

豚胸膜肺炎菌の国内における主要な血清型を型別可能な マルチプレックス PCR の開発

豚胸膜肺炎菌(*Actinobacillus pleuropneumoniae* (App)) を起因菌とする豚の胸膜肺炎の養豚産業に与える経済的被害は甚大であり、豚胸膜肺炎は豚の細菌性呼吸器疾病の中でも特に重要な疾病です。App にはこれまでに 15 の血清型が確認されていますが、国、地域及び農場で流行している血清型の種類は異なります。日本で分離される株の 96%以上は血清型 1、2、5、7 及び 15 のいずれかです。App は血清型に関わらず病原性を有しますが、血清型によって病原性の強さが異なる上、ワクチンの有効性は血清型特異的であるため、臨床分離株の血清型別を決めることは重要ですが、血清型別用抗血清は市販されていません。さらに抗血清を用いた検査では交差反応がしばしば認められ、正確な型別ができないことがあります。そこで、日本での主要な血清型 1、2、5、7 及び 15 を簡便かつ正確に型別できるマルチプレックス PCR (mPCR)を開発したので、その概要を紹介します。

☆技術の概要

血清型 1~15 の App を用いて今回開発した mPCR を実施すると、血清型 1、2、5、7 及び 15 の株からはそれぞれ約 0.75、0.5、1.1、0.4 及び 0.2 kb の DNA が増幅されますが、他の血清型の株ではこれらのサイズの DNA は増幅されません (図 1)。したがって増幅した DNA のサイズによって、血清型 1、2、5、7 及び 15 であるかを正確に型別できます。なお本法では型別と同時に、菌種の同定も行えます。すなわち検査株が App であれば 0.95kb の DNA が増幅しますが、App でなければ 0.95 kb の DNA は増幅しません。

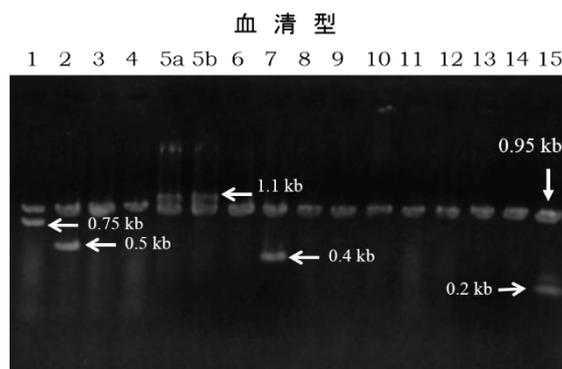


図1 App 参考株 (血清型 1~15) を用いた mPCR。血清型 1、2、5、7 及び 15 からは各血清型に特異的なサイズの DNA が増幅する。また App の全株で 0.95kb の DNA が増幅する。

☆活用面での留意点

本法は、国内における主要な血清型である血清型 1、2、5、7 及び 15 を簡便かつ正確に型別できます。さらに北米では血清型 5 と 7、欧州では血清型 2、さらに豪州では血清型 15 が主要な血清型であるため、国内だけでなく国外でも有用な型別法です。詳細については、農研機構「お問い合わせ窓口」<https://www.naro.affrc.go.jp/inquiry/index.html> までお問い合わせください。

(農研機構 動物衛生研究部門 疾病対策部 生物学的製剤製造グループ 品質保証科 伊藤博哉)