

【短 報】 産業動物

Helcococcus ovis が分離された ホルスタイン種乳牛の疣贅性心内膜炎の 2 症例

村田 芙花¹⁾ 森山 咲¹⁾ 吉本 薫²⁾ 宮腰 誠²⁾
千葉 汐莉¹⁾ 木内 建¹⁾ 渡邊 謙一¹⁾ 古林与志安¹⁾ 猪熊 壽³⁾

- 1) 帯広畜産大学獣医学研究部門 (〒080-8555 帯広市稲田町西 2 線11)
2) 十勝農業共済組合 (〒089-1182 帯広市川西町基線59番地28)
3) 東京大学大学院農学生命科学研究科 動物医療センター (〒113-8658 東京都文京区弥生 1-1-1)

要 約

臨床症状および臨床検査所見から疣贅性心内膜炎が強く疑われたホルスタイン種成乳牛 2 症例の血液から *Helcococcus ovis* が分離された。病理解剖の結果、症例 1 では三尖弁、僧帽弁および肺動脈弁に、症例 2 では大動脈弁と三尖弁に疣贅物が認められ、疣贅性心内膜炎と確定診断された。また、2 症例の疣贅物からは *H. ovis* の遺伝子断片が検出された。本論文は *H. ovis* を原因菌とする疣贅性心内膜炎の臨床例の初報告である。

キーワード: *Helcococcus ovis*、疣贅性心内膜炎、ホルスタイン種

-----北獣会誌 64, 38~42 (2020)

疣贅性心内膜炎は、全身性細菌感染の結果、弁膜に生じた疣贅病変により、循環障害を呈する疾患である^[1-3]。牛の疣贅性心内膜炎の主な原因菌としては、*Truherella pyogenes*、*Streptococcus* sp.、*Staphylococcus* sp. が知られている^[1,2]。しかし、近年、食肉衛生検査所における疣贅性心内膜炎症例の病原解析により、*Helcococcus ovis* の関与が示唆されている^[4-6]。しかし、*H. ovis* による疣贅性心内膜炎の臨床例についての報告はない。今回、血液培養により生前に *H. ovis* が分離されたホルスタイン種乳牛の疣贅性心内膜炎を 2 症例経験したため、その概要を報告する。

症 例

症例 1 : ホルスタイン種、雌、6 歳 7 カ月齢で、食欲不振を主訴に十勝 NOSAI の家畜診療所を受診した。第 1 病日、第四胃変位整復術を実施したが、食欲は改善せず、第 16 病日以降、頸静脈怒張と不整脈が認められた。さらに、血液検査にて血清蛋白分画が重度慢性炎症像を呈したことから、疣贅性心内膜炎が疑われ、第 21 病日に帯広

畜産大学に搬入された。搬入時、体温 39.9℃、心拍数 150 回/分、呼吸数 36 回/分であり、削瘦が著明で、可視粘膜蒼白および頸静脈怒張拍動を呈した (図 1)。また、PL テスターにて全分房に乳房炎が確認された。聴診により



図 1. 第 21 病日の症例 1 外貌
削瘦が著明で、可視粘膜蒼白および頸静脈怒張拍動がみられた

連絡責任者: 猪熊 壽 東京大学大学院農学生命科学研究科 動物医療センター
〒113-8658 東京都文京区弥生 1-1-1
TEL 03-5841-5421 FAX 03-5841-8012 E-mail: ainokuma@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

表 1. 血液および血液生化学検査所見 (大学搬入時)

	症例 1	症例 2		症例 1	症例 2
RBC	529 × 10 ⁴ /μl	532 × 10 ⁴ /μl	AST	55 U/l	119 U/l
Hb	7.4 g/dl	8.6 g/dl	TP	6.8 g/dl	9.0 g/dl
PCV	21%	28%	Albumin	1.1 g/dl	1.5 g/dl
MCV	39.1 fl	43.4 fl	α-globulin	19.4%	15.9%
MCHC	35.7 g/dl	37.2 g/dl	β-globulin	9.3%	7.8%
Platelet	50.1 × 10 ⁴ /μl	49.7 × 10 ⁴ /μl	γ-globulin	55.6%	59.5%
WBC	14,800/μl	11,000/μl	A/G	0.19	0.20
Sta	0%	0%			
Seg	56%	78%			
Lym	40%	19%			
Mon	4%	3%			

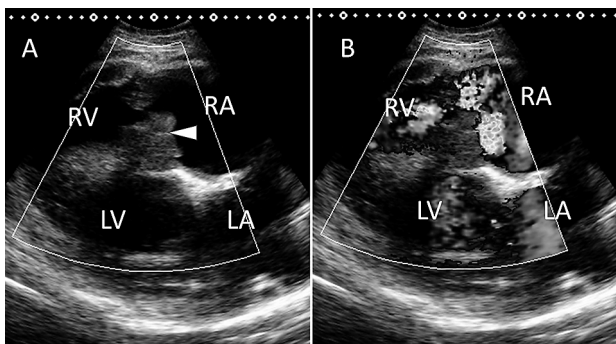


図 2. 症例 1 の心臓超音波検査、右側長軸四腔断面像
三尖弁疣贅物 (A: 矢頭) と三尖弁逆流 (B) が
確認された
RA: 右心房、RV: 右心室、LA: 左心房、LV:
左心室



図 4. 第43病日の症例 2 外貌
著しい削瘦を認め、両後肢飛節関節周囲の腫脹が
認められた

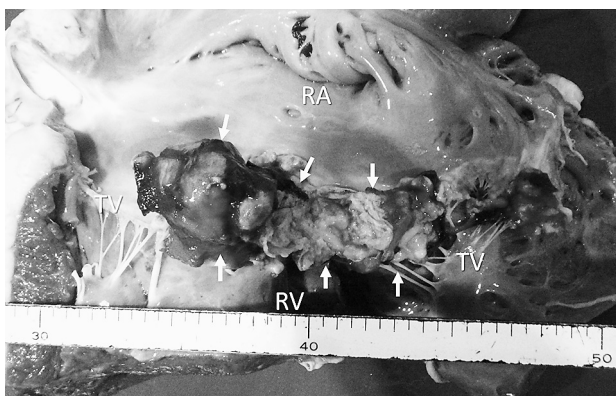


図 3. 症例 1 の心臓内景
右心室 (RV) および右心房 (RA) を切開したと
ころ、三尖弁 (TV) に直径 7 cm 大の疣贅物 (矢
印) がみられた
写真では疣贅物も切開して展開している

収縮期雑音が聴取されたため、心臓超音波検査を行ったところ、三尖弁における疣贅物および逆流が確認された (図 2)。血液および血液生化学検査では、貧血、γ-グロブリンの著増、A/G 比の低下が確認された (表 1)。病理解剖を実施したところ、三尖弁、僧帽弁および肺動脈弁に、それぞれ直径 7 cm、6 mm および 5 mm 大の

疣贅物が認められた (図 3)。腎臓、肝臓および脾臓にはアミロイド沈着が確認された。乳房は硬結感を呈していた。

症例 2: ホルスタイン種、雌、10歳10カ月齢で、削瘦と起立難渉を主訴に十勝NOSAIの家畜診療所を受診した。第1病日、左後肢跛行、頸静脈怒張、心雑音が確認され、さらに血清蛋白分画が慢性炎症像を呈したため、疣贅性心内膜炎を疑い経過観察したが、改善の見込みがないため第43病日帯広畜産大学に搬入された。搬入時、体温 39.4℃、心拍数102回/分、呼吸数24回/分、著しい削瘦を認め、両後肢飛節関節および趾間が腫脹していた (図 4)。さらに PL テスターを用いて左前および右前分房に乳房炎が確認された。また聴診にて、収縮期雑音および拡張期雑音が聴取されたため、心臓超音波検査を実施したところ、大動脈弁の疣贅物と逆流、および三尖弁逆流がみられた (図 5)。血液および血液生化学検査では血清総蛋白とγ-グロブリンの著増、A/G 比の低下が確認された (表 1)。病理解剖では大動脈弁に 5 × 5 × 4 cm

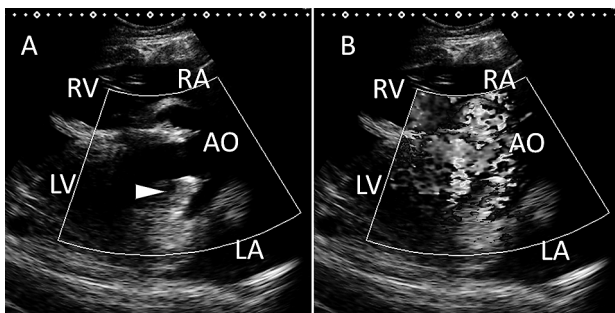


図5. 症例2の心臓超音波検査、左室流出路長軸像
大動脈弁の疣贅物 (A: 矢頭) と大動脈弁周辺の
乱流 (B) が確認された
RA: 右心房、RV: 右心室、LA: 左心房、LV:
左心室、AO: 大動脈

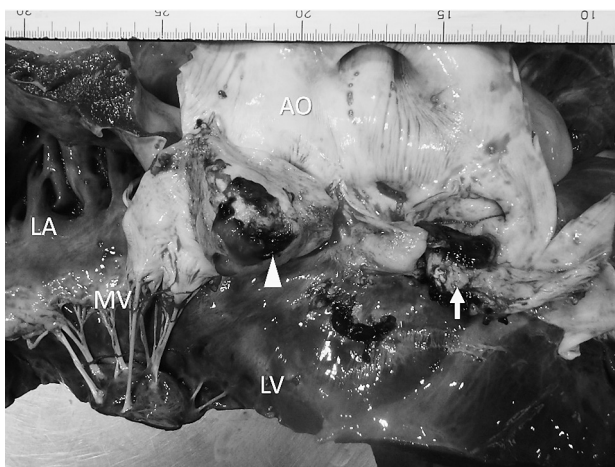


図6. 症例2の心臓内景
左心室 (LV)、左心房 (LA) および大動脈 (AO)
を切開したところ、大動脈弁に直径5 cm大 (矢
頭) および3 cm大 (矢印) の疣贅物がみられた

および3×2×1 cm、三尖弁に直径0.5 cm大の疣贅物
が確認された (図6)。

病原学的検査所見

細菌培養検査は外部の検査センターに委託した。生前
に行った血液培養検査は、頸静脈から採取した血液を、
血液培養用ボトル (日本ベクトン・ディッキンソン、東
京) を用いて増菌培養した後、チョコレート寒天培地も
しくは5%羊血液寒天培地/BTB培地にて好气的条件
下で分離培養を行った。症例1および2ともに *H. ov*
is が分離された (表2)。一方、剖検時に採取した疣贅物
を35~37°Cで17~20時間かけて好気性細菌培養検査を
実施したところ、症例1の三尖弁と僧帽弁の疣贅物から
Pseudomonas sp. と *Acinetobacter* sp. が分離されたが、
症例2から細菌は分離されなかった。さらに、剖検時に
得られた疣贅物からDNAを抽出し、16S rRNA 遺伝子
を標的としたPCR法により、細菌遺伝子の検出を行っ

表2. 病原学的検査所見

材料および方法	症例1	症例2
血液		
・血液培養		
好気	<i>Helcococcus ov</i> <i>is</i>	<i>Helcococcus ov</i> <i>is</i>
嫌気	-	-
・16S rRNA 遺伝子解析	-	-
疣贅物		
・一般好気性細菌培養	<i>Pseudomonas</i> sp. <i>Acinetobacter</i> sp.	-
・16S rRNA 遺伝子解析	<i>Helcococcus ov</i> <i>is</i>	<i>Helcococcus ov</i> <i>is</i>
乳汁		
・一般好気性細菌培養	NT	MSSA
・16S rRNA 遺伝子解析	-	-

NT: 検査せず、MSSA: メチシリン感受性黄色ブドウ球菌

た[7]。その後、PCR産物の塩基配列を決定し、GenBank
に登録されている既知の細菌遺伝子との相同性を調べた。
その結果、症例1の三尖弁疣贅物および症例2の大動脈
弁と三尖弁疣贅物からは *H. ov*
is と一致した塩基配列が
得られた。同様の方法で、末梢血中の細菌遺伝子の検出
を試みたが、症例1、2ともに細菌遺伝子は検出されな
かった。また、両症例で剖検時に得られた乳汁の病原学
的検査を行ったところ、症例2の乳汁の好気性細菌培養
でメチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MSSA) が分離さ
れた以外は、遺伝子検査でも細菌は検出されなかった。

考 察

今回、疣贅性心内膜炎2症例の生前の血液から *H. ov*
is が分離され、また疣贅物から *H. ov*
is の遺伝子断片が検
出されたことから、これら2症例の心内膜疣贅物形成に
は *H. ov*
is 感染が関与していることが強く示唆された。

疣贅性心内膜炎の原因菌としては *Truperella pyo*
genes、*Streptococcus* sp.、*Staphylococcus* sp. に加え
て[1,2]、*Enterococcus faecalis*[8]や *Escherichia coli*[8,9]、
Pasteurella multocida[10,11]など、様々な菌種が報告さ
れている。これらの細菌は疣贅物を用いた好気性細菌培
養により分離されている[8-11]。一方、今回検出された
H. ov
is はグラム陽性通性嫌気性球菌であり、発育が遅
く、栄養要求性が高いため、35~37°Cにおける血液寒天
培地上を用いた通常の好気性細菌培養では分離されな
い[12,13]。しかし、血液培養ボトル内において5~7日
間の増菌処理後に分離培養を行うと、*H. ov*
is も分離可
能である[14]。

血液培養には無菌的採血が必要で手技も煩雑であ
り[2,14]、また、牛の血液培養では偽陰性が多いとされ

ているため^[1-3]、一般的に実施されることが少ない。しかし、血液培養は牛の疣贅性心内膜炎を診断する最も適切な検査とされている^[15]。ただし、血液培養検査は時間を要するため、血液からの細菌遺伝子の検出を試みたが、両症例ともPCR陰性であった。これは血液中の細菌数が少なかったため、今回用いた検出法の検出限界を下回っていた可能性が考えられ、血液中の細菌遺伝子の検出にも前処理として増菌操作が必要であると思われた。増菌操作とPCRの組み合わせにより、迅速に、かつコンタミネーションのリスクを低減した原因菌検出ができる可能性もあるため、今後組合せ法の有用性について検討する必要がある。心内膜炎を含めた敗血症における血液中の細菌量は少ないため、医療分野では感度を上昇させるために2セットの血液培養を実施するのがゴールドスタンダードとされている^[14,16]。また、皮膚常在菌や環境常在菌がコンタミネーションした場合に、真の起因菌かどうかの判断においても、複数の血液培養が必要とされる^[14,16]。今回の疣贅性心内膜炎2症例は、どちらも1セットのみの血液培養で分離された*H. ovis*を起因菌としているが、疣贅物からも病原体遺伝子が検出されているため、コンタミネーションの可能性は低いと考えられた。

グラム陽性球菌である*H. ovis*には一般に β -ラクタム系とニューキノロン系抗生物質およびバンコマイシンが有効であるが^[17]、今回の2症例はいずれも心内膜に明瞭な疣贅物を形成しており、心不全症状も呈していたため予後は不良であったと考えられる。また、食の安全の観点からも、血液培養または分子生物学的な方法で細菌が検出された敗血症症例については淘汰を図るべきと考えられた。

これまで、牛の疣贅性心内膜炎に関与する*H. ovis*は、剖検後の疣贅物を用いた細菌培養および分子生物学的解析により分離・検出されてきたが^[4-6]、今回、生前の血液から初めて*H. ovis*を分離することができた。しかし、*H. ovis*による疣贅性心内膜炎と他の細菌による疣贅性心内膜炎の臨床所見や検査所見の相違点は明らかにされておらず、今後調査が必要と思われた。なお、今回の2症例はいずれも乳房炎を併発していたが、心内膜炎との関連は不明であった。今後、牛体における*H. ovis*の常在箇所を調査し、より詳細な感染経路を明らかにすることが、*H. ovis*による疣贅性心内膜炎の予防の一助となると思われた。

引用文献

- [1] Reef VB, McGuirk SM: Valvular Heart Disease, Large Animal Internal Medicine, Smith BP, 5th ed, 436-441, Mosby Elsevier, St. Louis (2015)
- [2] Peek SF, McGuirk, SM: Endocarditis, Diseases of Dairy Cattle, Divers TJ, Peek SF, 2nd ed, 53-56, Saunders Elsevier, St. Louis (2008)
- [3] 北川 均: 細菌性心内膜炎、獣医内科学 第2版 大動物編、日本獣医内科学アカデミー編、52-53、文永堂出版、東京 (2014)
- [4] 森本和秀、久保田泰徳、藤田敦子、川本千代実、茨木義弘: *Helcococcus ovis*が分離された牛の疣贅性心内膜炎の1症例、日獣会誌、59、325-328 (2006)
- [5] Kutzer P, Schulze C, Engelhardt A, Wieler LH, Nordhoff M: *Helcococcus ovis*, an emerging pathogen in bovine valvular endocarditis, J Clin Microbiol, 46, 3291-3295 (2008)
- [6] Post K, Rushton S, Billington S: Valvular endocarditis associated with *Helcococcus ovis* infection in a bovine, J Vet Diag Invest, 15, 473-475 (2003)
- [7] 大楠清文、江崎孝行: 感染症診断における遺伝子解析技術の適応、日臨微生物誌、18、163-175 (2008)
- [8] 猪熊 壽、松田浩典、千葉史織、古林与志安、藏本忠: 肺動脈弁の疣贅性心内膜炎を併発した心室中隔欠損のホルスタイン種育成牛の1症例、北獣会誌、57、552-554 (2013)
- [9] 岩上慎哉、新谷紗代、高橋英二、松本高太郎、古岡秀文、猪熊 壽: 心内膜炎の併発がみられた心室中隔欠損のホルスタイン種成乳牛の1症例、北獣会誌、58、119-122 (2014)
- [10] 河村美登里、星野尾歌織、小川寛大、本多俊次、恵谷美江、兼廣愛美、菊池浩久、阿川啓雄: *Pasteurella multocida* A: 1による疣贅性心内膜炎を伴う子牛の敗血症、日獣会誌、63、866-869 (2010)
- [11] 猪熊 壽、秋月久美子、古林与志安、古岡秀文: 多発性乳房膿瘍に罹患したホルスタイン種乳牛にみられた左心系心内膜炎の1症例、北獣会誌、58、600-604 (2014)
- [12] Ruoff K: *Helcococcus*, Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, Whitman W, Digital Ed., Wiley, Hoboken (2015)
- [13] 吉田桂子、古川一郎、相川勝弘、荒木美緒、横田宏一郎、廣井恵津子、佐多 辰、松阪龍雄: 牛及び豚

- の疣贅性心内膜炎から分離された *Helcococcus ovis* の性状及び迅速・特異的同定法としてのPCR法の開発、日獣会誌、68、523-529 (2015)
- [14] Lamy B, Dargere S, Arendrup MC, Parienti JJ, Tattevin P: How to optimize the use of blood cultures for the diagnosis of bloodstream infections? A state-of-the art, *Front Microbiol*, 7, 697 (2016)
- [15] Houe H, Eriksen L, Jungersen G, Pedersen D, Krogh HV: Sensitivity, specificity and predictive value of blood cultures from cattle clinically suspected of bacterial endocarditis, *Vet Rec*, 133, 263-266 (1993)
- [16] Lee A, Mirret S, Reller L, Weinstein M: Detection of bloodstream infections in adult: How many blood cultures are needed? *J Clin Microbiol*, 45, 3546-3548 (2007)
- [17] Bilk S, Nordhoff M, Schulze C, Wieler LH, Kutzer P: Antimicrobial susceptibilities and occurrence of resistance genes in bovine *Helcococcus ovis* isolates, *Vet Microbiol*, 149, 488-491 (2011)