

牛ヘモプラズマ感染症

田川 道人^{1,2)} 猪熊 壽¹⁾

1) 帯広畜産大学臨床獣医学研究部門

2) 岐阜大学大学院連合獣医学研究科

〒080-8555 北海道帯広市稲田町西2線11番地

Tel/Fax:0155-49-5370

E-mail: inokuma@obihiro.ac.jp

はじめに

ヘモプラズマ感染症とは、赤血球表面に寄生するマイコプラズマの感染により生じる溶血性貧血を主徴とする疾患である。以前は、本病原体はリケッチアの一つと考えられており、*Haemobartonella* (犬、猫など)、*Eperythrozoon* (牛、羊など) と呼ばれていた。その後、分子生物学的解析法の発達により病原体の16S rRNA遺伝子解析が行われ、*Mycoplasma* 属菌の一種であることが明らかとなった [Neimark, et al.: 2001]。牛のヘモプラズマ病原体には、赤血球表面寄生性の*Eperythrozoon wenyonii*、血漿中寄生性の*E. teganodes*、血小板寄生性の*E. tuomii*の3種が知られていたが、その区別は明確ではなかった。これら3種のうち、現在*Mycoplasma* 属に分類されているものはこのうち*M. wenyonii*のみである [Uilenberg.: 2009]。Hoelzleら(2010)は*E. teganodes*の16S rRNA遺伝子配列が*M. wenyonii*と99.8%の相同性をもち、これら2種が同一種もしくは16S rRNA遺伝子が同一な別種である可能性を示しており、他の遺伝子解析を含めたさらなる検討が必要としている。さらに、*Haemobartonella bovis*の名で報告されたヘモプラズマもあるが [Brocklesby.: 1970]、本種の遺伝子解析は行われておらず、その位置付けは不明である。2008年、第2の牛ヘモプラズマ病原体と考えられる'*Candidatus Mycoplasma haemobos*' (*Candidatus*とは候補の意。培養に成功していない場合に付けられる。)が牛末梢血から検出され、現時点では *M. wenyonii* および '*C. M.*

表1 牛ヘモプラズマ病原体の分類

旧分類名	感染部位	備考
<i>Eperythrozoon wenyonii</i>	赤血球	
<i>E. teganodes</i>	血漿	<i>M. wenyonii</i> と 99.8%一致
<i>E. tuomii</i>	血小板	遺伝子情報なし
<i>Haemobartonella bovis</i>	不明	遺伝子情報なし
新分類名		
<i>Mycoplasma wenyonii</i>	赤血球、血漿	
' <i>Candidatus M. haemobos</i> '	不明	

haemobos'の2種が牛のヘモプラズマ病原体であると考えられている(表1) [Tagawa, et al.: 2008]。

一般に牛のヘモプラズマの病原性は弱いとされており、臨床的に遭遇することは少ない。以前より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、疫学的性状や病原性については不明な点が多い。そこで本稿では、牛ヘモプラズマ感染症の概要について述べるとともに、道東地方における疫学調査の結果を紹介したい。

1. 感染経路と発症機序

ヘモプラズマの伝播様式はまだ明確ではないものの、以前より吸血節足動物(ダニ、シラミ等)による機械的伝播および牛白血病ウイルスと同様に医原性感染(輸血等)によると考えられてきた。機械的

伝播に関して、現在マダニおよびシラミによる伝播の可能性は低いと考えられており [Hornok, et al. : 2010 ; Hornok, et al. : 2012]、サシバエ、ウマバエといった比較的大型の吸血昆虫から牛ヘモプラズマのDNA断片が検出されたことから、これらが感染伝播の主軸を担っていると思われる [Hornok, et al. : 2011]。また、本病原体の母子感染が低率ではあるが報告されている [Hornok, et al. : 2011]。

発症機序にはいくつかのメカニズムが関与していることが知られている。病原体がフリーラジカルを発生することで宿主細胞表面に酸化ダメージを与えるほか、細網内皮系の活性化により感染赤血球および障害を受けた赤血球の貪食が行われることで貧血が進行する [Messick, et al. : 2004]。犬と猫では二次的な抗赤血球抗体の産生により免疫介在性溶血性貧血が生じるとされているが [Tasker, et al. : 2009 ; Warman, et al. : 2010]、牛での報告はない。

2. 臨床症状

ヘモプラズマ感染症の臨床症状およびその病態は、末梢血液中に多数の病原体出現を認める急性期と血中への出現が非常に軽微または認められない慢性期により異なる。急性期では貧血の発現とともに、40度以上の発熱、元気、食欲廃絶、急激な乳量低下や四肢の浮腫などが認められる [Smith, et al. : 1990 ; Montes, et al. : 1994]。これらの臨床症状は脾臓摘出牛において顕著であり、野外例では若齢牛や免疫力の低下した成牛で発症すると思われるが、正確な発症要因は不明である [Messick, et al. : 2004 ; Genova, et al. : 2011]。一方、ヘモプラズマ感染後、そのほとんどは慢性期に移行すると考えられている。これまで牛ヘモプラズマの多くは不顕性感染であり、慢性期には顕著な病原性を示さないものと考えられてきた。しかし、牛ヘモプラズマ慢性感染牛の血液検査の結果から、感染牛は非感染牛に比べると軽微な貧血を呈することが明らかとなった [Tagawa, et al. : 2010]。なお、病原性は種によって異なるとされ、新規に検出された牛ヘモプラズマ病原体である '*C. M. haemobos*' は、*M. wenyonii* より

も高い病原性を持つことが示されている [Tagawa, et al. : 2010 and 2012]。なお、豚では発情休止や早期胚死滅、流産といった生産性への影響が報告されている [Zinn, et al. : 1983]。さらに、犬猫では脾臓摘出術、免疫抑制療法、他の感染症の併発といったストレス下において、慢性期ヘモプラズマの急性転化が知られており [Messick, et al. : 2004]、牛でも注意が必要と思われる。

3. 診断

従来からヘモプラズマ感染症は血液塗抹標本により診断されてきた。病原体はギムザ染色において赤紫色に染まり、赤血球表面や血漿中に浮遊する直径0.3から1.5 μ mの円盤状、桿菌状あるいはリング状の寄生体として観察される (図1)。また、アクリジンオレンジ染色を用い蛍光顕微鏡下で観察すると、蛍光を発する寄生体が観察できる (図1)。血液塗抹の作成においてはゴミのないものを作成し、血液採取後、可能な限り早急に塗抹を引くことが推奨される。EDTA保存血では病原体が赤血球より離脱することが報告されており、消失により検出が困難になる [Tasker, et al. : 2002]。しかし、前述の通り末梢血液中に病原体が観察されるのは急性期のみであること、さらに染色液の沈殿物、アーチファクトによる赤血球の陥凹、ハウエルジョリー小体、好塩基性斑点、バベシア、アナプラズマ、小型ピロプラズマなどの他の住血微生物との鑑別が必要であるこ

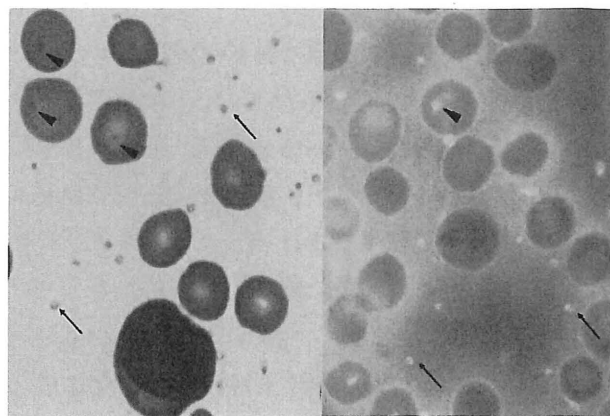


図1 赤血球表面(矢頭)および血漿中(矢印)にみられる*M. wenyonii* (左:ヘマカラー染色、右:アクリジンオレンジ染色)

とから顕微鏡観察だけで確定診断を行うことは困難である [Tasker, et al. : 2002]。また *M. wenyonii* と '*C. M. haemobos*' の顕微鏡観察による形態学的な鑑別は不可能である。

現在、PCR法を用いたヘモプラズマ病原体の検出系が多数報告されている [McAuliffe, et al. : 2006; Tagawa, et al. : 2008]。主に16S rRNA遺伝子配列をもとにプライマーが設計されており、2種の牛ヘモプラズマ病原体も容易に鑑別可能である [Tagawa, et al. : 2008]。とくに末梢血をそのままPCR系に材料として用いることのできるDirect PCR法は、簡便かつ高感度であり、血液1 μ Lあたり5 copyのヘモプラズマDNAを検出できる [Tagawa, et al. : 2012]。また、病原体を定量可能なリアルタイムPCRも報告されており [Meli, et al. : 2010]、今後疫学調査への応用が期待される。

4. 治療および予後

一般に牛では治療が必要となることは少ないが、急性期にはテトラサイクリン系抗生物質（オキシテトラサイクリン10mg/kg、IVまたはIM）が有効である [杉本 : 2002]。必要に応じて輸液、輸血を行う。抗生物質投与によりヘモプラズマ病原体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と考えられており、キャリアとなる。予後は良好であるが、他の疾患が併発している場合や貧血が重度の場合、注意が必要である。近年、小動物臨床においてニューキノロン系抗生物質（エンロフロキサシン等）の有効性が示唆されており [Dowers, et al. : 2002]、牛でも有効かもしれない。慢性期ヘモプラズマの治療が必要かどうかは今後議論が必要である。

5. 疫学

M. wenyonii は日本をはじめ多くの国で報告がある [Smith, et al. : 1990]。一方 '*C. M. haemobos*' はこれまでスイス、ドイツ、中国、日本、ブラジルでのみ検出されている [Hofmann-Lehmann, et al. : 2004; Tagawa, et al. : 2008; Su, et al. : 2010;

Hoelzle, et al. : 2011; Giroto, et al. : 2012]。

牛ヘモプラズマは世界中に分布していると考えられるが、これまでの報告はほとんどが症例報告であり、その疫学的情報は少ない。そこで我々は北海道・道東地区に飼養される乳用牛を用い、疫学調査およびリスクファクターの解析を行った [Tagawa, et al. : 2012]。

材料は2010～2011年に北海道道東地区の3農場および1放牧地に飼養されるホルスタイン乳牛の末梢血液343検体とし、飼養形態、年齢を記録するとともに牛白血病ウイルス (BLV) 抗体検査と血液検査を実施した。PCRの結果、ヘモプラズマ陽性は222検体(64.7%)で認められ、そのうち *M. wenyonii* が132検体(38.5%)、 '*C. M. haemobos*' が134検体(39.1%)、重複感染が44検体(12.8%)であった (図2)。統計解析の結果、飼養形態では農場のヘモプラズマ陽性率は放牧地と比較して有意に高かった。これは放牧地の牛の採血時期が放牧開始直後であったこと、農場の牛はそのほとんどが放牧を経験していることに起因すると思われた。また、放牧地の牛のヘモプラズマ陽性率は夏以降に急増するが (未発表データ)、これは吸血節足昆虫の活動と関係すると考えられた。年齢別のヘモプラズマ陽性率は1才以下で最も低く、1-3才で最も高くなり、それ以降は漸減した。1-3才は退牧直後であり、また初産のストレスが加わる時期と一致する。BLV抗体保

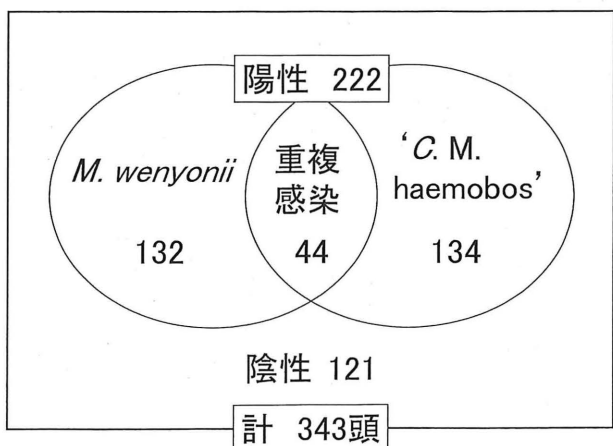


図2 道東地区に飼養されるホルスタイン種乳牛343頭のヘモプラズマPCR結果 [Tagawa, et al. : 2012]

表2 牛ヘモプラズマ感染に関するリスクファクター

ファクター	牛頭数	PCR結果 (%)			
		<i>M. wenyonii</i>	' <i>C. M. haemobos</i> '	重複感染	ヘモプラズマ陽性
飼養環境 (n=343)					
放牧地	91	38(41.8)	14(15.4)	7(7.7)	45(49.5)
農場	252	94(37.3)	120(47.6)	37(14.7)	177(70.2)
P値*		0.45	<0.001	0.09	<0.001
年齢 (n=343)					
<1 year	128	35(27.3)	10(7.8)	3(2.3)	42(32.8)
1 ≤ years <3	105	57(54.3)	70(66.7)	30(28.6)	97(92.4)
3 ≤ years <5	55	19(34.5)	31(56.4)	4(7.3)	46(83.6)
≥ 5 years	55	21(38.2)	22(40.0)	6(10.9)	37(67.3)
P値		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
BLV抗体 (n=206)					
陽性	42	17(40.5)	22(52.4)	5(11.9)	34(81.0)
陰性	164	58(35.4)	86(52.4)	25(15.2)	119(72.6)
P値		0.54	0.99	0.58	0.27

*P値は全てX²検定による

(Tagawa, et al. : 2012)

表3 牛ヘモプラズマ感染群と陰性群における血液性状の比較

検査項目 (Mean±SD)	PCR結果			
	<i>M. wenyonii</i> (n=78)	' <i>C. M. haemobos</i> ' (n=79)	重複感染 (n=37)	陰性 (n=97)
RBC(×10 ⁴ /μl)	683.3±142.4**	634.6±93.8***	649.4±106.6**	747.0±180.6
HB(g/dl)	10.4±1.1	10.0±1.0***	10.2±1.2*	10.6±1.7
HCT(%)	29.6±3.2*	28.5±3.2***	29.3±3.5*	30.6±5.5
MCV(fl)	44.4±6.8*	45.3±3.8***	45.5±4.5***	42.4±7.7
MCHC(g/dl)	35.1±1.2	35.2±1.2	35.0±1.0	34.7±1.4
WBC(×10 ² /μl)	102.7±35.4	86.3±29.3***	92.8±27.9	101.8±35.4

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 (vs 陰性群 : Mann-Whitney U検定)

(Tagawa, et al. : 2012)

有率とヘモプラズマ感染の間に有意な関係は認められなかった(表2)。また、ヘモプラズマ陽性牛群の血液性状は陰性牛群と比較し有意に赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値が低く、平均赤血球容積が高かった。さらに病原性は*M. wenyonii*、重複感染、'*C. M. haemobos*'の順に高くなる傾向を示した(表3)。

5. まとめ

これまで牛ヘモプラズマ感染症はその存在は知られているものの、診断の難しさからほとんどが看過されてきた。しかし、分子生物学的診断法が可能となり、病態解析や疫学的情報の蓄積が行われつつある。実際にヘモプラズマを発症するものは稀であるが、慢性期においても牛に軽度の貧血を引き起こすことから、今後、他の疾患の病態悪化や生産性への

影響を明らかにする必要があると思われる。

引用文献

- 杉本千尋 (2002) 主要症状を基礎にした牛の臨床、新版 (前出吉光、小岩政照 編). 28-29、デーリマン社、札幌.
- Brocklesby DW. (1970) *Haemobartonella bovis* detected in the blood of British cattle. *Vet Rec.*, 87 : 761.
- Dowers KL, Olver C, Radecki SV, Lappin MR. (2002) Use of enrofloxacin for treatment of large-form *Haemobartonella felis* in experimentally infected cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 221 : 250-253.
- Genova SG, Streeter RN, Velguth KE, Snider TA, Kocan KM, Simpson KM. (2011) Severe anemia associated with *Mycoplasma wenyonii* infection in a mature cow. *Can. Vet. J.*, 52 : 1081-1021.
- George JW, Rideout BA, Griffey SM, Pedersen NC. (2002) Effect of preexisting FeLV infection or FeLV and feline immunodeficiency virus coinfection on pathogenicity of the small variant of *Haemobartonella felis* in cats. *Am. J. Vet. Res.*, 63 : 1172-1178.
- Giroto A, Zangirólamo AF, Bogado AL, Souza AS, da Silva GC, Garcia JL, Vilas Boas LA, Biondo AW, Vidotto O. (2012) Molecular detection and occurrence of '*Candidatus Mycoplasma haemobos*' in dairy cattle of Southern Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 21 : 342-344.
- Hoelzle K, Hofmann-Lehmann R, Hoelzle LE. (2010) '*Candidatus Mycoplasma haemobos*', a new bovine haemotrophic *Mycoplasma* species?. *Vet. Microbiol.*, 144 : 525-526.
- Hoelzle K, Winkler M, Kramer MM, Wittenbrink MM, Dieckmann SM, Hoelzle LE. (2011) Detection of *Candidatus Mycoplasma haemobos* in cattle with anaemia. *Vet. J.*, 187 : 408-410.
- Hofmann-Lehmann R, Meli ML, Dreher UM, Gönczi E, Deplazes P, Braun U, Engels M, Schüpbach J, Jörger K, Thoma R, Griot C, Stärk KD, Willi B, Schmidt J, Kocan KM, Lutz H. (2004) Concurrent infections with vector-borne pathogens associated with fatal hemolytic anemia in a cattle herd in Switzerland. *J. Clin. Microbiol.*, 42 : 3775-3780.
- Hornok S, Hofmann-Lehmann R, de Mera IG, Meli ML, Elek V, Hajtós I, Répási A, Gönczi E, Tánzos B, Farkas R, Lutz H, de la Fuente J. (2010) Survey on blood-sucking lice (Phthiraptera: Anoplura) of ruminants and pigs with molecular detection of *Anaplasma* and *Rickettsia* spp. *Vet. Parasitol.*, 174 : 335-338.
- Hornok S, Micsutka A, Fernández de Mera IG, Meli ML, Gönczi E, Tánzos B, Mangold AJ, Farkas R, Lutz H, Hofmann-Lehmann R, de la Fuente J. (2012) Fatal bovine anaplasmosis in a herd with new genotypes of *Anaplasma marginale*, *Anaplasma ovis* and concurrent haemoplasmosis. *Res. Vet. Sci.*, 92 : 30-35.
- Hornok S, Micsutka A, Meli ML, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. (2011) Molecular investigation of transplacental and vector-borne transmission of bovine haemoplasmas. *Vet. Microbiol.*, 152 : 411-414.
- McAuliffe L, Lawes J, Bell S, Barlow A, Ayling R, Nicholas R. (2006) The detection of *Mycoplasma* (formerly *Eperythrozoon*) *wenyonii* by 16S rRNA PCR and denaturing gradient gel electrophoresis. *Vet. Microbiol.*, 117 : 292-296.
- Meli ML, Willi B, Dreher UM, Cattori V, Knubben-Schweizer G, Nuss K, Braun U, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. (2010) Identification, molecular characterization, and occurrence of two bovine hemoplasma species in Swiss cattle and development of real-time TaqMan quantitative PCR assays for diagnosis of bovine hemoplasma infections. *J. Clin. Microbiol.*, 48 : 3563-3568.
- Messick JB. (2004) Hemotrophic mycoplasmas (hemoplasmas) : a review and new insights into

- pathogenic potential. *Vet. Clin. Pathol.*, 33 : 2-13.
- Neimark H, Johansson KE, Rikihisa Y, Tully JG. (2001) Proposal to transfer some members of the genera *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* to the genus *Mycoplasma* with descriptions of 'Candidatus *Mycoplasma haemofelis*', 'Candidatus *Mycoplasma haemomuris*', 'Candidatus *Mycoplasma haemosuis*' and 'Candidatus *Mycoplasma wenyonii*'. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 51 : 891-899.
- Smith JA, Thrall MA, Smith JL, Salman MD, Ching SV, Collins JK. (1990) *Eperythrozoon wenyonii* infection in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 196 : 1244-1250.
- Su QL, Song HQ, Lin RQ, Tuan ZG, Yang JF, Zhao GH, Huang WY, Zhu XQ. (2010) The detection of "Candidatus *Mycoplasma haemobos*" in cattle and buffalo in China. *Trop. Anim. Health Prod.*, 42 : 1805-1808.
- Tagawa M, Matsumoto K, Inokuma H. (2008) Molecular detection of *Mycoplasma wenyonii* and 'Candidatus *Mycoplasma haemobos*' in cattle in Hokkaido, Japan. *Vet. Microbiol.*, 132 : 177-180.
- Tagawa M, Matsumoto K, Yokoyama N, Inokuma H. (2010) Comparison of the effect of two hemoplasma species on hematological parameters in cattle. *J. Vet. Med. Sci.*, 72 : 113-115.
- Tagawa M, Ybanez AP., Matsumoto K, Yokoyama N, Inokuma H. (2012) Prevalence and risk factor analysis of bovine hemoplasma infection by direct PCR in eastern Hokkaido, Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 74 : 1171-1176.
- Tasker S, Peters IR, Papasouliotis K, Cue SM, Willi B, Hofmann-Lehmann R, Gruffydd-Jones TJ, Knowles TG, Day MJ, Helps CR. (2009) Description of outcomes of experimental infection with feline haemoplasmas: copy numbers, haematology, Coombs' testing and blood glucose concentrations. *Vet. Microbiol.*, 139 : 323-332.
- Tasker S, Lappin MR. (2002) *Haemobartonella felis*: recent developments in diagnosis and treatment. *J. Feline Med. Sci.*, 4 : 3-11.
- Uilenberg G. (2009) *Candidatus Mycoplasma haemobos*. *Vet. Microbiol.*, 138 : 200-201.
- Warman SM, Helps CR, Barker EN, Day S, Sturgess K, Day MJ, Tasker S. (2010) Haemoplasma infection is not a common cause of canine immune-mediated haemolytic anaemia in the UK. *J. Small Anim. Pract.*, 51 : 534-539.
- Zinn GM, Jesse GW, Dobson AW. (1983) Effect of eperythrozoonosis on sow productivity. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 182 : 369-371.