

小動物のリケッチア性疾患（3）

ヘモバルトネラ感染症



猪熊 壽

いのくま ひさし

帯広畜産大学畜産学部

〒080-8555 帯広市稲田町西2線11

TEL/FAX 0155-49-5370

inokuma@obihiro.ac.jp

はじめに

ヘモバルトネラ感染症は犬と猫の赤血球表面に寄生するリケッチア性病原体*Haemobartonella*属の感染により生じる溶血性貧血を主徴とする疾患であり、臨床の場では犬よりも猫のヘモバルトネラ感染症がよく知られている。猫のヘモバルトネラ病原体は、これまで*Haemobartonella felis*という学名で呼ばれており、その形態学的特徴からOhio-Florida/Oklahoma株およびCalifornia/Birmingham株の2系統の存在が知られ、また病原性はOhio-Florida/Oklahoma株の方がCalifornia/Birmingham株に比べて強いとされてきた[6, 24]。分子生物学的解析法の発達により、病原体の16S rRNA遺伝子が解析され、Ohio-Florida/Oklahoma株は*Mycoplasma haemofelis*、またCalifornia/Birmingham株は'*Candidatus Mycoplasma haemominutum*'と改名された[17, 18]。いっぽう犬のヘモバルトネラは*Mycoplasma haemocanis* および'*Candidatus Mycoplasma haemoparvum*'である。げっ歯類のヘモバルトネラおよび豚のエペリスロゾーンも同様にマイコプラズマと同じ属に分類され、これらはヘモプラズマ(*Hemoplasma*)と総称されている[21] (図1)。

臨床現場では以前から本感染症の存在とその日和見感染的な性質が知られていたが、病原体検出の難しさから、これまで正確に診断されることが少なく、疫学や臨床所見についても不明な点が多い。本稿においては、近年導入された分子生物学的診断法を用いて得られた疫学的な知見を交えて、ヘモバルトネラ感染症について解説するとともに、最近経験した犬のヘモバルトネラ感染症例を紹介する。

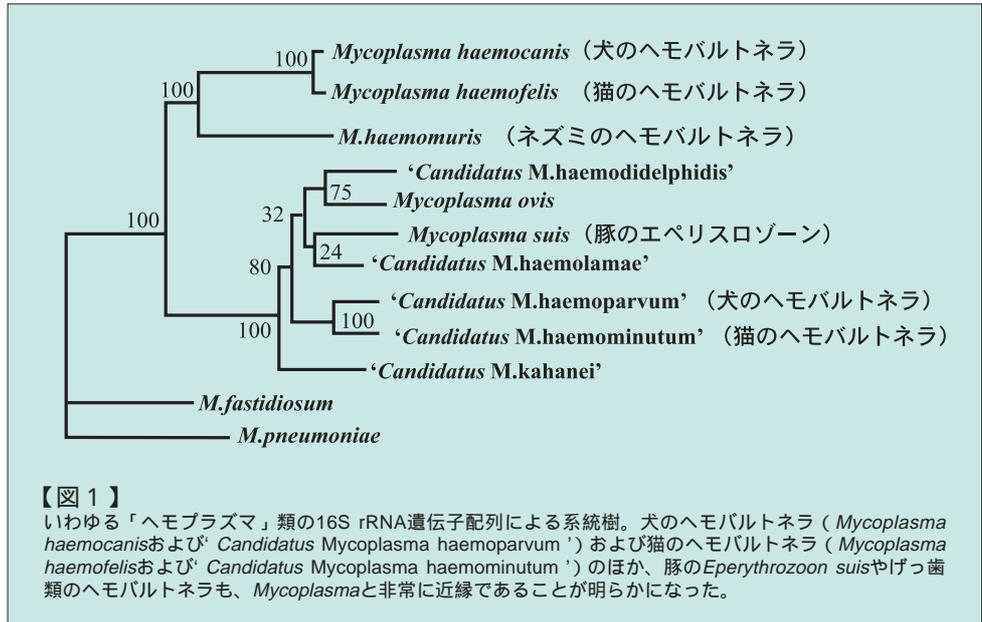
発症機序

病原体は赤血球表面に付着して感染し、膜に対して直接的な障害を与えるほか、二次的に抗赤血球自己抗体が産生されるため溶血性貧血が生じる[4]。このとき宿主の細網内皮系が活性化されるため、免疫介在性溶血性貧血やバベシア感染症と同様に脾臓の腫大が生じる。また自然感染例では不顕性感染も多いが、発症または症状の悪化には猫では猫白血病ウイルス(FeLV)感染が関与している[7, 8, 9]。なお、病原性は病原体の系統によっても異なり、猫の場合には*M. haemofelis* (Ohio-Florida株)の方が、'*C. Mycoplasma haemominutum*' (California/Birmingham株)に比べて、重篤な臨床症状を引き起こすことが明らかとなっている[6]。また犬でも*M. haemocanis*が臨床例から検出されており、'*C. Mycoplasma haemoparvum*'と比べて症状の発現との関連が疑われている[5, 11]。

臨床症状

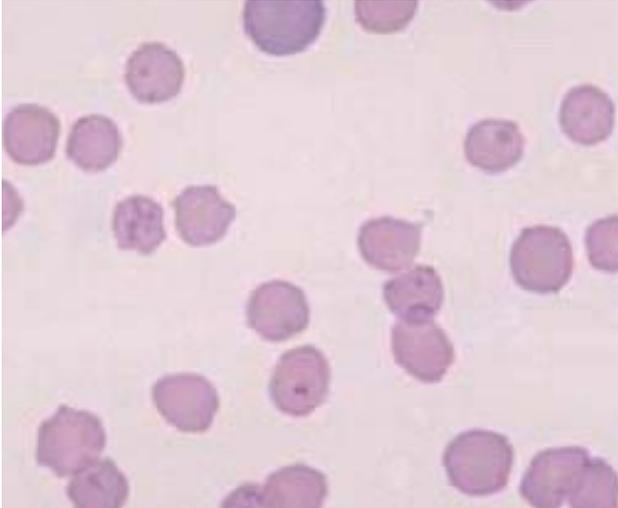
猫では貧血の発現とともに、発熱、元気消失、食欲

廃絶、呼吸速迫、心悸亢進、可視粘膜蒼白、脾腫などの症状がみられる。重症例では体重減少、黄疸、ヘモグロビン尿症を伴う重度の貧血が認められ、致死的経過をとることもある[4, 10]。犬のヘモバルトネラ感染症は、一般に健常犬では通常不顕性または慢性経過をたどるが、脾臓摘出後あるいは免疫抑制状態においてその急性転化があるといわれている[12, 15, 16]



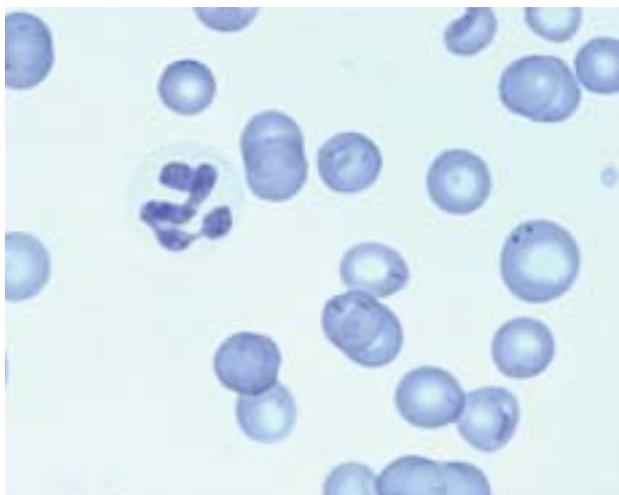
診断

溶血性貧血の症状から本症を疑うことができる。
猫の赤血球に感染したヘモバルトネラ病原体は直径0.1-0.8 μmの球菌ないし短桿菌状の小体として1ないし数個が赤血球膜表面に付着している[4] (図2)。ギムザ染色で赤紫色に染まり、通常赤血球周辺に付着した点状に観察されるが、ろ過した新鮮な染色液を用いてきれいな標本を作らないと色素の沈殿物などとの鑑別が困難である[3]。犬のヘモバルトネラ病原体も0.2-0.6 μmの球菌ないし短桿菌状の小体だが、猫のヘモバルトネラとは異なり、赤血球上に直鎖状もしくは数珠状に観察される[12] (図3)。いずれのヘモバルトネラも、染色液の沈降物、アーチファクトによる陥凹、ハウエルジョリー小体、好塩基性斑点、鉄陽性封入体、小型のバベシアなどとの鑑別が必要であり、顕微鏡観察だけで確定診断を行なうのは容易ではない[10]。また、しばしば偽陽性結果が得られる。前述したように犬と猫のヘモバルトネラには、分子生物学的に区別される2種が知られており、それぞれ形態学的に大型、小型と言われているものの、通常の血液塗抹標本の観察ではその鑑別も困難である。また抗凝固剤を用いた保存血液中ではヘモバルトネラ病原体は速やかに赤血球から離れるため、新鮮血液以外の材料で血液塗抹標本を作成し



【図2】猫のヘモバルトネラ

た場合には赤血球上に病原体が認められない。さらにヘモバルトネラ病原体は急性期には末梢血中に大量に出現するが、数時間間隔で周期的に末梢から消失することが報告されている[1]。これらの現象も血液塗抹標本の観察による診断を困難なものにしている。
最近ではPCR法を用いて末梢血から病原体を高感度に検出することが可能であり、また病原体の系統を鑑別することもできる[2, 14, 20, 22, 23]。16SrRNA遺伝子配列に基づくヘモバルトネラ特異的プライマーを用いたPCRを行うと、犬、猫いずれのヘモバルトネラが存在しても、約170-190bpのバンドが得られる[11, 14]



【図3】犬のヘモバルトネラ

病原性の強い *M. hemofelis* または *M. hemocanis* の方が、*Candidatus* に比べると低い位置にバンドが得られる。両者の鑑別をより明確に行うため、PCR-RFLP(制限酵素断片長多型)を用いることができる。たとえば猫のヘモバルトネラの場合、PCR産物を *HindIII* により切断すると、'*C. Mycoplasma haemominutum*' は陽性バンドが170bpと20bpの2本に分かれるが *M. haemofelis* は分かれなため、両種が明瞭に鑑別される(図4)

感染動物では二次的に抗赤血球自己抗体が産生されているため、クームス試験が陽性を示すことが多い。免疫介在性溶血性貧血やバベシア感染症などの溶血性貧血、あるいはリンパ腫、白血病との鑑別が必要となる[4, 22]。病理所見として貧血、脾腫、肝うっ血、黄疸、リンパ節腫脹、マクロファージによる赤血球の貪食像がみられる。

治療および予後

テトラサイクリン系抗生物質が有効である。テトラサイクリン(22 mg/kg, q8h, po, 2-3週間) ドキシサイクリン(5-10 mg/kg, q12h, po, 2-3週間) またはオキシテトラサイクリン(25 mg/kg, q8h, po, 21日) が用いられる[4, 15, 22]。免疫介在性に溶血が生じるためプレドニゾロン(1-2mg/kg, q12h, po, 1-2週間)の投与が有効な場合がある。必要に応じて輸液、輸血を行う。抗生物質の投与によりヘモバルトネラは末梢血からいった

ん消失し、臨床症状も軽快するが、完全に除去することは困難で、回復した個体はキャリアになる。抗生物質投与終了後3日から5週間で末梢血PCRは陽性になるという所見がある。予後は一般に良好であるが、重症例では要注意である。

PCRにより犬のヘモバルトネラを診断した症例

犬のヘモバルトネラ感染症は一般に不顕性感染と考えられており、確定診断も困難であるため、猫のヘモバルトネラ感染症に比べると、これまで症例報告が極端に少ない。以下にPCRを用いて最近確定診断を下した犬のヘモバルトネラ感染症例を紹介する。

【症例1：脾摘後の急性転化】[11]

10歳7カ月齢、雑種犬、雄、体重17.1kg、1カ月前から進行中の貧血および血小板減少を主訴に来院した(第1病日)。来院までの間、バベシア感染症およびエバンス症候群を疑い、それぞれジミナゼン製剤およびステロイド剤での治療を行ったが無効であった。身体検査では元気低下、可視粘膜蒼白が認められたが、体温は正常であった。血液検査により重度の貧血と血小板減少が認められた。抗核抗体検査、クームス試験、バベシア、エールリヒアはいずれも陰性であった。腹部X線およびエコー検査にて脾臓の著しい腫脹、変位、変形および円形の低エコー領域が確認された。腹部CT検査所見もあわせて脾捻転と仮診断した。輸血後、第4病日に脾臓全摘出術を行った(図5)。第6病日に退院して経過観察となったが、第11病日、肝臓の腫大、PCVの低下と赤血球の形態異常が認められた。第17病日から発熱・下痢および貧血が認められた。血液塗抹像からは弱い再生像と、破碎・ウニ状赤血球といった形態異常が認められた。第22病日可視粘膜は蒼白で、発熱(40.1度)が認められた。このとき末梢血液塗抹においてヘモバルトネラを疑わせる小体が赤血球膜上に認められたため、末梢血からDNAを抽出しヘモバルトネラ特異的PCRを行ったところ陽性を示した。このため第23病日よりドキシサイクリン投与(10 mg/kg 経口BID)を開始したところ、貧血の進行は止ま

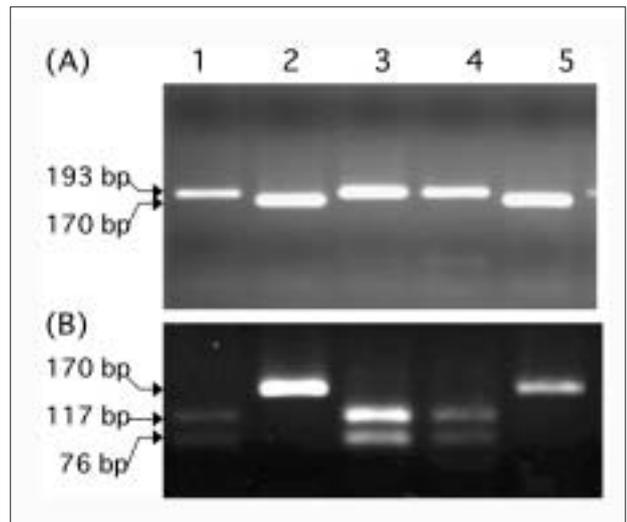
り、発熱も消失した。赤血球上の寄生体も観察されなくなったため第25病日に退院した。なお輸血用供血犬3頭の血液についてはいずれもヘモバルトネラ特異的PCR陰性であったが、症例の脾臓摘出前の血液材料を用いて実施したヘモバルトネラ特異的PCRは弱陽性を示した。本症例の場合、脾捻転とヘモバルトネラ感染の因果関係については不明であるが、ヘモバルトネラ感染による脾腫が誘引となって脾捻転が生じ、脾臓に血液が停滞したため、いっそう重度の貧血が起こり、さらに脾臓を摘出したためにヘモバルトネラ症が急性転化した可能性があると考えられた。

【症例2：免疫抑制剤投与後の発症】

11歳、避妊、ミニチュア・ダックスフント。リンパ球形質細胞性腸炎による慢性下痢のため、プレドニゾロン(2 mg/kg sid po)、アザチオプリン(AZP) 50 mg/m² sid po)、メトロニダゾール(15 mg/kg bid po)による治療を開始した。プレドニゾロンを暫減後、AZPの副作用による汎血球減少症が出現したため、AZPの投与も中止したが、下痢が再発したため、第120病日からプレドニゾロン(2 mg/kg sid po)の投与を再開した。AZP中止後も赤血球の減少だけは続き、脾臓の腫大および発熱も認められた。AZPの副作用だけとは考えられなかったため、末梢血からDNAを抽出しヘモバルトネラ特異的PCRを行ったところ陽性を示した。このためドキシサイクリンを追加投与したところ、脾臓の腫大および発熱は消失した。本症例では、その後も赤血球産生能の回復がみられず、輸血を繰り返したが、第357病日に死亡した。

疫学

ヘモバルトネラは一般に動物同士の咬傷、母子感染などにより感染すると考えられており、野外の動物ではかなり高率に感染しているとされているが実態は明らかではない[4]。また吸血性節足動物(ノミ、マダニ)による媒介も知られており、犬のヘモバルトネラはクリロコイタマダニがベクターであることが証明されている[19]。わが国のノミとマダニがヘモバルトネラ



【図4】 (A)PCRの結果、*M. haemofelis*は170-bp (Lanes 2と5)、*C. Mycoplasma haemominutum*は193-bp (Lanes 1, 3 and 4)のバンドを形成する。(B)引き続きPCR産物を制限酵素HindIIIで処理したところ、*M. haemofelis*のPCR産物は切断されないが、*C. Mycoplasma haemominutum*のPCR産物は76 bpと117 bpに分かれる。



【図5】犬の症例で認められた捻転脾臓。

を媒介するかどうかについては、今後の課題である。不顕性キャリアーの血液を輸血することにより医原性にも感染が生じる。

1) 猫のヘモバルトネラ感染状況

山口大学附属家畜病院に来院した猫のうち、末梢血を採取できた102頭をランダムに選択し、分子生物学的方法によりヘモバルトネラを検索した。102頭のうち12頭はワクチン接種、健康診断などで来院した猫で臨床上異常を認めないもの、残りの90頭は各種疾患に罹患しているものであった。感染に関係すると思

表1. 猫のヘモバルトネラ感染に関するリスクファクター

ファクター	猫の数	該当数		
		<i>M. haemofelis</i>	' <i>C.M. hemominutum</i> '	陰性
飼育環境				
屋内のみ*	36	0	1	35
外にでる*	52	2	14	36
不明	14	0	1	13
*p 値(カイ2乗)	0.0263	有意差あり		
FeLV 感染				
陽性**	4	1	2	1
陰性**	63	1	8	54
不明	35	0	6	29
**p 値(カイ2乗)	0.0023	有意差あり		

われるリスクファクター（性別、年齢、疾病の有無、屋外に出るか否か、FeLV感染、FIV感染）とヘモバルトネラ感染との関連を統計学的に解析した[13]

102頭中18頭が陽性を示した。うち2頭(2.0%)が *M. haemofelis*、16頭(15.7%)が '*C. Mycoplasma haemominutum*' であることが明らかとなり、我が国の猫にも、欧米での報告[14, 20, 25]と同様、少なくとも2種類のヘモバルトネラが存在すること、また '*C. Mycoplasma haemominutum*' の割合が高い事が示された。健康群12頭の中には陽性猫は認められなかった。陽性18頭のうち、発熱、溶血性貧血等典型的なヘモバルトネラ感染症の症状を示したのは1例だけで、その感染種は *M. haemofelis* であった。感染のリスクファクターを解析したところ、屋外にでる猫であること(P=0.0263)、およびFeLV陽性であること(p=0.0023)が有意であったが、性別、年齢、疾病の有無、およびFIV感染との関連は認められなかった(表1)。外に出る猫で感染率が有意に高いことは、吸血節足動物や他の猫との接触の機会が増加することでヘモバルトネラの感染率が上昇するためと思われる。FeLVおよびFIV感染はいずれも宿主の免疫を抑制し、ヘモバルトネラ感染を顕在化する要因になると考えられる。最近の研究ではFeLVおよびFIV感染がともにヘモバルトネラ陽性に関連すると報告されている[7, 8]。

2) 犬のヘモバルトネラ感染状況

主としてフィラリア予防を目的として淡路島・洲本市の動物クリニックに来院した犬のうち、末梢血を採取した536頭を材料として、PCR法によりヘモバルトネラ感染状況を調査したところ、16頭(3.0%)がヘモバルトネラ陽性を示した。ヘモバルトネラ陽性16頭のうち *Mycoplasma haemocanis* 感染は5頭、*Candidatus* spp. 感染は11頭であった。この

うち *Mycoplasma haemocanis* 陽性の1頭には、免疫介在性溶血性貧血様の症状が認められ、また別の1頭では発熱、貧血、黄疸、脾腫等の病歴が認められた。とくに治療目的ではなくフィラリア予防に来院した犬の3%にヘモバルトネラが不顕性に感染していることが明らかとなったが、このことは、摘脾、輸血(ドナー)などの処置前には、ヘモバルトネラ病原体の感染の有無を十分に考慮する必要があるものと考えられた。

まとめ

これまで、その存在は知られていたが診断が困難であった犬と猫のヘモバルトネラ症だが、分子生物学的診断法を用いることにより、特異的かつ高感度に診断を下すことができるようになった。今後、本診断法を用いて、病態のさらなる解析が行われるだけでなく、ベクターや感染のリスクファクターなどの疫学的情報が蓄積されることを期待したい。

謝辞

貴重な犬のヘモバルトネラ症例をご紹介いただきました、山口県周南市 白永伸行先生、兵庫県洲本市 杉村肇先生、山口大学農学部 奥田 優先生、中市統三先生に深謝いたします。

[引用文献]

1. Allemen A.R., Pate, M.G., Harvey, J.W., Gaskin, J.M., Barbet, A.F. 1999. Western immunoblot analysis of the antigens of *Haemobartonella felis* with sera from experimentally infected cats. *J.Clin.Microbiol.* 37: 1474-1479.
2. Berent, L. M., Messick, J. B. and Cooper, S. K. 1998. Detection of *Haemobartonella felis* in cats with experimentally induced acute and chronic infections, using a polymerase chain reaction assay. *Am. J. Vet. Res.* 59: 1215-1220.
3. Bobade, P. A. and Nash, A.S. 1987. A comparative study of the efficiency of acridine orange and some Romanowsky staining procedures in the demonstration of *Haemobartonella felis* in feline blood. *Vet. Parasitol.* 26: 169-172.
4. Breitschwerdt, E. B. 2000. The rickettsioses. pp400-408. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 5th ed. (Ettinger, S. J. and Feldman, E. C. eds.), W. B. Saunders, Philadelphia.
5. Brinson, J. & Messick, J. B. 2001. Use of a polymerase chain reaction assay for detection of haemobartnella canis in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 218: 1943-1945.
6. Foley, J. E., Harrus, S., Poland, A., Chomel, B. and Pedersen, N. C.. 1998. Molecular, clinical, and pathologic comparison of two distinct strains of *Haemobartonella felis* in domestic cats. *Am. J. Vet. Res.* 59:1581-1588.
7. George, J. W., Rideout, B. A., Griffey, S. M. and Pedersen, N. C. 2002. Effect of preexisting FeLV infection or FeLV and feline immunodeficiency virus coinfection on pathogenicity of the small variant of *Haemobartonella felis* in cats. *A. J. Vet. Res.* 63: 1172-1178.
8. Grindem, C. B., Corbett, W. T. and Tomkins, M. T. 1990. Risk factors for *Haemobartonella felis* infection in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 196: 96-99.
9. Harrus, S., Klement, E., Aroch, I., Stein, T., Bark, H., Lavy, E., Mazaki-Tovi, M. and Baneth, G. 2002. Retrospective study of 46 cases of feline haemobartonellosis in Israel and their relationships with FeLV and FIV infection. *Vet. Rec.* 151: 82-85.
10. Harvey, J.W. & Gaskin, J.M. 1977. Experimental feline haemobartonellosis. *Am. Anim.Hosp. Assoc.* 13, 28-38.
11. 平岡博子、見山孝子、白永伸行、中市統三、渡邊麻麗香、板本和仁、奥田 優、猪熊 壽. 2004. 脾臓摘出後に発症した犬ヘモバルトネラ症の1例. *日獣会誌.* 57: 587- 590.
12. Hoskins, J.D. 1991. Canine haemobartonellosis, canine hepatozoonosis, and feline cytauxzoonosis. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 21: 129-140.
13. Inokuma, H., Taroura, S., Okuda, M., Hisasue, M., Itamoto, K., Une, S., Nakaichi, M., Taura, Y. 2004. Molecular survey of *Mycoplasma haemofelis* and ' *Candidatus Mycoplasma haemofelis* ' in cats in Yamaguchi and surrounding area. *J. Vet. Med. Sci.* 66: 1017-1020.
14. Jensen, W. A., Lappin, M. R., Kamkar, S. and Reagen, W. J. 2001 Use of a polymerase chain reaction assay to detect and differentiate two strains of *Haemobartonella felis* in naturally infected cats. *Am. J. Vet. Res.* 62:604-608.
15. Kuehn, N.F. & Gaunt, S. D. 1986. Hypocellular marrow and extramedullary hematopoiesis in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 188: 1313-1315.
16. Lester, S. J. Hume, J. B. Phipps, B. 1995. *Haemobartonella canis* infection following splenectomy and transfusion. *Can. Vet. J.* 36: 444-445.
17. Messick, J. B., Walker, P. G., Raphael, W., Bernt, L. and Shi, X.. 2002. ' *Candidatus Mycolasma haemodidelphidis* ' sp. nov., ' *Candidatus Mycolasma haemolamae* ' sp. nov. and *Mycoplasma haemocanis* comb. Nov., haemotrophic parasites from a naturally infected opossum (*Didelphis virginiana*), alpaca (*Lama pacos*) and dog (*Canis familiaris*): phylogenetic and secondary structural relatedness of their 16S rRNA genes to other mycoplasmas . *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52:693-698.
18. Neimark, H., Johansson, K. E., Rikihisa, Y. and Tully, J. G.. 2001. Proposal to transfer some members of the genera *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* to the genus *Mycoplasma* with descriptions of ' *Candidatus Mycolasma haemofelis* ', ' *Candidatus Mycolasma haemomuris* ' and ' *Candidatus Mycolasma wenyonii* '. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51:891-899.
19. Seneviratna P, Weerasinghe, Ariyadasa S. 1973. Transmission of *Haemobartonella canis* by the dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Res. Vet. Sci.* 14: 112-114.
20. Tasker, S., Binns, S. H., Day, M. J., Gruffydd-Jones, T. J., Harbour, D. A., Helps, C. R., Jensen, W. A., Oliver, C. S., and Lappin M. R.. 2003. Use of PCR assay to assess the prevalence and risk factors for *Mycoplasma haemofelis* and ' *Candidatus Mycoplasma haemominutum* ' in cats in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 152: 3877-3880.
21. Tasker, S., Helps, C. R., Day, M. J., Harbour, D.A., Shaw, S.E., Harrus, S., Baneth, G., Lobetti, R.G., Malik, P., Beaufils, J-P., Belford, C.R., Gruffydd-Jones, T.J. 2003. Phylogenetic analysis of hemoplasma species: an international study. *J. Clin. Microbiol.* 41: 3877-3880.
22. Tasker, S. & Lappin, MR. 2002. *Haemobartonella felis*: recent developments in diagnosis and treatment. *J. Feline Med. Surg.* 4: 3- 11.
23. Watanabe, M., Hisasue, M., Hashizaki, K., Furuichi, M., Ogata, M., Hisamatsu, S., Ogi, E., Hasegawa, M., Tsuchiya, R. and Yamada, T. 2003. Molecular detection and characterization of *Haemobartonella felis* in domestic cats in Japan employing sequence-specific polymerase chain reaction (SS-PCR). *J. Vet. Med. Sci.* 65: 1111-1114.
24. Westfall, D. S., Jensen, W. A., Reagen, W. J., Radecki, S. V. and Lappin, M.R. 2001. Inoculation of two genotypes of *Haemobartonella felis* (California and Ohio variants) to induce infection in cats and the response to treatment with azithromycin. *Am. J. Vet. Res.* 62: 687-691.