

8 埼玉県内で分離された *Streptococcus ruminantium* の性状調査

中央家畜保健衛生所

○石田 扇子・山本 栄子

I はじめに

Streptococcus ruminantium (Sr) は 2017 年に *Streptococcus suis* (Ss) の血清型 33 型から再分類された新菌種である¹⁾。反芻獣の肺炎や心内膜炎、膿瘍等の形成に関与するとされているが、健康牛からの分離事例も報告されている^{2,3)}。

2019 年に開発された菌種特異的 PCR 法³⁾により同定が容易となったが、それ以前に用いられていた Ss 菌種同定用 PCR 法や簡易同定キットを用いた生化学性状検査では Ss と判定され、鑑別が困難であった。そのため、報告症例が少なく実際の分離状況や病原性に関して不明な点が多く、過去に Ss と同定された県内分離株の中にも Sr が紛れている可能性が考えられた。

II 目的

本県における Sr の分離状況と性状を調査するため、以下の検査等を実施した。

- 1: 過去の病性鑑定で生化学的性状検査により Ss と同定された牛由来の菌株の再同定とそのうち Sr と再同定された菌株の分離状況調査
- 2: 健康牛の鼻腔スワブを用いた健康牛における Sr 分離率調査
- 3: 1 及び 2 で分離された Sr の薬剤感受性試験

III 材料および方法

1 過去の牛由来病性鑑定由来株の再同定と Sr 分離状況調査

(1) 材料

2001～2021 年に牛から分離され、過去に Ss と同定された株を抽出したところ、2014～2021 年に分離された 6 症例 8 株が該当したため、この 8 株を材料とした。なお、牛以外の反芻獣から Ss が分離された記録はなかった。

(2) 方法

① PCR

Ss *recN* 遺伝子を標的とした特異的 PCR⁴⁾ 及び Sr 16SrRNA を標的とした特異的 PCR³⁾ を実施し、再同定を行った。

② 分離状況調査

①で Sr と再同定された株の病性鑑定成績を整理し、由来畜種、臓器、主訴、病理

組織学的診断、最終診断、同症例で分離・検出された病原体について調査した。

2 健康牛における Sr 分離率調査

(1) 材料

2021年4月～2022年3月に1農場で採材した1カ月齢の健康な肉用子牛の鼻腔スワブ23検体を材料とした。

(2) 方法

① 細菌分離培養

羊血液寒天培地に鼻腔スワブを塗抹し、5%CO₂下で48時間培養した。α溶血を示しレンサ球菌を疑うコロニーが分離された場合は、簡易同定キットによる菌種同定を行った。

② PCR

①の簡易同定キットによる菌種同定の結果、菌種候補に Ss が記載された株は、1(2)①と同様の方法で PCR による再同定を行った。

3 薬剤感受性試験

(1) 材料

1及び2で分離された Sr と再同定された10株（内訳は後述）を材料とした。

(2) 方法

ペニシリン (PCG)、アンピシリン (ABPC)、アモキシシリン (AMPC)、セファゾリン (CEZ)、カナマイシン (KM)、ストレプトマイシン (SM)、エリスロマイシン (EM)、オキシテトラサイクリン (OTC)、クロラルフェニコール (CP)、エンロフロキサシン (ERFX) の10薬剤に対し、一濃度ディスク拡散法による薬剤感受性試験を行った。

IV 結果

1 過去の牛由来病性鑑定由来株の再同定と Sr 分離状況調査

① PCR

結果は以下の表1のとおり。

Ss 特異的 PCR で陽性となったのが1株、Sr 特異的 PCR で陽性となったのが7株となり、Ss と同定されていた8株中7株が Sr と再同定された。1症例では同症例の肺前葉から Ss、肺後葉から Sr が分離された。

表 1 過去の病性鑑定由来株の PCR による再同定結果

症例No.	菌株No.	Ss特異的PCR	Sr特異的PCR
1	1	—	+
2	2	—	+
3	3	—	+
4	4	—	+
5	5	+	—
	6	—	+
6	7	—	+
	8	—	+

② 分離状況調査

Sr と再同定された 7 株の分離状況調査の結果は以下の表 2 のとおり。

表 2 過去の病性鑑定由来 Sr7 株の分離状況調査結果

症例 No.	菌株 No.	畜種	月齢	由来	主訴	病理組織学的診断	最終診断	同時に分離・検出された病原体
1	1	肉	3	肺	死亡	化膿性気管支肺炎	Sr および <i>M. dispar</i> による膿瘍形成を伴う肺炎	<i>Mycoplasma dispar</i> 特異遺伝子検出
2	2	乳	10	心臓状物拭い	起立不能	化膿性心内膜炎	トウルエベレラ・ピオゲネス感染症	<i>Trueperella pyogenes</i>
3	3	肉	3	肺	死亡	化膿性気管支肺炎	トウルエベレラ・ピオゲネス感染症 牛マイコプラズマ肺炎疑い	<i>Trueperella pyogenes</i> <i>Mycoplasma bovis</i> 特異遺伝子検出
4	4	肉	33	病変部拭い (皮下腫瘍)	左下顎 皮下腫瘍	化膿性肉芽腫	牛アクチノバチルス症	<i>Actinobacillus lignieresii</i> <i>Trueperella pyogenes</i>
5	6	肉	1	肺後葉	死亡	化膿性線維素性 胸膜肺炎 化膿性線維素性 心外膜炎 化膿性腹膜炎	誤嚥性肺炎 牛マンヘミア症	<i>Manheimia haemolytica</i> <i>Trueperella pyogenes</i>
6	7	乳	81	下顎部皮下組織	死亡	下顎部の皮下組織 及び筋肉の 化膿性線維素性炎	下顎部の皮下組織及び筋肉の化 膿性線維素性炎	<i>Pasteurella dagmatis</i> <i>Trueperella pyogenes</i> <i>Neisseria canis</i>
	8			腹腔内膿瘍		第二胃及び 第三胃漿膜面における 膿瘍形成	肝包膜炎 第二胃及び第三胃漿膜面 における膿瘍形成	<i>Bacillus cereus</i> <i>Trueperella pyogenes</i> <i>Streptococcus intermedius</i>

月齢は 1 カ月～81 カ月齢と幅広く、肉用牛は 4 株中 3 株が 3 か月齢までの子牛由来であったが、株数が少ないため今回の調査では Sr の分離と畜種や月齢との関連は不明であった。

由来臓器については、既報³⁾と同様に Sr が肺炎や膿瘍の形成に関与することが示唆された。主訴については、6 症例中 4 症例が死亡であったが、全症例で 1 カ月以上

の慢性経過を辿っており、急性症状による死亡例はみられなかった。

病理組織学的診断については、全症例で Sr が分離された臓器において化膿性の所見が認められた。

最終診断および同時に分離・検出された病原体については、Sr が単独で分離されたのは 6 症例中 1 症例のみであった。この症例は初乳未摂取により易感染性状態の子牛で、同時に肺から *Mycoplasma dispar* の特異遺伝子が検出されており、病変形成には *Mycoplasma dispar* の関与が疑われた。

また他の 5 症例すべてで他の病原体との混合感染がみられ、様々な動物で日和見的に化膿性病変を起こす *Trueperella pyogenes* (以下 Tp) が同時に分離された。

一方で、Sr 単独での病態への関与の程度は不明であった。

2 健康牛における Sr 分離率調査

健康牛由来の鼻腔スワブ 23 検体中 2021 年 4 月採材の 1 検体から 1 株、同年 12 月に採材した 2 検体から 2 株が分離され、分離率は 13.0% となった。

3 薬剤感受性試験

1 で再同定された過去の病性鑑定由来株 7 株と 2 で分離された 3 株の計 10 株について薬剤感受性試験を実施した。結果は以下の表 3 のとおり。

表 3 Sr10 株の薬剤感受性試験結果

症例 No.	菌株 No.	薬剤名									
		PCG	ABPC	AMPC	CEZ	KM	SM	EM	OTC	CP	ERFX
1	1	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S
2	2	S	S	S	S	R	I	S	S	S	I
3	3	S	S	S	S	R	R	R	R	S	I
4	4	S	S	S	S	R	I	S	S	S	S
5	6	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S
6	7	S	S	S	S	R	R	S	S	S	I
	8	S	S	S	S	R	I	S	S	S	I
健康牛1	9	S	S	S	S	R	S	S	R	R	I
健康牛2	10	S	S	S	S	R	I	S	R	R	I
健康牛3	11	S	S	S	S	R	R	R	R	I	I

S : 感性, I : 中間, R : 耐性

全 10 株が PCG、ABPC、AMPC、CEZ に感受性を示し、KM に耐性を示した。また、OTC や ERFX は使用頻度が高い農場で耐性または中間を示す傾向がみられ、農場における抗菌剤使用の影響が考えられた。

最も多くの薬剤に耐性を示したのは菌株 No.3、6、11 の 3 株で、KM、SM、EM、OTC の 4 薬剤に耐性がみられた。

V まとめと考察

過去の病性鑑定由来株のうち牛から分離され Ss と同定されていた菌株の 87.5% が Sr と再同定された。この結果から、簡易同定キットで Ss と判定されたレンサ球菌は Sr である可能性があり、菌種同定には特異的 PCR の実施が重要であると考えられる。

また、分離状況調査では、全症例で Sr の分離臓器において化膿性の所見が認められたが、Sr が単独で分離されたのは初乳未摂取の子牛由来の 1 例のみで、他 5 例はすべて Tp が同時に分離されていた。このことから、Sr は本県の事例においても既報³⁾と同様に牛に日和見的に感染し、化膿性病変の進行や増悪に関与していることが示唆された。また、6 症例中 5 症例で Tp が同時に分離されていることから Sr が Tp と協調的に病変形成に関与している可能性が考えられた。

健康牛からの Sr 分離では、23 頭中 3 頭から Sr が分離され、県内でも健康牛から Sr が一定の割合で分離されることが判明した。Sr は前述のとおり日和見的な感染が示唆されており、飼育環境や季節要因等のストレスにより牛の免疫力が低下すると、単独感染でも病原性を発揮する可能性や、他の病原体との混合感染により症状が重篤化する可能性があるため、日頃の飼養衛生管理の徹底による発生予防対策が重要である。

薬剤感受性試験では、7 株が複数の薬剤に耐性を示し、うち 3 株が 4 薬剤に耐性を示した。現場での使用頻度が高いとされるペニシリン系およびセフェム系の 4 薬剤に対しては全 10 株が感受性を示したが、一部薬剤では農場での抗菌剤使用による耐性傾向がみられた。現状では本菌の薬剤耐性リスクは高くないと考えられるが、今後も薬剤耐性の動向に注視する必要がある。

本県における Sr の症例はまだ数が少なく、より正確な浸潤状況や性状を把握するには菌株収集を含めた更なる調査が必要である。

VI 謝辞

発表に対する御助言を賜りました、動物衛生研究部門動物感染症研究領域 細菌グループ 高松大輔グループ長、越境性家畜感染症研究領域 疫学・昆虫媒介感染症グループ 大倉正稔上級研究員に深謝いたします。

VII 参考文献

- 1) Tohya M. et al. Defining the taxonomic status of *Streptococcus suis* serotype 33:

the proposal for *Streptococcus ruminantium* sp. Nov., *J Syst Evol Microbiol*, 67, 3660-3665 (2017)

- 2) Sato T. et al. *Streptococcus suis* serotype 33 isolates from a case of bovine endocarditis, *J Vet Med*, 66, 195-199 (2013)
- 3) Okura M. et al. Genotypic diversity of *Streptococcus suis* and the *S. suis*-like bacterium *Streptococcus ruminantium* in ruminants, *Vet Res*,50:94 (2019)
- 4) Ishida S. et al. Development of an appropriate PCR system for the reclassification of *Streptococcus suis*, *J Microbiol Methods*, 107, 66-70 (2014)