

サルモネラ症における新規診断法（エライザ）の開発に向けて

藤原 ちさと*・小川 洋介・下地 善弘・江口 正浩

（(国研) 農研機構 動物衛生研究部門 細菌・寄生虫研究領域）

Fujiwara, C., Ogawa, Y., Shimoji, Y. and Eguchi, M. (2019):
Development of ELISA using *Salmonella* Secretory Protein for Salmonellosis

All about SWINE 54, 13-14

サルモネラ症は、ヒトおよび家畜・家きんが発症する人獣共通感染症の一つであり、先進国、開発途上国を問わず発生している。国内の家畜・家きんのサルモネラ症対策として、行政機関は、農場に対して、予防対策・抑制対策・汚染評価の取り組みを働きかけている。サルモネラ汚染を評価する対策の一つとして、抗体検査が利用されている。さらに、血清中の抗サルモネラ抗体を定期的に測定することで、感染時期を推定することができ、適切な感染対策措置を講じることが可能となる。しかしながら、リポ多糖（Lipopolysaccharide）を抗原とした抗体検査は、不活化ワクチン（死菌）を接種した個体と感染個体との区別がつかなくなるといった科学的瑕疵が生じてしまい、「サルモネラ汚染度の評価」や「感染時期の推定」が困難となる。そこで、当研究室では、感染とワクチン接種した個体の判別が可能となる新規のエライザ法の開発を行っている。本稿では、その一端を紹介したい。

サルモネラが宿主に感染するとマクロファージ内に侵入あるいは貪食される。また、サルモネラ

は、マクロファージ内で生存、増殖をするために必要な様々な分泌タンパク質を産生することがわかっている（図1）。我々は、サルモネラが産生する分泌タンパク質が、不活化ワクチン（死菌）を接種した個体と感染個体との区別ができるサルモネラ抗体検査法（エライザ）の新たな抗原として利用できるのではないかと考えている。図2において、サルモネラ分泌タンパク質は、*Salmonella enterica serovar Typhimurium* (ST) を培養した培養上清中から精製した。また、測定するサンプルは、マウスに生菌感染および死菌を免疫した後のマウス血清を用いた。マウス血清を用いてサルモネラ分泌タンパク質を抗原としたエライザを行うことで、生菌感染血清中の抗体価が死菌免疫血清中の抗体価に比べ高くなることを明らかにした（図2）。一方で、ST由来のリポ多糖を抗原とし、同様の血清を用いたエライザを行ったところ、生菌感染血清の抗体価と死菌免疫血清の抗体価に差は認められなかった（図3）。以上の結果から、我々は、サルモネラ培養上清中に分泌されるサルモネラタンパク質を抗原として用いることで、不活化ワクチンを接種した個体と感染個体との区別ができるのではないかと考えている。

*現所属：秋田県南部家畜保健衛生所

〒305-0856 茨城県つくば市観音台3-1-5

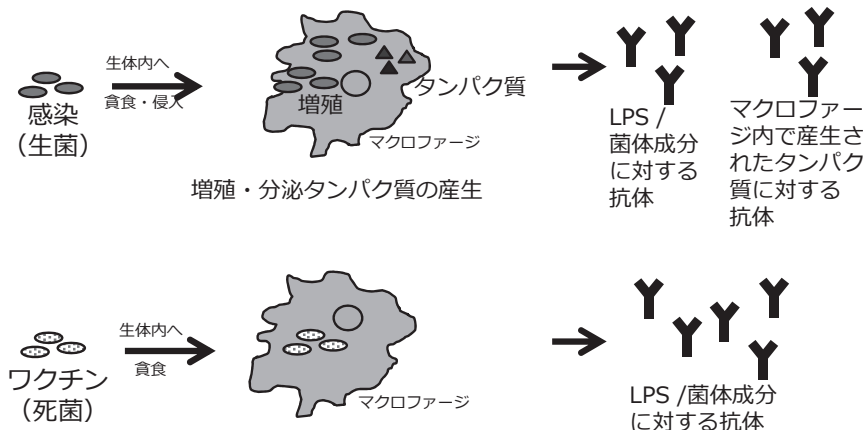


図1. 生菌または死菌に対する抗体および推測する抗原

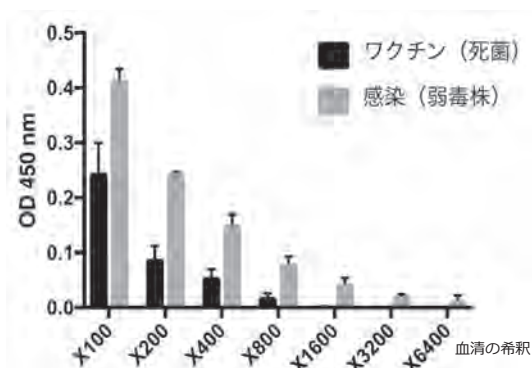


図2. サルモネラ分泌系タンパク質を抗原として利用したエライザ
 P<0.0001 (Two-way ANOVA)
 BALB/c マウスにワクチン (死菌) または生菌を静脈投与した。免疫後2週間後の血清をエライザに使用した。

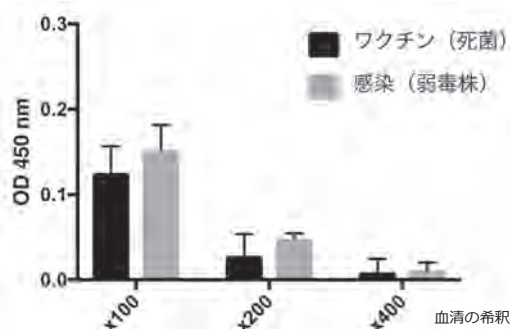


図3. サルモネラ LPS を抗原として利用したエライザ
 P=0.6042 (Two-way ANOVA)
 BALB/c マウスにワクチン (死菌) または生菌を静脈投与した。免疫後2週間後の血清をエライザに使用した。

サルモネラが分泌するタンパク質は、感染宿主内での生育、環境への適応、恒常性の維持に利用されており、多数のタンパク質を産生し、菌体外へ分泌する。そこで、当研究室では、現在、サルモネラ培養上清中に分泌されるサルモネラタンパ

ク質の中から感染個体のみを検出できる単一の抗原を探索中である。今後は、単一の抗原を用いた新規の抗体検査方法を開発することを目指し、感染防止対策指針の枠組みの充実・強化を図ることに貢献できればと考えている。