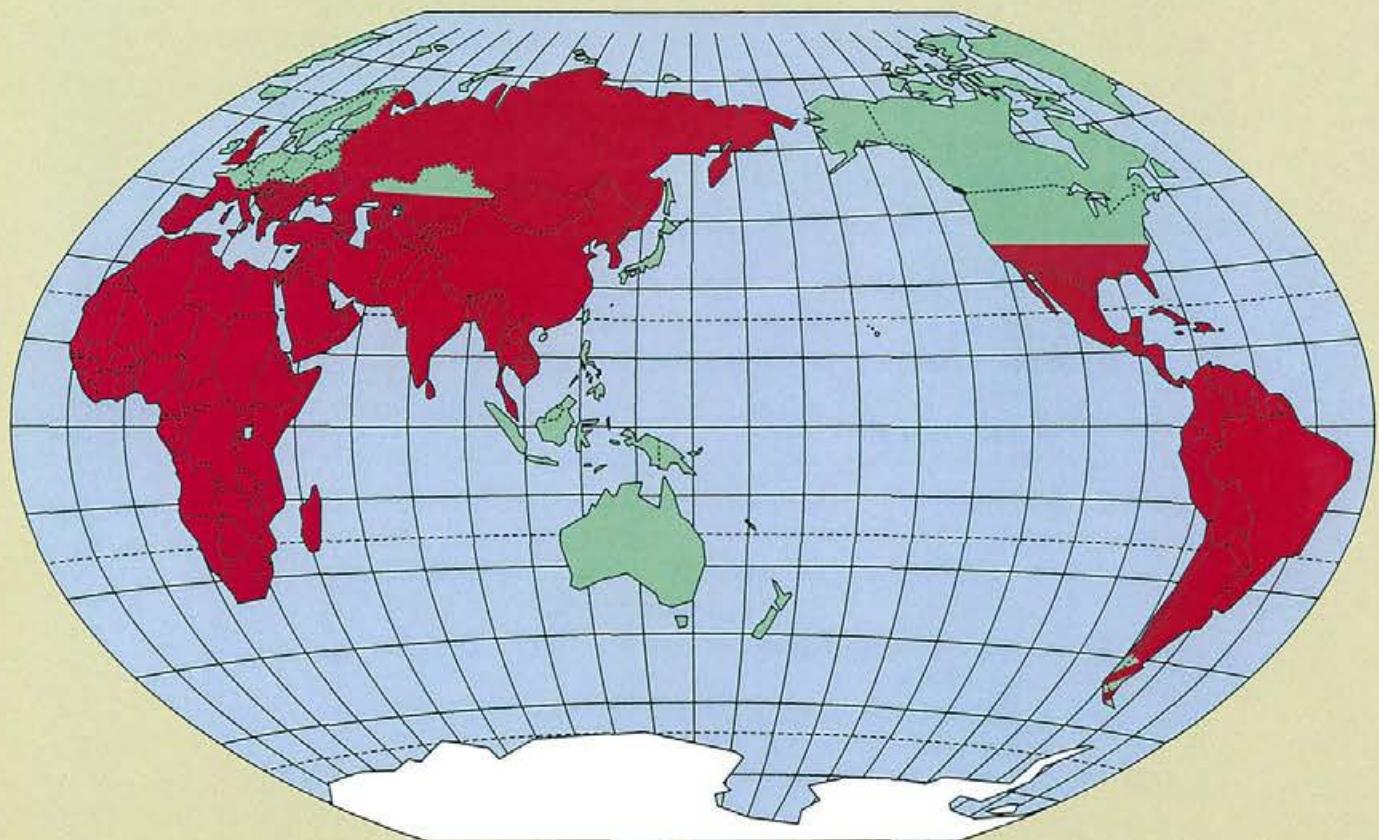


馬ピロプラズマ病

Equine Piroplasmosis

社団法人 中央畜産会



目 次

発刊にあたって	1
馬ピロプラズマ病の要約	2
馬ピロプラズマ病について	3
I 発生の歴史と分布	3
1. 発生の歴史	
2. 分布	
3. 痘学	
II 病原検索	4
1. 病原体の形態	
2. 生活環	
1) <i>B. caballi</i> 2) <i>T. equi</i>	
3. 感染	
4. 培養	
1) 培養液 2) 培養条件 3) 培養した感染馬赤血球の保存方法	
4) 感染馬血液の保存	
5. 主要抗原	
6. 遺伝子	
III 臨床所見	9
1. 臨床症状	
2. 血液検査所見	
3. 抗体応答	
IV 病理学的所見	11
1. 肉眼所見	
2. 病理組織学的所見	
V 診断	14
1. 直接法	
1) 末梢血塗沫法 2) 骨髄穿刺法 3) 赤血球固定溶血集虫法	
4) 脾臓穿刺法 5) 血液原虫集虫法	
6) Provocation 7) 試験管内培養法	
2. 免疫学的診断法	
1) 捕体結合 (CF) 反応 2) 間接蛍光抗体法 (IFAT)	
3) ELISA 法 4) その他の免疫学的診断法	
3. 類症鑑別が必要な疾病	
VI 治療と予防	19
1. 治療	
1) Bisazo 色素	
2) Acridine 誘導体	
3) Quinaldine 誘導体	
4) Aromatic diamidine 製剤	
5) テトラサイクリン系抗生物質	
2. 予防	
おわりに	20

発刊にあたって

馬ピロプラズマ病は、ピロプラズマ目のバベシア科およびタイレリア科に属する2種類の住血原虫（バベシア・カバリ、タイレリア・エクイ）の感染によって起こる貧血と黄疸を特徴とする病気です。この2種類の原虫の固有宿主は、馬、ロバ、ラバ、シマウマなどの馬属のみです。この病気が最初に発見された当時は、アフリカ馬疫と混同されていたようです。本病は、南ヨーロッパ、アジア、ロシア、アフリカおよび中南米など世界的に発生しています。わが国では、法定伝染病に指定されています。現在のところ、幸いにもわが国での発生はみられていません。この伝染病は、ダニによって伝播します。現在この2種類の原虫を媒介するダニは、世界で12種類が知られており、わが国には、このうちの1種類のダニが棲息しています。最近の疫学調査では、この媒介ダニの国内での棲息域は拡大傾向にあり、仮に馬ピロプラズマ病が我が国に侵入して本病の初発が確認された場合には、防疫対応を誤ると常在化してしまう恐れがあることから、本病の侵入に備えて十分注意しておく必要があります。

感染した動物の潜伏期はバベシア・カバリが6～10日、タイレリア・エクイが10～20日で、急性あるいは慢性の経過で発熱、貧血および黄疸などの症状を示します。この病気の死亡率は、2種類の病原体で若干異なりますが、約10%と言われています。

現在、この病気の診断は、急性期の末梢血液の塗沫標本における赤血球内に寄生する虫体の観察、および慢性期では間接蛍光抗体法や補体結合反応による血清中の抗体の確認によって行われています。最近、各種免疫学的診断法やDNA診断法が試みられていますので、本病の迅速でより特異性の高い診断法が確立されることを期待しています。

本病に対する治療法はいまだ十分確立されていません。また、予防法として各種のワクチンが試作されていますが、実用化までにはまだ時間が必要な状況にあります。

近年、外国からの輸入馬や国際交流競走あるいは国際馬術競技のために、多くの馬が輸入されております。輸入検査で本病の陽性馬が毎年のように摘発されております。このような状況を鑑みますと徹底した防疫対策を講じる必要があります。

この小冊子は、日本中央競馬会競走馬総合研究所栃木支所の感染実験成績や最近の研究成果・情報を元に作成された軽種馬防疫協議会（1986年出版）冊子および社団法人全国家畜産物衛生指導協会（1999年出版）冊子を改訂したものです。本冊子が馬ピロプラズマ病の理解と防疫対応の一助となれば幸甚です。

平成23年10月

社団法人 中央畜産会

馬ピロプラズマ病要約

馬ピロプラズマ病 (Equine Piroplasmosis) は、ピロプラズマ目のバベシア科およびタイレリア科に属する2種類の住血原虫である *Babesia caballi* (*B. caballi*) と *Theileria equi* (*T. equi*) の感染によって起こる急性または慢性の伝染病である。わが国では法定伝染病に指定されている。

本病には馬バベシア症 (Equine babesiosis)、馬ダニ熱 (Horse tick fever)、馬胆汁熱 (Equine biliary fever)、および馬マラリア (Equine malaria) の別名がある。この病気は古くからアフリカで発生が認められ、アフリカ馬疫と混同されていた。

B. caballi は、大型のバベシア科に属し、南ヨーロッパ、アジア、ロシア、アフリカ、中東、中南米および西インド諸島などに分布している。*T. equi* は、*B. caballi* に比べると小型の虫体で、南ヨーロッパ、中央アジア、ロシア、アフリカ、中近東、インド、中南米などに分布している。

この2種類の病原体の固有宿主は、馬、ロバ、ラバ、シマウマなどの馬属である。

これら2種類の病原体はダニによって媒介される。現在までに12種類の媒介ダニが明らかにされている。*B. caballi* は介卵伝播、*T. equi* は経発育期伝播（ある発育期、例えば〔幼ダニ〕で感染し、次の発育期〔若ダニ〕で伝播）によって媒介される。媒介ダニは、地域によって異なる。従って本病の流行時期は、ダニの活動期である春から夏（5～8月）である。

この2種類の病原体は、馬において混合感染が多いので、どちらの病原体による症状なのかを区別することが困難な場合も多い。

本病の潜伏期は、*B. caballi* が約6～10日、*T. equi* が約10～20日である。

主な症状は、40℃以上の発熱、顕著な貧血、黄疸、可

視粘膜の点状出血および下腹部や四肢の浮腫などで、重症例では起立不能や血尿も認められる。貧血が著しい *T. equi* 感染症例では、ヘマトクリット値が14%位になることもある。発熱の極期には原虫血症がみられ、血液塗沫標本で赤血球内に虫体が観察される。原虫の赤血球内寄生は、*T. equi* では高率であるが、*B. caballi* では低率である。

一般に、*B. caballi* よりも *T. equi* の方が病原性が強いと言われている。この病気による死亡率は約10%である。罹患馬は感染後約3週間以上生存すると耐過する。そして、末梢血液中から虫体は消失するが、*T. equi* の場合は、終生にわたって原虫保有馬となる。

本病の診断は、発熱中には感染馬の赤血球内に虫体が観察されるので困難ではない。慢性症例馬では、これまで主として補体結合反応によって診断されてきたが、近年は各種免疫学的診断法やDNA診断法も開発されている。

馬ピロプラズマ病の治療法はまだ十分には確立されていない。抗バベシア剤としてはジアミジン製剤があり *B. caballi* に対してはある程度有効であるが、*T. equi* は薬剤抵抗性を示すために必ずしも有効ではない。

最近、*T. equi* に対する各種の試作ワクチンが実験的に使用され、その有効性が示されているが、実用化にはまだ時間が必要であろう。

本病の常所在地では、媒介ダニの撲滅および原虫保有馬の摘発などの防疫対策を励行しているところは少ないところから、わが国に侵入する場合は本病の常所在地からの原虫保有馬の移入が発生の源になると考えられる。わが国にも媒介ダニの存在が確認されていることから、初発時には常在化を防止するための徹底した防疫対策を講じるべきであり、正確な情報に基づき迅速な対応が必須である。

馬ピロプラズマ病について

I 発生の歴史と分布

1. 発生の歴史

馬ピロプラズマ病は古くからアフリカ大陸において発生がみられたが、当時はアフリカ馬疫と混同されていたようである。本病の最初の報告は、1888年 Dupuy による西アフリカのセネガビア地方の症例であった。しかし、馬の血液中での最初の観察は1889年にイタリアで、Guglielmi によって報告された。本病は南アフリカでは胆汁熱として知られている。また、本病に対しては馬のダエ熱あるいは馬マラリアなどの病名も使われている。馬ピロプラズマ病の原虫は現在2種類あることが明らかにされており、バベシア (*Babesia*) 科およびタイレリア科 (*Theileria*) に分類されている。2種類ある病原体のうち、*Babesia caballi* には *Piroplasma caballi*、*Theileria equi* には *Babesia equi*、*Piroplasma equi*、*Nuttalia equi*、*N. assini* および *N. minor* の同義語がある。なお、*T. equi* は以前は *Babesia equi* と呼ばれていたが、近年の研究で、馬のリンパ球内でシソゴニーを有すること、赤内型虫体の蛋白をコードする遺伝子がウシの寄生虫として知られ

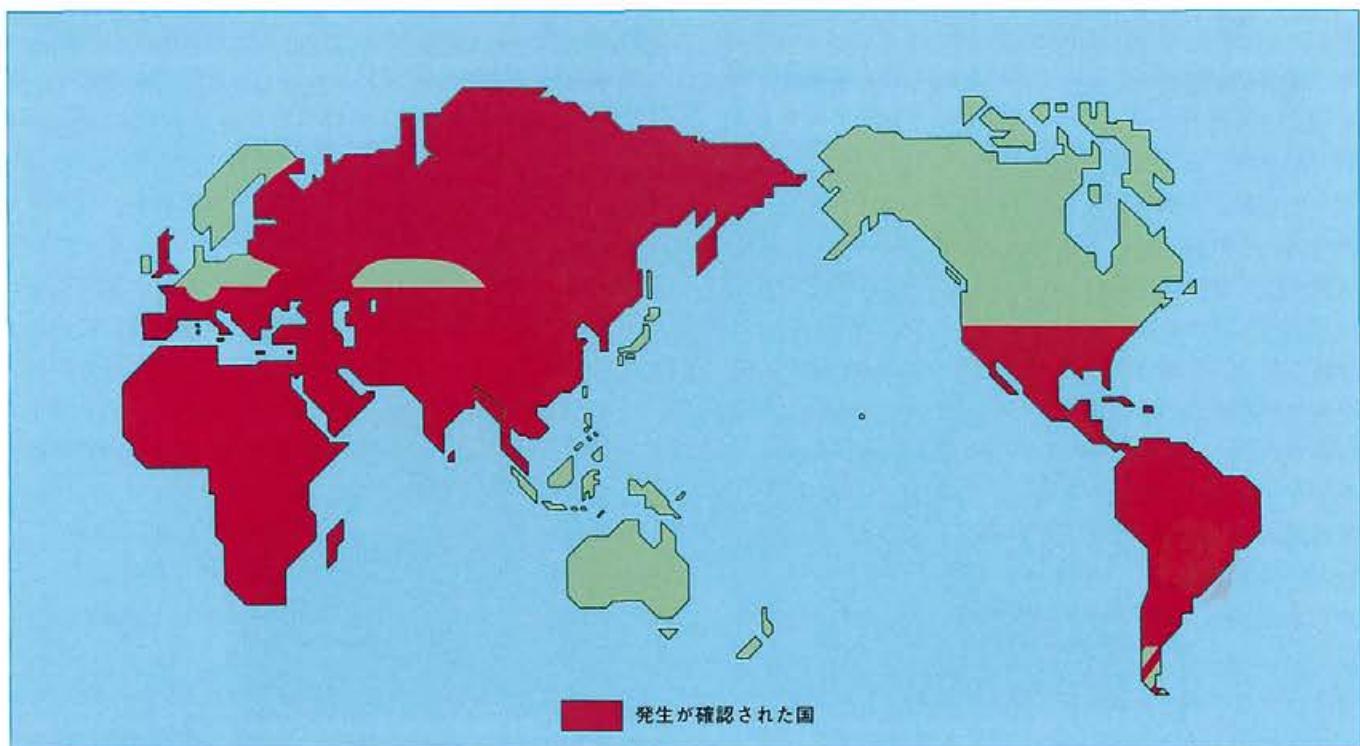
ているタイレリアに類似していることなどの知見が得られ、分類学上タイレリア科に帰属させるべきであるとの結論に落ち着いたことから、改訂に当たり、タイレリア科として扱う。

2. 分布

B. caballi は南ヨーロッパ、ロシア、アジア、中東、アフリカ、中南米および西インド諸島などに分布している。*T. equi* は南ヨーロッパ、ロシア、中央アジア、中東、インド、アフリカおよび中南米などに分布しているが、*B. caballi* より分布域は広いと言われている。1900年以降に馬ピロプラズマ病の発生が確認された国を図1に示す。

2000年以降の海外での馬ピロプラズマ病はスイス、フランス、スペイン、トルコ、アラブ首長国連邦、南アフリカで頻繁にあることは継続して発生が報告されており、風土病化している。それ以外の発生国としてはヨーロッパではギリシャ、ポルトガル、英国。アフリカではモロッコ、コンゴ、中央アフリカ、アンゴラ。中東ではイスラエル、

図1. 馬ピロプラズマ病の分布



ヨルダン、クエート。中南米ではメキシコ、ブラジル、コロンビア、アルゼンチン、チリ、パラグアイ、ウルグアイ、ジャマイカ、ドミニカ、コスタリカ。アジアではロシア、モンゴル、ミャンマーなどしばしば発生が報告されている。また香港では2000年に、韓国では2011年に単発の発生が報告されている。なお、米国では2008年8月にフロリダ州の7施設の28頭が馬ピロプラズマ病と診断された。この発生はメキシコから輸入された2頭の罹患馬が原因で、注射針などによって伝播された可能性が推測されている。

いっぽう、わが国での発生はこれまでに報告されていないが、中国、ロシア、フランスなどからの輸入馬において罹患馬がしばしば摘発され、返送あるいは殺処分による水際防疫で本病のわが国への侵入が阻止されている。

3. 痘学

馬ピロプラズマ病はマダニの媒介により感染するが、これまで12種類の媒介ダニが明らかとなっている。*B. caballi*を媒介するダニは、*Dermacentor marginatus*（ロシア南部および東部、ドイツ）、*D. reticulatus*および*D. silvarum*（ロシア南部）、*D. nitens*（米国、中米）、*Hyalomma excavatum* および *Hy. dromedarii*（北アフリカ）、*Hy. scutense*（ウクライナ地方）、*Rhipicephalus*

bursa（ブルガリア）、*Rh. sanguineus*（ギリシア）の9種類が知られている。

一方、*T. equi*を媒介するダニは、*D. reticulatus*（欧洲側のロシア）、*D. marginatus*（東ヨーロッパ）、*Hy. excavatum* および *Hy. plumbeum*（ギリシア、中央アジア）、*Hy. dromedarii*（北アフリカ）、*Rh. bursa* および *Rh. turanicus*（ロシア）、*Rh. evertsi*（南アフリカ）および *Rh. sanguineus*（中央アジア、北アフリカ）の9種類が知られている。

英国では本病の媒介ダニである*D. marginatus*が春季に渡り鳥と一緒に、馬ピロプラズマ病の常在地とされるスペイン、ポルトガル、南フランスおよび北アフリカから飛来するという防疫上の問題点が指摘されている。

日本における馬ピロプラズマ病の媒介ダニは、かつて多くの牧場で認められた*D. silvarum* (= *D. reticulatus* アミメカクマダニ) は現在分布しないと考えられている。しかし、*B. caballi* および *T. equi* の媒介が可能な *Rh. sanguineus*（クリイロコイタマダニ）についてはその分布域が拡大しており、両原虫が海外から我が国に侵入すれば、いずれも伝播して、本病を蔓延させる危険性がある。

本病の感染および発病する時期は媒介ダニの活動時期と一致しており、通常は春から夏（5～8月）である。

II 病原検索

1. 病原体の形態

B. caballi は、大型のピロプラズマである。馬の赤血球内の虫体は長さ2～5μm、一端が鋭角で、他端が円形を示し、一対でみられることが多い。長形または円形あるいは洋梨子形の虫体は辺縁がギムザ染色で紫色に染まり、中心部は不染性である。寄生赤血球の透過型電子顕微鏡による観察では、赤血球内の虫体は、円形ないし瓢箪状を呈し細胞膜は通常2層、時に3層からなっている。核は突出し、中央部に位置する1～2個の大きい食胞が認められる。このような食胞には、電子密度の低い小さな円形顆粒がみられる。小さな食胞は、不規則で、細長い丸い。また、虫体細胞質の一部には遊離リボソームも見られる（図2）。感染赤血球の表面には凹凸がみられ、多数の小孔が散在している。この小孔は、赤血球膜と連続した状態で陷入し、チューブ様構造によって原虫まで達している。

T. equi は、*B. caballi* に比べて小型で、馬の赤血球内の虫体は円形ないし梢円形あるいは中心部が不染性のドーナツ状を呈し、その大きさは1～3μmで、ギムザ染色

で紫色に染まる。感染初期には円形ないしドーナツ状虫体が赤血球内に1ないし2個見られるが、感染して数日後には4～6個の虫体となり、しばしばそれらが1ヶ所で結合して十字架状に配列するマルタクロス（maltese cross）と呼ばれる特徴的な形態像も認められる。透過型電子顕微鏡による観察では赤血球内虫体の多くは円形を呈し、2層の細胞膜を有している。その中には大型の円形ないし梢円形のやや電子密度の高い核と小型円形ないし不整形の粗面小胞体や円形で電子密度の高い食胞およびリボソームなどが見られる（図3）。また、原虫内部の微細器官として、赤血球内原虫と赤血球外を連結する1本の厚い2重のチューブ構造（tubule structure）が存在する。

2. 生活環

2種類の病原体はいずれも媒介ダニ体内と宿主の赤血球内で発育・増殖する。

1) *B. caballi*

馬体内における発育：馬体内では、赤血球内における

B. caballi の発育過程が詳細に報告されている（図4）。感染直後の赤血球内に見られる最初の原虫は、細胞質のほとんどないアナプラズマ様原虫（直径約1μm以下）で、この原虫は次第に大きくなり、メロゾイドを経て円形または橢円形のトロホゾイトとなる。トロホゾイトはこの

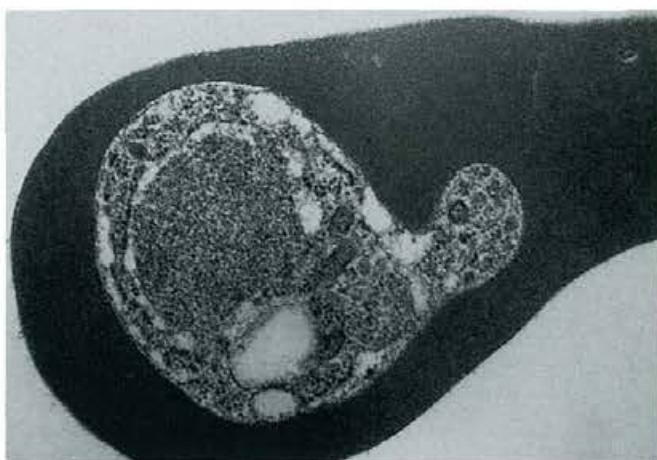


図2 実験馬の赤血球に寄生した *B. caballi* 電子顕微鏡像

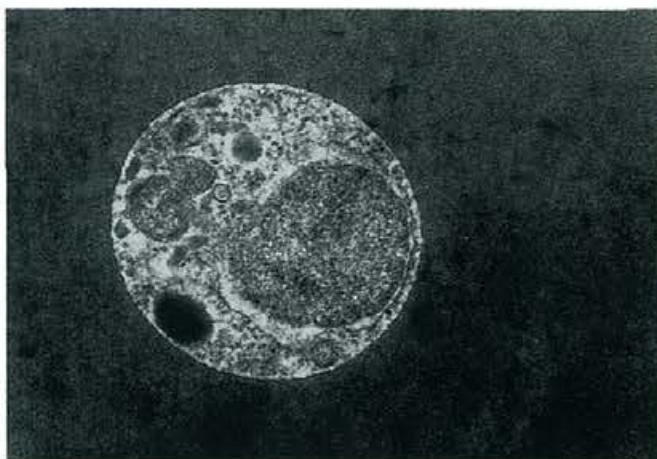


図3 実験馬の赤血球に寄生した *T. equi* 電子顕微鏡像

後、アメーバ様運動を行い、出芽に似た分裂をする。出芽の際、大部分は2つの芽胞を形成し、娘細胞に発育して洋梨子状のメロゾイドとなる。しかし、ときには母細胞から1つの芽胞を形成し、最後には同様の双梨子状メロゾイドになることもある（図5）。

ダニ体内における発育：*B. caballi* の媒介ダニにおける発育はカクマダニ属の *D. nitens* において観察されている。ダニが *B. caballi* の感染血を吸血すると、赤血球内原虫の多くは破壊されるが、一部の原虫が発育し、ダニの消化管内容物中に直径4～6μmの小さな小体が認められるようになる。ガメトサイトの存在およびガメトゴ

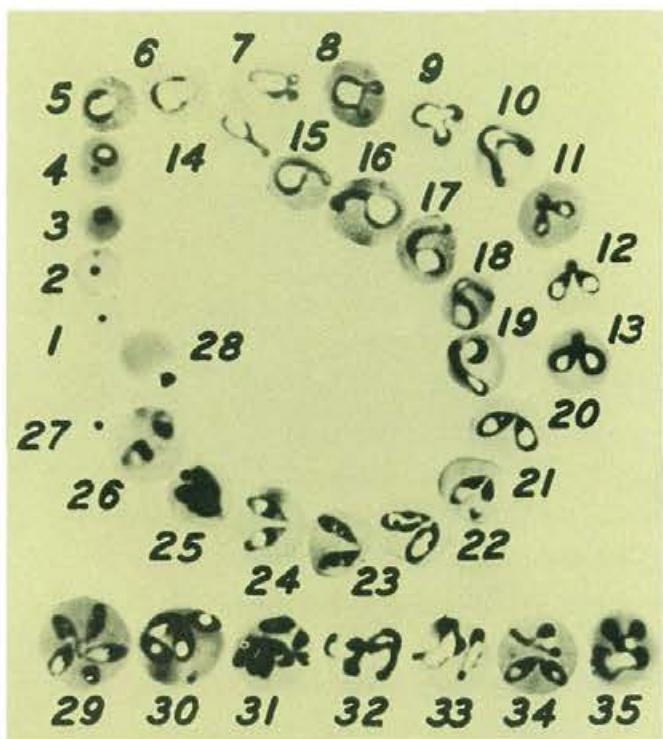


図4 馬の赤血球に寄生した *B. caballi* の発育環

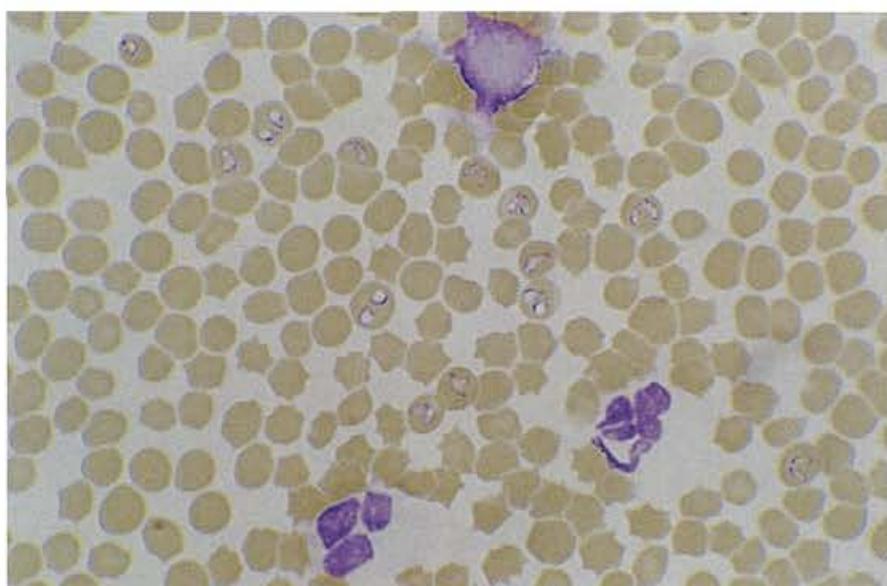
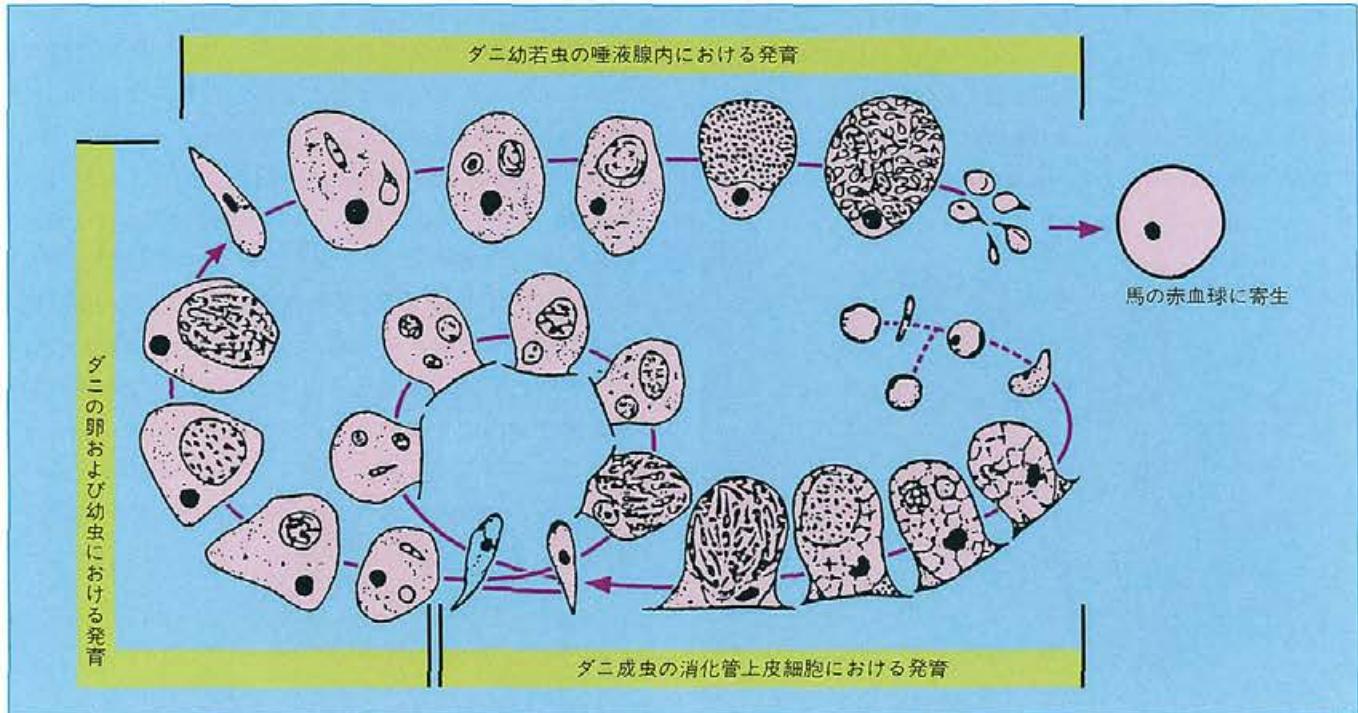


図5 実験馬の赤血球に寄生した *B. caballi*

図6. 媒介ダニ体内における *B. caballi* の発育



ニーの詳細については現在のところ不明である。この小体がクラブ様 ($10 \sim 14 \times 4 \sim 6\mu\text{m}$) になり、それはやがて直径 $12 \sim 16\mu\text{m}$ の大きな類円形のザイゴートとなって分裂し、約 $8 \sim 12 \times 2 \sim 4\mu\text{m}$ のキネートになる。このキネートは消化管を貫通してダニの他の細胞内に侵入する。キネートはマルビギー管や卵巣においてさらに分裂し、最終的にはダニの唾液腺細胞内に侵入し、そこでスポロゴニーとなって多数分裂を行った後、梢円形あるいは洋梨子状のスポロゾイトとなり、ダニが馬から吸血する際に馬の体内に侵入する（図6）。

2) *T. equi*

馬体内における発育：ダニ吸血後スポロゾイトはリンパ球に侵入してシゾントを形成する。1個のシゾントから直径 $1.5 \sim 2\mu\text{m}$ のメロゾイトが約200個生ずる。赤血球内に侵入したメロゾイトはアナプラズマ様である。このアナプラズマ様原虫は成長して大きな類円形となる。次いで、その中に含まれるクロマチン様物質が四分裂して虫体の辺縁に移動する（図7）。類円形虫体は分葉してマルタクロスを形成し、その4つの分葉におのおの1つのクロマチン顆粒が移動する。最後にマルタクロスは分裂して4個の洋梨子状原虫を形成する。しかし、このマルタクロスは時として5個の虫体になることもある。洋梨子状原虫は赤血球から血漿中に出て他の赤血球内に侵入する。*T. equi* はまた、赤血球内で二分裂を2回繰り返して4個に増殖する。この過程は、基本的にはマルタクロス形成による分裂方法と同様である。なお、原虫血症の極期には赤血球内に多数の原虫寄生が頻繁にみられる（図8）。

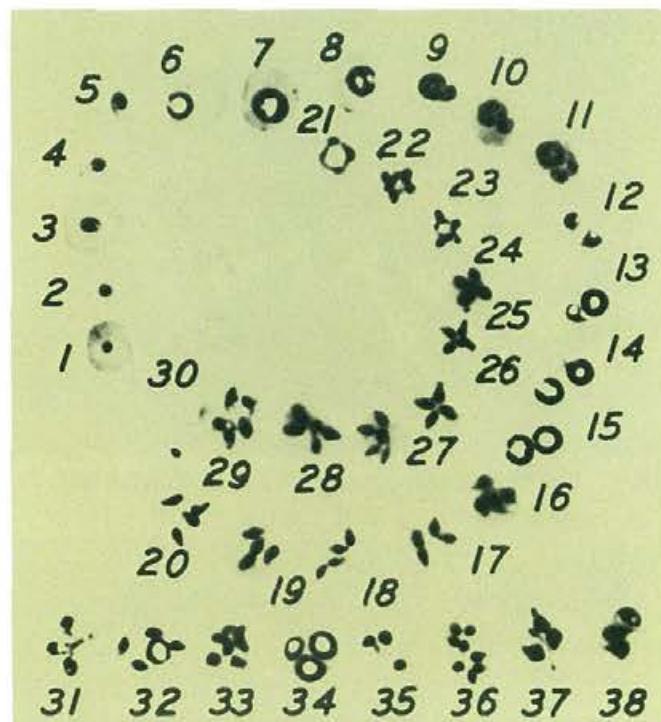


図7. 馬の赤血球に寄生した *T. equi* の発育環

ダニ体内における発育：ダニ体内におけるスポロゾイトの形成過程は以下のようである。飽血・落下後8日目に *T. equi* のキネートは幼ダニおよび若ダニの唾液腺上皮に侵入してスポロントに成長する。スポロントは多葉に分かれ、核とミトコンドリアを有する。この成長は幼ダニおよび若ダニがそれぞれ若ダニおよび成ダニに成熟する間に行われる（図9）。再び吸血を開始したダニにおいてスポロントは肥大した唾液腺細胞内の大部分を占め

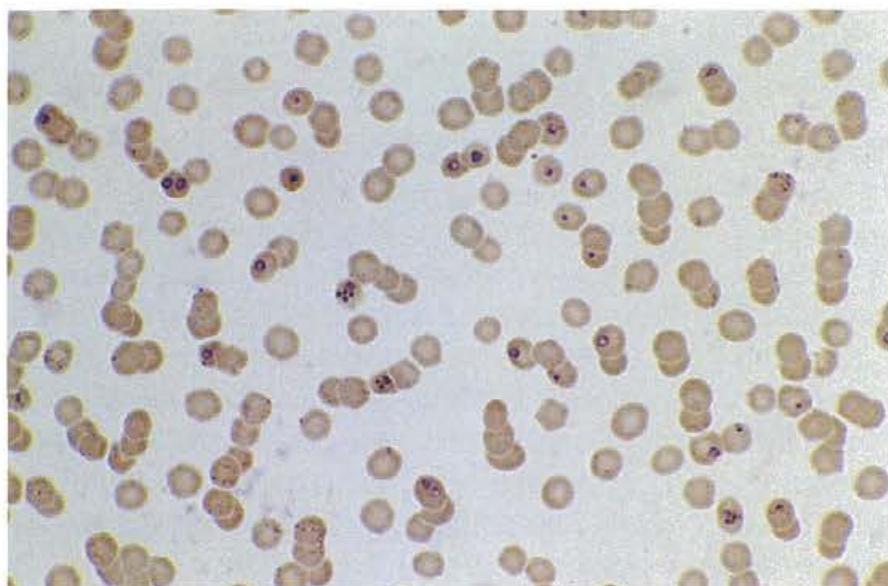


図8. 実験馬の赤血球に寄生した *T. equi*



図9. *T. equi* 感染実験馬に寄生し飽血落下したクリイロコイタマダニの幼ダニ

ており、そこで多数の洋梨子状のスプロゾイト ($3.0 \times 1.2\mu\text{m}$) に成長する。この過程は吸血開始後5日以内になされる。

3. 感染

馬、ロバ、ラバ、およびシマウマは馬ピロプラズマ病に感受性がある。馬以外の動物に対する *B. caballi* ないし *T. equi* の感染実験的が試みられているが、感受性の詳細は不明である。なお、*T. equi* については人に感染するとの報告がある。

4. 培養

馬ピロプラズマ病の免疫学的診断法の一つである補体結合反応に使用する抗原は、実際の馬へ実験感染させて、高寄生率となった大量の赤血球から原虫を抽出・精製し

て製造されている。しかしこのような方法で馬ピロプラズマ病原虫の寄生赤血球を得るためにには、多くの実験馬と多額の経費、実施担当者への大きな負担、さらには隔離実験施設 (P3) を必要とする。そこで近年、馬血液を用いた *B. caballi* および *T. equi* (メロソイトやトロホゾイト) の培養法の開発が試みられており、連続培養も可能となってきた。しかしながら、培養法を用いた実験の数は少なく、培養条件も各々で少しずつ異なる。我が国でも既に、連続培養の成功が報告されているが、以下にこれまでに報告されている培養条件を示す。

1) 培養液

B. caballi : RPMI1640 に、2mM L-glutamine、20mM HEPES、馬血清を 40% (V/V) になるように加えたもの。

T. equi : M199 に、0.2mM hypoxanthine、20mM

HEPES、馬血清を40%（V/V）になるように加えたもの。

B. caballi、*T. equi*の両培養とも、培養液に対し赤血球を10%（V/V）になるように調整する。培養液は赤血球を取り除かないように毎日交換することが望ましい。継代は、非感染赤血球に感染赤血球を混ぜることにより行う。

2) 培養条件

培養には2種類の空気組成が用いられる。報告によると、感染馬からの初代培養は、*B. caballi*、*T. equi*とも5%CO₂、2%O₂、93%N₂、37℃の条件下で良好に増殖し、*B. caballi*の感染赤血球率は2～4%、*T. equi*の感染赤血球率は6～15%になる。この条件で安定した連続培養を確立した後、5%CO₂、95%空気の条件下で培養を行うと、*B. caballi*の感染赤血球率は2倍の約8%に上昇し、*T. equi*の感染赤血球率は15～25%に上昇することが確認されている。

3) 培養した感染馬赤血球の保存方法

20%（W/V）polyvinylpyrrolidoneを溶解した緩衝液に、感染赤血球を等量に混ぜる。一度、-80℃で凍結した後、液体窒素に移して凍結保存する。液体窒素で保存していたものから、再び培養を開始するには5%CO₂、2%O₂、93%N₂、37℃の条件が適している。

4) 感染馬血液の保存

罹患馬の感染血液についても培養した感染馬赤血球と同様の方法で凍結保存できる。競走馬総合研究所柄木支所では、*B. caballi*を実験的に感染させた馬から採血した血液を、-150℃超低温槽内で長期間保存しているが、1,550日間の保存でも感染力を持続していることが確認されている。また*T. equi*の感染馬由来血液についても同様の保存方法で1,340日間感染力を保持している。

5. 主要抗原

B. caballi、*T. equi*とも常在している地域によって抗原性に違いのあることが文献的に報告されている。感染馬が認識する*B. caballi*の主要抗原蛋白の分子量は141、112、70、55、53、50、48、34、30kDaで、141～48kDaまでの7種類の蛋白は診断用抗原として有用と考えられている。また、ヨーロッパ株や南アメリカ株の分類に有用な抗原は34および30kDaである。141kDa蛋白は、感染赤血球の表面を認識する抗原であり、50および48kDa蛋白は、ヨーロッパ株から南アメリカ株までの共通抗原とされ、実験感染馬の血清中に接種1週間後から1年以

上にわたってこれらの抗体は検出される。また、他の報告では130kDa以上、および70、49、40、30kDa蛋白が感染赤血球表面認識抗原で、ヨーロッパ株、南アメリカ株、アラビア株の共通抗原は、70kDaおよび49kDaと記載されている。

感染馬が認識する*T. equi*の主要抗原蛋白については、*B. caballi*よりも多くの報告がある。現在までに報告されている抗原蛋白は26種類で、分子量で示すと210、144、108、96、88、75、70、66.5、56、55、54、51、50、44、43、41、36、34、33、31、30、28、25、20、19、18kDaである。これらのうち、44、36、34、28、19、18kDa蛋白は表面抗原であり、96、41、30、28、18kDa蛋白は感染馬血清と強い免疫反応を示し、55kDa蛋白は*B. caballi*と交差免疫反応を示す報告がある。55、50kDa蛋白は馬との間の免疫システムに関与する抗原であることが示唆されている。また、51、34kDaはヨーロッパ株、南アフリカ株、アラビア株の共通抗原として報告されている。近年、遺伝子工学技術により、組換え蛋白を用いた免疫学的診断法が開発されている。これらのうち、*T. equi*の50kDaと30kDaの組換え蛋白は免疫学的診断法において有用性が示唆されている。しかし、*B. caballi*では、原虫寄生率が高い感染血液を確保し難いことから、組換え蛋白による診断法の検討は遅れている。

6. 遺伝子

*B. caballi*および*T. equi*の遺伝子に関する知見は近年、徐々にではあるが蓄積されてきている。*B. caballi*の遺伝子としてジーンバンクには35件が登録されており、それらは18SリボソームRNAに関するもの14件、ロブトリー蛋白に関するもの8件、メロゾイトに関するもの3件、ヒートショック蛋白に関するもの2件、その他8件である。

*T. equi*の遺伝子としての登録は80件（*B. equi*での登録を含む）で、それらは18SリボソームRNAに関するもの40件、メロゾイトに関するもの27件（EMA-1は9件、EMA-2は3件、EMA-3は1件、メロゾイト抗原は14件）、システィンプロテアーゼに関するもの3件、その他10件である。なお本原虫がバベシア属からタイレリア属へ変更された遺伝子学的根柢の一つとして、EMA-1遺伝子が*Theileria sergenti*の表面抗原である33kDa蛋白遺伝子や*Theileria buffeli*の表面抗原である34kDa蛋白遺伝子と類似している点がある。

III 臨床所見

1. 臨床症状

B. caballi の感染後の潜伏期は約 6～10 日である。症状として、40℃以上の発熱、貧血、黄疸、粘膜の点状出血、下腹部や四肢の浮腫、食欲減退、痙攣および後軀麻痺がみられる（図 10）。*B. caballi* の感染による障害は、毛細管や小血管における 1 種の播種性血管内凝固症候群 disseminated intravascular coagulation syndrome (DIC) とみなされ、主に肺、腎臓、肝臓および中枢神経系が侵されやすい。*B. caballi* の場合、馬への感染後 7～10 日目に赤血球への感染率が 3～7% の原虫血症がみられる。死亡率は約 10% で、時には 50% におよぶこともある。



図 10. 痙攣症状を示す *B. caballi* 感染実験馬

る。罹患馬が 3 週間以上生存すれば末梢血中から虫体は消失するが、以後 1～4 年間原虫保有馬となる。実験的には *B. caballi* に感染した馬の血液を他の健康な馬に直接接種しても容易に感染や発症はない。しかし、脾臓を摘出した馬へ同様に接種した場合は 100% の馬が発症する。なお、これら感染馬の中には原虫血症が 1% 以下の低寄生率でも肺水腫や腎機能不全を発症し、鼻孔から多量の泡沫液を流出させて斃死する症例もある。

T. equi は *B. caballi* より病原性が強い。その潜伏期間は 10～21 日である。最初 40℃以上の発熱があり、その後、元気消失、衰弱、食欲不振などの症状がみられる。最も



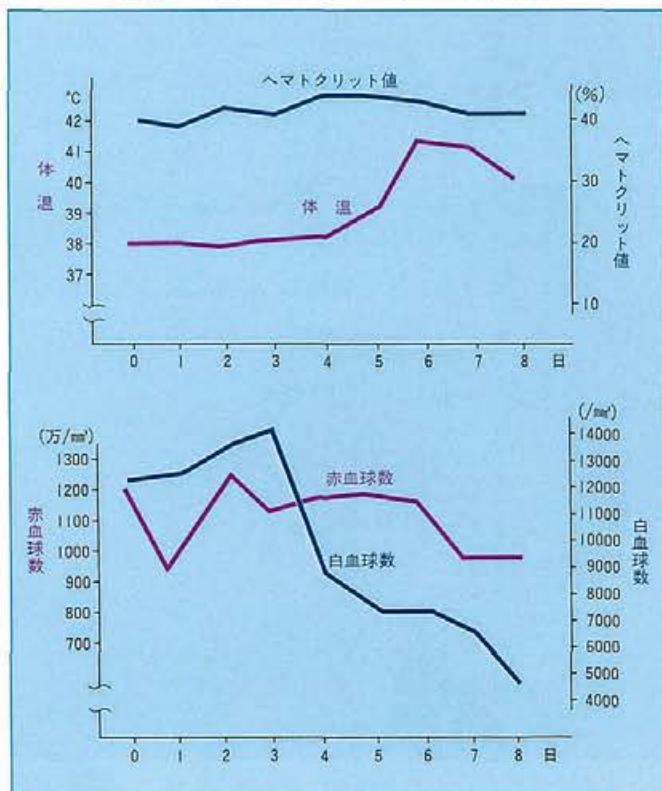
図 11. 眼結膜の顕著な貧血と黄疸のみられる *T. equi* 感染実験馬



図 12. 血色素尿を排出する *T. equi* 感染実験馬

特徴的な症状は黄疸である。赤血球の半数以上が破壊され、顕著な貧血がみられる（図 11）。重症例では、可視粘膜の黄疸や浮腫に加えてヘマトクリット値が急激に低下し、10%以下になることも珍しくない。血色素尿は *T. equi* の感染馬に特徴的に認められる（図 12）。*B. caballi* 感染馬のような後軸麻痺はみられない。罹患馬は便秘して固い糞便を排泄するが、その表面には黄色粘液が付着していることがある。*T. equi* 感染馬では感染後約 7 日に 60～85% の原虫血症がみられる。急性症では原虫寄生した赤血球の溶血による酸素欠乏症で斃死することもある。

図 13. *B. caballi* 感染実験馬の臨床所見



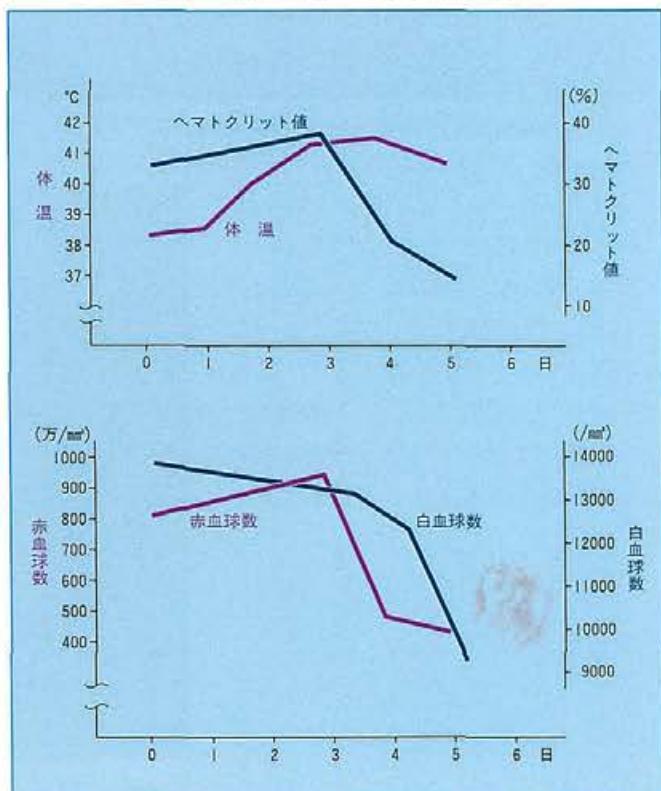
T. equi 感染馬の死亡率は約 10% である。*T. equi* に感染した後、耐過した場合には、罹患馬は終生原虫を保有する。

2. 血液検査所見

本病にみられる主な血液所見として、血色素指数の上昇、赤血球沈降速度の増大、異常赤血球の出現、白血球の核の左方移動、単球の増加、好酸球の減少あるいは消失および担鉄細胞の出現などがある。

B. caballi 実験感染馬では、ヘマトクリット値は概ね 40% 前後で殆ど変化しなかったが、白血球数は体温の上

図 14. *T. equi* 感染実験馬の臨床所見



昇とともに減少傾向を示した(図13)。

T. equi 実験感染馬では、接種3日後以降の赤血球への原虫寄生の増加に伴ってヘマトクリット値が激減し、体温の上昇とともに赤血球数、白血球数の顕著な減少が認められた(図14)。

3. 抗体応答

野外の自然感染馬での詳細は不明であるが、実験的感染の成績では、*B. caballi* を接種して10～20日後に0.5%前後の原虫血症が認められた後、末梢血から原虫が確認

できなくなった馬では、補体結合反応(CF反応)の抗体価は接種10日後に1:160となり、さらに約1ヶ月後には1:640に上昇してピークに達した。その後9～10ヶ月間で1:5～1:10まで漸次下降した(図15)。いっぽう *T. equi* を接種して10～20日後に約3～5%の原虫血症が認められた後、末梢血から原虫が消失した馬では、CF反応抗体価は接種約1ヶ月後に1:320のピークとなり、経過観察を終了とする1年後まで1:80が維持された状態で推移した(図16)。

図15. *B. caballi* 感染馬の血液所見

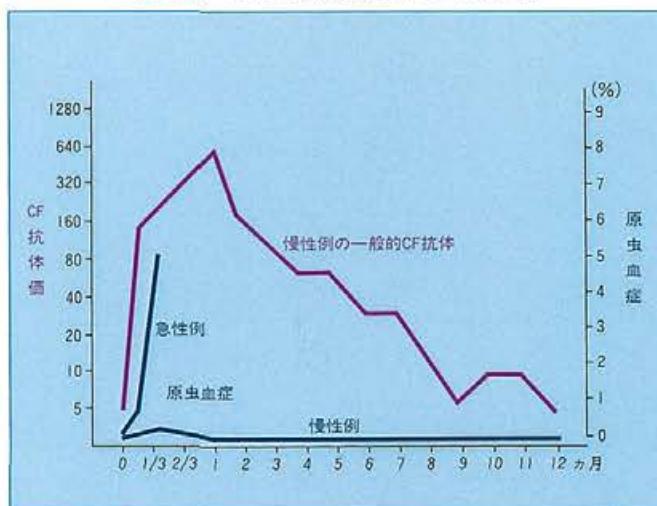
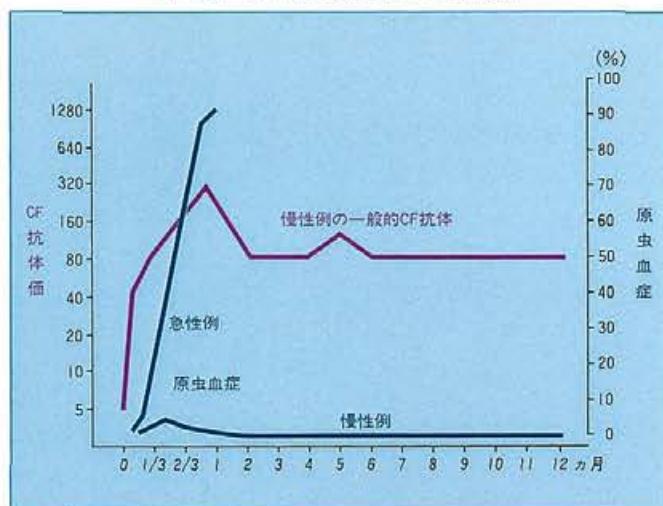


図16. *T. equi* 感染馬の血液所見



IV 病理学的所見

1. 肉眼所見

B. caballi 感染馬の剖検所見として、急性症例を除いて全ての組織で黄疸が認められる。血液は水様で希薄となり、貧血がみられる。全身性の黄疸に加えて、皮下織に

は黄色膠様水腫がみられる。漿膜下には点状ないし斑状出血があり、胸水、腹水および心膜腔液は著しく黄色調を増し、增量している。心臓には心冠溝に沿って点状出血がみられ、心筋は淡赤褐色に退色する。肺は帶黃赤褐



図17. *B. caballi* 感染実験馬の肺:
小葉間質の著しい水腫(矢印)

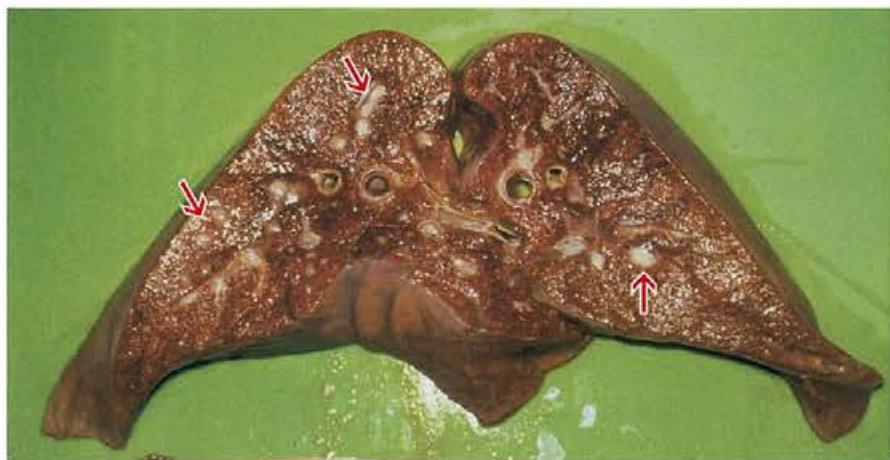


図 18. *B. caballi* 感染実験馬の肺剖面：
気管支内には泡沫が貯留し(矢印)、
間質の水腫と著しい充出血



図 19. *B. caballi* 感染実験馬の腫大した
肝臓：
黄疸と肝門リンパ節の水腫性腫大



図 20. *B. caballi* 感染実験馬の腫大した腎臓剖面：
皮質の楔状出血(矢印)と充うっ血

色で顕著な水腫性を示し、間質の水腫性増幅が著しい（図 17）。剖面では多量の泡沫状滲出液が湧出し、間質の著しい水腫性増幅と一部に斑状出血がしばしば見られる（図 18）。肝臓および脾臓は黄色調を増し、腫大および充うつ

血している（図 19）。肝門部の軟部組織は著しく膠様化し、腎臓は淡褐色で著しく腫大するとともに、皮質には楔状出血巣が散見されることもある（図 20）。全身リンパ節の腫大および出血もしばしば観察される。

T. equi 罹患馬の典型的な剖検所見は溶血性貧血による黄疸の程度がより重度である点と、*B. caballi* 感染馬に特徴的な肺水腫と胸水の貯留などの所見を除くと大差はない。

2. 病理組織学的所見

B. caballi および *T. equi* の感染による組織学的所見に大きな差はみられない。顕著な変化としては各器官における細網内皮系細胞の増殖が認められる。肺では、肺胞内にエオジン染色性の水腫液が充満し、ヘモジデリンを貧食して肥大したマクロファージが肺胞内腔や肺胞壁などに頻繁に認められる。また、一部で肺胞腔内への限局性的出血もみられる（図 21）。肝臓の類洞や中心静脈は拡張し、原虫が寄生した赤血球やヘモジデリンを貧食したマクロファージが頻繁に観察される。肝細胞の脂肪変性やクッパー細胞のヘモジデリン沈着がみられ、単核球が門脈周囲に浸潤・集簇している。また、肝細胞への胆汁

色素の沈着や混濁腫脹も見られる（図 22）。腎臓では限局性の出血を伴った尿細管上皮の変性や尿細管内の尿円

柱形成がみられる（図 23）。脾臓では胚中心および莢動脈周囲の細胞の減数ないし萎縮、充うつ血およびヘモジ

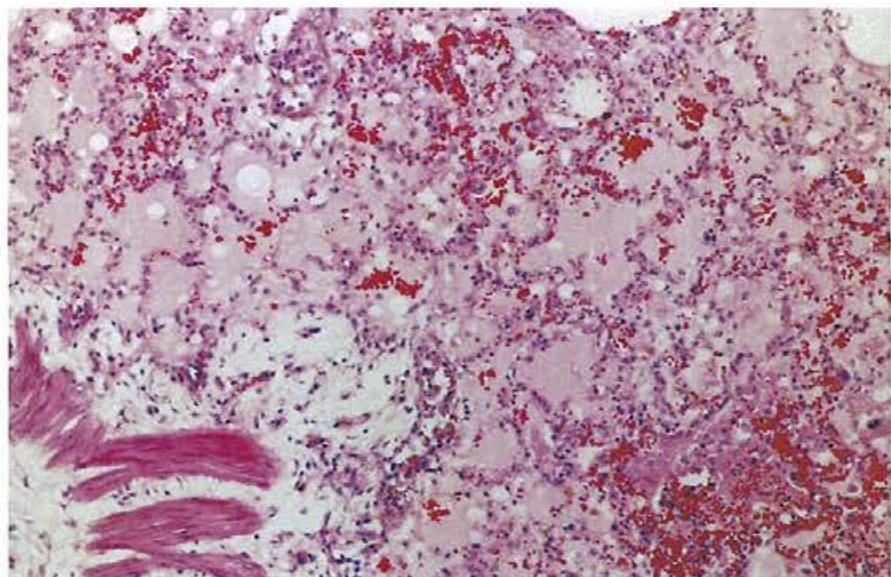


図 21. *B. caballi* 感染実験馬の肺：
限局性の出血を伴った肺の著しい
水腫

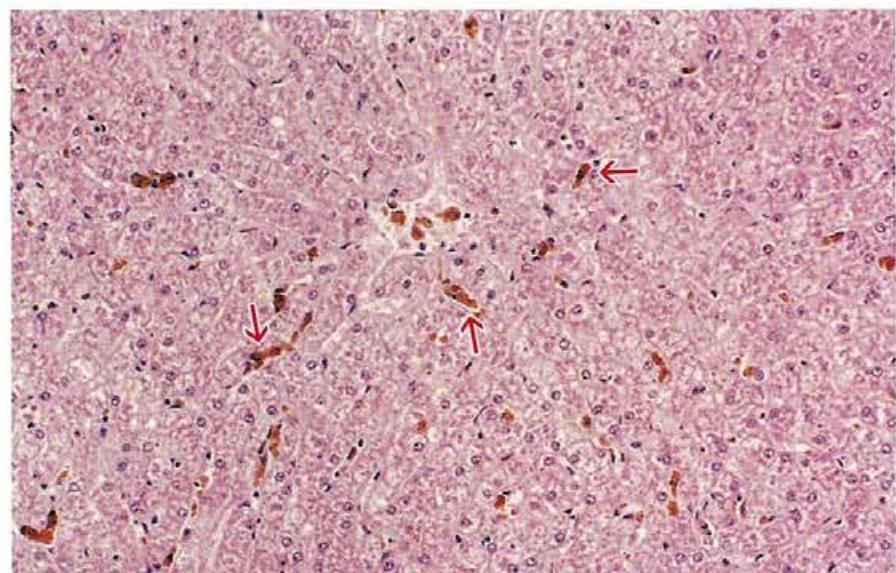


図 22. *T. equi* 感染実験馬の肝臓：
顕著なヘモジデリン沈着（矢印）
と肝細胞の変性

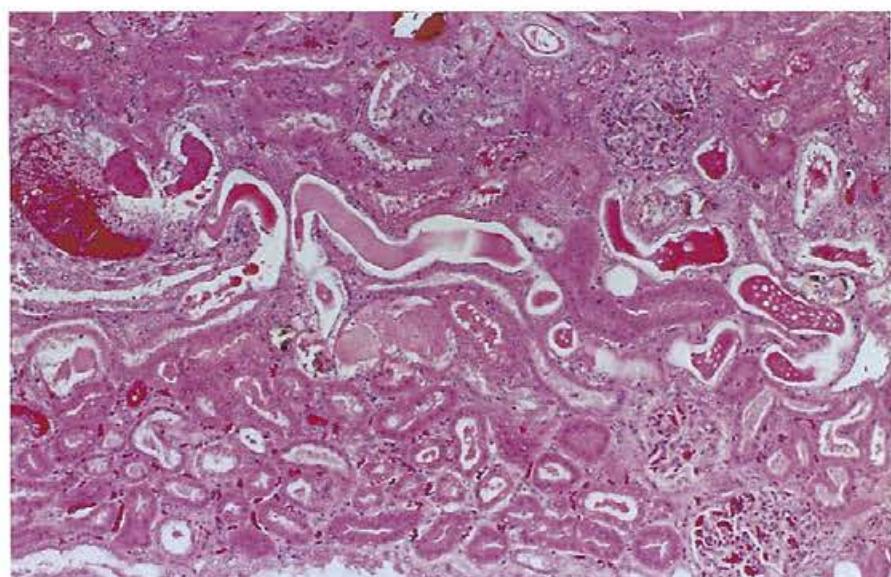


図 23. *T. equi* 感染実験馬の腎臓：
限局性の出血と尿細管上皮の変性
および尿円柱

デリン沈着症がみられる（図24）。全身の各リンパ節は濾胞の粗鬆化がみられる（図25）。*B. caballi*の場合、脳

の小血管内に寄生赤血球の凝縮像のみられることがある。

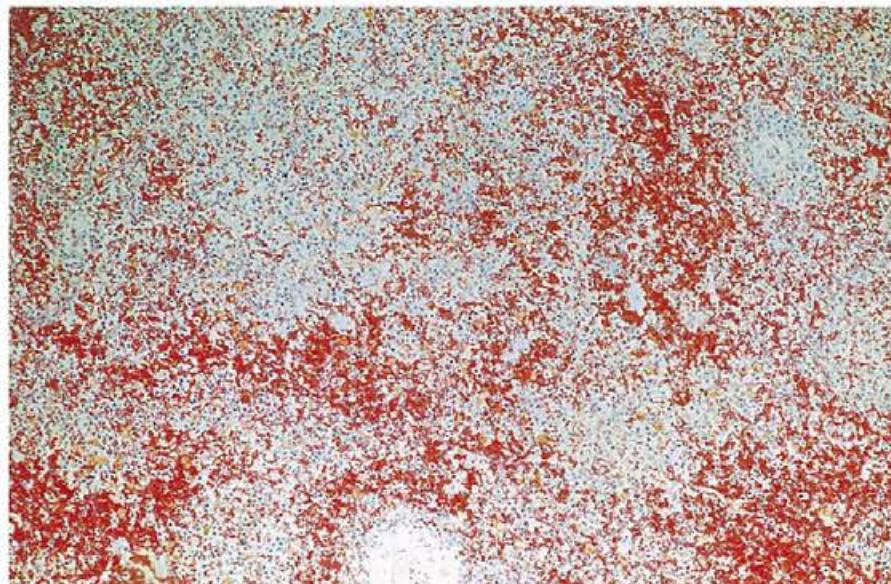


図24. *T. equi* 感染実験馬の脾臓：濾胞の萎縮とT領域における細胞の著しい減数

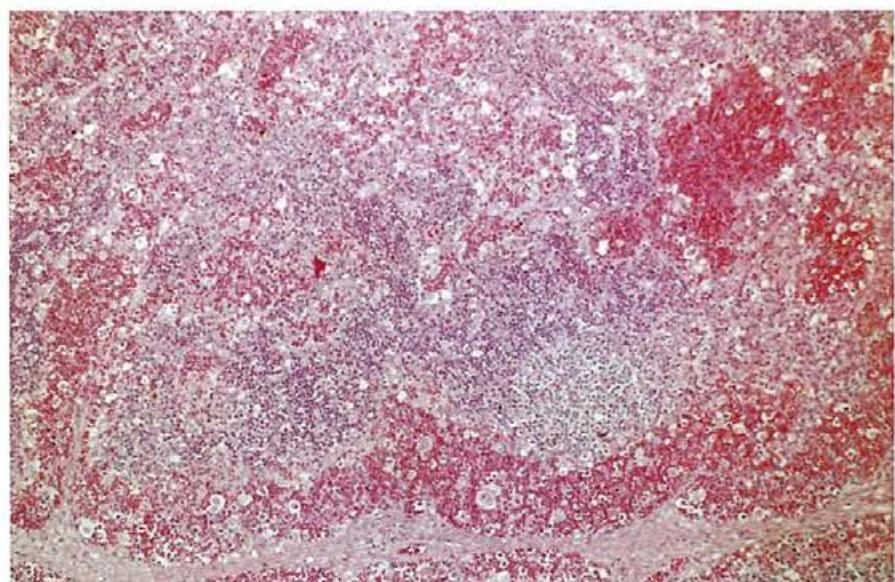


図25. *T. equi* 感染実験馬の前腸間膜リンパ節における濾胞の粗鬆化

V 診断

本病を診断するためには、血液や臓器中の*B. caballi*ないし*T. equi*の虫体あるいはその遺伝子を光学顕微鏡学的観察あるいは分子生物学的手法で直接的に証明する方法と、血清中に存在するに*B. caballi*および*T. equi*に対する特異抗体を検出する免疫学的診断法が開発されている。前者の直接法は慢性に移行した馬では検出できないことがあり、多くの場合は後者の免疫学的検査法により確定診断がなされている。

1. 直接法

赤血球に寄生している原虫を末梢血やバイオプシーあるいは病理解剖により得られた臓器サンプルから塗抹標本やスタンプ標本を作製した後、ギムザ染色などを実施して、光学顕微鏡による観察などにより虫体の確認を行う方法である。検査サンプルの採取ないし調整法として以下のようないわゆる方法がある。なお、これらの方法は、多くの検体を簡便かつ高感度に診断できないことが欠点である。

- 1) 末梢血塗沫法
- 2) 骨髄穿刺法
- 3) 赤血球固定溶血集虫法
- 4) 脾臓穿刺法
- 5) 血液原虫集虫法
- 6) Provokation (慢性化により血液中から虫体が消失して潜伏している場合に、誘発薬を投与して原虫を血液中に出現させる試験)
- 7) 試験管内培養法：近年の *in vitro* での培養法の確立により、診断法として応用できるようになった。しかし、検査結果を得るまでに数日から十数日間を要し、培養のための高度な設備や技術も必須であるため、どこでも簡単には実施できない。

分子生物学的診断法としては *B. caballi* および *T. equi* の 18S リボソーム RNA 遺伝子を標的とした PCR 法や LAMP 法も開発されている。また塗抹標本に DNA プローブを反応させて原虫の遺伝子を検出する *in situ* ハイブリダイゼーション法も報告されている。

2. 免疫学的診断法

馬ビロプラズマ病に罹患した馬では発熱時には赤血球内に虫体が見られるが、慢性に移行した馬では血液中に虫体を見い出すことは困難である。このような慢性症例に対しては、血清中に產生される抗体を検出して免疫学的に診断する方法が広く利用されている。

1) 捕体結合 (CF) 反応

平戸ら (1945) は、*B. caballi* の CF 反応について試験研究し、馬ビロプラズマ病の免疫学的診断法として世界で初めて確立した。その後、CF 抗原の製造法は、Frerichs ら (1969) によって改良されている。

CF 抗原を作る際の問題点は *B. caballi* の場合、原虫血症が最高でも数%程度であり抗原がわずかしか得られないこと、*T. equi* の場合は感染を繰り返すと抗原の特異性が失われることなどである。また、CF 反応は、間接蛍光抗体法 (IFAT) などに比べ感度が低く、手間もかかる。

なお本法はこれまで国際的な標準法として世界中で広く用いられてきたが、OIE のスタンダードマニュアル 5 版 (2004) では、IFAT 法と cELISA 法が推奨検査法として記載され、CF 反応は補完的検査法としての位置づけとなった。しかし、IFAT 法では検査実施者の間での判定基準のぶれや多検体の処理が困難であるなどの問題点、また cELISA では非特異反応がしばしばみられるなどの問題点が指摘されていることから、CF 反応はいまだ重要な検査方法と考えられる。

CF 抗体は感染後 1 ~ 2 週間で検出され始め、約 30 日前後に急激な抗体価の上昇が認められる。

ここでは OIE のスタンダードマニュアルに記載の方法を基にして馬防疫検討会において標準化診断法として認められた検査方法を記載する。

A. 準備

1. 器材

- | | |
|----------------------------|-----------------------------|
| 1) 96 穴 U 底プレート | 2) 被検血清 |
| 3) 高力価陽性血清 | 4) 抗原 |
| 5) アルサバー液 | 6) 希釀液 (GVB ⁺⁺) |
| 7) 乾燥補体 (市販) | 8) 溶血素 (市販) |
| 9) ヒツジ血液 | 10) プレートシール |
| 11) シェーカーインキュベーター (37℃に設定) | |

アルサバー液の作り方

ブドウ糖 C ₆ H ₁₂ O ₆ · H ₂ O	20.5g
クエン酸3ナトリウム	
NaOCOCH ₂ C(OH)(COONa)CH ₂ COONa · H ₂ O	8.5g
塩化ナトリウム NaCl	4.2g
クエン酸 C ₆ H ₈ O ₇ · H ₂ O	0.25g
精製水を加えて 1,000mL にする (pH6.1)。	

* 溶解後、110℃ / 10 分で高压蒸気滅菌後、室温保存。

希釀液 (GVB⁺⁺) の作り方

A 液	
塩化ナトリウム NaCl	127.5g
5.5ジエチルバルビタール酸 C ₈ H ₁₂ N ₂ O ₃	8.63g
5.5ジエチルバルビタール酸ナトリウム C ₈ H ₁₁ N ₂ NaO ₃	5.63g
精製水を加えて 1,500mL にする。	

B 液

塩化マグネシウム MgCl ₂ · 6H ₂ O	2.52g
塩化カルシウム CaCl ₂	0.42g
精製水を加えて 1,500mL にする。	

C 液

ゼラチン	2.0g
精製水	100.0mL
加熱溶解	

- * 1. A 液と B 液を加熱溶解して等量混合し、500mL ずつ分注して、121℃ / 20 分で高压蒸気滅菌後、室温保存 (× 5 ベロナール緩衝液)。
2. × 5 ベロナール緩衝液 100mL に C 液 (2% ゼラチン液) 25mL と精製水 375mL を加え、混合して GVB⁺⁺ 液として使用する。

2. 1.5% ヒツジ感作赤血球液の作り方

- 1) アルサバー液に採血したヒツジ血液 (A. 準備 - 9) を 1,500rpm で 15 分遠心し、上清を捨てて。
- 2) GVB⁺⁺ 液を加えて 2,000rpm で 5 分遠心する。上清を捨て、これをさらに 2 回同様に行って、最終的に

2,300rpmで10分遠心して上清を捨てる。

- 3) ヒツジ赤血球が3%になるように、GVB⁺⁺液に浮遊させる。
- 4) 3%ヒツジ血球液に等量の溶血素を、攪拌しながら加える。ついで、溶血素の入っていた瓶に感作血球を戻す。この操作を3回繰り返す。充分攪拌した後、室温で15分感作する。

3. 補体力値の測定法と3.125 / CH50 力値の求め方

- 1) 乾燥補体（市販）をGVB⁺⁺で1:10に希釈する。氷中保存。

2) 感作血球液(10ml)

- 3) 3列の力値を測定する。

希釈倍数	1:10 補体液	GVB ⁺⁺ 液
1:450	0.2ml	8.8ml
1:500	0.2ml	9.8ml
1:550	0.2ml	10.8ml

- 4) 各希釈に対して4本の試験管を用意し、それぞれ希釈列を作る。

試験管番号	GVB ⁺⁺ 液	希釈補体液	感作血球液
1	0.6ml	0.6ml	0.8ml
2	0.4ml	0.8ml	0.8ml
3	0.2ml	1.0ml	0.8ml
4	0.0ml	1.2ml	0.8ml

よく攪拌して37℃の恒温槽中で30分反応させる。途中の15分で攪拌する。

2,000rpm、10分遠心して、上清の吸光度を測定する（測定は溶血素測定と同様）。試験管1～4の順で測定。ブランク液はGVB⁺⁺。100%溶血の吸光度が試験管番号1、2と3、4の数値の中間にくる希釈のグラフを作る（50の垂直線が中間になるように、左に3点あるようならば希釈を小さくする。右に3点ある場合は希釈を大きくする）。1、2と3、4の中間点（定規で計って等分する）をとり、線を引き50%を通っている左の数値を読む（対数グラフ用紙使用のこと）。

5) 計算法

$$\frac{\text{補体の希釈}}{\text{グラフの数値} \times \text{補体の単位}} = \frac{X}{0.2(\text{補体の量})}$$

4. 抗原力値の測定法

- 1) 小試験管に、抗原に対して特異的に反応する高力値陽性血清0.2mlをとり、GVB⁺⁺液0.8mlを加えて1:5希釈血清を作り、60℃恒温水槽中30分間非働化する。

- 2) 96穴U底プレートのB列～H列までのすべてにGVB⁺⁺液を0.025ml入れる。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

使用しない

- 3) A列の1～9までの9穴に、上記1)で1:5希釈した血清を0.05mlずつ入れる。
- 4) 0.025mlのダイリューターを用いてA列～G列まで、希釈する。
- 5) 試験管に抗原0.5mlをとり、GVB⁺⁺液0.5mlを加えて1:2希釈抗原液を作る。
- 6) 上記の4)で血清希釈の済んだプレートの一列（A～H）の8穴には、（上記5）で作った1:2希釈抗原液を各々0.025mlずつ加える。2行には1:2希釈抗原液を各々0.025mlずつ加える。同様に、8行まで上記5)で作った抗原希釈液を各々0.025mlずつ順次加える。この時、9行は血清コントロールとなり、H列は抗原コントロールとなるため、H行と9列にはGVB⁺⁺液を0.025ml加える。
- 7) 反応させた全ての穴に、補体液を0.05ml入れる。1分攪拌し37℃で30分反応。
- 8) 37℃に加温した感作血球液0.05mlを全ての穴に入れる。
- 9) プレートシールをよく密着させる様に貼った後に混和し、37℃シェーカーインキュベーターで60分反応。
- 10) 1,000rpmで1～2分遠心後、判定。
- 11) 陽性血清の抗体価を求める。ヒツジ感作血球液が完全不溶血(++)を示した最高の血清希釈を血清の1単位とする。これをもとに、血清の4単位力値が求められる。つぎに、4単位の希釈血清で完全不溶血(++)を示した抗原の最高希釈を抗原の1単位とする。これから4単位力値の抗原希釈倍数が決定される。

B. 反応

1. 被検血清0.1mlを試験管にとり、希釈液(GVB⁺⁺)を0.4ml加え1:5希釈血清液を作り、60℃30分恒温水槽中で非働化する。
2. 96穴U底プレートのA列(1～12)を除くすべての穴に、希釈液(GVB⁺⁺)を0.025ml入れる。
3. 非働化済み1:5希釈血清液をA列に0.05ml、血清対照として最終列(H列)の穴に0.025ml入れる。

4. 0.025mlのダイリューターを用いて、A列から2倍階段希釈を行う。
5. 4単位に調整した抗原を血清対照（H列）以外のすべての穴に0.025ml入れる。
6. 補体液を0.05ml全穴に入れる。
7. マイクロプレート用ミキサーで良く混和する（1分間）。
8. プレートに蓋をして反応液の蒸発を防ぎ、37℃で30分静置する。
9. ヒツジ感作血球液を37℃恒温水槽中で20分温める。
10. 全穴に37℃に加温したヒツジ感作血球液を0.05ml入れる。
11. プレートの水滴をよくぬぐって、プレートシールを良く密着する様に貼る。
12. 良く混和して37℃シェーカーインキュベーターで60分反応させる。
13. 冷却遠心機で1,000rpm、1～2分、遠心する。

C. 判定

1. 溶血度によって判定する。25%以下の溶血度（+++以上）を示した血清の最高希釈の逆数を補体結合抗体値とする。
2. 検査を行うときは、被検血清以外に必ず陽性コントロール血清を用い、それらの値がいつも同様の値を示すことを確認する。

2) 間接蛍光抗体法 (IFAT)

*B. caballi*ないし*T. equi*の感染赤血球を抗原として用い、血清中の抗体値を測定する方法で、CF反応より感度が高い。しかしながら、この方法は、それぞれの検査実施者間の判定基準の影響を受けやすいことや、手間がかかり、多数の検体の処理には向かないなどの問題点がある。OIEスタンダードマニュアルに記載された方法を簡単に記載する。

A. 材料および方法

- 1) 蛍光色素標識抗ウマ IgG (H+L) 家兎血清：市販品を入手し、添付されている説明書に指示された希釈倍数で用いる。
- 2) 抗原：7mlの試験管に9mgのEDTAを加え、血液凝固を阻止して*B. caballi*ないし*T. equi*感染馬から採血する。*B. caballi*に感染した馬では約4%の原虫血症の赤血球を用いて薄い塗沫をつくる。塗沫スライドを乾燥させ、通気性のある紙に包み、さらに10枚単位でアルミホイルに包んで-70℃の冷凍庫に保存する。
- 3) コントロール血清：陰性対照として非感染馬の血清および陽性対照として馬ピロプラズマ病のcarrier馬から得た血清を用いる。

B. 蛍光抗体法の術式

1. -70℃冷凍庫に保存されていた塗沫スライド (*B. caballi*ないし*T. equi*)を取り出し、37℃で10分間放置する。
2. スライドの塗沫がはがれていなことを確認する。
3. 冷アセトンにスライドをいれ、1分間固定する。
4. マニキュアやパップペンなどで区画をつくり、風乾する。
5. 被検血清、陽性および陰性コントロール血清を1:80にPBSで希釈し、それぞれの7.5μlを各区画にのせる。
6. 湿潤箱に被検血清をのせたスライドを入れ、37℃30分間、孵卵器内でインキュベートする。
7. 大量のPBSで被検血清を洗い流す。
8. スライドをラックにいれ、冷PBSで各10分間3回洗う。
9. 蒸留水ですばやく洗う。
10. 風乾する。
11. PBSで希釈した蛍光色素標識抗ウマ IgG 家兎血清7.5μlをスライドの各区画にのせた後、湿潤箱に入れ、37℃30分間、インキュベートする。
12. 大量のPBSで洗い流す。
13. スライドをラックにいれ、冷PBSで各10分間2回洗う。
14. さらに、蒸留水で5分間すすぐ。
15. 風乾する。
16. 蛍光顕微鏡にて鏡検する（図26）。

3) ELISA法

ELISA法は一般的にCF反応より感度が高く、比較的短時間内に多数のサンプルの検査が可能であることから、様々な検討が加えられてきている。近年の分子生物学の急速な発展により、大腸菌やバキュロウイルスを用いた遺伝子組み換え技術を利用して作製されたELISA用抗原が多数報告されてきている。例えば*B. caballi*ではRAP-1、Bc48、Bc134などが、*T. equi*ではEMA-1、EMA-2、Be82、Be158などがある。

以下にOIEスタンダードマニュアルに記載されている競合阻害ELISA(C-ELISA)法について簡単に説明する。

このC-ELISAに使用する抗原や検査手順は米国農務省のNational Veterinary Services Laboratories (NVSL)が提供するかたちで、同等の検査キットが、VMRD Inc.から市販されている。

A. 準備

・試薬

1) 抗原吸着用緩衝液：

炭酸水素ナトリウム・・・・2.93g

炭酸ナトリウム・・・・1.59g

蒸留水に溶解して1,000mlにする。

pH9.6に調整

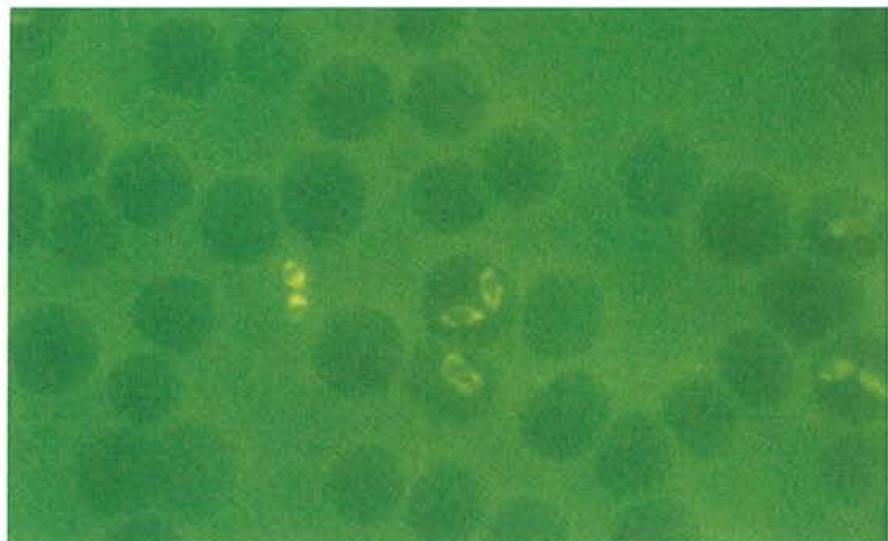


図 26. 間接蛍光抗体法 (IFAT) による
B. caballi の虫体

2) 洗浄用緩衝液：

塩化ナトリウム 29.5g
リン酸二水素ナトリウム 0.22g
リン酸水素二ナトリウム 1.19g
Tween 20 2mℓ
蒸留水に溶解して 1,000mℓにする。
pH7.4 に調整し、高压蒸気滅菌する。

3) 抗原

抗原は NVSL から入手できる。

B. 術式

1. 抗原吸着用緩衝液で希釈した *B. caballi* ないし *T. equi* の抗原を、マイクロプレートの各ウエルに 50μl 分注して、4℃一晩静置した後、-70℃で保存する（6か月以上保存可能）。
2. 抗 *B. caballi* モノクローナル抗体ないし抗 *T. equi* モノクローナル抗体とベルオキシダーゼ標識 2 次抗体を抗体希釈緩衝液で希釈する（検査の度毎に調整）。
3. マイクロプレートを冷凍庫から取り出て室温に戻し、液を捨てて、洗浄用緩衝液で 2 回洗う。
4. 対照および被検血清を血清希釈緩衝液で 2 倍希釈し、各ウエルに 50μl 入れる。被検血清は 1 ないし 2 ウエルを用いて検査する。対照はプレートの離れた場所で陽性対照とブランクは 2 ウエル、陰性対照は 3 ウエルを用いて実施する。
5. 全てのウエルに希釈された抗 *B. caballi* モノクローナル抗体ないし抗 *T. equi* モノクローナル抗体を 50μl 入れる。その後、室温で 30 分間反応させ、洗浄用緩衝液で 3 回洗う。
6. 希釈されたベルオキシダーゼ標識抗マウス IgG 二次抗体を 50μl 加え、室温で 30 分間反応させた後、洗浄用緩衝液で 3 回洗う。

7. 発色基質を 50μl 加え、室温で 15 分間発色させる。
8. 発色停止液を 50μl 加えた後、プレートリーダーで吸光度を測定する。
9. 吸光度 (OD) の測定は 620, 630 あるいは 650nm で行う。対照血清とブランクのウエルの平均 OD を算出する。有効な試験に対しては、陰性対照における OD の平均値が > 0.3, < 2.0 でなければならない。また陽性対照の阻止の平均が ≥ 40% でなければならない。
10. 阻止率 (%I) は以下の式により計算する。
$$\%I = 100 - [(被検血清の OD \times 100) \div (\text{陰性対照の OD})]$$
11. もし被検血清が ≥ 40%I であれば、それは陽性と判断される。しかし < 40%I であれば陰性と判断される。

なお、わが国でも感度および特異性に優れた ELISA 法が独自に開発されており、輸出入検疫のスクリーニングへの導入に向けた準備が進められている。

4) その他の免疫学的診断法

- ①寒天ゲル内沈降反応
- ②カードテスト (Card test)
- ③毛細管凝集法

カードテストおよび毛細管凝集法は、牛のアナプラズマ病の診断に開発されたものを馬ピロプラズマ病の診断に応用したものである。カードテストは CF 抗原を用いた凝集反応で、野外迅速診断法としては便利であるが、CF 反応に比べると感度はやや低い。

3. 類症鑑別が必要な疾病

レプトスピラ症、リケッチア症、気管支炎、馬インフルエンザ、馬ウイルス性動脈炎および馬伝染性貧血など。

VI 治療と予防

1. 治療

馬のピロプラズマ病の治療法はまだ十分に確立されていない。馬ピロプラズマ病の病原体を駆虫する抗バベシア剤としてこれまでに報告された薬剤には以下のものがある。また、対症療法として、輸血および造血剤の投与などがある。なお、馬ピロプラズマ病原虫の治療薬に対する抵抗性の獲得についての報告は少ないが、一部では *T. equi* は駆虫薬に対して抵抗性を示すと言われている。

- 1) Bisazo 色素
トリパンブルー
- 2) Acridine 誘導体
アクリフラビン、コナクリン、トリパフラビン、イスラビンなど
- 3) Quinaldine 誘導体
アカブリン、ピロプラズミン、バベサム、ビレバントなど
- 4) Aromatic diamidine 製剤
 - ① pentamidine
 - ② phenamidine
 - ③ diminazene
 - ④ amicarbaline
 - ⑤ imidocarb (イミドカーブ)
- 5) テトラサイクリン系抗生物質

わが国においては、馬ピロプラズマ病の治療薬は製造販売されていないことから、実際の治療効果や安全性については文献に頼らざるを得ないが、海外ではイミドカーブが馬ピロプラズマ病の治療薬として使われている。

日本中央競馬会競走馬総合研究所で実施されたイミドカーブ(Imizol Injection: Imidocarb dipropionate 12% w/v)の馬に対する安全性試験では、*T. equi* の治療に用いられる投与量 (4ml/100kg) を 72 時間間隔で 4 回筋肉内注射した場合は副作用が強く発現し、わが国の馬の治療薬として使用することは困難であった。一方、*B. caballi* の治療に用いられる投与量 (2ml/100kg) を 24 時間間隔で 2 回筋肉内注射した場合、副作用はみられたものの、それほど強いものではなく、使用可能であった。また、治療効果も期待通りで、投与 12 時間～36 時間の間に赤血球内の虫体に変化が見られた。すなわち、核は変性ないし消滅し、細胞質内の食胞やリボソームも変性、融解が認められた。この結果、*B. caballi* の感染に対しては、イミドカーブ 2ml/100kg を 24 時間間隔で 2 回筋肉内注

射すれば、十分な治療効果の得られることが実証された。なお、文献によれば、ロバは本薬剤に対してきわめて高い感受性を有するので、治療には厳重な注意が必要である。

2. 予防

B. caballi の予防法の開発に結びつくような詳細な免疫学的アプローチに関する報告はなく、ワクチン開発の可能性もこれからの課題である。一方、*T. equi* に関する免疫学的なアプローチとしては、数は少ないものの報告例がある。例えば、ロバを用いた感染実験では、皮内反応や白血球遊走阻止試験から細胞性免疫と感染防御の関連性が研究されている。また、本原虫の馬への実験感染においては CF 抗体価と IgG および IgM の推移の比較検討が行われた。その結果、CF 抗体価は感染後 14～18 日の間に、原虫血症と平行して上昇した。また、虫体は接種後 28 日目に血液中から消失したが、CF 抗体価は感染 5 カ月後も検出された。さらに、*T. equi* の場合には、ワクチン開発の可能性を示唆する研究報告もなされている。すなわち、感染血球と血清から死虫ワクチンが作られ、これをロバに 2 週間間隔で 2 回実験的に投与し、2 回目投与後 64 日目に *T. equi* の感染血液を接種してワクチンの効果が調べられた。その結果、ワクチンが接種されたロバには軽度の原虫血症がみられたが、いずれも臨床症状は示さなかった。しかし、対照群のロバは 4 頭中 2 頭が斃死した。

一方、わが国では牛のピロプラズマ病に対するワクチン開発の研究が勢力的に進められており、バイオテクノロジーなどの先端技術を利用することにより、研究室レベルではあるが、原虫に対して有効なワクチン開発が近い将来可能であると言う報告がなされている。今後、本病の予防への新兵器として大きな期待が寄せられるが、現状では馬ピロプラズマ病の防疫対策としては、媒介ダニの撲滅、CF 反応による感染発症馬および carrier の摘発ならびに陽性馬の隔離と適切な治療処置が必要である。本病の汚染地における馬のダニ防除には、定期的検査と薬剤噴霧を要する。

本病がわが国に侵入した場合、わが国にも媒介するクリイロコイタマダニが存在することから、初発時の防疫対応を誤ると常在化する恐れがある。本病の常在地からの馬の移入が流行の発生源と考えられることから厳重な水際での検査と共に、日頃から本病の侵入に備えて國際および国内的に正確かつ素早い情報伝達と迅速な防疫対応が講じられる体制づくりをする必要がある。

おわりに

馬ピロプラズマ病は、1888年アフリカで最初に発見された住血原虫病です。本病に罹患すると急性経過をたどり斃死する症例も見られますか、ほとんどの症例では慢性に経過し終生原虫保有馬となります。ヨーロッパの一部では地方病として定着しており、毎年発生が認められています。

わが国では、馬ピロプラズマ病は法定伝染病に指定されています。今まで、動物検疫所における厳重な検疫体制のもとで、毎年、陽性馬が摘発され仕出し国への返送あるいは殺処分されていますが、幸いわが国での発生は報告されていません。しかしながら、わが国においても、本原虫を媒介するダニの一種であるクリイロコイタマダニの分布が拡大していますので、原虫がわが国に侵入すると蔓延する危険性があります。

この小冊子は、既刊の馬ピロプラズマ病の内容に最新の情報と栃木支所で実施した感染実験例のデータを加えて解説しています。海外との交流が盛んになりつつある昨今を鑑み、本病の重要性を理解していただくための参考となれば幸いです。この小冊子の発刊にあたり、ご助言や資料提供を頂いた元日本中央競馬会参与の鎌田正信氏、兼丸卓美氏、軽種馬育成調教センターの吉原豊彦氏、元競走総合研究所所長の和田隆一氏、そして実験データの整理や写真撮影にご協力頂いた山川武男氏と坪野谷富子ならびに芝田佐代子の両女史に感謝します。

競走馬総合研究所

片 山 芳 也

参考資料

獣医住血微生物学（1986）近代出版
獣医臨床寄生虫学（1988）文永堂出版

Holbrook, A. A., (1969) Proc. 2nd Int. Conf. Equine Infec. Dis., Paris pp249-257
Simpson, C. F., et al., (1967) Am. J. Vet. Res., 28, 1693-1697.

刊行の馬感染症シリーズ

1. 馬伝染性貧血診断のための寒天ゲル内沈降反応の術式	昭和 51 年
2. 馬伝染性子宮炎	昭和 55 年
3. 馬ウイルス性動脈炎	昭和 56 年
4. 馬のサルモネラ症	昭和 56 年
5. ベネズエラ馬脳炎	昭和 57 年
6. アフリカ馬疫	昭和 58 年
7. 馬鼻肺炎	昭和 59 年
8. 馬鼻肺炎ウイルス感染症のための寒天ゲル内沈降反応の術式と応用	昭和 59 年
9. 馬伝染性貧血診断のための寒天ゲル内沈降反応の術式(第2版)	昭和 59 年
10. 馬のビロプラズマ病	昭和 61 年
11. 馬の水胞性口炎	昭和 62 年
12. 馬の寄生虫病	昭和 63 年
13. 馬ウイルス性動脈炎(第2版)	平成 元 年
14. 馬のボトマック熱	平成 2 年
15. 消毒法 Q & A	平成 3 年
16. 馬トリバノゾーマ病	平成 5 年
17. 馬インフルエンザ	平成 6 年
18. 馬の感染症	平成 6 年
19. 腺疫	平成 8 年
20. 子馬のロドコッカス感染症	平成 8 年
21. 馬鼻肺炎(第2版)	平成 9 年
22. 馬伝染性子宮炎(第2版)	平成 9 年
23. 馬原虫性脊髄脳炎	平成 10 年
24. 馬バラチフス	平成 10 年
25. 馬の日本脳炎	平成 10 年
26. 馬ビロプラズマ病(第2版)	平成 11 年
27. 馬のゲタウイルス感染症	平成 11 年
28. 馬ロタウイルス感染症	平成 12 年
29. 馬ウイルス性動脈炎(第2版・補訂版)	平成 12 年
30. 馬伝染性貧血の診断術式(第3版)	平成 13 年
31. 馬の水胞性口炎(第2版)	平成 13 年
32. 馬の感染症(第2版)	平成 13 年
33. 腺疫(第2版)	平成 14 年
34. 馬原虫性脊髄脳炎(第2版)	平成 15 年
35. 馬のウエストナイルウイルス感染症	平成 15 年
36. 馬の真菌症	平成 16 年
37. 馬の感染症(第3版)	平成 17 年
38. 馬インフルエンザ(第2版)	平成 17 年
39. 馬鼻肺炎(第3版)	平成 19 年
40. 馬バラチフス(第2版)	平成 20 年
41. 消毒法 Q & A(第1版・補訂版)	平成 20 年
42. 馬ウイルス性動脈炎(第3版)	平成 21 年
43. 馬伝染性貧血の診断術式(第3版・補訂版)	平成 22 年
44. 馬の寄生虫病(第1版・補訂版)	平成 22 年
45. アフリカ馬疫(第2版)	平成 23 年
46. 馬のゲタウイルス感染症(第1版・補訂版)	平成 23 年
47. 腺疫(第3版)	平成 23 年
48. 馬ビロプラズマ病(第3版)	平成 24 年

日本中央競馬会助成事業

地方競馬益金補助事業

昭和61年3月 第1版第1刷発行

平成11年3月 第2版第1刷発行

平成14年2月 第2版第2刷発行

平成24年2月 第3版第1刷発行

社団法人 中央畜産会

〒101-0021 東京都千代田区外神田2丁目16番2号
第2ディーアイシービル9階
TEL. 03(6206)0832