

# 精密検査で分離された *Streptococcus suis* の遺伝子検索と薬剤感受性

○菊地利紀、額田優花<sup>1)</sup>

1)現気仙沼保健福祉事務所

## 1. はじめに

敗血症は種々の細菌の感染によって起こる全身性の中毒症状を伴う疾病の総称<sup>1)</sup>であり、と畜検査における敗血症はと畜場法施行規則(昭和二十八年厚生省令第四十四号)第 16 条別表 4 に定める全部廃棄疾病の一つである。と畜検査員が肉眼検査で当該疾病を疑った場合には精密検査を実施し、その結果をもって合否を判定している。当所では敗血症疑いを含めた精密検査を年間約 300 件実施しており、そのうち 3 分の 1 にあたる約 100 件で疣贅性心内膜炎により敗血症が疑われている。

当所における豚の疣贅性心内膜炎から分離される菌のほとんどが *Streptococcus suis* であることは平成 28 年度の調査<sup>2)</sup>により判明しているが、現状は不明である。また、A 農場では令和 3 年度に敗血症疑い検査数が前年度の約 4 倍となったこともあり、分離される菌が変化している可能性が考えられた。このため、本研究では、疣贅性心内膜炎からの分離菌の同定、遺伝子検索、さらに A 農場由来株については薬剤感受性試験を実施し、分離菌の株別を試みたのでその概要を報告する。

## 2. 材料と方法

当所所管のと畜場において、平成 31 年 2 月から令和 4 年 3 月に豚の疣贅性心内膜炎から分離、保存した菌株 199 株を調査に供した。

5%羊血液加寒天培地で一晚好気培養し、発育したコロニーからアルカリ熱抽出法により DNA を抽出した。同抽出 DNA をテンプレートとし、*recN* 遺伝子<sup>3)</sup>について PCR を実施し、陽性となった菌株を *S. suis* と同定した。同定した *S. suis* については、強毒株が属する遺伝子型として知られる ST1 complex または ST27 complex に属する可能性を推定するために、線毛関連遺伝子である *sbp2*、*sep1* 及び *sgp1*<sup>4)</sup>の有無(以下、線毛関連遺伝子プロファイル)を PCR により判定した。また、敗血症検査件数が急増した A 農場から分離された *S. suis* については、CLSI のディスク拡散法を用いた薬剤感受性試験を実施した。試験にはペニシリン(PCG)、アンピシリン(ABPC)、セフトキサシム(CTX)、セフトリアキソン(CTRX)、バンコマイシン(VA)、リネゾリド(LZD)、セフェピム(CFPM)、エリスロマイシン(EM)、レボフロキサシン(LVX)、クリンダマイシン(CLDM)、クロラムフェニコール(CP)、テトラサイクリン(TC)の 12 薬剤を供した。

## 3. 結果

199 株中 176 株(88.4 %)を *S. suis* と同定し(Fig.1)、*S. suis* における線毛関連遺伝子プロファイルを解析したところ、*sbp2/sep1/sgp1* のプロファイルが+/-/-は 34 株(19.3%)、-/-/+は 138 株(78.4%)、+/-/+は 3 株(1.7%)、-/+/-は 1 株(0.6%)であった(Fig.2)。複数のプロファイルが検出された農場もあったが、A 農場 23 株(平成 31(令和元)年度:1 株、令和 2 年度:3 株、令和 3 年度:19 株)についてはすべて-/-/+であった。

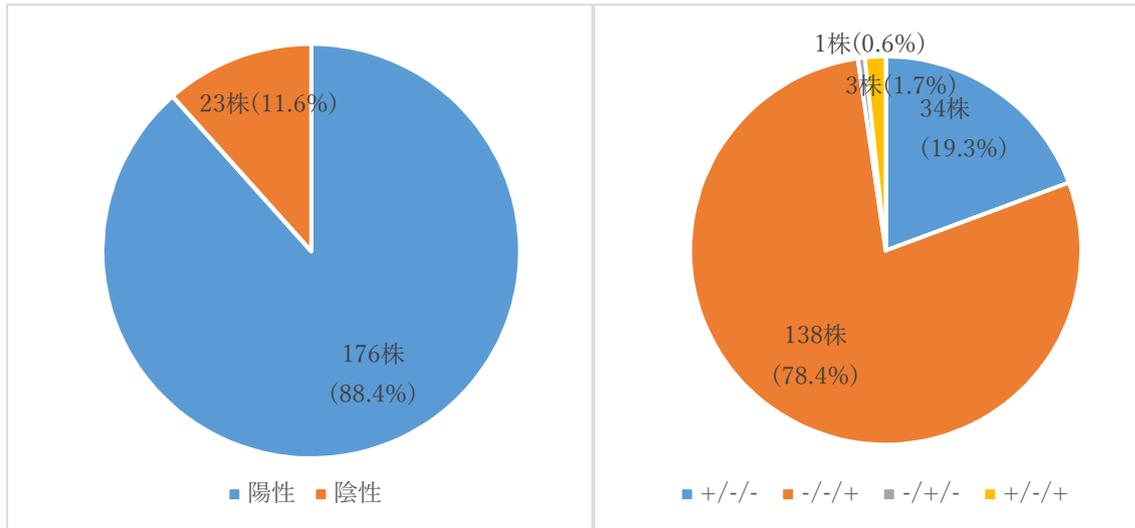


Fig.1. *recN*遺伝子保有状況 (n=199)

Fig.2. 線毛関連遺伝子保有状況 (n=176)

A農場 23 株における薬剤感受性試験の結果を Table に示した。PCG、ABPC、VA、LZD、CFPM、EM、LVX、CLDM はすべての株で感受性を示した。CP は 1 株のみ中間耐性を示したが、その他の株は感受性であった。一方、TC はすべての株で耐性を示し、CTX は 2 株 (令和 3 年度分離) が耐性を示し、CTRX は 1 株 (令和 2 年度分離) のみ耐性を示した。

Table. 各薬剤に対する耐性菌株数 (n=23)

	PCG	AMPC	CTX	CTRX	VA	LZD	CFPM	EM	LVX	CLDM	CP	TC
耐性株数	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	23

#### 4. 考察

本調査研究の結果、近年の当所所管と畜場の搬入豚における疣贅性心内膜炎の原因菌の 88.4% が *S. suis* であり、依然として前回の調査<sup>2)</sup>と同様の傾向にあることが明らかとなった。一方で、本調査研究では *S. suis* 以外の菌の同定を実施していないため、その他の原因菌の内訳は不明である。

線毛関連遺伝子プロファイルは +/-/- 株が ST1 complex、-/-/+ 株が ST27 complex に属する可能性が高いとされている<sup>4)</sup>。本調査研究では 4 つの保有遺伝子型が分離されたが、そのほとんどが +/-/- もしくは -/-/+ であった (97.7%) ことから、ST1 または ST27 complex に属する可能性が高いことが示唆された。一方、人由来株に関しては、ST106 の 1 株を除く全ての株が ST1 または ST27 complex に型別されている<sup>4)</sup>。特に ST1 complex は最も強毒な株集団と考えられており、ST27 complex とともに家畜衛生・公衆衛生上のリスクが懸念される重要な株集団であることが示唆されている<sup>5-8)</sup> ことから、と畜検査における敗血症の適切な排除が重要と考えられた。また、線毛関連遺伝子プロファイルの結果、単一のプロファイルのみの農場もあれば複数のプロファイルが検出された農場もあり、同じ *S. suis* であっても異なる遺伝子型が農場内で混在することが示された。

A農場では、敗血症疑い検査数が平成 31 (令和元) 年度 5 件、令和 2 年度 6 件と続き、令和 3 年度に 23 件と急増したことから、耐性菌の出現を疑い薬剤感受性試験を実施した。TC がすべての株について耐性を示したものの、2 剤耐性 (TC と CTX、もしくは TC と CTRX) が 3 株のみであり、年度における明らかな違いは認められなかった。テトラサイクリン系薬剤に対する耐性は、排出蛋白質またはリボソーム保護酵素の 2 つに大別され、それらをコードする遺伝子はプラスミド上にある<sup>9)</sup>。一方で、遺伝子が検出されな

くとも耐性を示す株が認められている<sup>10)</sup>ことからその他の遺伝子が関与している可能性も考えられている。本調査研究では耐性遺伝子の確認をしていないため、今後調査する必要がある。

線毛関連遺伝子及び薬剤感受性試験の結果では、A 農場分離株の株別には至らず、検査数急増の原因は不明のままであった。本調査研究ではハウスキーピング遺伝子による型別(MLST 法)や薬剤耐性遺伝子を調査していないため、異なる株である可能性は否定できず、今後遺伝子検索により検証していきたい。

## 5. 参考文献

- 1) 全国食肉衛生検査所協議会編, 新・食肉衛生検査所マニュアル, 中央法規, 265(2011)
- 2) 西村英之 他, 豚疣贅性心内膜炎の発生状況調査と原因菌の探索, 平成 28 年度宮城県食肉衛生検査所業績発表会抄録集, 12-14(2015)
- 3) 新井沙倉, 豚レンサ球菌の食肉汚染に関する研究, <https://repository.dl.itc.u-tokyo.ac.jp/records/48522>, (2017)
- 4) 高松大輔, 線毛関連遺伝子のプロファイリングによる疾病リスクの高い *Streptococcus suis* 株の識別, 日獣会誌, 64, 600-603(2011)
- 5) King SJ et al., Development of a multilocus sequence typing scheme for the pig pathogen *Streptococcus suis* identification of virulent clones and potential capsular serotype exchange, *J Clin Microbiol*, 40, 3671-3680(2002)
- 6) Chang B et al., Characteristics of *Streptococcus suis* isolated from patients in Japan, *Jpn J Infect Dis*, 59, 397-399(2006)
- 7) Takamatsu D et al., *Streptococcus suis* in humans, Thailand, *Emerg Infect Dis*, 14, 181-183(2008)
- 8) 関松大輔, ブタレンサ球菌感染症, *医学のあゆみ*, 235, 196-202(2010)
- 9) Marisa Haenni et al., Antimicrobial Resistance in *Streptococcus* spp., *Microbiol Spectr*, 1-25(2018)
- 10) 樋渡佐知子, 豚の疣贅性心内膜炎から分離された *Streptococcus suis* の薬剤感受性および耐性遺伝子検索, <https://www.pref.nagasaki.jp/shared/uploads/2023/03/1678080817.pdf>, (2023)