ドライケミストリー法によるフトアゴヒゲトカゲの 血液生化学検査基準値の検討

田 向 健 一^{1)†}金 澤 優 子²⁾

1) 東京都 開業 (田園調布動物病院: 〒145-0071 大田区田園調布2-1-3)

2) 富士フイルムメディカル(株) (〒351-8585 朝霞市泉水3-11-46)

(2008年6月10日受付・2008年11月25日受理)

要 約

フトアゴヒゲトカゲの血液生化学検査基準値を設定することを目的として、ドライケミストリー法を用いて健康な100匹の血液生化学分析を行い、溶液法を用いて得られた値と比較した。両測定法間でALP, ALT, AST, CK, LDH, 総蛋白 (TP), 血糖 (Glu), 総コレステロール (TCho), トリグリセリド (TG), 尿酸 (UA), Ca, P, アンモニア (NH₃), K, Clは高い相関性 ($r > 0.9$) を示したため、ドライケミストリー法は本種の血液生化学検査に有用であると考えられた。また雌のTP, TChoおよびCaは、雄の値と比較して有意に ($P < 0.05$) 高かった。

——キーワード: フトアゴヒゲトカゲ, ドライケミストリー法, 血液生化学検査, 爬虫類。

----- 日獣会誌 62, 553~558 (2009)

近年、爬虫類を飼育する愛好家や展示施設が増加してきているため、臨床獣医師が爬虫類のさまざまな疾患に遭遇する機会も増加している。それとともに爬虫類の健康状態を把握するための血液生化学検査を行う必要性も高くなっている。従来、血液生化学検査には、実験室内などで行う溶液法が用いられてきたが、最近では少量の検体で迅速に測定できるドライケミストリー法 (ドライ法) を原理とする小型の血液生化学分析装置 (分析装置) が動物病院に導入されている。

ドライ法分析装置を用いて爬虫類の血液生化学検査を行うことは容易であるが、元来人用に調節された分析装置であるため、爬虫類の正しい値が得られるかどうか定かではない。爬虫類の血液生化学検査値に関し、原理の異なる分析装置を用いて得られた値を比較検討した報告はみあたらない [1]。また、爬虫類の血液生化学検査は、季節や環境温度によって変動することが報告されている [2-5]。さらに、同じ血液を測定した場合であっても、分析装置の違いによって値が異なることが指摘されている [1]。このため、汎用性の高いドライ法分析装置を用いて爬虫類の基準値を作成する意義は大きい。

フトアゴヒゲトカゲ (*Pogona vitticep*, 以下PVとする) は、有鱗目アガマ科に属する雑食性のトカゲである。爬虫類の中でも飼育頭数が多く、動物病院に来院す

る頻度が高いと考えられる。血液生化学検査を行った際にその基準値が必要になるが、PVの血液生化学検査基準値は、海外の報告 [6, 7] がわずかにみられるだけである。Mariaら [6] が報告した基準値は、算出に用いたサンプルの採取時期にばらつきがあり、被検体数 (21個体) も十分ではない。また、Geraldine [7] の報告では、使用したPVや測定法に関する情報が十分に説明されていない。

本研究では、臨床的に健康なPV100匹の血液を用い、わが国で汎用されるドライ法分析装置による血液生化学検査基準値を作成した。本法の有用性を検証するために、従来法である溶液法との方法間比較を行った。

また、一般に爬虫類の血液生化学検査値は性差が認められるため [8-12]、ドライ法の有用性が認められた検査項目について雌雄間の差を統計学的に解析した。

材 料 お よ び 方 法

PVおよび採血: 愛玩目的で飼育繁殖されたPVに対して事前に身体検査を行い、元気食欲、水和状態、可視粘膜色調、発情兆候、産卵の有無を調べた。また、糞便検査による内部寄生虫の有無を確認した。これらの検査で臨床上健康と判断した個体を供試した。

飼育環境温度は26~30℃の範囲にあり一部に35℃

† 連絡責任者: 田向健一 (田園調布動物病院)

〒145-0071 大田区田園調布2-1-3

☎03-5483-7676 FAX 03-5483-7656 E-mail: tamukai@vet.ne.jp

表1 ドライケミストリー法と溶液法の測定原理

検査項目	測定原理	
	ドライケミストリー法 ¹⁾	溶液法 ²⁾
ALP	パラニトロフェニルリン酸基質法	JSCC ³⁾ 標準化対応法
ALT	POP ⁴⁾ , POD ⁵⁾ , ロイコ色素法	JSCC標準化対応法
AST	オキザロ酢酸デカルボキシラーゼ [*] , POP, POD, ロイコ色素法	JSCC標準化対応法
CK	クレアチニンリン酸基質, ジアホラーゼ, ホルマザン色素法	JSCC標準化対応法
LDH	乳酸基質, ジアホラーゼ, ホルマザン色素法	JSCC標準化対応法
Alb	BCG ⁶⁾ 法	BCG法
TP	ビウレット法	ビウレット法
Glu	GOD ⁷⁾ , POD, 4-アミノアンチピリン法	エキソキナーゼ, 紫外線吸光度法
TCho	COD ⁸⁾ , POD, ロイコ色素法	COD法
TG	グリセロール-3-リン酸オキシダーゼ, ロイコ色素法	酵素比色法 (GK-GPO ⁹⁾ 法, グリセロール非消去法)
UA	ウリカーゼ, POD, ロイコ色素法	ウリカーゼ, POD法
Ca	クロロフォルフォナゾⅢ法	o-CPC ¹⁰⁾ 法
P	XOD ¹¹⁾ , POD, ロイコ色素法	PNP ¹²⁾ , XOD法
NH ₃	BPB ¹³⁾ 指示薬法	NADS ¹⁴⁾ 法
Na	イオン選択電極法 (非希釈法)	炎光光度法 (内部標準法)
K	イオン選択電極法 (非希釈法)	炎光光度法 (内部標準法)
Cl	イオン選択電極法 (非希釈法)	電量滴定法
BUN	ウレアーゼ, BCG指示薬法	ウレアーゼ, GLDH ¹⁵⁾ 法 (アンモニア非消去法)
Cre	クレアチニンデイミナーゼ, BPB指示薬法	酵素法 (クレアチニナーゼ法)
TBil	2,4-ジクロロベンゼンジアゾニウム塩法	ジアゾ法

1) 動物用生化学分析装置Fuji Dri-Chem 7000V, 富士フイルムメディカル(株), 東京

2) 7180型日立自動分析装置, 710型日立電解質測定装置, 日立(株), 東京

3) 日本臨床化学会 4) ビルビン酸オキシダーゼ 5) ペルオキシダーゼ 6) プロムクレゾールグリーン

7) グルコースオキシダーゼ 8) コレステロールオキシダーゼ 9) グリセロールキナーゼ-グリセロール3リン酸オキシダーゼ

10) オルトクレゾールフタレンコンプレキソン 11) キサンチンオキシダーゼ 12) プリンヌクレオシドホスホリラーゼ

13) プロモフェノールブルー 14) ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドシンターゼ 15) グルタミン酸脱水素酵素

のホットスポットを設置した。爬虫類用紫外線灯 (Reptisun 5.0 UVB, Zoo Med Laboratories, Inc, カリフォルニア) を設置し, 1日12時間の照明を行った。食餌として, 野菜, 昆虫類 (コオロギ, ミールワーム), サプリメント類 (Miner-All I, Sticky Tongue Farms, カリフォルニア) を毎日与えた。

血液は, PV100匹 (雄35匹, 雌65匹) から採取した。年齢7~48カ月齢 (平均: 雄24カ月齢, 雌22カ月齢), 体重119~594g (平均: 雄306g, 雌291g), 頭胴長15.0~21.5cm (平均: 雄18.8cm, 雌18.5cm) であった。採血は, 24時間の絶食を行った後, 夏季 (2006年8月) の同日に実施した。ヘパリンナトリウム (ノボ・ヘパリン注5千単位, 持田製薬(株), 東京) で前処理した25ゲージ注射針付き注射器を用いて, 腹部尾静脈から約1mlを採血した。採血後6分間, 6,200rpmで遠心し, 血漿を分離した。

血液生化学分析: ドライ法分析装置 (Fuji Dri-Chem 7000V, 富士フイルムメディカル(株), 東京) を用いた。検査項目はALP, ALT, AST, CK, LDH, アルブミン (Alb), 総蛋白 (TP), 血糖 (Glu), 総コレステロール (TCho), トリグリセリド (TG), 尿酸 (UA), Ca, P,

アンモニア (NH₃), Na, K, Cl, 血中尿素窒素 (BUN), クレアチニン (Cre), 総ビリルビン (TBil) の20項目とした。本装置の測定原理は表1に示した。血漿分離後, 経時変化を受けるALP, ALT, LDH, NH₃はただちに測定し, 残りの血漿は冷蔵で2時間輸送後-80℃で凍結保存した。これらの血漿を順次解凍し, その他の項目を測定した。ドライ法分析装置には, 測定可能範囲パラメータが設定されており, このパラメータ上限を超えた項目については, 装備されている希釈測定モードを使用して測定した。

ドライ法分析装置の評価: 同時再現性を評価するため, 十分量の血漿が得られたサンプルからプール血漿を作成し, 1項目に対し10回測定し変動係数 (CV値) を算出した。方法間比較のために, 溶液法 (7180型日立自動分析装置および710型日立電解質測定装置, 日立(株), 東京) を用いて任意抽出した30検体を測定し, ドライ法で得られた値と比較した。溶液法の測定原理は表1に示した。

両測定法で得られた値に対し, 相関係数とPassing-Bablok (PBr) 法による回帰式と傾き, 切片の95%信頼区間 (95%CI) を算出した [13]。

図1 ドライケミストリー法と溶液法における Passing-Bablok 法相関図

表2 ドライケミストリー法による雌雄別フトアゴヒゲトカゲ血液生化学検査基準値

検査項目	単位	雄				雌				P value
		平均値/ 中央値	基準範囲	標準 偏差	p/np ¹⁾	平均値/ 中央値	基準範囲	標準 偏差	p/np	
ALP	IU/l	355	81 — 1,558	351	p	335	66 — 1,140	282	p	NS ²⁾
ALT	IU/l	4	1 — 27	6	p	3	1 — 15	4	p	NS
AST	IU/l	12	3 — 33	8	p	10	2 — 36	8	p	NS
CK	IU/l	664	43 — 5,659	1,458	p	774	26 — 9,714	1,986	p	NS
LDH	IU/l	127	22 — 724	172	p	130	10 — 694	171	p	NS
Alb	g/dl	2.3	1.6 — 3.1	0.4	p	2.2	1.5 — 3.2	0.4	p	NS
TP	g/dl	5.1	3.5 — 7.1	0.9	p	5.6	3.6 — 8.2	1.1	p	$P<0.05^{3)}$
Glu	mg/dl	234	149 — 367	56	p	223	152 — 326	45	p	NS
TCho	mg/dl	200	125 — 312	47	p	290	142 — 521	93	p	$P<0.05$
TG	mg/dl	141	44 — 402	92	p	161	19 — 440	106	p	NS
UA	mg/dl	4.6	1.6 — 9.8	2.1	p	4.0	1.8 — 9.0	1.8	p	NS
Ca	mg/dl	12.5	10.3 — 15.0	1.2	p	14.2	8.6 — 23.5	4.5	p	$P<0.05$
P	mg/dl	4.4	2.6 — 7.5	1.3	p	4.7	2.7 — 7.0	1.1	p	NS
NH ₃	μg/dl	124	39 — 349	75	p	109	33 — 357	82	p	NS
Na	mEq/l	152	141 — 163	5.5	p	152	140 — 166	6.5	p	NS
K	mEq/l	4.1	2.8 — 5.4	0.7	p	4.0	2.8 — 4.9	0.5	p	NS
Cl	mEq/l	108	91 — 125	8.5	p	109	91 — 129	9.6	p	NS
BUN*	mg/dl	0.1	0.1 — 0.2		np	0.1	0.1 — 0.2		np	—
Cre*	mg/dl	0.3	0.1 — 0.9	0.2	p	0.3	0.1 — 0.9	0.3	p	—
TBil*	mg/dl	0.3	0.1 — 0.6	0.1	p	0.3	0.1 — 0.5		np	—

1) パラメトリック/ノンパラメトリック

2) 雌雄間で有意差なし

3) 雌雄間で有意差あり

* 溶液法との相関性なし

統計処理：基準値の算出にあたり，統計処理に適さない値をGrubbs-Sminov棄却検定を用いて除外した．次に性差を求めるため分散の検定を行った．等分散の項目にはStudent's T検定を行い，不等分散の項目にはWelch's T検定を行った．さらに，基準値（95%CI）は，得られた結果が正規分布している場合には，パラメトリック法により平均値 $\pm 2 \times$ 標準偏差から算出し，正規分布していない場合には，べき乗変換を行い正規化した後，前述の方法で算出した．最終的に正規分布が得られなかった場合には，ノンパラメトリック法により最大値と最小値のそれぞれの2.5%分布を除外した範囲を基準値とした．

成 績

同時再現性および方法間比較：各項目のCV値は0.0～4.1%の範囲にあった．ドライ法と溶液法における相関係数とPBr法による相関図を図1に示した．

ドライ法と溶液法の両測定法間の相関係数はALP, ALT, AST, CK, LDH, TP, Glu, TCho, TG, UA, Ca, P, NH₃, K, Clにおいて $r > 0.9$ であり，Alb, Na, TBilでは $0.7 < r < 0.9$ であった．またBUNおよびCreでは $-0.1 < r < 0.7$ であった．Creは負の相関を示したため，PBr法使用の制約[13]により回帰式の算出を行うことができなかった．

Creを除いた19項目のうち，両測定法間の値に直線性が認められた（ $P > 0.05$ ）項目は，ALP, ALT,

AST, CK, LDH, Alb, TP, Glu, TCho, TG, UA, Ca, P, NH₃, Na, K, Clあり，直線性が認められなかった項目は，BUN（ $P < 0.05$ ）およびTBil（ $P < 0.01$ ）であった．

基準値：ドライ法分析装置を用いて測定した100検体のうち，分析装置で設定された測定可能範囲パラメータ上限を上回った検体は，CK（ $> 2,000 \text{ IU/l}$ ）21検体，LDH（ $> 900 \text{ IU/l}$ ）3検体，TCho（ $> 450 \text{ mg/dl}$ ）3検体，TG（ $> 500 \text{ mg/dl}$ ）12検体，Ca（ $> 16 \text{ mg/dl}$ ）12検体であった．

雌雄における分散はALP, ALT, LDH, Alb, TP, Glu, TG, UA, P, NH₃, Na, Cl, では等分散しており，AST, CK, TCho, Ca, Kは不等分散していた．

ALP, ALT, AST, CK, LDH, Alb, Glu, TG, UA, P, NH₃, Na, K, Clでは，雌雄間の有意差（ $P < 0.05$ ）は認められなかった．いっぽう雌のTP, TCho, Caは，雄の値と比較し有意に（ $P < 0.05$ ）高値を示した．以上の結果より作成したPV血液生化学検査基準値を表2に示した．BUN, CreおよびTBilは，両測定法間の相関性が低く，かつ直線性が認められなかったため，性差の有意差検定は実施しなかった．

考 察

ドライ法で分析したすべての項目でCV値5%以下の良好な同時再現性が得られた．溶液法との方法間比較において，ALP, ALT, AST, CK, LDH, TP, Glu,

TCho, TG, UA, Ca, P, NH_3 , K, Clは高い相関 ($r > 0.9$) を示し、また直線性が認められたため ($P > 0.05$)、これらの項目は正確に測定されていると考えられた。したがって、ドライ法によるPVの血液生化学検査は、有用であると考えられた。

爬虫類の血漿においては、炎光光度法によって測定したNaおよびK濃度の方が、イオン電極法による値よりも正確であると報告されている [1]。いっぽう、本研究において両測定原理から得たNaおよびKは高い相関性を示し、イオン電極法を採用しているドライ法分析装置の有用性を支持するものと考えられた。Albは他の項目と比較し、やや低い相関係数 ($r = 0.774$) であった。本研究では、ドライ法および溶液法もブロムクレゾールグリーン (BCG) 法を採用している。一般にBCGはグロブリン (Glob) 蛋白ともわずかに反応性を有しているため、低Alb血症のときにはBCG法によるAlbには正確性がないことが指摘されている。また同じBCG法でも試薬メーカーの違いによって測定結果が異なることが報告されている [14]。このようなことが、本研究におけるAlbの低い相関性の原因と考えられた。

CKおよびLDHはGeraldine [7] の報告と比較しても明らかに高値を示した。これは腹側尾静脈からの採血の際に生じた骨格筋損傷による影響の可能性が考えられた [15]。また、TCho, TGおよびCaもドライ法分析装置に設定されている測定可能範囲パラメータを上回ったが、そのうち93% (25/27検体) は雌であった。したがって、これらの項目をドライ法分析装置で測定する際には、採血方法や性差を考慮し、装置のパラメータを上回った際には、希釈モードで再度測定する必要があると思われる。

爬虫類の窒素代謝産物の排泄は哺乳類とは異なり、種間や同種間での水和状態の違いにより尿中の尿酸、尿素、アンモニアの排泄比は変化する [16]。また、BUNおよびCreは爬虫類の多くの種において哺乳類と比較して低いことが報告されている [17]。爬虫類の胆汁色素は一般にビリルビンではなくビリベルジンであり、これはビリベルジンからビリルビンへの還元に必要なビリベルジンレダクターゼを欠くためとされる [18]。今回得られたBUN, Cre, およびTBilは過去の報告 [6, 7] とおおむね同様の値を示したが、PVの窒素代謝や胆汁色素生成を調査した報告がないため、BUN, CreおよびTBilの測定意義に関して検討が必要であると思われる。また、得られた値は溶液法との相関が低いため、正確性に欠けると考えられた。BUN, Cre, およびTBilの正確な基準値の設定には、他の分析原理を用いてさらなる比較検討が必要であると思われる。

トカゲは血液生化学検査数値に性差が認められ [8-11]、雄と比較して雌のTP, TChoおよびCaの高値

は、エストロゲン活性や卵胞形成に関係した生殖生理の影響を受けることが示唆されている [8, 10]。Deidreら [9] は、ハナブトオトカゲ (*Varanus salvadorii*) の雌において、TCho, Ca, P, およびGlobが雄と比較して高値を示すと報告している。Jacobson [11] は、グリーンイグアナ (*Iguana iguana*) の雌において、TP, TCho, Ca, PおよびGlobは雄と比較して高値を示すと報告した。PVの血液生化学検査値に関する過去の報告 [6, 7] では、性差の調査は行われていない。本研究で検討したBUN, CreおよびTBilを除いた17項目のうち統計学的に性差 ($P < 0.05$) が認められた項目はTP, TCho, およびCaであり、他のトカゲと同様の項目で雌が有意に高値を示した。夏季 (8月) は、非繁殖期にあたり、性ホルモンの影響を受ける雄の求愛行動や雌の産卵行動は認められず、発達した卵胞を有している可能性は低かった [19]。このため、PVのTP, TChoおよびCaは、繁殖活動の有無に関わらず性差を考慮する必要があると考えられた。

本研究から得られた血液生化学検査基準値は、PVの健康状態の評価ならびに各疾患の診断の指標になるものと考えられた。しかし、各項目の異常値が示す臨床意義については依然不明であるため、今後はPVにおける血液生化学検査値と病態との関連性を検討する必要があると考えられた。

終わりに、採材にご協力いただいたパーツ動物病院、高見義紀先生、統計学的解析について助言をいただいた神奈川県衛生研究所、黒木俊郎先生、中村廣志先生に深謝する。

引用文献

- [1] Jacobson ER : Laboratory investigations, Manual of reptile, Beynon PH, eds, 50-62, British small animal veterinary association, UK (1992)
- [2] Christopher M, Berry KH, Wallis IR, Nagy KA, Henen BT, Peterson CC : Reference intervals and physiologic alterations in hematologic and biochemical values of free-ranging Desert tortoises in the Mojave Desert, J Wild Dis, 35, 212-238 (1999)
- [3] Dickinson VM, Jarchow JL, Trueblood MH : Hematology and plasma biochemistry reference range values for free-ranging Desert tortoises in Arizona, J Wildl Dis, 38, 143-153 (2002)
- [4] Lawrence K : Seasonal variation in blood biochemistry of long-term captive Mediterranean tortoises (*Testudo graeca* and *T. hermanni*), Res Vet Sci, 43, 379 (1987)
- [5] Anderson NL, Wack RF, Hatcher R : Hematology and clinical chemistry reference ranges for clinically normal captive New guinea snapping turtle (*Elseya novaeguineae*) and the effects of temperature sex and sample type, J Zoo Wild Med, 28, 394-403 (1997)
- [6] Marla M, Ellman AB : Hematology and plasma chemistry of the Inland bearded dragon *Pogona vitticeps*,

- The bulletin of the association of reptilian and amphibian veterinarians, 7, 10-12 (1997)
- [7] Geraldine D : Hematologic and serum biochemical value of reptiles, Exotic animal formulary 3rd ed, Carpenter JW, eds, 94-108, WB Saunders Co, Philadelphia (2005)
- [8] Campbell TW : Clinical pathology in reptiles, Reptile medicine and surgery 2nd ed, Mader DR, et al eds, 453-470, WB Saunders Co, Philadelphia (2006)
- [9] Deidre K, Fontenot NL : Physical hematologic and plasma biochemistry values of five Crocodile monitors *Varanus salvadorii*, J Herp Med Surg, 14, 5-9 (2004)
- [10] Harr KE, Alleman AR, Dennis PM, Maxwell LK, Lock BA, Bennett RA, Jacobson ER : Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells and hematologic and plasma biochemical reference ranges in Green iguanas, J Am Vet Med Assoc, 218, 915-921 (2001)
- [11] Jacobson ER : Clinical evaluation and diagnostic techniques, Biology husbandry and medicine of the Green iguana, Jacobson ER eds, 96-107, Krieger publishing Co, Florida (2003)
- [12] Zaia J, Norton T, Fickel A, Spratt J, Altman NH, Cray C : Biochemical and hematologic values for 18 clinically healthy Radiated tortoises (*Geochelone radiata*) on St Catherines island Georgia, Vet Clin Pathol, 35, 321-325 (2006)
- [13] 市原清志 : 臨床検査の方法間比較法, 臨床検査 49, 1315-1326 (2005)
- [14] 齊藤久美子, 鶴岡 学, 田川雅代, 金澤優子, 藤原清隆 : 富士ドライケム 7000V におけるウサギの参照値に関する検討, 動物臨床医学, 14, 43-49 (2005).
- [15] Murry MJ : Reptilian laboratory medicine, Laboratory medicine avian and exotic pets, Fudge AM eds, 185-192, WB Saunders Co, Philadelphia (2000)
- [16] 中村健児 : 形態 h 泌尿生殖器系, 動物系統分類学 脊椎動物 (II b1) 第九巻下 B1 爬虫類, 内田 亨, 山田真弓監修, 134-140, 中山書店, 東京 (1998)
- [17] Diethelm G, Stein G : Hematologic and blood chemistry values in reptiles, Reptile medicine and surgery 2nd ed, Mader DR, et al eds, 1103-1118, WB Saunders Co, Philadelphia (2006)
- [18] Diver SJ : Reptilian liver and gastrointestinal testing, Laboratory medicine avian and exotic pets, Fudge AM eds, 185-192, WB Saunders Co, Philadelphia (2000)
- [19] 和田 勝 : 爬虫類の生殖行動, 行動とホルモン, 日本比較内分泌学会編, 154-162, 学会出版センター, 東京 (1983)

Plasma Biochemistry Reference Values for Bearded Dragons Using the Dry Chemistry Method

Kenichi TAMUKAI *[†] and Yuko KANAZAWA

* *Denenchofu Animal Hospital, 2-1-3 Denenchofu, Ota-ku, 145-0071, Japan*

SUMMARY

The objective of the present study was to establish plasma biochemistry reference values for bearded dragons. Biochemical tests were performed using the dry chemistry method for 100 healthy bearded dragons, and the data were compared with values obtained using the wet chemistry method. High correlations ($r > 0.9$) were observed between the two measurement methods for the following items : ALP, ALT, AST, CK, LDH, total protein (TP), glucose (Glu), total cholesterol (TChol), triglyceride (TG), uric acid (UA), Ca, P, ammonia (NH_3), K, and Cl. The dry chemistry method was thus considered useful in biochemical tests for this species. In addition, TP, TChol, and Ca were significantly higher ($P < 0.05$) in females than in males.

— Key words : bearded dragon, dry chemistry method, plasma biochemistry, reptile.

[†] *Correspondence to : Kenichi TAMUKAI (Denenchofu Animal Hospital)*

2-1-3 Denenchofu, Ota-ku, 145-0071, Japan

TEL 03-5483-7676 FAX 03-5483-7656 E-mail : tamukai@vet.ne.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 62, 553 ~ 558 (2009)