

## と畜場搬入豚における *Actinobacillus pleuropneumoniae* 血清型 8 による疣贅性心内膜炎及び肺動脈炎

秦 温子<sup>1)†</sup> 樋渡佐知子<sup>1)</sup> 三浦奈緒美<sup>1)</sup> 松尾保雄<sup>1)</sup>  
芝原友幸<sup>2),3)</sup> 伊藤博哉<sup>2)</sup>

- 1) 長崎県川棚食肉衛生検査所 (〒 859-3605 東彼杵郡川棚町百津郷 39-64)  
2) 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)  
3) 大阪府立大学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 5 月 14 日受付・2019 年 2 月 26 日受理)

### 要 約

2017 年 12 月、長崎県内のと畜場において、発育不良、消瘦、チアノーゼ等を呈し、病畜としてと畜解体された豚に、疣贅性心内膜炎及び肺動脈内壁の粟粒大結節が認められた。また、肺及び腎臓の点状出血や肝臓のうっ血、脾臓の脆弱化も認められた。細菌学的検査で、疣状物、心臓、腎臓、脾臓から *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) が分離され、分離株は、血清型 8 であった。病理学的検査では、疣状物及び肺動脈の結節で、燕麦様細胞を伴う化膿性壊死性炎が認められ、壊死部にはグラム陰性桿菌が認められた。また、抗 App 血清型 8 免疫血清を用いた免疫組織化学では、グラム陰性桿菌に一致して陽性抗原が認められた。以上より、本症例は App 血清型 8 による疣贅性心内膜炎及び肺動脈炎と診断された。——キーワード：*Actinobacillus pleuropneumoniae* 血清型 8, 疣贅性心内膜炎。

-----日獣会誌 72, 555～559 (2019)

*Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) は、養豚産業に大きな経済的損失を与える豚胸膜肺炎の起原菌である。農場においては、App による死亡例も多く、甚急性例・急性例では出血性線維索性胸膜肺炎が認められる。一方、と畜検査においては、肺の内部の出血や壊死、膿瘍等の病変が認められる。App は、現在までに 18 の血清型 [1] の存在が確認されており、国内では、血清型 2 の分離が最も多く、次いで血清型 1 及び 5 と続く。その他の血清型による豚胸膜肺炎の発生は少なく散発的な分離報告例 [2] が認められる。また、App による疣贅性心内膜炎 [3, 4] や、近年は、多発性肉芽腫性肝炎や敗血症の報告 [5, 6] もあり、App は、生産現場及びと畜検査の両方において重要な病原体である。今回、近年分離の報告がほとんどなかった App 血清型 8 による疣贅性心内膜炎及び肺動脈炎が、本県と畜場搬入豚において日本で初めて認められたので、その概要を報告する。

### 材料及び方法

**発生状況と材料：**当該豚は、2017 年 12 月に長崎県内のと畜場に搬入された A 生産者の肥育豚 86 頭中の 1 頭（雑種、推定 6 カ月齢、去勢）で、発育不良、消瘦、全身の発赤、耳介のチアノーゼ、軽度の尾咬傷を認めたため、病畜としてと畜解体され、内臓検査で、疣贅性心内膜炎が認められた。

**細菌学的検査：**疣状物及び心臓、肝臓、腎臓、脾臓、浅頸リンパ節、頸部筋肉について、5%羊脱線維血液トリプトソイ寒天培地（日本ベクトン・ディッキンソン株、東京）（羊血液寒天培地）及び最終濃度 10 $\mu$ g/ml となるように  $\beta$ -ニコチンアミド・アデニン・ジヌクレオチド ( $\beta$ -NAD)（オリエンタル酵母工業株、東京）を添加した 5%馬脱線維血液トリプトソイ寒天培地 ( $\beta$ -NAD 添加馬血液寒天培地) を用いて、37 $^{\circ}$ C、24～48 時間、ロウソク培養を行った。培地上に発育した溶血性

† 連絡責任者：秦 温子（長崎県川棚食肉衛生検査所）  
〒 859-3605 東彼杵郡川棚町百津郷 39-64

☎ 0956-83-3147 FAX 0956-82-5568  
E-mail : hata-atsuko@pref.nagasaki.lg.jp



図1 右心耳内側に形成された疣状物 (矢印)  
直径3~5mmの脆弱な黄白色疣状物が多数認められた。

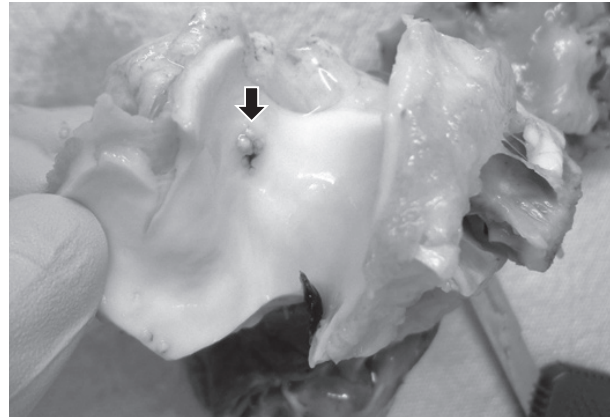


図2 肺動脈起始部に形成された粟粒大結節 (矢印)  
10%ホルマリン緩衝液固定。

の灰白色コロニーについて、グラム陰性短桿菌であることを確認後、生化学性状試験(バイテック2コンパクト、シスメックス・バイオメリュー(株)、東京)及びApp種特異的PCR [2]により、分離菌の同定を試みた。血清型は、スライド凝集試験、ゲル内沈降反応及び血清型3, 6, 8型別用プライマーを用いたマルチプレックスPCR [7]により型別した。

**病理組織学的検査:** 疣状物、肺動脈の結節及び主要臓器を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、定法に基づきパラフィン包埋後、切片を作製した。これらの切片にヘマトキシリン・エオジン(HE)染色、グラム染色及び抗App血清型8家兎血清 [8]を一次抗体に用いた免疫組織化学(IHC)を実施した。

## 成 績

**肉眼的所見:** 当該豚は、右心耳内側から右房室弁にかけて直径3~5mmの脆弱な黄白色疣状物が多数認められた(図1)。また、肺動脈起始部から約3cmの内壁に粟粒大結節の形成(図2)が認められたほか、心外膜炎、肺の点状出血、肝臓のうっ血、腎臓の出血斑、脾臓の脆弱化、大腸漿膜面の点状出血がみられた。

**細菌学的検査:** 疣状物の直接鏡顕では、グラム陰性桿菌が少数認められた。 $\beta$ -NAD添加馬血液寒天培地での培養では、疣状物から純培養的に直径1~2mmの灰白色円形コロニーが発育した。コロニーは、粘稠性があり弱い溶血を示した。同様のコロニーは、心臓、腎臓、脾臓からも分離された。それ以外の検体からは、菌は分離されなかった。また、いずれの検体でも、羊血液寒天培地では、菌の発育は認められなかった。分離株は、NAD要求性、ウレアーゼ陽性及びマンニット陽性といったAppに特徴的な生物学的及び生化学性状を示し、さらに種特異的PCRでApp特異的遺伝子が検出されたことから、Appと同定した。抗血清を用いた血清型別

試験では、スライド凝集試験で、抗血清型3, 6, 8及び15抗血清で凝集し、ゲル内沈降反応で、血清型3, 6及び8抗血清で沈降線が認められた。しかし、血清型3, 6, 8型別用マルチプレックスPCRで血清型8のみが陽性であったため、分離株はApp血清型8と型別された。

**病理組織学的検査:** 疣状物のHE染色では、重度の壊死と線維素の析出及び好中球の高度な浸潤が認められた(図3)、壊死巣の周囲には燕麦様細胞も多数認められた(図4)。また、壊死病変部には多数の細菌塊も認められた。疣状物が形成された心内膜直下の心筋では、炎症細胞の浸潤及び結合織増生、血管増生、広範囲の出血も認められた。また、肺動脈の結節でも燕麦様細胞を伴う化膿性壊死性炎が認められた(図5)。脾臓では、マクロファージによる貪食像がびまん性に認められた。その他の臓器では、著変は認められなかった。グラム染色では、疣状物及び肺動脈の結節の壊死病変内に多数のグラム陰性桿菌が認められ、IHCでは、グラム陰性桿菌に一致して抗App血清型8家兎血清に対する陽性反応が認められた(図6)。また、心臓、肝臓、腎臓及び脾臓では、非常にまれに血管内のマクロファージの細胞質において、抗App血清型8家兎血清に対する陽性反応が確認された。その他の臓器では、IHCで陽性反応は認められなかった。

## 考 察

App血清型3, 6, 8及び15のLPSのO抗原は、同一あるいは類似しているため、凝集反応等の血清型別試験では、これらの血清型間で交差反応が起こり、識別が難しいとされている。この問題を克服するために、PCRによる血清型別法が開発され、広く利用されている [9]。本症例の分離株についても、これらの血清型に対する抗血清で、共通抗原(LPSのO抗原)によると思われる凝集や沈降線が観察された。しかし、血清型別PCR

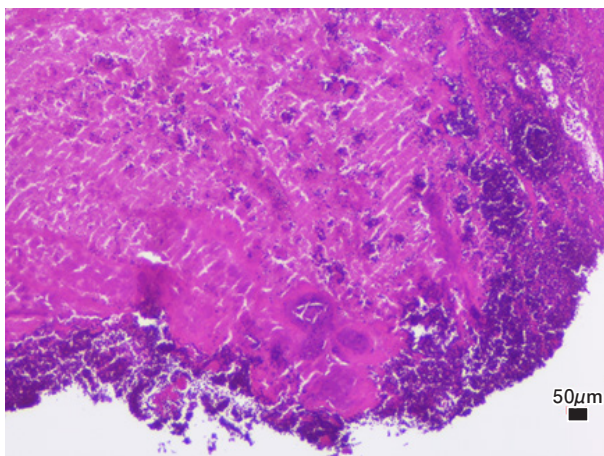


図3 疣状物  
壊死巣中心は重度の壊死と線維素の析出が顕著であった (HE 染色 Bar=50μm).

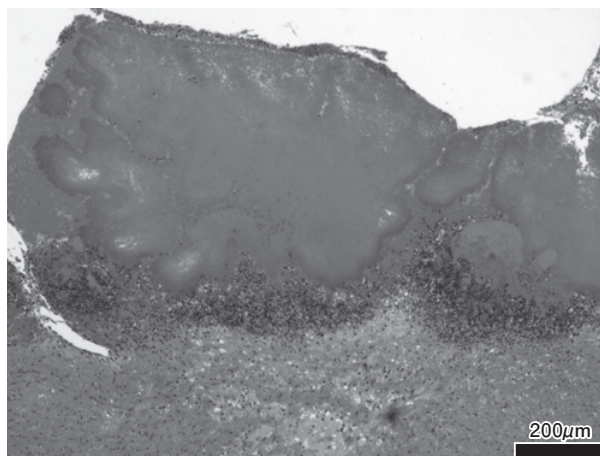


図5 肺動脈の結節の壊死巣. 燕麦様細胞を伴う化膿性壊死性炎  
病変の中心部には多数の細菌塊が認められた (HE 染色 Bar=200μm).

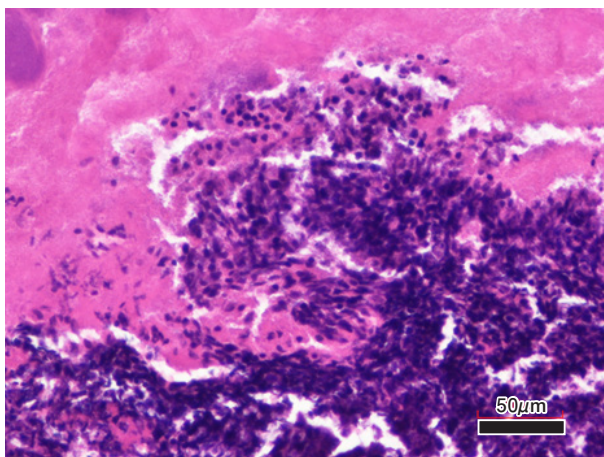


図4 疣状物  
壊死巣の周囲には燕麦様細胞の浸潤が認められた (HE 染色 Bar=50μm).

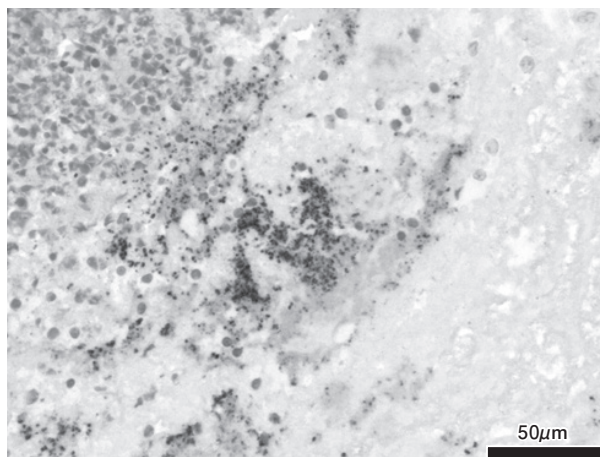


図6 疣状物における抗 App 血清型 8 の IHC  
壊死病変内に抗 App 血清型 8 家兎血清に対する陽性反応が認められた (IHC Bar=50μm).

及び IHC により、本症例は App 血清型 8 による疣贅性心内膜炎及び肺動脈炎と診断された。また、心臓、肝臓、腎臓及び脾臓においても App 血清型 8 の存在が確認され、脾臓では、App に対する反応と考えられるマクロファージによる貪食像も認められたことより、敗血症を起こしていたと考えられた。

豚の心臓の疣状物から分離される原因菌としては、*Streptococcus suis* や豚丹毒菌が多いが、App の分離報告もあり、それらは血清型 2 及び型別未実施 [3, 4] で、血清型 8 による疣贅性心内膜炎の報告はない。血清型 8 は、イギリスでは肺炎の豚から最も多く分離される血清型であるが [10]、他国での分離例は少ない。国内においても、1987 年から 1995 年までの間は肺病変からの App 血清型 8 の分離報告 [11-14] があるが、その後の報告は 1 例のみしかない [15]。本症例及び発生農場と

App 血清型 8 の主要発生国であるイギリスとの疫学的関連性は明らかではなく、さらに App 血清型 8 に効果・効能を示すワクチンは日本では市販されていないため、今後の App 血清型 8 の分離及び被害状況について、注目していく必要があると考える。

既報の App 血清型 2 による疣贅性心内膜炎症例では、胸膜肺炎の併発が認められていた [3]。一方、血清型別は未実施であるが疣贅性心内膜炎からの App 分離報告例では、胸膜肺炎は認められなかったが、肺に点状出血が認められていた [4]。本症例も同様に、肺に点状出血がみられたが、App に特徴的な胸膜肺炎は認められず、疣状物の形成は、肺炎から波及したものではないと考えられた。

今回、App 血清型 8 による疣贅性心内膜炎及び肺動脈炎という珍しい症例が認められたが、どのような機序

で病変が形成されたか特定には至らなかった。これまでに、App 感染では、胸腔内の肺や胸膜等の漿膜面を中心とした病変が形成されるという報告が多数であるが、心内膜、肺動脈内壁や脾臓、腎臓にも病変を形成すること、病変部での App の存在が確認されたことから、全身感染の可能性についても注意深く検査・観察していく必要がある。

稿を終えるにあたり、御指導、御助言をいただいた、(国研)農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門 小林 勝技師、嶋田恵美技師に深謝する。

## 引用文献

- [1] Bossé JT, Li Y, Sárközi R, Fodor L, Lacouture S, Gottschalk M, Amoribietta MC, Angen Ø, Nedbalcova K, Holden MTG, Maskell DJ, Tucker AW, Wren BW, Rycroft AN, Langford PR : Proposal of serovars 17 and 18 of *Actinobacillus pleuropneumoniae* based on serological and genotypic analysis, *Vet Microbiol*, 217, 1-6 (2018)
- [2] 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, *JARQ-Jpn Agr Res Q*, 49, 277-280 (2015)
- [3] 阿部成章, 立花 智, 渡辺卓俊, 溝井 茂 : 豚 *Actinobacillus pleuropneumoniae* 感染症の疫学, *日獣会誌*, 49, 523-527 (1996)
- [4] 下田雅昭, 井上ますお, 小林広文, 後藤重幸, 荻野陽子, 栗原 貯, 中嶋 隆, 斉田 清 : *Haemophilus pleuropneumoniae* に起因する豚の疣状心内膜炎の 1 例, *日獣会誌*, 39, 394-397 (1986)
- [5] 大場剛実, 芝原友幸, 小林秀樹, 高島阿里子, 名越雅高, 長内利佳, 久保正法 : と畜場搬入豚の *Actinobacillus pleuropneumoniae* 2 型による多発性肉芽腫肝炎, *日本豚病研究会報*, 54, 2-7 (2009)
- [6] 村上弘子, 倉重 聖 : 哺乳豚の *Actinobacillus pleuropneumoniae* 血清型 2 による全身性感染症, *日本豚病研究会報*, 61, 22-25 (2013)
- [7] Bossé JT, Li Y, Angen Ø, Weinert LA, Chaudhuri RR, Holden MT, Williamson SM, Maskell DJ, Tucker AW, Wren BW, Rycroft AN, Langford PR : Multiplex PCR assay for unequivocal differentiation of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars 1 to 3, 5 to 8, 10, and 12, *J Clin Microbiol*, 52, 2380-2385 (2014)
- [8] Ito H, Ogawa T, Fukamizu D, Morinaga Y, Kusumoto M : Nucleotide sequence analysis of a DNA region involved in capsular polysaccharide biosynthesis reveals the molecular basis of the nontypeability of two *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates, *J Vet Diagn Invest*, 28, 632-637 (2016)
- [9] Zhou L, Jones SCP, Angen Ø, Bossé JT, Nash JHE, Frey J, Zhou R, Chen HC, Kroll JS, Rycroft AN, Langford PR : Multiplex PCR that can distinguish between immunologically cross-reactive serovar 3, 6, and 8 *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains, *J Clin Microbiol*, 46, 800-803 (2008)
- [10] Li Y, Bossé JT, Williamson SM, Maskell DJ, Tucker AW, Wren BW, Rycroft AN, Langford PR : *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 8 predominates in England and Wales, *Vet Rec*, 179, 276 (2016)
- [11] Sakpuaram T, Fukuyasu T, Ashida K : Isolation of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* from pneumonic lungs of slaughtered pigs, *Jpn J Vet Sci*, 51, 1279-1281 (1989)
- [12] 福安嗣昭, Sakpuaram T, 斎藤慶子, 芦田浄美 : 豚肺炎由来 *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* の血清型と薬剤感受性, *日獣会誌*, 44, 11-16 (1991)
- [13] 福安嗣昭, 斎藤慶子, 芦田浄美 : 豚胸膜肺炎由来 *Actinobacillus pleuropneumoniae* の血清型と薬剤感受性, *日獣会誌*, 49, 528-532 (1996)
- [14] 中里雅臣, 吉田ひろみ, 真山 隆, 附田彰二, 繁在家民次郎, 相馬寛生 : *Actinobacillus pleuropneumoniae* 8 型菌による豚胸膜肺炎, *日獣会誌*, 47, 394-397 (1994)
- [15] To H, Teshima K, Nagai S, Zielinski GC, Koyama T, Lee J, Bessone FA, Nagano T, Oshima A, Tsutsumi N : Characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* field strains antigenically related to the 3-6-8-15 group from diseased pigs in Japan and Argentina, *Rev Argent Microbiol*, 50, 12-22 (2018)

Verrucous Endocarditis and Pulmonary Arteritis Caused by *Actinobacillus pleuropneumoniae* Serovar 8 in a Slaughtered Pig

Atsuko HATA<sup>1)†</sup>, Sachiko HIWATASHI<sup>1)</sup>, Naomi MIURA<sup>1)</sup>, Yasuo MATSUO<sup>1)</sup>,  
Tomoyuki SHIBAHARA<sup>2), 3)</sup> and Hiroya ITO<sup>2)</sup>

- 1) *Nagasaki Prefectural Kawatana Meat Hygiene Inspection Laboratory, 39-64 Momozugo, Kawatana, Higashisonogi, 859-3605, Japan*
- 2) *National Institute of Animal Health, National Agricultural and Food Research Organization, 3-1-5 Kannondai, Tsukuba, 305-0856, Japan*
- 3) *Department of Veterinary Science, Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University, 1-58 Rinkuourai-Kita, Izumisano, 598-8531, Japan*

SUMMARY

Verrucous endocarditis and miliary nodules in and around the inner wall of the pulmonary artery were observed in a slaughtered pig that showed decreased growth, emaciation and cyanosis at an abattoir in Nagasaki prefecture, Japan in December 2017. Petechiae in the lung and kidney, hepatic congestion and splenomegaly were also recognized. Bacteriologically, only *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 8 was isolated from the vegetation, heart, kidney and spleen. Histopathologically, suppurative necrotizing inflammation with oat cells was observed in the vegetation and the nodules of the pulmonary artery, and gram-negative bacteria were observed in necrotic areas. *A. pleuropneumoniae* serovar 8 antigens were detected in the necrotic areas by immunohistochemistry using antiserum raised against *A. pleuropneumoniae* serovar 8. The present case was finally diagnosed as verrucous endocarditis and pulmonary arteritis caused by *A. pleuropneumoniae* serovar 8.

— Key words : *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 8, verrucous endocarditis.

† Correspondence to : Atsuko HATA (Nagasaki Prefectural Kawatana Meat Hygiene Inspection Laboratory)

39-64 Momozugo, Kawatana, Higashisonogi, 859-3605, Japan

TEL 0956-83-3147 FAX 0956-82-5568 E-mail : hata-atsuko@pref.nagasaki.lg.jp

— J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 72, 555 ~ 559 (2019)