

牛及び豚の疣贅性心内膜炎から分離された菌株における

Streptococcus ruminantium の調査

神奈川県食肉衛生検査所 ○篠原 良輔、田中 勲、白井 恵子*
和泉 晶子 *現小田原保健福祉事務所

はじめに

Streptococcus ruminantium (*S. ruminantium*) は、*Streptococcus suis* (*S. suis*) の血清型 33 型から再分類された新菌種であり [1]、と畜場において *S. ruminantium* が原因とみられる疣贅性心内膜炎による敗血症として食肉が全部廃棄処分となった事例 [2] もあることから、注意すべき病原体の 1 つであると考えられる。一方、*S. suis* は莢膜多糖体抗原の違いにより 30 種類以上の血清型が報告されており、豚やヒトの主要な病原細菌として知られる他、反芻獣からの分離も国内外で報告されている [3]。当所においても、牛及び豚の疣贅性心内膜炎から *S. suis* は多数分離されているが、一部が *S. ruminantium* である可能性が考えられた。そこで、*S. ruminantium* に特異的な PCR [3] 及び遺伝子解析により、過去当所において *S. suis* と同定された分離菌株の一部について再検査を行うとともに、*S. ruminantium* と同定された菌株に関する調査を実施したので、その概要を報告する。

材料及び方法

1 分離菌株の再検査

材料：平成 17 年度～令和 3 年度にかけて疣贅性心内膜炎から分離され、Okwumabua ら [4] に準拠したリアルタイム PCR により *S. suis* と同定した 46 株 (牛由来 7 株、豚由来 39 株)。

方法：大倉ら [3] に準拠したリアルタイム PCR により、*S. ruminantium* 遺伝子の検出を行った。なお、PCR で *S. ruminantium* 遺伝子陽性となった菌株について、16SrDNA 遺伝子の塩基配列 (約 700bp) を解析した後、BLAST 検索により菌種同定を行った。

2 *S. ruminantium* の調査

1 により、*S. ruminantium* と同定された菌株に対して、以下の調査を行った。

(1) 生化学的性状試験

連鎖球菌同定用キット (API20 STREP、バイオメリュー・ジャパン(株)、東京) を用いて生化学性状試験を行い、得られた成績を山形県及び埼玉県との報告 [3, 5] と比較した。また、各性状項目に対する分離菌株の陽性率を算出し、メーカーが示す *S. suis* の陽性率と比較した。

(2) 薬剤感受性試験

ストレプトマイシン (SM)、アンピシリン (ABPC)、テトラサイクリン (TC)、セフトキシム (CTX)、ホスホマイシン (FOM)、ノルフロキサシン (NFLX)、スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤 (SXT)、クロラムフェニコール (CP)、カナマイシン (KM)、エリスロ

マイシン（EM）及びシプロフロキサシン（CIP）の11種類について、薬剤感受性ディスク（BD センシディスク、日本 BD(株)、東京）を用いたディスク拡散法により実施した。

成績

1 分離菌株の再検査

再検査の結果、供試菌株 46 株のうち牛由来 7 株は全て *S. ruminantium* 遺伝子陽性、豚由来 39 株は全て *S. ruminantium* 遺伝子陰性を示した。また、PCR で陽性を示した菌株については、遺伝子解析の結果、全て *S. ruminantium* と 99.9% 以上の相同性を示した。

2 *S. ruminantium* の調査

当所で同定された *S. ruminantium* 7 株の生化学的性状を前述した 2 県の報告と比較した結果を表 1 に示した。なお、キットにおいて、菌株は全て *S. suis* と判定された。また、各性状に対する *S. suis* の陽性率と比較した結果を表 2 に示した。薬剤感受性試験については、分離した 7 株のうち 2 株が TC に耐性を示し、残りの 5 株は耐性を示さなかった。

表 1 当所の分離菌株と既報との生化学性状の比較

分離 菌株	生化学性状項目																			<i>S. suis</i> ID値(%)		
	VP	HIP	ESC	PYRA	α GAL	β GUR	β GAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD		GLYG	β HEM
①	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	97.3
②	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	99.2
③	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	95.2
④	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	90.2
⑤	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	87.7
⑥	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	93.1
⑦	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	99.9
山形県	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	99.2
埼玉県	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	99.2

表 2 当所の分離菌株と *S. suis* との生化学性状の比較

陽性率 (%)	生化学性状項目																				
	VP	HIP	ESC	PYRA	α GAL	β GUR	β GAL	PAL	LAP	ADH	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG	β HEM
分離菌 7 株	0	0	100	57.1	71.4	100	0	0	100	43	0	0	0	0	100	100	86	43	86	100	0
<i>S. suis</i> I	0	1	82	53	80	94	76	1	100	91	0	0	7	0	94	100	75	0	100	89	0
<i>S. suis</i> II	0	1	70	41	91	91	52	3	100	95	0	0	3	1	99	98	63	93	99	96	2

考察

当所で分離され、*S. suis* と考えられていた牛由来 7 株は、全て *S. ruminantium* と同定されたが、豚由来の 39 株は、*S. ruminantium* に特異的な PCR では全て陰性を示したことから *S. suis* と考えられ、実際の分離状況を明らかにすることができた。*S. ruminantium* は反芻動物の口腔、肺等から分離されることが報告されており [1]、反芻動物から分離されている点については今回の調査と一致していた。また、薬剤感受性試験では、TC への耐性を示した株が複数見られた。一方、畜産分野で発生が多い牛呼吸器病に対する第一選択薬とされているペニシリン系等の β ラクタム系 [6] を含む 10 種類の薬剤には全株とも耐性を示さなかったことから、今回分離された *S. ruminantium* における薬剤耐性リスクは低い

と考えられるが、供試菌株数が少ない為、今後も継続して確認することが重要と考える。

今回、*S. suis* 及び *S. ruminantium* における各生化学性状の陽性率を比較したところ、 β GAL では、*S. suis* が陽性、*S. ruminantium* では陰性となる傾向が見られ、ADH では、*S. suis* は高率で陽性、*S. ruminantium* では *S. suis* と比べて陰性を示す割合が高いことが確認された。同様の結果を示す報告[7]もあることから、これらの性状が鑑別の指標となる可能性が示唆された。一方、前述の項目を除くと両者の生化学性状は極めて類似しており、同定用キットを用いた試験ではいずれも *S. suis* と判定される。同様に、Okumabua らによる *S. suis* の PCR でも陽性を示すため、鑑別には注意が必要であると考えられた。

今後、当所の菌検索において牛検体由来分離株が *S. suis* と同定された場合や、前述した生化学性状の2項目が陰性だった場合は、大倉らによる PCR の活用を検討し、正確な鑑別に努めていきたい。また、今回の調査では、分離された *S. ruminantium* が7株と少数であるため、今後も当該菌における知見を引き続き蓄積していきたい、と考える。

まとめ

当所で平成17年度～令和3年度にかけて牛及び豚の疣贅性心内膜炎から分離し、*S. suis* と同定された菌株について再検査を実施したところ、牛由来株は全て *S. ruminantium* 遺伝子陽性、豚由来株は全て *S. ruminantium* 遺伝子陰性を示した。*S. ruminantium* 及び *S. suis* との鑑別には β GAL 及び ADH が指標となる可能性が示唆されたが、両者の生化学的性状は極めて類似していることから、引き続き当該菌に関する知見を蓄積していきたい。

引用文献

- [1] Tohya M, Arai S, Tomida J, Watanabe T, Kawamura Y, Katsumi M, Ushimizu M, Ishida-Kuroki K, Yoshizumi M, Uzawa Y, Iguchi S, Yoshida A, Kikuchi K, Sekizaki T : Defining the taxonomic status of *Streptococcus suis* serotype 33: the proposal for *Streptococcus ruminantium* sp. nov, *Int J Syst Evol Microbiol*, 67, 3660-3665(2017)
- [2] 佐藤友美、須藤亜寿佳、大貫典子、大倉正稔、高松大輔：牛の心内膜炎から分離された *Streptococcus suis* type 33 , *日獣会誌*, 66, 195-199(2013)
- [3] Okura M, Maruyama F, Ota A, Tanaka T, Matoba Y, Osawa A, Sadaat MS, Osaki M, Toyoda A, Ogura Y, Hayashi T, Takamatsu D : Genotypic diversity of *Streptococcus suis* and the *S. suis*-like bacterium *Streptococcus ruminantium* in ruminants, *Veterinary research*, 50:94(2019)
- [4] Okumabua O, O'Connor M, Shull E : A polymerase chain reaction (PCR) assay specific for *Streptococcus suis* based on the gene encoding the glutamate dehydrogenase, *FEMS Microbiol Lett*, 218, 79-84(2003)
- [5] 荒井理恵、中井悠華、平野晃司：既知の種に属さないレンサ球菌属菌が分離された牛肺炎の一症例と分離株の性状、*埼玉県調査研究成績報告書*, 第56報, 57-64(2014)
- [6] 農林水産省：牛呼吸病 (BRDC) における抗菌剤治療ガイドブック改訂第2版(2017)
- [7] 船守足穂、細川久美子、兼廣愛美、石浦英文：広島県における *Streptococcus ruminantium* の分離状況、*広島県獣医学会雑誌*, 第36号, 12-15(2022)