

# 人工感染肝蛭牛における小野皮内反応 の消長について

小 野 豊 木 村 重 久 葉 昇

兵庫農科大学獣医学教室 (主任 小野豊教授)

(昭和 33 年 12 月 26 日受領)

## はしがき

わが国における家畜肝蛭症の被害は極めて大きく、各種家畜寄生虫病のなかで、第 1 位にある現況である。家畜のうちでは、とくに牛の被害が最も多く、今日の推計では全国畜牛飼育頭数約 320 万頭中、その 40% にあたる 128 万頭が肝蛭症にかかり、その損害は年間 160 億円をこえている。

このような牛の肝蛭症に対して、今日その診断法としては、肝蛭卵検査法と皮内反応法との二つがある。本病のように、虫体の寄生が主として肝管 (胆管) 内である場合には、その卵は肝管および胆嚢内には多数検出されても、大量の糞便内に混在する虫卵の検出率は一般に低く、さらに慢性胆管炎を起すようになると、胆管内腔にしばしば形成される結石または多量の滲出物のうづ滞のため、虫卵が胆管内に抑留されて、卵の検出がむずかしくなる。あるいはまた卵体の少数寄生の場合にも、卵は検出されないことが多い。また肝蛭虫卵は、感染後 63~90 日を経て、はじめて検出されるので早期診断には不適當である。

皮内反応による肝蛭症の診断は、Agrün und Baskaya (1939)、東 (1950)、Soulsby (1954) によつて試みられたが、あまりよい成績がえられず、未だ実用化にはいたらなかつた。しかるに私どもは、1952 年「牛肝蛭症診断用アンチゲン」をつくり、これによる牛肝蛭症診断法を創案したが、この方法によれば、操作は簡単で、その適中率は 96.7% の高率を示し、本病の診断とくに集団検診に応用しうる唯一の方法であることが確認され、今日迄

く応用されるようになり、すでに 200 万頭以上の牛が検診されている。このことは家畜寄生虫防疫史上、一つの革命的成果をもたらしたものと考えられる。しかし、これまでの私どもの皮内反応についての報告は、すべて自然感染牛についての成績であつたのであるが、今回牛の人工感染実験に成功し、この牛について、感染初期より長期 (600 日) にわたり、一般臨床所見の推移とともに、皮内反応の消長について観察したので、その大要を報告することとする。

## 材料および方法

### (1) 肝蛭メタケルカリアの採集

孵卵器内で肝蛭卵を孵化させ、游出したミラキディウムを中間宿主であるヒメモノアラガイ *Lymnaea ollula* に感染させ、自然に游出したケルカリアをクロバーの葉に附着被囊させた。

### (2) 実験動物

黒色和牛 2 頭を用いた。No. 1 は生後 10 カ月の去勢雄であつて、1956 年 7 月 5 日、肝蛭メタケルカリア 3,000 個を経口投与して、重度の感染を起させ、さらに感染後 393 日目 (1957 年 8 月 2 日) に肝蛭メタケルカリア 1,500 個を経口投与して再感染を行つた。No. 2 は生後 8 カ月の去勢雄であつて、同じく 1956 年 7 月 5 日、肝蛭メタケルカリア 1,500 個を経口投与して中等度感染を起させ、さらに感染後 190 日目 (1957 年 1 月 11 日) より 5 回にわたり、Hexachloroethane 製剤を体重 1 kg あたり 0.3 g をもつて駆虫試験を行つた。

### (3) 人工感染肝蛭牛の検査

感染後 600 日間にわたつて、つぎの検査を行つた。

1. 皮内反応：東京臓器化学株式会社製造の、国家検定合格品である、小野の牛肝蛭症診断用アンチゲンを用いて皮内反応を行つた。このアンチゲン 0.2 cc を人工感染牛の尾根部内側の皮内に注射し、注射後 15~20 分にあ

YUTAKA ONO, SHIGE KIMURA & NOBORU KUBA:  
Über die Änderung der intradermalen Reaktion  
von Ono bei der experimentellen Fascioliasis des  
Rindes (Institut für Veterinär-Medizin, Land-  
wirtschaftliche Hochschule Hyogo, Sasayama)





たつて、ヘキサクロロエタン製剤による駆虫試験を行った。第1回(190日)および第2回(218日)の駆虫後、なおかなり多数の肝蛭卵が糞便中に検出されたので、さらに第3, 4, 5回(249, 295, 330日目)の駆虫を順次行ったのであるが、やはり少数ながら虫卵が検出された。従つて、完全駆虫には成功しなかつたわけである。この期間の皮内反応は16~21mmであつて、常に陽性値を示した。350日後、虫卵はおおむね陰性となつたが、まれに1~2個を検出したこともあつた。皮内反応も、この頃からその大きさを減じたが、やはり16~17mmの陽性値を示した。なお、No. 2は感染670日目(1958年5月16日)にと殺、剖検したが、肝は肝蛭寄生による高度の硬度、肝左葉高度の萎縮、高度の慢性胆管炎、胆嚢炎、胆管内結石形成が認められ、胆嚢内、胆管内には多数の肝蛭卵が検出され、また胆管内に1匹の生存肝蛭虫体を見出した。

### 考 察

私どもは、さきに小野皮内反応による牛肝蛭症診断法を考案した。この方法は、今日牛肝蛭症の診断法として、とくに集団検診に広く応用され、すでに200万頭以上の牛の検診が行われ、肝蛭症防疫に貢献するところがあつた。この方法は、自然感染肝蛭牛の診断には、96.7%の適中率を示したのである。今回の実験は、これまで企図されなかつた人工感染肝蛭牛について、感染後600日にわたり、小野皮内反応の消長を検索するとともに、感染牛の一般臨床症状の推移を追究したのである。

人工感染に用いた動物は、黒色和牛の去勢雄2頭で、No. 1は肝蛭メタケルカリア3,000個、No. 2は同1,500個をそれぞれ経口投与して感染を成立させた。感染後皮内反応の陽性に転化する時期は、No. 1では12日目、No. 2では19日目であつて、注射部位は明らかな腫脹硬結を示し、周囲との境界は明瞭であつた。感染初期の腫脹部の直径は、No. 1, No. 2ともに17~21mm(15mm以上を陽性とする)のものが多かつた。また感染初期の症状としては、元氣喪失、食欲減退、軟便、軽度の貧血、好酸球の著しい増加を認むる程度で、いまだ肝蛭症特有の症状はあらわれず、また肝蛭卵の排出は感染後65日(No. 2), 66日(No. 1)以後であつた。したがつて、皮内反応は虫卵検査に比べて、かなり早期に本病の診断に応用しうるわけである。重症、衰弱の時期(感染60日以後No. 1は290日、No. 2は150日まで)においても、皮内反応は常に陽性を持続した。No. 1では、61~155日

までは18~21mmであつたが、その後は大きさを減じ、190~288日では、おおむね15mmという最小陽性値を示したが、No. 2では感染初期と同様の反応の大きさを持続した。この衰弱期では、動物は著しくやせ、貧血、肝部の圧痛、心機能障害、顎凹、前胸部の浮腫など、肝蛭症特有とみられる症状があらわれ、赤血球数は300万台にまで減少した。回復期の皮内反応は、No. 1では衰弱期とほとんど同じで、15mmの最小値を示したが、たゞ1回、337日目に14mm(判定は疑陽性)を示した。No. 2は16~21mmであつて、わずかに反応の大きさを減じたが、陽性を持続した。

なお、No. 1では再感染後の皮内反応の推移をしらべるため、第1次感染後393日目に再感染を行った。再感染前の皮内反応は、すでに6カ月にわたり、最小陽性値(15mm)を示していたが、再感染後な再び反応は増大して、再感染後14日では19mm、18日では18mm、以後200日にわたり20~25mmというかなり大きい反応値を示した。

さらに、本実験では、駆虫後の皮内反応の推移をも、追究しようと試みたのであるが、その前提条件である完全駆虫がついに成功しなかつた。すなわち、感染後190~330日の間、5回にわたりヘキサクロロエタン剤による駆虫処置を行ったが、最後(第5回目)の駆虫後も、なお糞便中に肝蛭卵を排出した。皮内反応は最終駆虫後、その大きさはやや減少したが、依然陽性値(16~17mm)を示した。その後、感染670日目に、と殺、剖検したが、肝は高度の寄生性肝硬変、慢性胆管炎、胆嚢炎を認め、また胆管内に1匹の生存した虫体を発見した。

最後に、この実験では肝蛭感染後1~2週の間隔をもつて、反復して肝蛭診断用アンチゲンを注射したのであるが、この際に考えられることは、いわゆる脱感作および強勢感作の影響である。脱感作の現象が起れば、本来陽性にあらわれるべき反応が陰性化するわけであるが、今回の例ではこのようなことはほとんど認められず、むしろかかか重症感染例のNo. 1が感染後337日目に疑陽性の反応を示したにとどまつた。しかもこの現象はむしろ免疫学上 Negative Anergieの状態をひき起したものと解釈することが妥当のようである。また、強勢感作の影響も、慢性衰弱期の皮内反応の減弱傾向ならびに再感染における皮内反応の明らかな増強などから考えて、あまり認められないようである。しかしこの問題については、さらに今後の検討にまたねばならないと考えられる。

## ま と め

私どもは、これまで企図されなかつた牛(2頭)における肝蛭症の人工感染実験を行い、この感染牛について、600日にわたつて、一般臨床所見を検索するとともに、小野皮内反応の消長を観察し、つぎの結論をえた。

1. 人工感染肝蛭牛においては、小野皮内反応は感染後、No. 1 では 12 日目、No. 2 では 19 日目に陽性に転化した。肝蛭卵が糞便内に排泄されるものは、感染後 60 日以後であるので、肝蛭牛の早期診断には、皮内反応は最適の方法であるといえる。

2. 陽性転化後の皮内反応は、No. 1 が感染後 337 日目にたゞ 1 回疑陽性を呈した外は、すべて陽性を持続した。疑陽性反応の出現は、感染牛が一種の Negative Anergie の状態にあつたものと考えられる。

3. 再感染後、皮内反応は再び強陽性を示した。

4. アンチゲンの反復注射による脱感作および強勢感作の影響はあまり認められなかつたようであるが、これについては、なお、今後の検討を必要とする。

## 文 献

- 1) Agrün, S. T. & Baskaya, H. (1939): Anwendung der Allergie-Reaktion bei der Bekämpfung der Distomatosis Tierärztliche Rundsch., 45, 379.  
 —2) 東胤弘・杉本正勝・滝口頼之(1950): 牛肝蛭症のアレルギー反応による診断法, 日本獣医学雑誌, 12 (2・3), 120-121. —3) 小野豊・磯田政恵(1952): 畜牛肝蛭症の診断に関する研究, 特に皮内反応の診断的価値について, 日本獣医学畜産大学紀要, 1, 21-28.  
 —4) 小野豊・磯田政恵・藤ヶ谷敏明・木村重(1952) 畜牛肝蛭症の診断に関する研究, 特に皮内反応の診断的価値について, I. 基礎成績, 日本獣医学雑誌, 14 (6), 348-349. —5) 小野豊・磯田政恵・藤ヶ谷敏明(1952): 畜牛肝蛭症の診断に関する研究, 特に皮内反応の診断的価値について, II. 群馬県下における集団検診成績, 日本獣医学雑誌, 14 (6), 349-350. —6) 小野豊・藤ヶ谷敏明(1954): 家畜寄生虫病の免疫学的考察, 獣医学畜産新報, 127, 56-61. —7) 小野豊(1955): 余等の牛肝蛭症診断用アンチゲンの応用成績, 獣医学畜産新報, 169, 1149-1159. —8) 小野豊・木村重(1955): 最近発表された Soulsby 法と小野法との牛肝蛭皮内反応における比較考察, 日本獣医師会雑誌, 8 (9), 427-429. —9) 小野豊・木村重・久葉昇(1956): 牛肝蛭症の人工感染試験, I. 小野皮内反応の消長について, 日本獣医学雑誌, 18 (学会号), 107. —10) 小野豊・木村重・久葉昇(1957): 牛肝蛭症の人工感染試験, II. 臨床症状ならびに血液変化, 日本獣医学雑誌, 19 (学会号), 60. —11) Soulsby E. J. L. (1954): Skin hypersensitivity in cattle infected with *Fasciola hepatica*. J. Comp. Path., 64 (3), 267-274.

## Zusammenfassung

Unsere experimentelle Infektionsversuche von Fascioliasis wurden an 2 Rindern (Tier-Nr. 1 und Tier-Nr. 2) ausgeführt, um die Änderung der intradermalen Reaktion von Ono während 600 Krankheitstage nach der Infektion zu studieren.

Durch Infektion mit 3000 eingekapselten Zerkarien wurde Tier-Nr. 1 zur hochgradigen Erkrankung führen, dagegen liess sich Tier-Nr. 2 mit 1500 derartigen Zerkarien nur mittelgradig künstlich anstecken.

Die intradermale Reaktion von Ono zeigt, dass die Einführung von Ono's Antigen in das Kutisgewebe der an der Fascioliasis leitenden Rindern umschriebene Schwellung und Erhartung der Impfstelle zu Folge hat. Als Impfstelle wurde die eine Schweifafterfalte empfohlen. Die positive Reaktion äussert sich in einer Anschwellung, die nach 15 Minuten über 15 mm im Durchmesser erreichen kann. Dagen kann eine Durchmesserzunahme von bloss 11,0-14,0 mm nur als zweifelhafte Reaktion bewertet werden, während eine solche von weniger als 10 mm ein negatives Ergebnis bedeutet.

In den uns ausgeführten künstlich infizierten fascioliose Rindern war die intradermale Reaktion bei der Tier-Nr. 1 positiv von 12 Tage, bei der Tier-Nr. 2 von 19 Tage nach der Infektion, umgewandelt. Da die Eier der *Fasciola hepatica* erst nach 63-90 Tage nach der Infektion durch Metazerkarien mit dem Darmkot ins Freie gelangt sind, hat die Untersuchung der Eier im Kot als Methode zur Frühdiagnose der Fascioliasis des Rindes eine geringere Bedeutung. Dagegen ist die intradermale Reaktion wahrscheinlich die beste Methode einer Frühdiagnose. Und zwar ist diese Methode, wie in der vorigen Arbeit erwähnt praktisch ein sehr einfaches Verfahren. Wir können sie, sowohl bei Früh-, als auch bei Massendiagnose, als alleingige, schnellste und sicherste Ermittlungsverfahren empfohlen.

Von erster positiven Umwandlung an dauert die Reaktion immer positiv während 600 Krankheitsage. Jedoch wurde sie bei der Tier-Nr. 1 nur einmal am 337 Krankheitstage als zweifelhaft beobachtet. Das Auftreten dieser zweifelhaften Reaktion kann vielleicht als Erfolg der negativen Anergie geklärt werden.

In unseren Fällen dürfte wohl es gestattet sein, dass er nachteilige Einfluss nach wiederholten Antigeneinspritzungen in Zwischenräumen von 2 Wochen nicht erzeugt wurde. Diesbezüglich werden noch weitere Untersuchungen erfordert müssen.