

犬糸状虫症感染予防に来院した犬のバベシア,ヘモバルトネラ およびエールリッヒア感染状況調査

杉村 肇¹⁾ 坂口真也¹⁾ 今村圭太²⁾ 見山孝子²⁾ 島田洋二郎³⁾
坂田義美⁴⁾ 板本和仁²⁾ 奥田 優²⁾ 猪熊 壽^{5)†}

- 1) 兵庫県 開業 (〒656-0054 洲本市宇原2279-2)
- 2) 山口大学農学部 (〒753-8515 山口市吉田1677-1)
- 3) 日本全薬工業(株) (〒963-0196 郡山市安積町笹川字平ノ上1-1)
- 4) メリアル・ジャパン(株) (〒100-0014 千代田区永田町2-14-2)
- 5) 帯広畜産大学畜産学部 (〒080-8555 帯広市稲田町西2線11)

(2005年7月14日受付・2005年10月28日受理)

要 約

Babesia gibsoni 汚染地域である淡路島・洲本市の動物病院に犬糸状虫症感染予防を目的として来院した犬の末梢血を材料として, *B. gibsoni*, ヘモバルトネラおよびエールリッヒア特異的PCRを用いて感染の有無を確認した. 536頭中10頭 (1.9%) が *B. gibsoni* 陽性, また16頭 (3.0%) がヘモバルトネラ陽性を示したが, エールリッヒア陽性を示したものは認められなかった. *B. gibsoni* とヘモバルトネラに同時に感染している犬は認められなかった. またヘモバルトネラ陽性16頭のうち *Mycoplasma haemocanis* 感染は5頭, '*Candidatus Mycoplasma haematoparvum*' 感染は11頭で, 両者の混合感染は認められなかった. —キーワード: バベシア, 犬, ヘモバルトネラ.

日獣会誌 59, 267~270 (2006)

犬の *B. gibsoni* およびヘモバルトネラは, とともに節足動物または感染血液により伝播され, 宿主赤血球に感染することにより, 発熱および溶血性貧血を主徴とする症状を引き起こす [2, 4, 6, 13]. しかし両感染症は不顕性感染も多く, また疑わしい症状が認められる場合でも, 末梢血液中に病原体が少数しか出現しない場合には血液塗抹の観察による診断が困難である [6, 8, 13]. さらに近年犬のヘモバルトネラには *Mycoplasma haemocanis* と '*Candidatus Mycoplasma haematoparvum*' の2種があることも明らかになったが [15, 18], 両者の形態学的な鑑別は困難である. 最近では, これらの病原体検出に高感度で特異性の高い分子生物学的手法が診断あるいは疫学研究に応用されている [3, 5, 9-11]. しかし流行地における犬の *B. gibsoni* およびヘモバルトネラ感染状況を高感度の診断法により調査した報告はこれまでにない.

また, これらの病原体に加えて, 犬の新興マダニ媒介性病原体としてエールリッヒア, すなわち *Ehrlichia canis* または *Anaplasma platys* 感染症がわが国でも報

告されている [7, 17]. エールリッヒア感染症は特異的な症状に乏しく, 診断には血清学的またはPCRを用いた検査が必須であるため [1], わが国の犬における感染状況はほとんど不明である.

そこで本研究では *B. gibsoni* 感染症流行地域である兵庫県・淡路島地区の動物病院に, 犬糸状虫症感染予防を目的に来院した犬のうち, 特記すべき臨床症状を示さない犬を対象として, 感度と特異性に優れたPCR法を用いて *B. gibsoni*, ヘモバルトネラおよびエールリッヒア感染状況を調査した.

材料および方法

平成15年3月末から6月末までに, 犬糸状虫症感染予防を目的として淡路島・洲本市の動物病院に来院した犬のうち, 抗凝固剤としてEDTAを用いて末梢血液を採取することのできた536頭を対象とした. なお本動物病院では平成15年度の犬初診約1000例中, *B. gibsoni* 感染症と診断された犬は20頭であった. 対象犬について

a) QIAamp DNA Mini Kit, (株)キアゲン, 東京.

† 連絡責任者: 猪熊 壽 (帯広畜産大学畜産学部獣医学科獣医臨床学講座)

は、今回の調査疾患に関わる現症および過去の病歴を解析した。血液は採取後-20度に保存し、市販のキット^{a)}を用いてDNAを抽出後*B. gibsoni*特異的PCR [10]、猫のヘモバルトネラ2種を検出するために設計されたPCR [9, 11]、およびエールリッヒア属特異的PCR [16]を用いて感染の有無を確認した。さらにヘモバルトネラ陽性検体については*M. haemocanis*と‘*C. M. haematoparvum*’を鑑別するために、16s rRNA遺伝子配列に基づき、それぞれMh-f (3'-CGA CCT TGG TTT CGG CCA AG-5')/Hemo-457R (3'-CAT AGT TTG CTG TCA CTT ATT C-5') および CMh-f (3'-GAACGA AGA GGG TTT ACT CTC-5')/Hemo-457R

表1 洲本市の動物クリニックにフィラリア予防のために来院した犬536頭のPCR検査結果

	陽性頭数 (%)
<i>B. gibsoni</i>	10 (1.9)
<i>M. haemocanis</i>	5 (0.9)
‘ <i>C. M. haematoparvum</i> ’	11 (2.1)
<i>Ehrlichia</i>	0 (0.0)

のプライマーペアを設計し、アニーリング温度55度で反応させた。なお、種特異的PCRの特異性については陽性対照DNAを用いて確認した。

また犬の年齢、性別および品種による感染率の偏りを検定するためにカイ2乗検定を用いて解析した。

成績および考察

犬糸状虫症感染予防に来院した犬536頭中10頭(1.9%)が*B. gibsoni*陽性、また16頭(3.0%)がヘモバルトネラ陽性を示した(表1)。*B. gibsoni*とヘモバルトネラに同時に感染している犬は認められなかった。パベシア感染については犬の年齢、性別および品種により差は見られなかった(表2)。ヘモバルトネラ感染でも犬の年齢および品種による偏りはなかったが、性別では雄の*M. haemocanis*感染率と雌の‘*C. M. haematoparvum*’感染率が有意に高かった(表2)。この理由については不明である。

*B. gibsoni*陽性犬10頭のうち5頭は過去に*B. gibsoni*感染・治療歴があったが、今回の調査時にはいずれも貧血、発熱等の臨床症状は認められなかった。いっぽうへ

表2 年齢別、性別および品種別のパベシアおよびヘモバルトネラ感染状況

ファクター	犬の数	パベシア		ヘモバルトネラ		
		陽性	陰性	<i>M. haemocanis</i>	‘ <i>C. M. hematopavum</i> ’	陰性
年齢						
<2 year sold	71	1	70	0	2	69
2 y.o.≤, <4 y.o.	118	2	116	2	1	115
4 y.o.≤, <6 y.o.	117	2	115	0	1	116
6 y.o.≤, <8 y.o.	69	2	67	1	2	66
8 y.o.≤, <10 y.o.	58	0	58	1	1	56
10 y.o.≤	97	3	94	1	4	92
不明	6	0	6	0	0	6
P値(カイ2乗)		0.8649		0.8198		
性別						
雄	290	8	282	5	2	283
雌	240	2	238	0	9	231
不明	6	0	6	0	0	6
P値(カイ2乗)		0.2498		0.0344		
品種(10頭以上のもの)						
雑種	173	5	168	1	2	170
シーズー	48	0	48	1	1	46
ミニチュア・ダックスフント	46	1	45	0	0	46
ゴールデン・レトリバー	34	2	32	0	0	34
柴	27	1	26	0	2	25
マルチーズ	25	0	25	0	1	24
ウエルッシュ・コーギー	22	0	22	1	0	21
ラブラドル・レトリバー	21	0	21	0	2	19
ヨークシャー・テリア	19	0	19	0	1	18
トイ・プードル	13	0	13	1	1	11
チワワ	11	0	11	0	0	11
ポメラニアン	11	0	11	0	1	10
その他+不明	86	1	85	1	0	85
P値(カイ2乗)		0.7872		0.1017		

モバルトネラ陽性16頭のうち *M. haemocanis* 感染は5頭、 '*C. M. haematoparvum*' 感染は11頭であった。このうち *M. haemocanis* 陽性の1頭に、1年前の発熱、貧血、黄疸、脾腫等の病歴が認められたが、今回の調査時にはいずれも臨床症状は認められなかった。猫では一般に *M. haemofelis* は '*C. M. haemominutum*' に比べて病原性が高いとされているが [19]、犬の *M. haemocanis* と '*C. M. haematoparvum*' の病原性については明らかではなく、今後種特異的PCRのような分子生物学的手法による鑑別診断法を応用して、両者の病原性を検討することが可能と考えられる。なおエールリツヒア陽性を示したものは認められなかった。

今回の調査により、*B. gibsoni* 流行地においては特に治療目的ではなく犬糸状虫症感染予防のために来院した犬の1.9%に *B. gibsoni* が、また3.0%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。また *B. gibsoni* 陽性犬10頭中5頭およびヘモバルトネラ陽性犬11頭中10頭は過去に特異的な症状を示していないこともわかった。犬の *B. gibsoni* 感染症およびヘモバルトネラ感染症は不顕性であることが多いが、脾臓摘出後、免疫抑制状態またはストレス下において発症することがある [2, 4, 11, 12, 14]。また不顕性キャリアーの血液を輸血することによっても感染が成立する [4, 13]。PCR陽性は末梢血に病原体が存在することを意味するため、血液の取扱いには注意が必要となる。特に流行地においては、摘脾や外科手術、あるいは輸血ドナーとしての処置前には、これら病原体の感染の有無をPCR等の感度の高い診断法を用いて、または複数の血液塗抹標本について詳細に鏡検する等、十分に血液検査を行う必要があるものと考えられた。

またヘモバルトネラの不顕性感染率は *B. gibsoni* のそれを上回ることから、*B. gibsoni* 感染が疑われる場合でも、ヘモバルトネラ感染を常に意識して鑑別診断を行う必要があると考えられた。

引用文献

[1] Breitschwerdt EB : Veterinary Internal Medicine, Ettinger SJ, Feldman EC eds, 6th ed, 631-636, Saun-

- ders, Philadelphia (2005)
- [2] Brinson J, Messick JB : J Am Vet Med Assoc, 218, 1943-1945 (2001)
- [3] Fukumoto S, Xuan X, Shigens S, Kimbita E, Igarashi I, Nagasawa H, Fujisaki K, Mikami T : J Vet Med Sci, 63, 977-981 (2001)
- [4] Harvey JW, Gaskin JM : J Am Anim Hosp Assoc, 13, 28-38 (1977)
- [5] 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 : 日獣会誌, 57, 587-590 (2004)
- [6] Hoskins JD : Vet Clin North Am Small Anim Pract, 21, 129-140 (1991)
- [7] Inokuma H, Fujii K, Matsumoto K, Okuda M, Nakagome K, Kosugi R, Hirakawa M, Onishi T : Vet Parasitol 110 : 145-152 (2002)
- [8] Inokuma H, Okuda M, Yoshizaki Y, Hiraoka H, Miyama T, Itamoto K, Une S, Nakaichi M, Taura Y : Vet Rec, 156, 116-118 (2005)
- [9] Inokuma H, Taroura S, Okuda M, Hisasue M, Itamoto K, Une S, Nakaichi M, Taura Y : J Vet Med Sci, 66, 1017-1020 (2004)
- [10] Inokuma H, Yoshizaki Y, Matsumoto K, Okuda M, Onishi T, Nakagome K, Koshugi R, Hirakawa M : Vet Parasitol, 121, 341-346 (2004)
- [11] Jensen WA, Lappin MR, Kamkar S, Reagan WJ : Am J Vet Res 62, 604-608 (2001)
- [12] Kuehn NF, Gaunt SD : J Am Vet Med Assoc, 188, 1313-1315 (1986)
- [13] Lappin MR : Veterinary Internal Medicine, Ettinger SJ, Feldman EC eds, 6th ed, 643, Saunders, Philadelphia (2005)
- [14] Lester SJ, Hume JB, Phipps B : Can Vet J, 36, 444-445 (1995)
- [15] Messick JB, Walker PG, Raphael W, Berent L, Shi X : Int J Syst Evol Microbiol 52, 693-698 (2002)
- [16] Parola P, Roux V, Camicas JL, Baradji I, Brouqui P, Raoult D : Trans R Soc Trop, Med Hyg, 94, 707-708 (2001)
- [17] Suto Y, Suto A, Inokuma H, Obayashi H, Hayashi T : Vet Rec, 148, 809-811 (2001)
- [18] Sykes JE, Ball LM, Bailiff NL, Fry MM : Int J Syst Evol Microbiol 55, 27-30 (2005)
- [19] Westfall DS, Jensen WA, Reagen WJ, Radecki SV, Lappin MR : Am J Vet Res, 62, 687-691 (2001)

Epidemiological Survey of *Babesia gibsoni*, Haemobartonella and *Ehrlichia*
Infection in Dogs Presenting for Canine Filariasis Control

Hajime SUGIMURA*, Shinya SAKAGUCHI, Keita IMAMURA, Takako MIYAMA,
Yojiro SHIMADA, Yoshimi SAKATA, Kazuhito ITAMOTO, Masaru OKUDA
and Hisashi INOKUMA†

* Sugimura Animal Clinic, 2279-2 Uhara, Sumoto, Hyogo, 656-0054, Japan

SUMMARY

Infections with *Babesia gibsoni*, haemobartonella and *Ehrlichia* in 536 dogs was examined using a polymerase chain reaction (PCR) specific for each agent in an animal hospital in Sumoto, an endemic area of canine *B. gibsoni* infection. Ten of 536 dogs (1.9%) tested positive for *B. gibsoni*, another 16 (3.0%) tested positive for haemobartonella, and none tested positive for *Ehrlichia*. No mixed infection of *B. gibsoni* and haemobartonella was detected. Of 16 dogs testing positive for haemobartonella, five were found to be infected with *Mycoplasma haemocanis* and the other 11 were infected with *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*.

— Key words : *Babesia gibsoni*, Dog, haemobartonella.

† Correspondence to : Hisashi INOKUMA (Obihiro University of Agriculture & Veterinary Medicine)

Inada, Obihiro, 080-8555, Japan TEL · FAX 0155-49-5370

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 59, 267 ~ 270 (2006)