

APP Apx IV抗体を標的としたELISAで 交差反応が示唆された一事例

飛 田 雄 輝

(伊藤忠飼料株式会社 研究所 〒325-0103 栃木県那須塩原市青木919)

All about SWINE 64, 42-45

Actinobacillus pleuropneumoniae (APP) はこれまでに15の血清型が確認されている^{1) 2)}。また、病原因子として4種のApx毒素(Apx I, Apx II, Apx III及びApx IV)が存在し^{3) 4) 5)}、そのうちApx I, Apx II, Apx IIIは血清型毎に毒素遺伝子の保有パターンが異なることが知られている^{3) 6) 7)}。一方、Apx IVはすべての血清型が分泌する種特異的な毒素である⁸⁾。その種特異性を利用して、Apx IV抗体を標的としたELISAキットも販売されている。今回、Apx IV抗体を標的としたELISAで陽性となるものの、他*Actinobacillus*属との交差が疑われた事例に遭遇したので報告する。

〈背景〉

A農場は千葉県に所在する一貫農場でAPPワクチンは未接種。6ヶ月に1回実施している血清検査において、2017年までは血清型1,2,5型CF検査の実施で出荷日齢の検体の多くが検出限界未満であった。しかし、2018年よりApx IV抗体を標的としたELISAを導入したところ、現在まで出荷豚ほぼ全頭が抗体陽性となる状況が続いている。一方、それらのELISA陽性血清を血清型1,2,5型のCF検査に供するとほとんどが検出限界以下であること、病性鑑定でAPP様の肺炎が

みられないことから、1,2,5型以外の病原性の低いAPPに感染していることが想定された。そこで血清型を推定するために、2023年7月採血の血清を用いて、血清型毎に保有パターンが異なるApx I, Apx II, Apx IIIに対するELISAを実施した。同時にAPPであることの確認の為、共通部位である菌体外膜蛋白(OMP)のELISAも実施した(表1)。

B農場は栃木県に存在する一貫農場で、APP2型が散発的に発症、50日令、80日令にはAPPワクチンも接種している。A農場の対照として、B農場も同様に抗体調査を行った(表2)。

〈検査結果〉

A農場はApx I, Apx II, Apx III, OMPで抗体上昇は見られたが、B農場での90日令以降のApx III及びOMPの抗体上昇と比べると小幅な上昇であった。そのなかでもOMPは他のApxと比べても小幅な上昇であった。一方、A農場のApx IVは120日令から抗体上昇がみられ出荷豚で全検体陽性となっていたが、B農場では120日令にかけて抗体の減少がみられたのち、150,165日令で全体的な抗体上昇は見られなかった。

表 1 A 農場抗体検査結果

産歴又は 日齢	APX I	APX II	APX III	OMP	APX IV		1,2,5 型
					SP 比	判定	CF
60	<100	<100	<100	100	30.4	-	
〃	100	<100	100	100	96.8	+	-
〃	<100	<100	100	100	28.8	-	
〃	100	200	<100	100	69.9	+	-
〃	400	100	400	400	81.5	+	-
90	200	100	400	800	15.3	-	
〃	800	400	800	800	47.1	±	-
〃	400	200	800	400	30.2	-	
〃	400	400	400	800	66.6	+	-
〃	400	400	800	800	67.4	+	-
120	200	100	400	800	44.7	±	-
〃	400	200	800	400	37.6	-	
〃	1600	200	400	800	81.1	+	-
〃	800	400	800	400	96.7	+	-
〃	800	200	400	400	93.7	+	-
出荷豚	3200	6400	3200	1600	134.5	+	-
〃	3200	6400	400	400	113.8	+	-
〃	1600	400	800	400	91.5	+	-
〃	1600	400	800	800	80.8	+	-
〃	1600	200	400	200	136.9	+	-

表 2 B 農場抗体検査結果

産歴又は 日齢	APX I	APX II	APX III	OMP	APX IV	
					SP 比	判定
30	800	6400	400	100	186.9	+
〃	1600	1600	100	100	161.6	+
〃	800	1600	400	400	150.0	+
60	400	200	800	800	164.0	+
〃	400	100	200	<100	152.1	+
〃	400	400	1600	800	164.7	+
〃	800	400	6400	6400	138.7	+
〃	200	400	1600	800	90.2	+
90	800	400	6400	3200	15.4	-
〃	200	200	≧ 12800	≧ 12800	61.1	+
〃	400	200	6400	3200	44.8	±
〃	200	200	6400	6400	47.2	±
120	200	100	800	400	-3.7	-
〃	800	400	≧ 12800	6400	52.1	+
〃	400	3200	1600	1600	51.3	+
〃	800	200	≧ 12800	≧ 12800	13.7	-
〃	800	200	≧ 12800	6400	-2.4	-
150	3200	1600	≧ 12800	≧ 12800	11.0	-
〃	3200	1600	3200	6400	108.6	+
〃	800	400	3200	3200	5.6	-
〃	1600	800	6400	≧ 12800	12.0	-
〃	800	400	400	800	4.8	-
165	800	400	1600	1600	35.8	-
〃	6400	1600	3200	3200	67.0	+

〈考察〉

A農場のOMP抗体上昇はB農場の結果と比べると小さかった。B農場の90日令以上のOMP抗体上昇はワクチン抗体もしくは感染抗体と思われるが、ワクチンに含まれていないApxIVに対する抗体は165日令までで全体的に上昇していなかった。このことから、90日令以降のB農場のOMP抗体上昇はワクチン抗体によるものと考えられた。B農場はAPPの野外感染がみられる農場であるが、出荷間近での発生が多いため野外感染による抗体上昇が全体に広がるのはこれ以降の日令になる可能性が考えられた。B農場のOMP抗体上昇がワクチン抗体価とすると、A農場の抗体上昇はワクチン抗体にも満たず発症レベルではないと思われた。一方、A農場のApxIV抗体については過去の国内の発症例での報告の値と比べて同程度の抗体上昇を示していた⁹⁾。APPの共通部位であるOMPでの抗体上昇が小さい一方ApxIVではほぼ全検体で高い抗体上昇がみられることから、ApxIV ELISAがAPP以外の細菌と反応している可能性が考えられた。

APP以外にも*A. suis*, *A. rossi*, *A. porciconsillarum*, *A. lignieresii*等の*Actinobacillus*属菌の一部がApx産生に関連する遺伝子を保有することが報告されている¹⁰⁻¹⁵⁾。そのうち*A. lignieresii*はApxIVを産生する遺伝子を持ち、ApxIVに対するPCRでも陽性を示すことが確認されている^{14) 15)}。*A. lignieresii*は牛のアクチノバチルス症の原因菌であり、口腔粘膜や上部気道の創傷から侵入して肩部皮下や下顎部軟部に肉芽腫性炎を引き起こす¹⁶⁾。日本での報告はないものの、海外では豚からの分離事例も報告されている¹⁷⁾。今回の事例では、症状を示さないため病性鑑定による菌分離には至らなかった

がこのような*Actinobacillus*属菌の感染により交差反応を示した可能性が考えられた。

これまで農場内では症状がないにもかかわらず抗体が検出される状況に戸惑いがあったが、今回の調査を通して一つの可能性を提示するに至った。検査に交差反応はつきものであるが、検査結果を農場の実情と照らし合わせて不整合があった場合に検査結果の検討をすることの重要性を今回改めて認識した。

〈参考文献〉

1. Blackall, P.J. *et al.* 2002. *Vet. Microbiol.* 84: 47-52.
2. Nielsen, R. *et al.* 1997. *Vet. Microbiol.* 54: 35-46
3. Frey, J. 1995. *Trends Microbiol.* 3: 257-261.
4. Gottschalk, M and Taylor, D.J. 2006. pp.563-576. In: *Disease of swine*, 9th ed. (Straw, B.E. *et al.* eds.) Blackwell Publishing, Oxford, U.K.
5. 伊藤博哉 1997. *臨床獣医* 15: 28-33
6. Beck, M. *et al.* 1994. *J. Clin. Microbiol.* 32: 2749-2754.
7. Frey, J. *et al.* 1995 *Mol. Cell. Probes* 9: 277-282.
8. Schaller, A. *et al.* 1999. *Microbiology* 145: 2105-2116.
9. 小池郁子. 2017. *Proc Jpn Pig Vet Soc.* 69, 18-22
10. Burrows, L. L., Lo, R. Y. 1992. *Infectin and Immunity.* 60, 2166-2173.
11. Kamp, E. M., Vermeulen, T. M., Smits, M. A. *et al.* 1994. *Infection and Immunity.* 62, 4063-4065
12. Mayor, D., Korczak, B. M. Christensen, H. *et al.* 2006. *Veterinary Microbiology.* 116, 194-201.

13. Kuhnert, P., Schlatter, Y., Frey, J. 2005. 353-359
Veterinary Microbiology. 107, 225-232.
14. Alain, S. *et al.* 2000. Veterinary Microbiology 74, 365-376
15. Peter, K. *et al.* 2003. Veterinary Research 34,
16. Christensen, H., Bisgaard, M. 2004. Veterinary Microbiology. 99, 13-30.
17. 鈴木達郎. 1995. 日獣会誌. 48, 841-844