

10. 子牛の *Streptococcus parasuis* と *Streptococcus suis* 様菌

感染症

大分家畜保健衛生所・豊後大野家畜保健衛生所¹⁾

○病鑑 磯村美乃里・波津久香織¹⁾・病鑑 大木万由子

【緒言】

Streptococcus (以下 *S.*) *parasuis* はグラム陽性通性嫌気性球菌のレンサ球菌属に属し、2015年に *S. suis* から独立・再分類された新しい菌種である。子牛での詳細な感染報告はなく、その病原性や病原因子に関する知見は少ない。

S. suis は、主に豚で、髄膜炎、敗血症、心内膜炎などを引き起こすことが知られている[1]。それに対して、牛への感染報告はごく稀である。人獣共通感染症としても重要であり、豚から人への感染報告はあるが、牛から人への感染報告は1例のみ[3]で、その可能性は危惧されるものの詳細は明らかとはなっていない。また、以前から35種類の血清型(1~34型及び1型と2型の抗血清の両方に反応する1/2型)に型別されていたが、近年、一部の血清型が別菌種として再分類された。すなわち、2015年に血清型20、22及び26参照株が *S. parasuis*[9]、2017年に血清型33参照株が *S. ruminantium*[18]、2005年に血清型32及び34参照株が *S. oristatti*[2]とされた(以下「*S. suis* 様菌」)。これら *S. suis* 様菌のうち、特に牛の *S. parasuis* の報告は少なく不明な点が多い。近年、*S. ruminantium* 感染症の報告は出始めている[14]のに対して、*S. parasuis* 感染症は、乳房炎の症例[7]と、血清型20株として分離された髄膜炎の症例が1例のみ[8]であり、子牛への病原性について詳細に報告したものはない。

S. suis の病原因子については、莢膜多糖類が重要な役割を果たすと言われている[10]が、不明な点も多い。また、病原性のある株はムラミダーゼ放出タンパク、細胞外タンパク質因子、スイリシンを持っており、これらは病原性のない株では欠損しているとの報告がある[15, 21, 22, 23]一方、これら以外にも病原性に関与すると考えられる因子の報告が複数ある[4]。ところが、牛に感染する *S. suis* 様菌の病原因子に関する報告はこれまでに無い。

2020年1月、大分県において、敗血症の子牛から分離された *S. suis* 様の菌が *S. parasuis* と同定された症例に遭遇した。これは豚や人で報告されている *S. suis* の病態[1]と類似していた。本報ではその症例について報告するとともに、大分県内でこれまでに発生していた牛レンサ球菌感染症について再度株の精査を行ったので、その結果についても報告する。

【材料及び方法】

発生概要： 当該牛は2020年1月15日生まれの黒毛和種1頭(症例1)で、1週間早く娩出され、半日は起立できなかった。初乳は摂取していた。その後13日齢時に視力異常や

下痢がみられたことから治療を断念、翌日鑑定殺され、病性鑑定に供された。なお、同居牛に異常はみられなかった。

細菌学的検索：対象牛を定法に従い剖検後、肺、心、肝、脾、腎、脳、脊髄及び眼球をブレインハートインフュージョン寒天培地(Becton, Dickinson and Co., Franklin Lakes, NJ, U. S. A.)を基礎培地とした 5%羊血液寒天培地及び deoxycholate-hydrogen sulfide-lactose (DHL)寒天培地(栄研化学株式会社、東京)に接種し、5%CO₂及び嫌気性下・37°Cで一晩培養した。有意に分離されたレンサ球菌属について、市販同定キット(アピストレップ20、ピオメリユー・ジャパン株式会社、東京)を用いた生化学性状試験及び16S rRNAのダイレクトシーケンス解析による菌種同定、ならびに*S. suis* 菌種特異的PCR[5]、*S. suis* 血清型別推定PCR[13]を実施した。

また、2009～2020年に大分県内で病理解剖された牛から分離されたレンサ球菌属のうち、市販同定キットで*S. suis*と同定されたもの(症例2～4)について、菌種特異的PCR法及び16S rRNAのダイレクトシーケンス解析により菌種同定を行った。

遺伝子学的検索：分離菌のDNA抽出には、InstaGene Matrix (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)を製造元の指定に従って用いた。PCR法は、TaKaRa Ex Taq polymerase (Takara Bio Inc., Kusatsu, Japan)もしくはKOD FX (TOYOBO Inc., Japan)を製造元の指定に従って用いた。PCR産物は、2%アガロースゲル電気泳動後にGelRed Nucleic Acid Gel Stain (10000×), in DMSO (Biotium, Inc.)で染色した。

シーケンシングは、PCR産物をQIAquick PCR purification kit (Qiagen)を用いて製造元の指定に従って精製し、BigDye Terminator v3.1 cycle sequencing kit (Applied Biosystems)と3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)を用いて行った。

なお、菌種特異的PCR法やシーケンス反応に用いたPCR法などで用いたプライマーは、表2～4及び図1～2に示した論文で報告されているものを用いた。

マルチプレックスPCR：過去の菌株の検索の結果、子牛から分離されるレンサ球菌属には、*S. suis*、*S. parasuis*、*S. ruminantium*、*S. gallolyticus*があることがわかった(データには示していない)ため、これらを一度に識別できるマルチプレックスPCRの系を作成し

表1 症例結果まとめ

農場	症例1	症例2	症例3	症例4
発生年月日	令和2年1月	平成28年2月	令和2年2月	令和2年1月
発生時の日齢	14	11	11	34
レンサ球菌属が分離された臓器	脳 腎臓	脳 脳脊髄液	肺 心臓	肺
市販同定キットの結果(レンサ球菌属)	<i>S. suis</i> II (アピ20ストレップ)	<i>Streptococcus</i> sp.* (アピ20ストレップ)	<i>S. suis</i> II (アピ20ストレップ)	<i>S. suis</i> II (アピ20ストレップ)
分離されたレンサ球菌属の同定結果	<i>S. parasuis</i> (種特異的PCR ・16S rRNA遺伝子解析) 大脳皮質と側脳室に膿瘍	<i>S. parasuis</i> (種特異的PCR ・16S rRNA遺伝子解析) 脳室内脳脊髄液の増量	<i>S. ruminantium</i> (種特異的PCR ・16S rRNA遺伝子解析) 左側腰部皮下に膠様物	<i>S. ruminantium</i> (種特異的PCR ・16S rRNA遺伝子解析) 被毛粗剛・削瘦
剖検	脳脊髄液の混濁	右後脚股関節液増量	肺の出血	肺左側中・後葉の一部が暗赤色肝変化
病理組織学的検査	心臓左右心室の房室弁に 疣状腫瘤 左右の眼球の混濁	化膿性脳室炎 ・髄膜脳脊髄炎	化膿性線維索性肺炎 心筋の菲薄化	線維素化膿性気管支肺炎
	化膿性脳室炎・髄膜脳炎		側脳室拡張	

*アピ20ストレップ結果：*Streptococcus equinus* (98.1% ID)、もしくは*S. pneumoniae* (94.8% ID)

た。

病理組織学的検索：剖検後、肺、心、肝、脾、腎、大脳、小脳、脳幹、脊髄、下垂体、骨格筋及び眼球を10%中世緩衝ホルマリン液で固定後、定法によりヘマトキシリン・エオジン（HE）染色及びグラム染色標本を作製し鏡検した。

ウイルス学的検索：症例2、3、4について、大脳、脳幹部、脳脊髄液、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓を材料とし、牛伝染性鼻気管炎ウイルス（BHV-1）、牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）、アカバネウイルス（AKAV）、アイノウイルス（AINOV）、ピートンウイルス（PEAV）の各ウイルス遺伝子を特異的に増幅させるプライマーペアを用いたRT-PCR検査もしくはPCR検査を実施した。

表2a 分離菌の *Streptococcus suis* 血清型グループ推定PCR*結果

<i>S. suis</i> の血清型グループ (グループに属する血清型)	症例1		症例2		症例3	症例4
	脳膿瘍 由来株	腎臓 由来株	脳由来株	脳脊髄液 由来株	肺 心臓	肺
group I (3, 13, 18)	-	-	-	-	-	-
group II (1, 2, 1/2, 6, 14, 16, 27)	-	-	-	-	-	-
group III (21, 28, 29, 30)	-	-	-	-	-	-
group IV (4, 5, 7, 17, 19, 23)	-	-	-	-	-	-
group V (8, 15, 20, 22, 25)	-	-	-	-	-	-
group VI (9, 10, 11, 12, 24, 26, 33)	+ ^w	+ ^w	+ ^w	+ ^w	-	-
group VII (31, 32, 34)	-	-	-	-	-	-

【成績】

剖検所見：結果のまとめを表1に示す。症例1では、大脳皮質と側脳室内に膿瘍、脳脊髄液の混濁、心臓左右心室の弁基部に5mm程度の疣状腫瘤、肝臓実質に2~3mm程度の白斑の散在、左右の眼球の混濁がみられた。なお、肺・腎臓・脾臓・第一胃~直腸には異常はみられなかった。

細菌学的検索：結果のまとめを表1に、遺伝子検査のまとめを表2及び3に示す。症例1で腎臓及び脳室内膿瘍から分離された菌は、アピストレップ20で *Streptococcus suis* II (97.8% ID) と判定されたが、*S. suis* 血清型別推定PCRを行った結果、いずれの血清型にも型別できなかった(表2)。*S. suis* 菌種特異的PCRの結果、glutamate dehydrogenase 遺伝子 (*gdh*) は陽性、the recombination/repair protein-coding 遺伝子 (*recN*) は陰性であった(表3)。16S rRNA のダイレクトシーケンシス解析の結果、*Streptococcus parasuis* の基準株の配列と100%の一致率を示したことから、*S. parasuis* と同定された。なお、ホルマリン固定パラフィン包埋標本からDNAを抽出し、*S. parasuis* 特異的PCR法を実施した結果、菌分離がみられなかった心臓からも明瞭な遺伝

表2b 分離菌の *Streptococcus suis* 血清型別PCR*結果

<i>S. suis</i> 血清型別		脳膿瘍 由来株	腎臓 由来株
cps group	cps types		
group V	20	-	-
	22	-	-
	9	-	-
	10	-	-
	11	-	-
group VI	12	-	-
	24	-	-
	26	-	-
	33	-	-

-: 増幅なし、+^w: ごく弱い増幅がみられた

表3 症例1の各菌種特異的PCR結果

菌種(標的遺伝子)	脳膿瘍 由来株	腎臓 由来株
<i>S. suis</i> (<i>gdh</i>) ¹⁾	+	+
<i>S. suis</i> (<i>recN</i>) ²⁾	-	-
<i>S. agalactiae</i> (16S rRNA gene) ³⁾	-	-
<i>S. dysgalactiae</i> (16S rRNA gene) ³⁾	+	+
<i>S. ruminantium</i> (16S rRNA gene) ⁴⁾	-	-
<i>S. galloyticus</i> (<i>sodA</i>) ⁵⁾	-	-
<i>S. parasuis</i> (<i>recN</i>) ⁶⁾	+	+

1) Ogi Okwumabua et al., FEMS Microbiology Letters, 2003, 218(1):79-84.

2) Ishida et al., J. Microbiological Methods, 2014, 107:66-70.

3) R. Riffon et al., J. Clin. Microbiol., 2001, 39(7):2584-9.

4) Okura et al., Vet. Res., 2019, 50:94.

5) Sasaki et al., J. Clin. Microbiol., 2004, 42(3):1360-2.

6) Yamada, et al., J. Vet. Med. Sci., 2008, 80(7):1101-7.

子増幅がみられた (図 1)。2009～2020 年の牛レンサ球菌症の症例 (症例 2～4) の結果を表 1 に示す。症例 2 の脳・脳脊髄液から分離されたレンサ球菌属 (アピ 20 ストレップ; *Streptococcus equinus* 98.1% ID, もしくは *S. pneumoniae* 94.8% ID) は、16S rRNA のダイレクトシークエンス解析と菌種特異的 PCR 法により *S. parasuis* と同定された。症例 3 の肺・心臓から分離された、アピ 20 ストレップで *Streptococcus suis* II (99.5% ID) と判定された菌は、16S rRNA のダイレクトシークエンス解析及び菌種特異的 PCR 法により *S. ruminantium* と同定された。症例 4 の肺から分離された、*Streptococcus suis* II (アピ 20 ストレップ; 99.7%) は、16S rRNA のダイレクトシークエンス解析と菌種特異的 PCR 法を行った結果、*S. ruminantium* と同定された。これら症例 2～4 から分離された *S. suis* 様菌の *S. suis* 血清型別推定 PCR [13] を行った結果、いずれの血清型にも型別できなかった (表 2)。

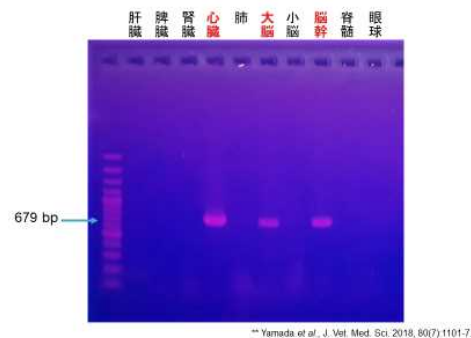


図1 パラフィン包埋標本抽出DNAを用いた *S. parasuis* 特異的PCR**結果

病原因子遺伝子検索: 症例 1～4 から分離された *S. suis* 様菌株について、*S. suis* で病原性との関連が示唆されている遺伝子の PCR 検索 [12, 16, 17, 19] を行った結果、すべての株から、*arcA* 遺伝子が検出された (表 4)。

マルチプレックス PCR: 図 2 に示すように、すべての株が明瞭に検出可能であった。

病理組織学的検索: 結果のまとめを表 1 に示す。症例 1 では、側脳室内に膿瘍、化膿性脳室炎・髄膜脳炎、心臓房室弁の疣贅性心内膜炎、眼球の化膿性炎などがみられた (図 3a)。脳及び心臓のグラム染色をしたところ、グラム陽性菌が多量にみられた (図 3b)。症例 2 では、化膿性脳室炎・髄膜脳脊髄炎などがみられた。症例 3 では、線維素化膿性気管支肺炎などがみられた。症例 4 では、骨格筋線維の壊死・断裂、化膿性線維素性肺炎、側脳室拡張がみられた。

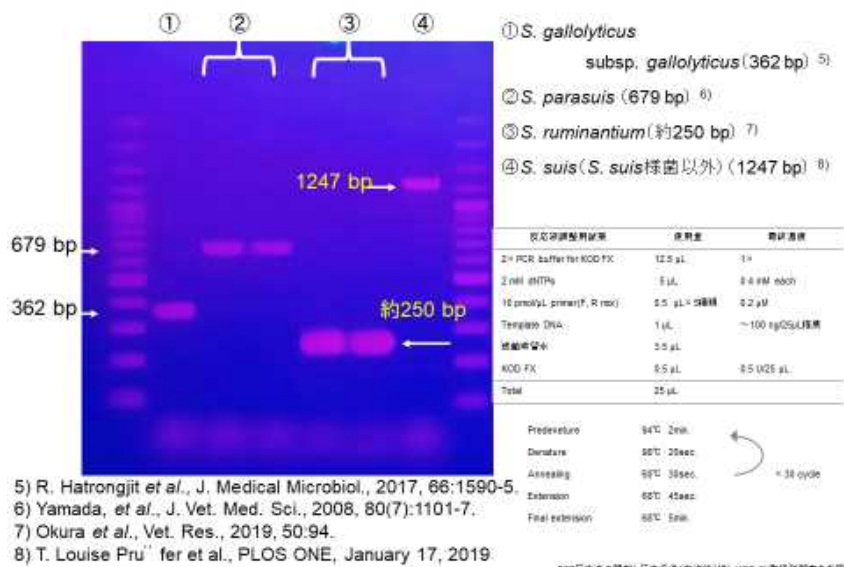


表4分

図2 4菌種特異的プライマーを用いたマルチプレックスPCR

標的遺伝子	<i>S. parasuis</i>	<i>S. ruminantium</i>
莢膜多糖体合成遺伝子		
cps1J ⁷⁾	-	-
cps2J ⁷⁾	-	-
cps7J ⁷⁾	-	-
cps9J ⁷⁾	+ ^{w*}	-
線毛関連遺伝子		
sbp2 ¹¹⁾	-	-
sep1 ¹¹⁾	-	-
sgp ¹¹⁾	-	-
毒素・酵素類		
ofs ⁷⁾	-	-
sly ⁷⁾	-	-
arcA ⁷⁾	+ ^w	+ ^w
arcA ⁸⁾	+ ^{**}	+ ^{**}
その他		
epf ¹²⁾	-	-
mrp ⁷⁾	-	-

+ 増幅あり +w : ごく弱い増幅 - 増幅なし

* 腎臓由来株のみ ** 塩基配列確認済

7) MS Princivali et al., Euro. Surveill., 2009, 14(33). 8) Ogi Okwumabua, et al., J. Vet. Diag. Inv., 2017, 29(2):160-8. 11) 高松大輔, 日獣会誌, 2011, 61:600-3. 12) Takamatsu et al., J. Med. Microbiol., 2008, 57, 488-94.

【考 察】

症例 1 及び 2 の結果、*S.*

parasuis が子牛で心内膜炎や髄膜脳炎を起こすことが示された。また、大分県でこれまでに牛から分離され、市販同定キットの結果、「*S. suis*」、「菌種名不明のレンサ球菌属」と判定されたものは、いずれも *S. parasuis* と *S. ruminantium* であることがわかった。よって、これら牛に病原性を示す *S. parasuis* と *S. ruminantium* の株は *arcA* を保有する可能性が示唆された。

S. suis は主に豚の病原菌だが、その他の動物、例えば牛、山羊、馬、犬、猫からも分離されることがあり、幅広い宿主域を持つと考えられている。牛からの分離は稀であるため、牛由来株の病原因子については詳細には調べられていなかった。そこで、今回、大分県内の病牛由来 *S. suis* 様菌株について、豚に感染する *S. suis* の病原因子遺伝子の検索を PCR 法を用いて行ったところ、*S. suis*

の豚由来株で病原因子として注目されている arginine deiminase 遺伝子 (*arcA*) が検出された。*arcA* を検出できる PCR 法については、豚由来株では検出できるプライマーを用いても、牛由来株の殆どからは検出できないと報告されている [12]。今回の我々の検索でも、豚由来株で検出できるプライマーを用いても明瞭には検出できず、ごく弱い増幅がみられ (表 2a)、同一のプライマーを用いて nested-PCR を実施すると明瞭なバンドが検出された (データには示していない)。そこで、Ogi Okwumabua らの報告 [12] にて牛由来 *S. suis* 株を検出するのに最適と報告されているプライマーを用いたところ、明瞭な特異的増幅がみられた。得られた PCR 産物について、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定したところ、*S. parasuis* 株については、BLAST 検索の結果相同性が高いものが 2 株見付き、*Streptococcus suis* 10-36905 株の *arcA* 遺伝子の配列との相同性が 99.8% の一致率と最も高く、*S. parasuis* 4253 株の *arcA* 遺伝子の配列との一致率は 97.4% であった。また、*S. ruminantium* 株についても *arcA* が検出され、症例 3 および症例 4 の肺由来 *S. ruminantium* 株から増幅された PCR 産物の塩基配列は、*S. ruminantium* 基準株の *arcA* 遺伝子配列とそれぞれ 99.8% および 99.4% 一致した。*S. parasuis* の *arcA* についてはまだ詳細に調査されておらず、本報がその病原性の可能性を示唆した最初の報告であると言える。言うまでもなく、今回調査した遺伝子以外にも重要な病原因子が存在する可能性があるし、調査した遺伝子の中にも重要な遺伝子が存在する可能性は否定できないため、今後多くの症例について調査することにより、より詳細な情報を得られる可能性がある。

ArcA は、豚の *S. suis* 株において病原性に関与すると報告されている [24]。例えば、ArcA は酸性条件下で酵素活性が高まると報告されている [6]。また、*otc* は arginine

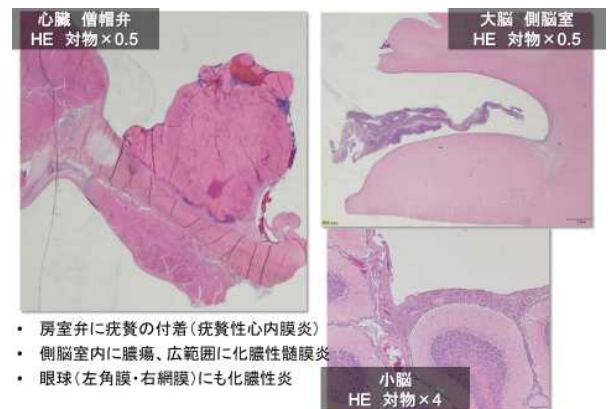


図3a 病理組織学的検査結果

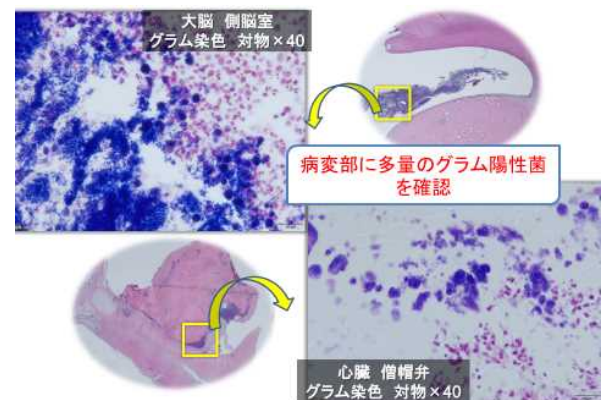


図3b 病理組織学的検査結果

deiminase system の *arcB* に関連しており、細胞接着性とバイオフィーム形成に関与すると言われ、その欠損株では病原性が低下したことが報告されている [25] ことから、*arcA* に変異や欠損がみられると、arginin deiminase pathway が機能しない可能性があり、このことと関連する可能性がある。

今回、症例 1 と 2 の子牛から分離された *S. parasuis* 株について、*S. suis* の血清型別 PCR を実施したところ、どの血清型別にも型別できなかった。また、過去に県内で分離されたすべての *S. suis* 様菌株についても、同様の血清型別 PCR 法を用いても型別できなかった。2015 年に、*S. suis* の血清型 20、22 及び 26 参照株が *S. parasuis* として再分類されたが、これら血清型に限らず、未知の血清型についても *S. parasuis* と同一菌種のものがある可能性が示唆された。

また、病理組織学的検査の結果、*S. parasuis* 感染牛では、化膿性脳室炎・髄膜脳炎及び化膿性脳室炎・髄膜脳脊髄炎がみられた。さらに、*S. ruminantium* による子牛の敗血症の報告によると、今回の症例と同様の化膿性脳室炎・髄膜脳脊髄炎がみられている [20]。これらのことから、菌の侵入門戸の特定には至らないものの、脳脊髄液を介して感染が成立し、菌が血中から全身に巡り、心臓の房室弁にも定着した可能性も示唆された。なお、症例 1 には死亡前の稟告に下痢もあったが、剖検にて消化管には異常はみられず、死亡との因果関係がある可能性は低いと考えられた。

S. suis 様菌は、市販の簡易同定キットでは *S. suis* と判定され、生化学性状は *S. suis* と酷似しているが、DNA-DNA ハイブリダイゼーションや、次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析の結果から、*S. suis* とは異なる菌種とされた。大分県内で過去に分離された、牛レンサ球菌症の株を再検索したことにより、それらはすべて *S. parasuis*、*S. ruminantium*、*S. gallolyticus* であることがわかった（データには示していない）。しかし市販の簡易同定キットではこれらはしばしば誤同定される可能性があり（表 1 参照）、迅速かつ正確な診断方法が必要と考えられた。そこで、これら菌種を一度に識別できるマルチプレックス PCR 法を確立したことにより、牛のレンサ球菌の迅速同定が可能となった。

以上に述べたように、*S. parasuis* や *S. ruminantium* については、新しい菌種であるためその病原性や病原因子についての知見は少なく、本報告はその貴重な報告と言える。

【結 語】

急死した子牛から *S. parasuis* が分離された症例で、人や豚の *S. suis* と類似した心内膜炎や髄膜炎がみられ、また *S. suis* で病原因子であることが示唆されている *arcA* 遺伝子が検出された。なお、豚で病原因子として疑われている遺伝子のそれ以外のものについては検出されなかった。この PCR 産物の塩基配列を確認したところ、*S. parasuis* の *arcA* と確認した。*arcA* は、過去に大分県内で分離された *S. suis* 様菌 (*S. parasuis* 及び *S. ruminantium*) からも検出された。このことから、*arcA* がその病原因子の一つである可能性が示唆された。

【参考文献】

- [1]B. Haasa, D. Grenierab. Understanding the virulence of *Streptococcus suis*: A veterinary, medical, and economic challenge. *Medecine et Maladies Infectieuses* 2018 May 48;3:159-166
- [2]Janet E Hill et al. Biochemical analysis, cpn60 and 16S rDNA sequence data indicate that *Streptococcus suis* serotypes 32 and 34, isolated from pigs, are *Streptococcus orisratti*. *Vet Microbiol.* 2005 Apr 25;107(1-2):63-9.
- [3]石垣和慶ら. 感染症学雑誌 2009 Sep 83(5):544-8.
- [4]Marita Meurer et al. Role of Bacterial and Host DNases on Host-Pathogen Interaction during *Streptococcus suis* Meningitis. *Int J Mol Sci.* 2020 Aug 21(15)
- [5]Ishida et al. Development of an appropriate PCR system for the reclassification of *Streptococcus suis*. *J. Microbiological Methods* 2014 107:66-70.
- [6]Krissana Maneerat et al. Expression and Characterization of Serotype 2 *Streptococcus suis* Arginine Deiminase *J Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2017 27(3):133-146.
- [7]Marc J. A. Stevens et al. Draft Genome Sequence of *Streptococcus parasuis* 4253, the First Available for the Species. *Microbiol Resour Announc.* 2019 8(18):e00203-19.
- [8]Kataoka et al. The epidemiological studies of *Streptococcus suis* infections in Japan from 1987 to 1991. *J. Vet. Med. Sci.* 1993 55(4):623-4.
- [9]R. Nomoto et al. Reappraisal of the taxonomy of *Streptococcus suis* serotypes 20, 22 and 26: *Streptococcus parasuis* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2015 65:438-443
- [10]Jacek Dutkiewicz et al. *Streptococcus suis*: a re-emerging pathogen associated with occupational exposure to pigs or pork products. Part II -

- Pathogenesis. Review Ann Agric Environ Med. 2018 Mar 14;25(1):186-203. doi: 10.26444/aaem/85651.
- [11]Ogi Okwumabua et al. A polymerase chain reaction (PCR) assay specific for *Streptococcus suis* based on the gene encoding the glutamate dehydrogenase. FEMS Microbiology Letters 2003 218(1):79-84.
- [12]Ogi Okwumabua, et al. Isolation and partial characterization of *Streptococcus suis* from clinical cases in cattle. J. Vet. Diag. Inv. 2017 29(2):160-8
- [13]Okura et al. Development of a two-step multiplex PCR assay for typing of capsular polysaccharide synthesis gene clusters of *Streptococcus suis*. J. Clin. Microbiol. 2014 52(5):1714-19.
- [14]Okura et al. Genotypic diversity of *Streptococcus suis* and the *S. suis*-like bacterium *Streptococcus ruminantium* in ruminants. 2019 Vet. Res. 50:94.
- [15]Staats, JJ *Streptococcus suis*: past and present. Vet Res Commun 1997 21:381-407.
- [16]Takamatsu et al. Allelic variation and prevalence of serum opacity factor among the *Streptococcus suis* population, J. Med. Microbiol. 2008 57:488-94.
- [17]高松大輔. -最近における動物衛生研究情報(衛)-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, 2011 61:600-3
- [18]Mari Tohya et al. Defining the taxonomic status of *Streptococcus suis* serotype 33: the proposal for *Streptococcus ruminantium* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 2017 67:3660-3665 DOI 10.1099/ijsem.0.002204
- [19]MS Princivalli et al. Genetic diversity of *Streptococcus suis* clinical isolates from pigs and humans in Italy (2003-2007). Euro. Surveill. 2009 14(33).
- [20]戸崎香織ら. 牛の中脳における *Streptococcus ruminantium* による化膿性脳室炎及び

- [21]Vecht U. Virulence of *Streptococcus suis* type 2 strains in newborn germfree pigs depends on phenotype. *Infect Immun* 1992 60:550-556.
- [22]Wisselink, HJ. Distribution of capsular types and production of muramidase-released protein (MRP) and extracellular factor (EF) of *Streptococcus suis* strains isolated from diseased pigs in seven European countries. *Vet Microbiol* 2000 74:237-248.
- [23] P. ZHENG et al. Pathologic Analysis of the Brain from *Streptococcus suis*. Type 2 Experimentally Infected Pigs. *Vet Pathol.* 2009 46:531-535
- [24]Petra Gruening et al. Structure, Regulation, and Putative Function of the Arginine Deiminase System of *Streptococcus suis*. *JOURNAL OF BACTERIOLOGY*, Jan. 2006 p.361-369 Vol. 188
- [25]Li Yi et al. The *otc* gene of *Streptococcus suis* plays an important role in biofilm formation, adhesion, and virulence in a murine model. *J.Vet. Mic.* 2020.