

## と畜検査豚における *Actinobacillus pleuropneumoniae* 血清型 2 感染に関連した全身性皮下脂肪組織炎の 1 例

稲葉夏深<sup>1)</sup> 里麻美喜子<sup>1)</sup> 菅野有希<sup>2)</sup> 平田清久<sup>1)†</sup> 戸崎香織<sup>3)</sup>  
大場剛実<sup>4)</sup> 新村信久<sup>1)</sup> 芝原友幸<sup>5),6)</sup>

- 1) 富山県食肉検査所 (〒934-0035 射水市新堀 28-4)
- 2) 富山県高岡厚生センター射水支所 (〒939-0351 射水市戸破 1875-1)
- 3) 栃木県県央家畜保健衛生所 (〒321-0905 宇都宮市平出工業団地 6-8)
- 4) 富山県動物管理センター (〒930-0275 中新川郡立山町利田)
- 5) 国研農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門 (〒305-0856 つくば市観音台 3-1-5)
- 6) 大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 (〒598-8531 泉佐野市りんくう往来北 1-58)

(2018 年 1 月 24 日受付・2018 年 5 月 29 日受理)

### 要 約

約 6 カ月齢のと畜検査豚の全身皮下脂肪組織に多発性の癒合する巣状化膿性脂肪組織炎が認められた。同病変部からは *A. pleuropneumoniae* が分離され、さらに同菌はマルチプレックス PCR より、*A. pleuropneumoniae* 血清型 2 と判定された。組織学的には、皮下脂肪組織においてグラム陰性桿菌の周囲に巣状に好中球及びマクロファージの浸潤が認められ、一部では Splendore-Hoeppli phenomenon も認められた。免疫組織化学的には、脂肪織病変にみられたこのグラム陰性桿菌は、*A. pleuropneumoniae* 血清型 2 に対する抗体に陽性反応を示した。これらの結果から、今回観察された化膿性皮下脂肪組織炎は *A. pleuropneumoniae* 血清型 2 の感染に関連して発生したことが示唆された。

——キーワード： *Actinobacillus pleuropneumoniae* 血清型 2、と畜検査、豚、皮下脂肪組織炎。

-----日獣会誌 71, 660~663 (2018)

*Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) はバクテリヤ科に属するグラム陰性、通性嫌気性、芽胞無形成の桿菌である [1, 2]。App は豚の豚胸膜肺炎の原因菌で、感染した豚は甚急性、急性、亜急性または慢性の経過をたどり、しばしば致死性の胸膜肺炎を引き起こす [3]。このため App は養豚産業の大きな経済的損失の原因となる重要な疾病である [3, 4]。病理学的には線維素性胸膜炎を伴う線維素壊死性肺炎や出血性肺炎を呈し、血管炎を伴い、陳旧化すると膿瘍が形成される [3]。また、App は Splendore-Hoeppli phenomenon を伴う肉芽腫性肺炎を形成することがある [5]。肺以外の病変形成はまれであるが、App による血管病変は腎臓に認められることがある [3] ほか、Splendore-Hoeppli phenomenon を伴う肉芽腫性肝炎、脾炎及び腎炎 [6]、Splendore-Hoeppli phenomenon を伴う肉芽腫性リンパ節炎 [7]、

壊死性骨髄炎と線維素化膿性関節炎 [8]、滲出性髄膜炎と腎炎 [9] などを引き起こすことが報告されている。しかし、これまでに App による皮膚及び皮下脂肪組織に関する病変の報告は見当たらない。

今回、と畜場搬入豚に App 感染に関連した化膿性皮下脂肪組織炎が認められたので、その概要を報告する。

### 材料及び方法

**供試材料：**2014 年 6 月 20 日、富山県内のと畜場に搬入され処理された A 農場由来の 71 頭の豚のうち、皮下脂肪組織に病変が認められた約 6 カ月齢の去勢の肥育豚 1 頭について、細菌学的、病理組織学的及び免疫組織化学的検索を実施した。

**細菌学的検査：**皮下脂肪組織及び腎臓を馬血液寒天培地 (極東製薬株、東京) にスタンプ塗抹し、好気培養及

† 連絡責任者：平田清久 (富山県食肉検査所)

〒934-0035 射水市新堀 28-4

☎ 0766-86-2387 FAX 0766-86-2739

E-mail : kiyohisa.hirata@pref.toyama.lg.jp

び嫌気培養（アネロパックケンキ<sup>®</sup>、三菱ガス化学(株)、東京）を37℃にて24～48時間行った。分離株の継代はチョコレート寒天培地（栄研化学(株)、東京）を使用し、炭酸ガス培養（アネロパックCO<sub>2</sub>、三菱ガス化学(株)、東京）を行った。

**生物学的検査：**分離株はキット（ID-テスト-HN-20ラピッド「ニッスイ」<sup>®</sup>、日水製薬(株)、東京）とオキシダーゼ・カタラーゼ試験にて同定を試みた。

**PCR法：**分離されたApp株についてはItoら[10]の方法に基づいて、1, 2, 5, 7及び15型の荚膜合成遺伝子を標的としたマルチプレックスPCRにより血清型別を行った。

**病理組織学的検査：**死後30分以内に皮下脂肪組織及び腎臓を採取した。それらはメタノール加20%ホルマリンで固定後、パラフィンに包埋した。組織切片（厚さ3μm）について、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色及びグラム染色を行った。

免疫組織化学染色はストレプトアビジンアルカリホスファターゼキット（Histofine SAB-POキット、(株)ニチレイ、東京）を用いて実施した。抗App血清型2ウサギ血清を一次抗体として用いた切片は、ヘマトキシリンで対比染色し、顕微鏡下で観察した。

## 成 績

**肉眼所見：**枝肉の皮下脂肪組織の表面に直径2～10mm大の硬結感を有する赤斑が多数認められた。赤斑は皮下脂肪組織の内部にも認められ、赤斑の断面は、赤色あるいは白色で周囲が赤色に縁取られるものもみられた（図1）。同様の赤斑は、全身の皮下脂肪組織にびまん性に存在していた。

右腎臓の皮質には、直径2～3mm大の内部が白色で周囲が赤色に縁取られる小結節を数個認めた。そのほか、肺にマイコプラズマ肺炎様の肝変化病巣が認められたが、胸膜肺炎は認められなかった。肝臓には肝包膜炎が認められた。

**細菌学的検査：**皮下脂肪組織からAppのみが分離され、PCRによりApp血清型2に型別された。腎臓からは細菌は分離されなかった。肺の細菌学的検査は未実施であった。

**病理組織学的検査：**皮下脂肪組織では、出血や壊死を伴う多病巣性の好中球浸潤が認められた。一部の病巣に、グラム陰性桿菌の周囲に放射状に延びた好酸性棍棒状物（Splendore-Hoeppli phenomenon）が認められた（図2）。病巣内の変性した小血管の周囲には核の伸展した好中球（燕麦様細胞）やマクロファージが認められた（図3）。小血管には血栓形成がみられ、壊死を伴っていた。グラム染色では、変性した血管内やSplendore-Hoeppli phenomenonの中心部分にグラム陰性桿菌が

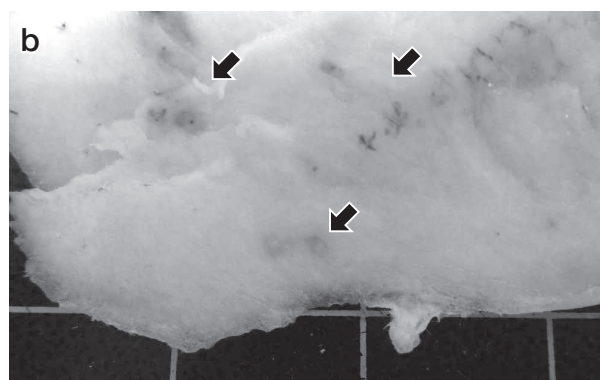
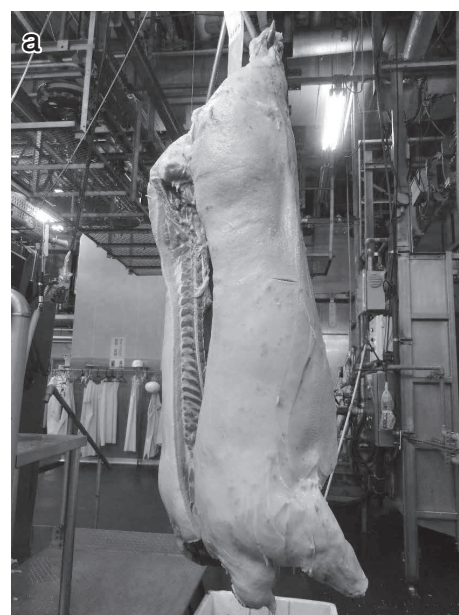


図1 枝肉

- (a) 多発性の皮下脂肪組織の赤斑。
- (b) 赤斑の断面。赤色あるいは白色で周囲が赤色に縁取られる（矢印）（スケール=5cm）。

認められた。免疫組織学的検索では、変性した血管内、Splendore-Hoeppli phenomenonの中心部分及び好中球浸潤巣のグラム陰性桿菌に一致して、App血清型2抗体の陽性反応が認められた。

腎臓皮質には、出血を伴う好中球浸潤巣が認められたが、グラム染色では同部に菌体は認められず、免疫組織学的検索においても陽性反応は認められなかった。

## 考 察

以上の結果から、皮下脂肪組織の病変はApp血清型2に起因していることが示唆された。Appは豚胸膜肺炎の原因菌であり[2]、この病変は胸腔内に局限するものと考えられてきた[12, 13]。近年、Ohbaら[6, 7]はApp血清型2が胸腔内以外の肝臓、腎臓、脾臓及びリンパ節にも病変を形成することを報告した。今回得られた組織病変は、Ohbaら[6, 7]が報告したApp血清型2による肺、肝臓及びリンパ節の病変と非常に類似して



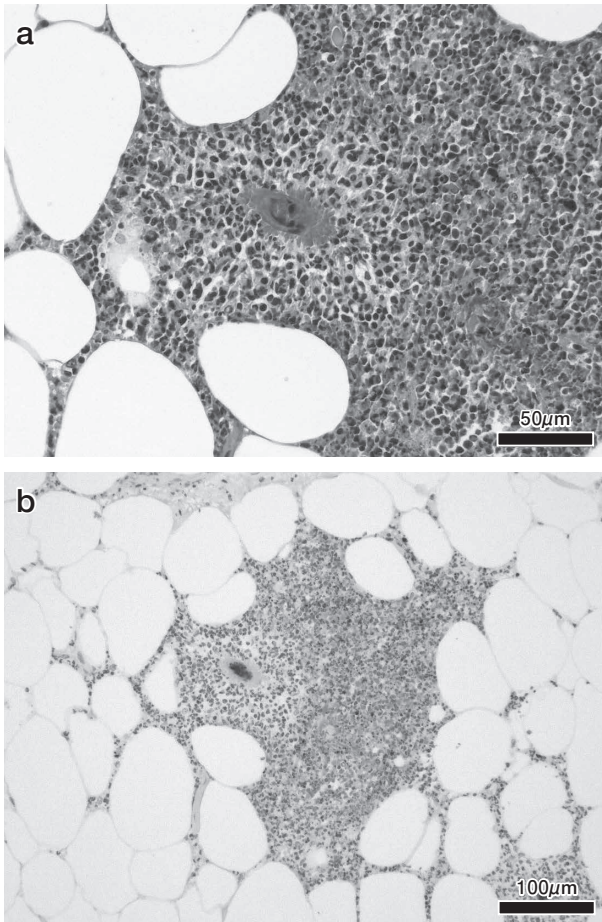


図2 皮下脂肪組織

- (a) 好中球浸潤巣における Splendore-Hoeppli phenomenon. 中央には多数の細菌を認め、周囲には好中球及びマクロファージがみられる (HE 染色 Bar=50 $\mu$ m).
- (b) (a) の細菌や好中球浸潤巣に App 血清型 2 抗体陽性反応がみられる (免疫組織化学染色 Bar=100 $\mu$ m).

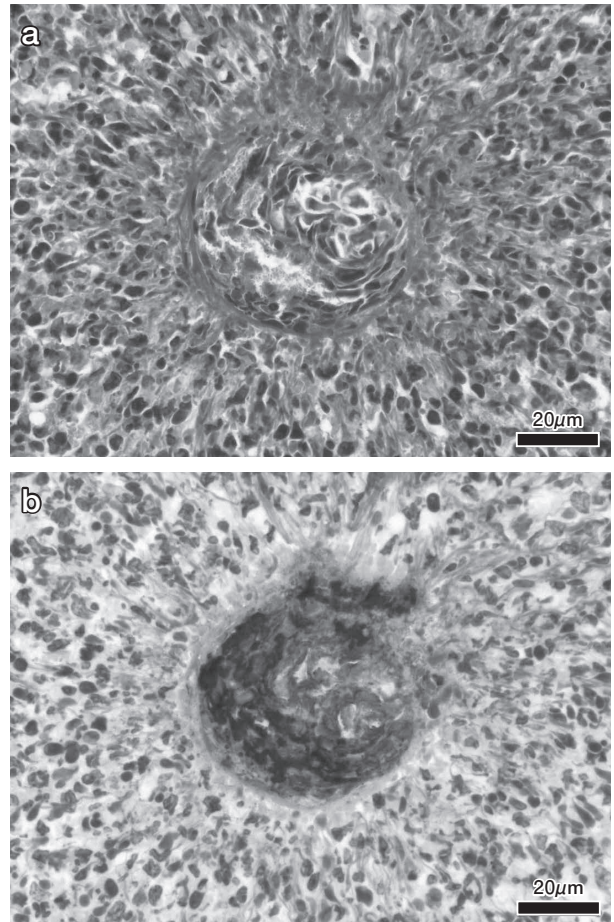


図3 皮下脂肪組織

- (a) 変性した小血管. 血管内には多数の細菌を認め、周囲には変性した好中球及びマクロファージがみられる (HE 染色 Bar=20 $\mu$ m).
- (b) 変性した血管内には App 血清型 2 抗体陽性反応がみられる (免疫組織化学染色 Bar=20 $\mu$ m).

いた. しかし, これまで App 血清型 2 に起因した皮下脂肪組織における病変形成の報告は見当たらない. また, 病変は全身の皮下脂肪組織に及んでおり, 枝肉の商品価値を下げる経済的損失の大きな疾病となった.

今回, 腎臓の化膿巣からは細菌学的にも免疫組織化学的にも App 血清型 2 の菌株または抗原は検出されず, 皮下脂肪組織病変との関連は不明であった.

Ohba ら [7] は, 肺, 肝臓及び肺門・縦隔リンパ節に化膿性肉芽腫性病変を呈した豚の腎臓の化膿性病変と血管炎から App 血清型 2 を分離し, 免疫組織化学的に App 血清型 2 を検出している. 今回, 全身の皮下脂肪組織の血管を中心に多発性に病変がみられたことから, App が血行性に播種したことが考えられ, 今後同様の症例についてリンパ節や諸臓器の精査が必要と考えられた.

本稿を終えるにあたり, 材料提供等に協力いただいた富山県食肉検査所の皆さまに深謝する.

## 引用文献

- [1] 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, 29-60 (2016)
- [2] Bossé JT, Jason H, Sheehan BJ, Beddek AJ, Rycroft AN, Kroll JS, Langford PR: *Actinobacillus pleuropneumoniae*: pathobiology and pathogenesis of infection, *Microbes Infect*, 4, 225-235 (2002)
- [3] Caswell JL, Williams KJ: The respiratory system, Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals, Maxie MG eds, 6th ed, vol 2, 465-591, Elsevier, St. Louis (2016)
- [4] Chung JW, Ng-Thow-Hing C, Budman LI, Gibbs BF, Nash JH, Jacques M, Coulton JW: Outer membrane proteome of *Actinobacillus pleuropneumoniae*: LC-MS/MS analyses validate in silico predictions, *Proteomics*, 7, 1854-1865 (2007)

- [5] Ohba T, Shibahara T, Kobayashi H, Takashima A, Nagoshi M, Araki M, Takizawa K, Kubo M : Prevalence of granulomatous pleuropneumonia associated with *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 in slaughter pigs, *J Vet Med Sci*, 71, 1089-1092 (2009)
- [6] Ohba T, Shibahara T, Kobayashi H, Takashima A, Nagoshi M, Osanai R, Kubo M : Multifocal granulomatous hepatitis caused by *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 in slaughter pigs, *J Comp Pathol*, 139, 61-66 (2008)
- [7] Ohba T, Shibahara T, Kobayashi H, Takashima A, Nagoshi M, Kubo M : Granulomatous lymphadenitis associated with *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 in slaughter barrows, *Can Vet J*, 51, 733-737 (2010)
- [8] Jensen TK, Boye M, Hagedorn-Olsen T, Riising HJ, Angen Ø : *Actinobacillus pleuropneumoniae* osteomyelitis in pigs demonstrated by fluorescent in situ hybridization, *Vet Pathol*, 36, 258-261 (1999)
- [9] Madsen LW, Boye M, Jensen TK, Svensmark B : *Actinobacillus pleuropneumoniae* demonstrates in situ in exudative meningitis and nephritis, *Vet Rec*, 149, 746-747 (2001)
- [10] Ito H, Sueyoshi M : Development of a multiplex polymerase chain reaction method for *cps* typing of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars 1, 2, 5, 7, and 15, *Jpn Agr Res Q*, 49, 277-280 (2015)
- [11] Sheehan BJ, Bossé JT, Beddek AJ, Rycroft AN, Kroll JS, Langford PR : Identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* genes important for survival during infection in its natural host, *Infect Immun*, 71, 3960-3970 (2003)
- [12] Buttenschøn J, Friis NF, Aalbaek B, Jensen TK, Iburg T, Mousing J : Microbiology and pathology of fibrinous pericarditis in Danish slaughter pigs, *J Vet Med A*, 44, 271-280 (1997)
- [13] Nicolet J : Taxonomy and serological identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Can Vet J*, 29, 578-580 (1988)

### Systemic Subcutaneous Panniculitis Associated with *Actinobacillus Pleuropneumoniae* Serotype 2 Infection in a Pig during Meat Inspection

Natsumi INABA<sup>1)</sup>, Mikiko SATOMA<sup>1)</sup>, Yuki SUGANO<sup>2)</sup>, Kiyohisa HIRATA<sup>1)†</sup>,  
Kaori TOSAKI<sup>3)</sup>, Takemi OHBA<sup>4)</sup>, Nobuhisa SHINMURA<sup>1)</sup>  
and Tomoyuki SHIBAHARA<sup>5),6)</sup>

- 1) Toyama Prefectural Meat Inspection Center, 28-4 Shinbori, Imizu, 934-0035, Japan  
2) Toyama Prefectural Takaoka Welfare Center Imizu Office, 1875-1 Hibari, Imizu, 939-0351, Japan  
3) Tochigi Prefectural Kenou Livestock Hygiene Service Center, 6-8 Hiraide-kougyoudanchi, Utsunomiya, 321-0905, Japan  
4) Toyama Prefectural Animal Administration Center, Rita, Tateyama, Nakaniikawa, 930-0275, Japan  
5) National Institute of Animal Health, National Agricultural and Food Research Organization, 3-1-5 Kannondai, Tsukuba, 305-0856, Japan  
6) Department of Veterinary Science, Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University, 1-58 Rinku-oraikita, Izumisano, 598-8531, Japan

#### SUMMARY

During meat inspection, a six-month-old pig had systemic multifocal, coalescing suppurative panniculitis in subcutaneous adipose tissues. *Actinobacillus pleuropneumoniae* was isolated from the subcutaneous lesions and identified as *A. pleuropneumoniae* serotype 2 by Multiplex PCR assay. Histologically, there were multifocal panniculitis consisting of various degrees of neutrophil and macrophage infiltrations. A large number of Gram-negative bacilli were visible in the center. Occasional Splendore-Hoeppli phenomenon was also observed. Immunohistochemically, the organisms in the lesions showed a positive reaction to antibodies against *A. pleuropneumoniae* serotype 2. These results indicate that the present subcutaneous suppurative panniculitis was closely associated with *A. pleuropneumoniae* serotype 2 infection.

— Key words : *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2, meat inspection, pig, subcutaneous panniculitis.

† Correspondence to : Kiyohisa HIRATA (Toyama Prefectural Meat Inspection Center)

28-4 Shinbori, Imizu, 934-0035, Japan

TEL 0766-86-2387 FAX 0766-86-2739 E-mail : kiyohisa.hirata@pref.toyama.lg.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 71, 660 ~ 663 (2018)