

北海道・釧路管内の2共同牧野における放牧牛及び 生息マダニの *Theileria orientalis* 感染状況と マダニ対策の効果

前野和利^{1)†} 松井伸一²⁾ 河合孝弘¹⁾ 吉川真生¹⁾
横山直明³⁾ 猪熊 壽⁴⁾

- 1) 釧路地区農業共済組合中部事業センター標茶診療所 (〒088-2311 川上郡標茶町開運10丁目25)
- 2) 釧路地区農業共済組合東部事業センター浜中診療所 (〒088-1361 厚岸郡浜中町茶内緑31)
- 3) 帯広畜産大学原虫病研究センター (〒080-8555 帯広市稲田町西2線13)
- 4) 帯広畜産大学臨床獣医学研究部門 (〒080-8555 帯広市稲田町西2線7)

(2014年9月8日受付・2015年1月13日受理)

要 約

牛小型ピロプラズマ病が発生している北海道・釧路管内の2共同牧野において、マダニの *Theileria orientalis* (TO) 保有率、TO 感染牛の入牧率、及び入牧後の感染陽転率を、PCR 検査を用いて調査し、殺マダニ剤によるマダニ対策の効果を検証した。両牧野とも3種類のマダニ (*Ixodes persulcatus*, *I. ovatus* 及び *Haemaphysalis douglasi*) のみが採取され、すべての種からTO 遺伝子が検出された。また、TO 保有牛が入牧時において多数認められた。両牧野とも牛体に対するマダニ対策を3年間継続することで、マダニのTO 保有率、牛の感染陽転率及び貧血の発生が低減した。小型ピロプラズマ病の対策には、放牧牛と媒介マダニのTO 感染状況の定期的なモニタリングとマダニ対策の継続が重要と思われた。——キーワード：小型ピロプラズマ病、放牧牛、PCR 検査、*Theileria orientalis*、マダニ対策。

----- 日獣会誌 68, 231~238 (2015)

牛小型ピロプラズマ病は、赤血球内寄生性原虫 (*Theileria orientalis*: TO) がマダニの吸血により牛に感染し、発熱、貧血などの症状を引き起こす慢性消耗性感染症である [1]。1980年代以降、プアオンタイプの殺マダニ剤を利用したマダニ防除対策が牧野で実施されるようになり、小型ピロプラズマ病の発生低下に効果を挙げている [2, 3]。しかし、現在も牧野放牧牛の発生例が認められており、家畜衛生上重要な放牧病の1つである [4]。

牛小型ピロプラズマ病の診断には従来から血液塗抹法が用いられていた [1]。しかし、近年では原虫遺伝子の特異的かつ高感度に検出できるPCR 検査が開発され [4]、牛の血液からの直接診断に加えて、マダニからも

TO 遺伝子を高感度に検出することが可能となり、放牧牛の感染時期の特定や生息マダニのTO 保有状況の解明に利用されている [5]。

今回、われわれは牛小型ピロプラズマ病が発生している北海道東部釧路管内の2つの共同牧野において生息マダニの種類、そのTO 保有状況、感染牛の入牧状況、及び入牧後の感染率の推移に関する実態調査を行った。さらに、プアオンタイプの殺マダニ剤を用いたマダニ対策プログラムを実行し、2011~2013年度までの3年間の効果について検証した。

材料及び方法

調査牧野の概要：両牧野 (A, B 牧野) は北海道東部

† 連絡責任者：前野和利 (釧路地区農業共済組合中部事業センター標茶診療所)

〒088-2311 川上郡標茶町開運10丁目25

☎ 015-485-2187 FAX 015-485-3149

E-mail : kazutosivet@yahoo.co.jp

釧路管内に位置し、それぞれ周辺地域の農場の育成牛（ホルスタイン）を委託管理する共同牧野である。両牧野ともに5月下旬から11月上旬まで、約300～450頭の育成牛（導入時平均月齢15カ月）が放牧飼育されている。どちらも放牧地内には沢や雑木林、笹藪が多く、起伏の激しい地形である。

委託先の農場は放牧を飼養形態とする農場が多く（A牧野13/17農場中、B牧野16/19農場中）、農場の放牧地は両牧野と同様の地形である。

本調査を行う以前は、A牧野は2010年より、B牧野は2006年以前より、放牧牛における小型ピロプラズマ病の発生が確認されていた。

生息マダニ及びTO感染状況調査：両牧野において毎年5月下旬または6月上旬に各牧野2～3カ所で、フランネルによる旗ずり法による生息マダニの定点捕獲を試みた[6]。採取されたマダニは形態学的に種及び発育ステージ（幼ダニ、若ダニ、成ダニ）をそれぞれ同定した後[7, 8]、若ダニと成ダニからDNAを抽出し、TOの主要ピロプラズマ表面蛋白質（Major Piroplasma Surface Protein：MPSP）をコードする原虫遺伝子を標的としたPCR検査に供した[4]。

入牧前の感染牛の調査：入牧前のTO感染牛の入牧状況を調査するために、2011年度は全頭（A牧野430頭、B牧野375頭）を、2012年度及び2013年度は無作為に選択した約100頭ずつの放牧予定牛を対象に、TOの感染の有無を下記の方法で検査した。

牛の尾静脈よりEDTA加採血管に約2ml採血し、当日に血液薄層塗抹標本を作製した。塗抹標本をギムザ染色した後、顕微鏡下で赤血球内のTO感染の有無と寄生度を観察した。寄生度の量的判定は石原法[9]を参照し、赤血球数250個程度の10視野を観察し、寄生赤血球が10個以上の場合を++++、各視野に1～10個未満を+++、10視野に2個以上を++、10視野に1個以下を+、未検出を-と判定した。残りの血液から後日DNAを抽出して、上記PCR検査を実施した。血液塗抹検査及びPCR検査、いずれかで陽性と判定された牛をTO感染牛とした。

入牧後の感染率の調査：牧野内での感染率の推移を調査するため、入牧時の血液塗抹検査及びPCR検査で陰性であった牛を、A牧野は50頭、B牧野は40頭をそれぞれ無作為に選択し、経時的にTO感染をモニターした。採血は、2011年は放牧後2週間間隔でA牧野6回及びB牧野4回、2012年度以降は放牧後4週目と8週目、及び退牧時の計3回実施した。また、全自動血球計算器（Celltacα MEK-6358 日本光電工業株式会社、東京）を用いて、ヘマトクリット値（HTC）を計測し、それぞれの牛の貧血症発症率を調査した。本試験ではHTCが25%以下の値を示した場合に貧血であると判定した。

	A 牧野		B 牧野	
入牧時（5月下旬）	P	Flu	P	Flu
入牧後 2 週目		Flu		Flu
3 週目				Iver
4 週目（6月下旬）		Flu		Flu
6 週目		Iver		Flu
8 週目（7月下旬）		Flu		
9 週目				Iver
10 週目		Iver		
12 週目（8月下旬）		Flu		
13 週目				Etox
18 週目				Etox
退牧時（11月上旬）				

図1 A、B牧野におけるマダニ対策プログラム
 P：耳標型ベルメトリン製剤
 Flu：フルメトリン製剤
 Iver：イベルメクチン製剤
 Etox：エトキサゾール製剤

マダニ対策プログラム：入牧時（5月下旬）の牛全頭に耳標型ベルメトリン製剤（ベルタック®、住化エンバイロメンタルサイエンス株式会社、大阪）を両耳に装着し、退牧時まで継続した。A牧野の放牧牛には、入牧時及び入牧後2、4、8、及び12週目にブアオンタイプのフルメトリン製剤（パイチコール®、パイエル株式会社、東京：F剤）1mg/kgをそれぞれ塗布し、また6及び10週目にはイベルメクチン製剤（アイボメック®、メリアルジャパン株式会社、東京：I剤）500µg/kgをそれぞれ塗布した。B牧野の放牧牛には、入牧時及び入牧後2、4、及び6週目にF剤を、3及び9週目にはI剤を、さらに13及び18週目にはエトキサゾール製剤（ダニレス®、住化エンバイロメンタルサイエンス株式会社、大阪：E剤）1mg/kgをそれぞれ塗布した（図1）。両牧野ともに上記のマダニ対策プログラムを3年間継続して実施した。なお、2010年以前のマダニ対策は、A牧野では入牧時のみI剤を塗布し、B牧野では年2、3回のイベルメクチン製剤（I剤またはモキシデクチン製剤）塗布から、小型ピロプラズマ病の発生に伴い月1回程度のF剤またはE剤の塗布を行っていた。

統計処理：生息マダニのTO保有率及び感染牛の入牧率を、A、B牧野間及び各年度間で統計学的に比較した。さらに、入牧後4週目、8週目及び退牧時の感染陽性率を各年度間で比較した。検定にはYatesの補正を実施したχ²検定を用い、P<0.05の%値間を有意水準とした。

成 績

生息マダニのTO保有状況調査：3年間でA牧野からは1,036匹、B牧野からは937匹のマダニが採取された（表1）。採取されたマダニは両牧野ともに、シュルツェ

表1 生息マダニの種及び発育ステージ別 TO 保有率

		A 牧野			B 牧野		
		2011 年	2012 年	2013 年	2011 年	2012 年	2013 年
<i>I. persulcatus</i>	A ¹⁾	5.8% (8/138) ⁴⁾	4.9% (3/61)	0.0% (0/69)	0.0% (0/28)	0.0% (0/20)	0.0% (0/31)
	N ²⁾	0.0% (0/28)	0.0% (0/13)	0.0% (0/3)	0.0% (0/23)	0.0% (0/17)	0.0% (0/56)
	L ³⁾						
<i>I. ovatus</i>	A	8.9% (19/214)	2.7% (2/75)	0.0% (0/11)	8.7% (9/103)	2.5% (3/120)	1.1% (1/88)
	N						
	L			- ⁵⁾ (-/5)			- (-/1)
<i>H. douglasi</i>	A	0.0% (0/48)	0.0% (0/17)	0.0% (0/14)	0.0% (0/18)	0.0% (0/7)	0.0% (0/14)
	N	5.2% (7/134)	3.8% (5/132)	1.6% (1/61)	12.5% (5/40)	0.0% (0/20)	2.2% (3/138)
	L	0.0% (0/8)		- (-/5)	0.0% (0/14)	0.0% (0/55)	- (-/144)
平均 ⁶⁾		6.0% (34/562)	3.4% (10/298)	0.6% (1/158)	6.6% (14/212)	1.6% (3/184)	1.2% (4/327)

1) 成ダニ 2) 若ダニ 3) 幼ダニ 4) (陽性頭数/捕獲数) 5) 検査せず 6) 幼ダニは含まず ** : P < 0.01 * : P < 0.05

マダニ (*Ixodes persulcatus*), ヤマトマダニ (*I. ovatus*) 及びダグラスチマダニ (*Haemaphysalis douglasi*) の3種に分類された。A 牧野は B 牧野より *I. persulcatus* の成ダニが多い傾向がみられた。また, *I. persulcatus* の幼ダニと *I. ovatus* の若ダニは採取されなかった。

採取されたマダニから DNA を抽出し PCR 検査に供試した結果, いずれの種からも TO 遺伝子が検出された (表 1)。発育ステージ別には, *I. persulcatus* は成ダニのみから (総計 11/347, 3.2%), *I. ovatus* は成ダニから (34/611, 5.6%), *H. douglasi* は若ダニのみ (21/525, 4.0%) から TO の遺伝子が検出された。

マダニの TO 保有率は, 2011 年度の A 牧野では 6.0% であったが, その後 3.4% (2012 年度), 0.6% (2013 年度) と有意に低下した (P < 0.01)。B 牧野でも同様に, 2011 年度のマダニの TO 保有率は 6.6% であったが, その後 1.6% (2012 年度), 1.2% (2013 年度) と有意に低下した (P < 0.01)。マダニ種別の TO 保有状況も両牧野において 3 年間で減少傾向にあった (*I. persulcatus* 成ダニ, *I. ovatus* 成ダニ, 及び *H. douglasi* 若ダニ) (表 1)。

入牧牛の TO 感染状況: 入牧前の TO 感染状況について, A 牧野では, 2011 年度から 5.6%, 38.5% (2012 年度), 及び 14.6% (2013 年度) の牛がすでに小型ピロプラズマに感染して入牧することが確認され, 3 年間の平均は 12.9% (84/650 頭) であった。一方, B 牧野では同様に 2011 年度から 20.5%, 28.0% (2012 年度), 及び 18.0% (2013 年度) で, 3 年間の平均は 21.4% (123/575 頭) であった。両牧野間の 3 年間の入牧牛の平均感染率を比較すると, B 牧野は A 牧野より有意に TO 感染率が高かった (P < 0.01)。また, 各牧野で年度ごとの感染率を比較すると, A 牧野では 2012 年の入牧牛の感染率が他年度よりも有意に高かった (P < 0.01)

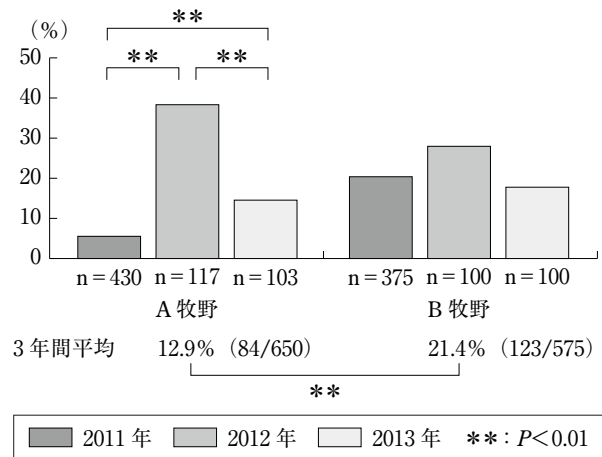


図2 A, B 牧野における TO 感染牛入牧率

(図 2)。

未感染牛の感染陽転率, 寄生度, 及び貧血発症率の推移: 2011 年度の A 牧野では, 入牧後 2 週目より TO 感染陽性となる個体がみられ (陽転), 8 週目までに PCR 検査による感染率は 28% まで上昇した。その後感染率に変化はみられなかったが, 12 週目から退牧時の間に再上昇 (34%) が認められた。また, 寄生度は 8 週目には +++ を示す牛数が増加し (14%), その後低下していった (12 週目, 0%)。しかし, 退牧時に寄生度 +++ の牛がふたたび確認された (6.7%) (図 3 上段)。

2011 年度の B 牧野の放牧牛では, A 牧野よりも感染陽転率の増加が顕著であり, 入牧後 4 週目にはすでに 80% の牛に感染が確認された。その後, 感染率は 8 週目まで増加し (94.4%), 退牧時にはほぼすべての牛に感染がみられた (97.4%)。寄生度の推移では, A 牧野と同様に寄生率の高い牛の割合が上昇し, 8 週目には寄生度 +++ の牛が 52.8% を示す結果となった (図 3 下段)。

釧路管内における牛小型ピロプラズマの感染と対策

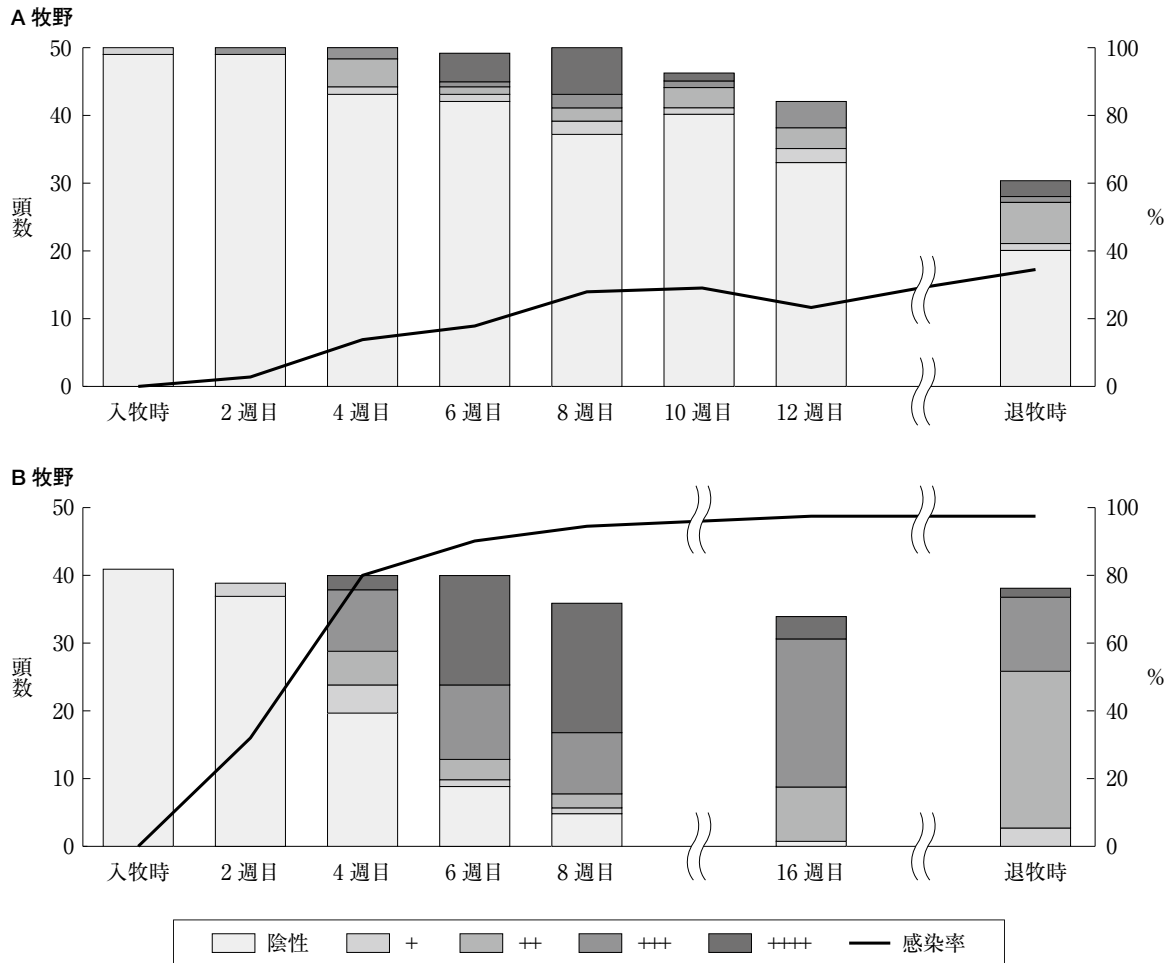


図3 2011年A, B牧野における入牧後の感染陽転率と寄生度

入牧後の未感染牛の感染陽転率の3年間の推移では、両牧野ともに、2012年度及び2013年度は対策初年(2011年度)に比べて、有意な感染率の低下がみられた(図4) ($P < 0.01$)。特に2012年度には、8週目及び退牧時の感染率はA牧野ではそれぞれ8%及び0%と低値で推移し、B牧野でも、18.4%及び35%であった。一方で、2013年度は両牧野ともに2012年度よりも感染率が増加し、入牧後8週目で比較するとA牧野は8.0%(2012年)が8.2%(2013年)となり、B牧野は18.4%(2012年)が46.2%(2013年)と、B牧野の方が顕著に増加した(図4)。

マダニ対策初年の2011年度には、A・B両牧野ともにHTCが25%以下を示す貧血牛の割合が入牧後8週目までは上昇し(それぞれ12.0%及び55.6%)、その後低下した(図5)。貧血牛の割合の増加は、感染率及び寄生度の上昇と比例しており、特にB牧野の放牧牛で顕著な貧血傾向が認められた。しかし、2012年度以降のA牧野では25%以下のHTCを示す牛は2012年度と2013年度、それぞれ1頭のみであった。一方、B牧野ではHTCが25%以下の牛が複数頭観察されたものの(2012年度、10.8%; 2013年度、20.5%)、その割合は

2011年度(55.6%)より低かった(図5)。

考 察

本研究において、北海道・釧路管内の放牧地で放牧前後(5月下旬から6月上旬)に採取されるマダニ種とその発育ステージが判明した。*I. persulcatus*は幼ダニが採取されず、成ダニと若ダニのみであった。一方の*I. ovatus*は成ダニと幼ダニのみで、若ダニは採取されなかった。埼玉県南西部における同種のマダニ調査[10]では、若ダニと幼ダニは旗ずり法では採取されなかったが、小哺乳類には寄生が確認されており、*I. ovatus*は発育ステージ別に寄生対象宿主が異なる可能性が考えられる。一方で、*H. douglasi*はすべてのステージが採取されている。これら3種のマダニが、年間を通してどのような生活環を持ち、いつどのように放牧牛に吸血活性を示すのか興味深い。

従来、小型ピロプラズマ病を媒介するマダニとして、フタトゲチマダニ(*H. longicornis*)、ヤスチマダニ(*H. ias*)及びマゲシマチマダニ(*H. mageshimaensis*)が報告されてきた[11, 12]。しかし近年、北海道の十勝及び日高管内で採取された*I. persulcatus*、*I. ovatus*、

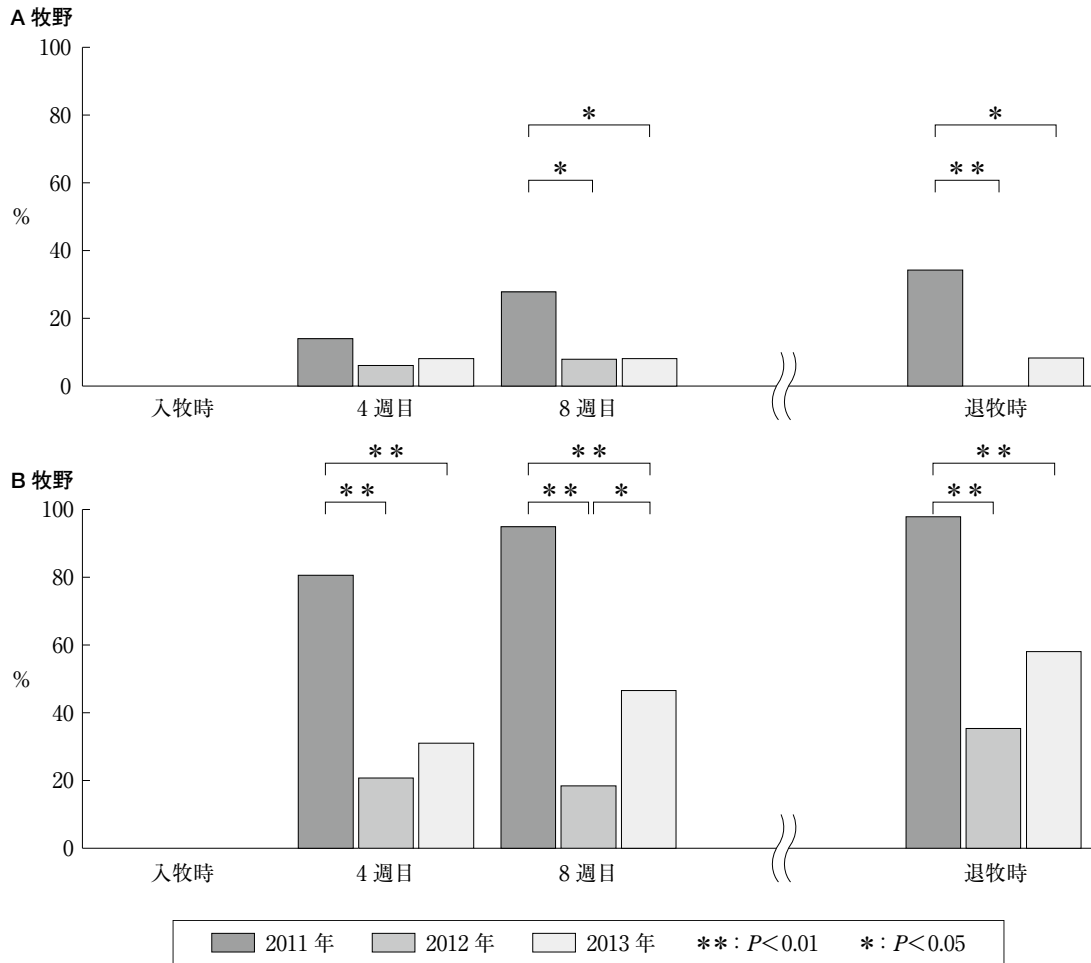


図4 A, B 牧野における3年間の入牧後感染陽転率の推移

H. douglasi 及びオオトゲチマダニ (*H. megaspinosa*) からも小型ピロプラズマ (TO) 遺伝子が検出されている [13]。今回の調査でも同様に上記3種類の未吸血マダニから TO 遺伝子が検出されており、毎年牛への TO 感染が確認されていることから、釧路管内の2共同牧野では少なくとも *I. persulcatus*, *I. ovatus* 及び *H. douglasi* が TO を媒介している可能性が高い。しかし、これらのマダニが小型ピロプラズマ病の媒介者 (ベクター) であることを証明するにはさらなる調査が必要である。TO を保有するマダニは、*I. persulcatus* の成ダニ、*I. ovatus* の成ダニ、及び *H. douglasi* の若ダニに限られた。今回用いた材料は放牧前あるいは直後の未吸血マダニであったことから、これらのマダニの前発育ステージが前年度に TO 感染牛を吸血したと考えられる。

今回、両公共牧野では毎年高率の TO 感染牛 (5.6~38.5%) が入牧していることが確認された。入牧するホルスタイン牛のほとんどは初入牧であるため、委託先の農場内ですでに感染していたと考えられる。特に、2012年度のA牧野の感染入牧牛の割合が他年度より高かった要因の1つとして、前年に複数の委託先農場内で小型ピロプラズマ病の発生があり、その感染の拡大が影

響したものと考えられた。同農場内における TO の感染経路は不明であるが、農場内に設置されている放牧地に生息するマダニによる生物学的伝搬が考えられるが、舎飼い期におけるウシホソジラミなどによる機械的伝搬 [14]、あるいは感染親牛から仔牛への垂直感染も報告されている [15]。TO 感染牛の入牧は、マダニへの TO 感染源として重要なリスク要因となるため、牧野でのマダニ対策と同時に、個々の農場内での衛生対策を早急に講じる必要があると考えられる。

未感染牛の入牧後の感染陽転率の推移から、牧野内での春期の TO 感染は入牧直後から8週目までの限られた期間 (5月下旬から7月下旬) に起きていると考えられる。すなわち、この時期に TO 保有マダニが放牧牛を吸血している可能性があり、この時期を中心にマダニ対策を行うことが必要と思われた。今回行ったマダニ対策プログラムは、両牧野で若干の違いはあるものの、感染時期に見合った入牧後約2カ月間を重点的に実施されていたことになる。一方で、秋期 (8月下旬から11月上旬) にもわずかではあるが感染率の上昇と発病牛が認められているため、秋期に活動するマダニ種とそのステージの同定、及び TO 保有調査が必要と思われた。

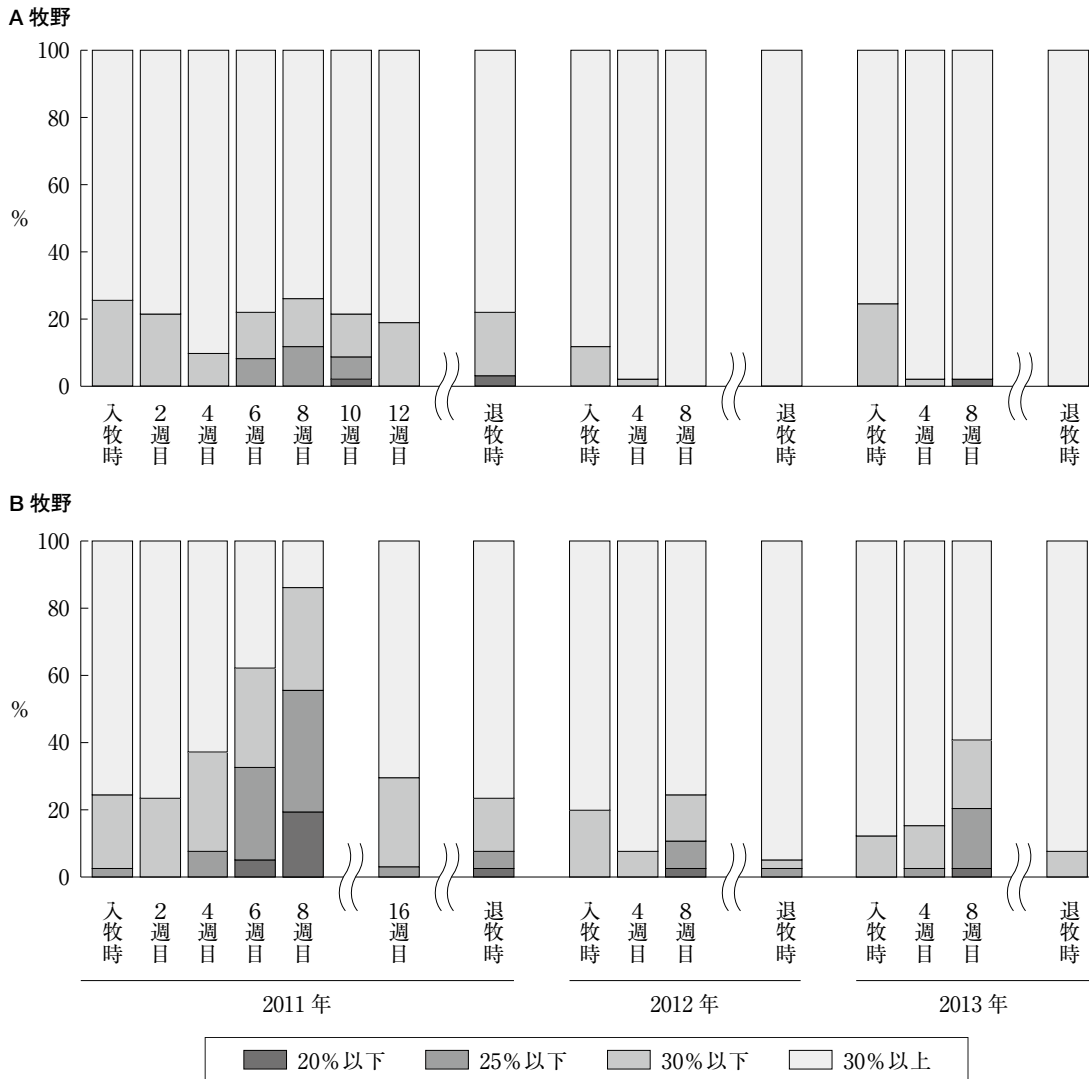


図5 A, B 牧野における3年間のPCVの推移

A・B 両牧野を比較すると、2011年度の採材マダニのTO原虫保有率はA・B 両牧野でほぼ同じであったにもかかわらず、両牧野間での感染陽転率は入牧後4週目ですでに違いがみられた(A 牧野14%, B 牧野80%)。この違いについては、マダニのTO保有率が同じでもTO保有マダニの絶対数がB 牧野の方が多かった可能性が考えられた。また、B 牧野では入牧前からすでに感染していた牛がA 牧野より多く、これら感染牛の入牧が重要な感染源となり、入牧後のマダニの経発育伝播がTO感染拡大に関与したとも考えられる。

エゾシカなどの野生動物には多数マダニが寄生しており [16, 17], 調査対象の両牧野は野生動物の侵入が容易であることから、牧野内へマダニが供給される可能性が高い。今回行った旗ずり法によるマダニの採取は、採取当日の天候に大きく影響を受けることから [18], 牧野内の生息マダニ数が増減しているかどうかは不明である。しかし、マダニのTO保有率は3年間のマダニ対策プログラムを継続することで年々低下した。これは、野

生動物からの牧野内へのマダニの供給は防ぐことはできないものの、殺マダニ剤散布により感染牛と接触したマダニが死滅し、その結果として越冬するTO保有マダニ数が減少したことに起因すると考えられた。

今回の処置による牧野内のマダニのTO保有率低下に伴い、未感染牛の感染陽転率が低下し、貧血の発生も防止された。牧野内での小型ピロプラズマ病の発生は、本マダニ対策プログラムを実行することで、コントロールできると考える。しかし、2013年度のB 牧野のように、マダニのTO保有率の低下にもかかわらず前年度より入牧牛のTO感染率が増加していることから、本プログラムに影響を与える何らかの要因がある可能性も考えられる。

今回の調査地域では従来から知られていたフタトゲチマダニとは異なるマダニ種が小型ピロプラズマ病を媒介していた。本州におけるマダニは種ごとに異なる季節消長を示し、一般にチマダニ属は幼ダニが秋に、若ダニと成ダニが春期(あるいは初夏)に吸血活性を示し、その

生活環は約1年で完了する。一方、マダニ属は2~3年の生活環を必要とし、全発育ステージの吸血活性は春期(初夏)に集中する[19, 20]。しかしながら、実際のマダニの季節消長は地域差及び年による気候変動の影響があるため、その地域に生息するマダニ種とその活動時期に適したマダニ対策を検討し、マダニ対策プログラムの継続に加えて、放牧牛と媒介マダニの定期的なモニタリングが小型ピロプラズマ病対策に重要であると思われる。

本研究に協力いただいた公共牧場のスタッフ、農家、NOSAI獣医師の皆様には深く感謝する。また、PCR検査を行っていただいた帯広畜産大学・原虫病研究センター 山本宏子氏にも感謝する。本研究の一部は農林水産省・食品産業科学技術研究推進事業の助成を受けて行われた。

引用文献

- [1] 寺田 裕：タイレリア病，牛病学第3版，明石博臣編，337-340，近代出版，東京（2013）
- [2] Mekonnen S : Efficacy of flumethrin 1% pour-on against ticks on cattle under field conditions in Ethiopia, *J Vet Res*, 67, 235-237 (2000)
- [3] 植田 卓，松田信二，脇淵洋司，粕谷文吉，細野恭二，百瀬宏育：殺ダニ剤（ブアオン法：フルメトリン製剤）の応用による乳牛の小型ピロプラズマ病対策とその成果，*家畜診療*，370，21-25（1994）
- [4] Ota N, Mizuno D, Kuboki N, Igarashi I, Nakamura Y, Yamashita H, Hazaike T, Fujii K, Onoe S, Hata H, Kondo S, Matsui S, Koga M, Matsumoto K, Inokuma H, Yokoyama N : Epidemiological survey of *Theileria orientalis* infection in grazing cattle in the eastern part of Hokkaido, Japan, *J Vet Med Sci*, 71, 937-944 (2009)
- [5] Yokoyama N, Sivakumar T, Ota N, Igarashi I, Nakamura Y, Yamashina H, Matsui S, Fukumoto N, Hata H, Kondo S, Oshiro M, Zakimi S, Kuroda Y, Kojima N, Matsumoto K, Inokuma H : Genetic diversity of *Theileria orientalis* in tick vectors detected in Hokkaido and Okinawa Japan, *Infect Genet Evol*, 12, 1669-1675 (2012)
- [6] 藤崎幸蔵：マダニ症，最新家畜寄生虫病学，今井壯一編，245-254，朝倉書店，東京（2007）
- [7] Yamaguti N, Tipton VJ, Keegan HL, Toshioka S : Ticks of Japan, Korea and the Ryukyu Islands, *Brigham Young Univ Sci Bull Series*, 15, 1-226 (1971)
- [8] 山口 昇：日本産マダニ上科の検索，ダニ学の進歩，佐々 学，青木淳一編，451-472，北隆館，東京（1977）
- [9] 石井俊雄：改訂獣医寄生虫学・寄生虫病学（1）総論／原虫，122-127，講談社，東京（2007）
- [10] 藤本和義，山口 昇，高橋 守：マダニ類の生態学的研究 2. 埼玉県南西部における3種類のマダニ類，キチマダニ，ヤマトマダニ，タネガタマダニの季節的消長の比較，*衛生動物*，38，7-12（1987）
- [11] 今井壯一，藤崎幸蔵，板垣 匡，森田達志：図説獣医衛生動物学，講談社，東京（2009）
- [12] Fujisaki K, Kamio T, Kawazu S : *Theileria sergenti*. Transformation of zygotes into kinetes in vector ticks. *Haemaphysalis (Kaiseriana) longicornis* and *H. (K.) mageshimaensis*, *J Vet Med Sci*, 55, 849-851 (1993)
- [13] Inokuma H, Nagata M, Hosoi E, Itamoto K, Okuda M : Divergence of *p33/34* gene of *Theileria* found in *Cervus nippon* in Japan, *J Vet Med Sci*, 70, 401-405 (2008)
- [14] Fujisaki K, Kamio T, Kawazu S, Shimizu S, Shimura K : *Theileria sergenti* experimental transmission by the long-nosed cattle louse, *Linognathus vituli*, *Ann Trop Med Parasitol*, 87, 217-218 (1993)
- [15] Byeong BK, Soo KB, Kim JH, Hur J, Lee BO, Jung JM, Onuma M, Oluoch AO, Kim C-H, Kakoma I : Verification by polymerase chain reaction of vertical transmission of *Theileria sergenti* in cows, *Can J Vet Res*, 67, 278-282 (2003)
- [16] Isogai E, Isogai H, Masuzawa T, Postic D, Baranton G, Kamewaka Y, Kimura K, Nishikawa T, Fuji N, Ishii N, Ohno S, Yamaguti N : *Borrelia burgdorferi* sensu lato in an endemic environment: wild sika deer (*Cervus nippon yesoensis*) with infected ticks and antibodies, *Micro Immuno*, 40, 13-19 (1996)
- [17] Yamauchi T, Agetsuma N, Araki N, Fukushima M : Ixodid ticks collected from the raccoon dog *Nyctereus procyonoides albus* and the common raccoon *Procyon lotor* in southern Hokkaido, Japan, *Int J Acar*, 38, 214-216 (2012)
- [18] Eric LR, Isis K, Genevieve P, Graham JH, Jean IT, Howard SG : Flagging versus dragging as sampling methods for nymphal *Ixodes scapularis*, *J Vect Eco*, 38, 163-167 (2013)
- [19] Uchikawa K : Seasonal fluctuations of *Ixodes persulcatus* and adult stage of *Ixodes ovatus* in the subalpine forests of Nagano Prefecture, Japan, related to observed phenological data (Acari, Ixodidae), *Jpn J Sanit Zool*, 44, 203-211 (1993)
- [20] 藤本和義，山口 昇：秩父山系の山地帯上部から亜高山帯（標高約600から1800m）における植生上のマダニ類とその季節的消長，*衛生動物*，41，341-346（1990）

Effect of Tick Control Programs for Reducing *Theileria orientalis* Infection Among Grazing Heifers and Ticks in Two Selected Pastures in Kushiro, Hokkaido, Japan

Kazutoshi MAENO^{1)†}, Shinichi MATSUI²⁾, Takahiro KAWAI¹⁾, Mai YOSHIKAWA¹⁾,
Naoaki YOKOYAMA³⁾ and Hisashi INOKUMA⁴⁾

- 1) *Shibecha Branch, Central Office, Kushiro Agricultural Mutual Aid Association, 10-25 Kaiun, Shibecha-cho, Kawakami-gun, 088-2311, Japan*
- 2) *Hamanaka Branch, Eastern Office, Kushiro Agricultural Mutual Aid Association, 31 Chanaimidori, Hamanaka-cho, Atsukesi-gun, 088-1361, Japan*
- 3) *National Research Center for Protozoan Diseases, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Inada-cho, Obihiro, 080-8555, Japan*
- 4) *Department of Clinical Veterinary Science, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Inada-cho, Obihiro, 080-8555, Japan*

SUMMARY

In the present study, we investigated the effect of systematic tick control programs for reducing *Theileria orientalis* (TO) infection in heifers and ticks. Grazing heifers in two selected public pastures in Kushiro, Hokkaido, which had been previously known for a high prevalence of TO, were treated with acaricides for a period of three years starting from 2011. Blood samples collected from heifers and ticks collected from grasses were analyzed as follows: morphological identification of ticks, TO infection in heifers and ticks, and anemia status in cattle. Several heifers in both pastures were PCR-positive for TO before the beginning of grazing, and only the TO-negative heifers were subsequently monitored to evaluate the impact of the tick control programs. Three tick species, including *Ixodes persulcatus*, *I. ovatus* and *Haemaphysalis douglasi*, were found to be active in both pastures during spring, and TO was detected by PCR in all three tick species. During the study period, a gradual decrease was observed in the parasite burden among the ticks and in the numbers of animals that developed TO infection. Additionally, a gradual reduction in anemia rates was also observed among these animals as the tick control programs progressed. These findings suggest that the implementation of systematic tick control strategies for several years, together with the continuous monitoring of TO infection in heifers and ticks, is effective in reducing the prevalence of this parasite among heifers in these pastures.

— Key words : bovine piroplasmosis, grazing heifers, PCR, *Theileria orientalis*, tick control.

† Correspondence to : Kazutoshi MAENO (*Shibecha Branch, Central Office, Kushiro Agricultural Mutual Aid Association*)

10-25 Kaiun, Shibecha-cho, Kawakami-gun, 088-2311, Japan

TEL 015-485-2187 FAX 015-485-3149 E-mail : kazutosivet@yahoo.co.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 68, 231 ~ 238 (2015)