

ヒツジのエペリスロゾーン症に関する研究

—とくに *E. ovis* の人工感染例における臨床、血液および電顕所見について—

稻田一郎・一条茂・更科孝夫・納敏

(受理: 1985年5月31日)

Studies on Eperythrozoonosis in sheep

— Clinical, hematological and electronmicroscopic finding in cases
experimentally infected with *E. ovis* —

Ichiro INADA, Shigeru ICHIJO,
Takao SARASHINA and Satoshi OSAME

摘要

脾摘ヒツジ1頭、非脾摘ヒツジ2頭を用いて *Eperythrozoon ovis* の人工感染後の臨床、血液および電顕所見について検討した。

人工感染後の臨床症状は、発熱、可視粘膜の貧血、心悸亢進、呼吸速迫、血色素尿であり、とくに発熱は、末梢血における *E. ovis* の急激な増殖期に認められた。潜伏期間は、重度感染血液の接種例が軽度感染血液の接種例よりも短期間であったが、症状では両者間に差が認められなかった。人工感染により、*E. ovis* の血中出現と一致して赤血球数、Ht値、Hb量の低下を認め、寄生率のピーク時に貧血は最も高度となった。*E. ovis* の血中での増加に先立って骨髓での増加が認められた点から、骨髓が *E. ovis* の主要な増殖部位であろうと考えられた。また脾摘ヒツジでは、非脾摘ヒツジに比べて高度寄生虫血症の持続期間が長期であった。さらに、電顕所見では、*E. ovis* の赤血球膜への機械的障害を推察させる所見が認められた。

緒言

ヒツジのエペリスロゾーン症は、赤血球表面に寄生するリケッチャである *Eperythrozoon ovis* (NEITZ & ALEXANDER, 1934: *E. ovis*) の感染による溶血性貧血性疾患である。

E. ovis が、NEITZら(1934)¹⁹により南アフリカのヒツジで初めて報告されて以来、これまで本症の自

然感染例が世界各地で報告^{3, 5, 6, 12, 14, 17, 21}されており、日本では其田ら(1975)²⁵、および一条ら(1982)¹⁰の報告がみられる。また、健康ヒツジと脾摘ヒツジを用いた人工感染の報告^{4, 10, 16, 17, 19, 21, 25, 27}もみられるが、本症の感染および発病機序に関してはまだ不明な点が多い。

今回著者らは、本症の発病機序を明らかにする目的で健康ヒツジと脾摘ヒツジを用いて人工感染実験を試

帯広畜産大学獣医学科畜内科学教室

Department of veterinary internal medicine, Obihiro university of agriculture and veterinary medicine, Obihiro, Hokkaido, Japan.

み、臨床、血液学的および電子顕微鏡観察を行ったので、検索成績について報告する。

材料および方法

実験に供したヒツジは、6～12か月齢のサフォーク種3頭 (No. 1～No. 3) で、いずれも一般状態および血液所見に異常がなく、かつ血液塗抹標本で *E. ovis* の感染のないことを確認した。また、No. 3のヒツジについては、脾摘を行って実験に供した。

人工感染に用いた血液は、No. 1 のヒツジに対しては、*E. ovis* の実験感染ヒツジより採取した軽度感染血 (*E. ovis* の寄生率 2%), No. 2 のヒツジは No. 1 のヒツジの重度感染血 (寄生率: 100%), No. 3 の脾摘ヒツジには No. 2 に接種した血液を 10% グリセリンを添加して、-80°C, 6か月間凍結保存したものを用い、それぞれ 10 ml 当て皮下に接種した。

観察は、接種後 1～5 日間隔で 80 日間行い、臨床、尿、血液および骨髓液の変化について検索した。

血液検査は、赤血球数 (血球計算板法)、ヘマトクリット値 (Ht 値: 毛細管法)、ヘモグロビン量 (Hb 量: シアンメトヘモグロビン法) を測定して、平均赤血球容積 (MCV) および平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) を算出した。その他、網赤血球数 (ニューメチレン青染色法) も測定した。

E. ovis の観察にはギムザ染色を施した血液塗抹標本を用い、赤血球 200 個当たりの虫体寄生率、赤血球表

面の寄生部位および形態について観察した。

骨髓液は、腸骨外角より採取し、有核細胞数の算定 (血球計算板法) と塗抹標本での Myeloid/Erythroid 比 (M/E 比) の算定、さらに末梢血と同様に *E. ovis* の観察を行った。

電子顕微鏡観察には、No. 3 のヒツジの末梢血と骨髓液を用い、走査型電子顕微鏡 (走査電顕) 標本は HATTORI⁹⁾ の方法、透過型電子顕微鏡 (透過電顕) 標本は ANDERSON¹¹⁾ の方法に準じて作成し、JSM-35 型走査電顕および H-600 型透過電顕により *E. ovis* の超微形態について観察した。

成 績

1. 臨床ならびに尿所見

No. 1 (Tab. 1): 発熱は接種後 15 日目より認められ、接種後 20 日、35 日および 50 日目には心悸亢進 (100 回/分以上) が、20 日および 35 日目には呼吸速迫 (60 回/分以上) が認められた。可視粘膜の貧血は、接種後 10 日目より実験終了の 80 日目まで認められた。尿所見では、接種後 15 日目より 30 日目までにウロビリノーゲンを認めたのみであった。

No. 2 (Tab. 2): 発熱が、接種後 5 日目および 15 日目に見られ、5 日目および 50 日目には心悸亢進、15 日目には呼吸速迫が認められた。可視粘膜の軽度な貧血が、接種後 10 日目より 60 日目まで見られた。尿所見では、接種後 10 日目より 15 日目までウロビリノーゲンを検出したに止まった。

Table 1. Clinical and urinary findings of sheep No. 1

Findings	Days postinoculation								
	0	10	20	30	40	50	60	70	80
Clinical signs									
Pyrexia*	-	-	-	+	++	+	+	+	-
Tachycardia	-	-	-	-	+	++	-	+	-
Tachypnea	-	-	-	-	+	++	-	+	-
Anemia	-	-	+	+	++	+	+	+	+
Urine findings									
Urobilinogen	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Hemoglobin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bilirubin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Protein	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* +: 39.5–40°C ++: >40°C

Table 2. Clinical and urinary findings of sheep No. 2

Findings	Days postinoculation									
	0	10	20	30	40	50	60	70	80	
Clinical signs	Pyrexia*	-	++	+	++	+	+	-	-	-
	Tachycardia	-	+	-	+	+	+	-	+	++
	Tachypnea	-	+	-	++	+	+	-	+	-
	Anemia	-	-	+	+	+	+	+	+	-
Urinary findings	Urobilinogen	-	-	+	+	-	-	-	-	-
	Hemoglobin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bilirubin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Protein	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* +: 39.5~40°C ++: >40°C

Table 3. Clinical and urinary findings of sheep No. 3

Findings	Days postinoculation									
	0	10	20	30	40	50	60	70	80	
Clinical signs	Pyrexia*	-	++	+	-	-	-	-	-	-
	Tachycardia	-	++	+	++	++	+	+	-	-
	Tachypnea	-	-	-	++	++	++	-	-	-
	Anemia	-	-	-	+	++	++	+	-	-
Urinary findings	Urobilinogen	-	-	+	++	++	++	+	-	-
	Hemoglobin	-	-	-	+	+	+	+	-	-
	Bilirubin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Protein	-	-	-	+	+	-	+	-	-

* +: 39.5~40°C ++: >40°C

No. 3 (Tab. 3): 発熱が接種後 5 日目に認められ、5 日目より 35 日目まで心悸亢進と呼吸速迫がみられた。また、接種後 20 日目より 30 日目まで、可視粘膜の高度な貧血がみられ、その前後には尿中にヘモグロビン、ウロビリノーゲンおよび蛋白の出現が認められた。

2. 血液および骨髓液検査所見

No. 1 (Fig. 1): Ht 値、Hb 量、赤血球数はいずれも接種後より漸減して、18 日目には急減 (Ht 値 16%, Hb 量 6.8 g/dl, 赤血球数 538 万), 以後 30 日目前後まで低値が続き、その後漸増したが、*E. ovis* が血中より消失した 80 日目においても接種前値への復帰がみ

られなかった。網赤血球数は、貧血が極期を示した接種後 20 日目前後に 1~2% の出現をみたに止まった。MCV は接種前 25 μ^3 前後であったが、接種後漸増して、貧血期以後は 30 μ^3 以上に増加した。これに対し MCHC には著明な変動が認められなかつたので、本例では、大球性正色素性貧血像を示していた。

骨髓液では、接種後 20 日目より有核細胞数が急増して、40 日目まで高値が持続した。また、M/E 比は接種後 10 日目より漸減し、30 日目には最低値 (0.15) となり、その後回復傾向をたどったが 80 日目においてもまだ低値を示していた。

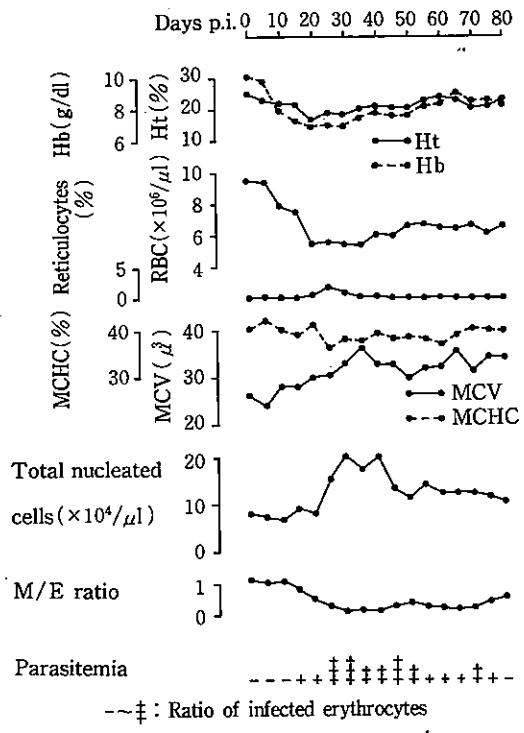


Fig. 1. Hematological finding and myelogram of sheep No. 1
 -~+ : Ratio of infected erythrocytes
 - : 0%, + : 1-30%, + : 31-60%, + : 61-100%

No. 2 (Fig. 2) : Ht 値, Hb 量および赤血球数は、接種後 11 日目より 30 日目にかけて漸減したが、減少の程度は比較的軽度で、その後は漸増傾向を示した。*E. ovis* の再度血中出現をみた接種後 45 日目に再び低下して最低値となり、以後は、*E. ovis* 減少に伴って回復傾向をみせた。網赤血球数は実験期間を通じて 1 %以内で推移し、MCV, MCHC には顕著な変化が認められなかったので、本例の貧血は、正球性正色素性貧血像を示していた。

骨髄では、接種後 15 日目より 45 日目にかけて有核細胞数の増加と M/E 比の減少が認められた。

No. 3 (Fig. 3) : *E. ovis* の血中出現が高度になった接種後 10 日目より Ht 値、Hb 量および赤血球数はいずれも減少し、20 日目には、Ht 値 14 %、赤血球数 418 万、22 日目に Hb 量 5.1 g/dl と検査期間を通じての最低値を示したが、その後は回復傾向をたどり、*E. ovis* の血中での消失と並行して接種前値に復帰した。網赤血球数は、接種後 15 日目に 3 % に上昇した。接種後より MCV は著明に増加し、MCHC は減少を

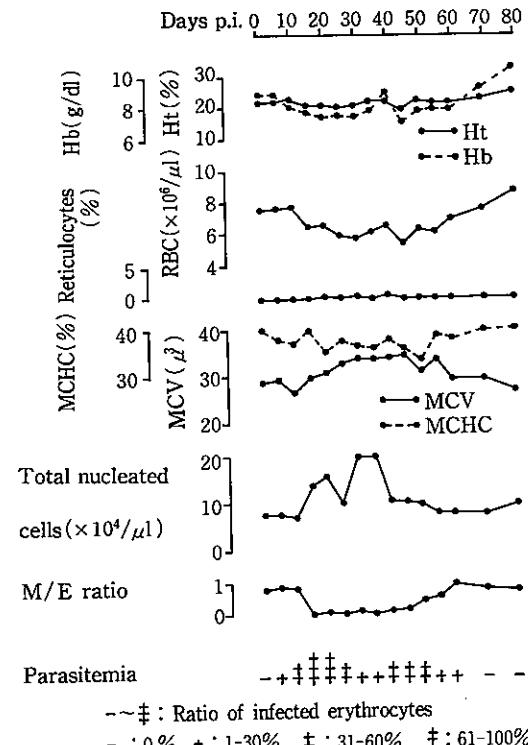


Fig. 2. Hematological finding and myelogram of sheep No. 2
 -~+ : Ratio of infected erythrocytes
 - : 0%, + : 1-30%, + : 31-60%, + : 61-100%

示したため、本例での貧血は、大球性低色素性貧血を示していた。

骨髄では、接種後 25 日目に有核細胞数の急増と M/E 比の低下が認められた。

3. *E. ovis* の消長

No. 1 : 末梢血赤血球における *E. ovis* の寄生の消長を Fig. 4 に示した。*E. ovis* の出現は接種後 15 日目（寄生率：2 %）より認められ 20 日目まで漸増し、21 日目には寄生率 99 % に急増して、以後 30 日目までの期間における *E. ovis* の赤血球表面全域での寄生率は約 20 % であった。*E. ovis* の形態についてみると、初発時には多型性であり形態別の寄生率では、点状型 20 %、桿状型または球菌状型 27.5 %、鎖状型 30 %、リング状型 12.5 % であったが、接種後 26 日目には、リング状型と鎖状型虫体が高率（78 %）に認められた。寄生率は接種後 40 日目に 35 % にまで減少したが、45 日目には 90 % と再度増加し、赤血球表面全域での寄生率

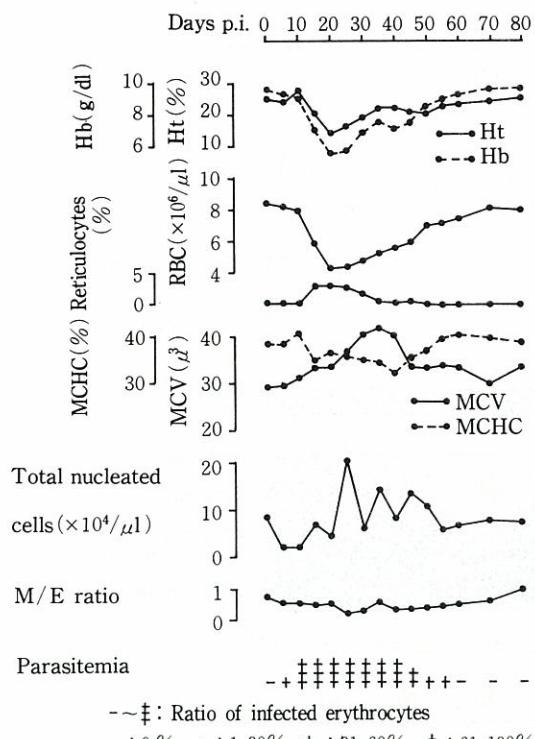


Fig. 3. Hematological finding and myelogram of sheep No. 3

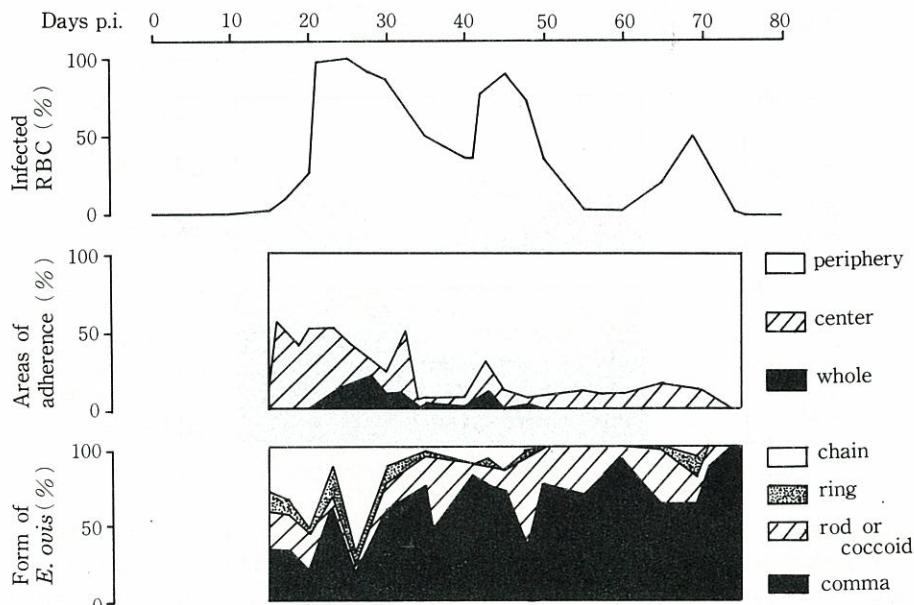
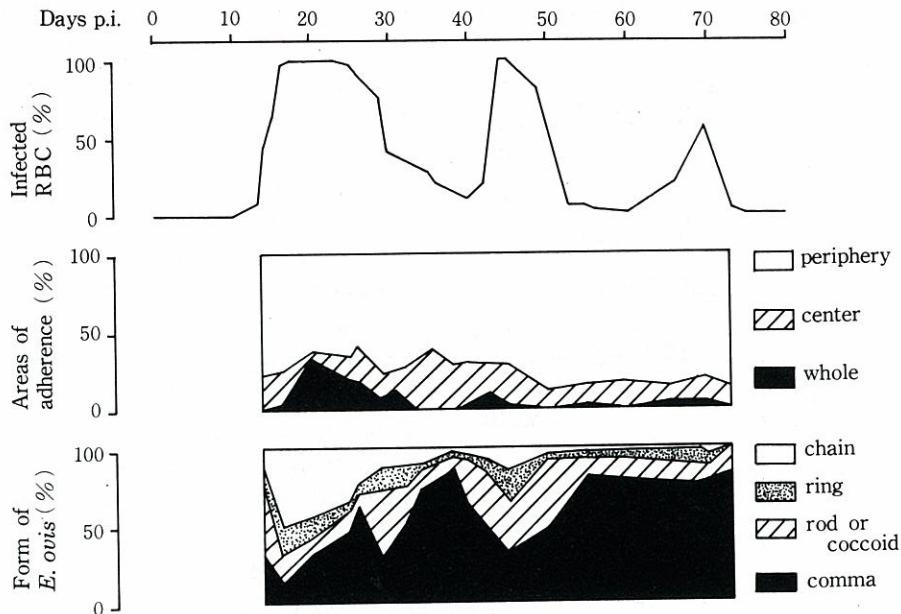
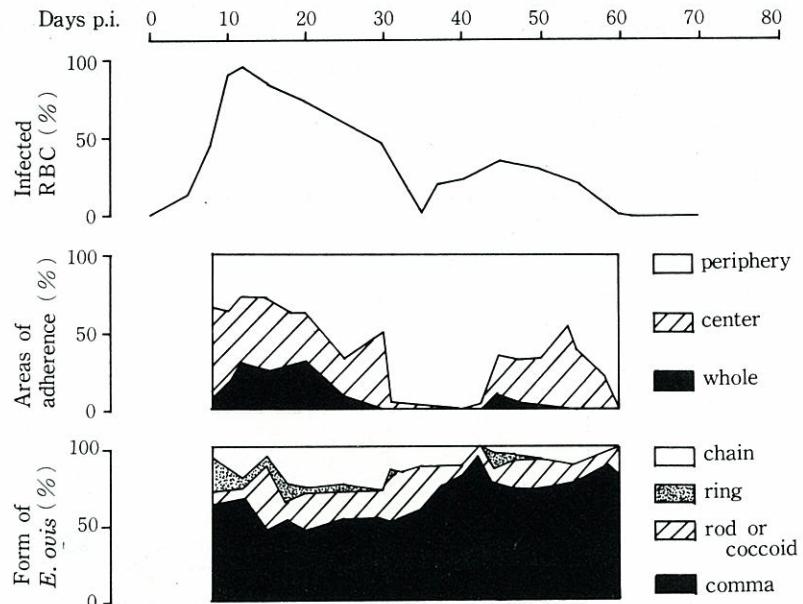


Fig. 4. *E. ovis* on erythrocytes in peripheral blood of sheep No. 1

もほぼ並行して変動した。その後寄生率には、接種後45日目より68日目かけて変動がみられたが、75日目に赤血球よりすべて消失した。この期間の *E. ovis* の形態では、接種後68日目の再増加時にリング状型が15%と増加したが、その後は虫体の急速な消失に伴って点状型が主体となった。

Fig. 5 は骨髓液の赤血球に寄生した *E. ovis* の成長を示したもので、虫体の出現は末梢血より2日間早い接種後13日目に認められ、寄生率は7.5%であったが、接種後15日に62.5%と急増し、18日目に100%となった。その後は末梢血と同様に増減をみたが、寄生率増加時の骨髓では末梢血に比べて約10%高い寄生率を示した。また寄生率の上昇に伴い赤血球の表面全域への寄生率が増加し、接種後20日目には32.5%に達した。*E. ovis* の形態では、全期間を通じてリング状虫体が出現し、末梢血と同様に寄生率の上昇時に高率に出現する傾向を示していた。赤血球からの虫体の消失は末梢血と同様に接種後75日目に認められた。

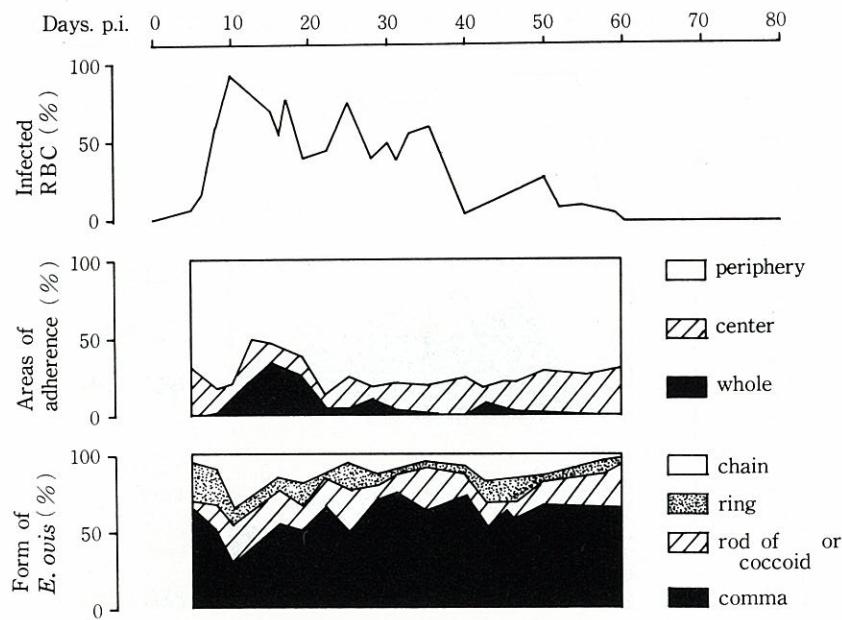
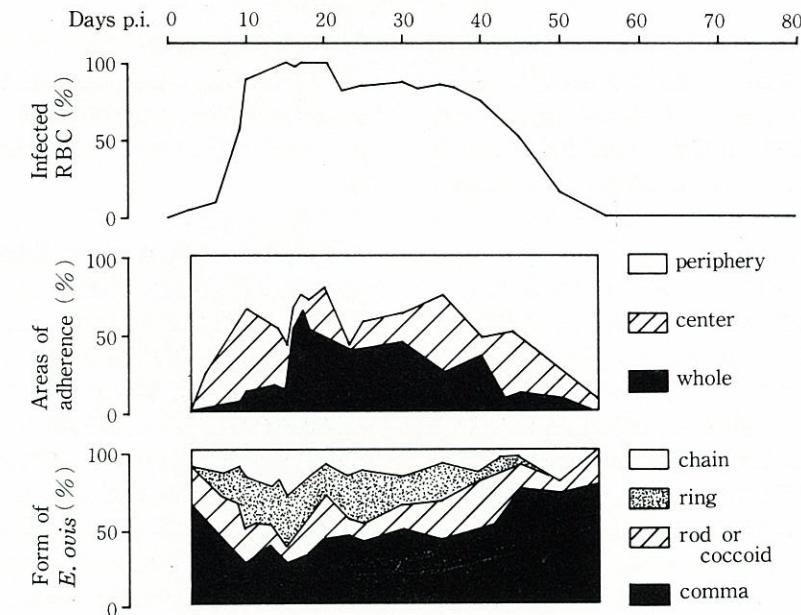
No. 2: Fig. 6 は、末梢血における *E. ovis* の消長を示したもので、接種後5日目に虫体の出現(寄生率: 12.5%)が認められた。寄生率は接種後12日目に最高値(95%)を示したが以後は漸減して、35日目には低下(1%)した。その後は55日目に再増加(25%)し

Fig. 5. *E. ovis* on erythrocytes in bone marrow of sheep No. 1Fig. 6. *E. ovis* on erythrocytes in peripheral blood of sheep No. 2

たが、接種後62日目には消失した。寄生部位では赤血球表面全域での寄生率が接種後12日目より20日目にかけて約30%であった。形態では接種後8日目の寄生率の急増時にリング状型が22.5%みられ、44日目の再

増加時においてもリング状型の増加が認められた。

Fig. 7は骨髄における*E. ovis*の消長で、末梢血と同様、接種後5日目に最初の出現（寄生率10%）を認め、接種後10日目に寄生率の最高値（95%）を示し

Fig. 7. *E. ovis* on erythrocytes in bone marrow of sheep No. 2Fig. 8. *E. ovis* on erythrocytes in peripheral blood of sheep No. 3

た。その後は漸減し、接種後50日目に一過性の増加（寄生率27.5%）をみたのみで、60日目には赤血球より消失した。寄生部位では、赤血球表面全域での寄生率が全寄生率とほぼ並行し、特に鎖状型とリング状型

虫体の出現が多かった。

No. 3: Fig. 8 は、末梢血における *E. ovis* の消長を示したもので、接種後3日目より出現（寄生率：5%）して、10日目には90%に上昇し、以後は75%を上

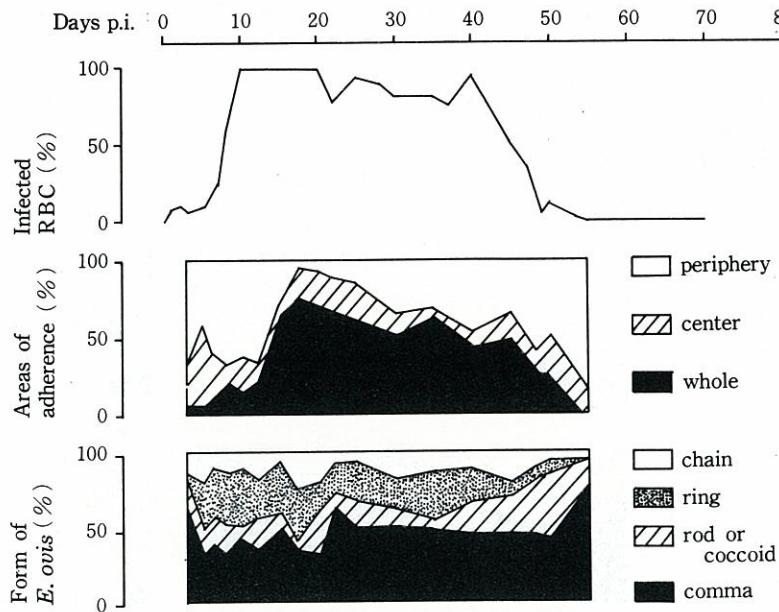


Fig. 9. *E. ovis* on erythrocytes in bone marrow of sheep No. 3

回る高度寄生が続いたが、その後は40日目前後から減少し、接種後56日目には赤血球より消失した。寄生部位では、赤血球表面全域での寄生率が、全寄生率と並行して増加し、接種後15日目より30日目まで高率の出現が認められた。*E. ovis* の形態では、リング状型が、寄生率の上昇した接種後10～35日目までに30～32.5%の出現を示した。

Fig. 9 は骨髓液における *E. ovis* の消長で、接種後1日目より出現（寄生率：7.5%）し、5日目より急増して10日目には100%に達し、40日目まで高い出現率が続き、かつ血漿中に遊離の虫体が多数認められた。寄生率は、その後急減し、虫体は接種後55日目に消失した。寄生部位では、赤血球表面全域の寄生率が末梢血とほぼ並行して推移したが、虫体の増加は末梢血より3日間早い接種後12日目より始まり、以後も末梢血に比べ10～30%高い寄生率が続いた。*E. ovis* の形態では、リング状型が接種後5日目には32.5%と高率を示した。

4. 走査電顕所見

E. ovis は桿状型で長径0.3～0.6μm、点状型で直径0.1～0.2μm、リング状型（Fig. 10）で直径0.2～0.4μmを示した。また、虫体の一部が突出した円錐状型も認められた（Fig. 11）。ほとんどの虫体は独立

してみられたが、なかには橋状物で連結した虫体も認められた（Fig. 12）。虫体周辺の赤血球膜表面は、陥没を呈する観があり、赤血球の凹みに *E. ovis* 離脱痕と考えられる直径0.06μmの小穴も認められた（Fig. 13）。

5. 透過電顕所見

透過電顕においても *E. ovis* の形態は、桿状、リング状、および点状を示し、赤血球膜に近接しているか、または血漿中に完全に遊離している虫体がみられた（Fig. 14）。また、両極性を示す虫体の寄生が網赤血球に認められた（Fig. 15）。*E. ovis* の構造は、単層の限界膜を有し、内部に電子密度の高いリボソーム様の顆粒が密に存在していたが、一部に電子密度の低い領域をもつ虫体も認められた（Fig. 16）。また有茎の出芽物や囊状の出芽物をもつ虫体も観察された。これらの出芽物中には、電子密度の低い顆粒の領域と、限界膜で囲まれた電子密度の高い顆粒の領域が認められた（Fig. 17, Fig. 18）。

E. ovis の赤血球膜面での寄生様式では、糸状構造物を介して寄生する虫体（Fig. 19）や、赤血球膜に近接しているもの（Fig. 17, Fig. 18）、虫体の一端が赤血球膜に付着している像（Fig. 16）、その他赤血球内より突出する虫体（Fig. 20）や ghost cell にも *E.*

ovis 虫体 (Fig. 21) が認められ、これら寄生部位における赤血球膜には、浅く陥没している像 (Fig. 18) も認められた。

考 索

E. ovis の人工感染ヒツジの臨床症状では、自然感染例と同様に発熱^{10, 20, 21, 25)}、貧血^{4, 7, 10, 17, 20, 21, 25)}、血色素尿^{10, 20, 21, 25)}、黄疸^{7, 20)}、心悸亢進^{10, 25)}および呼吸促迫^{10, 25)}等の出現が報告されている。今回の供試例では *E. ovis* の最初の血中での急増時に 40°C 以上の発熱が全例にみられ、2 例 (No. 1, 2) では虫体の再出現時期にも発熱が認められたので、発熱は *E. ovis* の生体内での急速な増殖と関連が深いものと推測された。

人工感染ヒツジでは、虫体が末梢血に出現するまでに NEITZ²⁰⁾ は 5 ~ 7 日間、LITTLEJOHNS¹⁷⁾ は 3 ~ 7 日間、FOGGIE ら⁷⁾ は 7 日間の潜伏期間を要するとし、かつ FOGGIE ら⁷⁾ は回復血液の接種例に比べ、重度感染血液の接種例では潜伏期間が短いと報じている。今回の成績でも、潜伏期間では軽度感染血液を接種した No. 1 が 15 日間であったのに対し、重度感染血液の接種例 (No. 2, 3) ではそれぞれ 5 日および 3 日の短時日で、FOGGIE ら⁷⁾ とほぼ一致した所見が得られた。このことは、重度感染血液では増殖期の *E. ovis* が多いために、接種したヒツジ生体内での増殖が速やかなのに対し、静止期の虫体で占められた軽度感染血液では生体の防衛反応との関係もあって、虫体の増殖に比較的長時間を要するものと考えられる。したがって、潜伏期間は感染後の *E. ovis* の生体内での発育と密接に関連するものと推測されたが、詳細については虫体に対する抗体価の測定とも併せてさらに検討を要すると考えられた。

FOGGIE ら⁷⁾ は、人工感染では重度感染血液の接種例のみに貧血、黄疸などの臨床症状を認めたとしているが、今回の供試例では接種血の *E. ovis* 感染率に関係なく全例に貧血の発現を認めた点から、接種血液の *E. ovis* の寄生率と貧血発現の有無との間には関連がないと考えられた。

ヒツジのエペリスロゾーン症での貧血は、*E. ovis* の赤血球寄生による血管内溶血と考えられている^{16, 29)}。今回の 2 例 (No. 2, 3) においても *E. ovis* の血中出血に伴い、赤血球数、Ht 値、Hb 量の減少のほかに、血管内溶血を裏付ける血色素血症と血色素尿を認め他

の報告^{7, 21, 23, 25)} とほぼ同様であり、とくに寄生虫血症のピーク時に貧血変化がより著明であった。

今回の成績で興味ある所見は貧血の極期の出現時期で、供試した 3 例のうちの 2 例 (No. 2, 3) では、極期が寄生虫血症のピーク前後に認められたのに対し、1 例 (No. 1) では寄生虫血症のピーク前にみられたことである。すなわち No. 1 では末梢血での虫体の増殖に先立って、*E. ovis* の骨髓内赤血球寄生率が 100% に達して、骨髓の成熟赤血球や未成熟赤血球が傷害を受け、その結果末梢血への赤血球動員が低下し貧血が寄生虫血症のピーク時に先行したものと考えられた。

今回の接種実験のように *E. ovis* が末梢血に先行して骨髓で増殖する傾向が強い点から *E. ovis* 増殖部は骨髓であろうとすでに一条ら¹⁰⁾ が報告しており、この点でも *E. ovis* の生体での増殖部位と末梢血の貧血変化との関係については今後の興味ある検討課題と思われる。

E. ovis の形態と寄生率とは関係が深いこと^{7, 20, 24)} が知られている。今回の所見においても光顕的には、寄生率の増加時にリング状および鎖状虫体の比率が高くなることが認められた。とくに人工感染後、末梢血に先行して虫体の高度寄生が認められた骨髓中での *E. ovis* は増殖初期の形態といわれる^{7, 8)} リング状型が主体であった点や末梢血に比べ骨髓での虫体出現率が高かった点から、おそらく *E. ovis* は骨髓での増殖後に末梢血中に出現するものと推測された。

また脾摘例 (No. 3) では、非脾摘例に比べて寄生率のピーク時期が長期間持続し、かつその間の赤血球表面全域での寄生率も高かったために貧血もより著明であったが、この事実は脾摘が *E. ovis* に対する生体の細網内皮系の処理能や抗体産生能を低下させるためであろうと考えられた。

超微形態的に *E. ovis* は点状、桿状およびリング状の虫体で、単層の限界膜を有し、内部に密なリボソーム様の顆粒を持つなど諸報告^{2, 11, 15, 18, 25)} と一致した所見が得られた。また、走査電顕では、*E. ovis* 寄生部位周囲の赤血球膜の陥没および虫体の離脱痕と考えられる小穴がみられた。このような赤血球膜の傷害は、JAIN ら¹³⁾ の *Haemobartonella felis* の寄生猫赤血球での所見と同様であり、このような膜変化が赤血球の血管内溶血の発現と深い関係を有するものと考えられた。

また透過電顕所見では、*E. ovis* が糸状物¹¹⁾ を介

して赤血球膜に寄生している例や虫体の一部が赤血球膜に付着して寄生する例^{16, 18)}もみられたが、これらの形態の相違は *E. ovis* の発育時期の違いによるものと推察される。また今回の例では、虫体が赤血球膜の付着面を部分的に侵蝕している像¹⁵⁾や虫体の一端の赤血球膜への刺入を暗示させる像も認められ、*E. ovis* の機械的な赤血球膜への障害も示唆された。LITTLEJOHNS¹⁷⁾は虫体が分泌する酵素が赤血球膜構成成分を分解して溶血を招くと推察し、THURSTON²⁸⁾は虫体による赤血球内容の吸収が溶血を惹起すると推測した。今回も赤血球内からの脱出を暗示させる虫体や ghost cell に付着した虫体などがみられ、また虫体の増殖時期においては、赤血球内への侵入も示唆されたが、これらについては今後さらに詳しい検討が必要と考えられた。

引用文献

- 1) ANDERSON, D. R. (1965): A method of preparing peripheral leukocytes for electron microscopy. *Ultrastr ct. Res.*, **13**, 263-268.
- 2) AVAKIAN, A. A., D'YAKONOV, L. P., and NADOCHEI, G. A. (1973): Ultrastructure and nature of representatives of the genus *Eperythrozoon* Schilling. 1928. *Izu. Acad. Nauk USSR Ser. Biol.*, **1**, 135-147.
- 3) BEGOVIC, S., DELIC, S., and RUKAVINA, J. (1964): First finding of *Eperythrozoon ovis* in Yugoslavia. *Veterinariya* (Sarajevo) **12**, 177-185. [Abst. *Vet. Bull.*, **34**, No. 100 (1964)].
- 4) DADDOW, D. N. (1979): *Eperythrozoon ovis* - A cause of anaemia, reduced production and decreased exercise tolerance in sheep. *Aust. Vet. J.*, **55**, 433-434.
- 5) D'YAKONOV, L. D. (1964): The finding of *Eperythrozoon ovis*. *Veterinariya* (Moscow) **41**, 62-63. [Abst. *Vet. Bull.*, **34**, No. 2490 (1964)].
- 6) FOGGIE, A. (1961): Eperythrozoon infection in sheep in Scotland. *Vet. Rec.*, **73**, 453-454.
- 7) FOGGIE, A. and NISBET, D. I. (1964): Studies on Eperythrozoon infection in sheep. *J. Comp. Path.*, **74**, 45-61.
- 8) HARBUTT, P. R. (1969): The effect of *Eperythrozooon ovis* infection on body weight gain and haematology of lambs in Victoria. *Aust. Vet. J.*, **45**, 500-504.
- 9) HATTORI, A. (1972): Scanning electron microscopy of human peripheral blood cells. *Acta Haematol. Jap.*, **35**, 452-482.
- 10) 一条 茂, 細川 晓, 金 徳換, 東条雅彦, 小西辰雄 (1982): 縮羊のエペリスロゾーン症に関する研究 I. 自然感染例と実験的接種例の臨床ならびに血液学的所見, 日獣会誌, **35**, 76-85.
- 11) ICHIJO, S., HOSOKAWA, S., KIM, D. H., and KONISHI, T. (1982): Scanning and transmission electron microscopic observation of *Eperythrozoon ovis*. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **44**, 127-132.
- 12) ILEMOBADE, A. A., and BLOTKAMP, C. (1977): *Eperythrozooon ovis* as a possible cause of an anaemia in Nigerian sheep. *Vet. Rec.*, **101**, 153-154.
- 13) JAIN, N. C., and KEETON, K. S. (1973): Scanning electron microscopic feature of *Haemobartonella felis*. *Am. J. Vet. Res.*, **34**, 697-700.
- 14) JOLLY, R. D. (1967): *Eperythrozooon ovis* infection in lamb. *N. Z. Vet. J.*, **15**, 47-48.
- 15) KREIER, J. P., and RISTIC, M. (1963): Morphologic, antigenic, and pathogenic characteristics of *Eperythrozooon ovis* and *Eperythrozooon wenyonii*. *Am. J. Vet. Res.*, **24**, 488-500.
- 16) KREIER, P., RISTIC, M., and SCHROEDER, W. (1964): Anaplasmosis. XVI. The pathogenesis of anemia produced by infection with *Anaplasma*. *Am. J. Vet. Rec.*, **25**, 343-352.
- 17) LITTLEJOHNS, I. R. (1960): Eperythrozoonosis in sheep. *Aust. Vet. J.*, **36**, 260-265.
- 18) MCKEE, A. E., ZIEGLER, R. F., and GILES, R. C. (1973): Scanning and transmission electron microscopy of *Haemobartonella*

- canis* and *Eperythrozooon ovis*. Am. Vet. Res., 34, 1196-1201.
- 19) NEITZ, W. O., and ALEXANDER, R. A. (1934): *Eperythrozooon ovis* (sp. nov.) infection in sheep. Ondersteroort J. Vet. Rec., 3, 263-271.
- 20) NEITZ, W. O. (1937): Eperythrozoonosis in sheep. Onderspoort J. Vet. Res., 9, 9-30.
- 21) OVERAS, J. (1969): Studies on *Eperythrozooon ovis* infection in sheep. Acta. Vet. Scand., Suppl., 28, 1-148.
- 22) PARPART, A. K., LORENZ, P. B., PARPART, E. R., GREGG, J. R., and CHASE, A. M. (1947): The osmotic resistance (fragility) of human red cells. J. Clin. Invest., 26, 636-640.
- 23) ROUSE, B. T., and JONSON, R. H. (1966): *Eperythrozooon ovis*. Vet. Rec., 79, 223-224.
- 24) SHERIFF, D., CLAPP, K. H., and REID, M. A. (1966): *Eperythrozooon ovis* infection in South Australia. Aust. Vet. J., 42, 169-176.
- 25) 其田三夫, 高橋清志, 田村 孝, 小岩政照(1977): 緊羊の Eperythrozoonosis に関する研究(自然発症および接種例の臨床ならびに血液学的観察), 日獣会誌, 30, 374-380.
- 26) SUTTON, R. H. (1970): *Eperythrozooon ovis* - A blood parasite of sheep. N. Z. Vet. J., 18, 156-164.
- 27) SUTTON, R. H., and JOLLY, R. D. (1973): Experimental *Eperythrozooon ovis* infection of sheep. N. Z. Vet. J., 21, 160-166.
- 28) THURSTON, J. P. (1953): The chemotherapy of *Eperythrozooon coccoides* (Schilling, 1928). Parasitology, 43, 170-174.
- 29) WEINMAN, D. (1944): Infectious anaemias due to *Bartonella* and related red cell parasites. Trans. Amer. Phil. Soc., 33, 243-338.
- nectomized sheep and two intact ones inoculated with *Eperythrozooon ovis* (*E. ovis*). Clinical signs of sheep after inoculation of *E. ovis* were pyrexia, anemia of visible mucous membrane, tachycardia, tachypnea and hemoglobinuria. Especially, pyrexia was found during rapid increase of *E. ovis* in peripheral blood. Incubation period following inoculation with heavily parasitized blood was shorter than when using slightly parasitized blood. However, there were no difference in symptoms between them. Erythrocyte count, hematocrit, hemoglobin concentration decreased in inoculation, and the degree of parasitemia reached maximum level at the climax of anemia. Bone marrow seemed to be the main organ for multiplication of *E. ovis* in the blood after inoculation, and the degree of parasitemia reached maximum level at the climax of anemia. Bone marrow seemed to be the main organ for multiplication of *E. ovis*, as the parasite had multiplied there before it did in the peripheral blood. Splenectomised sheep showed marked parasitemia with longer duration than non-splenectomised one. As for the electron microscopic findings, parasitism of *E. ovis* seemed to have influence on mechanical damage for membrane of erythrocytes.

Summary

Clinical, hematological, and electron microscopical studies were carried out using a sple-

Res. Bull. Obihiro Univ., 14 (1985): 195-209.

Explanation of Plates

Plate 1

Fig. 10-Fig. 13 show the scanning electron microscopic findings.

Fig. 10 The ring shaped *E. ovis* on the discocyte. ($\times 14,000$)

Fig. 11 The conical *E. ovis* on the stomatocyte. ($\times 14,000$)

Fig. 12 *E. ovis* connected to erythrocyte with bridge-like structure. ($\times 14,000$)

Fig. 13 Arrow shows a detached hollow of *E. ovis* on the concave of a stomatocyte. ($\times 28,000$)

Plate 2

Fig 14-Fig. 21 show the transmission electron microscopic findings.

Fig. 14 *E. ovis* of a chain-like form on erythrocyte and free form from erythrocyte are seen. ($\times 4,300$)

Fig. 15 Arrow shows bipolar shaped *E. ovis*. ($\times 17,000$)

Fig. 16 *E. ovis* has a single limiting membrane, ribosomelike granular materials with high electron density and a part of low electron density. And one end of *E. ovis* is attached to the erythrocyte. ($\times 87,000$)

Fig. 17 *E. ovis* showing budding figure with stalk. ($\times 43,000$)

Plate 3

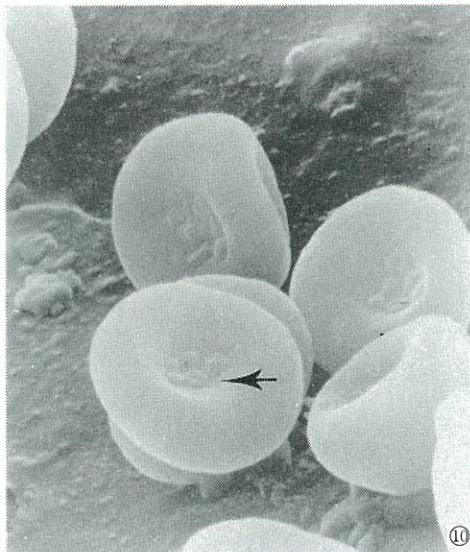
Fig. 18 *E. ovis* with the suck shaped bud indented the membrane of erythrocyte. ($\times 30,000$)

Fig. 19 *E. ovis* attached to the erythrocyte by thread-like structure. ($\times 69,000$)

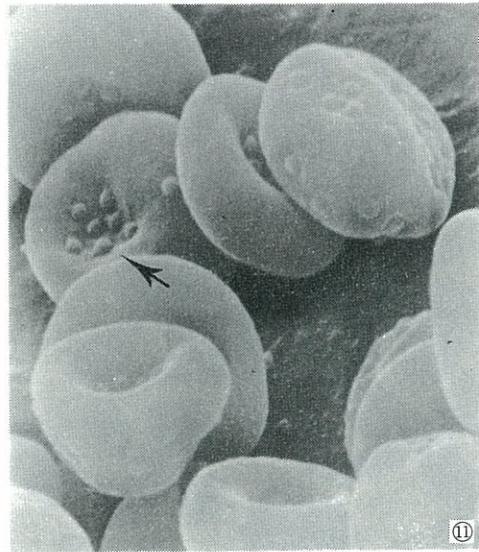
Fig. 20 *E. ovis* projecting from the erythrocyte. ($\times 43,000$)

Fig. 21 *E. ovis* attached to the "ghost cell". ($\times 22,000$)

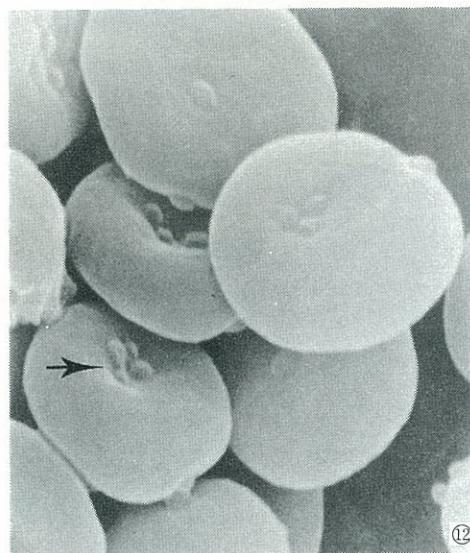
Plate 1



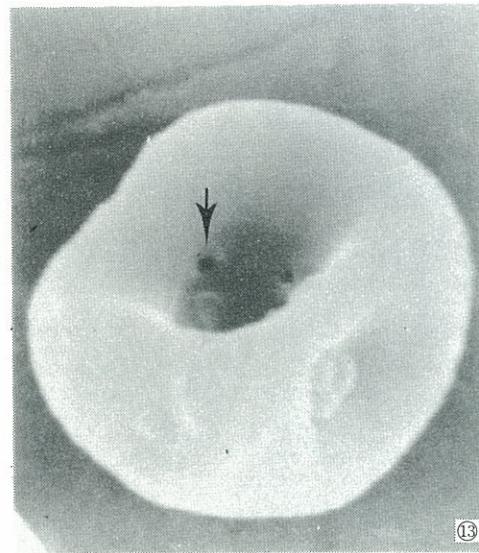
⑩



⑪



⑫



⑬

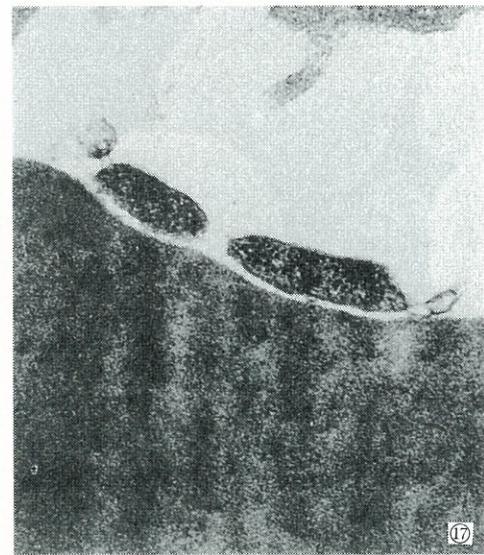
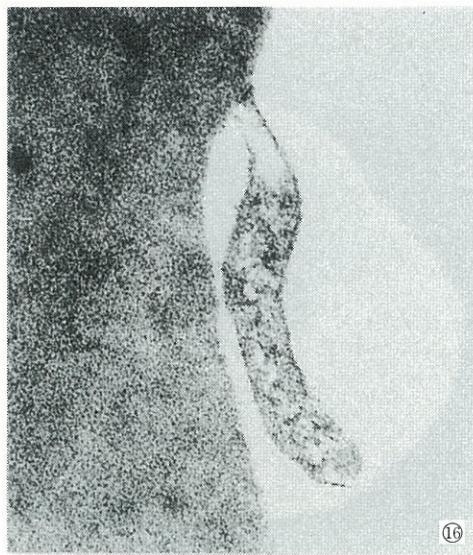
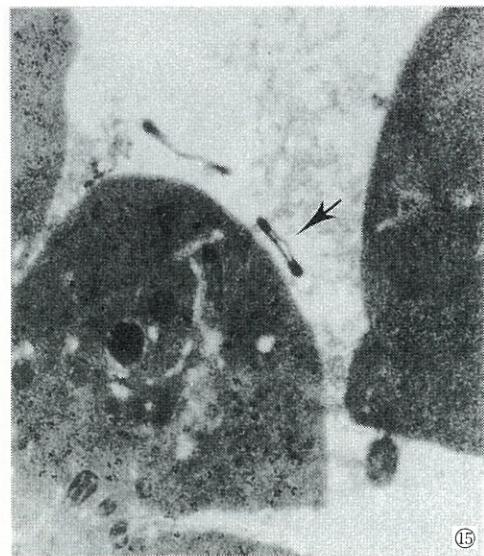
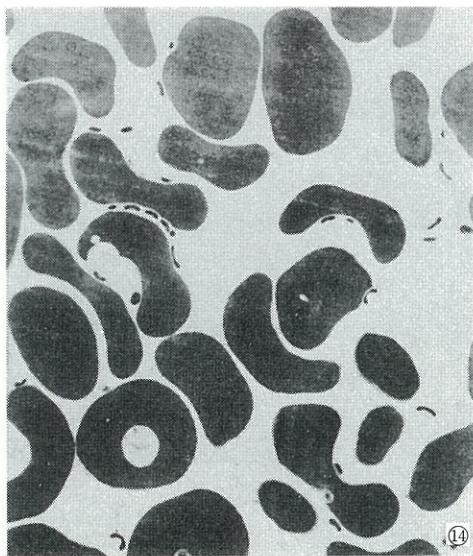


Plate 3

