脾臓摘出後に発症した犬ヘモバルトネラ症の1例

平岡博子¹⁾ 見山孝子¹⁾ 白永伸行²⁾ 中市統三¹⁾ 渡邊麻麗香¹⁾板本和仁¹⁾ 奥田 優¹⁾ 猪熊 壽^{1)†}

1) 山口大学農学部 (〒753-8515 山口市吉田1677-1)

2) 山口県 開業 (〒745-0806 周南市桜木町2-12-18)

(2004年1月30日受付・2004年5月17日受理)

要 約

脾捻転の治療として実施した脾臓摘出後に発熱および貧血を呈した犬の一例に遭遇し、PCRによりヘモバルトネラ感染を証明した。また16S rRNA遺伝子解析により感染種は*Mycoplasma haemocanis*であることが明らかになった。本症例はヘモバルトネラに感染しており、摘脾したために急性転化したものと考えられた。今回ヘモバルトネラの検出に用いたPCRは、犬のヘモバルトネラ症の診断に有用であると考えられた。

——キーワード：犬，ヘモバルトネラ症，PCR。

----- 日獣会誌 57, 587～590 (2004)

犬のヘモバルトネラ症は、赤血球表面へのヘモバルトネラ病原体の付着、および宿主の免疫反応による赤血球破壊亢進のため生ずる溶血性貧血を主徴とする発熱性疾患である [1-4, 10]。犬のヘモバルトネラ症は健康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 [1, 4, 8, 9, 13]。本症の診断は一般に顕微鏡下で末梢血液塗抹中に病原体の存在を確認することによる [1, 3, 4]。しかし、ヘモバルトネラ病原体は、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、小型のパベシアなどとの鑑別が必要であり、確定診断を行うのは容易ではない [1, 3, 5]。このため本邦における犬のヘモバルトネラ症の症例報告はきわめて少なく、発生状況の実態も明らかではない。今回われわれは脾捻転のため脾臓摘出術を行った後、急性症状を呈したヘモバルトネラ症の犬に遭遇し、分子生物学的方法を用いて病原体の証明および性状解析を行ったのでその概要を報告する。

症 例

症例は10歳7カ月齢の雄、雑種犬で、体重17.1kg (健康時21.6kg)、1カ月前から進行中の貧血および血小板減少を主訴に2003年9月30日山口大学付属家畜病院に来院した (第1病日)。来院までの間、*Babesia gibsoni*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^{a)} およびステロイド剤^{b)} を投与されたがいずれも無効であった。また、症例は既往歴として10歳1カ月時に膀胱内のシスチン結石を外科的に摘出されたが、術後に患肢の定まらない跛行が認められた。

身体検査所見：元気低下、可視粘膜蒼白、CRTの延長 (3sec)、が認められたが、体温は正常範囲であった。

血液検査所見：重度の貧血 (PCV = 16%) と血小板の減少 (13000/ μ l) が認められた (表1)。末梢血塗抹では破碎赤血球、標的赤血球、球状赤血球および有核赤血球が認められたが、赤血球寄生体は確認できなかった。血液生化学検査ではALT、ALP、GGTおよびCRPの上昇とアルブミンの低下が認められた (表1)。血小板減少、破碎赤血球が認められたことから播種性血管内凝固症候群の併発を疑い凝固系検査を行ったが、APTT、PT、フィブリノーゲンおよびATⅢに異常は認められなかった。また、抗核抗体検査、クームス試験、パベシアPCR [6]、エールリヒアPCR [5] はいずれも陰性であった。

画像診断：腹部X線検査にて脾臓の著しい腫脹、変位および変形が認められた。腹部エコー検査では脾臓に23mm × 34mmの円形の低エコー領域を確認した。腹部CT検査を行なったところ、脾静脈の怒張と脾臓の変

a) ガナゼック、ノバルティス・アグロ(株)、東京。

b) プレドニゾロン錠、武田薬品工業(株)、大阪。

† 連絡責任者：猪熊 壽 (山口大学農学部獣医学科家畜内科学教室)

〒753-8515 山口市吉田1677-1 ☎・FAX 083-933-5895

表1 症例の第1および第22病日における血液および血液生化学検査結果

	第1病日	第22病日
RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	2.24	2.56
Hb (g/dl)	4.3	5.3
PCV (%)	16	18
T. P (g/dl)	6.2	5.6
MCV (fl)	66.1	66.8
MCH (pg)	19.2	20.7
MCHC (g/dl)	29.1	31
WBC ($/\mu\text{l}$)	11900	14200
Platelet ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	1.3	7.1
AST (IU/l)	46	NT
ALT (IU/l)	400	250
ALP (IU/l)	5792	2310
GGT (IU/l)	36	14
Alb (g/dl)	2.3	2.5
T. Bil (mg/dl)	0.5	0.5
CRP (mg/dl)	2.15	1.05

NT：測定せず

図1 第22病日の抹消血中に認められたヘモバルトネラ様赤血球寄生体 (矢印), ヘマカラー染色, 1000倍

位が認められた。また、コントラスト像では脾臓における造影剤の消失が正常と比べ遅いことが確認された。これら主として画像上の所見から脾捻転と仮診断した。また脾臓の針吸引生検を行ったところ、髄外造血の所見が得られた。

治療と経過：第2から4病日にかけて計600mlの輸血を行った後、第4病日に試験開腹を行なったところ、予想通り脾臓が捻転・腫大していたため脾臓全摘出術を行った。術後さらに200mlの輸血を行った後、第6病日に退院して経過観察となった。第11病日の腹部X線検査では肝臓の腫大が認められ、また、血液検査により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・下痢および重度貧血 (PCV = 17%) が認められた。血液塗抹像からは弱い再生像と、

1：陰性コントロール (陰性犬), 2：症例末梢血 (第22病日), 3：陽性コントロール (*Mycoplasma haemofelis*), 4：陰性コントロール (滅菌水), M：分子量マーカー

図2 ヘモバルトネラ特異的PCRによる症例末梢血からのヘモバルトネラの検出

破碎・ウニ状赤血球といった形態異常が認められた。第20病日に近医にて輸血後、第22病日に本院に再来院した。来院時、可視粘膜は蒼白で、発熱 (40.1℃) が認められた。血液検査にて重度貧血が認められ (表1)、腹部X線検査では肝臓および腎臓の腫大が認められた。また、末梢血液塗抹においてヘモバルトネラ様赤血球寄生体が認められたため (図1, 寄生率12.5%), 末梢血からDNAを抽出しヘモバルトネラ特異的PCR [7] を行ったところ陽性を示した (図2)。このため第23病日よりドキシサイクリン^{c)} 投与 (10mg/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。

追加検査として感染種の16S rRNAの遺伝子解析を行った。犬のヘモバルトネラ16S rRNA遺伝子の増幅には、ヘモバルトネラを特異的に増幅する2組のプライマー、すなわち fD1 [12] /Haemo513R (5'-ACG CCC AAT AAA TCC GAA TAA-3') および HaemoF (5'-CGA AAG TCT GAT GGA GCA ATA-3')/Rp2 [12] を用いた。PCR産物を用いたダイレクトシーケンス法により1393bpの16S rRNA遺伝子配列を決定した結果、本病原体は分子系統学的に既知の犬ヘモバルトネラ病原体と同じグループに属し、また99.6~100%の相

c) ビブラマイシン, ファイザー製薬株, 東京。

図3 本症例から検出された犬ヘモバルトネラ病原体、および近縁種の16S rRNA遺伝子塩基配列に基づく系統樹。スケールバーは10%の相違をあらわす。

同性を示した(図3)。なお、輸血の供血犬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(本院初診前9月10日)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。

考 察

犬のヘモバルトネラ症は通常不顕性ではあるが、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といわれている[1, 4, 8, 9, 13]。本症例においても脾捻転治療のための脾摘後に症状が急性転化した。

犬のヘモバルトネラの伝播はマダニによる経發育感染または経卵巣感染[3, 11]、あるいは医原性として不顕性キャリアーの血液を輸血することにより生じると考えられている[1, 3]。本症例では輸血前の血液を材料としたPCRも弱陽性を示したこと、および供血犬血液はPCR陰性であったことから、周術期の輸血が直接的な感染経路ではないと考えられた。また本症例は過去にマダニ寄生歴があるものの、国内のマダニとヘモバルトネラ感染の関係は解明されていないため、ヘモバルトネラ感染がいつ生じたかについては不明である。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も不明であるが、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。

PCRは特異性と感度に優れた検査法であり、今回用いたPCRでは血液1μlあたりヘモバルトネラ感染赤血球が約200個あれば検出可能である。本症例では末梢血塗抹標本所見からヘモバルトネラ症を疑い、PCRにより迅速に病原体を確認するにいたった。さらに本症例から検出された犬のヘモバルトネラ病原体の16S rRNA遺伝子の解析を行ったところ、感染種はすでに報告されている欧米の犬のヘモバルトネラ病原体、*M. haemocanis*と99.6~100%の相同性を示し、わが国の犬のヘモバルトネラ病原体も*M. haemocanis*であることが示唆された。

今回、ヘモバルトネラの検出に用いられたPCRは、犬のヘモバルトネラ症の診断に有用であると考えられたが、特に犬では不顕性感染が多いため、術前の診断、または輸血のドナー犬におけるヘモバルトネラ感染の発見に応用可能であると考えられる。また今後わが国における犬の*M. haemocanis*感染の実態を把握するため、PCRを用いた疫学調査を実施する必要があるものと考えられた。

引 用 文 献

- [1] Breitschwerdt EB : Veterinary Internal Medicine, Ettinger SJ, Feldman EC eds, 4th ed, 381-382, Saunders, Philadelphia (2000)
- [2] Brinson J, Messick JB : J Am Vet Med Assoc, 218, 1943-1945 (2001)
- [3] Harvey JW, Gaskin JM : J Am Anim Hosp Assoc, 13, 28-38 (1977)
- [4] Hoskins JD : Vet Clin North Am Small Anim Pract, 21, 129-140 (1991)
- [5] Inokuma H, Ohno K, Onishi T, Raoult D, Brouqui P : J Vet Med Sci, 63 : 815-817 (2001)
- [6] Inokuma H, Yoshizaki Y, Matsumoto K, Okuda M, Onishi T, Nakagome K, Koshugi R, Hirakawa M : Vet Parasitol, 121, 341-346 (2004)
- [7] Jensen WA, Lappin MR, Kamkar S, Reagan WJ : Am J Vet Res 62, 604-608 (2001)
- [8] Kuehn NF, Gaunt SD : J Am Vet Med Assoc, 188, 1313-1315 (1986)
- [9] Lester SJ, Hume JB, Phipps B : Can Vet J, 36, 444-445 (1995)
- [10] Messick JB : Vet Clin Small Anim, 33, 1453-1465 (2003)
- [11] Seneviratna P, Weerasinghe, Ariyadas S : Res Vet Sci, 14, 112-114 (1973)
- [12] Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA, Lane DL : J Bacteriol, 173, 697-703 (1991)
- [13] Wright IG : Aust Vet J, 47, 157-159 (1971)

A Case of Haemobartonellosis Following Splenectomy in a Dog

Hiroko HIRAOKA*, Takako MIYAMA, Nobuyuki SHIRANAGA, Munekazu NAKAICHI,
Malaika WATANABE, Kazuhito ITAMOTO, Masaru OKUDA and Hisashi INOKUMA†

* Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, 1677-1 Yoshida, Yamaguchi, 753-8515, Japan

SUMMARY

PCR determined a case of canine haemobartonellosis. Showing fever and anemia after splenectomy as a treatment for splenic torsion. Subsequent analysis of the 16S rRNA gene sequence revealed that the pathogen was *Mycoplasma haemocanis*. The splenectomy was thought to have caused an acute onset of haemobartonellosis from a subclinical condition. The PCR and gene sequence analysis employed in this study are considered useful for diagnosis of canine haemobartonellosis. — Key words : dog, haemobartonellosis, PCR.

† Correspondence to : Hisashi INOKUMA (Faculty of Agriculture, Yamaguchi University)

1677-1 Yoshida, Yamaguchi, 753-8515, Japan TEL · FAX 083-933-5895

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 57, 587 ~ 590 (2004)

下痢症状治療のファーストライン!

動物用医薬品 犬猫用抗下痢剤

デルクリア®

獣医師専用

- 生薬ゲンノショウコ末を配合し、優れた止瀉効果、整腸効果を発揮します。
- 腹痛、仙痛の改善に鎮痛、鎮痙作用のあるロートエキス3倍散を配合しました。
- 飲ませやすい小型のフィルムコート錠です。

〔効能・効果〕 下痢における症状改善 食欲不振 消化不良 腹痛 仙痛

明治製薬株式会社

〔包装〕 100錠/箱