分娩前にヘモプラズマ病を疑った黒毛和種雌牛の1例

立川文雄^{1)†}

1) ゆふいん動物病院

(2017年12月18日受付・2018年2月24日受理)

要約 症例は黒毛和種、10歳齢の雌牛で、2016年4月に長期在胎のため分娩誘発の処置を行った。小型ピロプラズマ病の既往歴があったため血液検査を行ったところ、血液凝固時間（血清分離用真空採血管内）の遅延がみられ、血液塗抹標本において赤血球表面に付着する病原体を確認し、ヘモプラズマ病を疑った。臨床症状はみられず、分娩直前から分娩2日後の赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値は正常範囲内で低値を示した。リアルタイムPCR検査の結果、血液から *Candidatus Mycoplasma haemobos* が検出された。ヘモプラズマと思われる病原体の寄生率は、分娩前日が最も高く（23.9%）その後低下し、それに伴い血液凝固時間は短縮し、分娩1日後にはほぼ正常な値となった。分娩前日から分娩直前の好酸球の比率は、ヘモプラズマと思われる病原体の寄生率の減少とともに減少した。また、分娩直前から分娩2日後の血液塗抹標本において、小型ピロプラズマ原虫が確認された。血中への病原体の出現には、分娩前後の免疫抑制状態が関与するものと推察されたが、ヘモプラズマと思われる感染が確認された同居牛においては、分娩前後において血中に病原体はみられなかった。

——キーワード：黒毛和種雌牛、ヘモプラズマ病、血液凝固時間、好酸球

.....産業動物臨床医誌 8 (増刊号): 281-285, 2018

牛ヘモプラズマ病は、マイコプラズマが赤血球に寄生することにより臨床徴候を引き起こす疾病であり、以前は *Eperythrozoon* と呼ばれていた [1, 2]。その後 *Mycoplasma* 属であることが明らかとなり、*Mycoplasma wenyonii*, *Candidatus Mycoplasma haemobos* が牛のヘモプラズマ病の病原体とされている [3]。牛のヘモプラズマ病は世界的に発生がみられ、国内でも北海道、東北、中国、九州で報告がある [3, 4]。病状は急性期 [5, 6] と慢性期 [7, 8] に分かれ、感染例のほとんどが不顕性感染の慢性期とされている。重度のストレスや他の感染症に伴う免疫抑制時に発病するとされており、急性期には発熱、貧血、跛行、後肢の浮腫、体重低下等の臨床症状が顕著に現われ、生産性に大きな影響を及ぼす [5, 6]。一方、ヘモプラズマ感染後はそのほとんどが慢性期に移行すると考えられ、軽微な貧血や乳量の低下、出生体重の低下傾向を示す [9, 10]。国内におけるヘモプラズマ感染の実態調査は、無症状の慢性期についてであり、急性期についての報告はみられない。また、末梢血塗抹標本にお

ける病原体の出現は臨床症状の発現時に認められ、症状が回復すると病原体はみられなくなる [11]。今回、黒毛和種繁殖雌牛において、血中に病原体が確認されたヘモプラズマ病と思われる症例に遭遇した。

症例

発生概要：発生農家は標高230 mに位置しており、黒毛和種繁殖雌牛5頭を飼養管理し、日中は裏山放牧を行っていた。患畜は10歳齢、推定体重450 kgの雌牛で、2016年4月に妊娠期間が295日を経過したため、分娩誘発の依頼があり往診した。往診時、食欲は正常で外陰部は腫大し、子宮頸管は2指幅程度開口していた。処置として、プロスタグランジン $F_2\alpha$ 25 mg/頭を投与した。2015年9月にピロプラズマ病の罹患歴があったため [12]、血液検査を実施した。血清分離用の真空採血管に採取した血液が凝固するまで2時間を要し、凝固時間の延長が疑われた。血液塗抹を作成し鏡検を行ったところ、赤血球に付着する小体が確認された。翌日、分娩

† 連絡責任者：立川文雄（ゆふいん動物病院）

〒879-5114 由布市湯布院町川北2027-1 ☎ 0977-84-3293 FAX 0977-84-3314
E-mail: tatsu230@m01.value-net.ne.jp

図 1. 分娩前日における赤血球表面に寄生するヘモプラズマと思われる病原体

徴候が発現したため、分娩前にビタミン K₁ 0.1 mg/kg を投与し分娩の介助を行ったが、分娩後の出血傾向はみられなかった。

臨床症状：ヘモプラズマ病の急性期の症状とされる発熱や重度の貧血などの臨床症状はなかった。また、出生子牛に異常な臨床所見は認められなかった。

血液検査：経時的に頸静脈より採血を行い、血液一般検査、血清生化学検査、寄生虫検査（ビーズ法）、牛白血病（BLV）抗体検査およびリアルタイム PCR 法によるヘモプラズマ病原体の検出を実施した。血清分離用真空採血管内（凝固促進フィルム含、ベノジェクト II 真空採血管 VP-P100K：テルモ、東京）の血液凝固時間は、採血後室温に放置し、採血管内の血液の流動性がなくなるまでの時間を調べた。同様の方法で患者以外の牛 18 頭から採血した検体について血液凝固時間の測定を行ったところ、最長が 35 分（平均値 ± 標準偏差, 19.3 ± 9.3）であったことにより、35 分以内を正常とした。初診時（分娩前日）の血液塗抹において、赤血球表面に付着する小体が多数観察され、ヘモプラズマ病を疑った（図 1）。また、分娩直前（初診の 16 時間後）には小体は減少していた（図 2）。血液一般検査所見において、分娩直前から分娩 2 日後の赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値は正常範囲内ではあるが低値を示した（表 1）。血清生化学検査所見ではアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、総ビリルビン（T-Bil）、カルシウム（Ca）の値は正常範囲内で、アルカリフォスファターゼ（ALP）はやや高値を示した。寄生虫検査で吸虫類卵の EPG は 1.0 で BLV 抗体陽性であった。また、分娩前日から分娩直前の好酸球の比率は、ヘモプラズマと思われる病原体の寄生率（赤血球 2,000 個を数え 478 個から検出）の減少とと

図 2. 分娩直前におけるヘモプラズマと思われる病原体寄生率の減少と小型ピロプラズマ原虫と思われる小体の出現（矢印）

図 3. 好酸球の比率およびヘモプラズマと思われる病原体寄生率の推移

もに減少した（図 3）。リアルタイム PCR 検査の結果、血液から *Candidatus Mycoplasma haemobos* が検出された。同居牛 4 頭についてもリアルタイム PCR の検査を実施したところ、*Mycoplasma wenyonii*, *Candidatus Mycoplasma haemobos* の混合感染 2 頭、*Candidatus Mycoplasma haemobos* 単独感染 2 頭であった。血清分離用真空採血管内の血液凝固時間は、赤血球のヘモプラズマと思われる病原体の寄生率が最も高かった分娩前日で 120 分を要し、寄生率が低下した分娩直前で 90 分、分娩 1 日後には 45 分に短縮した。血小板数は正常範囲内で推移した（表 1、図 4）。また、分娩直前から分娩 2 日後の血液塗抹標本において、小型ピロプラズマと思われる原虫が確認された（図 2）。同居牛 4 頭について、2 頭は分娩予定日に、2 頭は長期在胎の処置時に血液塗抹標本を観察したところ、ヘモプラズマの感染が確認され

表 1. 血液一般および血清生化学検査所見

項目	単位	分娩前日	分娩直前	分娩 1 日後	分娩 2 日後
WBC	μ/ℓ	—	11,000	7,400	7,800
RBC	$\times 10^4/\mu\ell$	—	592	665	627
HGB	g/dℓ	—	11.3	12.7	11.6
HCT	%	—	32.5	36.4	34.5
MCV	fℓ	—	54.9	54.7	55
MCH	Pg	—	19.1	19.1	18.5
MCHC	g/dℓ	—	34.8	34.9	33.6
PLT	$\times 10^4/\mu\ell$	—	31.5	31.9	33.6
凝固時間	min	120	90	45	30
Sta	$/\mu\ell$	(1%)	330 (3%)	296 (4%)	273 (3.5%)
Seg	$/\mu\ell$	(29%)	3,410 (31%)	777 (10.5%)	1,170 (15%)
Lym	$/\mu\ell$	(57%)	6,820 (62%)	5,698 (77%)	5,460 (70%)
Eos	$/\mu\ell$	(12%)	330 (3%)	629 (8.5%)	897 (11.5%)
Bas	$/\mu\ell$	(1%)	110 (1%)	0	0
AST	IU/ ℓ	31	—	—	—
ALP	IU/ ℓ	130	—	—	—
T-Bil	mg/dℓ	0.2	—	—	—
Ca	mg/dℓ	11.2	—	—	—
CMh. 寄生率	%	23.9	0.5	5.4	2.8

CMh : *Candidatus Mycoplasma haemobos*

図 4. 血小板数と血液凝固時間の推移

ているにもかかわらず、ヘモプラズマと思われる原体の寄生は認められず、血液凝固時間の延長もみられなかった。

考 察

今回、赤血球内や表面に付着する小体の存在を認めたが、タイレリアやアナプラズマ感染についての PCR 検査は実施できなかった。赤血球表面に付着する小体がヘモプラズマかどうかの確定診断については、走査型顕微

鏡や透過型顕微鏡による観察が必要であるが、PCR 検査にて血中からヘモプラズマが確認されたことから、小体はヘモプラズマの病原体である可能性が高いと考えられた。

ヘモプラズマ病には急性期と慢性期があり、慢性期には臨床症状を示さず、急性期においては臨床症状を示すとされるが、国内における急性期の報告は見当たらない。ヘモプラズマ病の診断には血液塗抹像が重要であり、ギムザ染色標本やアクリジンオレンジ染色標本の蛍光顕微鏡下での観察により病原体を確認する [13]。ヘモプラズマの末梢血中の感染部位については、*Candidatus Mycoplasma haemobos* の寄生部位はこれまで不明とされているが、今回の塗抹標本では赤血球の表面への付着がほとんどであった。病原体は急性期では容易に観察されるが、慢性期では検出が困難であるとされている。今回の症例では明らかな発熱、貧血、後肢の浮腫等の臨床症状 [5, 6] はみられなかった。国内における牛ヘモプラズマ感染の実態調査は乳牛が主で [4, 10]、黒毛和種牛について調べた報告は見当たらない。今回、貧血の徴候が見られなかった理由については、感染への抵抗性における品種間の差や、菌株における病原性の差 [4] が考えられたが、今後さらなる検討が必要と考えられた。血液検査所見において、ヘモプラズマと思われる病原体

の寄生率低下に伴い好酸球の比率の低下がみられた。ヘモプラズマ感染と血中の好酸球との関連について、猫のヘモプラズマ感染で Th2 細胞の増殖を誘導し、次に好酸球の動員を引き起こすことが示唆されている [14]。また、ヘモプラズマと思われる病原体の出現時に観察されなかった小型ピロプラズマと思われる原虫が、ヘモプラズマと思われる病原体の減少に伴い確認された。過去に小型ピロプラズマとヘモプラズマの干渉現象について報告されているが [15]、本症例での変化が同様の干渉現象によるものかどうか不明である。今回、病原体の検出にはリアルタイム PCR 検査を実施し、*Candidatus Mycoplasma haemobos* が検出された [16]。他の4頭の血液塗抹標本においては赤血球表面に寄生する病原体が確認されなかったことから、リアルタイム PCR 法がより確実な診断法と考えられた。また、血液凝固時間の延長を疑う所見がみられたが、ヘモプラズマ病に関連する症状の一つなのか不明であり、症例の積み重ねが必要と考えられた。

分娩前後は免疫抑制の状態にあることから [17]、末梢血中へのヘモプラズマと思われる病原体の出現は、分娩による免疫機能の低下と関連するものと考えられた。また、基礎疾患や免疫抑制状態により発病することが予測され [18]、肺炎や下痢等で貧血症状がみられる症例には注意が必要と考えられる。

謝 辞

本報告の執筆にあたり、貴重なご助言を賜りました宮崎大学農学部産業動物内科学研究室の片本 宏教授およびヘモプラズマの鑑定をいただいた宮崎大学農学部獣医寄生虫病研究室の野中成見教授に心から深謝いたします。また、PCR の検査を行っていただきましたいわて野生生物疾病研究センターの原澤 亮先生に深謝いたします。

引用文献

1. Hoyte HMD : Eperythrozoon teganodes sp. Nov. (Rickettsiales), parasitic in cattle, Parasitology, 52, 527-532 (1962)
2. Quinlan JF : Suspected eperythrozoonosis in dairy cows (letter), Ir Vet J, 39, 27 (1985)
3. Tagawa M, et al. : Molecular detection of *Mycoplasma wenyonii* and '*Candidatus Mycoplasma haemobos*' in cattle in Hokkaido, Japan, Vet Microbiol, 132, 177-180 (2008)
4. Fujihara Y, et al. : Prevalence of hemoplasma infection among cattle in the western part of Japan, J Vet Med Sci, 73, 1653-1655 (2011)
5. Genova SG, et al. : Severe anemia associated with *Mycoplasma wenyonii* infection in a mature cow, Can Vet J, 52, 1018-1021 (2011)
6. Montes AJ, et al. : Infertility associated with *Eperythrozoon wenyonii* infection in a bull, J Am Vet Med Assoc, 204, 261-263 (1994)
7. 栗谷川俊之, 他 : 乳牛の分娩前後および新生児子牛におけるヘモプラズマ感染の実態, 産業動物臨床医誌, 4, 16-20, 2013
8. Tagawa M, et al. : Prevalence and risk factor analysis of bovine Hemoplasma infection by direct PCR in eastern Hokkaido, Japan, J Vet Med Sci, 74, 1171-1176 (2012)
9. Tagawa M, et al. : Comparison of the effect of two hemoplasma species on hematological parameters in cattle, J Vet Med Sci, 72, 113-115 (2010)
10. Tagawa M, et al. : Effect of chronic hemoplasma infection on cattle productivity, J Vet Med Sci, 75, 1271-1275 (2013)
11. Smith JA, et al. : *Eperythrozoon wenyonii* infection in dairy cattle, J Am Vet Med Assoc, 196, 1244-1250 (1990)
12. 立川文雄 : 小型ピロプラズマ病に対してアクリフラビン投与が奏功した黒毛和種雌牛の1症例, 産業動物臨床医誌, 7, 235-238 (2017)
13. 杉本千尋 : エペリスロゾーン症, 新版・主要症状を基礎にした牛の臨床, 前出吉光, 小岩正照 監修, 28-29, デーリィマン社, 札幌 (2002)
14. Novacco M, et al. : Protection from reinfection in "*Candidatus Mycoplasma turicensis*" -infected cats and characterization of the immune response, Vet Res, 43, 82 (2012)
15. 田川道人, 猪熊 壽 : 牛ヘモプラズマと小型ピロプラズマの干渉現象, 牛臨床寄生虫研究会誌, 4, 1-4 (2014)
16. Nishizawa I, et al. : Differential detection of hemotropic Mycoplasma species in cattle by melting curve analysis of PCR products, J Vet Med Sic, 72, 77-79 (2010)
17. Aleri JW, et al. : Periparturient immunosuppression and strategies to improve dairy cow health during the periparturient period, Res Vet Sci, 108, 8-17 (2016)
18. Messick JB : Hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas) : a review and new insights into pathogenic potential, Vet Clin Pathol, 33, 2-13 (2004)

Suspected hemoplasmosis in a prepartum Japanese Black cow

F. Tatsukawa^{1)†}

1) *Yufuin Animal Hospital*

ABSTRACT A 10-year-old Japanese Black cow was presented for prolonged gestation and underwent induced parturition in April 2016. Because of a previous history of theileriosis, a hematological examination was performed. A blood sample collected in a vacuum tube for serum separation showed delayed blood clotting, and the blood smear revealed microorganisms on the surface of the red blood cells (RBCs). On the basis of these findings, hemoplasmosis was suspected. No clinical symptoms were evident, and RBC count, hematocrit and hemoglobin concentration were within the lower reference ranges immediately before parturition and until two days after parturition. *Candidatus* Mycoplasma haemobos was detected from a blood sample by real-time polymerase chain reaction (PCR). The percentage of pathogen-positive RBC was highest (23.9%) a day before parturition and subsequently declined, accompanied by normalization of the blood clotting time a day after parturition. The percentage of eosinophils also decreased over time from the day before to immediately before parturition. In addition, blood smears immediately before parturition and up to two days after parturition showed the presence of *Theileria* sp. Although the immunosuppressed status in the peripartum period appeared to play a role in the presence of hemoplasma in blood, parasitemia was not observed in other PCR-positive cows raised on the same farm either before or after parturition.

—**Key Words** : clotting time, eosinophil, hemoplasmosis, Japanese Black cow

† Correspondence to : Fumio Tatsukawa (*Yufuin Animal Hospital*)
2027-1, Kawakita, Yufuincho, Yufu-city, Oita 879-5114, Japan
TEL : +81-977-84-3296 FAX : +81-977-84-3314
E-mail : tatsu230@m01.value-net.ne.jp

.....Jpn. J. Large Anim. Clin. 8 (supple) : 281-285, 2018