

# と畜場に搬入された豚におけるレプトスピラ保菌状況調査

精密検査班 ○額田優花, 猪股建太, 佐々木秀樹

## 1. 目的

人のレプトスピラ症は病原性レプトスピラの感染により発熱, 黄疸, 出血, 血色素尿, 蛋白尿を主徴とする動物由来感染症である。レプトスピラは, ネズミなどの各種保菌動物の腎臓に保菌され, その尿中に排菌される。人や動物は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ため, 洪水などの災害時に流行することが知られている。

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<sup>1)</sup>。衛生環境の向上やワクチン接種の奨励などの予防対策により患者数は減少し, 現在宮城県内ではレプトスピラ症の発生報告はない。しかし, 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%であり<sup>2)</sup>, 過去にレプトスピラ症が多発した時期と比較しても大きな変化がなかったことから, 県内での人のレプトスピラ症は依然公衆衛生上のリスクを抱えている感染症である。

一方, 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発生状況の把握が困難である<sup>3)</sup>。さらに, 豚は尿中に数か月から1年以上の間排菌することから, 他の家畜の感染源となると同時に, 動物由来感染症としても留意すべき疾病である<sup>4)</sup>。

農林水産省の届出伝染病発生累年比較によると, 令和元年に犬での発生例があるものの, これまで本県での豚のレプトスピラ症の報告はない。また, レプトスピラ症はと畜検査において全部廃棄対象となる疾病であるが, 当所の過去の検査記録でもレプトスピラ症と診断された例はない。しかし, 豚のレプトスピラの保菌状況を調査することは公衆衛生上の観点からも重要なことから, 他県においても豚のレプトスピラ症に着目した研究がなされており<sup>5, 6, 7, 8)</sup>, 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る。

そこで, 本研究では精密検査手法の整備の一環として, また, と畜場に搬入される豚のレプトスピラ保菌リスクの把握のため, と畜場搬入豚からのレプトスピラ菌遺伝子の検出を行った。

## 2. 材料と方法

### (1) 材料

令和2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, 全部廃棄対象疾病により全部廃棄となった豚の腎臓15農場24検体および尿10農場15検体を材料とした。また, 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された菌株 *Leptospira interrogans* serovar pomona を使用した。

### (2) 方法

#### ・検体

採材した腎臓から皮質5mm 角程度を採取後, 腎組織重量の1.5倍量の PBS を加えてホモジナイズし, 腎乳剤を作製した。市販の DNA 抽出キットを用いて腎乳剤から DNA を抽出し, 遺伝子解析に供した。尿は膀胱穿刺により無菌的に採取し, 肉眼で沈渣が確認された場合は100×g で5分間遠心し上清を採取した。その後16,000×g で10分間遠心し, 得られた沈渣から前述のキットを用いて 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 *flaB* 遺伝子を標的とした nested PCR 法により行った。nested PCR は国立感染症研究所レプトスピラ症病原体検査マニュアル<sup>9)</sup>の方法に準じて行い, 2<sup>nd</sup>PCR 産物をアガロースゲルを用いて電気泳動し, 732bp 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。

### 3. 結果

今回検査に供した腎臓24検体と尿15検体の全てからレプトスピラの遺伝子は検出されなかった。図1は2<sup>nd</sup>PCR産物の泳動像で、陽性対照以外バンドが得られなかったことを示している。表1に各地域における検体数とレプトスピラ陽性数を示した。

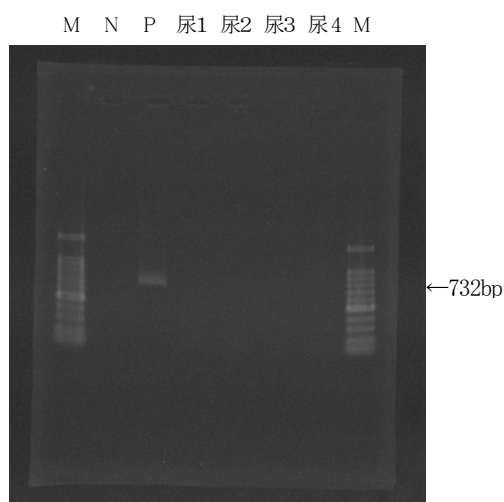


図1 PCR産物泳動像

M:100bpマーカー

N:陰性対照, P:陽性対照

表1 地域別のレプトスピラ検出状況

農場	地域	地域別のレプトスピラ検出状況			
		腎臓		尿	
		検体数	陽性数	検体数	陽性数
A	登米	1	0	-	-
B	登米	3	0	4	0
C	登米	2	0	-	-
D	登米	2	0	2	0
E	登米	4	0	1	0
F	栗原	1	0	-	-
G	栗原	1	0	1	0
H	石巻	2	0	-	-
I	石巻	1	0	-	-
J	大崎	1	0	1	0
K	岩手	1	0	1	0
L	岩手	1	0	1	0
M	岩手	1	0	1	0
N	秋田	1	0	1	0
O	秋田	2	0	2	0

### 4. 考察

今回、精密検査を実施する上で必要となるPCR系を構築することができた。

友國らの調査によると、愛媛県での検体陽性率は16.4%との報告があるが、今回の調査では遺伝子陽性検体は検出されなかった。このことから、M食肉センターに搬入される豚のレプトスピラ保菌率は高くないと考えられる。しかし、検体数が少ないため農場の状況を反映しているとは言い難く、また、農場の数も限られていたため、調査範囲を広げ検体数を増やし、更なるデータの収集と蓄積が必要である。今後も、と畜段階での調査を継続し、農場の清浄性の確認を行っていきたい。また、レプトスピラ遺伝子が検出された場合は、農場等生産段階への情報提供など、関係者と連携を図り、生産段階での清浄化に努めることとしたい。

### 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) 菊池直哉: 豚のレプトスピラ症の現状と対策, 豚病会報, No.50, 2007
- 4) 全国食肉衛生検査所編: 新・食肉衛生検査マニュアル
- 5) 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
- 6) 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
- 7) 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
- 8) 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
- 9) 国立感染症研究所: レプトスピラ症 病原体検査マニュアル