] 山本英子: 豚サーコウイルス2型及び豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス感染豚の *Actinobacillus pleuropneumoniae* 血清型15感染による線維素性壊死性胸膜肺炎、日獣会誌、73、732-733 (2020)
- [24] Li Y, Bossé JT, Williamson SM, Maskell DJ, Tucker AW, Wren BW, Rycroft AN, Langford PR, BRADPIT consortium: *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 8 predominates in England and Wales, *Vet Rec*, 179, 276 (2016)
- [25] Schuwerk L, Hoeltig D, Waldmann KH, Valentin-Weigand P, Rohde J: Sero- and *apx*-typing of German *Actinobacillus pleuropneumoniae* field isolates from 2010 to 2019 reveals a predominance of serovar 2 with regular *apx*-profile, *Vet Res*, 52, 10 (2021)
- [26] Sárközi R, Makrai L, Fodor L: *Actinobacillus*

- pleuropneumoniae* serotypes in Hungary, *Acta Vet Hung*, 66, 343-349 (2018)
- [27] Haimi-Hakala M, Hälli O, Laurila T, Raunio-Saarnisto M, Nokireki T, Laine T, Nykäsenoja S, Pelkola K, Segales J, Sibila M, Oliviero C, Peltoniemi O, Pelkonen S, Heinonen M: Etiology of acute respiratory disease in fattening pigs in Finland, *Porcine Health Manag*, 3, 19 (2017)
- [28] Mittal KR, Higgins R, Larivière, Nadeau M: Serological characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains isolated from pigs in Quebec, *Vet Microbiol*, 32, 135-148 (1992)
- [29] Lacouture S, Gottschalk M: Distribution of *Actinobacillus pleuropneumoniae* (from 2015 to June 2020) and *Glaesserella parasuis* (from 2017 to June 2020) serotypes isolated from diseased pigs in Quebec, *Can Vet J*, 61, 1261-1263 (2020)
- [30] Wallgren P, Nörregård E, Molander B, Persson M, Ehlorsson CJ: Serological patterns of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida* and *Streptococcus suis* in pig herds affected by pleuritis, *Acta Vet Scand*, 58, 71 (2016)
- [31] 嶋崎洋子、内山万利子、小島明美、平野文哉、佐々木貴正、永井英貴: 豚胸膜肺炎ワクチンにおける *Actinobacillus pleuropneumoniae* 血清型15の国内分離株に対する交差反応性、動物医薬品検査所年報、53、121-127 (2016)
- [32] Bossé JT, Li Y, Crespo RF, Lacouture S, Gottschalk M, Sárközi R, Fodor L, Amoribieta MC, Angen Ø, Nedbalcova K, Holden MTG, Maskell DJ, Tucker AW, Wren BW, Rycroft AN, Langford PR, BRaDP1T consortium: Comparative sequence analysis of the capsular polysaccharide loci of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars 1-18, and development of two multiplex PCRs for comprehensive capsule typing, *Vet Microbiol*, 220, 83-89 (2018)
- [33] Morioka A, Shimazaki Y, Uchiyama M, Suzuki S: Serotyping reanalysis of unserotypable *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates by agar diffusion test, *J Vet Med Sci*, 78, 723-725 (2016)
- [34] Turni C, Sigh R, Chembri S, Blackall PJ: Evaluation of a multiplex PCR to identify and serotype *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars 1, 5, 7, 12 and 15, *Let Appl Microbiol*, 59, 362-399 (2014)
- [35] Gottschalk M, Lacouture S, Blackwell T, Bossé J: Long-chain LPS-based enzyme-linked immunosorbent assay to detect swine herds infected by *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 17, *Can Vet J*, 62, 62-65 (2021)
- [36] 田中健介: App ELISAの作成と新潟県内養豚場のApp血清型別浸潤状況、養豚の友、545、51-53 (2014)
- [37] Teshima K, Lee J, To H, Kamada T, Tazumi A, Hirano H, Maruyama M, Ogawa T, Nagai S, Turni C, Tsutsumi N: Application of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 15 in pig sera, *J Vet Med Sci*, 79, 1968-1972 (2017)
- [38] McGregor GF, Gottschalk M, Godson DL, Wilkins W, Bollinger TK: Disease risks associated with free-ranging wild boar in Saskatchewan, *Can Vet J*, 56, 839-844 (2015)
- [39] Baroch JA, Gagnon CA, Lacouture S, Gottschalk M: Exposure of feral swine (*Sus scrofa*) in the United States to selected pathogens, *Can Vet Res*, 79, 74-78 (2015)
- [40] Cleaveland CA, DeNicola A, Dubey JP, Hill DE, Berghaus RD, Yabsley M: Survey for selected pathogens in wild pigs (*Sus scrofa*) from Guam, Mariana Islands, USA, *Vet Microbiol*, 205, 22-25 (2017)