

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：10105

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2021

課題番号：19K23704

研究課題名(和文) Determination of host range and global distribution of Babesia sp. Mymensingh, a recently discovered virulent Babesia capable of causing clinical babesiosis in cattle

研究課題名(英文) Determination of host range and global distribution of Babesia sp. Mymensingh, a recently discovered virulent Babesia capable of causing clinical babesiosis in cattle

研究代表者

ティルラセンバラム シヴァクマール (Sivakumar, Thillaiampalam)

帯広畜産大学・原虫病研究センター・特任研究員

研究者番号：00826711

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：Babesia sp. Mymensinghの国際疫学調査から、新バベシアはアジア、アフリカ、及び南米に広く分布していること、また牛に加えて、水牛、羊、及び山羊にも感染していることが示された。また、モンゴルの牛とラクダのB. bovis、B. bigemina、及びBabesia sp. Mymensinghの陽性率が、それぞれ27.9%、23.6%、及び5.4%、並びに32.1%、21.6%、及び24.3%であることも示された。本研究課題の成果により、新バベシア種を特異的に検出できる新たな遺伝子診断法が確立され、かつ本原虫種の最新の感染宿主域と国際疫学マップが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題の成果により、新バベシア種(Babesia sp. Mymensingh)を特異的に検出できる新たな遺伝子診断法が確立された。特に本PCR技術を用いて、我が国では新バベシア感染牛の摘発に向けた水際対策に資する防疫体制が整備されることが期待できる。また、本原虫種の最新の感染宿主域と国際疫学マップが明らかとなったことで、地球規模での新バベシアの感染による牛バベシア病のリスク評価が行われ、さらなる国際疫学マップの更新とその対応策が構築されていくものと期待する。

研究成果の概要(英文)：A global epidemiological survey using our molecular diagnostic tool (PCR) revealed that the new Babesia species (Babesia sp. Mymensingh) has a wide distribution in Asia, Africa, and South America. In addition, Babesia sp. Mymensingh has been found in cattle, buffalo, sheep, and goats, showing that it has a broad host range. Moreover, Mongolian cattle were infected with Babesia bovis, B. bigemina, and Babesia sp. Mymensingh, according to a PCR-based survey, with overall positive rates of 27.9%, 23.6%, and 5.4%, respectively. Furthermore, an epidemiological survey of bovine Babesia species showed that Bactrian camels in Mongolia are harboring B. bovis, B. bigemina, and Babesia sp. Mymensingh with overall positive rates of 32.1%, 21.6%, and 24.3%, respectively. In summary, as part of this research project, we have 1) established a new genetic diagnostic method for the specific detection of Babesia sp. Mymensingh, 2) defined its host range, and 3) mapped its epidemiology on a global scale.

研究分野：獣医原虫病学

キーワード：牛バベシア病 Babesia sp. Mymensingh Babesia bovis Babesia bigemina 遺伝子診断法 牛 ラクダ 疫学調査

## 1. 研究開始当初の背景

赤血球内寄生性原虫である牛バベシア2種 (*Babesia bovis* と *Babesia bigemina*) によって引き起こされるマダニ媒介性の牛バベシア病は、世界中の畜産業に深刻な経済的被害を引き起こしている。近年の本疾病の国内発生報告はないが、我が国の家畜伝染病予防法において最高ランクの家畜法定伝染病リストに分類されており、水際で厳重に防疫対策が実施されている。ところが最近の我々の疫学調査研究の成果から、牛に感染し深刻な臨床症状(貧血、発熱、血色素尿など)を引き起こす新たな牛バベシアの新種 (*Babesia* sp. Mymensingh) が存在していることがスリランカ国の調査で明らかとなった (Sivakumar *et al.*, 2018)。本原虫新種(新バベシア)が感染している家畜動物を直接診断できる遺伝子診断法が確立されていないこと、かつその感染宿主域(牛以外にどのような動物に感染するのか?)や世界的な分布状況に関する疫学情報が不足していることから、今後我が国の動物検疫をすり抜けて国内に新バベシアが侵入してしまうリスクが危惧されている。

Sivakumar, T., Tuvshintulga, B., Zhyldyz, A., Kothalawala, H., Yapa, P.R., Kanagaratnam, R., Vimalakumar, S.C., Abeysekera, T.S., Weerasingha, A.S., Yamagishi, J., Igarashi, I., Silva, S.S.P., and Yokoyama, N.: Genetic analysis of *Babesia* isolates from cattle with clinical babesiosis in Sri Lanka. *J. Clin. Microbiol.*, 56: e00895-18, 2018.

## 2. 研究の目的

そこで本研究課題では、1) 新バベシア (*Babesia* sp. Mymensingh) を特異的に検出できる遺伝子診断法を開発すること、また2) 国際疫学調査を実施し、新バベシアの感染宿主域と国際疫学マップを作成することを目的として、研究を行った。

## 3. 研究の方法

2019年度では、新バベシアを特異的に検出できる遺伝子診断法(PCR法)を確立し、スリランカ(牛と水牛)、フィリピン(牛)、ベトナム(牛、水牛、羊、及び山羊)、モンゴル(牛)、ウガンダ(牛)、ブラジル(牛)、及びアルゼンチン(牛)の血液由来DNAサンプルを対象にPCRスクリーニング解析を行った。

2020年度では、モンゴルの21州のうち16州で飼育されていた放牧牛の血液DNAサンプルに対して、それぞれのバベシア原虫3種(*Babesia bovis*, *B. bigemina*, 及び *Babesia* sp. Mymensingh) を標的としたより詳細なPCRスクリーニング解析を行った。

2021年度では、モンゴル国内の6県で放牧されていたラクダを対象に、モンゴルの放牧牛から検出された上述3種の牛バベシアの感染についてPCRスクリーニング解析を行った。

## 4. 研究成果

2019年度: 新バベシアの国際疫学調査を行った結果、ブラジル以外のすべての国から *Babesia* sp. Mymensingh が検出され、新バベシアはアジア、アフリカ、及び南米に広く分布していることが明らかになった。また、牛以外にも、水牛、羊、及び山羊から本バベシア種が検出され、新バベシアの宿主域の広さも示された。本研究は、スリランカ・獣医学研究所、フィリピン・セブ工科大学、ベトナム・フエ大学、モンゴル・獣医学研究所、ウガンダ・マケレレ大学、ブラジル・バイア獣医協議会、及びアルゼンチン・農業技術研究所との国際共同研究の成果となった (Sivakumar *et al.*, 2020)。

Sivakumar, T., Tuvshintulga, B., Kothalawala, H., Silva, S.S.P., Lan, D.T.B., Long, P.T., Ybañez, A.P., Ybañez, R.H.D., Francisco, Benitez D., Tayebwa, D.S., D.E. Macedo, A.C.C., Schnittger, L., and Yokoyama, N.: Host range and geographical distribution of *Babesia* sp. Mymensingh. *Transbound. Emerg. Dis.*, 67: 2233-2239, 2020.

2020年度: モンゴルの放牧牛の血液DNAサンプルに対して、それぞれ3種のバベシア原虫種を標的としたPCRスクリーニングを行った結果、*Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, 及び *Babesia* sp. Mymensingh の全体陽性率が、それぞれ27.9%、23.6%、及び5.4%であることが示された。これらの結果より、モンゴルにおける牛バベシア3種の深刻な汚染実態が明らかになった。本論

文は、モンゴル・獣医学研究所との国際共同研究の成果である (Otgonsuren *et al.*, 2020)。

Otgonsuren, D., Sivakumar, T., Amgalanbaatar, T., Enkhtaivan, B., Narantsatsral, S., Tuvshintulga, B., Zoljargal, M., Munkhgerel, D., Davkharbayar, B., Baatarjargal, P., Davaasuren, B., Myagmarsuren, P., Battsetseg, B., Battur, B., and Yokoyama, N.: Molecular epidemiological survey of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, and *Babesia* sp. Mymensingh infections in Mongolian cattle. *Parasitol. Int.*, 77: 102107, 2020.

2021 年度：牛バベシア種は水牛などの牛以外の宿主からも頻りに検出されており、そこからマダニによって牛に伝播する可能性が危惧されている。そのため、牛だけでなく牛以外の宿主における牛バベシアの感染も監視する必要がある。そこでモンゴルのラクダを対象に、モンゴルの牛から過去に検出された臨床学的に重要な 3 種の牛バベシア (*Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, 及び *Babesia* sp. Mymensingh) の感染について疫学調査を行った。その結果、モンゴルのラクダの牛バベシア 3 種の全体陽性率はそれぞれ 32.1%、21.6%、及び 24.3% であり、調査対象動物の 52.5% が少なくとも 1 種の牛バベシアに感染している実態が示された。モンゴルでは通常牛とラクダが放牧地を共有しており、さらに牛に寄生するマダニ種はラクダにも寄生する。これらの背景から、牛とラクダの間でマダニを介した牛バベシアの伝播が起こっている可能性が示唆された。したがって、モンゴル国における牛バベシア病の防除戦略には、ラクダにおける牛バベシア感染の対策を含める必要がある。本研究は、モンゴル・獣医学研究所との国際共同研究として実施した (Otgonsuren *et al.*, 2022)。

Otgonsuren, D., Sivakumar, T., Amgalanbaatar, T., Enkhtaivan, B., Narantsatsral, S., Davaasuren, B., Zoljargal, M., Munkhgerel, D., Davkharbayar, B., Batmagnai, E., Tuvshintulga, B., Ahedor, B., Myagmarsuren, P., Battur, B., Battsetseg, B., and Yokoyama, N.: Molecular survey of bovine *Babesia* species in Bactrian camels (*Camelus bactrianus*) in Mongolia. *Ticks Tick Borne. Dis.* 13:101871, 2022.

本研究課題の成果により、新バベシア種 (*Babesia* sp. Mymensingh) を特異的に検出できる新たな遺伝子診断法が確立され、かつ本原虫種の最新の感染宿主域と国際疫学マップが明らかとなった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sivakumar Thillaiampalam, Tuvshintulga Bumduuren, Kothalawala Hemal, Silva Seekkuge Susil Priyantha, Lan Dinh Thi Bich, Long Phung Thang, Yba?ez Adrian Patalinghug, Yba?ez Rochelle Haidee Daclan, Francisco Benitez Daniel, Tayebwa Dickson Stuart, DE Macedo Alan Caine Costa, Schnittger Leonhard, Yokoyama Naoaki	4. 巻 67
2. 論文標題 Host range and geographical distribution of Babesia sp. Mymensingh	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Transboundary and Emerging Diseases	6. 最初と最後の頁 2233-2239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tbed.13546	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Otgonsuren Davaajav, Sivakumar Thillaiampalam, Yokoyama Naoaki et al.	4. 巻 77
2. 論文標題 Molecular epidemiological survey of Babesia bovis, Babesia bigemina, and Babesia sp. Mymensingh infections in Mongolian cattle	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102107 ~ 102107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2020.102107	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Sivakumar Thillaiampalam, Tuvshintulga Bumduuren, Kothalawala Hemal, Silva Seekkuge Susil Priyantha, Lan Dinh Thi Bich, Long Phung Thang, Yba?ez Adrian Patalinghug, Yba?ez Rochelle Haidee Daclan, Francisco Benitez Daniel, Tayebwa Dickson Stuart, DE Macedo Alan Caine Costa, Schnittger Leonhard, Yokoyama Naoaki	4. 巻 -
2. 論文標題 Host range and geographical distribution of Babesia sp. Mymensingh	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Transboundary and Emerging Diseases	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tbed.13546	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Sivakumar Thillaiampalam, Fujita Shiori, Tuvshintulga Bumduuren, Kothalawala Hemal, Silva Seekkuge Susil Priyantha, Yokoyama Naoaki	4. 巻 9
2. 論文標題 Discovery of a new Theileria sp. closely related to Theileria annulata in cattle from Sri Lanka	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-52512-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Otgonsuren Davaajav, Sivakumar Thillaiampalam, Yokoyama Naoaki他	4. 巻 13
2. 論文標題 Molecular survey of bovine Babesia species in Bactrian camels ( <i>Camelus bactrianus</i> ) in Mongolia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ticks and Tick-borne Diseases	6. 最初と最後の頁 101871 ~ 101871
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ttbdis.2021.101871	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

[学会発表] 計3件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Yokoyama, N., Sivakumar, T.
2. 発表標題 Host range and distribution of Babesia sp. Mymensingh
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Otgonsuren, D., Sivakumar, T., Battur, B., Battsetseg, B., Yokoyama, N.
2. 発表標題 Molecular epidemiology of virulent Babesia parasites in Mongolian cattle
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sivakumar, T., Yokoyama, N.
2. 発表標題 Discovery of a new Theileria species closely related to Theileria annulata in cattle from Sri Lanka
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

帯広畜産大学・原虫病研究センター  
<https://www.obihiro.ac.jp/facility/protozoa/>  
OIE Reference Centres  
<https://www.obihiro.ac.jp/facility/protozoa/en/oie-reference-centres>  
帯広畜産大学・原虫病研究センター  
<https://www.obihiro.ac.jp/facility/protozoa/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
モンゴル	Institute of Veterinary Medicine			
スリランカ	Veterinary Research Institute			
ベトナム	Hue University			
フィリピン	Cebu Technological University			
ウガンダ	Makerere University			