

と畜場に搬入された宮城県内産豚におけるレプトスピラ遺伝子保有状況調査

○額田優花, 佐々木秀樹, 関浩

1. 目的

レプトスピラは動物由来感染症であり、人は動物の尿で汚染された水や土壌から経皮的あるいは経口的に感染する。レプトスピラは洪水などの災害時に流行することが知られており、本県は1959年に患者報告数が800例を越す大流行を経験しており、その後も年間100例前後の患者を確認するなど全国でも有数のレプトスピラ多発県であった¹⁾。近年本県での人の発生は報告されていないものの、公衆衛生上重要な感染症である。

レプトスピラは野ネズミ等による媒介が知られており、県内の野ネズミのレプトスピラ保菌率について、平成12～15年に実施された調査では保菌率が20～40%であった²⁾との報告があるが、近年は調査が行われておらず、現在、県内の野外におけるレプトスピラ浸潤状況は不明である。

人への感染経路としては野ネズミのほかに家畜やペットも考えられ、ニュージーランドにおける調査によると、羊を処理する食肉処理場と鹿を処理する食肉処理場においてオフィス等で働く人より、尿に直接触れる機会のあるスタンニングや剥皮、内臓出し等を行う作業員のほうがレプトスピラの血清抗体価が高かったとの報告がある^{3, 4)}。特に豚はレプトスピラに感染すると尿中に数か月から1年以上の間排菌することから、人への感染源となると同時に、他の家畜への感染源としても留意すべきである⁵⁾。豚のレプトスピラ症は妊娠豚で流死産を呈するものの、非妊娠豚では臨床症状に乏しく、と畜場法では全部廃棄対象疾病となっているが、と畜検査において肉眼的所見から豚レプトスピラ症を鑑別することは困難である⁶⁾。一方で、愛媛県ではと畜検査でレプトスピラ症と診断されていない豚においてレプトスピラ遺伝子が検出されたとの報告があり^{6, 7, 8, 9)}、と畜場に健康な豚を搬入するとともにレプトスピラ保菌率をモニタリングすることが重要である。

そこで、本研究では県内農場における清浄性を確認するため、と畜場に搬入された県内産豚からのレプトスピラ遺伝子の検出を行った。

2. 材料と方法

(1) 材料

令和3年6月から12月までに当所が所管する M 食肉センターに搬入された県内27農場の大貫豚計180頭の尿を採材し、試験に供した。遺伝子解析の陽性対照として、農林水産省動物医薬品検査所から分与をうけた菌株 (*Leptospira interrogans* serovar pomona) を用いた。

(2) 方法

・検体

尿は膀胱穿刺により無菌的に採取し、尿に肉眼で沈渣が確認された場合は100×g で5分間遠心し、その上清を用いた。採取した尿は16,000×g で10分間遠心し、得られた沈渣を100μl PBS に溶解し、検体とした。1検体につき40μl を5検体分ずつプールし、市販の DNA 抽出キットを用いてプール検体の沈渣から DNA を抽出し、遺伝子解析に供した。

・遺伝子解析

遺伝子解析はレプトスピラの *flaB* 遺伝子を標的とした nested PCR 法により行った。nested PCR は徳永ら⁶⁾の方法に準じて行い、2ndPCR 産物をアガロースゲルを用いて電気泳動し、559bp のバンドが検出されたものを陽性とした。PCR には市販の Taq ポリメラーゼ(Hot Start Version)を使用した。

・検出感度測定

分与を受けたレプトスピラ菌液を段階希釈し、すでに nested PCR にてレプトスピラ陰性とわかっている尿に加え、尿1mlあたりの菌数が0～10⁵になるよう調整した。これらの沈渣から上述と同様の方法で DNA 抽出および nested PCR を実施した。

3. 結果

今回検査に供した尿180検体の全てからレプトスピラ遺伝子は検出されなかった。図1に検体の2ndPCR産物の泳動像を示した。陽性対照以外バンドは認められなかった。また、図2に検出感度測定での2ndPCR産物の泳動像を示した。レプトスピラ菌数が10³/ml以上でバンドが認められた。ついで、表に県内の各地域ごとのレプトスピラ遺伝子の検出状況を示した。

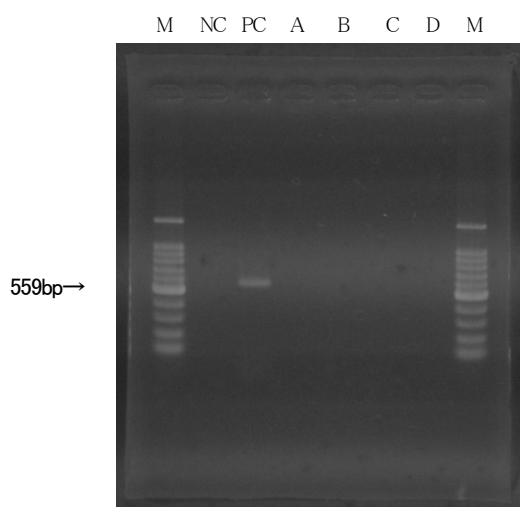


図1 検体2ndPCR産物泳動像

M:100bpマーカー

NC:陰性対照, PC:陽性対照, A~D:サンプル

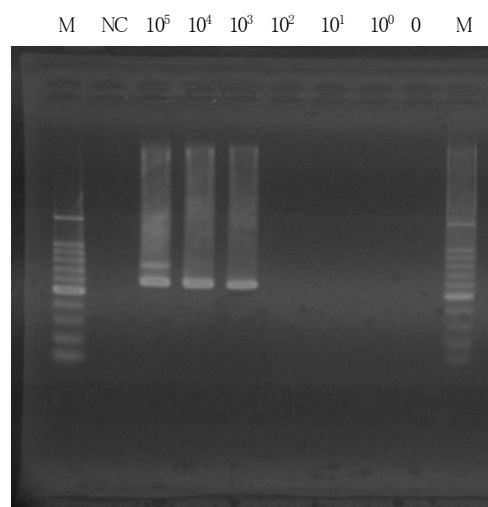


図2 検出感度測定2ndPCR産物泳動像

M:100bpマーカー

NC:陰性対照

10⁵~0:尿1mlあたりの菌数

表 地域別のレプトスピラ遺伝子検出状況

| 地域 | 農場数 | 検体数 | 陽性数 |
|------|-----|-----|-----|
| 登米市 | 15 | 98 | 0 |
| 栗原市 | 3 | 28 | 0 |
| 大河原町 | 1 | 13 | 0 |
| 石巻市 | 3 | 11 | 0 |
| 加美町 | 2 | 26 | 0 |
| 大崎市 | 3 | 4 | 0 |

4. 考察

本調査において、県内27農場から搬入された大貫豚180頭の尿検体からはレプトスピラ遺伝子は検出されなかった。このことから、宮城県北部の養豚場ではレプトスピラが広く浸潤している状況にはないものと推定される。この要因として、ワクチンや抗生物質の使用、ネズミ等小動物の進入防止など飼養管理が適切に行われていることが考えられるが、今回農家への聞き取り調査は行っていないため実態は不明である。今後は、県外農場を含めより広範囲の農場を対象にモニタリングを実施し、レプトスピラの汚染実態の把握に努めるとともに、レプトスピラ遺伝子が検出された場合、農場等生産段階への情報提供など関係者との連携について検討していきたい。

5. 引用文献

- 1) 佐藤千鶴子, 後藤郁男, 植木洋, 渡邊節, 沖村容子, 秋山和夫, 白石廣行, 林千恵: 宮城県内で発生したレプトスピラ症, 宮城県保健環境センター年報, 第20号, 2002

- 2) 沖村容子, 庄司美加, 佐藤千鶴子, 佐藤由紀, 植木洋, 上村弘, 齋藤紀行: レプトスピラ症依頼検査について, 宮城県保健環境センター年報, 第25号, 2007
- 3) Anou Dreyfus, Jackie Benschop, Julie Collins-Emerson, Peter Wilson, Michael G. Baker and Cord Heuer: Sero-Prevalence and Risk Factors for Leptospirosis in Abattoir Workers in New Zealand, 1756-1775, International Journal of Environmental Research and Public Health 2014, 11
- 4) M. Pittavino, A. Dreyfus, C. Heuer, J. Benschop, P. Wilson, J. Collins-Emerson, P. R. Torgerson, R. Furrer: Comparison between generalized linear modelling and additive Bayesian network; identification of factors associated with the incidence of antibodies against *Leptospira interrogans* s.s. Pomona in meat workers in New Zealand, 191-199, Acta Tropica 173 (2017)
- 5) 全国食肉衛生検査所編: 新・食肉衛生検査マニュアル
- 6) 徳永貢一郎, 溝田文美, 田尻幸子, 白石光伸: と畜場搬入豚におけるレプトスピラモニタリング調査, 愛媛県, 2009
- 7) 森松清美, 徳永貢一郎, 高橋公代, 田尻幸子: と畜搬入豚のレプトスピラ浸潤状況, 愛媛県, 2010
- 8) 森松清美, 高橋公代, 徳永貢一郎: と畜搬入豚のレプトスピラ浸潤状況及び清浄化への取組, 愛媛県, 2011
- 9) 友國由香里, 稲谷憲一, 森松清美: と畜場搬入豚におけるレプトスピラ浸潤状況について(第II報), 2012