

# Sarcocystis に感染した繁殖豚の症例および同農場での感染状況 について

愛媛県食肉衛生検査センター 高橋公代、森松清美  
旭川医科大学寄生虫学講座 伊藤 亮、柳田哲矢

## はじめに

豚に寄生する住肉胞子虫 (Sarcocystis) には、犬を終宿主とする *S.miescheriana*、猫を終宿主とする *S.porcifelis*、人を終宿主とする *S.suihominis* があり、国内各地で感染が報告されているが、その多くは *S.miescheriana* によるものである。

2010年11月、当センターに搬入されたA農場の繁殖用母豚1頭で、全身の筋肉にクリーム色で米粒大の小結節が散在し、慢性住肉胞子虫症を疑う事例に遭遇したので、寄生虫学的、病理組織学的検査および遺伝子解析を行った。

さらに、A農場の繁殖豚における住肉胞子虫感染状況と感染源を調査する目的で、遺伝子検査並びに農場内における犬の糞便検査を行ったのでその概要を報告する。

## 材料及び方法

### 1 慢性住肉胞子虫症の診断

2010年11月12日、当センターに搬入されたA農場の繁殖用母豚で筋肉に小結節が散在していた1頭について、小結節を含む咬筋を採取して材料とした。

寄生虫学的検査：圧挫組織標本を作成して光学顕微鏡で鏡検した。

病理組織学的検査：材料を中性緩衝ホルマリン液で固定、常法により薄切し、HE染色を施して観察した。

遺伝子解析：結節から QIAamp DNA Mini キットを使用して DNA を抽出し、Benjamin の方法<sup>1)</sup>に準じて住肉胞子虫属原虫の 18S rDNA の一部(約 900bp)を PCR で増幅した後、ダイレクトシーケンシングにより塩基配列を決定した。

### 2 感染状況および感染源調査

遺伝子検査：2011年1月から2月に当センターに搬入されたA農場の繁殖豚13頭(オス2頭、メス11頭)から、肉眼検査では異常が認められなかった心室中隔13検体および横隔膜12検体の計25検体を採取して材料とした。

材料は5gを細切し、0.25%トリプシン加生理食塩水を用いたトリプシン消化法により処理後、陽性コントロールに慢性住肉胞子虫症の小結節由来の検体を用いてPCRを

行い、増幅産物が得られた検体については、Zhao-Qing Yang らの方法<sup>2)</sup>に準じて制限酵素 *Ssp* を用いた制限酵素断片長多型解析を行い、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。

糞便検査：A 農場内に出入りしている飼い犬および農場周辺の野良犬について、合計 5 頭分の糞便を採取して材料とし、浮遊法により観察した。

## 成績

### 1 慢性住肉胞子虫症の診断

寄生虫学的検査：シストの確認はできなかった。

病理組織学的検査：結節性病変は 3 層構造をもつ肉芽腫を呈していた。中心部は壊死および石灰化し、その周囲では類上皮細胞、多核巨細胞およびリンパ球等が浸潤し、最外層では軽度の結合組織の増生が認められた。シスト壁等の構造は確認されず原因は特定できなかったが、寄生虫が壊死、石灰化したものと考えられた。

遺伝子解析：ダイレクトシーケンスにより、約 900bp の増幅産物の前部(5' 末端)100bp と後部(3' 末端)227bp の塩基配列を得ることができた。BLAST により相同性検索を行った結果、得られた塩基配列は *S.miescheriana* (GenBank アクセッション番号:GU395554、EU32974) のものと最も相同性が高く、前部は 100%、後部は 99.6% 一致した。

これらの結果から全身の筋肉に小結節を認めた繁殖用母豚は *S.miescheriana* の感染による慢性住肉胞子虫症であると診断した。

### 2 感染状況および感染源調査

遺伝子検査：PCR の結果、13 頭中 2 頭で増幅産物が検出され、検体別では心室中隔、横隔膜で各 1 検体ずつ陽性となった。

制限酵素断片長多型解析によって、心室中隔由来の検体については 280bp と 640bp にバンドが確認され、*S.miescheriana* であると考えられたが、横隔膜由来の検体と陽性コントロールとして使用した小結節由来の検体については 280bp と 640bp の他、約 900bp にバンドを確認した。

シーケンスにより心室中隔由来の検体からは 870bp の塩基配列を得ることができ、*S.miescheriana* (GU395554) と 99.3% 一致した。横隔膜由来の検体についても前部(5' 末端)100bp と後部(3' 末端)227bp の塩基配列を得ることができ、これは小結節由来の検体から得られた塩基配列と 100% 一致した。よって心室中隔由来の検体および横隔膜由来の検体はいずれも *S.miescheriana* であると同定した。

糞便検査：オーシスト、スポロシストの確認はできなかった。

(表 1) 検体別による感染状況

検体	検体数	陽性数
心室中隔	13	1
横隔膜	12	1

## 考察

住肉胞子虫症の診断において、今回の症例のように結節が石灰化し、寄生虫学的検査や病理組織学的検査で診断が困難な場合は、PCR 検査が有用であることが示唆された。また、制限酵素 *Ssp* によって *S.suihominis* の遺伝子は切断されず、*S.miescheriana* の遺伝子は 1 か所で切断されることが Zhao-Qing Yang らによって報告されている<sup>2)</sup>が、今回の結果のように、切断パターンのみでは *S.miescheriana* が判断が困難な例もあると考えられた。制限酵素断片長多型解析は人に感染する住肉胞子虫であるかどうかを迅速に判断し、人への感染を防御する一助となるが、今回のように判断し難い場合にはシーケンスによる塩基配列の決定が必要であると言える。

慢性住肉胞子虫症が発見された A 農場では、肉眼的に異常がなかった繁殖豚 13 頭中 2 頭から *S.miescheriana* の遺伝子が検出され、農場の汚染が懸念された。*S.miescheriana* は終宿主が犬であり、豚は終宿主の糞便中に排泄されるスポロシストを経口摂取することにより感染するため、調査した感染豚は、直接あるいは間接的に犬の糞便汚染を受けていると推測された。今回、A 農場に出入りしている犬の糞便から住肉胞子虫は検出されず、感染源が特定されなかったが、農場では犬の出入りについて注意する必要があると推定された。また、実験的にはホンドタヌキについても *S.miescheriana* の感染が確認されている<sup>3)</sup>ため、農場でのタヌキの侵入防止対策や糞便処理も必要かもしれない。

今回、慢性住肉胞子虫症発生の情報提供により、A 農場では飼い犬を農場内へ侵入させること、および野良犬やタヌキによる糞便汚染の可能性のある農場周辺の青草を繁殖豚へ給餌することを禁止する対策が講じられた。

*S.miescheriana* は人への感染性はないが、豚の急性あるいは慢性住肉胞子虫症の原因となるため、家畜衛生や食品衛生の面からも十分な関心を払う必要がある。感染率は月齢の上昇に伴って高率となる<sup>4)</sup>ので、と畜検査時には特に繁殖豚における感染に注意して検査する必要があると考えられた。

- (1) Rosenthal BM. Chapter 52 Sarcocystis. *in* Molecular Detection of Foodborne Pathogens, 731-739(2001)
- (2) Yan ZQ, Li QQ, Zuo YX, Chen XW, Chen YJ, Nie L, Wei CG, Zen JS, Attwood SW, Zhang XZ, Zhang YP. Characterization of *Sarcocystis* species in domestic animals using a PCR-RFLP analysis of variation in the 18S rRNA gene: a cost-effective and simple technique for routine species identification. *Experimental Parasitology* 102,212-217(2002)
- (3) Saito M, Itagaki H. Experimental infection of raccoon dogs with *Sarcocystis cruzi* and *S. miescheriana*. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 56,671-674(1994)
- (4) 井上勇:豚のサルコチスティス病,家畜伝染病,清水悠紀臣 他編,第 5 版,238,近代出版