

16 県内動物展示施設で発生したサル(*Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*)感染症

中央家畜保健衛生所

○北島 絵理子・平野 晃司・中井 悠華

I はじめに

Streptococcus equi subsp. *zooepidemicus* (Sez) は、Lancefieldの血清群分類のC群に属するβ溶血性連鎖球菌であり、*Streptococcus equi* subsp. *equi* (See) と類似した生化学的性状を示す¹⁾。馬からしばしば分離され²⁾、馬の腺疫様疾患の原因となるほか、牛の連鎖球菌性乳房炎、家禽や小鳥の急性敗血症の原因となる¹⁾。また、サルに扁桃炎、咽頭炎、リンパ節炎、肺炎、心外膜炎、心内膜炎、心嚢炎、肝炎、脾炎、漿膜炎、髄膜脳炎を引き起こす³⁾。今回、県内動物展示施設において、ホンドザルのSez感染症が発生したので、その概要を報告する。

II 発生概要

当該施設では、屋外のサル山と屋内の飼育舎において、48頭のホンドザルを飼育、管理している。平成27年12月2日から18日に、十数頭のサルが、元気消失、食欲不振等を呈し、7頭が死亡した。

III 材料及び方法

1 材料

材料は死体5検体(No.1~No.5)で、No.4は、No.3の解剖中に死亡した。それぞれの死亡確認日、病性鑑定実施日、年齢、性別、臨床症状は表1のとおりである。

表1 検体情報

個体 No.	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5
死亡確認日	12月2日		12月4日		12月18日
病鑑実施日	12月3日		12月4日		12月18日
年齢	11歳	2歳	25歳	9歳	7歳
性別	オス	オス	メス	メス	メス
臨床症状	食欲不振 元気消失 跛行	なし	食欲不振 元気消失	元気消失	なし

2 方法

(1) 病理学的検査

5 頭の剖検を実施した。病理組織学的検査では、10%中性緩衝ホルマリン液浸漬後の諸臓器を用いて、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色での一般染色を行った。また、No.1 の肺、No.2 の腎臓、No.3 の心臓、肺、No.4 の腎臓、空回腸を材料にグラム染色、No.3 の肺を材料にリンタングステン酸・ヘマトキシリン (PTAH) 染色、No.3 の肝臓、心臓、肺、No.4 の肝臓、肺、No.5 の肝臓を材料に過ヨウ素酸シッフ (PAS) 反応を実施した。さらに、No.3 の心臓、肺、No.4 の腎臓、回腸、盲腸について、抗 M-Like 蛋白質 SzPSe (Sez の表層抗原⁴⁾) 兔血清 (動物衛生研究部門) 及び抗 *Streptococcus* C 群兔血清 (Statens Serum Institute) を用いた免疫組織化学的検査を行った。

(2) 細菌学的検査

No.1～No.5 の肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、No.3～No.5 の脳、No.3、No.4 の髄膜拭いを材料として、5%羊血液加コロンビア寒天培地 (5%CO₂48 時間培養) 及び DHL 寒天培地 (好気 24 時間培養) で分離培養を行った。分離菌の菌種同定は、生化学的性状・簡易同定キット (アピストレップ 20 (No.1、No.2、No.5 の分離株) 及びアピストレップラピッド 32 (No.3、No.4 の分離株) : シスメックス・ビオメリユー (株))、16S リボソーム RNA 遺伝子のシーケンス解析、See 及び Sez それぞれに特徴的な遺伝子 (See は *seeH* 及び *eqbE* 遺伝子、Sez は *sorD* 及び *lacE* 遺伝子) を標的とした PCR⁵⁾ により行った。追加試験として、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) による遺伝子型別⁶⁾ (Sma I cut, 泳動条件 block1, 5.5V/cm, 2-10s, 13h; block2, 5.5V/cm, 20-25s, 6h) を行った。また、分離菌について、一濃度ディスク拡散法により、ペニシリン (PCG)、アンピシリン (ABPC)、セファゾリン (CEZ)、ゲンタマイシン (GM)、エリスロマイシン (EM)、オキシテトラサイクリン (OTC)、ドキシサイクリン (DOXY)、クロラムフェニコール (CP)、スルファメトキサゾールトリメトプリム合剤 (ST)、エンロフロキサシン (ERFX) の 10 薬剤に対する薬剤感受性試験を実施した。

IV 検査成績

1 病理学的検査

(1) 剖検所見

外貌検査では、No.1 の左上腕部に外傷が認められた (図 1 左上左)。剖検では、No.1～No.5 の肺は暗赤色を呈しており (図 2 右下)、No.3 の胸腔内臓器及び腹腔内臓器に線維素析出 (図 1 左上右、左下、図 2 左、右上)、No.3 及びNo.4 の大脳、脳に線維素の付着が認められた (図 1 右)。その他の所見は表 2 のとおりである。



図 1 剖検所見①

【左上左】 No.1 の外貌、【左上右】 No.3 の脾臓、【左下】 No.3 開腹時の様子 【右】 No.3 の脳

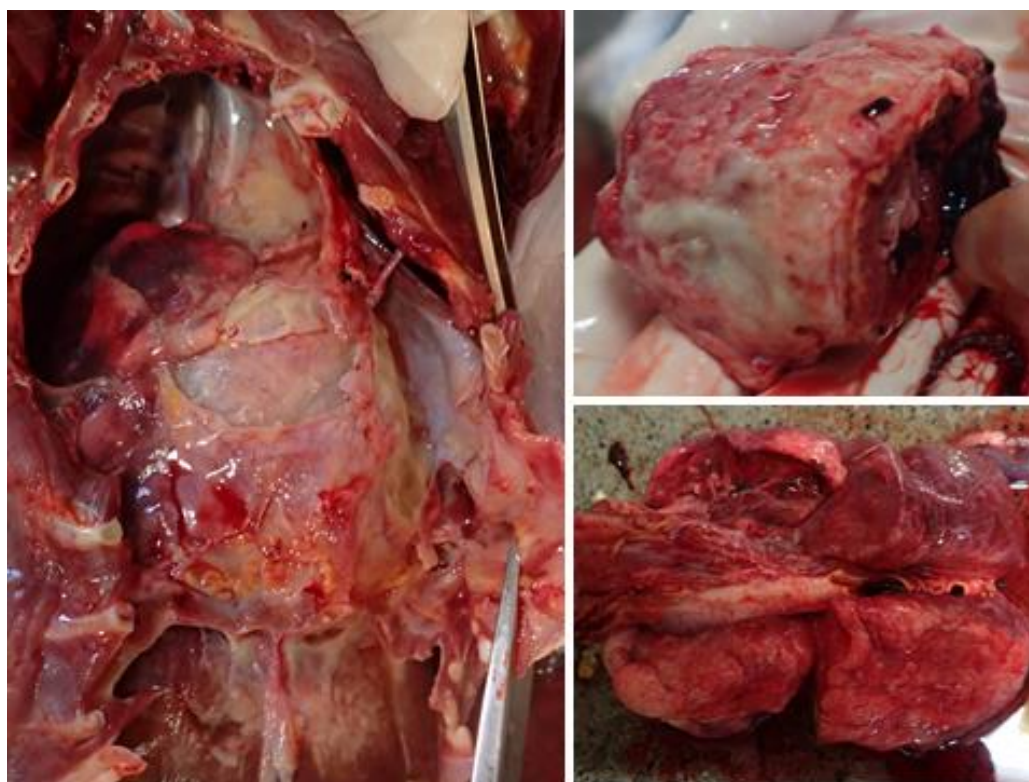


図 2 剖検所見②

【左】 開胸時の様子、【右上】 心臓、【右下】 肺 (全てNo.3)

表 2 剖検所見

部 位	所 見	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5
胸 腔	胸膜、肺、心臓が癒着	NT	NT	+++	-	NT
腹 腔	線維素付着 (卵とじ様)	NT	NT	++	-	NT
肝 臓	被膜：線維素付着	-	-	++	+	-
	腸管、横隔膜と癒着	-	-	++	-	-
脾 臓	被膜：線維素付着	-	-	+	-	-
腎 臓	著変なし	•	•	•	•	•
心 臓	心外膜に線維素付着	-	-	+++	-	-
	心内膜：僧房弁周囲に疣状物	-	-	+	-	-
肺	肺胸膜：線維素付着	-	-	+++	-	-
	退縮不全、肝変化	-	-	+++	-	-
	暗赤色	+	+	+++	+	+
消化器系	胃：内容物貯留	NT	NT	-	+	+
	十二指腸～回腸漿膜：線維素様物付着 (卵とじ様)	-	-	++	-	-
	空腸：腸壁菲薄化、水様性内容物貯留	-	-	+	+	-
	盲腸：泥状内容物貯留	-	-	-	+	-
	結腸：腸壁一部菲薄化	-	-	-	-	+
	直腸：著変なし	•	•	•	•	•
中枢神経系	大脳、小脳：髄膜に白色粘調物付着	NT	NT	+	+	-
その他	気管：著変なし	NT	NT	•	•	NT
	下顎リンパ節、腸間膜リンパ節：著変なし	NT	NT	•	•	NT
	鼠径リンパ節：腫脹	NT	NT	+	-	NT
	骨格筋 (大腿部)：著変なし	NT	NT	•	•	NT

+：軽度、++：中等度、+++：重度、NT：未検査

(2) 病理組織学的検査

HE 染色では、最も病変が顕著に認められたNo.3 で、化膿性胸膜肺炎 (図 3 左上)、化膿性心外膜炎 (図 3 左下)、大脳における化膿性髄膜炎 (図 3 右上)、肝臓における散在性の壊死巣 (図 3 右下)、肝臓及び脾臓における化膿性被膜炎、脾臓の赤脾髄への好中球浸潤がみられ、これらの臓器の炎症部には、線維素の析出が顕著に認められた。その他の病変として、No.2 では、腎臓における化膿性被膜炎、No.4 では、十二指腸から直腸にかけての化膿性漿膜炎、腸間膜リンパ節における化膿性炎が認められた。肝臓における巣状壊死は 5 頭中 4 頭、大脳における化膿性髄膜炎は 3 頭中 3 頭、化膿性胸膜炎及び化膿性肺炎は 5 頭中 2 頭でみられ、病変が形成された臓器や部位には個体差があった。No.3～No.5 の盲腸には、鞭虫の寄生がみられた。その他の詳細な所見は表 3 のとおりである。

グラム染色では、No.1～4 の諸臓器の病変部に浸潤しているマクロファージ細胞質内や肺胞腔において、グラム陽性球菌が認められた (図 4 左)。2 種類の血清を用いた免疫組織化学的検査では、病変部のマクロファージ細胞質内に陽性反応が認められた (図 3 右上：抗 M-Like 蛋白質 SzPSe 兎血清使用、右下：抗 *Streptococcus C* 群兎血清使用)。

PAS 反応では、No.3～No.5 に真菌の菌糸は認められなかった。

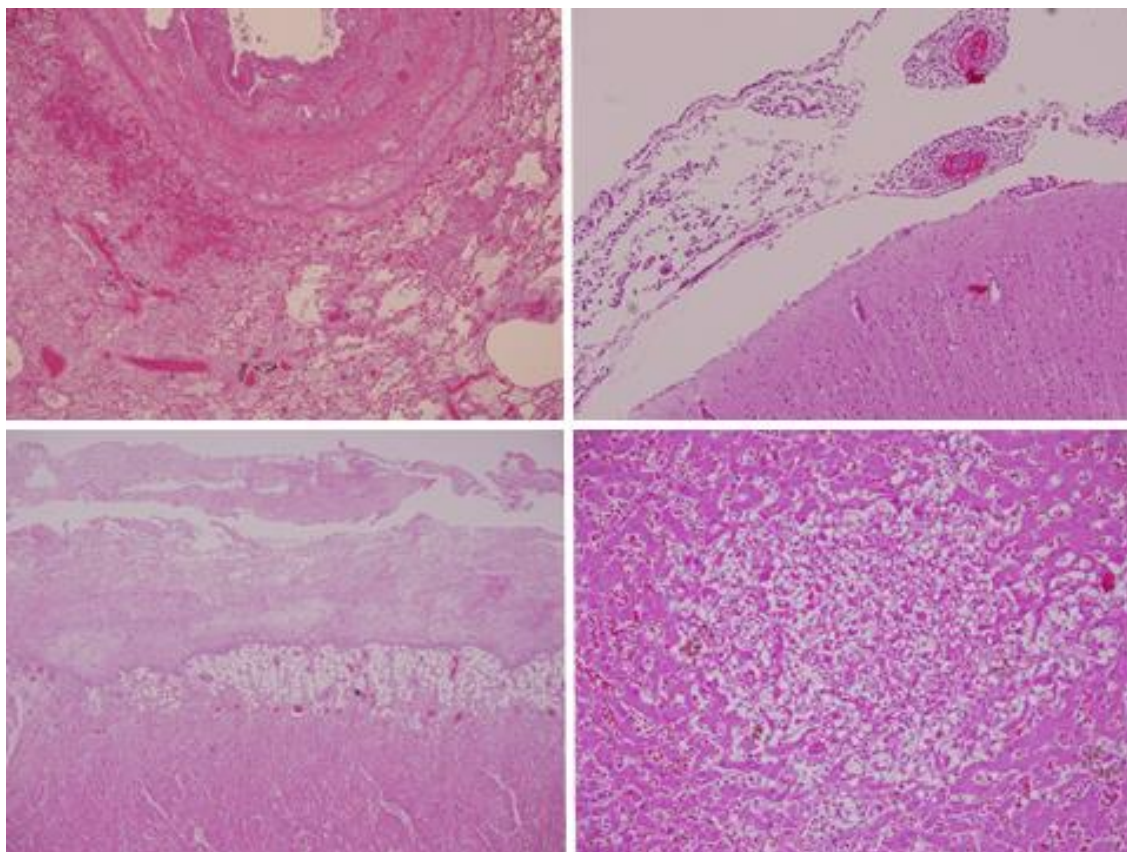


図 3 HE 染色

【左上】肺、【左下】心臓、【右上】脳、【右下】肝臓（全てNo.3）

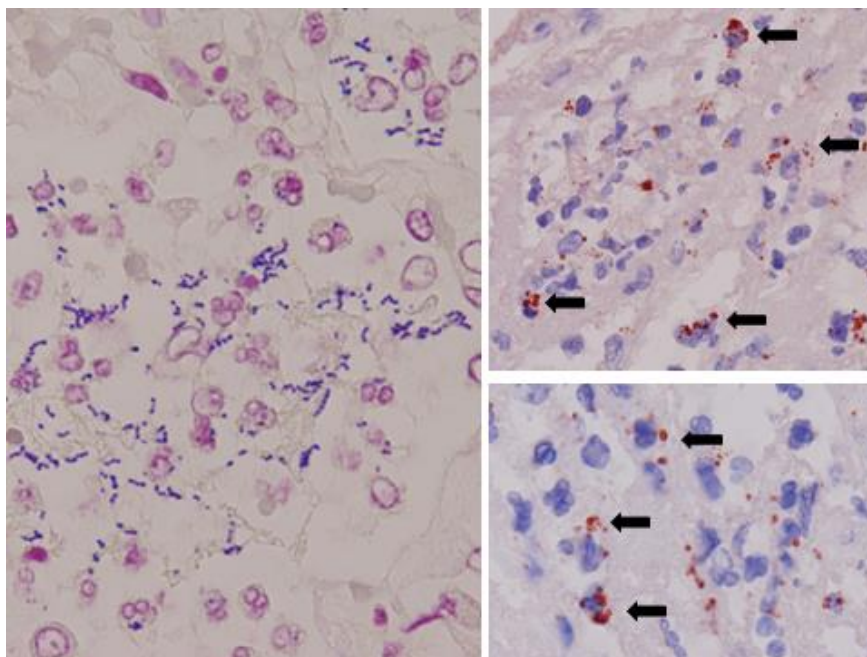


図 4 グラム染色及び免疫組織化学的検査

矢印は陽性反応を示す

表 3 病理組織所見

○HE 染色

部 位	組 織 変 化	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5
肝 臓	死後変化	+++	+++	+	-	++
	巣状壊死	-	+	++	+	+
	グリソン鞘：周囲にマクロファージ、リンパ球浸潤	+	-	++	++	-
	被膜：マクロファージ、リンパ球、好中球浸潤、線維素析出	-	-	+++	-	-
脾 臓	赤脾髄：好中球浸潤	-	-	++	-	-
	白脾髄：マクロファージ浸潤、線維素析出	-	-	+	-	-
	被膜：マクロファージ、好中球浸潤、線維素析出	-	-	++	-	-
腎 臓	死後変化	+++	+++	++	-	+
	腎乳頭部の集合管：管内に菌塊	-	-	-	++	-
	腎杯：移行上皮皮下織に好中球浸潤、線維素析出	-	-	-	++	-
	弓状動脈：周囲にリンパ球浸潤	-	-	-	++	-
心 臓	被膜：好中球、マクロファージ浸潤、菌附着	-	+	-	-	-
	死後変化	++	++	-	-	-
	心外膜：肥厚、線維素析出、マクロファージ、好中球浸潤	-	-	+++	-	-
肺	左心室：心筋に巣状壊死、中心部に菌塊（1か所）	-	-	+	-	-
	死後変化	+++	+++	+	-	-
	肺胸膜：線維素析出、マクロファージ、好中球浸潤	+	-	+++	-	-
	肺胞：腔内にマクロファージ、好中球浸潤	-	-	++	++	-
	：泡沫状マクロファージ浸潤	-	-	-	++	-
	：漿液貯留	++	++	++	++	-
中枢神経系	：出血	-	-	+	-	-
	肺門リンパ節：マクロファージ、好中球浸潤	NT	NT	+	+	-
	脳、脊髄：死後変化	NT	NT	+	-	+
	大脳：髄膜に好中球、マクロファージ浸潤、線維素析出	NT	NT	+	+	+
	胃：粘膜固有層にマクロファージ浸潤	NT	NT	+	•	-
	十二指腸～直腸：死後変化	NT	NT	+	-	+++
	：粘液分泌亢進	NT	NT	++	++	+++
	：漿膜に好中球浸潤、線維素析出	NT	NT	-	++	-
	十二指腸～回腸：絨毛のリンパ管拡張	NT	NT	-	+++	-
	：粘膜固有層～粘膜下組織にマクロファージ、好中球浸潤、菌塊	NT	NT	-	+++	-
消化器系	回腸：パイエル板に類上皮細胞浸潤	NT	NT	+	-	-
	盲腸：鞭虫寄生、固有層にマクロファージ、好酸球浸潤	NT	NT	++	++	++
	：リンパ濾胞増生、類上皮細胞浸潤	NT	NT	-	++	-
	結腸：リンパ濾胞に類上皮細胞浸潤	NT	NT	+	-	-
	腸間膜リンパ節：マクロファージ、好中球浸潤	NT	-	+	++	NT
	：類上皮細胞浸潤	NT	-	-	+	NT
その他	：被膜に好中球、マクロファージ浸潤	NT	-	-	++	NT
	気管：著変なし	NT	NT	•	•	NT
	下顎リンパ節：著変なし	NT	NT	NT	•	NT
	鼠径リンパ節：著変なし	NT	NT	•	•	NT
	大腿筋：著変なし	NT	NT	•	•	NT
	皮膚：著変なし	NT	NT	•	•	NT

NT：未検査

○グラム染色

部 位	組 織 変 化	No.1	No.2	No.3	No.4
腎 臓	腎乳頭部の菌塊と一致してグラム陽性球菌	NT	+++	NT	++
心 臓	心外膜炎部にグラム陽性球菌	NT	NT	++	NT
肺	肺胸膜にグラム陽性球菌（一部肺胸膜炎の病変部と一致）	++	NT	++	-
	肺胞腔にグラム陽性球菌	-	NT	++	-
空 腸	リンパ濾胞及び漿膜炎部にグラム陽性球菌	NT	NT	NT	++
回 腸	漿膜炎部にグラム陽性球菌	NT	NT	NT	++

+：軽度、++：中等度、+++：重度、NT：未検査

2 細菌学的検査

(1) 細菌分離成績

No.1～No.5 の諸臓器からグラム陽性球菌が分離され、これらは簡易同定キットにより Sez と推定された（プロファイル番号は、アピストレップ 20：0461607、アピストレップラピッド 32：35410061171）。No.1～No.5 の分離株の 16S リボソーム RNA 遺伝子のシーケンス解析では、部分塩基配列（1,509 bp）は 100%一致した。細菌の

菌種の分類基準として、ある菌株の 16S リボソーム RNA 遺伝子配列が、基準株の配列と 98.5%以上一致する場合、基準株と同様である可能性が高い。今回分離した株の 16S リボソーム RNA は、See の基準株と 99.86% (1,474/1,476 bp)、Sez の基準株と 98.88% (1,416/1,432 bp) 一致し、98.5%以上の配列類似性を示した。さらに、See 及び Sez それぞれに特徴的な遺伝子を標的とした PCR では、Sez に特徴的な遺伝子を増幅したため、No.1~No.5 の分離株は Sez と同定された。その他に、No.2 の諸臓器から *E. coli* が分離された。各個体の細菌分離状況は表 4 のとおりである。

表 4 細菌分離成績

No.	肝	脾	腎	心	肺	脳	髄膜拭い
1	++ ^①	+++ ^①	++ ^①	++ ^①	+ ^①	NT	NT
2	++ ^① 、+ ^②	+++ ^① 、+ ^②	++ ^① 、+ ^②	++ ^①	+++ ^① 、++ ^②	NT	NT
3	+ ^①	++ ^①	-	+ ^①	-	-	-
4	+++ ^①	++ ^①	+++ ^①	-	+ ^①	+ ^①	++ ^①
5	++ ^①	++ ^①	++ ^①	-	+ ^①	++ ^①	NT

備考 ① *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*
 ② *E. coli*
 NT : 未検査

(2) 遺伝子型別

Sez と同定された No.1~No.5 の分離株は、PFGE で全て同一パターンを示した(図 5)。

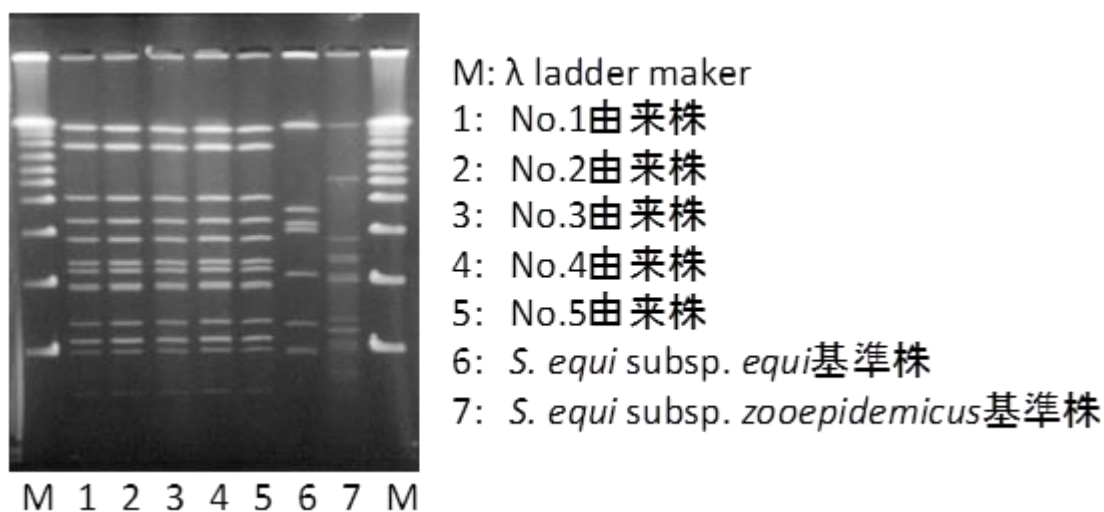


図 5 分離株のバンドパターン

(3) 薬剤感受性試験

Sez と同定されたNo.1～No.5 の分離株は、多くの薬剤に感受性を示した (表 5)。

表 5 薬剤感受性試験成績

由来	PCG	ABPC	CEZ	GM	EM	OTC	DOXY	CP	ST	ERFX
No.1 脾	S	S	S	S	S	S	I	S	I	I
No.2 脾	S	S	S	S	S	S	I	S	I	I
No.3 脾	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S
No.4 脾	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S
No.5 大脳	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

S : 感受性 I : 中間

V まとめと考察

5 頭の諸臓器において、病理組織学的検査でグラム陽性球菌を伴う化膿性炎症がみられ、2 種類の抗体を用いた免疫組織化学的検査では、病変部に陽性抗原が認められた。細菌学的検査で 5 頭の諸臓器から Sez が分離されたことから、5 頭を Sez 感染症と診断し、遺伝子型別により同一株が施設内のサル群に広がったものと推察した。

当該施設では、発症が疑われる個体を隔離し、抗生物質による治療を行った。隔離個体については、管理獣医師が民間の検査機関に鼻汁の細菌学的検査を依頼し、Sez 分離陰性を確認した後、サル群へ戻した。また、サル山、飼育舎等の消毒の回数を増やし、飼育員は飼育舎毎の着衣変更を行った。一方、飼育員への感染防止のため、手袋とマスク着用、手洗いについても徹底した。以上の対策により発生は終息した。

サルのSez感染症は、単独発生、集団発生事例ともに報告されている^{3, 7)}。当該群では、秋から頻繁に繁殖期の競争が観察されており、そのストレスで群全体の免疫が低下していたことが集団発生の一因と考えられた。また、サルのSez感染症の過去の事例では、本菌の感染経路は、感染馬肉^{8, 9)}、感染豚¹⁰⁾等との接触によると報告されている。今回、本菌のサルへの感染経路は特定されなかったが、本菌が馬からヒトに感染し、重症化した事例¹¹⁾が確認されている。これらのことから、Sez感染症の発生時には、適切な治療や飼育施設の消毒とともに、ヒトへの感染防止についても注意して対応する必要があると考えられる。

VI 謝辞

菌種同定及び遺伝子型別を実施していただいた、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門 細菌・寄生虫研究領域病原機能解析ユニットの高松大輔先生、大倉正稔先生、免疫組織化学的検査を実施していただいた、国立研

究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門 病態研究領域病理ユニットの山本佑先生に深謝いたします。

VII 参考文献

- 1) 佐藤久聡 (2008), Family *Streptococcaceae*, 動物微生物学 (明石博臣ほか編), 朝倉書店, 214-216.
- 2) 社団法人 中央畜産会 (2011), 腺疫 (第 3 版)
- 3) K. Mätz-Rensing, et al. (2009) Outbreak of *Streptococcus equi* subsp. *zoepidemicus* infection in a group of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*), J. Med. Primatol 38, 328-334.
- 4) Timoney JF et al. (1997) Comparison of the sequences and functions of *Streptococcus equi* M-like proteins SeM and SzpSe, Infect Immun 65(9), 3600-3605.
- 5) Matthew T. G. Holden et al. (2009) Genomic Evidence for the Evolution of *Streptococcus equi*: Host Restriction, Increased Virulence, and Genomic Exchange with Human Pathogens, PLoS pathogens 5(3)
- 6) Soedarmanto I, et al. (1996) Identification and molecular characterization of serological group C streptococci isolated from diseased pigs and monkeys in Indonesia, J Clin Microbiol, 34, 2201-2204.
- 7) 野中滯里ほか (2017), アカゲザル (*Macaca mulatta*) の致死的 *Streptococcus equi* subspecies *zoepidemicus* 感染症の 1 例, JVM, Vol. 70 No. 4, 257-258.
- 8) Montali RJ (1997) Diseases of zoo marmosets, tamarins and Goeldi's monkeys. Proc Amer Assoc Zoo Vets Ann Meet 1994, Pittsburgh, PA, 237-240.
- 9) Schiller CA, et al. (1989) *Streptococcus zoepidemicus* infections of possible horsemeat source in red-bellied tamarins and Goeldie's monkeys, J Zoo Wildl Med 20, 322-327.
- 10) Salasia SI, et al. (2004) Persistent occurrence of a single *Streptococcus equi* subsp. *zoepidemicus* clone in the pig and monkey population in Indonesia, J Vet Sci 5, 263-265.
- 11) Sinikka Pelkonen, et al. (2013) Transmission of *Streptococcus equi* subspecies *zoepidemicus* infection from horses to humans, Emerging infectious diseases 7, 1041-1048.