

【原 著】 産業動物

***Streptococcus suis*による豚の疣贅性心内膜炎多発例と心内膜炎由来株の解析**

小林亜由美 和田 好洋

北海道石狩家畜保健衛生所（〒062-0045 札幌市豊平区羊ヶ丘3番地）

要 約

平成25年、母豚35頭を飼養する石狩管内の一貫経営養豚場(A農場)で、肥育豚に*Streptococcus suis* (*S. suis*)による疣贅性心内膜炎が多発した。疣贅性心内膜炎の多発要因検討のため、A農場の豚より分離された心内膜炎由来*S. suis* 4株と、と畜場へ搬入したB~E農場の豚から分離された心内膜炎由来*S. suis* 9株の計13株を用い、マルチプレックスPCR法による莢膜形成遺伝子 (*capsular polysaccharide synthesis gene: cps*) 型別および共凝集反応による血清型別を実施した。その結果、A農場およびと畜場で疣贅性心内膜炎から*S. suis*が多く検出されていたB農場では、*cps* 2型株のうち血清型別不能だった株がそれぞれ4株中2株(50%)と5株中1株(20%)あり、これらの株は莢膜を欠損している可能性があった。*S. suis*による疣贅性心内膜炎の多発要因として、*S. suis*の莢膜欠損株の農場内での浸潤が示唆された。

キーワード：*Streptococcus suis*、疣贅性心内膜炎、莢膜欠損株

-----北獣会誌 60, 229~233 (2016)

Streptococcus suis (*S. suis*)は豚レンサ球菌症の原因菌で、豚に髄膜炎や心内膜炎などを起こす。また、ヒトにも感染するため人獣共通感染症としても重要な疾病である。*S. suis*は、莢膜多糖体の抗原性の違いにより35種類の血清型に型別されるが、日本では病豚およびヒト患者由来株の多くは血清型2型である^[1]。近年、と畜場では豚の疣贅性心内膜炎から血清型2型の*S. suis*が高率に分離されているが、その農場には偏りがあるとの報告がある(東京都芝浦食肉検査所HP、調査研究内容20-2)。今回、石狩管内の一貫経営養豚場(A農場)で、疣贅性心内膜炎による死産事故が多発したので、その概要ならびに*S. suis*による疣贅性心内膜炎の多発要因検討のため、A農場およびと畜場で豚の疣贅性心内膜炎から分離された*S. suis*の解析を実施したので報告する。

I. A農場の*S. suis*による疣贅性心内膜炎発生概要

1. 肥育豚における心内膜炎の発生状況

A農場は、母豚35頭を飼養する一貫経営養豚場で、平成25年1月から4~7カ月齢の肥育豚で発育不良・チアノーゼを呈し、心内膜炎と推察される死産事故が多発した。事故率は、平成24年次は2.0%だったが、平成25年次は6.8%に上昇し、うち心内膜炎と思われるものは3.9%だった(図1)。平成25年次の心内膜炎と思われる

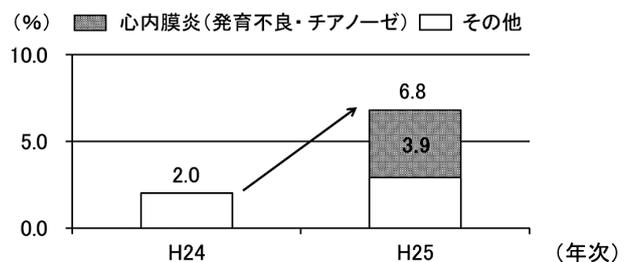


図1 A農場における肥育豚の事故率

連絡責任者：和田 好洋 北海道石狩家畜保健衛生所

〒062-0045 札幌市豊平区羊ヶ丘3番地

TEL 011-851-4779 FAX 011-851-4780 E-mail: wada.yoshihiro@pref.hokkaido.lg.jp

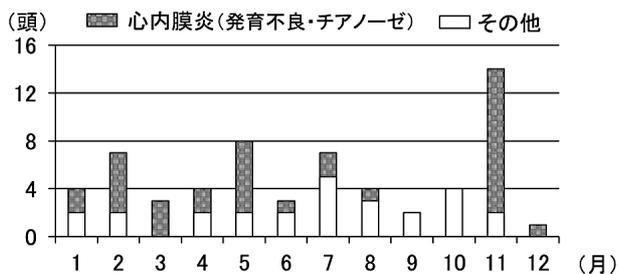


図2 A農場における月別死産頭数 (平成25年次)

豚の死産頭数は、61頭中35頭 (57.4%) で、発生は年間を通じて認められた (図2)。

2. 病性鑑定

平成25年4～12月の間、発育不良・チアノーゼを呈した肥育豚6頭 (生体2頭、死体4頭) の病性鑑定を実施した。

(1) 剖検所見

外景は、全頭で発育不良および耳介にチアノーゼがみられた。内景は全頭の心臓に疣贅性心内膜炎がみられ、主に左房室弁 (最大で4×3×2.5 cm) にみられたが、一部右房室弁にもみられた (表1、図3)。2頭 (No. 2、3) は心外膜炎もみられた。また、5頭 (No. 2～6) の肺に充血・水腫がみられ、肺門リンパ節は腫大してい



図3 症例No. 4の心臓の剖面 (ホルマリン固定) 左右房室弁の疣贅性心内膜炎 (矢印)

た。腸間膜リンパ節は充血・腫大していた。その他臓器に著変はみられなかった。

(2) 細菌学的検査

6頭中4頭 (No. 1、4～6) の心臓および血液から *S. suis* を分離した。なお、2頭 (No. 2、3) は遊走菌の影響により分離できなかったが、心臓の乳剤を用いたPCRにより *S. suis* の *gdh* 遺伝子^[2] を検出した。その他の臓器から菌は分離されなかった。分離株4株を用いた薬剤感受性試験では、豚レンサ球菌症の第一次選択薬であるペニシリン系のアンピシリンおよびアモキシシリンは4株すべて感受性だった。

(3) ウイルス学的検査

豚コレラウイルス、豚繁殖・呼吸器症候群ウイルス (PRRSV) および豚サーコウイルス2型 (PCV2) について遺伝子検出を実施した^[3-5]。PCV2は全頭陽性、豚コレラウイルスおよびPRRSVは全頭陰性だった。

(4) 病理組織学的検査

心臓の心内膜にはグラム陽性球菌の増殖 (図4) と好中球の浸潤、心外膜には線維素が析出していた。肺は、間質および肺胞の水腫と肺胞内にマクロファージの浸潤

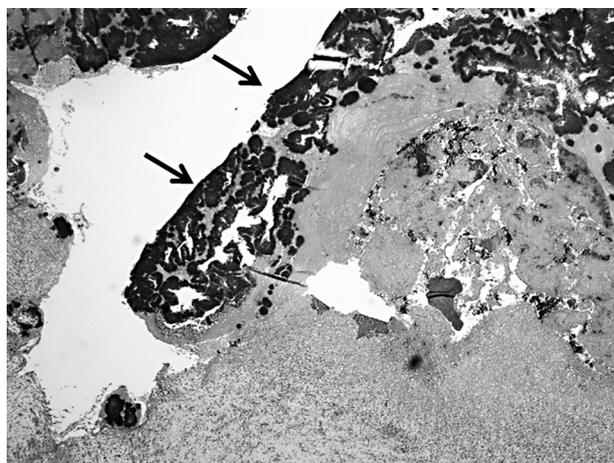


図4 症例4の心臓 (グラム染色) 心内膜にグラム陽性球菌 (矢印) の増殖

表1 発育不良およびチアノーゼを呈した肥育豚の剖検所見

No.	検査年月	区分	月齢	性別	心臓			肺	リンパ節腫大	
					心内膜炎 (左房室弁)	心内膜炎 (右房室弁)	心外膜炎	水腫	肺門	腸間膜
1	H25. 4	生体	7	雄	-	+	-	-	-	+
2	H25. 11	死体	4	雌	+	-	+	+	+	+
3	H25. 11	死体	5	雌	+	-	+	+	+	+
4	H25. 11	死体	5	雄	+	+	-	+	+	+
5	H25. 12	生体	5	雌	+	+	-	+	+	+
6	H25. 12	死体	5	雌	+	-	-	+	+	+

+ : 病変あり - : 病変なし

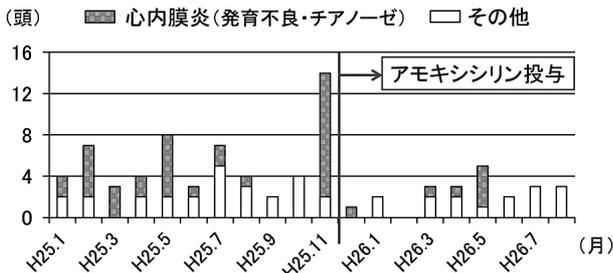


図5 A農場における対策後の月別死廃頭数

がみられた。なお、ウイルス検査で全頭からPCV2遺伝子が検出されたが、PCV2の所見はみられなかった。

3. 対策

薬剤感受性試験によりペニシリン系の抗生剤が感受性だったことから、平成25年12月から離乳後3日間、アモキシシリンの投与(3mg/kg/日、飼料添加)を開始した。その結果、心内膜炎と思われる発育不良・チアノーゼによる死廃数は減少し、平成26年6月以降は認められていない(図5)。

II. 疣贅性心内膜炎から分離されたS. suisの解析

S. suisによる疣贅性心内膜炎の多発要因を検討するため、A農場の豚の疣贅性心内膜炎から分離された心内膜炎株と平成22~24年にと畜場で豚の疣贅性心内膜炎から分離されたS. suis(と畜場心内膜炎株)の解析を実施した。

材料と方法

1. 供試株

生体2頭および死体4頭の病性鑑定で分離されたA農場心内膜炎株4株およびと畜場心内膜炎株4戸9株(B農場6株、C~E農場各1株)を用いた。なお、B農場では、と畜場に搬入した豚の疣贅性心内膜炎からS. suisが多く検出されていた。

2. 莢膜形成遺伝子(cps)型別

S. suisの血清型を決定する莢膜多糖体の形成に関する莢膜形成遺伝子(cps)を検出し、血清型推定を行うマルチプレックスPCR[6]を実施した。

3. 血清型別

上記PCRから推定された血清型について、抗血清を用いた共凝集反応[7,8]を実施した。

4. パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)による遺伝子型別

制限酵素Sma Iを用い、電圧6V/cm、パルスタイム1.2~30.0sec、泳動時間21時間、泳動温度14℃、流速

80の泳動条件でPFGEを行い、クラスター解析によりPFGEプロファイルの系統樹解析を実施した[9-11]。

成績

1. cps型別および血清型別

A農場株は、cps型別では4株すべてcps2型に型別されたが、血清型別では2株が2型、2株が型別不能であった。と畜場株は、B農場株は6株中5株がcps2型で、うち3株が血清型2型、1株が1/2型に型別されたが、1株は型別不能で、他1株はcps・血清型別ともに型別不能であった。CおよびE農場株はcps・血清型別ともに2型、D農場株はcps・血清型別ともに型別不能であった(表2)。

2. PFGEによる遺伝子型別

I~VI型の6つのパターンに型別され、A農場株は4株すべてI型、B農場株は5株がII型、1株がIII型、C、

表2 S. suisのcps型、血清型およびPFGE型

分離場所	菌株No.	分離年	cps型(PCR)	血清型(凝集反応)	PFGE
A農場	A-1	H25	2	型別不能*	I
A農場	A-2	H25	2	型別不能*	I
A農場	A-3	H25	2	2	I
A農場	A-4	H25	2	2	I
と畜場	B-1	H24	2	2	II
と畜場	B-2	H24	2	2	II
と畜場	B-3	H23	2	1/2	II
と畜場	B-4	H23	2	型別不能*	II
と畜場	B-5	H22	型別不能	型別不能	III
と畜場	B-6	H22	2	2	II
と畜場	C	H23	2	2	V
と畜場	D	H23	型別不能	型別不能	VI
と畜場	E	H22	2	2	IV

*cps型別で血清型2型と推定されたが、血清型別では型別不能だった菌株

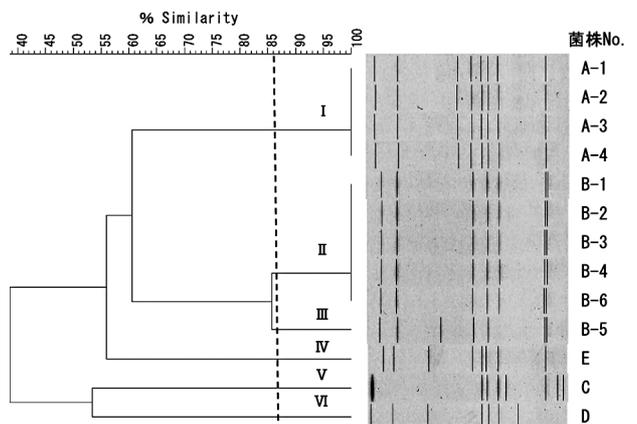


図6 S. suisのPFGEプロファイル

D、E農場はそれぞれV、VI、IV型に型別された。(表2、図6)

考 察

*S. suis*は豚レンサ球菌症の原因菌であるが、健康豚の多くが上部気道や生殖器などに保菌しており、本症を発症する個体はそのうちの一部である^[1]。

近年、と畜場では疣贅性心内膜炎の原因として*S. suis*が問題となっている(平成25年度日獣年次大会講演要旨集、p154、155)が、農場において*S. suis*による疣贅性心内膜炎が多発した症例はほとんど報告がない。そこで著者らは、疣贅性心内膜炎の多発要因を検討するため、A農場の豚の心内膜炎から分離された*S. suis*およびと畜場に搬入された豚の心内膜炎から分離された*S. suis*について解析を行った。

疣贅性心内膜炎が多発したA農場およびと畜場で疣贅性心内膜炎から*S. suis*が多く検出されていたB農場から分離された*S. suis*では、*cps*型別で2型に型別された株のうち、血清型別不能だった株がそれぞれ4株中2株(50%)と5株中1株(20%)あった。

PFGEは、概ね農場毎にI~VI型の6つのパターンに型別され、農場毎に菌株の由来が異なることが示唆された。また、A農場では*cps*型別および血清型別でいずれも2型だった株と*cps*2型・血清型別不能だった株がそれぞれ2株あったが、PFGEではいずれもI型に型別された。同様にB農場では、*cps*型別および血清型別でいずれも2型だった4株と*cps*2型・血清型別不能だった1株は、PFGEではいずれもII型に型別されたことから、各株の由来は同一であると考えられた。

*S. suis*は、莢膜多糖体の抗原性の違いにより35種類の血清型に型別されるが、莢膜欠損株では血清型別不能となる。豚心内膜炎由来株には、*cps*型別で血清型2型と推定される株の少なくとも3割が莢膜を欠損しているとの報告があり、また、莢膜欠損株は莢膜発現株に比べ豚血小板に対し高い付着能を有し、付着能の増加が心内膜炎の発症に有利に働くとの報告がある^[8]。さらに、同一個体の心内膜炎病変部から分離された有莢膜株と無莢膜株の*cps*領域の塩基配列を解析したところ、無莢膜株に莢膜の欠損に関与する可能性のある変異や挿入が認められたとの報告がある^[12]。そのため、今回農場で疣贅性心内膜炎が多発したA農場およびと畜場で疣贅性心内膜炎から*S. suis*が多く検出されていたB農場で分離された*cps*2型の血清型別不能株は、莢膜を欠損している可能性が示唆され、また、PFGEで各農場間の株の由

来は異なる一方、農場毎では*cps*・血清型2型株と*cps*2型・血清型別不能株は同一の型に型別されたことから、それぞれ農場毎に由来の異なる有莢膜株が突然変異により莢膜欠損株となり、それが農場内で浸潤したことにより疣贅性心内膜炎を発症しやすくなったと推察された。

稿を終えるにあたり、分離株の*cps*型別および血清型別を実施していただきました国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 細菌・寄生虫研究領域の高松大輔先生、と畜場分離株を分与いただきました北海道早来食肉衛生検査所の諸先生方に深謝いたします。

引用文献

- [1] 高松大輔： *Streptococcus suis* の多様性と病原因子、日本細菌学雑誌、66、7-21 (2011)
- [2] Okwumabua 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)
- [3] Vilcek S, Herring AJ, Herring JA, Nettleton PF, Lowings JP, Paton DJ: Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis, Arch Virol, 136, 309-323 (1994)
- [4] Kono Y, Kanno T, Shimizu M, Yamada S, Ohashi S, Nakamine M, Shirai J: Nested PCR for detection and typing of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in pigs, J Vet Med Sci, 58, 941-946 (1996)
- [5] Hamel AL, Lin LL, Nayar GP: Nucleotide sequence of porcine circovirus associated with post-weaning multisystemic wasting syndrome in pigs, J Virol, 72, 5262-5267 (1998)
- [6] Okura M, Lachance C, Osaki M, Sekizaki T, Maruyama F, Nozawa T, Nakagawa I, Hamada S, Rossignol C, Gottschalk M, Takamatsu D: Development of a two-step multiplex PCR assay for typing of capsular polysaccharide synthesis gene clusters of *Streptococcus suis*, J Clin Microbiol, 52, 1714-1719 (2014)
- [7] Han DU, Choi C, Ham HJ, Jung JH, Cho WS, Kim

- J, Higgins R, Chae C : Prevalence, capsular type and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolated from slaughter pigs in Korea, *Can J Vet Res*, 65, 151-155 (2001)
- [8] Lakkitjaroen N, Takamatsu D, Okura M, Sato M, Osaki M, Sekizaki T : Loss of capsule among *Streptococcus suis* isolates from porcine endocarditis and its biological significance, *J Med Microbiol*, 60, 1669-1676 (2001)
- [9] Berthelot-Hérault F, Marois C, Gottschalk M, Kobisch M : Genetic diversity of *Streptococcus suis* strains isolated from pigs and humans as revealed by pulsed-field gel electrophoresis, *J Clin Microbiol*, 40, 615-619 (2002)
- [10] Kerdsin A, Dejsirilert S, Puangpatra P, Sripakdee S, Chumla K, Boonkerd N, Polwichai P, Tanimura S, Takeuchi D, Nakayama T, Nakamura S, Akeda Y, Gottschalk M, Sawanpanyalert P, Oishi K : Genotypic profile of *Streptococcus suis* serotype 2 and clinical features of infection in humans, Thailand, *Emerg Infect Dis*, 17, 835-842 (2011)
- [11] Vela AI, Goyache J, Tarradas C, Luque I, Mateos A, Moreno MA, Borge C, Perea JA, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF : Analysis of genetic diversity of *Streptococcus suis* clinical isolates from pigs in Spain by pulsed-field gel electrophoresis, *J Clin Microbiol*, 41, 2498-2502 (2003)
- [12] 遠矢真理、石田沙倉、大倉正稔、高松大輔、大崎慎人、関崎 勉 : 莢膜の有無に着目した豚心内膜炎由来 *Streptococcus suis* の遺伝学的解析、*家畜衛生学雑誌*、40、116-117 (2014)