

Streptococcus dysgalactiae subspecies *equisimilis* による疣贅性心内膜炎及び化膿性脳炎を呈した豚の1例

阿部祥次^{1)†} 飯塚綾子¹⁾ 藤田慶一郎²⁾ 赤間俊輔¹⁾ 小松亜弥子¹⁾
戸崎香織¹⁾ 小澤優子¹⁾ 芝原友幸³⁾

- 1) 栃木県県央家畜保健衛生所 (〒321-0905 宇都宮市平出工業団地 6-8)
2) 栃木県畜産振興課 (〒320-0027 宇都宮市埜田 1-1-20)
3) 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)

(2016年6月15日受付・2016年12月5日受理)

要 約

約130日齢の雌の肥育豚が起立不能を呈して死亡した。剖検では、全身性のチアノーゼ、両側性の腎梗塞、僧房弁及び三尖弁における疣贅性心内膜炎、関節炎並びに脳における点状の白色病変が認められた。細菌学的に、肝臓、脾臓、腎臓、心臓、僧帽弁の疣贅、肺、脳及び関節液から *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis* が分離され、本分離菌はニューキノロン系薬剤に耐性を示した。病理組織学的に、グラム陽性球菌による弁膜性心内膜炎、大脳、小脳及び脳幹における多発性の微小膿瘍、化膿性糸球体腎炎並びに化膿性リンパ節炎が観察され、散在性に線維素血栓、菌塞栓及び化膿性血管炎が観察された。観察された菌は、抗 *Streptococcus* Group C 抗血清を用いた免疫組織化学的検査にて陽性反応を示した。本症例は豚の *S. equisimilis* による心内膜炎と脳炎が確認された初めての症例である。

——キーワード： *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis*, 化膿性脳炎, 弁膜性心内膜炎.

-----日獣会誌 70, 213~218 (2017)

豚レンサ球菌症は、*Streptococcus* 属菌による感染症であり、敗血症、髄膜炎、関節炎、心内膜炎、頸部膿瘍、肺炎、流産及びリンパ節炎など多岐にわたる病態を呈す。*Streptococcus suis*, *Streptococcus dysgalactiae* 及び *Streptococcus porcinus* が豚に病原性を示すレンサ球菌として知られている。これらは、臨床的に健康な豚の扁桃、腸管及び生殖器から分離される常在菌であり、宿主の免疫力の低下等により日和見感染を起こすと考えられている [1-5]。加えて、近年、左心の弁膜性心内膜炎がみられたと畜豚において、心内膜炎に関連した脳病変が認められ、そのほとんどは *S. suis* が原因であったと報告されている [6]。

S. dysgalactiae は、*S. dysgalactiae* subspecies *equisimilis* (*S. equisimilis*) と *S. dysgalactiae* subspecies *dysgalactiae* (*S. dysgalactiae*) の2亜種に分類される。*S. equisimilis* は、 β 溶血性の人由来株であり、ランス

フィールドの凝集反応により C, G あるいは L 群に分類される。一方、*S. dysgalactiae* は、 α 溶血性あるいは非溶血性の動物由来株であり、C 群に分類される [5, 7]。*S. equisimilis* は、臨床症状を認めない疣贅性心内膜炎を呈す豚から分離されることは一般的だが [2, 4]、近年、国内の動物検疫所において、カナダから輸入した豚に本菌による重度の散在性化膿性髄膜脳脊髄炎を伴う全身感染を呈した症例が報告されている [8]。しかし、海外及び国内での報告は少なく、その病原性は依然不明な点が残されている。加えて、本菌が関与したレンサ球菌症は人でも報告されており [9]、家畜衛生のみならず公衆衛生においても重要であることから、さらなる症例の蓄積と疫学調査が必要である。

今回、豚の *S. equisimilis* による疣贅性心内膜炎及び化膿性脳炎を伴う全身感染による死亡が発生し、非常にまれな症例と考えられたため、その概要を報告する。

† 連絡責任者：阿部祥次 (栃木県県央家畜保健衛生所)

〒321-0905 宇都宮市平出工業団地 6-8

☎ 028-689-1200 FAX 028-689-1279

E-mail : abet07@pref.tochigi.lg.jp

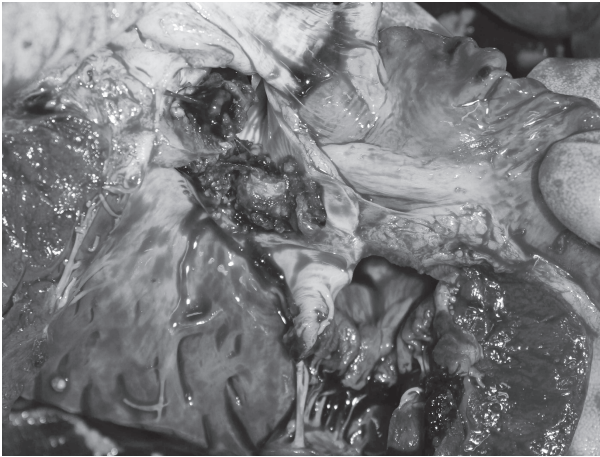


図1 心臓
僧帽弁領域にカリフラワー状の白色あるいは赤色の疣贅が付着している。

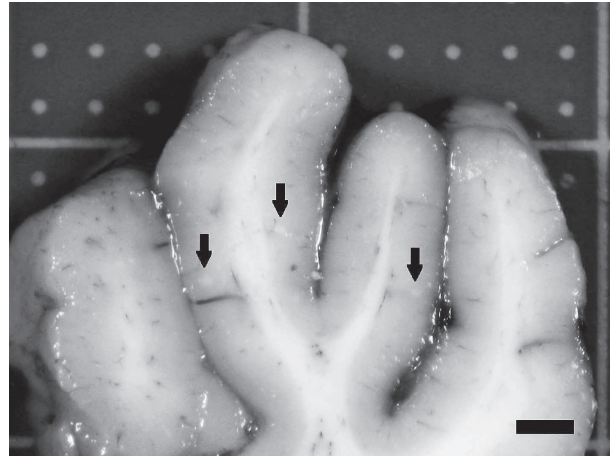


図2 大脳
灰白質に点状の白色病変(矢印)が散見される(ホルマリン固定 Bar=2mm)。

材料及び方法

発生状況の概要：発生農場は繁殖豚2頭、育成豚3頭、肥育豚8頭を飼養していた。2016年1月7日から、約130日齢の雌の肥育豚がほかの豚に比べ横臥する時間が増加し、1月11日に起立不能を呈したためビタミン剤を投与したが死亡した。同じ豚房に計11頭飼養(飼養密度0.82m²/頭)していたが、ほかの豚に臨床症状は認められなかった。抗生物質の投与及び飼料添加は行っておらず、ワクチンは、母豚に日本脳炎ウイルスワクチンと豚パルボウイルスワクチンを接種していた。

材料：死亡が確認された約1時間後に解剖を実施し、肝臓、脾臓、腎臓、心臓、僧帽弁の疣贅、肺、扁桃、気管、舌、食道、胃、膀胱、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、下顎、耳下腺、浅頸、気管気管支、浅単径、腸骨下、膝窩並びに腸間膜リンパ節、骨格筋、坐骨神経、関節液、脳、脊髄及び胸骨骨髓を採取した。

細菌学的検査：肝臓、脾臓、腎臓、心臓、疣贅、肺、関節液、大脳を5%羊血液加寒天培地及びDHL寒天培地を用い、好気条件下で37℃24時間、空腸及び回腸内容を5%羊血液加寒天培地、DHL寒天培地及び卵黄CW寒天培地を用い好気条件下あるいは嫌気条件下で37℃24時間培養した。分離株はグラム染色、カタラーゼ試験及びオキシダーゼ試験を行い、簡易同定キット(API20STREP, シスメックス・バイオメリュー(株)、東京)を用いて同定した。加えて、一濃度ディスク拡散法により、アモキシシリン(AMPC)、アンピシリン(ABPC)、ベンジルペニシリン(PCG)、セフトオフル(CTF)、カナマイシン(KM)、エリスロマイシン(EM)、オキシテトラサイクリン(OTC)、エンロフロキサシン(ERFX)及びオルビフロキサシン(OBFX)について薬剤感受性試験を実施した。

病理組織学的検査：採取した関節液以外の材料について20%ホルマリンで固定後、定法に従いパラフィン包埋切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を実施した。脾臓、腎臓、心臓、疣贅及び脳についてはグラム染色、脾臓、腎臓、心臓、疣贅、肺、脳についてリントングステン酸・ヘマトキシリン(PTAH)染色を実施した。加えて、健康な豚の肝臓に *S. equisimilis* を注入した切片を陽性対象として、心臓、疣贅及び脳について抗 *Streptococcus* Group C 抗血清(株ベリタス、東京)により、肺、扁桃、下顎リンパ節及び浅単径リンパ節について抗豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス(PRRSV)抗血清(RTI, U.S.A.)及び抗豚サーコウイルス2型(PCV-2)抗血清(国研農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門、茨城)により、市販の免疫組織化学的検査キット(ヒストファインシンプルステインMAX-PO(MULTI)及びシンプルステインAEC溶液、(株)ニチレイバイオサイエンス、東京)を用い免疫組織化学的検査を実施した。

遺伝子学的検査：肺についてイーグルMEM培地(日本製薬(株)、東京)を用い10%乳剤を作製し、その遠心上清を0.45μmのフィルターで濾過後、RNA抽出キット(Mag ExtractorTM-RNA-, 東洋紡(株)、大阪)を用いてRNAを抽出した。抽出したRNAは市販のキット(Ready-To-Go RT-PCR Beads, GEヘルスケア・ジャパン(株)、東京)及びRED Taq DNAポリメラーゼ(シグマアルドリッチジャパン(株)、東京)を用いPRRSVを標的としたRT-nested PCRを実施した [10]。

成績

臨床及び剖検所見：皮膚は全身性にチアノーゼを呈していた。肝臓と脾臓は暗赤色かつ脆弱で、腎臓は両側性に多発性の粟粒大から麻実大の梗塞と点状出血が認めら

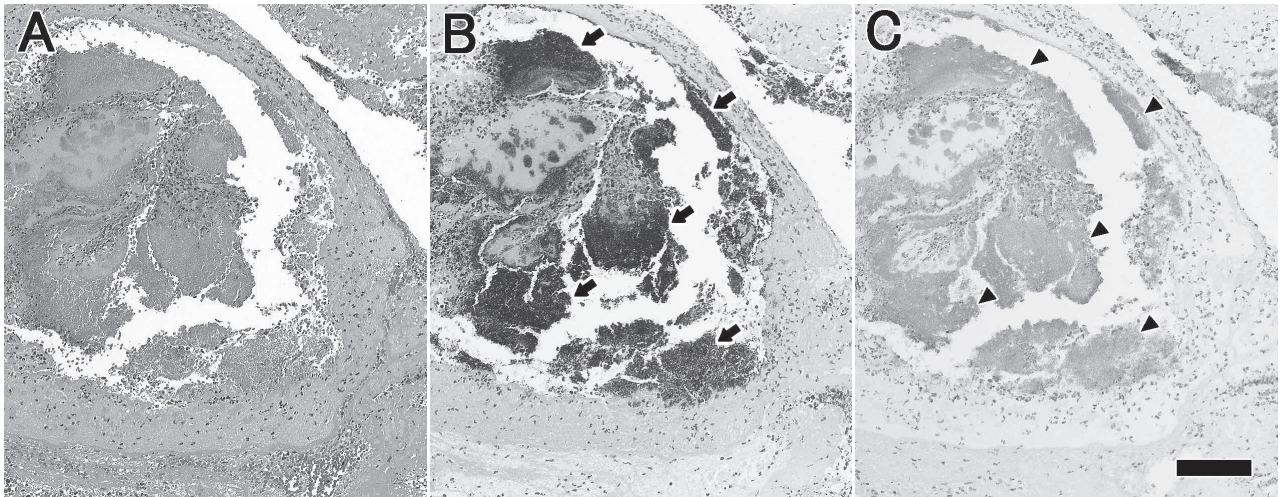


図3 心臓

疣贅は線維素と多数のグラム陽性菌(矢印)で構成され, 抗*Streptococcus* Group C抗血清に対し陽性である赤色(矢頭)を示す(A: HE染色, B: グラム染色, C: 免疫組織化学的検査 Bar=100 μ m).

れた。心臓は僧帽弁に重度, 三尖弁に軽度の疣贅性心内膜炎が観察され(図1), 心外膜は心嚢膜と軽度に癒着し, 心嚢水が軽度に貯留していた。肺, 胃及び腸管は充血していた。その他, 右気管気管支リンパ節の充血, 膀胱粘膜における散在性の点状出血, 両側性に膝関節液の軽度貯留及び混濁と絨毛の軽度増生が認められた。脳は, 開頭時には充血以外の著変は認められなかったが, ホルマリン固定後の切断面において灰白質に最大径約300 μ mの白色巣が散見された(図2)。

細菌学的検査: 肝臓, 脾臓, 腎臓, 心臓, 僧帽弁の疣贅, 肺, 大脳及び関節液から β 溶血性のコロニーを形成するグラム陽性球菌が分離された。分離株はカタラーゼ及びオキシダーゼ陰性を示し, 簡易同定キットにより*S. equisimilis* (4463557, 99.8%)と同定された。薬剤感受性試験では, AMPC, ABPC, PCG, CTF及びEMは感受性を示し, KM, OTC, ERFX及びOBFXに耐性を示した。

病理組織学的検査: 心臓は, 右心, 左心及び中隔において筋線維間への散在性巣状軽度~中等度の好中球浸潤とまれ線維素血栓を伴う化膿性血管炎が観察され, 炎症巣及びその周囲の心筋層にグラム陽性球菌塊が散見された。また, 心筋層においてまれに巣状壊死が観察された。僧帽弁は表面に多量のグラム陽性球菌塊が付着し, 付着部位に沿って層状の壊死を伴う軽度の好中球浸潤が観察された。疣贅性病変は軽度の好中球浸潤を伴う線維素と多数のグラム陽性球菌塊で構成されていた(図3A, B)。脳は, 前頭葉, 頭頂葉, 側頭葉, 線条体, 間脳, 中脳, 橋及び小脳において多発性の微小膿瘍が観察された(図4)。微小膿瘍にはごくまれにグラム陽性球菌が認められ, その形成に左右差はなく, 灰白質と白質の両方に観察された。また, 散在性に軽度~中等度の好中球

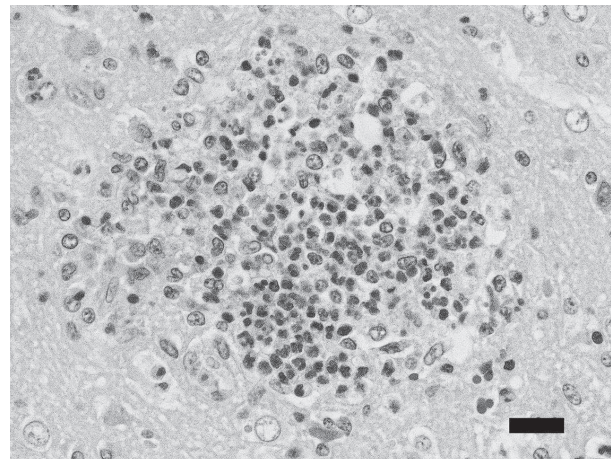


図4 大脳

微小膿瘍が観察される(HE染色 Bar=20 μ m)

浸潤を伴う血管炎, 線維素血栓, まれにグラム陽性球菌塊による菌塞栓が観察された(図5A, B)。髄膜は, きわめて軽度の好中球浸潤と線維素血栓を伴う化膿性血管炎がまれに認められた。

その他, 化膿性糸球体腎炎, 腎臓における扇状ないし放射状の梗塞性壊死, 軽度の肺水腫, 化膿性リンパ節炎(気管気管支, 浅頸, 腸骨下, 浅鼠径及び膝窩リンパ節)が観察された。加えて, 脾臓, 肺, 舌, 胃, 小腸及び眼球の中小血管において, 化膿性血管炎, 線維素血栓及びグラム陽性球菌による菌塞栓がまれに認められた。線維素血栓はPTAH染色で青色を示した。

抗*Streptococcus* Group C抗血清を用いた免疫組織化学的検査では, 陽性対照, 心臓, 疣贅及び脳に観察されたグラム陽性球菌に一致して陽性反応が認められた(図3C, 5C)。一方, 抗PRRSV抗血清及び抗PCV-2抗血清を用いた免疫組織化学的検査では, 検査を行ったはず

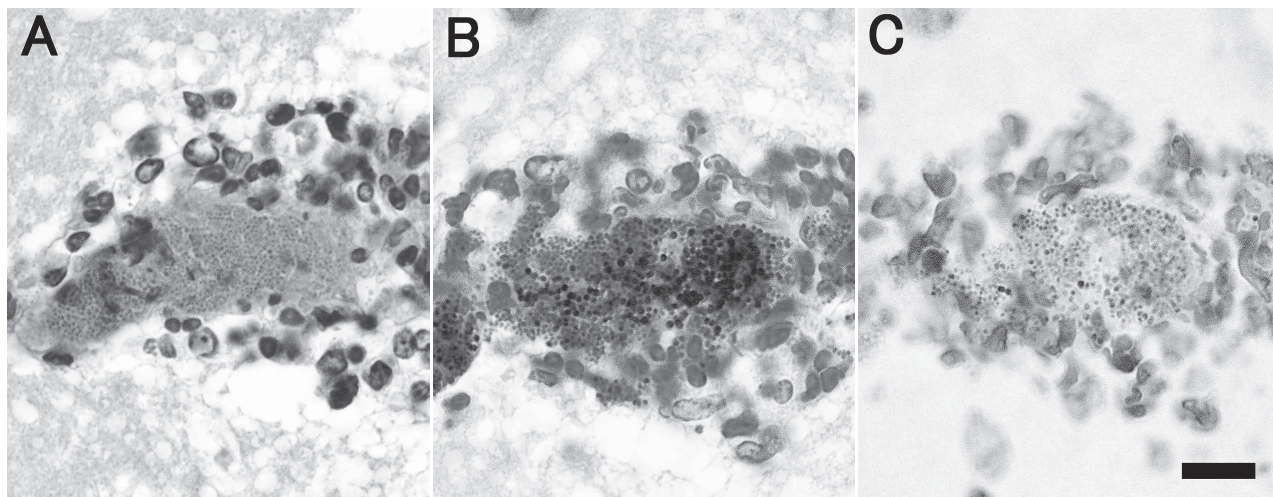


図5 大脳

グラム陽性球菌による菌塞栓が観察され、抗 *Streptococcus* Group C 抗血清に対し陽性である赤色を示す (A: HE 染色, B: グラム染色, C: 免疫組織化学的検査 Bar=10 μ m)。

れの組織においても陰性であった。

遺伝子学的検査: 肺の乳剤から PRRSV の特異遺伝子が検出された。

考 察

本症例は全身臓器から *S. equisimilis* が分離され、脾臓、腎臓、心臓、僧帽弁の疣贅及び脳でグラム陽性球菌が観察された。加えて、抗 *Streptococcus* Group C 抗血清を用いた免疫組織化学的検査により陽性を示したことから、*S. equisimilis* による全身感染症と診断された。レンサ球菌は皮膚創傷、臍帯及び扁桃から血流に入り関節炎、心内膜炎並びに髄膜炎を起こす [11]。本農場の飼養密度は適正範囲内であり、肥育期の密飼いによる免疫機能低下 [12] の可能性は低いと考えられた。PRRSV はマクロファージに感染しアポトーシスやその機能障害により、病態を悪化させる [13]。本症例では肺から PRRSV 特異遺伝子が検出され、本ウイルスが本症の発症要因の一つとなった可能性が考えられた。

と畜豚では、しばしば心内膜炎がみられる [14]。左心の弁膜性心内膜炎のみみられたと畜豚の約半数に脳炎もみられることが報告されているが、その原因のほとんどは *S. suis* であり、*S. equisimilis* が分離された1例は *S. suis* との混合感染例であった [6]。豚の *S. equisimilis* による脳炎が1例のみ報告されている [8]。本症例はこの既報の症例 [8] に週齢、臨床症状、菌が分離された臓器及び病変の分布が類似している。しかし、本症例では疣贅性心内膜炎と諸組織における菌塞栓を伴う線維素血栓がみられた点が異なる。さらに脳からも本菌が分離されていること、脊髄炎は観察されず髄膜炎もきわめて軽度であったこと、腎臓の梗塞がみられたなどの点が異なる。以上のことから、本症例は *S. equisimilis* による

心内膜炎と脳炎が確認された初めての症例と考えられた。

本症例は、疣贅性心内膜炎がみられ、脳を含めたさまざまな組織で菌を伴う線維素血栓や菌塞栓が確認されたことから、菌を含む疣贅性病変からの転移 [15] により全身に病変が形成されたと考えられた。軟膜は脳と脊髄に密着し、軟膜の血管は脳実質に入り、神経組織に血液を供給する [16]。一般的に敗血症では中枢神経と髄膜の血管床で病原体がトラップされる [17]。本症例では、脳実質に多発性微小膿瘍が確認されたが、髄膜炎はきわめて軽度かつ限局的であった。このことから、本菌が髄膜よりも脳実質にて増殖し病変を形成したと考えられたが、その原因は不明であった。

S. equisimilis の分離株の一部には、アミノグリコシド系、テトラサイクリン系及びマクロライド系薬剤に耐性を持つものの、ニューキノロン系薬剤はすべての分離株に感受性が認められていた [18]。しかし、本症例の分離株ではニューキノロン系薬剤に対する耐性が確認された。本菌は人のレンサ球菌症の原因ともなるため [9]、今後、各種薬剤に対する耐性状況のさらなる調査とモニタリングが必要であると考えられた。

S. equisimilis の感染により脳炎を呈す報告は非常にまれであり、報告する価値があると考えられた。しかし、その病原性や臨床現場における適切な治療法等についていまだ不明な点が残されており、今後症例を重ね検討する必要がある。

稿を終えるに当たり、多くの助言をいただいた(国研)農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門の小林 勝技師、嶋田恵美技師に深謝する。

引用文献

- [1] Collins MD, Farrow JAE, Katic V, Kandler O : Taxonomic studies on streptococci of serological groups E, P, U, and V: Description of *Streptococcus porcinus* sp. nov., Syst Appl Microbiol, 5, 402-413 (1984)
- [2] Jensen HE, Gyllensten J, Hofman C, Leifsson PS, Agerholm JS, Boye M, Aalbæk B : Histologic and bacteriologic findings in valvular endocarditis of slaughter-age pigs, J Vet Diagn Invest, 22, 921-927 (2010)
- [3] Kilpper-Balz R, Schliefer KH : *Streptococcus suis* sp. nov., nom. rev., Int J Syst Bacteriol, 37, 160-162 (1987)
- [4] Maxie GE, Robinson WF : Cardiovascular system, Pathology of Domestic Animals, Maxie GE eds, 5th ed, 27-30, Saunders Elsevier, Edinburgh (2007)
- [5] Vandamme P, Pot B, Falsen E, Kersters K, Devriese LA : Taxonomic study of lancefield streptococcal groups C, G and L (*Streptococcus dysgalactiae*) and proposal of *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* subsp. nov., Int J Syst Bacteriol, 46, 774-781 (1996)
- [6] Karstrup CC, Jensen HE, Aalbæk B, Leifsson PS, Boye M, Agerholm JS : Endocarditis-associated brain lesions in slaughter pigs, J Comp Pathol, 144, 289-295 (2011)
- [7] Vieira VV, Teixeira LM, Zahner V, Momen H, Facklam RR, Steigerwalt AG, Brenner DJ, Castro AC : Genetic relationships among the different phenotypes of *Streptococcus dysgalactiae* strains, Int J Syst Bacteriol, 48, 1231-1243 (1998)
- [8] Kasuya K, Yoshida E, Harada R, Hasegawa M, Osaka H, Kato M, Shibahara T : Systemic *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis* infection in a Yorkshire pig with severe disseminated suppurative meningoencephalomyelitis, J Vet Med Sci, 76, 715-718 (2014)
- [9] Bert F, Lambert-Zechovsky N : Analysis of a case of recurrent bacteraemia due to group A *Streptococcus equisimilis* by pulsed-field gel electrophoresis, Infection, 25, 250-251 (1997)
- [10] 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 Net Med Sci, 58, 941-946 (1996)
- [11] Gottschalk M : *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, Disease of swine, Zimmerman JJ, et al eds, 10th ed, 852, Iowa State Press, Iowa (2012)
- [12] 藤田慶一郎, 菊 佳男, 高橋孝志, 野口宗彦, 溝呂木聖子, 矢ヶ部陽子, 宗田吉広 : 密飼いが肥育豚の増体や免疫機能及び唾液中ストレスマーカー濃度に与える影響, 日獣会誌, 68, 43-47 (2015)
- [13] Zimmerman JJ, Benfield DA, Dee SA, Murtaugh MP, Stadejek T, Stevenson GW, Torremorell M : Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (porcine arterivirus), Disease of swine, Zimmerman JJ, et al eds, 10th ed, 466-468, Iowa State Press, Iowa (2012)
- [14] Katsumi M, Kataoka Y, Takahashi T, Kikuchi N, Hiramune T : Bacterial isolation from slaughtered pigs associated with endocarditis, especially the isolation of *Streptococcus suis*, J Vet Med Sci, 59, 75-78 (1997)
- [15] Miller LM, Van Vleet JF, Gal A : Endocardium and heart valves, Pathologic Basis of Veterinary Disease, Zachary JF, et al eds, 5th ed, 557-558, Mosby, St. Louis (2012)
- [16] Zachary JF : Cells of the CNS, Pathologic Basis of Veterinary Disease, Zachary JF, et al eds, 5th ed, 771-780, Mosby, St. Louis (2012)
- [17] Zachary JF : Disease caused by Microbes, Pathologic Basis of Veterinary Disease, Zachary JF, et al eds, 5th ed, 801-804, Mosby, St. Louis (2012)
- [18] 藤元英樹, 田中輝美, 西屋秀樹, 郡司康宏, 宇都誠二, 井之上盛男, 中馬猛久 : 豚疣贅性心内膜炎型敗血症由来 β 溶血性レンサ球菌の薬剤感受性と耐性遺伝子保有状況, 日獣会誌, 66, 138-142 (2013)

Case of Swine Verrucous Endocarditis and Suppurative Encephalitis due to
Streptococcus Dysgalactiae Subspecies *Equisimilis*

Tadatsugu ABE^{1)†}, Ayako IIZUKA¹⁾, Keiichiro FUJITA²⁾, Shunsuke AKAMA¹⁾,
Ayako KOMATSU¹⁾, Kaori TOSAKI¹⁾, Yuko OZAWA¹⁾
and Tomoyuki SHIBAHARA³⁾

- 1) *Tochigi Prefectural Kenou Livestock Hygiene Service Center, 6-8 Hiraidekogyodanchi, Utsunomiya, 321-0905, Japan*
- 2) *Tochigi Prefectural Livestock Production and Feed Division, 1-1-20 Hanawada, Utsunomiya, 320-0027, Japan*
- 3) *National Institute of Animal Health, National Agriculture and Food Research Organization, 3-1-5 Kannondai, Tsukuba, 305-0856, Japan*

SUMMARY

A female growing-finishing pig, approximately 130 days old, exhibited astasia and subsequently died. A necropsy revealed systemic cyanosis, bilateral kidney infarction, verrucous endocarditis of the mitral and tricuspid valves, and punctate white lesions in the brain. Bacteriologically, *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis* was isolated from the liver, spleen, kidney, heart, heart verrucous lesions, lung, brain, and joints, and showed resistance to new quinolone drugs. A histopathological examination revealed valvular endocarditis, multiple microabscesses in the cerebrum, cerebellum, and brainstem, suppurative glomerulonephritis, and suppurative lymphadenitis due to gram-positive cocci. In addition, disseminated fibrous thrombosis, bacterial embolism, and suppurative vasculitis were observed. Immunohistochemically, the cocci were positive for an antibody against *Streptococcus* group C species. This case represents the first documentation of swine suppurative encephalitis and verrucous endocarditis due to *S. equisimilis*.

— Key words : *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis*, suppurative encephalitis, valvular endocarditis.

† Correspondence to : Tadatsugu ABE (*Tochigi Prefectural Kenou Livestock Hygiene Service Center*)

6-8 Hiraidekogyodanchi, Utsunomiya, 321-0905, Japan

TEL 028-689-1200 FAX 028-689-1279 E-mail : abet07@pref.tochigi.lg.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 70, 213 ~ 218 (2017)