

総説

Actinobacillus pleuropneumoniae の血清型及び宿主特異性について

伊藤 博 哉 ((独)農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所)

Ito, H. (2013). Recent topics of serotypes/serotyping and host specificity of *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Proc. Jpn. Pig Vet. Soc. 61, 14-21.

キーワード：*Actinobacillus pleuropneumoniae*、血清型、宿主特異性

1. はじめに

Actinobacillus pleuropneumoniae (App) は養豚産業に与える経済的被害の大きい豚胸膜肺炎の起因菌である⁷⁾。App には現在までに少なくとも15の血清型の存在が知られている³⁾が、ワクチンの効果は血清型特異的であり^{28,42,43)}、さらに血清型間の病原性の強さに差が認められ、血清型1、5、9および11の株は、他の血清型よりも病原性が強いと言われている^{7,9)}。このため、Appの重要な疫学マーカーであり、App分離株の血清型別は、世界各国の多数の検査施設で実施されている^{7,9)}。しかし、血清型別を正確に行うにはすべての血清型参考株と、血清型別用特異抗血清が必要であるため、一部の検査機関でしか検査できない。筆者も血清型別の病性鑑定及び依頼検査を依頼され、検査を行ってきた。しかし、型別が不能な場合や、過去にタイピングされた株を再精査すると異なる血清型であった場合も見受けられ、これまでになかった非典型的な血清学的性状を示す株も経験した。

本稿の前半では、Appの血清型別についての基礎知識、文献によるAppの血清型に関する最近の新情報、ならびに筆者が病性鑑定及び依頼検査での血清型別検査事例で遭遇した経験例を紹介する。さらに後半では、本菌の宿主特異性^{8,40)}ならびにイギリスにおけるApp生ワクチンの誤接種による人での非常に珍しい事故例の文献³⁸⁾を紹介する。

2. 血清型及び血清型別について

(1) 血清型と生物型

Appにはこれまでに2つの生物型と15の血清型の存在が知られている^{3,9)}。生物型は、発育の際のニコチンアミド・アデニン・ジヌクレオチド (NAD) 要求性

の有無に基づき、2つの生物型に型別される³⁷⁾。NAD要求性の生物型1は、かつては*Haemophilus pleuropneumoniae*、一方、NAD非要求性の生物型2は、かつては*Pasteurella haemolytica*-like organismに分類され別菌種とされていた。しかし、遺伝学的、生化学的及び生物学的性状試験の成績から、共に*Actinobacillus*属に移し、同一菌種のAppに再分類された^{9,37)}。このために、現在でもAppのことを「ヘモ」と呼ぶ人がいる。血清型1および5はさらに2つの亜型(リポ多糖(LPS)の抗原性の違いから1a、1b、莢膜の構造の違いから5a、5b)に型別される^{1,9,13,14,29)}。最近までは、生物型1では血清型13及び14を除く全ての血清型の分離が報告されていた⁹⁾。しかし近年生物型1血清型13の株がカナダで初めて報告された³⁶⁾。一方生物型2では、血清型2、4、7、9、13及び14のみが分離されている^{9,31)}。また両生物型ともに型別不能の株も存在する。

(2) 日本及び海外で流行している血清型について

国、地域及び農場によって流行している血清型は様々である^{4,7,9)}。日本では血清型2の分離が最も多く、次いで血清型1または5の分離が多い。血清型1、2及び5の分離率は、既報の成績をとりまとめて計算すると約88%以上を占める^{25,26,44)}。これら3つの血清型の次には血清型7が続く⁹⁾。この他、血清型3、6、8、9、11、12及び15が散発的に分離され、一方血清型4、10、13及び14の日本での報告例は筆者の知る限りない⁹⁾。筆者が2003年～2012年に外部機関から病性鑑定または依頼検査の依頼を受けて血清型別を実施した結果を表1にとりまとめた。既報^{25,26,44)}と同様に血清型2の割合が最も高く、次いで血清型1、5または15に型別された株が多かった。血清型6及び7の株も少数であるが分離された。

血清型15は最も新しい血清型として、オーストラリアの研究グループが2002年に提唱した血清型である³⁾。

表1 筆者が2003～2012年の間に血清型別を実施した病性鑑定または依頼検査株の血清型

血清型	都道府県数	株数	農場数
1	4	20	5 (10.2%)
2	11	56	28 (57.1%)
5	6	23	6 (12.2%)
6	2	2	2 (4.1%)
7	1	4	1 (2.0%)
15	4	14	5 (10.2%)
非典型	2	2	2 (4.1%)
合計	30 (15) ^a	121	49 (100%)

^a のべ30県（47都道府県中15県）から依頼された株を検査した。

日本では2007年に血清型15株の分離報告が初めてあった¹⁵⁾。さらに血清型15には2種の Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) 型が存在することも報告されている⁴⁾。筆者が病性鑑定または依頼検査で血清型別を実施した例では、4県5農場で分離された14株が血清型15と型別された（表1）。これらの株以外にも、1995年及び1990年代後半に分離された2株も、血清型15であった。1990年代に分離された2株は、入手当時はスライド凝集試験で血清型3及び12と型別されていた。しかし筆者が作製した抗血清でスライド凝集試験及びゲル内沈降反応を実施したが型別不能となり、近年まで型別不能のまま保存していた株である。したがって、血清型15の株は1995年には既に日本に侵入していたことになるが、1990年代には血清型15の存在は知られていなかったこと、血清型15のLPSは血清型3のLPSと構造が同一であること³⁵⁾、さらに血清型15はかつて血清型12とミスタイピングされていたこと³⁾から、1990年代当時に血清型3及び12と同定されていたことは仕方が無いといえる。

日本以外の世界各国で分離される App の血清型は様々である⁴⁾。欧州各国では、全般的には日本同様に血清型2の分離例が最も多い傾向にある。一方、北米では血清型1、5、7の分離が多い。他の国ではあまり分離報告例のない血清型が最も流行している国もあり、例えばスペインでは血清型4⁴⁾、イギリスでは血清型8³²⁾、オーストラリアでは血清型15³⁾の分離率が最も多いといったように、他国では分離率の低い血清型が多数を占める国もある。日本及び上記の以外の国々の主要な血清型については、既報の総説に詳細に記載されているのでそれをご覧いただきたい⁴⁾。

(3) 血清型別法について

App の血清型を決定する場合、血清は通常ホルマリン不活化菌体をウサギに免疫して作製した抗血清を使

用する。したがって抗血清中には菌体表層の様々な抗原（莢膜、LPS および外膜タンパク等）に対するポリクローナルな抗体が含まれる。型別を実施する際には、スライド凝集反応¹⁸⁾、次いで共凝集反応^{20,21)}が最も迅速・簡便な方法である。交差反応等で型別不能となった場合には、ゲル内沈降反応²¹⁾または間接赤血球凝集反応¹⁹⁾の実施が推奨されている。筆者の場合、通常はまずスライド凝集試験で血清型別を行い、その結果複数の抗血清で凝集し型別不能となった場合は、ゲル内沈降反応で血清型別を行っている。また後述する莢膜合成遺伝子を標的としたマルチプレックス PCR も同時に実施する場合が多い。

(4) 血清型に關与する抗原について

不活化した各血清型参考株の全菌体を免疫して作製した型別用抗血清は、ポリクローナルな抗体を含むため、交差反応によって複数の血清で凝集することがしばしば認められ、型別不能となることがある。また上述したようにワクチンの効果が血清型特異的であるため、どの抗原が血清型決定に關与しているかを明らかにするための研究が日本及び海外で多数行われた。その結果、App の血清型は主に莢膜多糖の抗原性の違いによって型別されることが、莢膜多糖の詳細な構造及び抗原解析の研究で明らかとなった。さらに莢膜多糖だけではなくLPSの多糖側鎖（O抗原）も血清型を決定する重要な第2の抗原であることが明らかとなった。特に血清型1、9、11間^{22,24)}、血清型3、6、8、15間^{21,35)}、血清型4、7、13間^{17,23)}では、交差反応がしばしば認められるが、これはLPSのO抗原の構造がそれぞれの血清型間で同一あるいは非常に類似しているためと考えられている。なおLPSのコアは同一菌種で保存されていると一般的には考えられているが、近年 *Actinobacillus suis* 血清型K1/O1および App 血清型2、3、4、5、7、8、10、12のコアの構造および抗原性に共通性が認められるが、App 血清型1、6、9および11のコアは上記の App 血清型のコアとは抗原性及び構造が異なることも報告されている⁵⁾。上記の抗原以外では、外膜タンパクにも各血清型間で交差反応するものがあり、従来のポリクローナルな抗血清を用いた型別法では、複数の抗原が血清型別に影響を与える。

以上の知見から、大腸菌やサルモネラで使用されている (K) : O : H と類似した血清型命名方式が提唱された。App では K : O を使用した血清型命名方式 (K : O

血清型)が提唱されている^{2,33)}。なお App にも鞭毛が存在することが報告されている²⁷⁾が、抗原性の多様性についての解析は行われておらず、さらに鞭毛はある限られた培養条件でしか発現できないので、H抗原による型別はできない。App の血清型参考株及び野外分離株のほとんどは、表 2 に示す各血清型の参考株と同一の K:O 血清型を示す^{2,17,33,34, 35)}。一方、例数は少ないが、非典型的な K1:O7⁶⁾ および K13:O10³⁶⁾ の株がカナダで、K2:O7³⁰⁾ の株がデンマークで分離されている。筆者もこれまでに報告された K および O の組み合わせとは異なる新規の K:O 血清型の野外株を最近確認した(投稿準備中)。これらの非典型的な K:O 血清型株は、各血清型参考株に対する抗血清を用いて血清型別を実施すると、複数の型別用抗血清と反応し、型別不能の株と同定される可能性が高い^{6,9,30,36)}。さらに抗

体検査による血清型特異的な血清診断にも影響を与える可能性がある^{6,9,30,36)}。このように K:O 血清型は、上記の例外的な株に対応できるため、K:O による血清型命名方式が望ましいと考えられるが、K 抗原や O 抗原を型別可能な特異抗血清(莢膜や LPS に対するモノクローナル抗体等)の入手や、莢膜や LPS の構造を決定する事は一般の検査室では困難であるため、K:O による血清型命名方式は普及していない。

(5) PCR による莢膜合成遺伝子(*cps*)型法について

上述のように通常血清型別法では交差反応等によって型別不能の株が存在し、血清型は主に莢膜の抗原性に基づき型別されことから、莢膜を合成する遺伝子を標的とする PCR 法の開発が各国で試みられた。現時点は、血清型 1、2、3、5、6、7、8、12 の

莢膜合成遺伝子を標的とした PCR 法^{10,11,12,16,39,45)}がすでに開発されている。さらに血清型 3、6 及び 8 は LPS の構造及び抗原性が同一であるか類似しているため、血清型 3、6、8 およびそれら以外の血清型(正確には *cps* 型)の株を識別可能なマルチプレックス PCR 法が開発された⁴⁶⁾。また筆者は上述のように日本で分離される App の血清型はほとんど 1、2 または 5 であることから、血清型 1、2、5 およびそれら以外の血清型(正確には *cps* 型)の株を識別可能なマルチプレックス PCR 法を開発した¹⁰⁾。

なお PCR による莢膜合成遺伝子型別は、血清型別ではなく、あくまで血清型を決定する主要抗原をコードしている *cps* の検出法である。時折、PCR 法が開発されたので従来の抗血清を用いた血清型検査は不要かと聞かれる。PCR 陽性であっても莢膜抗原が発現しているかはわからないので、科学的には 100% 不要であるとは言えない。回答するとなると例えば「血清型を決定する主要抗原である莢膜血清型 2 の *cps* を標的とした PCR 陽性であれば、莢膜抗原の発現の有無はわからないが、血清型 2 の可能性が高い」と回答することになる。莢膜は App の重要な病原因子の一つであるため、死亡豚や臨床症状を示した豚から分離される

表 2 K:O scheme による *A. pleuropneumoniae* の血清型(引用文献 2、17、33、34、35 より引用)

血清型参考株および多数の野外株	非典型的 K:O タイプの株
K1:01	
K9:01 ^a	
K11:01	
K2:02	
K3:03	
K6:03 ^a	
K8:03	
K15:03	
K4:07	K1:07 (北米分離株)
K7:07	K2:07 (欧州分離株)
K13:07	
K5a:05	
K5b:05	
K10:010	K13:010 (北米分離株)
K12:012	
K14 ^b :014	
	K?:O? (日本分離株) ^c

a: Beynon ら²⁾は、化学構造から K9:01 は K9:09、K6:03 は K6:06 と命名しているが、血清型 1、9、11 の間、血清型 3、6、8、15 の間で血清学的交差反応が頻繁に認められることから、この表のように標記した。

b: 血清型 14 の莢膜多糖抗原の化学構造については報告されていないが、他の血清型とは交差しない抗原性をもつ莢膜多糖を保有する。

c: 投稿準備中。

App が莢膜を発現していない可能性は低いと考えている。しかし、今後表現型と遺伝子型の一致性を継続的に確認・実証していく必要があると考えている。血清型別には血清型特異的な抗血清が必要であるが、市販されていない。一方、現在日本の多数の検査室では PCR の機械を保有しており、必要な試薬を購入すればほとんどの検査室で検査可能である。したがって、検査担当者が PCR の利点 (①簡便性、②クリアな結果が得られること、③K:O 抗原のうち K 抗原の遺伝子の型別可能等) と問題点 (莢膜抗原の有無は検査できない等) を理解した上で、検査を行う必要がある。

従来の血清型別法で型別された株を PCR で再検査したところ、異なる *cps* 型に型別されたという報告も認められる³²⁾。すなわちイングランド及びウェールズで 2004 年に分離された株について、抗血清を使用した従来の血清型別を実施したところ、血清型 3 の分離率が最も高く (51.5%)、次いで血清型 8 が多い (30.3%) という成績が得られていた。しかし O'Neil ら³²⁾ はこれらの株について、血清型 3、6、8 *cps* を標的としたマルチプレックス PCR によって再検査を行ったところ、81.9% が *cps* 型 8 で、わずか 1.5% が *cps* 型 3 と

表 3 2004 年イングランドとウェールズで分離された 66 株をスライド凝集反応及び莢膜 PCR で解析した場合の血清型別結果の比較 (引用文献 32 より引用)

血清型	スライド凝集 %(株数)	莢膜 PCR %(株数)
2	6.1 (4)	3.0 (2)
3	51.5 (34)	1.5 (1)
6	3.0 (2)	3.0 (2)
7	7.6 (5)	9.1 (6)
8	30.3 (20)	81.9 (54)
12	1.5 (1)	1.5 (1)

同定された (表 3)。著者も少数であるがスライド凝集試験で血清型 3 と同定された株をマルチプレックス PCR によって再検査したところ、*cps* 型 8 であった例を経験している。したがって、血清型 3、6、8 のように交差反応が頻繁に認められるために型別の難しい株については、マルチプレックス PCR による型別が推奨される。

(6) 病性鑑定および依頼検査でのその他の経験

血清型 1、2、5 及び 7 に対する抗血清を用いてゲル内沈降反応を実施しても型別不能であったため、血清型別を依頼された例について紹介する。これらの株について血清型 1～15 に対する抗血清を使用してスライド凝集試験を実施したところ、抗血清型 2 抗血清のみで凝集し、さらに血清型 1, 2, 5 の莢膜合成遺伝子を標的としたマルチプレックス PCR¹⁰⁾ で血清型 2 莢膜合成遺伝子が増幅されたため血清型 2 と同定された。この株を用いて筆者もゲル内沈降反応を実施した結果、陽性対照と比較して多量の抗原を供試しても血清型 2 特異的沈降線が出現しなかった。この株はスライド凝集試験と PCR の成績から血清型 2 と型別したが、血清型を規定する主要抗原である莢膜抗原の発現は非常に悪いか、発現していない可能性がある。ゲル内沈降反応で沈降線が検出されなかった理由については現在検討中である。

なお上記の株以外にもスライド凝集試験及び血清型 1、2、5 の莢膜合成遺伝子を標的としたマルチプレックス PCR¹⁰⁾ で血清型 2 と型別されたが、ゲル内沈降反応では沈降線が検出されない株 (図 1 - A、No.1 株) と、陽性対照抗原に比べて非常に大量の抗原を供試す

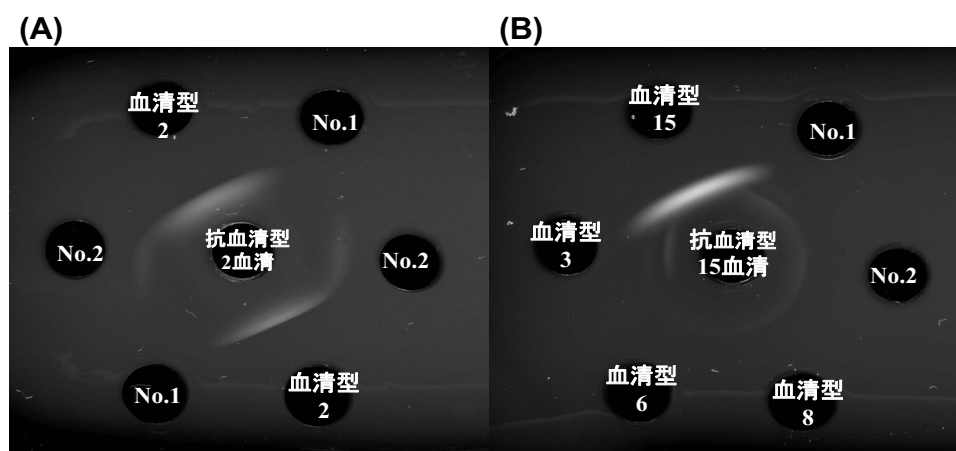


図 1 野外分離株 No.1 及び No.2 と抗血清型 2 及び 15 血清を用いたゲル内沈降反応。中心には抗血清型 2 血清 (A) 及び抗血清型 15 血清 (B)、周囲には血清型 2、3、6、8 及び 15 参考株及び野外分離株 No.1、No.2 の加熱抽出抗原を供試し、室温で約 18 時間反応。

ると細い沈降線が出現した株（図1-A、No.2株）にも遭遇した経験がある。これらの両株は、血清型15抗血清を用いた場合、非常に細い沈降線が検出された（図1-B）。しかしこの沈降線は血清型3及び8の加熱抽出抗原で形成される沈降線と融合したために、血清型15特異的な沈降線ではなかった。したがって、上記のNo.1株は血清型15と誤認される可能性があると思われた。

3. 宿主特異性ならびにイギリスにおける生ワクチンの誤接種による人での事故例について

(1) Appの宿主特異性について

Appの豚への宿主特異性は非常に高く、豚以外の動物から分離された例は非常に少ない。筆者の知る限り豚以外の動物から分離例は子羊（Lamb）の関節から分離されたK17株と、雄子牛（Steer）の脳の膿瘍から分離されたK45株の2株のみである⁸⁾。血清型はいずれも5であり、K17株は血清型5aの参考株として多くの研究者に使用されている。

Appの豚への高い宿主特異性を説明可能な報告は、筆者の知る限り以下に示すSchryversら⁴⁰⁾の一報のみである。病原細菌が増殖・生存していくためにはフリーの鉄が必要であるが、宿主体内では鉄は血清中のトランスフェリン等と結合しているため、フリーの鉄は宿主体内にはほとんどないと考えられている。そこ

で病原細菌は鉄に結合したトランスフェリンを積極的に獲得することにより、鉄を獲得する機構を保有していると考えられている。Schryversら⁴⁰⁾は人、牛および豚にそれぞれ宿主特異性の高い*Neisseria meningitidis*（髄膜炎菌）、*Mannheimia haemolytica* および Appの3菌種が、人、牛、豚のいずれの動物由来のトランスフェリンと結合し、それを利用して増殖可能か実験を行った。その結果、*N. meningitidis* は人由来のトランスフェリン、*M. haemolytica* は牛由来のトランスフェリン、Appは豚由来のトランスフェリンのみを利用可能であると報告した。このようにトランスフェリンの結合（利用）能の宿主特異性が、Appの宿主特異性の一因であると考えられている。

(2) 生ワクチンの誤接種による人での事故例

養豚農場においてAppによる豚胸膜肺炎が多発しているながら、養豚農家、養豚獣医師及び食肉衛生検査所作業員等、豚と接する機会の多い人であっても、Appの自然感染例は皆無であり、Appは*Streptococcus suis*のようなズーノーシスの病原体ではないと認識されている。しかし、自然感染例ではないが、App生ワクチンの獣医師の親指への誤接種事故例（接種部位の壊疽性壊死）が報告されたので紹介する³⁸⁾。その経過を図2にまとめた。この症例は、Appの自然感染例ではなく単なる事故と考えて良いが、今後様々な新型の

イギリスの某養豚場で、App生ワクチン接種中に獣医師が豚に蹴られ1mLの生ワクチンを親指に誤接種（生ワクチンに関する詳細情報は論文には記載されていないが、Appが接種部位の局所で増殖し、外毒素（RTX毒素）や内毒素（LPS）が壊死性壊疽を引き起こしたと推察される。）

↓

90分後に接種部位に腫れが認められたため、アモキシシリンの経口投与を行ったが、効果無し。

↓

10時間後には病変が拡大し、患部は黒紫色となった（写真は転載不可なので原著³⁸⁾参照）。

↓

そのため24時間後に感染症センターで治療を行った。その内容は、腫れた患部の減圧のために焼痂切開（escharotomy）を行い、アモキシシリン、メロペネム及びクリンダマイシンを静脈注射し、さらに蛭治療を行った。

↓

上記治療は有効であったが、壊死のため形成外科手術（皮膚移植）を行った。

↓

6～7ヶ月後には治癒したが、親指の感覚消失の後遺症が残った。

図2 イギリスでのApp生ワクチン誤接種による事故の詳細（引用文献38より引用）

ワクチンが登場する可能性があり、生ワクチン等を取り扱う獣医師への喚起情報として紹介させていただいた。なお日本では App の生ワクチンは承認・市販されていない。

引用文献

- 1) Altman E, et al. (1992) Structure of the capsular polysaccharide of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 5b. Eur J Biochem. 204: 225-230.
- 2) Beynon LM, et al. (1993) Characterization of the *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype K11:O1 capsular antigen. Eur J Biochem, 214: 209-214.
- 3) Blackall PJ, et al. (2002) Proposal of a new serovar *Actinobacillus pleuropneumoniae*: serovar 15. Vet Microbiol, 84: 47-52.
- 4) Dubreuil JD, et al. (2000) *Actinobacillus pleuropneumoniae* surface polysaccharides: their role in diagnosis and immunogenicity. Anim Health Res Rev, 1: 73-93.
- 5) Ganeshapillai J, et al. (2011) The lipopolysaccharide core of *Actinobacillus suis* and its relationship to those of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Biochem. Cell Biol. 89: 351-358.
- 6) Gottschalk M, et al. (2000) Atypical *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates that share antigenic determinants with both serotypes 1 and 7. J Vet Diagn Invest, 4: 270-278.
- 7) Gottschalk M (2006) *Actinobacillus pleuropneumoniae*. In: Straw BE, et al. eds. Diseases of Swine. 9th ed. p563-576, Blackwell Publishing, Ames, Iowa.
- 8) Gunnarsson A, et al (1977) Serologic studies of porcine strains of *Haemophilus parahaemolyticus* (*pleuropneumoniae*): agglutination reactions. Am J Vet Res, 38: 1111-1114.
- 9) 伊藤博哉 (2010) *Actinobacillus pleuropneumoniae* の生物型及び血清型について. All About Swine, 36: 2-9.
- 10) Ito H (2010) Development of a *cps*-based multiplex PCR for typing of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes 1, 2 and 5. J Vet Med Sci, 72: 653-655.
- 11) Jessing SG, et al. (2003) Evaluation of a multiplex PCR test for simultaneous identification and serotyping of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes 2, 5 and 6. J Clin Microbiol, 41: 4095-4100.
- 12) Jessing SG, et al. (2008) Development of a multiplex PCR test for identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars 1, 7, and 12. Vet Microbiol, 129: 350-359.
- 13) Jolie, RA, et al. (1994) Antigenic differences within *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 1. Vet Microbiol, 38: 329-349.
- 14) Jolie RA, et al. (1995) Cross-protection experiments in pigs vaccinated with *Actinobacillus pleuropneumoniae* subtypes 1A and 1B. Vet Microbiol, 45: 383-391.
- 15) Koyama T, et al. (2007) Isolation of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 15-like strain from a field case of porcine pleuropneumonia in Japan. J Vet Med Sci, 69: 961-964.
- 16) Lo TM, et al. (1998) Detection and identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 5 by multiplex PCR. J Clin Microbiol, 1704-1710.
- 17) MacLean LL, et al. (2004) Characterization of the antigenic lipopolysaccharide O chain and the capsular polysaccharide produced by *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 13. Infect. Immun. 72: 5925-5930.
- 18) Mittal KR, et al. (1982) Evaluation of slide agglutination and ring precipitation tests for capsular serotyping of *Haemophilus pleuropneumoniae*. J Clin Microbiol, 15: 1019-1023.
- 19) Mittal KR, et al. (1983) Determination of antigenic specificity and relationship among *Haemophilus pleuropneumoniae* serotypes by an indirect hemagglutination test. J Clin Microbiol, 17: 787-790.
- 20) Mittal KR, et al. (1983) Identification and serotyping of *Haemophilus pleuropneumoniae* by coagglutination test. J Clin Microbiol, 18: 1351-1354.
- 21) Mittal KR, et al. (1988) Quantitation of serotype-specific antigens by coagglutination and immunodiffusion tests for differentiating *Actinobacillus* (*Haemophilus*) *pleuropneumoniae* strains belonging to cross-reacting serotypes 3, 6 and 8. J Clin Microbiol, 17: 985-989.
- 22) Mittal KR (1990) Cross-reactions between *Actinobacillus* (*Haemophilus*) *pleuropneumoniae* strains of

- serotypes 1 and 9. J Clin Microbiol, 28: 535-539.
- 23) Mittal KR, et al. (1991) Cross-reactivity and antigenic heterogeneity among *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains of serotypes 4 and 7. J Clin Microbiol, 29: 1344-1347.
 - 24) Mittal KR, et al. (1993) Serological characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains of serotypes 1, 9 and 11. Res Vet Sci, 55: 179-184.
 - 25) 守岡綾子ら (2006) 1999~2000年に国内で分離された *Actinobacillus pleuropneumoniae* の薬剤感受性. 日獣会誌, 59: 815-819.
 - 26) Morioka A, et al (2008) Recent trends in antimicrobial susceptibility and the presence of the tetracycline resistance gene in *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates in Japan. J Vet Med Sci, 70: 1261-1264.
 - 27) Negrete-Abascal E, et al. (2003) Flagella and motility in *Actinobacillus pleuropneumoniae*. J Bacteriol, 185: 664-668.
 - 28) Nielsen R (1984) *Haemophilus pleuropneumoniae* serotypes? Cross protection experiments. Nord Vet Med, 36: 221-234.
 - 29) Nielsen R (1986) Serology of *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae* serotype 5 strains: establishment of subtypes a and b. Acta Vet Scand, 27: 49-58.
 - 30) Nielsen R, et al. (1996) Serological characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* biotype 1 strains antigenically related to both serotypes 2 and 7. Acta Vet Scand, 37: 327-336.
 - 31) Nielsen R, et al. (1997) Serological characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* biotype 2 strains isolated from pigs in two Danish herds. Vet Microbiol, 54: 35-46.
 - 32) O'Neill C, et al. (2012) Prevalence of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars in England and Wales. Vet Rec, 167: 661-662.
 - 33) Perry MB, et al. (1990) Structural characteristics of the antigenic capsular polysaccharides and lipopolysaccharides involved in the serological classification of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* strains. Serodiagn Immunolther Inf Dis, 4: 299-308.
 - 34) Perry MB, et al. (2005) Structural characterization of the antigenic O- polysaccharide produced by *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 14. Carbohydr Res, 339: 1399-1402.
 - 35) Perry MB, et al. (2005) Structural characterization of the antigenic capsular polysaccharide and lipopolysaccharide O-chain produced by *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 15. Biochem Cell Biol, 83: 61-69.
 - 36) Perry MB, et al. (2012) An atypical biotype 1 *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 13 is present in North America. Vet Microbiol 156, 403-410.
 - 37) Pohl S, et al. (1983) Transfer of *Haemophilus pleuropneumoniae* and the *Pasteurella haemolytica*- like organism causing porcine necrotic pleuropneumonia to the genus *Actinobacillus (Actinobacillus pleuropneumoniae* comb. nov.) on the basis of phenotypic and deoxyribonucleic acid relatedness. Int J Syst Bacteriol, 33: 510-514.
 - 38) Rycroft AN, et al. (2011) Necrosis from needle-stick injury with live porcine vaccine. BMJ, 343: d6261.
 - 39) Schuhert JA, et al. (2004) Detection and identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes 1, 2, and 8 by multiplex PCR. J Clin Microbiol, 42: 4344-4348.
 - 40) Schryvers AB, et al. (1990) Receptors for transferring in pathogenic bacteria are specific for the host's protein. Can J Microbiol, 36: 145-147.
 - 41) To H, et al. (2009) Identification and characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates serovar 15. Proc 4th Congr Asian Pig Vet Soc, 127.
 - 42) Tumamamo JQ, et al. (2004) Comparison of an efficacy of a subunit and a live streptomycin-dependent porcine pleuropneumonia vaccine. Aus Vet J, 82: 370-374.
 - 43) Tumamamo JQ, et al. (2004) An evaluation of the role of antibodies to *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 1 and 15 in the protection provided by sub-unit and live streptomycin-dependent pleuropneumonia vaccines. Aus Vet J, 82: 773-780.
 - 44) Yoshimura H, et al. (2002) Comparative *in vitro* activity of 16 antimicrobial agents against *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Vet Res Commun, 26: 11-

- 19.
- 45) Zhou L, et al. (2008) PCR specific for *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 3. Vet Rec, 162: 648-652.
- 46) Zhou L, et al. (2008) Multiplex PCR that can distinguish between immunologically cross-reactive serovar 3, 6, and 8 *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains. J Clin Microbiol, 46: 800-803.