



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

犬 Babesia gibsoni
感染症の治療と予防に関する研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-06-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 白永, 伸行 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/77963

犬 *Babesia gibsoni* 感染症の治療と予防に関する研究

2018 年

岐阜大学大学院連合獣医学研究科
(帯広畜産大学)

白永 伸行

犬 *Babesia gibsoni* 感染症の治療と予防に関する研究

白永 伸行

目次

序論	1
第1章 犬 <i>B. gibsoni</i> 感染症治療における低用量ジミナゼン療法の治療効果と安全性の評価	4
1 緒言	4
2 材料および方法	5
3 結果	7
4 考察	9
5 小括	13
第2章 犬 <i>B. gibsoni</i> 感染症の再発防止に関する研究	21
緒言	21
第1節 低用量ジミナゼン療法とクリンダマイシンの組み合わせ療法の犬 <i>B. gibsoni</i> 感染症再発防止効果の検討	22
1 序論	22
2 材料および方法	22
3 結果	24
4 考察	25
第2節 アジスロマイシンとドキシサイクリンの犬 <i>B. gibsoni</i> 感染症再発防止効果の検討	26
1 序論	26
2 材料および方法	26
3 結果	27
4 考察	28
小括	31

第3章 犬 <i>B. gibsoni</i> 感染症流行地における犬の <i>B. gibsoni</i> 不顕性感染状況38
1 緒言38
2 材料および方法38
3 結果40
4 考察41
5 小括44
総括48
謝辞51
文献53

略語一覧

CBC	全血球計算
RBC	赤血球
Hb	ヘモグロビン濃度
PCV	血球容積
PLT	血小板
T.P	総タンパク濃度
AST	aspartate aminotransferase 値
ALT	alanine aminotransferase 値
ALP	alkaline phosphatase 値
T. Cho	総コレステロール値
T. Bil	総ビリルビン濃度
BUN	血中尿素窒素濃度
Cre	クレアチニン濃度
Na	ナトリウム濃度
K	カリウム濃度
Cl	塩素濃度
Glu	血糖値
Alb	アルブミン値
Ca	カルシウム濃度
CRP	C反応性タンパク質
IMHA	免疫介在性溶血性貧血
EDTA	エチレンジアミン四酢酸

序 論

犬バベシア症は犬のマダニ媒介性疾患のなかで最も重要なものの一つである[27, 34]。犬バベシア症の病原体として原虫の *Babesia canis*、*B. gibsoni*、*B. vogeli*、*B. conradae* および *B. rossi* が知られており、これまでにヨーロッパの国々を中心に、北米、北東アフリカ、東南アジア、日本を含む東アジアまで広範囲な発生が認められている[1, 7, 9, 13, 16, 36]。世界的には *B. canis* と *B. gibsoni* を原因とする報告がほとんどである [7]。日本における犬バベシアは亜熱帯地域の沖縄には *B. canis* や *B. vogeli* が生息するものの、大多数は *B. gibsoni* である[25, 46, 52]。

犬における *B. gibsoni* 感染症（以下、犬 *B. gibsoni* 感染症とする）では、溶血性貧血や発熱、脾腫、黄疸など重篤な症状を伴うことが多く、死に至ることもある。治療にはジミナゼン・アセチュレート（以下ジミナゼン）が抗原虫薬として世界中で広く使用されている[10, 57, 60]。ジミナゼンは我が国では、牛ピロプラズマ症に対して承認が得られているが、犬 *B. gibsoni* 感染症に対しては承認されていない。ジミナゼンは犬に対して、注射部位の硬結や疼痛とともに小脳出血という致命的な副作用を有しており、小動物臨床家にとって選択しにくい薬剤である[7, 10, 57, 60]。近年、副作用回避を目的として、抗原虫活性を持つ抗菌薬の多剤併用療法が報告された。しかし、これらの抗菌薬の抗原虫活性はゆるやかで回復に時間がかかるため[65]、必ずしも臨床家の好意を得られる治療法ではない。その後、抗マラリア薬であるアトバコンをアジスロマイシンと併用した治療プロトコールが犬 *B. gibsoni* 感染症に有効と報告された[8]。しかしその後このプロトコールによる治療にも再発が認められた [32, 60]。さらには *B. gibsoni* の *CYTb* 遺伝子の様々な変異、特にアトバコン耐性をおこさせる主要な突然変異である M121I 変異株の出現が明らかとなった [22, 41, 42]。その後、アトバコンとプログアニルの合剤の有効性が報告されたが、やはり再発が認められた[23]。

国内における犬 *B. gibsoni* 感染症の治療には大多数の臨床家がジミナゼンを使用

している。ジミナゼンは海外では 3~5 mg/kg、筋肉内投与を単独もしくは 2 回投与されている[7, 45, 57, 69]。一方、日本国内ではジミナゼンの投与量、投与方法及び副作用の関係についての並河らの報告に基づき[50]、根治的治療法ではないものの、安全で長期的な相関免疫が得られる方法として[7]、ジミナゼンの低用量複数回投与方法として 2 mg/kg、隔日 3 回投与方法（以下、低用量ジミナゼン療法とする）が広く普及している。しかしこの低用量ジミナゼン療法の副作用や回復までの血液性状の変化などは体系的に評価されておらず、臨床的には根拠に基づいた治療法になってはいない。そこでまず、第 1 章では犬 *B. gibsoni* 感染症治療に低用量ジミナゼン療法を行い、回復までの動向を解析して治療効果と安全性を評価した。

犬 *B. gibsoni* 感染症は再発が多い疾患であることもよく知られている[4, 10, 73, 74]。その理由として、現時点ではいかなる治療でも根治的に *B. gibsoni* 感染を完全に体外へ排除できないからである[27, 37]。犬 *B. gibsoni* 感染症における再発は一旦治癒した状態の後にキャリアとなり、相関免疫によって再感染することなくとも臨床症状が再燃することで、時に寄生虫血症の増悪を伴うこともある[7, 27]。キャリアであることは同時に再発のリスクを抱えることであるが、再発を繰り返すと罹患犬は生命の危険にさらされる機会が増えることになるため、再発防止対策が必要である。一方で、犬 *B. gibsoni* 感染症の治療において根治は困難であるが、複数の薬剤を組み合わせる治療法が再発抑制には効果的だと考えられており[8, 65, 42, 73, 74]、イミドカルブ、ジミナゼン、クリンダマイシンの組み合わせは、再発率の低い治療法として報告されている[37]。そのうちクリンダマイシンは *B. gibsoni* に有効であり、犬 *B. gibsoni* 感染症の治療によく使用されている[37, 71, 73, 74]。また、再発防止のために低用量ジミナゼン療法と組合わせた治療[65]も行われているが、クリンダマイシンの投与量や期間、その再発防止効果は体系的に評価されていない。そこで第 2 章では犬 *B. gibsoni* 感染症に対する低用量ジミナゼン療法後のクリンダマイシン投与における再発予防効果の検討を行い、さらには投与期間に関する検討と他の薬剤との比較を行った。

バベシアは宿主に感染後、治療によってすみやかに末梢血から消失するが、細網内皮系に潜伏し、宿主との間に相関免疫を成立させて不顕性感染となる[7, 14, 59]。*B. gibsoni*の犬への感染は、フタトゲチマダニを代表とするマダニの刺咬による感染と、輸血や闘犬による口傷などマダニを介さない直接伝播による感染があるが[10, 16]、感染後にも発症し治療を受けた犬だけではなく、自然回復や未発症などで耐過した場合にも、不顕性感染となる。不顕性感染犬の発症には脾臓摘出や免疫抑制状態が関与している[29, 34, 39]。臨床現場における犬 *B. gibsoni* 感染症の診断には血液塗抹検査における感染原虫の検出が用いられている。しかし、不顕性感染では末梢血に出現する感染原虫の数が非常に少なく、鏡検では検出困難なこともある[7, 24, 43]。これら不顕性感染を把握するには、高感度な分子生物学的診断方法としてPCR (polymerase chain reaction) が用いられる。PCR は末梢血に感染赤血球が10個 / μl あれば *B. gibsoni* を検出可能であり、犬 *B. gibsoni* 感染症の疫学調査にも応用されている[24, 25, 64]。しかし、PCR にも検出限界があり、陰性であっても感染を否定することはできない。このため、不顕性感染を正確に捕らえるためにはPCRに加えて既往歴も考慮すべきである。ところが犬 *B. gibsoni* 感染症の疫学調査において既往歴を考慮したものは報告されていない。

犬 *B. gibsoni* 感染症における不顕性感染の実情を把握することは、特に流行地における不顕性感染の顕性化による再発や未感染犬への感染のリスクを察知することに効果的と考えられ、臨床的意義が大きい。これまで調査されていない。そこで第3章では犬 *B. gibsoni* 感染症の流行地における疫学的研究として、まず临床上健康な犬の *B. gibsoni* 不顕性感染状況を、既往歴を含めて調査した。さらに、*B. gibsoni* 感染のリスクファクターを解析するとともに、*B. gibsoni* の不顕性感染犬と非感染犬の血液性状を比較した。

第1章 犬 *B. gibsoni* 感染症治療における低用量ジミナゼン療法の治療効果と安全性の評価

1. 緒言

日本における犬バベシア症の原因となっているのは、ほぼ大多数が *B. gibsoni* である[25, 46, 52]。犬 *B. gibsoni* 感染症では、*B. gibsoni* が宿主の赤血球内に侵入、寄生し、増殖を繰り返して赤血球を破壊し、その結果として宿主に溶血性貧血が引き起こされる[69]。

犬 *B. gibsoni* 感染症の治療に用いる抗原虫薬には、主にジミナゼンが世界中で広く使用されている[57, 60]。しかし、ジミナゼンには副作用と再発、そして蓄積毒性が問題点となっている。副作用は小脳出血による致命的な神経症状や注射部位の硬結や疼痛などであるため、その使用を懸念する獣医師もいる[7, 10, 56, 59]。最近では副作用の少ない治療法として、メトロニダゾール、ドキシサイクリン、アジスロマイシンなど *B. gibsoni* に有効といわれている抗菌薬の多剤併用療法[65]、抗マラリア薬であるアトバコンにアジスロマイシンを併用したプロトコール[8, 32, 41, 42, 60]、またアトバコンとプログアニルの合剤とドキシサイクリンを併用したプロトコール[23]など、犬 *B. gibsoni* 感染症への様々な治療法が報告されている。しかし、感染したバベシアはこれらの治療法によっても完全に体内から排除されることはない[10, 23, 37, 65]。

犬 *B. gibsoni* 感染症の治療におけるジミナゼンの投与プロトコールは、欧米では 3~5 mg/kg 単独もしくは 2 回の筋肉内投与とされている[7, 45, 54, 69]。しかし日本国内では、この用量では副作用として神経症状などが認められた報告がある[33, 35]。その後、並河らが実験感染犬を用いた研究により、1.45 mg/kg、隔日 4 回の皮下投与が安全な用法であると報告して以降 [50]、日本ではこのプロトコールあるいは類似の低用量、隔日複数回投与での治療（以下低用量ジミナゼン療法）が普及

しており、現状では流行地を中心に 2 mg/kg の皮下投与を隔日で 3～4 回実施している獣医師が多い。しかし、安全性を重視した低用量ジミナゼン療法に関してはその治療効果や副作用などを臨床的に詳細な検討はされていない。

そこで、本章では犬 *B. gibsoni* 感染症における低用量ジミナゼン療法の治療効果や安全性を明らかにするために、低用量ジミナゼン療法により治療を行った犬 *B. gibsoni* 感染症症例を対象に、治療終了までの赤血球系パラメーター (RBC, PCV, Hb) と血小板数 (PLT) の投与終了までの推移を解析すると共に、副作用の発生状況を調査した。

2. 材料および方法

2-1. 材料

2000 年から 2009 年までに山口県周南市の一動物病院に来院した未治療の急性犬 *B. gibsoni* 感染症と診断され、治療開始日(第 1 病日)に低用量ジミナゼン療法を受けた 242 例を対象として診療記録を回顧的に調査した。急性犬 *B. gibsoni* 感染症の診断は、稟告や臨床症状 (食欲不振、元気低下、または褐色尿など)、身体検査所見とともに血液検査や尿検査所見を考慮して、光学顕微鏡下で 1,000 倍の倍率において、ライト・ギムザ染色をおこなった血液塗抹標本の赤血球内に *B. gibsoni* 虫体を検出した場合とした。

2-2. 低用量ジミナゼン療法プロトコール

低用量ジミナゼン療法はジミナゼン(ガナゼック:ノバルティスアニマルヘルス株式会社、東京) 2 mg/kg、隔日 3 回 (第 1, 3, 5 病日) の皮下投与を行った。支持療法としてジミナゼン投与前後には全例にブドウ糖加乳酸リンゲル液 (ソルラクト D:テルモ株式会社、東京) 5～10 ml/kg/hr の量の静脈内輸液を 2～3 時間行った。

輸血と副腎皮質ホルモン（プレドニゾロン注射液 NZ：日本全薬工業株式会社、福島）投与は診察時に重度の貧血によって生命の危機であると判断した症例に行った。

2 - 3. 調査方法と項目ならびに基準

低用量ジミナゼン療法開始時の主訴、臨床症状、CBC (RBC, Hb, PCV, PLT)、血液化学検査、尿検査は、診療記録よりとりまとめた。

採血はジミナゼンの皮下投与前に（第 1, 3, 5 病日）および投与終了後の第 8 病日に行った。第 1, 3, 5, 8 病日はジミナゼン投与における赤血球系パラメーターと PLT の推移を観察した。また、貧血の程度による赤血球系パラメーターの推移の違いを明らかにするため、症例を非貧血群（RBC $>6.0 \times 10^6/\mu\text{l}$ ）とともに、軽度貧血群（RBC： $4.0\sim 5.9 \times 10^6/\mu\text{l}$ ）、中等度貧血群（RBC： $2.0\sim 3.9 \times 10^6/\mu\text{l}$ ）、重度貧血群（RBC： $<1.9 \times 10^6/\mu\text{l}$ ）の 4 群に分け、第 8 病日までの RBC の増減を追跡した。また、血液塗抹検査は第 1 病日と第 8 病日の CBC と同時に行い、*B. gibsoni* 虫体の有無を調査した。

CBC は自動血球計算機（Celltac- α ：日本光電株式会社、東京）を用いて検査した。血液化学検査は血液化学測定器（FUJI DRY-CHEM 5000V, 7000V：富士フイルム株式会社、東京）を使用した。血液化学検査項目としては AST, ALT, ALP, T. Cho, T. Bil, BUN, CRE, Na, K, Cl, Alb, Glu, Ca の測定を行った。CRP は CRP 自動測定機器（Arrows Laser CRP-2：アローズ株式会社、大阪）を用いて測定した。CRP 値が測定機器の上限 20 mg/dl を超える場合は 20 mg/dl として処理した。黄疸指数の算出は黄疸指数板（黄疸指数板：高田メディコ株式会社：東京）を用いた。尿検査は尿検査試験紙（オークションスティックス 10 EA：アークレイ株式会社：東京）を用いた。貧血は RBC $5.5 \times 10^6/\mu\text{l}$ 以下、Hb 12.0 g/dl、PCV 37 %以下の全てを満たすものとした。血小板減少症は PLT が $150 \times 10^3/\mu\text{l}$ 以下と定めた。ビリルビン尿は 2+以上を陽性とした。黄疸は黄疸指数が 5 以上とした。血管内容血

は血清または血漿が肉眼的に溶血していた場合に陽性とした。発熱は 39.7°C 以上とした。再発は消失した *B. gibsoni* 虫体が検出され、改善した臨床症状や臨床病理学的所見が再び現れることとした。

2-4. 統計解析

ジミナゼン 3 回投与終了までの赤血球系パラメーターならびに PLTs の経時的変化は Mann-Whitney U test で検定した [19]。統計処理は全ての統計解析は Microsoft Excel ソフトウェア (XLSTAT : Addinsoft, New York, USA) を用いて実施した。有意水準は 5 % とした。

3. 結果

急性犬 *B. gibsoni* 感染症 242 例における、初診時の主訴または臨床症状として、食欲不振 (87.6 %) と元気消失 (83.1 %) が高率に認められた。褐色尿も 48.3 % に見られた。また、嘔吐 (9.9 %)、下痢 (9.1 %)、体性痛 (14.0 %) も認められた。犬へのマダニ付着を主訴として受診した犬も 2.9 % に存在した (表 1 - 1)。

初診時の臨床病理学的特徴としては、貧血 (86.4 %)、血小板減少症 (98.3 %)、ビリルビン尿 (91.7 %) が高い発生率を示した。一方で黄疸は 28.5 % であり、また血管内溶血は 5.0 % であった。発熱は 41.7 % に認められた (表 1 - 2)。各赤血球系パラメーターの中央値はそれぞれ RBCs $3.46 \times 10^6 / \mu\text{l}$ (基準範囲 : $5.50 \sim 8.85 \times 10^6 / \mu\text{l}$)、Hb 7.9 g/dl (基準範囲 : 12.0 ~ 20.5 g/dl)、PCV 24.0 % (基準範囲 : 37 ~ 61 %) であった。また PLTs の中央値は $43 \times 10^3 / \mu\text{l}$ (基準範囲 : $150.0 \sim 485.0 \times 10^3 / \mu\text{l}$) であった (図 1 - 1)。初診時の血液化学検査の中央値は ALP と CRP が高値を示した (表 1 - 3)。

低用量ジミナゼン療法をうけた全 242 例中、13 症例が第 8 病日までに死亡した。また、別の 7 症例には第 8 病日までに輸血が実施された。また第 8 病日までには再発例は認められなかった。赤血球系パラメーターと PLT の推移については死亡例と輸血例を除いた 222 例について調査した。この 222 例中、全ての症例が治療開始後、*B. gibsoni* 虫体は速やかに消退し、貧血と血小板減少の回復に伴って、第 8 病日には臨床症状の消失と体調の回復を示した。また、血液塗抹検査における第 8 病日での *B. gibsoni* 虫体の検出は 222 例の全例で確認することができなかった。

第 8 病日までの赤血球系パラメーターの推移を図 1 - 2 に示した。RBC は第 1 病日に比べて第 3 病日には有意に減少した ($p < 0.05$)。また第 5 病日に Hb が、第 8 病日には全てのパラメーターが第 1 病日より有意に増加した。第 8 病日までの RBC を非貧血群、軽度、中程度、重度貧血群の 4 群に分けて増減を追跡した結果を図 1 - 3 に示した。非貧血群では第 3 病日に、軽度貧血群では第 3 および第 5 病日の RBC の有意な減少が認められた ($p < 0.05$)。しかし中等度および重度減少群では第 3 病日の有意な減少が認められなかった。その後、中等度、重度減少群では第 5 病日以降の有意な増加が認められた ($p < 0.01$)。PLT の推移は図 1 - 4 に示すが、3, 5, 8 病日と経日毎に有意に増加した ($p < 0.01$)。

低用量ジミナゼン療法を受けた 242 症例の副作用の内容とその発症状況を調査したところ、神経症状を発現した症例は全く認められなかった。注射部位の硬結や疼痛が 9 例 (3.7 %) に認められた。第 8 病日までの死亡例は 13 例 (5.4 %) であった。その死亡理由は、腎不全 5 例、激しい血管内容血 2 例、免疫介在性溶血性貧血 (IMHA) の併発 4 例であり、これらは治療前の初診時の検査ですでに認められていた。また、低用量ジミナゼン療法を受けても、貧血や臨床症状が改善せずに死

亡した例は2例であった。

4. 考察

本研究では、犬 *B. gibsoni* 感染症における低用量ジミナゼン療法の治療効果及び安全性の評価を行うため、まず対象となる流行地での犬 *B. gibsoni* 感染症の臨床情報を調査した。初診時の主訴及び臨床症状では食欲不振や元気消失が高い発生頻度であり、発熱や褐色尿は半数を超えるほどではなく、また嘔吐や下痢および体性痛が低い発生頻度にあることが確認できた。臨床病理所見として貧血や血小板減少症、ビリルビン尿は非常に高い発生頻度で認められたが、黄疸は一般的でなかった。血管内溶血は5.0%と低い発生頻度であった。

犬 *B. gibsoni* 感染症の溶血のメカニズムは、原虫の赤血球への感染、増殖による破壊や、赤血球の浸透圧抵抗の低下による赤血球膜の脆弱化による血管内溶血が考えられていた[75]。しかし、臨床的には低い原虫寄生率でも貧血が重症化することが指摘されているため[75]、抗赤血球膜抗体産生によるマクロファージやNK細胞などの赤血球貪食の機会の増加や[2, 5, 38, 47]、赤血球の酸化障害[49]など、直接的な赤血球への障害以外のメカニズムも提唱されている。これらの赤血球は脾臓や細網内皮系で排除される[48, 54]。さらに抗赤血球膜抗体の増加は *B. gibsoni* 非感染赤血球にも結合し、障害を与えることが、原虫寄生率が低くても貧血が重度になる原因と考えられている[55]。これはIMHAにおける血管外溶血の機序と類似している[12, 75]。今回は寄生率の調査は行われていないため、寄生率と溶血の感染性は不明であった。しかし血管内溶血であれば血色素尿を呈し[12]、血管外溶血はビリルビン尿として反映するため、血管外溶血の発生頻度は著しく高いことが示唆された。血液化学検査ではALPの増加が認められ、その原因は罹患ストレスに起因する内

因性コルチゾルによるものと思われた[13, 28]。また CRP 値の増加も認められ、従来の犬 *B. gibsoni* 感染症で報告されている臨床病理所見と同様に、特徴的な兆候であることが今回再確認された。このことから、今回の症例群は、低用量ジミナゼン療法の治療効果と安全性を評価する本章の材料としては、偏りがなく適切なものと考えられた [7, 27, 28, 35, 40, 51, 52, 65]。

次に低用量ジミナゼン療法におけるジミナゼン 3 回投与終了後までの効果について調査した。赤血球系パラメーターは第 3 病日に RBC が有意に減少して第 8 病日には第 1 病日より有意に増加した。第 3 病日の RBC の下降は *B. gibsoni* がジミナゼンによって駆虫され、感染赤血球が処理されたためと思われる。よって治療初期は貧血の進行など罹患犬の体調が一時的に悪化する可能性を注意すべきである。しかし第 8 病日には全てのパラメーターが有意に増加した。貧血の程度を 4 群に分けた中で、非貧血群と軽度減少群では第 3、第 5 病日に有意に下降しており、中等度、重度減少群は逆に第 5 病日から有意に上昇しており、貧血が中等度から重度の場合は治療によって貧血の進行が抑制されたと考えられた。よって、低用量ジミナゼン療法では治療開始から赤血球系パラメーターが回復に向かうにはおよそ 4 日前後必要なこと、その時に、貧血がない、あるいは軽度の場合は、貧血が一時的に進行しており、重症の場合にはすみやかに回復を示すことが本治療の正しい指標として熟知しておくべきである。

初診時の血小板減少症は 98 % の症例に認められたが、PLT は第 8 病日まで測定毎に有意な増加が見られた。低用量ジミナゼン治療において一時的に減少する赤血球系パラメーターに比べて、PLT は治療により経日的に増加することが示された。

低用量ジミナゼン療法における副作用の発生率および死亡率について調査した。

ジミナゼンの副作用は小脳出血と注射部位の硬結や疼痛があるといわれており、特に小脳出血は致命的である[10]。本研究の投与方法は副作用回避のために考案されたものであるが臨床例で系統的に評価されていない[50]。多数の臨床例を対象にした今回の調査では、神経症状を発症した症例はなかったため致命的な小脳出血は起こっていなかったと思われる。注射部位の硬結や疼痛は 3.7 %に認められただけであり、低用量ジミナゼン療法は安全性の高い治療法であることが確認できた。また、死亡例 13 例の理由として、腎不全 5 例と激しい血管内容血 2 例、IMHA の併発 4 例、治療に反応しなかった重篤な貧血死が 2 例であった。これらは犬 *B. gibsoni* 感染症の致命的な症状として報告されている[31, 76]。本調査では腎不全、血管内容血及び重篤な貧血は低用量ジミナゼン療法前に生じているため、ジミナゼン投与との直接的な因果関係はなく、ジミナゼンの副作用ではないと思われた。さらに輸血を施された別の 7 症例を除外すると、今回の調査では 222 例が低用量ジミナゼン療法によって第 8 病日までに回復を示し、血液塗抹検査による寄生虫血症も認められなかった。よって低用量ジミナゼン療法による回復率は 91.7 %と算出された。また第 8 病日までには、再発は全例に認められなかった。しかし本研究では再発の観察期間が短いため、有効性までは確認できなかった。他の治療法の回復率は、ジミナゼン高用量療法 (3~5 mg/kg) では 91.7% [33]、アトバコンにアジスロマイシンを併用した方法では 90.9%[8]、アトバコンとプログアニルの合剤にドキシサイクリンの併用した方法では 100%[23]であり、低用量ジミナゼン療法の回復率はこれらの治療と同等と思われた。

以上の知見から、流行地で調査した犬 *B. gibsoni* 感染症における低用量ジミナゼン療法は、貧血が一旦進行するものの改善し、他の治療法と同等の回復率を示し、

これまでのジミナゼンの使用法で懸念された致命的な副作用を発生しないことが示された。

5. 小括

犬 *B. gibsoni* 感染症における低用量ジミナゼン療法の評価を行うため臨床情報を回顧的に解析して検討した。まず低用量ジミナゼン療法の対象となる日本の流行地での犬 *B. gibsoni* 感染症の臨床情報を調査した。初診時には食欲不振や元気消失が高い頻度であるほかに、発熱や褐色尿は半分ほどに、また嘔吐下痢や体性痛が低頻度にあることが確認できた。臨床病理所見として貧血や血小板減少症、ビリルビン尿は非常に高い頻度で認められるが、黄疸や血管内容血は一般的でなかった。

次に低用量ジミナゼン 3 回投与における効果を調査した。まず赤血球系パラメーターと PLT の経過を追跡したが、赤血球系パラメーターは第 3 病日に一旦低下して第 8 病日には回復した。一方で PLT は経日毎に上昇し、治療の効果予測として利用できる可能性が示された。また RBC を 4 群にわけて回復までの詳細を調査した。その結果、RBC は第 8 病日の判定までの間に、非貧血群は一旦低下するが重度貧血群は経日毎に上昇し、低用量ジミナゼン療法では貧血の重症度に応じて回復に違いがあることが示された。本治療における副作用は 3.7 % に接種部位の硬結や疼痛があるが、神経症状は全く認められなかった。242 例中 222 例が第 8 病日までに回復を示し、回復率は 91.7 % と算出された。よって、流行地での犬 *B. gibsoni* 感染症における低用量ジミナゼン療法は治療効果が高く安全な方法であると結論された。

表 1 - 1. 急性犬 *B. gibsoni* 感染症を発症した犬 242 例における低用量ジミナゼン療法開始時の主訴 / 臨床症状

主訴 / 臨床症状	発生件数	%	
食欲不振	212	87.6	(212 / 242)
元気消失	201	83.3	(201 / 242)
褐色尿	117	49.9	(117 / 242)
嘔吐	24	15.4	(24 / 242)
下痢	22	14.1	(22 / 242)
体性痛	34	12.0	(34 / 242)
マダニ付着	7	2.8	(7 / 242)

表 1 - 2. 急性犬 *B. gibsoni* 感染症を発症した犬 242 例における低用量ジミナゼン療法開始時の初診時臨床病理学的所見

主訴 / 臨床症状	発生件数	%	
貧血	209	86.4	(209 / 242)
血小板減少症	238	98.3	(238 / 242)
ビリルビン尿	222	91.7	(222 / 242)
黄疸	69	28.5	(69 / 242)
血管内溶血	12	5.0	(12 / 242)
発熱	101	41.7	(101 / 242)

表 1 - 3. 急性犬 *B. gibsoni* 感染症を発症した犬 242 例における低用量ジミナゼン療法開始時の血液化学検査結果

		測定数	中央値	参考値*
T.P	(g/dl)	242	6.4	(6.0 ~ 8.0)
AST	(U/l)	223	43.0	(9 ~ 69)
ALT	(U/l)	223	39.0	(13 ~ 53)
ALP	(U/l)	223	356.0	(14 ~ 142)
T. cho	(mg/dl)	223	198.5	(70 ~ 303)
T. Bil	(mg/dl)	242	0.7	(0.3 ~ 0.9)
BUN	(mg/dl)	242	16.4	(4.8 ~ 31.4)
Cre	(mg/dl)	242	0.6	(0.2 ~ 1.6)
Na	(mEq/l)	137	146.0	(137 ~ 150)
K	(mEq/l)	137	4.0	(3.4 ~ 5.2)
Cl	(mEq/l)	137	111.0	(102 ~ 117)
Glu	(mEq/l)	201	100.0	(50 ~ 124)
Alb	(g/dl)	242	2.8	(2.6 ~ 3.3)
Ca	(mg/dl)	201	8.7	(7.9 ~ 12.2)
CRP**	(mg/dl)	111	13.5	(0.0 ~ 1.0)

* 測定機器メーカーの推奨する参考基準範囲[67]を用いた。

** CRP 値が測定機器の限界 (20 mg/dl) を超える場合は 20 mg/dl とした。

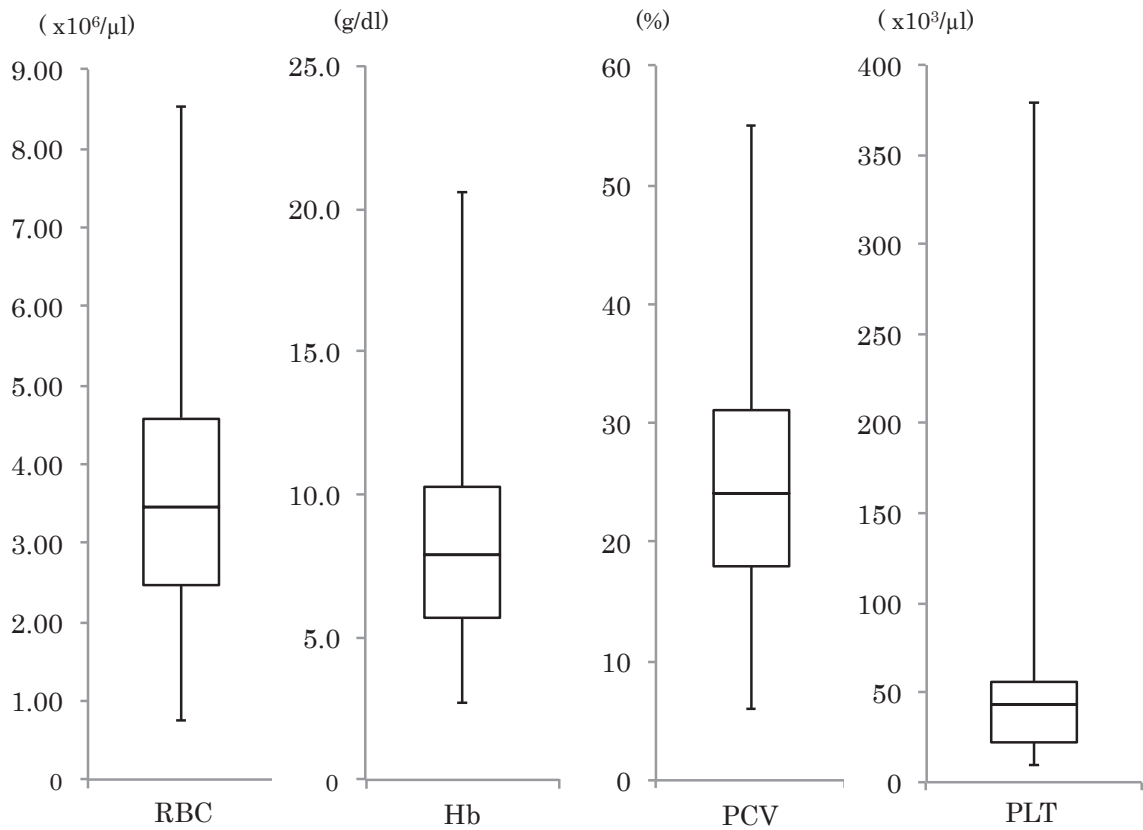


図 1 - 1. 急性犬 *B. gibsoni* 感染症を発症した犬 242 例における低用量ジミナゼン療法開始時の RBC (赤血球数), Hb (ヘモグロビン値), PCV (血液容積), PLT (血小板数) の中央値の箱ひげ図。箱の中央の線は中央値、垂線はヒゲの上端は最大値、下端は最小値を示す。

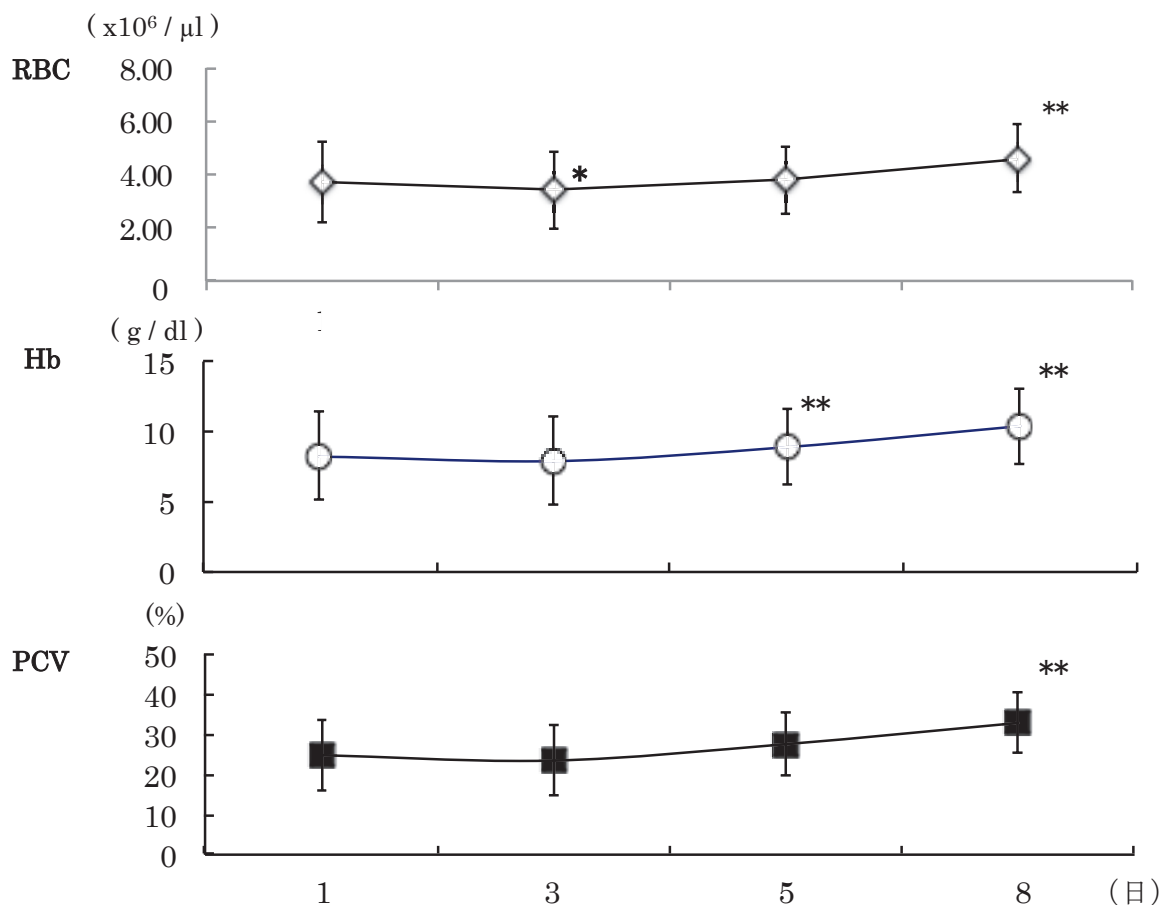


図1 - 2. 低用量ジミナゼン療法を受けた急性犬 *B. gibsoni* 感染症 222 例におけるジミナゼン 3 回投与 (第 1, 3, 5 日) 終了後 (第 8 日) までの RBC (赤血球数), Hb (ヘモグロビン値), PCV (血液容積) の第 8 病日までの推移。各マーカーの垂線は標準偏差を示す。アスタリスクはそれぞれの検査値が第 1 病日の検査値との有意差があることを示す (* = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$)。

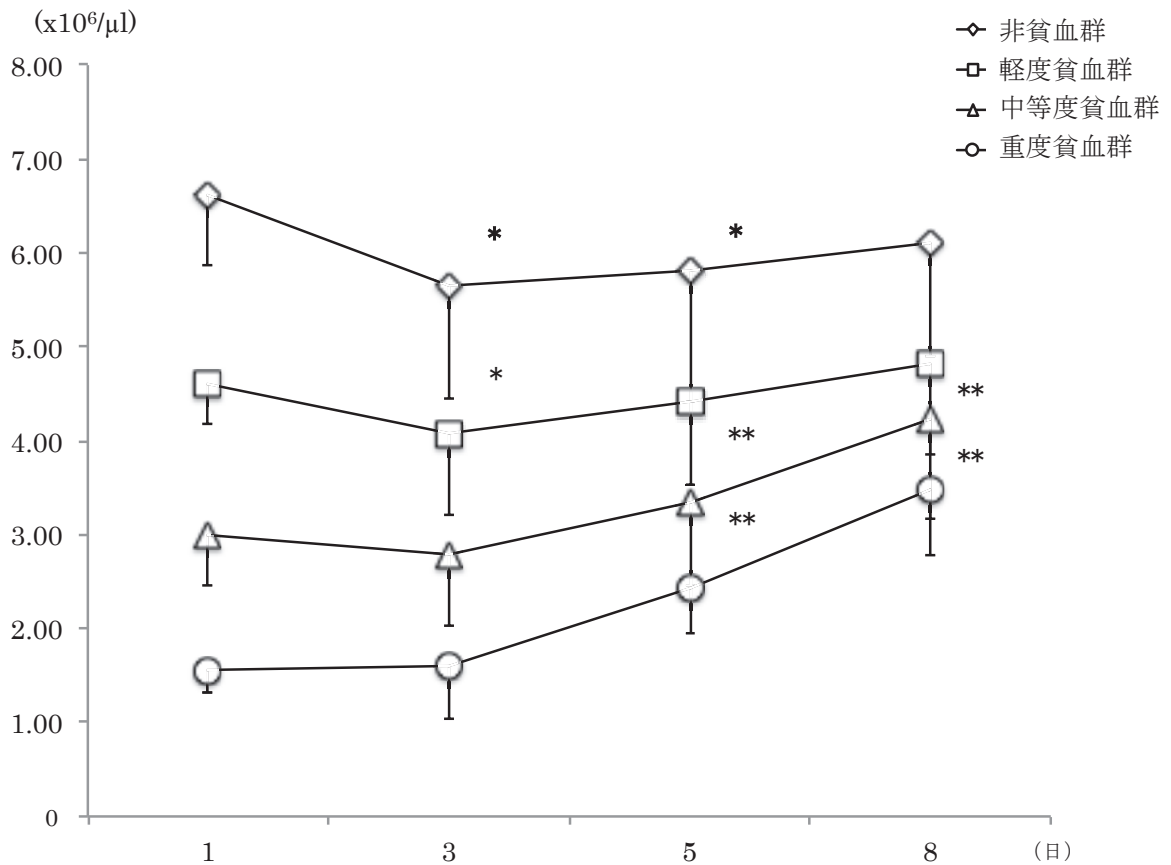


図1 - 3. 低用量ジミナゼン療法を受けた急性犬 *B. gibsoni* 感染症 222 例におけるジミナゼン 3 回投与 (第 1, 3, 5 日) 終了後 (第 8 日) までの非貧血群、軽度貧血群、中等度貧血群、重度貧血群の RBC (赤血球数) の推移。各マーカーの垂線は標準偏差を示す。アスタリスクはそれぞれの検査値が第 1 病日の検査値との有意差があることを示す (* = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$)。

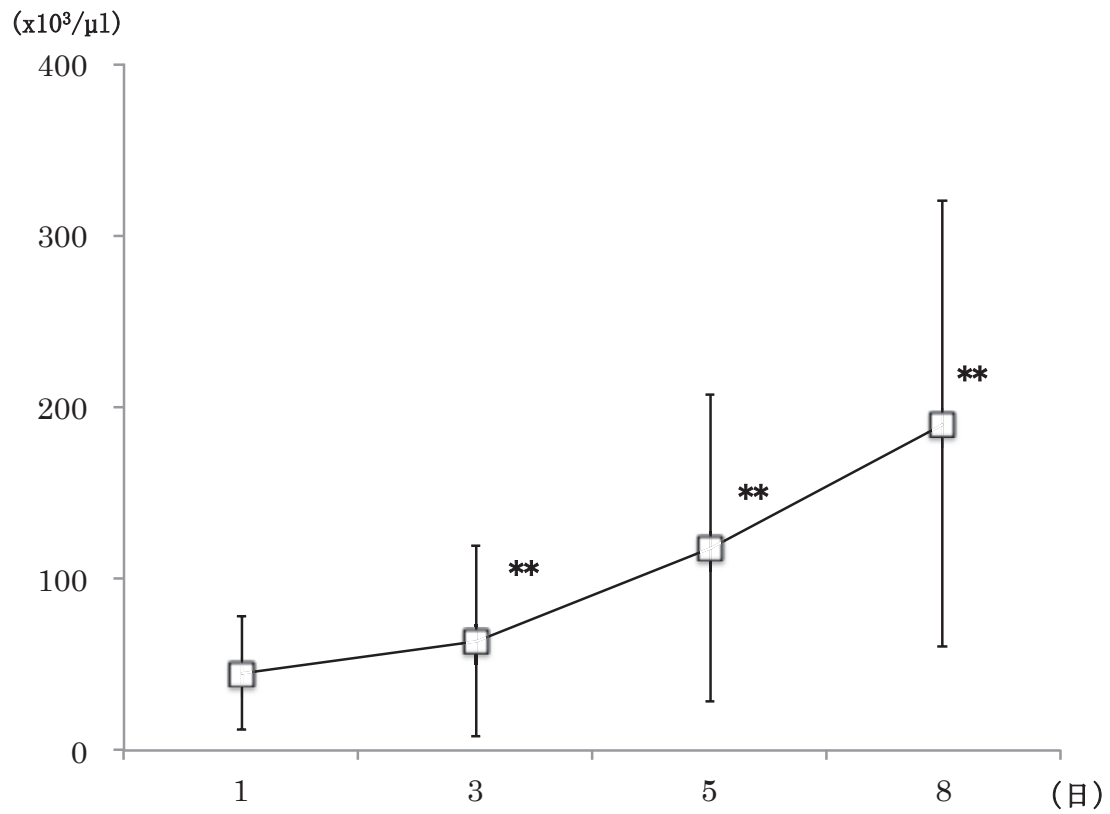


図1 - 4. 低用量ジミナゼン療法をうけた急性犬 *B. gibsoni* 感染症 222 例におけるジミナゼン 3 回投与（第 1, 3, 5 日）終了後（第 8 日）までの PLT（血小板数）の推移。各マーカーの垂線は標準偏差を示す。アスタリスクはそれぞれの検査値が第 1 病日の検査値との有意差があることを示す (** = $p < 0.01$)。

第2章 犬 *B. gibsoni* 感染症の再発防止に関する研究

緒言

犬 *B. gibsoni* 感染症は、*B. gibsoni* が赤血球に侵入して、増殖を繰り返すことにより溶血が引き起こされて貧血を主徴とする疾患である。犬に対する *B. gibsoni* の病原性は強く、感染犬では元気食欲の低下、貧血、発熱、黄疸、脾腫などが認められる[69]。また、犬 *B. gibsoni* 感染症では再発が多いことが知られている[4, 10]。犬 *B. gibsoni* 感染症の治療薬には様々なものがあるが、*B. gibsoni* を感染犬の体内から完全に排除する根治的治療法はいまだ報告されていない[10, 23, 37, 65]。日本では犬 *B. gibsoni* 感染症の治療薬として、主にジミナゼンが使用されているが、副作用として小脳出血や注射部位の硬結や疼痛が起こることが知られている[7, 10, 29, 58, 60]。第1章ではこの副作用を回避するために現在広く普及されている低用量ジミナゼン療法の回復率と安全性を評価して有効であることを明らかにした。しかし、低用量ジミナゼン療法でも再発が生じることは避けられず、複数回の治療を必要とする場合には、ジミナゼンの蓄積毒性や耐性株の出現が懸念される[57,58]。

一方、*B. gibsoni* の増殖を抑制する抗菌薬が複数報告されており[44, 65, 74]、再発防止のために低用量ジミナゼン療法と併用する方法が試みられている[65]。とくに、クリンダマイシンは低用量ジミナゼン療法後の再発防止薬としてよく使用されている。しかしクリンダマイシンの投与量や期間、その再発防止効果などは体系的に評価されてない。

そこで本章では第1節において、犬 *B. gibsoni* 感染症に対する低用量ジミナゼン療法後のクリンダマイシン投与の再発予防効果を検討した。また、第2節では低用量ジミナゼン療法後のクリンダマイシン以外の抗菌薬として、*B. gibsoni* 効果を有するアジスロマイシンとドキシサイクリンにおける再発防止効果を比較検討した。

第 1 節 低用量ジミナゼン療法とクリンダマイシンの組み合わせ治療法の犬 *B. gibsoni* 感染症再発防止効果の検討

1. 序論

クリンダマイシンはリンコマイシン系抗生物質であり、ブドウ球菌や嫌気性菌などの細菌感染に用いられるが[56]、トキソプラズマやマラリアにも用いられており、抗原虫作用を有することが報告されている[51, 69]。*B. rodhaini* 感染に対しては、貪食効果とマクロファージの化学走性を高めて免疫力を上げていると考えられている [72]。

このため、クリンダマイシンは犬 *B. gibsoni* 感染症の低用量ジミナゼン療法の再発防止薬としてよく使用されている。しかし、クリンダマイシンの投与量や期間、その再発防止効果などは体系的には評価されていない。このため、本節では犬 *B. gibsoni* 感染症に対する低用量ジミナゼン療法後のクリンダマイシン投与の再発防止効果を検討した。

2. 材料および方法

2000年から2009年までに山口県周南市の一動物病院に来院した未治療の急性犬 *B. gibsoni* 感染症 242 例のうち、ジミナゼン(ガナゼック：ノバルティスアニマルヘルス株式会社、東京) 2 mg/kg の皮下投与を治療開始から隔日 (48 時間ごと) に 3 回投与を受けた 222 例を対象とした。対象犬は治療開始日を第 1 病日として、第 8 病日にすべて体調の回復を示している。ジミナゼン初回投与時には全例に支持療法としてブドウ糖加乳酸リンゲル液 (ソルラクト D：テルモ株式会社、東京) 5~10 ml / kg / hr の量の静脈内輸液をジミナゼン投与前後に 2~3 時間行った。なお、輸血または副腎皮質ホルモン投与を実施した症例は本研究には含めていない。犬 *B.*

B. gibsoni 感染症の診断は、臨床症状（食欲不振、元気低下、または褐色尿など）に加えて、光学顕微鏡下で 1,000 倍の倍率において、ライト・ギムザ染色をおこなった血液塗抹標本の赤血球表面上に *B. gibsoni* 虫体を検出した場合とした。

再発防止薬としてクリンダマイシン（ダラシン：ファイザー株式会社、東京、25 mg/kg、1 日 2 回）の経口投与を第 8 病日から第 29 病日まで継続投与した。クリンダマイシンの投与対象犬は無作為に抽出し、飼い主に説明の上、同意を得た 80 例とした（DC 群）。残りの 142 例は第 29 病日まで無投薬として対照群とした。

本調査は診療記録により回顧的にとりまとめられた。再発は、低用量ジミナゼン療法後、一度消失した犬 *B. gibsoni* 感染症に認められる貧血、発熱、元気食欲低下、脾腫などの臨床症状を再び呈し、血液塗抹標本で消失していた *B. gibsoni* が再検出された場合とした。診察は 7～10 日毎に行われ、途中に臨床症状が認められた犬では再発の確認を行った。第 29 病日までに再発と判定された際には、第 29 病日まで経過を観察した後に犬 *B. gibsoni* 感染症治療を行った。

検査項目は、第 1, 8, 29 病日に RBC, Hb, PCV, PLT および CRP をモニターした。RBC, Hb, PCV, PLT は自動血球計算機（Celltac-α：日本光電株式会社、東京）を用いた。CRP は CRP 自動測定器（Arrows Laser CRP - 2：アローズ株式会社、大阪）を用いて測定した。CRP 値が測定機器の上限 20 mg/dl を超える場合は 20 mg/dl として処理した。

第 29 病日におけるクリンダマイシン治療後の再発率はカイ二乗検定を用いて調べた。第 1, 8, 29 病日の DC 群および対照群の RBC, Hb, PCV, PLT および CRP の有意差、さらに RBC, Hb, PCV, PLT および CRP の再発群と非再発群の差は One-Way ANOVA[19]で検定した。両群の再発日の比較も同検定を用いた。全ての統計解析は Microsoft Excel ソフトウェア（XLSTAT：Addinsoft, New York, USA）を用いて実施した。有意水準は 5%とした。

3. 結果

本調査における対象犬は、低用量ジミナゼン療法によって第 8 病日までに体調の回復と血液塗抹標本による寄生虫血症の消失を認めた。再発は対照群の 142 例中 42 例 (29.6 %) に再発が見られたのに対し、DC 群では 13 / 80 例 (16.3 %) が再発した。DC 群の再発率は対照群の再発率よりも有意に低かった ($p < 0.05$)。DC 群および対照群の平均再発日は、それぞれ 27.4 ± 1.0 日および 27.5 ± 0.8 日であり、有意差はなかった。

DC 群と対照群の第 1, 8, 29 病日における各検査値を表 2 - 1 に示した。第 1 病日に DC 群と対照群との間で RBC, PCV, Hb, PLT および CRP に統計的な差は見られなかった。第 8 病日では対照群と比較して、DC 群の RBC は低値であった。しかし、PCV, Hb, PLT および CRP には有意差がなかった。第 29 病日では、DC 群の RBC および PCV の平均値は、対照群と比較して有意に高かった。しかし、Hb, PLT および CRP の 2 群間の有意差はなかった。

また DC 群、対照群での再発群の RBC, PCV, Hb および PLT の第 29 病日の平均値は非再発群より有意に低く、CRP の平均値は非再発群と比較して有意に高かった。さらに、DC 群と対照群の再発群における第 1 病日の RBC と Hb の平均値と、第 8 病日の RBC と PCV の平均値は、DC 群が対照群より有意に低かったにもかかわらず、第 29 病日の RBC、PCV および Hb の平均値は DC 群が対照群より有意に高かった。なお試験期間中、クリンダマイシン投与によるとみられる副作用は認められなかった。

4. 考察

犬 *B. gibsoni* 感染症の治療には単一の薬剤より複数の薬剤の組み合わせによる治療の方が効果的であることが知られている[37]。今回は *B. gibsoni* 感染に用量依存的に有効な抗生物質であるクリンダマイシンに注目し[37, 71, 73, 74]、その再発防止効果を追跡調査した。今回の結果から、DC 群の再発日は対照群と差はなかったが、再発率は対照群と比較して DC 群が有意に低かった。血液検査による DC 群と対照群との比較では、第 1 病日では差がなく、第 8 病日に DC 群の RBC が有意に減少しているものの、DC 群の RBC は第 8 病日に減少したが、他のパラメーターや体調の回復に差がなかった。これらは群分けの無作為性を確認する結果となった。さらに、DC 群は対照群より第 29 病日では RBC と PCV が有意に増加しており、再発犬における貧血は、対照群と比較して軽度であった。このことから、低用量ジミナゼン療法にクリンダマイシンを組み合わせの方が、発病から貧血の回復や再発時の重症化の抑制にも影響を及ぼしている可能性が考えられた。今回のクリンダマイシン投与量は歯周病などに使用する用量（5mg/kg、1 日 2 回）よりも高用量であったが[18]、DC 群には顕著な副作用は見られず、その安全性に問題がないことが示唆された。これらの知見から、ジミナゼンとクリンダマイシンによる組み合わせの治療は再発防止の治療の選択肢として有効かつ安全な方法であると思われた。

第2節 アジスロマイシンとドキシサイクリンの犬 *B. gibsoni* 感染症再発防止効果の検討

1. 序論

第1節では、低用量ジミナゼン療法とクリンダマイシンの組み合わせ治療による再発防止効果を証明した。抗原虫効果を有する薬剤としては、他にもアジスロマイシンとドキシサイクリンが報告されており、犬 *B. gibsoni* 感染症の治療にも応用されている[7, 44, 65, 66, 68]。

第2節では、犬 *B. gibsoni* 感染症におけるアジスロマイシンとドキシサイクリンの低用量ジミナゼン療法後の再発防止効果について検討した。また、投与期間を延長したときの有効性を評価するために、第1節の28日間よりも薬剤の投与期間を延長して再発防止効果について検討を行った。

2. 材料および方法

本研究は3つの治療法を比較した前向き研究として行った非盲検の臨床試験である。材料は2010年から2017年の間に流行地である山口県周南市の一動物病院に受診して、初発の急性犬 *B. gibsoni* 感染症と診断された140頭の犬とした。この140頭は、初期治療に低用量ジミナゼン療法として、第1病日にジミナゼン（ガナゼック：ノバルティスアニマルヘルス株式会社、東京）を2 mg/kg、隔日3回の皮下注射を行った。その後、第8病日から被検薬を経口投与した。被検薬はアジスロマイシン（ジスロマック：ファイザー株式会社、東京、10 mg/kg、1日1回、経口投与）、ドキシサイクリン（ビブラマイシン：ファイザー株式会社、東京、10 mg/kg、1日2回、経口投与）、また対照として第1節で用いたクリンダマイシン（ダラシン：ファイザー株式会社、東京、25 mg/kg、1日2回、経口投与）の3種類を使用した。投与期間は、1ヶ月投与群は第8病日から第29病日まで、3ヶ月投与群は第8病日から第84病日までとした。被検群の振り分けは、薬剤と投与期間、副作用、治療

コストの説明を行った後に飼い主に選択を委ねた。その結果、アジスロマイシンは 26 頭、ドキシサイクリンは 27 頭、クリンダマイシンは 87 頭に使用された。各薬剤の 1 ヶ月投与群と 3 ヶ月投与群はそれぞれ、アジスロマイシンが 16 頭と 10 頭、ドキシサイクリンが 16 頭と 11 頭、クリンダマイシンが 56 頭と 31 頭となった。途中、投与期間の変更は認めなかった。また再発した例は再発と診断した時点で被検薬の投与を終了して、治療を行った。投与終了後も再発の有無を各群とも第 180 病日まで観察した。犬 *B. gibsoni* 感染症の診断は食欲不振、発熱、黄疸などの特徴的な臨床症状とともに末梢血のライト・ギムザ染色塗抹標本での *B. gibsoni* の虫体確認によって確定とした。再発の定義は一旦改善した臨床症状や臨床病理学的異常が再び現れ、かつ消退した *B. gibsoni* 虫体が血液塗抹上で検出された時とした。

血液検査は第 1, 8, 29, 85 日目、および再発日に行った。測定項目は RBC, PCV, Hb, PLT および CRP とした。薬剤別に再発数とその再発日を調査した。また各群の再発例において被検薬の投与期間中における再発率を調べた。

各投与群における再発率はカイ二乗検定[72]を用いて有意差を調査した。各群の再発日数、ならびに第 1, 8, 29, 85 日目、およびに再発日の RBC, PCV, Hb, PLT, CRP の有意差は Kruskal - Wallis 検定[72]を行い分析した。すべての統計解析は、Microsoft Excel ソフトウェア (XLSTAT : Addinsoft, New York, USA) を用いて調査しており、有意水準を 0.05 とした。

3. 結果

アジスロマイシン、ドキシサイクリン、クリンダマイシン投与後の再発率は、1 ヶ月投与群がそれぞれ 63%、50%、25%であり、3 ヶ月投与群はそれぞれ 80%、46%、16%であった。1 ヶ月投与群、3 ヶ月投与群それぞれにおける 3 剤の再発率の比較では両群ともにクリンダマイシン群が他の 2 剤より有意に再発率が低かった。薬剤の投与期間別における比較として 3 ヶ月投与群と 1 ヶ月投与群で再発率を調査したが、差は認められなかった (表 2-2)。

各薬剤投与における再発日の平均値は1ヶ月投与群がそれぞれ、 46.1 ± 13.7 日、 41.5 ± 11.5 日、 77.6 ± 28.7 日であった。3ヶ月投与群はそれぞれ 85.0 ± 33.4 日、 77.8 ± 25.2 日、 114.4 ± 16.5 日であった。アジスロマイシン群とクリンダマイシン群には1ヶ月群と3ヶ月群における再発日の有意差が認められた(表2-3)。表2-4には各群の再発例において被検薬の投与期間中における再発率を示した。1ヶ月投与群ではアジスロマイシン群とドキシサイクリン群はそれぞれ10%、13%が投与期間中に再発した。クリンダマイシン群の再発の合計14例は投与期間中には再発はみられず、全例が1ヶ月間の投与終了後に再発した。3ヶ月投与群では投与期間中の再発率はアジスロマイシン群が50%、ドキシサイクリン群が60%と増加したが、クリンダマイシン群は3ヶ月投与においても再発例は投与期間内にはみられなかった。表2-5には1ヶ月投与群、表2-6には3ヶ月投与群別の血液検査結果を示した。1ヶ月投与群では第1病日のドキシサイクリン群とクリンダマイシン群の合計においてPLTに差が認められた。3ヶ月投与群ではドキシサイクリン群とクリンダマイシン群におけるRBC, Hb, PCVに差が認められた。またドキシサイクリン群の再発群が第8病日にRBC, PCVの平均値がクリンダマイシン群に比較して有意に高かった。なお今回の期間中、いずれの薬剤投与の個体にも副作用は認められなかった。

4. 考察

今回の研究に用いた薬剤はアジスロマイシン、ドキシサイクリン、クリンダマイシンの3剤である。これらの薬剤は、いずれも犬 *B. gibsoni* 感染症に有効かつ日本で入手可能である[44]。本研究では、これらを低用量ジミナゼン療法と組み合わせて、再発率と平均再発日数、また投与期間中の再発防止効果を評価したものである。

アジスロマイシンはマクロライド系抗生物質であり、原虫に対する作用機序は解明されていないが、マラリアに対する活性を示し、*in vivo* では *B. gibsoni* に有効とされている[8, 43]。アトバコンとの併用で犬 *B. gibsoni* 感染症に用いられているが

[8]、低用量ジミナゼン療法との組み合わせ治療による再発防止効果については検討されたことがなかった。今回の検討では、アジスロマイシン群では再発率は3剤の中で一番高かった。投与期間を3ヶ月に延長すると平均再発日数は有意に延長しており、一定の遅延効果はあるものの再発率は減少せず、再発例の投与期間中の再発率は増加した。よってアジスロマイシンの再発防止効果は乏しいと思われた。

ドキシサイクリンはテトラサイクリン系合成抗菌薬であり、エールリッヒア症に活性を示すことが知られている[43]。ドキシサイクリンは *B. canis* には *in vivo* で活性を示すが[70]、*B. gibsoni* においては *in vitro* で感受性があるが、*in vivo* では単独投与では効果がない[7, 68]。ドキシサイクリンは多剤併用療法プロトコールに組み込まれているものの、低用量ジミナゼン療法に組み合わせた再発防止効果は不明であった。今回の検討では、ドキシサイクリン群はアジスロマイシン群より再発率は若干減少しているが高く、投与期間を延長しても平均発症日数に差がなく、再発率もほぼ変わらなかった。また再発例における投与期間中の再発率は一番高く、期間を延長してもアジスロマイシン群同様に投与期間中の再発率は増加した。よってドキシサイクリンの1ヶ月以上の投与は効果的でないと思われた。

低用量ジミナゼン療法後に組み合わせる薬剤として、アジスロマイシンとドキシサイクリンでは再発防止効果は不十分であったが、臨床現場で一定の再発防止効果に期待して使用する場合には、1ヶ月をめぐにした短期治療に限定的であると認識する必要があると思われた。

対照で用いたクリンダマイシンは、アジスロマイシン、ドキシサイクリンに比べると有意に再発率が低く、3ヶ月に投与期間を延長すると再発率は低減しており、再発抑制や遅延効果に有効であることが明らかとなった。クリンダマイシンは、アジスロマイシンやドキシサイクリンより低用量ジミナゼン療法後の組み合わせに有効な再発防止薬剤であると考えられた。

投与群別の血液検査を測定し、各群の抽出に偏りが無いことを調査した。ドキシサイクリン群で投与前の低用量ジミナゼン療法中の第1, 8病日に、クリンダマイ

シン群に対して合計値や再発群との間に有意差を認める項目があったが、投与後は差が見られず、貧血や血小板減少症の重症度や回復の度合いが、再発率に影響を及ぼすことはなかった。よって血液検査値から各群の抽出には再発に影響を及ぼす偏りがないことが確認できた。

小括

第1節では犬 *B. gibsoni* 感染症において安全性や有効率を確認した低用量ジミナゼン療法を実施した 80 例に、再発防止のために用量依存的に抗原虫作用を有するクリンダマイシンを第 29 病日まで投与して再発防止効果を評価した。その結果、クリンダマイシン投与群の再発率は対照群と比較して有意に再発率が低かった。再発時の貧血は対照群より軽度であった。またクリンダマイシン投与中には重大な副作用は認められなかった。

第2節では犬 *B. gibsoni* 感染症における低用量ジミナゼン療法後に組み合わせる薬剤の再発防止効果を検討するため、アジスロマイシンとドキシサイクリンをクリンダマイシンと比較し、さらに投与期間による再発防止効果を調査した。アジスロマイシンでは 1 ヶ月投与群の再発率は 3 剤の中で一番高かった。投与期間を 3 ヶ月に延長すると平均再発日数は有意に延長しており、一定の再発遅延効果はあるものの再発率は減少せず、再発例の投与期間中の再発率は増加した。ドキシサイクリンも再発率は高く、投与期間を延長してもほぼ変わらず、平均発症日数も差がなかった。また再発例の投与期間中の再発率は 3 剤の中で一番高く、一方、クリンダマイシンは 1 ヶ月投与時の比較では、他の 2 剤より有意に再発率が低く、抑制効果が十分に認められた。また投与期間を 3 ヶ月に延長すると再発率の低減に有効であり、再発例も投与期間中には再発が抑制されていた。

以上より、低用量ジミナゼン療法後のクリンダマイシン投与は犬 *B. gibsoni* 感染症の再発抑制に有効であることがわかった。またクリンダマイシンは抗原虫効果を有するアジスロマイシンやドキシサイクリンに比較して犬 *B. gibsoni* 感染症の再発抑制に優れ、投与期間を延長すれば、より効果的であることが示唆された。低用量ジミナゼン療法後のクリンダマイシン 3 ヶ月投与は、犬 *B. gibsoni* 感染症に有効性が高い治療法と考えられた。

表2 - 1. 第1, 8, 29 病日における DC 群と対照群の RBC, PCV, Hb, PLT, CRP の変化 (平均値 ± 標準偏差)

	DC 群						対照群											
	合計			非再発			再発			合計			非再発			再発		
	N	80	67	13	142	100	42	N	80	67	13	142	100	42				
第1病日	RBC	(x10 ⁶ /μl)	3.5 ± 1.5	3.4 ± 1.5	3.9 ± 1.5	#	3.8 ± 1.6	3.8 ± 1.6	3.8 ± 1.5	4.2 ± 1.6								
	PCV	(%)	24.8 ± 9.0	24.5 ± 9.1	26.5 ± 8.4		25.1 ± 8.9	24.3 ± 8.9	27.1 ± 8.8									
	Hb	(g/dl)	8.4 ± 2.7	8.4 ± 3.6	8.6 ± 2.9	#	8.4 ± 3.0	8.1 ± 2.9	9.2 ± 3.0									
	PLT	(x10 ³ /μl)	45.8 ± 39.6	49.8 ± 40.7	24.5 ± 2.4		43.5 ± 28.0	43.6 ± 33.1	43.1 ± 25.6									
	CRP [†]	(mg/dl)	13.3 ± 5.2	13.0 ± 5.1	14.7 ± 5.5		13.4 ± 5.5	13.4 ± 4.8	13.2 ± 5.7									
第8病日	RBC	(x10 ⁶ /μl)	4.4 ± 1.2 *	4.4 ± 1.2	4.2 ± 1.2	#	4.7 ± 1.3	4.6 ± 1.2	4.9 ± 1.3									
	PCV	(%)	33.2 ± 7.1	33.6 ± 6.9	31.4 ± 7.6	#	32.6 ± 7.5	31.9 ± 7.5	34.1 ± 7.4									
	Hb	(g/dl)	10.4 ± 2.7	10.5 ± 2.6	10.0 ± 2.9		10.1 ± 2.7	9.9 ± 2.5	10.6 ± 2.7									
	PLT	(x10 ³ /μl)	204.1 ± 150.1	214.0 ± 157.1	153.1 ± 98.0		170.9 ± 112.5	162.9 ± 140.4	190.3 ± 98.0									
	CRP [†]	(mg/dl)	NE	NE	NE		NE	NE	NE									
第29病日	RBC	(x10 ⁶ /μl)	5.7 ± 1.6 *	5.9 ± 1.5 **	4.4 ± 1.7	#	5.2 ± 1.8	5.9 ± 1.4 **	3.4 ± 1.4									
	PCV	(%)	39.4 ± 9.6 *	41.2 ± 8.4 **	30.5 ± 10.4	#	35.6 ± 11.2	39.9 ± 10.0 **	25.3 ± 8.5									
	Hb	(g/dl)	12.6 ± 3.6	13.0 ± 3.4 **	10.0 ± 3.6	#	12.2 ± 8.8	13.6 ± 3.5 **	8.5 ± 9.9									
	PLT	(x10 ³ /μl)	234.3 ± 17.8	269.2 ± 168.5 **	56.8 ± 10.8		219.7 ± 186.5	290.0 ± 39.5 **	42.1 ± 174.7									
	CRP [†]	(mg/dl)	3.6 ± 5.0	2.0 ± 2.5 **	11.8 ± 6.5		5.6 ± 7.0	1.7 ± 5.8 **	15.5 ± 1.5									

NE: 未評価。

*: DC 群と対照群との間に有意差あり ($p < 0.05$) 。

** : 各群の再発と非再発との間に有意差あり ($p < 0.05$) 。

: DC 群と対照群の再発群に有意差あり ($p < 0.05$) 。

† : CRP 値が測定機器の限界 (20 mg/dl) を超える場合は 20 mg/dl とした。

表 2-2. 低用量ジミナゼン療法後のアジスロマイシン、ドキシサイクリン、クリンダマイシンを投与したときの犬 *B. gibsoni* 感染症再発率

被検群	1ヶ月投与群				3ヶ月投与群			
	n	非再発	再発	(%)	n	非再発	再発	(%)
アジスロマイシン	16	6	10	(63)	10	2	8	(80)
ドキシサイクリン	16	8	8	(50)	11	6	5	(46)
クリンダマイシン	56	42	14	(25)	31	26	5	(16)
<i>p</i> 値			0.01*				0.001**	

* 1ヶ月投与群における各薬剤の再発率を比較した *p* 値。

** 3ヶ月投与群における各薬剤の再発率を比較した *p* 値。

表 2 - 3. 再発例における低用量ジミナゼン療法後の各薬剤投与別平均再発日数
(平均値 ± 標準偏差)

被検群	n	1ヶ月投与群	n	3ヶ月投与群
アジスロマイシン	16	46.1 ± 13.7 日	10	85.0 ± 33.4 日 *
ドキシサイクリン	16	41.5 ± 11.5 日	11	77.8 ± 25.2 日
クリンダマイシン	56	77.6 ± 28.7 日	31	114.4 ± 16.5 日 **

* アジスロマイシン使用における1ヶ月投与群と3ヶ月投与群における有意差あり
($p < 0.01$)。

**クリンダマイシン使用における1ヶ月投与群と3ヶ月投与群における有意差あり
($p < 0.05$)。

表 2-4. 再発例における被検薬の投与期間中の再発率

薬剤	1ヶ月投与群			3ヶ月投与群		
	合計(頭)	投与期間中再発(頭)	再発率 (%)	合計(頭)	投与期間中再発(頭)	再発率 (%)
アジスロマイシン	10	1	10	8	4	50
ドキシサイクリン	8	1	13	5	3	60
クリンダマイシン	14	0	0	5	5	0

表2-5. 低用量ジミナゼン療法後の組み合わせ治療に用いた薬剤別のRBC, PCV, Hb, PLT, CRP (1ヶ月投与群)

	1ヶ月投与群																	
	アジスロマイシン群						ドキシサイクリン群						クリンダマイシン群					
	合計	非再発群	再発群	合計	非再発群	再発群	合計	非再発群	再発群	合計	非再発群	再発群	合計	非再発群	再発群			
N	16	6	10	16	8	8	8	8	8	8	8	56	42	14				
第1病日	RBC (x10 ⁶ /μd)	2.9 ± 1.4	2.4 ± 1.0	3.3 ± 1.5	2.8 ± 1.2	2.4 ± 0.5	3.3 ± 1.5	2.4 ± 0.5	3.3 ± 1.5	3.9 ± 1.8	4.1 ± 1.9	3.3 ± 1.5	4.1 ± 1.9	3.3 ± 1.5				
	PCV (%)	20.7 ± 9.7	16.7 ± 6.2	23.1 ± 10.6	20.9 ± 8.0	18.3 ± 3.8	23.5 ± 9.9	18.3 ± 3.8	23.5 ± 9.9	26.3 ± 11.0	27.6 ± 11.1	22.1 ± 9.5	27.6 ± 11.1	22.1 ± 9.5				
	Hb (g/dl)	6.9 ± 3.4	5.3 ± 1.8	7.8 ± 3.7	6.8 ± 2.7	5.8 ± 1.2	7.8 ± 3.4	5.8 ± 1.2	7.8 ± 3.4	8.8 ± 3.8	9.2 ± 3.9	7.6 ± 3.3	9.2 ± 3.9	7.6 ± 3.3				
	PLT (x10 ³ /μd)	46.9 ± 37.6	59.7 ± 39.7	39.2 ± 34.0	65.9 ± 40.7	* 70.8 ± 17.8	61.1 ± 54.3	* 70.8 ± 17.8	61.1 ± 54.3	34.3 ± 28.2	* 35.4 ± 30.8	31.1 ± 177.4	* 35.4 ± 30.8	31.1 ± 177.4				
	CRP† (mg/dl)	13.6 ± 6.1	12.4 ± 5.5	14.3 ± 6.2	16.4 ± 3.6	16.8 ± 3.2	16.0 ± 3.9	16.8 ± 3.2	16.0 ± 3.9	12.4 ± 5.8	12.4 ± 5.7	12.3 ± 6.1	12.4 ± 5.7	12.3 ± 6.1				
第8病日	RBC (x10 ⁶ /μd)	4.4 ± 1.3	3.7 ± 1.3	4.8 ± 1.1	4.0 ± 1.1	4.0 ± 0.7	4.0 ± 1.5	4.0 ± 0.7	4.0 ± 1.5	4.4 ± 1.5	4.6 ± 1.7	4.0 ± 1.1	4.6 ± 1.7	4.0 ± 1.1				
	PCV (%)	32.1 ± 8.4	26.8 ± 7.1	35.3 ± 7.6	30.9 ± 7.2	31.4 ± 5.4	30.5 ± 8.7	31.4 ± 5.4	30.5 ± 8.7	32.5 ± 8.2	33.0 ± 9.8	30.7 ± 6.2	33.0 ± 9.8	30.7 ± 6.2				
	Hb (g/dl)	10.5 ± 3.0	8.4 ± 2.5	11.8 ± 2.6	10.0 ± 2.6	9.9 ± 1.7	10.1 ± 3.3	9.9 ± 1.7	10.1 ± 3.3	10.4 ± 3.1	10.6 ± 3.6	9.7 ± 2.4	10.6 ± 3.6	9.7 ± 2.4				
	PLT (x10 ³ /μd)	297.1 ± 228.8	340.2 ± 262.8	271.2 ± 201.3	286.6 ± 169.4	327.0 ± 186.2	246.3 ± 139.4	327.0 ± 186.2	246.3 ± 139.4	217.1 ± 127.5	200.0 ± 112.4	268.6 ± 159.7	200.0 ± 112.4	268.6 ± 159.7				
	CRP† (mg/dl)	4.7 ± 6.3	6.1 ± 7.0	3.8 ± 5.6	5.5 ± 5.2	7.2 ± 6.3	3.9 ± 3.4	7.2 ± 6.3	3.9 ± 3.4	7.2 ± 5.1	6.8 ± 5.7	4.6 ± 3.4	6.8 ± 5.7	4.6 ± 3.4				
第29病日	RBC (x10 ⁶ /μd)	5.6 ± 1.7	5.2 ± 2.2	6.0 ± 1.1	5.7 ± 1.2	5.9 ± 1.4	5.5 ± 0.9	5.9 ± 1.4	5.5 ± 0.9	6.5 ± 1.3	6.7 ± 1.7	6.1 ± 0.9	6.7 ± 1.7	6.1 ± 0.9				
	PCV (%)	40.1 ± 9.9	35.8 ± 11.6	43.4 ± 6.9	41.8 ± 6.7	42.3 ± 7.4	41.3 ± 5.8	42.3 ± 7.4	41.3 ± 5.8	44.2 ± 7.4	44.6 ± 10.4	42.8 ± 4.6	44.6 ± 10.4	42.8 ± 4.6				
	Hb (g/dl)	13.6 ± 5.1	11.2 ± 4.1	15.3 ± 5.1	13.7 ± 2.6	14.0 ± 2.9	13.3 ± 2.1	14.0 ± 2.9	13.3 ± 2.1	14.8 ± 2.7	14.9 ± 3.6	14.4 ± 1.7	14.9 ± 3.6	14.4 ± 1.7				
	PLT (x10 ³ /μd)	298.6 ± 162.3	293.3 ± 137.8	302.6 ± 178.4	239.0 ± 138.3	201.9 ± 108.1	281.4 ± 155.8	201.9 ± 108.1	281.4 ± 155.8	272.2 ± 136.6	263.9 ± 130.6	301.3 ± 165.4	263.9 ± 130.6	301.3 ± 165.4				
	CRP† (mg/dl)	3.1 ± 6.5	5.8 ± 8.3	0.4 ± 0.5	3.1 ± 6.2	3.6 ± 7.4	2.2 ± 2.1	3.6 ± 7.4	2.2 ± 2.1	2.6 ± 5.1	2.8 ± 5.1	0.1 ± 0.0	2.8 ± 5.1	0.1 ± 0.0				
再発日	RBC (x10 ⁶ /μd)	NE	NE	3.9 ± 1.2	NE	NE	3.2 ± 1.4	NE	3.2 ± 1.4	NE	NE	4.1 ± 0.7	NE	4.1 ± 0.7				
	PCV (%)	NE	NE	28.8 ± 8.4	NE	NE	23.6 ± 8.3	NE	23.6 ± 8.3	NE	NE	29.7 ± 5.0	NE	29.7 ± 5.0				
	Hb (g/dl)	NE	NE	9.2 ± 2.5	NE	NE	7.7 ± 3.3	NE	7.7 ± 3.3	NE	NE	9.5 ± 1.5	NE	9.5 ± 1.5				
	PLT (x10 ³ /μd)	NE	NE	30.9 ± 23.0	NE	NE	33.1 ± 47.5	NE	33.1 ± 47.5	NE	NE	46.1 ± 51.3	NE	46.1 ± 51.3				
	CRP† (mg/dl)	NE	NE	7.3 ± 0.6	NE	NE	7.1 ± 0.4	NE	7.1 ± 0.4	NE	NE	7.5 ± 0.6	NE	7.5 ± 0.6				

* : ドキシサイクリン群とクリンダマイシン群に有意差あり (p < 0.05)。

† : CRP 値が測定機器の限界 (20 mg/dl) を超える場合は 20 mg/dl とした。

表2-6. 低用量ジミナゼン療法後の組み合わせ治療に用いた薬剤別のRBC, PCV, Hb, PLT, CRP (3ヶ月投与群)

N	3ヶ月投与群						クリンダマイシン群											
	アジスロマイシン群			ドキシサイクリン群			再発群			非再発群			再発群			非再発群		
	合計	非再発群	再発群	合計	非再発群	再発群	合計	非再発群	再発群	合計	非再発群	再発群	合計	非再発群	再発群			
第1病日	10	2	8	11	6	5	31	26	5	5	5	31	26	5	5			
RBC (x10 ⁹ /μl)	3.7 ± 1.2	3.7 ± 1.8	3.7 ± 1.0	4.2 ± 1.6	3.9 ± 1.8	4.6 ± 1.1	3.1 ± 1.4	3.2 ± 1.5	4.6 ± 1.1	3.1 ± 1.4	3.2 ± 1.5	3.1 ± 1.4	3.2 ± 1.5	4.6 ± 1.1	3.7 ± 1.2			
PCV (%)	25.9 ± 8.0	26.5 ± 11.5	25.8 ± 6.8	28.9 ± 9.1	27.3 ± 10.6	30.8 ± 6.6	22.2 ± 9.5	23.3 ± 9.8	30.8 ± 6.6	22.2 ± 9.5	23.3 ± 9.8	22.2 ± 9.5	23.3 ± 9.8	30.8 ± 6.6	25.9 ± 8.0			
Hb (g/dl)	8.6 ± 2.8	8.9 ± 4.6	8.6 ± 2.2	9.9 ± 3.4	9.1 ± 3.9	10.8 ± 2.3	7.3 ± 3.3	7.6 ± 3.4	10.8 ± 2.3	7.3 ± 3.3	7.6 ± 3.4	7.3 ± 3.3	7.6 ± 3.4	10.8 ± 2.3	8.6 ± 2.8			
PLT (x10 ⁹ /μl)	23.8 ± 16.4	45.5 ± 14.5	18.4 ± 11.6	29.7 ± 13.3	30.2 ± 14.3	29.2 ± 12.0	34.8 ± 32.8	36.1 ± 32.0	29.2 ± 12.0	34.8 ± 32.8	36.1 ± 32.0	34.8 ± 32.8	36.1 ± 32.0	29.2 ± 12.0	23.8 ± 16.4			
CRP† (mg/dl)	16.2 ± 3.9	9.9 ± 2.1	17.8 ± 2.3	16.1 ± 4.9	13.6 ± 5.6	18.6 ± 2.0	14.1 ± 6.6	14.2 ± 6.5	18.6 ± 2.0	14.1 ± 6.6	14.2 ± 6.5	14.1 ± 6.6	14.2 ± 6.5	18.6 ± 2.0	16.2 ± 3.9			
第8病日	4.2 ± 1.1	2.7 ± 0.9	4.5 ± 0.9	5.2 ± 1.7	4.0 ± 1.3	6.7 ± 0.6	3.7 ± 1.3	3.7 ± 1.3	6.7 ± 0.6	3.7 ± 1.3	3.7 ± 1.3	3.7 ± 1.3	3.7 ± 1.3	6.7 ± 0.6	4.2 ± 1.1			
RBC (x10 ⁹ /μl)	31.1 ± 8.0	23.5 ± 6.5	33.0 ± 7.2	38.9 ± 9.9	32.5 ± 8.7	46.6 ± 4.2	28.9 ± 8.6	29.2 ± 8.5	46.6 ± 4.2	28.9 ± 8.6	29.2 ± 8.5	28.9 ± 8.6	29.2 ± 8.5	46.6 ± 4.2	31.1 ± 8.0			
PCV (%)	10.2 ± 2.8	6.7 ± 2.1	11.2 ± 2.1	13.0 ± 3.9	10.6 ± 3.6	15.9 ± 1.3	9.0 ± 2.9	9.1 ± 2.8	15.9 ± 1.3	9.0 ± 2.9	9.1 ± 2.8	9.0 ± 2.9	9.1 ± 2.8	15.9 ± 1.3	10.2 ± 2.8			
Hb (g/dl)	186.3 ± 152.1	162.5 ± 139.5	192.3 ± 154.5	231.3 ± 119.6	249.2 ± 152.5	209.8 ± 52.1	242.9 ± 181.3	235.7 ± 165.0	209.8 ± 52.1	242.9 ± 181.3	235.7 ± 165.0	242.9 ± 181.3	235.7 ± 165.0	209.8 ± 52.1	186.3 ± 152.1			
PLT (x10 ⁹ /μl)	6.8 ± 5.4	8.4 ± 4.6	6.4 ± 5.5	4.6 ± 6.2	5.0 ± 4.2	4.0 ± 8.0	9.0 ± 6.8	9.5 ± 7.4	4.0 ± 8.0	9.0 ± 6.8	9.5 ± 7.4	9.0 ± 6.8	9.5 ± 7.4	4.0 ± 8.0	6.8 ± 5.4			
CRP† (mg/dl)	5.9 ± 1.1	4.9 ± 0.8	6.2 ± 1.0	6.5 ± 0.5	6.4 ± 0.4	6.7 ± 0.6	6.2 ± 1.5	6.3 ± 1.4	6.7 ± 0.6	6.2 ± 1.5	6.3 ± 1.4	6.2 ± 1.5	6.3 ± 1.4	6.7 ± 0.6	5.9 ± 1.1			
第29病日	4.3 ± 5.4	0.7 ± 0.0	6.2 ± 5.8	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.2	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.2	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.2	0.1 ± 0.0	4.3 ± 5.4			
RBC (x10 ⁹ /μl)	5.9 ± 1.8	5.6 ± 1.9	6.0 ± 1.8	6.8 ± 1.7	7.0 ± 1.8	6.3 ± 9.2	7.0 ± 1.8	7.2 ± 1.8	6.3 ± 9.2	7.0 ± 1.8	7.2 ± 1.8	7.0 ± 1.8	7.2 ± 1.8	6.3 ± 9.2	5.9 ± 1.8			
PCV (%)	41.5 ± 9.3	39.5 ± 10.5	42.5 ± 8.5	46.6 ± 9.5	48.5 ± 9.5	41.0 ± 7.0	45.6 ± 10.5	46.8 ± 10.7	41.0 ± 7.0	45.6 ± 10.5	46.8 ± 10.7	45.6 ± 10.5	46.8 ± 10.7	41.0 ± 7.0	41.5 ± 9.3			
Hb (g/dl)	13.8 ± 3.4	13.2 ± 3.5	14.2 ± 3.4	15.8 ± 4.0	16.3 ± 4.2	14.1 ± 2.7	15.6 ± 3.8	16.1 ± 3.8	14.1 ± 2.7	15.6 ± 3.8	16.1 ± 3.8	15.6 ± 3.8	16.1 ± 3.8	14.1 ± 2.7	13.8 ± 3.4			
PLT (x10 ⁹ /μl)	222.3 ± 59.2	270.0 ± 0.0	198.5 ± 59.6	223.1 ± 132.7	267.8 ± 124.4	89.0 ± 3.0	270.8 ± 149.7	274.6 ± 130.9	89.0 ± 3.0	270.8 ± 149.7	274.6 ± 130.9	270.8 ± 149.7	274.6 ± 130.9	89.0 ± 3.0	222.3 ± 59.2			
CRP† (mg/dl)	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE			
再発日	5.9 ± 1.8	5.6 ± 1.9	6.0 ± 1.8	6.8 ± 1.7	7.0 ± 1.8	6.3 ± 9.2	7.0 ± 1.8	7.2 ± 1.8	6.3 ± 9.2	7.0 ± 1.8	7.2 ± 1.8	7.0 ± 1.8	7.2 ± 1.8	6.3 ± 9.2	5.9 ± 1.8			
RBC (x10 ⁹ /μl)	41.5 ± 9.3	39.5 ± 10.5	42.5 ± 8.5	46.6 ± 9.5	48.5 ± 9.5	41.0 ± 7.0	45.6 ± 10.5	46.8 ± 10.7	41.0 ± 7.0	45.6 ± 10.5	46.8 ± 10.7	45.6 ± 10.5	46.8 ± 10.7	41.0 ± 7.0	41.5 ± 9.3			
PCV (%)	13.8 ± 3.4	13.2 ± 3.5	14.2 ± 3.4	15.8 ± 4.0	16.3 ± 4.2	14.1 ± 2.7	15.6 ± 3.8	16.1 ± 3.8	14.1 ± 2.7	15.6 ± 3.8	16.1 ± 3.8	15.6 ± 3.8	16.1 ± 3.8	14.1 ± 2.7	13.8 ± 3.4			
Hb (g/dl)	222.3 ± 59.2	270.0 ± 0.0	198.5 ± 59.6	223.1 ± 132.7	267.8 ± 124.4	89.0 ± 3.0	270.8 ± 149.7	274.6 ± 130.9	89.0 ± 3.0	270.8 ± 149.7	274.6 ± 130.9	270.8 ± 149.7	274.6 ± 130.9	89.0 ± 3.0	222.3 ± 59.2			
PLT (x10 ⁹ /μl)	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE			
CRP† (mg/dl)	5.2 ± 1.3	35.4 ± 8.2	11.8 ± 3.0	31.1 ± 30.2	7.5 ± 0.7	7.0 ± 0.8	3.6 ± 1.6	23 ± 7.6	5.2 ± 1.3	3.6 ± 1.6	23 ± 7.6	3.6 ± 1.6	23 ± 7.6	5.2 ± 1.3	5.2 ± 1.3			

* : 全体値におけるクリンダマイシン群とドキシサイクリン群に有意差あり (p<0.05)。

** : 再発群におけるドキシサイクリン群が他2剤と有意差あり (p<0.05)。

† : CRP 値が測定機器の限界 (20 mg/dl) を超える場合は20 mg/dlとした。

第3章 犬 *B. gibsoni* 感染症流行地における犬の *B. gibsoni* 不顕性感染状況

1. 緒言

日本の犬 *B. gibsoni* 感染症は西日本を中心に分布しているが、山口県は流行地のひとつであり、古くから多くの発生例が報告されている[26, 46, 52]。一方、本症には不顕性感染があることも知られおり、犬バベシア症発症歴がない临床上健康な犬の末梢血液からも、高感度な PCR 法を用いた遺伝子検査により、原虫が検出されている[6, 14, 64]。

第1章および第2章では犬 *B. gibsoni* 感染症の治療および再発防止について検討した。犬 *B. gibsoni* 感染症では、一度 *B. gibsoni* に感染した犬は不顕性キャリアになるといわれている[10, 59]。不顕性感染犬は、脾臓摘出後や免疫抑制状態下で自らがバベシア症を発症するリスクを有するだけでなく[64, 34]、未感染犬に対する感染リスクを増加させる要素になる。このため、流行地の獣医師にとっては、地域の *B. gibsoni* の不顕性感染状況は、临床上重要な関心事項である。

犬の *B. gibsoni* の不顕性感染状況については、これまで末梢血からの PCR による原虫検出により判定されてきた[43, 64]。しかし、いったん犬が *B. gibsoni* に感染すると終生感染状態となり、臨床的には不顕性感染と同等と考えられる[13]。すなわち、*B. gibsoni* 感染例のある犬では、末梢血の原虫量が PCR の検出限界以下の場合であっても、*B. gibsoni* が体内に残っている可能性を考慮する必要がある。また、外出やマダニ予防などの感染のリスクファクターや *B. gibsoni* 不顕性感染が犬の血液性状に及ぼす影響については十分に解明されていない[43]。

そこで本研究では犬 *B. gibsoni* 感染症の流行地である山口県の一動物病院において、临床上健康な犬の *B. gibsoni* 不顕性感染状況を、既往歴を含めて調査した。さらに、外出やマダニ予防が *B. gibsoni* 感染にどのような影響を及ぼすか解析するとともに、临床上健康な *B. gibsoni* 感染犬と非感染犬の血液性状を比較した。

2. 材料および方法

2-1. データの収集

調査は山口県周南市の一動物病院において、2013年4月1日から6月30日までの3ヵ月間、犬糸状虫の感染予防薬の処方を目的に来院した临床上健康な1歳以上の犬500頭を対象とした。「临床上健康」とは、受診1年以内に重大な全身性疾患による治療歴がなく、かつ受診時に一般状態の低下や及び身体検査に異常を示さないことと定義した。なお、全ての対象犬の飼い主に対しては、本研究の趣旨を説明し同意を得た。

対象犬では、性別、年齢、品種、犬 *B. gibsoni* 感染症既往歴について、診療記録を確認するとともに、外出の有無及びマダニ予防の頻度について飼い主から聞き取りを行った。外出は、室内及び自宅敷地内のみを散歩する犬を「外出なし」とし、それ以外を「外出あり」とした。マダニ予防薬は全てフィプロニル製剤（フロントラインプラス：メリアル・ジャパン株式会社（現ベーリンガーインゲルハイムジャパン株式会社）、東京）を用いて、頸部背側皮下に塗布した。マダニ予防の頻度については、前年4月から11月まで毎月マダニ予防を行った個体を「完全予防」、投与歴が全くない、あるいは4月から11月の間に予防を実施しなかった時期のある個体を「不完全予防」とした。

2-2. *B. gibsoni* の検出

末梢血からの虫体の検出は猪熊らの方法[24, 25]により実施した。対象犬の末梢血は、抗凝固剤として EDTA を用いて採取し、DNA 抽出まで -20°C に保管した。2014年4月から9月に、市販の DNA 抽出キット (QIAamp DNA mini kit, QIAGEN 社、ドイツ) を用いて末梢血から DNA を抽出し、PCR 検査までマイナス 20°C に保存した。その後、2014年10月以降、種特異的 PCR により、末梢血由来 DNA から *B. gibsoni* を検出した。

2-3. 血液検査

対象犬 500 頭中、十分な末梢血液が採取できた 407 頭について血液検査を実施した。血液検査は自動血球計算機 (Celltac- α : 日本光電株式会社, 東京) を用いて RBC, PCV, Hb 及び PLT を算出した。

2-4. 統計処理

全ての統計解析は Microsoft Excel ソフトウェア (XLSTAT; Addinsoft, New York, USA) を用いて実施した。年齢及び血液性状の平均値の差については One-Way ANOVA[19]により有意差を検定した後、群により差がある場合にはボンフェローニ補正のマンホイットニー-U 検定[20]により多重比較した。その他の項目の検定は Fisher の正確確率検定を用いて解析を行った。有意水準は 5%とした。なお、品種別解析では 10 頭以上が含まれる品種[19]のみについて解析を行った。

3. 結果

犬糸状虫症予防のために来院した临床上健康な犬 500 頭のうち、38 頭 (7.8%) が PCR 検査により *B. gibsoni* 陽性を示し (不顕性感染群)、このうち 21 頭が犬 *B. gibsoni* 感染症既往歴を有していた。PCR 陰性の 462 頭のうち犬 *B. gibsoni* 感染症既往歴がある個体が 32 頭 (PCR 陰性・既往歴あり群)、既往歴のない個体が 430 頭 (PCR 陰性・既往歴なし群) であった (表 3-1)。これら 3 群間で性別、年齢、品種、外出の有無を比較したところ (表 3-1)、雌雄及び品種の割合に有意差は認められなかった。一方、PCR 陰性・既往歴なし群の平均年齢 7.4 歳は *B. gibsoni* 不顕性感染犬の平均年齢 9.2 歳と、PCR 陰性・既往歴あり群の平均年齢 10.6 歳より有意に低かった (それぞれ $p < 0.01$, $p < 0.01$)。不顕性感染群、PCR 陰性・既往歴あり群、及び PCR 陰性・既往歴なし群において、それぞれ 37 頭 (97.4%)、26 頭 (81.3%) 及び 259 頭 (60.2%) が外出ありと回答し、不顕性感染群及び PCR 陰性・既往歴あり群では、PCR 陰性既往歴なし群に比べて外出する個体の割合が有意に高かった (それぞれ $p < 0.01$, $p < 0.01$)。

B. gibsoni 感染症既往歴がない 447 頭のうち、外出ありと回答した 275 頭につい

て、PCR 陽性群（16 頭）と陰性群（259 頭）に分類した。各群におけるマダニ予防実施状況を比較したところ、PCR 陽性群において完全なマダニ予防が実施されていた犬の割合は 6.3%で、PCR 陰性群の 44.8 %に比べて有意に低かった($p < 0.01$) (表 3 - 2)。

次に、血液検査の実施が可能であった 407 頭のうち、*B. gibsoni* 不顕性感染群 36 頭と PCR 陰性・既往歴あり群 32 頭、及び PCR 陰性・既往歴なし群 339 頭の血液性状を比較したところ、不顕性感染群の RBC, PCV, Hb 及び PLT はいずれも PCR 陰性・既往歴なし群に比べて有意に低値を示した(それぞれ $p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.05$) (表 3 - 3)。また、不顕性感染群と PCR 陰性・既往歴あり群を比較したところ、RBC と PCV に差はみられなかったが、Hb と PLT は不顕性感染群で有意に低値を示した(それぞれ $p < 0.01$, $p < 0.05$)。さらに、PCR 陰性犬について既往歴の有無により比較したところ、既往歴あり群の RBC, PCV, Hb は既往歴なし群に比較して有意に低値を示した(それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.05$) (表 3 - 3)。

4. 考察

今回の調査は犬 *B. gibsoni* 感染症流行地である山口県周南市において、*B. gibsoni* 不顕性感染状況を調査したものである。調査対象の動物病院では、犬 *B. gibsoni* 感染症の年間診療頭数は 25.4 頭であり、全国平均 0.537 頭の 47 倍となっている [26]。

今回の調査結果から、山口県周南市の一動物病院にフィラリア予防のため来院した临床上健康な犬の 7.6%が *B. gibsoni* に不顕性感染していたことが示された。同じく犬 *B. gibsoni* 感染症流行地である兵庫県洲本市において実施された同様の PCR 法を用いた調査と比べると、洲本市の *B. gibsoni* 不顕性感染率は 1.9%であり [64]、周南市の不顕性感染率の方が高く、地域差があることが明らかとなった。地域差の原因としては、マダニの *B. gibsoni* 保有率や生息密度の違いが関与することが考えられるが、今回の調査では不明であった。不顕性感染犬では、免疫抑制剤の使用や脾臓摘出など医源性に症状が顕性化することがあることを考慮すると [43, 64]。犬 *B. gibsoni* 感染症流行地の臨床獣医師は临床上健康な犬の中に *B. gibsoni*

不顕性感染が相当な割合で存在することに留意するべきと思われた。

今回検査に用いた PCR の感度は末梢血 1 μ l あたり 10 個の感染赤血球を検出できる [24, 25]。つまり、感染赤血球数が 10 個 / μ l 未満であれば検出できない系である。*B. gibsoni* 感染犬は終生感染状態が継続すると考えられており [13]、PCR 陰性結果は必ずしも感染を否定するものではない。このため、本研究では *B. gibsoni* 感染症の不顕性感染を把握するために、PCR に加えて既往歴も考慮し、PCR 陰性・既往歴のある群を不顕性感染群と別の群と区別して検討を行った。ただし、*B. gibsoni* 感染があっても、臨床症状の発現がなく、既往歴なしと判断された個体で、末梢血の *B. gibsoni* が PCR 検出感度以下の場合もありうるため、PCR 陰性で既往歴がない群の中にも感染犬が存在する可能性が完全には否定できない。これらの問題点を解消するための方法として抗体検査が考えられる。*B. gibsoni* 感染後に検出される抗 *B. gibsoni* 抗体は、感染をうけた犬がキャリアとなって原虫が潜伏すると、その抗原刺激により長期間持続するとされている [15,17,63]。今後、不顕性感染の判断には、PCR と既往歴のみならず、抗体検査も組み合わせた方法を考慮することでより精度が増すと思われた。

B. gibsoni 感染状況に雌雄及び品種による影響はみられなかったが、不顕性感染犬及び PCR 陰性で既往歴のある犬の平均年齢は高い傾向にあった。一度感染した *B. gibsoni* は、生体から完全に排除されにくく、潜伏感染が続くといわれており [10, 59]、犬 *B. gibsoni* 感染症流行地では、長生きをするほどマダニ寄生による *B. gibsoni* 感染機会が増加するためと思われた。

また、*B. gibsoni* 不顕性感染犬群では、PCR 陰性・既往歴あり群と PCR 陰性・既往歴なし群に比べて外出する犬の割合が有意に高かった。犬 *B. gibsoni* 感染症の主な感染経路はフタトゲチマダニなどのマダニ刺咬であり [7, 11]、外出する犬ではマダニに刺咬される機会が高まることが原因と考えられた。なお、「外出なし」の犬にも *B. gibsoni* 感染が認められているが、これは「外出なし」と回答された場合でも、自宅敷地内の庭や畑でのマダニ刺咬リスクが完全には排除されないことを示唆すると考えられた。

B. gibsoni 感染症既往歴がなく、外出する犬 275 頭において、PCR 結果とマダニ予防の関連を調べたところ、不顕性感染犬においては前年度の春から秋にかけて毎月きちんとマダニ予防薬を投与されている犬の割合は、PCR 陰性群に比べて有意に少なかった。春から秋にかけての定期的なマダニ予防は *B. gibsoni* 感染予防に有効であると考えられた。なお、*B. gibsoni* 感染症既往歴のある個体の飼い主は、感染症発症後にマダニ予防に対する意識が変化した可能性があるため、今回の調査では、マダニ予防に関する解析から除外した。

B. gibsoni 不顕性感染群では PCR 陰性・既往歴なし群に比べて RBC, PCV, Hb 及び PLT が低かった。いずれの平均値も異常を示すものではないが、基準値以下の値を示す個体もいることから、*B. gibsoni* 不顕性感染を貧血及び血小板減少症のリスク要因として認識する必要があると思われる。また、PCR 陰性であっても既往歴のある群では RBC, PCV 及び Hb が PCR 陰性・既往歴なし群よりも低値を示していた。感染した *B. gibsoni* は犬の体内から完全に排除することは困難であると考えられている[34, 59]。よって犬 *B. gibsoni* 感染症の既往歴のある個体については不顕性感染犬と同様に、*B. gibsoni* が体内に残っている可能性と発症リスクを考慮する必要があると思われた。

今回の調査結果から、*B. gibsoni* 感染症流行地においては、RBC などが基準値内であっても低値を示す個体については、外出及びマダニ予防の状況を考慮して *B. gibsoni* 不顕性感染リスクを考慮すべきと思われた。さらに、流行地において散歩で敷地外に出かける飼育形態の犬では *B. gibsoni* 感染リスクが常にあるため、毎年春から秋まで毎月 1 回のマダニ予防をきちんと行うことが感染予防のために重要であると考えられた。

5. 小括

犬 *B. gibsoni* 感染症流行地である山口県周南市の一動物病院において *B. gibsoni* 不顕性感染状況を調査した。今回の調査結果では臨床上健康な犬 500 頭の *B. gibsoni* 特異的 PCR 陽性は 38 頭 (7.6 %) であり、これらが *B. gibsoni* に不顕性感染していたことが示された。これは兵庫県洲本市の報告よりも高く、不顕性感染率には地域差があることが明らかになった。不顕性感染犬の平均年齢は 9.2 歳で、PCR 陰性・犬 *B. gibsoni* 感染症既往歴のない犬の 7.4 歳 に比べて高かった。不顕性感染犬では 97.4 % と PCR 陰性群に比べて外出する犬の割合が高かった。外出する犬で犬 *B. gibsoni* 感染症既往歴のない 275 頭のうち、PCR 結果とマダニ予防の関連を調べたところ、前年度春から秋にかけてマダニ予防薬を毎月使用した犬の割合は、不顕性感染 16 頭では 6.3 %、非感染犬 259 頭では 44.8 % に比べて有意に低かった。よって春から秋までの定期的なマダニ予防は犬 *B. gibsoni* 感染症の予防として有効であると考えられた。また血液性状を調査した結果では、不顕性感染犬の RBC, PCV, Hb, PLT は非感染犬より低値を示していた。

今回の調査では、犬 *B. gibsoni* 感染症の不顕性感染は流行地では相当数が存在し、地域差があることが確認できた。そして外出とマダニ予防不徹底は *B. gibsoni* 感染リスクを高めていると考えられた。また *B. gibsoni* 不顕性感染と既往歴を貧血および血小板減少症のリスク要因として認識する必要があると思われ、*B. gibsoni* の不顕性感染と既往歴は犬の血液性状に影響を及ぼしていることがわかった。

結論として、犬 *B. gibsoni* 感染症の不顕性感染状況と既往歴のある個体を把握することは、顕性化による再発や未感染犬への感染リスクを察知し、対策に取り組むことに役立つため、犬 *B. gibsoni* 感染症の予防には非常に重要である。

表3 - 1. 臨床上新健康な犬 500 頭の *B. gibsoni* 感染症不顕性感染状況

全体頭数	不顕性感染群 (PCR 陽性)		PCR 陰性 <i>B. gibsoni</i> 感染 症既往歴あり群		PCR 陰性 <i>B. gibsoni</i> 感染 症既往歴なし群		計	有意性 ^{a)}
	38	32	430	500				
性別	21 (55.3%)	22 (68.8%)	233 (54.2%)	277				
(頭数(%))	17 (44.7%)	10 (31.2%)	197 (45.8%)	223				
年齢 [*]	9.2 ± 3.9	10.6 ± 2.7	7.4 ± 3.8	-				
(歳)				<i>p</i> < 0.01 [#]				
品種	3 (7.9%)	4 (12.5%)	93 (21.6%)	100				
(頭数(%))	2 (5.3%)	2 (6.3%)	55 (12.8%)	59				
トイプードル	1 (2.6%)	1 (3.1%)	51 (11.9%)	53				
チワワ	3 (7.9%)	1 (3.1%)	34 (7.9%)	38				
柴	2 (5.3%)	3 (9.4%)	24 (5.6%)	29				
シーズー	1 (2.6%)	1 (3.1%)	12 (2.8%)	14				
ラブラドル・レトリバー	3 (7.9%)	3 (9.4%)	6 (1.4%)	12				
ウェルシュコーギー	0 (0.0%)	1 (3.1%)	11 (2.6%)	12				
ヨークシャテリア	0 (0.0%)	1 (3.1%)	11 (2.6%)	12				
ビーグル	0 (0.0%)	1 (3.1%)	9 (2.1%)	10				
ポメラニアン	0 (0.0%)	2 (6.3%)	8 (1.9%)	10				
パピヨン	22 (57.9%)	1 (3.1%)	50 (11.6%)	73				
雑種	1 (2.6%)	11 (34.3%)	66 (15.3%)	78				
その他	37 (97.4%)	26 (81.3%)	259 (60.2%)	322				
外出	1 (2.6%)	6 (18.8%)	171 (39.8%)	178				
(頭数(%))				<i>p</i> < 0.01 [#]				

*: 平均値 ± 標準偏差 ** : 有意差なし

a) : 不顕性感染群、PCR 陰性 *B. gibsoni* 感染症既往歴あり群、PCR 陰性 *B. gibsoni* 感染症既往歴なし群の 3 群間で Fisher の正確確率検定により有意差を検定した。

b) : 不顕性感染群、PCR 陰性 *B. gibsoni* 感染症既往歴あり群、PCR 陰性 *B. gibsoni* 感染症既往歴なし群の 3 群間で One-Way ANOVA により有意差を検定。群により差がある場合にはボンフェローニ補正のマンホイットニー-U 検定により多重比較した。

: PCR 陰性 *B. gibsoni* 感染症既往歴なし群と不顕性感染群、PCR 陰性 *B. gibsoni* 感染症既往歴あり群との間に有意差あり。

表 3 - 2. *B. gibsoni* 感染症既往歴のない犬における「外出あり」と回答した PCR 陽性群と陰性群におけるマダニ予防実施状況

	PCR 陽性群		PCR 陰性群		計	有意性
全体頭数	16		259		275*	
完全予防群	1	(6.3 %)	116	(44.8 %)	117	$p < 0.01^{\text{a)}}$ **
不完全予防群	15	(93.7 %)	143	(55.2 %)	158	

a) : PCR 陽性群と陰性群において Fisher の正確確率検定により有意差を検定した。

* : *B. gibsoni* 感染症既往歴のない犬 447 頭のうち、外出ありと回答した 275 頭を対象とする。

** : 完全予防群における PCR 陽性群と PCR 陰性群との有意差を示す。

表3-3. *B. gibsoni* 不顕性感染の有無による血液性状の比較 (± 標準偏差)

	PCR 陽性	PCR 陰性 <i>B. gibsoni</i> 感染症既往歴あり群	PCR 陰性 <i>B. gibsoni</i> 感染症既往歴なし群	有意性*
頭数	36	32	339	
RBC (x 10 ⁶ /μl)	6.3 ± 1.2	6.6 ± 1.2	7.1 ± 1.1	a, b
PCV (%)	42.0 ± 7.5	45.1 ± 8.4	48.2 ± 6.7	a, b
Hb (g/dl)	13.9 ± 2.7	15.5 ± 2.8	16.7 ± 2.5	a, b, c
PLT (x 10 ³ /μl)	205.1 ± 127.0	304.2 ± 168.7	341.4 ± 139.3	a, c

数値：平均値 ± 標準偏差 を示す。

a：PCR 陽性群と PCR 陰性 *B. gibsoni* 感染症既往歴なし群に有意差あり。

b：PCR 陰性 *B. gibsoni* 感染症既往歴あり群と *B. gibsoni* 感染症既往歴なし群に有意差あり。

c：PCR 陽性群と PCR 陰性 *B. gibsoni* 感染症既往歴あり群に有意差あり。

*：不顕性感染群、PCR 陰性 *B. gibsoni* 感染症既往歴あり群、PCR 陰性 *B. gibsoni* 感染症既往歴なし群の3群間で One-Way ANOVA により有意差を検定。群により差がある場合にはボンフェローニ補正のマンホイットニーU検定により多重比較した。

総 括

犬バベシア症は世界中で発生がみられるが、日本ではそのほとんどが犬 *Babesia gibsoni* 感染症である。犬 *B. gibsoni* 感染症では *B. gibsoni* が赤血球への侵入と増殖を繰り返し、宿主は溶血性貧血を中心とした臨床症状を呈する。犬 *B. gibsoni* 感染症の治療薬としては、日本ではジミナゼンが古くから使用されており、流行地を中心に低用量ジミナゼン療法として普及しているものの、その有効性や副作用については体系的に検討されていない。また、本疾患には根治的治療薬がないため再発が多く、再発予防としてクリンダマイシンを組み合わせる方法が日本ではよく試みられているが、その効果も体系的に評価されていない。さらに罹患犬は不顕性キャリアとなることが知られており、犬 *B. gibsoni* 感染症の予防において、不顕性感染状況の把握は特に流行地では臨床上重要な関心事項であるが、不顕性感染状況は詳細に調べられていない。そこで、日本における犬 *B. gibsoni* 感染症の治療および予防に関する不明な部分を明らかにする目的で本研究を行った。

第 1 章では、犬 *B. gibsoni* 感染症における低用量ジミナゼン療法を評価するために、まず流行地での犬 *B. gibsoni* 感染症の臨床情報を解析した。その結果、初診時には元気食欲の低下は高頻度だが、発熱は半数ほどであり、嘔吐下痢や体制痛も低頻度に認められた。臨床病理所見では貧血、血小板減少症、ビリルビン尿は非常に高い頻度であったが、黄疸や血管内容血は一般的でなかった。次に、低用量ジミナゼン 3 回投与における効果を検証したところ、赤血球系パラメーターは第 3 病日に一旦低下して第 8 病日には回復し、治療開始から回復には 4 日前後必要であることが示された。一方で PLT は経日的に上昇しており、PLT の増加が効果予測として利用できる可能性が示された。RBC により貧血を重症度別に 4 群にわけた調査では、第 8 病日までの間に、非貧血群では一旦 RBC が低下するが重度貧血群では経日毎に上昇し、低用量ジミナゼン療法では貧血の重症度に応じて回復に違いがあることが示された。本治療の副作用は 3.7 % に注射部位の硬結や疼痛がみられたが、神経

症状は全く認められなかった。242 例中 222 例が第 8 病日までに回復を示し、回復率は 91.7 %であり、これまでの治療法と同様に高い回復率を示した。結論として流行地での犬 *B. gibsoni* 感染症における低用量ジミナゼン療法は安全で治療効果が高く、有効な方法であった。

次に第 2 章では、低用量ジミナゼン療法後のクリンダマイシン投与の再発予防効果を検討した。その結果、第 29 病日までのクリンダマイシン投与群の再発率は対照群と比較して有意に再発率が低下した。再発時の貧血は対照群より軽度であった。またクリンダマイシン投与中には重大な副作用は認められなかった。

またアジスロマイシンとドキシサイクリンの再発予防効果をクリンダマイシンと比較し、さらに投与期間延長による効果の影響を調査した。アジスロマイシンは、3 ヶ月に延長すると再発日数の延長はあるが再発率は一番高く、再発抑制効果は乏しいと思われた。ドキシサイクリンは投与期間を延長しても再発率の高さや平均再発日数に変動はなく、1 ヶ月以上の投与期間は効果的でないと思われた。クリンダマイシンは 1 ヶ月投与時の比較では他の 2 剤より有意に再発率が低く、抑制効果が十分に認められた。また投与期間を 3 ヶ月に延長すると再発率の低減に有効であった。

以上より、低用量ジミナゼン療法後のクリンダマイシン投与は犬 *B. gibsoni* 感染症の再発抑制に有効かつ安全な方法であることがわかった。またクリンダマイシンはアジスロマイシンやドキシサイクリンに比較して犬 *B. gibsoni* 感染症の再発予防効果に優れ、投与期間を延長すれば、より効果的であることが示された。

さらに第 3 章では犬 *B. gibsoni* 感染症流行地である山口県の一動物病院において、临床上健康な犬の *B. gibsoni* 不顕性感染状況を調査した。不顕性感染は *B. gibsoni* 特異的 PCR 陽性 38 頭 (7.6 %) であり流行地では相当数が存在することが確認できた。不顕性感染犬の平均年齢 (9.2 歳) は、PCR 陰性・犬 *B. gibsoni* 感染症既往歴なし犬 (7.4 歳) に比べて高く、外出する犬の割合が高かった (97.4 %)。外出する犬で犬 *B. gibsoni* 感染症既往歴がなく、前年度マダニ予防薬を毎月使用した犬の

割合は、不顕性感染 16 頭では 6.3 %、非感染犬 259 頭では 44, 8 %であり、外出とマダニ予防不徹底は *B. gibsoni* 感染リスクを高めていると考えられた。また血液性状を調査した結果、不顕性感染犬および既往歴のある犬の RBC, PCV, Hb, PLT は非感染犬より低値を示し、*B. gibsoni* 不顕性感染と既往歴を貧血および血小板減少症のリスク要因として認識する必要があると思われた。よって犬 *B. gibsoni* 感染症は臨床症状がなく不顕性感染や既往歴がある場合には、犬の健康状態に影響を及ぼしていることがわかった。

以上、本研究において、犬 *B. gibsoni* 感染症の治療法として普及している低用量ジミナゼン療法は、十分な治療効果と安全性を有することが確認された。また、再発予防として低用量ジミナゼン療法後のクリンダマイシン 3 ヶ月投与の組み合わせ治療が、犬 *B. gibsoni* 感染症に有効性が高い治療法であることが明らかにされた。さらに発症予防の疫学的な解明として、流行地である山口県周南市の健康な犬に、PCR を用いた不顕性感染状況の調査では、*B. gibsoni* 不顕性感染は 7.6%であることが明らかになり、その感染リスクに高齢、外出、マダニ予防なしが挙げられた。また不顕性感染犬と既往歴を持つ犬は貧血や血小板減少症の傾向が示され、健康状態に影響を及ぼすことが明らかとなった。

今後、犬 *B. gibsoni* 感染症の治療に関する研究では、根治的治療法の開発を期待するが、それが困難であるならば、さらに有効性を向上させた治療法の確立が望まれる。また発症には、急性感染や再発、不顕性の顕性化など様々なパターンがあり、発症要因によっては治療が難治なことがある。これらの発症別の治療動向と治療指針の確立は今後の研究課題である。発症予防に関する研究では、疫学的検討を含めた解明が必要であるが、その一つとして、不顕性感染を地域レベルでホットスポットなどをマダニの *B. gibsoni* 保有状況と同時に調査して、リスク要因の詳細な解析が必要だと思われる。

謝 辞

本研究を終えるにあたり、社会人大学院生として研究室に迎え入れて頂き、本研究のとりまとめや、獣医学における科学的な考え方に関する貴重なご助言など終始懇切なるご指導を賜りました帯広畜産大学獣医学研究部門臨床獣医療学分野の猪熊壽教授には、言葉につくしきれない感謝の意を表します。

ならびに、本論文の遂行にあたり、ご指導を賜りました帯広畜産大学原虫病研究センター高度診断学分野 横山直明教授（第一副指導教員）、岐阜大学応用生物科学部獣医学課程獣医寄生虫病学教室 鬼頭克也教授（第二副指導教員）、岩手大学農学部共同獣医学科獣医小動物内科学研究室 山崎真大教授、東京農工大学農学部共同獣医学科獣医衛生学研究室 竹原一明教授に謹んで感謝致します。

次に、本研究においてサンプルの解析や実験手技などご指導、ご尽力を賜りました帯広畜産大学獣医学研究部門臨床獣医療学分野、松本高太郎准教授ならびに帯広畜産大学獣医学研究部門の富川明子様、研究室所属に温かく迎え入れてくださった帯広畜産大学獣医学研究部門内科学研究室の皆様、本研究の足がかりを作ってくださいました、元メリアルジャパン（現ベーリンガーインゲルハイムジャパン）学術部マネージャー市川康明先生他ご一同様、本研究の基礎となる獣医臨床血液学を私に教えてくださいました岡山県赤磐市山陽動物医療センター院長下田哲也先生には、この場を借りて御礼申し上げます。

また、本研究の拠点となる山口県周南市シラナガ動物病院において、相津康宏獣医師、山本健人獣医師、藤原彬獣医師、藤田有紀子動物看護師はじめスタッフ一同ならびに旧スタッフである山口県宇部市ことのは動物病院院長羽迫広人獣医師、熊本県宇城市さとう動物病院佐藤立人獣医師には数多くの血液サンプルの採取やデータ整理に多大なる尽力を賜り、また大学院進学に際し、不在中も職場をもちたててくれたことに、心から御礼申し上げます。

ならびに、本研究を行うに当たり、犬 *B. gibsoni* 感染症に罹患した犬の飼い主はじめ、サンプルの提供に快諾して下さった、シラナガ動物病院に来院していただいた多数の患者様一同には厚く御礼申し上げます。

最後になりますが、社会人大学院生として本研究をまとめるにあたり、大きな理解の上、費やした時間を提供してくれた家族には深く感謝し、本論文の謝辞とさせていただきます。

文 献

- (1) Abdullahi SU, Mohammed AA, Trimnell AR, Sannusi A, Alafiatayo R.
(1990) Clinical and haematological findings in 70 naturally occurring cases of canine babesiosis. *J Small Anim Pract* 31.145-147.
- (2) Adachi K, Tateishi M, Horii Y, Nagatomo H, Shimizu T, Makimura S .
(1994) Reactivity of serum anti-erythrocyte membrane antibody in *Babesia gibsoni*-infected dogs. *J Vet Med Sci* 56, 997-999.
- (3) Adachi K, Tateishi M, Horii Y, Nagatomo H, Shimizu T, Makimura S.
(1995) Immunologic characteristics of antierythrocyte membrane antibody produced in dogs during *Babesia gibsoni* infection. *J Vet Med Sci* 57.
121-123.
- (4) Adachi K, Ueno C, Makimura S. (1993) Immunosuppression in dogs naturally infected with *Babesia gibsoni* . *J Vet Med Sci* 55. 503-505.
- (5) Adachi K, Yoshimoto A, Hasegawa T, Shimizu T, Goto Y, Makimura S.
(1992) Antierythrocyte membrane antibodies detected in sera of dogs naturally infected with *Babesia gibsoni*. *J Vet Med Sci* 54, 1081-1084.
- (6) Adaszek L, Ukaszewska J, Winiarczyk S, Kunkel M. (2008) The first case of feline babesiosis in Poland, *Zycie Weterynaryjne* 83, 668–670.
- (7) Birkenheuer AJ. (2012) Babesiosis : Infectious diseases of the dog and cat, Greene CE, ed, 4th ed, 771-784. Saunders Elsevier, St Louis.
- (8) Birkenheuer AJ, Levy MG, Breitschwerdt EB. (2004). Efficacy of combined atovaquone and azithromycin for therapy of chronic *Babesia gibsoni* (Asian genotype) infections in dogs. *J Vet Intern Med* 18. 494-498.

- (9) Birkenheuer AJ, Levy MG, Savary KCM, RB Gager, Breitschwerdt EB. (1999) *Babesia gibsoni* infections in dogs from North Carolina. J Am Vet Med Assoc 35. 125-128.
- (10) Boozer AL, Douglass KM. (2003) Canine babesiosis. Vet Clin North Am Small Anim Pract 33. 885-904.
- (11) Chauvin A, Moreau E, Bonnet S, Plantard O, Malandrin L. (2009) Babesia and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. Vet Res 40. 37.
- (12) Couto CG. (2013) Anemia : Small animal internal medicine, Mosby, ed, 5th ed, 1201-1219. Elsevier Health Sciences, Canada.
- (13) de Gopegui R, Peñalba B, Goicoab A, Espadaa Y, Fidalgo LE, Espinob B. (2007) Clinico-pathological findings and coagulation disorders in 45 cases of canine babesiosis in Spain. Vet J 174. 129-132.
- (14) Farwell GE, LeGrand EK, Cobb C. (1982) Clinical observations on *Babesia gibsoni* and *Babesia canis* infections in dogs. J Am Vet Med Assoc 180. 507-511.
- (15) Fukumoto S, Xuan X, Nishikawa Y, Inoue N, Igarashi I, Nagasawa H, Fujisaki K, Mikami T. (2001) Identification and expression of a 50-kilodalton surface antigen of *Babesia gibsoni* and evaluation of its diagnostic potential in an enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol 39. 2603-2609.
- (16) Furlanello T, Fiorio F, Caldin M, Lubas G, Solano-Gallego L. (2005) Clinicopathological findings in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form Babesia from dogs of northeastern Italy. Vet Parasitol 134. 77-85.

- (17) Goo YK, Jia H, Aboge GO, Terkawi MA, Kuriki K, Nakamura C, Kumagai A, Zhou J, Lee EG, Nishikawa Y, Igarashi I, Fujisaki K, Xuan X. (2008) *Babesia gibsoni*: Serodiagnosis of infection in dogs by an enzyme-linked immunosorbent assay with recombinant BgTRAP. *Exp Parasitol* 118, 555-560.
- (18) Heijl L, Lindhe J. (1980) Effect of selective antimicrobial therapy on plaque and gingivitis in the dog. *J Clin Periodontol* 7. 463-478.
- (19) 比江島 欣慎.(2014) 医療統計学入門: エビデンスを正しく見分けるための考え方 132-133. オーム社, 東京.
- (20) 比江島 欣慎.(2014) 医療統計学入門: エビデンスを正しく見分けるための考え方 148-149. オーム社, 東京.
- (21) Hwang SJ, Yamasaki M, Nakamura K, Sasaki N, Murakami M, Wickramasekara Rajapakshage BK, Ohta H, Maede Y (2010) Development and characterization of a strain of *Babesia gibsoni* resistant to diminazene aceturate *in vitro*. *J Vet Med Sci* 72. 765-771.
- (22) Iguchi A, Matsuu A, Ikadai H, Talukder M. H, Hikasa Y. (2012) Development of *in vitro* atovaquone-resistant *Babesia gibsoni* with a single-nucleotide polymorphism in *cytb*. *Vet Parasitol* 185. 145-150.
- (23) Iguchi A, Shiranaga N, Matsuu A, Hikasa Y. (2014) Efficacy of Malarone® in dogs naturally infected with *Babesia gibsoni*. *J Vet Med Sci* 76. 1291-1295.
- (24) Inokuma H, Okuda M, Yoshizaki Y, Hiraoka H, Miyama T, Itamoto K, Nakaichi M, Taura Y. (2005). Clinical observations of *Babesia gibsoni* infection with low parasitaemia confirmed by PCR in dogs. *Vet Rec* 156. 116-117.

- (25) Inokuma H, Yoshizaki Y, Okuda M, Onishi T, Nakagome K, Kosugi R, Hirakawa H. (2004) Molecular survey of *Babesia* infection in dogs in Okinawa, Japan. *Vet Parasitol* 121. 341-346.
- (26) 猪熊 壽, 田井貴子, 市川康明 (2012) 犬 *Babesia gibsoni* 感染症の発生状況に関する全国アンケート調査. *日獣会誌* 65. 293-298.
- (27) Irwin PJ. (2010) Canine Babesiosis. *Vet Clin Small Anim Pract* 40. 1141-1156.
- (28) Irwin PJ, Hutchinson GW. (1991) Clinical and pathological findings of *Babesia gibsoni* infection in dogs. *Canine Babesiosis. Aust Vet Journal* 68. 204-209.
- (29) Itoh N, Agri dM, Higuchi S, Kawamura S, Itoh D. (1988) The effect of diminazene aceturate on splenectomized dogs with *Babesia gibsoni* infection. *Vet Clin Pathol* 17. 94-98.
- (30) Iwakami S, Ichikawa Y, Inokuma H. (2014) Molecular survey of *Babesia gibsoni* using *Haemaphysalis longicornis* collected from dogs and cats in Japan. *J Vet Med Sci* 76. 1313-1316.
- (31) Jacobson LS, Clark IA. (1994) The pathophysiology of canine babesiosis: new approaches to an old puzzle. *J South Afr Vet Assoc* 65. 134-145.
- (32) Jefferies R, Ryan UM, Jardine J, Robertson ID, Irwin PJ. (2007) *Babesia gibsoni*: detection during experimental infections and after combined atovaquone and azithromycin therapy. *Exp Parasitol* 117. 115-123.
- (33) 木原滋陽. (1963) 犬のピロプラズマ病に対する Ganaseg の応用. *獣医畜産新報* 365. 31-32.
- (34) Kuehn NF, Gaunt SD. (1986) Hypocellular marrow and extramedullary hematopoiesis in a dog : hematologic recovery after splenectomy. *J Am Vet Med Assoc* 188. 1313-1315.

- (35) 楠禎人, 土本正明, 伊藤義博, 尾崎文雄. (1973) 徳島市にみられた犬 piroplasma 症とその治療. 医学と生物学 87. 285-288.
- (36) Lappin MR. (2017) Protozoal infections In : Textbook of Veterinary Internal Medicine, Ettinger SJ, Feldman EC eds, 8th ed 962–970. Saunders, Philadelphia.
- (37) Lin ECY, Chueh LL, Lin CN, Hsieh LE and Su BL. (2012) The therapeutic efficacy of two antibabesial strategies against *Babesia gibsoni*. Vet Parasitol 186. 159-164.
- (38) Makinde MO, Bobade PA. (1994) Osmotic fragility of erythrocytes in clinically normal dogs and dogs with parasites. Res Vet Sci 57, 343-348.
- (39) Masuda, T., E. Baba, A. Arakawa. (1983) Relapse of canine babesiosis after prednisolone treatment. Mod Vet Pract 64. 931-932.
- (40) Matijatko V, Mrljak V, Kiš I, Kučer N, Foršek J, Živičnjak T, Ceron JJ. (2007) Evidence of an acute phase response in dogs naturally infected with *Babesia canis*. Vet Parasitol 144. 242-250.
- (41) Matsuu A, Miyamoto K, Ikadai H, Okano S, Higuchi S. (2006) Cloning of the *Babesia gibsoni* cytochrome b gene and isolation of three single nucleotide polymorphisms from parasites present after atovaquone treatment. Am J Trop Med Hyg 74. 593-597.
- (42) Matsuu A, Koshida Y, Kawahara M, Inoue K, Ikadai H, Hikasa Y, Higuchi S. (2004) Efficacy of atovaquone against *Babesia gibsoni* *in vivo* and *in vitro*. Vet Parasitol 124. 9-18.
- (43) Matsuu A, Kawabe A, Koshida Y, Ikadai H, Okano S, Higuchi S. (2004) Incidence of canine *Babesia gibsoni* infection and subclinical infection among Tosa dogs in Aomori Prefecture, Japan. J Vet Med Sci 66. 893-897.

- (44) Matsuu A, Yamasaki M, Xuan X, Ikadai H and Hikasa Y. (2008) *In vitro* evaluation of the growth inhibitory activities of 15 drugs against *Babesia gibsoni* (Aomori strain). *Vet Parasitol* 157. 1-8.
- (45) Miller DM, Swan GE, Lobetti RG, Jacobson LS. (2005) The pharmacokinetics of diminazene aceturate after intramuscular administration in healthy dogs. *J South Afr Vet Assoc* 76. 146-150.
- (46) Miyama T, Sakata Y, Shimada Y, Ogino S, Watanabe M, Itamoto K, Okuda M, Verdida RA, Xuan X, Nagasawa H, Inokuma H. (2005) Epidemiological survey of *Babesia gibsoni* infection in dogs in eastern Japan. *J Vet Med Sci* 67. 467-471.
- (47) Morita T, Saeki H, Imai S, Ishii, T. (1995) Reactivity of anti-erythrocyte antibody induced by *Babesia gibsoni* infection against aged erythrocytes. *Vet Parasitol* 58. 291-299.
- (48) Murase T, Maede Y. (1990) Increased erythrophagocytic activity of macrophages in dogs with *Babesia gibsoni* infection. *Jap J Vet Sci* 52. 321-327.
- (49) Murase T, Ueda T, Yamato O, Tajima M, Maede Y. (1996) Oxidative damage and enhanced erythrophagocytosis in canine erythrocytes infected with *Babesia gibsoni*. *J Vet Med Sci* 58, 259-261.
- (50) 並河和彦, 千田昭史, 横山一裕, 須永藤子, 菅野康則. (1988) *Babesia gibsoni* 感染イヌに対する Ganaseg の常用量と投与回数の再検討. *医学と生物学* 117. 383-388.
- (51) Nel M, Lobetti RG, Keller N, Thompson PN. (2004). Prognostic value of blood lactate, blood glucose, and hematocrit in canine babesiosis. *J Vet Med Sci* 18. 471-476.

- (52) 大西堂文, 猪熊壽, 大野耕一, 添田晋吾, 野口主宏, 佐々木主計.(2000) レーザー免疫比ろう法による健常犬および疾患犬における C-反応性蛋白の測定. 日獣会誌 53. 595-601.
- (53) 大西堂文, 仲井眞由子, 後藤あかね, 堀江牧夫, 仲田恵里香, 梶川武次(1994) 日本における犬の *Babesia gibsoni* 感染症の発生状況. 日獣会誌 47. 23-28.
- (54) Onishi T, Ueda K, Horie M, Kajikawa T, Ohishi I. (1990) Serum hemolytic activity in dogs infected with *Babesia gibsoni*. J Parasitol 564-567.
- (55) Otsuka Y, Yamasaki M, Yamato O, Maede Y. (2002) The effect of macrophages on the erythrocyte oxidative damage and the pathogenesis of anemia in *Babesia gibsoni* infected dogs with low parasitemia. J Vet Med Sci 64, 221-226.
- (56) Plumb DC. (2011) Clindamycin HCL. : In : Plumb's Veterinary Drug Handbook, 7th edition, Pharma Vet Inc, Stockholm, Wisconsin, 230-233.
- (57) Plumb DC. (2001) Diminazane aceturate. : In : Plumb's Veterinary Drug Handbook, 7th edition, Pharma Vet Inc, Stockholm, Wisconsin, 334-335.
- (58) Rajapakshage BKW, Yamasaki M, Hwang SJ, Sasaki N, Murakami M, Tamura Y, Takiguchi M. (2012) Involvement of mitochondrial genes of *Babesia gibsoni* in resistance to diminazene aceturate. J Vet Med Sci 74. 1139-1148.
- (59) Ruff MD, Fowler JL, Fernau RC, Matsuda K. (1973) Action of certain antiprotozoal compounds against *Babesia gibsoni* in dogs. Am J Vet Res 34. 641-645.
- (60) Sakuma M, A Setoguchi, Y Endo. (2009) Possible emergence of drug resistant variants of *Babesia gibsoni* in clinical cases treated with atovaquone and azithromycin. J Vet Int Med 23. 493-498.

- (61) Shaw SE, Lerga AI, Williams S, Beugnet F, Birtles RJ, Day MJ, Kenny MJ. (2003) Review of exotic infectious diseases in small animals entering the United Kingdom from abroad diagnosed by PCR. *Vet Rec* 152. 176-177.
- (62) Shimada Y, Beppu T, Inokuma H, Okuda M, Onishi T. (2003) Ixodid tick species recovered from domestic dogs in Japan. *Med Vet Entomol* 17. 38-45.
- (63) 相馬武久, 今本成樹, 長谷隆司, 加藤玲, 砂川一浩, 尾原正和, 玄学南. (2015) 臨床上健康な来院犬における *Babesia gibsoni* 抗体保有状況の検討. *日獣会誌* 68. 301-305.
- (64) 杉村肇, 坂口真也, 今村圭太, 見山孝子, 島田洋二郎, 坂田義美, 猪熊壽. (2006) 犬糸状虫症感染予防に来院した犬のバベシア, ヘモバルトネラおよびエールリッピア感染状況調査. *日獣会誌* 59. 267-270.
- (65) Suzuki K, Wakabayashi H, Takahashi M, Fukushima K, Yabuki A, Endo Y. (2007) A possible treatment strategy and clinical factors to estimate the treatment response in *Babesia gibsoni* infection. *J Vet Med Sci* 69. 563-568.
- (66) Takahashi K. (1984) Action of several antiprotozoal compounds against *Babesia gibsoni* infection in dogs. *J Jpn Vet Med Assoc* 37. 203-207.
- (67) 高崎麻理子, 寺川和秀, 藤原清隆, 早川典之, 百田豊, 皆上大吾, 石岡克己. (2012) ドライケミストリ法による犬種別生化学測定値の比較検討. *動物臨床医学* 21.60-65.
- (68) Talukder MH, Matsuu A, Hikasa Y. (2013) Evaluation of doxycycline sensitivity in vitro against *Babesia gibsoni* by Real Time-PCR. *J Bangla Agri Univ* 11. 97-102.
- (69) Toboada J, Lobetti R. (2006) Babesiosis: In : Infectious disease of the dog and cat third edition, 722-736. Saunders, St.louis.
- (70) Vercammen F, De Deken R, Maes L. (1996). Prophylactic treatment of experimental canine babesiosis (*Babesia canis*) with doxycycline. *Vet*

Parasitol 66. 251-255.

- (71) Vishurahav R, Pillai UN, Ajithkumar S, Sabu L. (2017) Efficacy study of clindamycin as potential monotherapy treatment plan for clinical case of dogs infected with *Babesia gibsoni*. Malaysian J Vet Res 8. 45-49.
- (72) Wijaya A, Wulansari R, Ano H, Inokuma H, Makimura S. (2000). Therapeutic effect of clindamycin and tetracycline on *Babesia rodhaini* infection in mouse model. J Vet Med Sci 62. 835-839.
- (73) Wulansari R, Wijaya A, Ano H, Horii Y, Makimura S. (2003) Lymphocyte subsets and specific IgG antibody levels in clindamycin-treated and untreated dogs experimentally infected with *Babesia gibsoni*. J Vet Med Sci 65. 579-584.
- (74) Wulansari R, Wijaya A, Ano H, Horii Y, Nasu T, Yamane SI, Makimura S. (2003) Clindamycin in the treatment of *Babesia gibsoni* infections in dogs. J Am Anim Hosp Assoc 39. 558-562.
- (75) 山崎真大. (2015) 犬バベシア症. 日獣会誌 68. 245-252.
- (76) Yamasaki M, Harada E, Tamura Y, Lim SY, Ohsuga T, Yokoyama N, Takiguchi M. (2014) *In vitro* and *in vivo* safety and efficacy studies of amphotericin B on *Babesia gibsoni*. Vet Parasitol 205. 424-433.