

肝蛭症の治療に関する研究

(9) Rafoxanide による家兎感染幼肝蛭の殺滅試験

木 村 重

神戸大学農学部家畜衛生学教室

(昭和48年2月12日 受領)

はじめに

肝蛭駆除剤は成・幼虫にたいしてともに効果があり、とくに幼虫についてはできる限り感染初期において殺滅可能であることがのぞましい。Boray *et al.* (1967) および Boray and Happich (1968) は、各種肝蛭駆除剤の幼肝蛭にたいする殺滅効果を検討し、投薬量の増加するほど効果がみられるものもあるが、副作用も激しくなり、実際面での幼肝蛭駆除には十分な期待はできないと述べている。また小野・木村(1966, 1968), 木村・小野(1971) も、幼肝蛭の殺滅剤について検索をおこなってきた。これまでに、家兎感染幼肝蛭を駆除できた製剤を肝蛭自然感染牛に応用したばあい、必ずしも満足できる成績が得られなかった。

近年にいたり Armour and Corba (1972) は、羊感染幼肝蛭の駆除に Diamphenethide が有効であると報告しているが、なお今後における画期的な幼虫駆除剤の出現が期待される。

今回、肝蛭の新駆除剤 Rafoxanide が家兎感染幼肝蛭をも殺滅できるかについて検討した。その成績の概要を報告する。

材料および方法

1. 供試薬剤

供試薬剤は Rafoxanide [3,5-diiodo-3'-chloro-4'-(p-

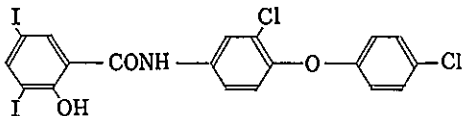


Fig. 1 Chemical structure of rafoxanide [3,5-diiodo-3'-chloro-4'-(p-chlorophenoxy)salicylanilide].

chlorophenoxy) salicylanilide]である。本剤は融点173°~177°C, 有機溶媒に溶解し、水には不溶解の白色結晶粉末であり、第1図に示す構造式を有するものである。

2. 供試動物

試験に用いた家兎は、体重1.7~2.2 kg のもの24頭であつて、それぞれに肝蛭メタセルカリア20コずつ感染させたものである。またこれらの家兎は、感染前において糞便検査で肝蛭感染が陰性であることを確認した。

3. 投薬量および方法

本剤 50 mg/kg を感染後21日, 28日および35日に投与し, 75 mg/kg は28日, 100 mg/kg は21日にそれぞれ1回経口的に投薬をおこなつた。

4. 駆虫効果の判定

剖検によつて、肝に生存していた肝蛭数と肝病変にもとづいて判定した。なお、感染より剖検までの経過日数は、斃死例では24~62日, と殺例では67~77日である。

5. 副作用の観察

投薬後の元氣, 食欲および糞便の性状などについて観察した。

成 績

1. Rafoxanide の幼肝蛭殺滅効果

本剤 50 mg/kg を家兎 12 頭, 75 mg/kg を 5 頭, 100 mg/kg を 4 頭, 計 21 頭に投薬した。すなわち、感染後 21日に 4 頭, 28日に 5 頭, 35日に 3 頭それぞれ 50mg/kg を投与したところ、剖検によつて、いずれの肝にも虫体はみとめられなかった。また感染後 28日に 75 mg/kg を 5 頭に投与したものおよび感染後 21日 100 mg/kg に投与した 3 頭においても、すべての例に肝蛭は棲息していなかった (Table 1)。

対照例 No. 22, No. 23 および No. 24 の家兎において検出した肝蛭数は 8, 4, 9 匹であり、虫体検出率は

Table 1 Anthelmintic effect of rafoxanide against immature flukes of *Fasciola* sp. in rabbits

| Rabbit number | No. of metacercariae given | Dose rate mg/kg | Days from infection to admin. | Days from infection to autopsy | No. of worms recovered | Ova in bile | Pathological changes of the liver | Side effect |
|---------------|----------------------------|-----------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------------|-------------|-----------------------------------|-------------|
| 1 | 20 | 50 | 21 | 72 | 0 | - | + | - |
| 2 | 20 | 50 | 21 | 72 | 0 | - | + | - |
| 3 | 20 | 50 | 21 | 72 | 0 | - | + | - |
| 4 | 20 | 50 | 21 | 72 | 0 | - | + | - |
| 5 | 20 | 100 | 21 | 24 | | | + | + |
| 6 | 20 | 100 | 21 | 74 | 0 | - | + | - |
| 7 | 20 | 100 | 21 | 74 | 0 | - | + | + |
| 8 | 20 | 100 | 21 | 67 | 0 | - | + | - |
| 9 | 20 | 50 | 28 | 74 | 0 | - | + | - |
| 10 | 20 | 50 | 28 | 75 | 0 | - | + | - |
| 11 | 20 | 50 | 28 | 75 | 0 | - | + | - |
| 12 | 20 | 50 | 28 | 75 | 0 | - | + | - |
| 13 | 20 | 50 | 28 | 75 | 0 | - | + | - |
| 14 | 20 | 75 | 28 | 75 | 0 | - | + | - |
| 15 | 20 | 75 | 28 | 75 | 0 | - | + | - |
| 16 | 20 | 75 | 28 | 77 | 0 | - | + | - |
| 17 | 20 | 75 | 28 | 77 | 0 | - | + | - |
| 18 | 20 | 75 | 28 | 70 | 0 | - | + | - |
| 19 | 20 | 50 | 35 | 77 | 0 | - | + | - |
| 20 | 20 | 50 | 35 | 77 | 0 | - | + | - |
| 21 | 20 | 50 | 35 | 77 | 0 | - | + | - |

Pathological changes of the liver. + : Slight changes.

Side effect. - : No apparent toxic effects were observed. + : Side effects were recognized.

Table 2 Infection rate of *Fasciola* sp. in rabbits (Untreated control)

| Rabbit number | No. of metacercariae given | Days from infection to autopsy | No. of worms recovered | | % recovery* of worms | Ova in bile | Pathological changes of the liver |
|---------------|----------------------------|--------------------------------|------------------------|----------|----------------------|-------------|-----------------------------------|
| | | | Adult | Immature | | | |
| 1 | 20 | 39 | 0 | 8 | 40.0 | - | ## |
| 2 | 20 | 55 | 1 | 3 | 20.0 | - | ## |
| 3 | 20 | 62 | 0 | 9 | 45.0 | - | ## |

* Number of worms recovered/number of metacercariae given.

Pathological changes of the liver. ## : Serious changes.

40, 20, 45%を示した (Table 2). また, 検出した肝蛭 21匹のうち 20匹は肝実質, 1匹は細胆管に棲息していた. なお虫体の大きさは, No. 23のものは 12.0~13.0 mm×3.2~4.0 mm, 平均 12.2 mm×3.5 mm, No. 24では 12.0~15.5 mm×3.5~6.0 mm, 平均 14.1 mm×4.3 mmであつた.

2. 肝病変

本剤を投与した家兎を感染後24~77日に剖検し, 肝の病変を肉眼的に観察した. 肝蛭の検出されなかつた家兎の肝病変は, 肝表面に灰白色の針頭大ないし米粒大の瘰

痕あるいは類線状の瘰痕形成がみられ, さらに肝表面の不整を呈しているものもあつた. また, このような瘰痕形成は, 感染21, 28, 35日と経過がすすむにともなつて多くみられた. しかし, 肝蛭感染の肝に通常みとめられる出血, 組織破壊などは観察されなかつた.

対照例はいずれも斃死し, また肝病変もきわめて高度であつた. すなわち, 肝は大網と胃に癒着し, 肝包膜は肥厚していた. 肝表面には粟粒大ないし大豆大の暗赤色の出血斑をみとめ, 凹凸がいちじるしく, 小豆大ないし大豆大の黄白色で限局性の病巣も散発していた. 実質は

やや血量に乏しく、出血巣および組織破壊を多数みとめ、ときに該部は泥状を呈する。組織破壊または細胆管の周囲には、灰白色の結合組織が軽度増殖していた。胆のうはいちじるしく腫大し、胆汁は赤褐色でやや粘稠度が高かった。なお、胆汁からは肝蛭卵を検出することはできなかった。

3. 副作用

本剤投与による副作用を、投薬後4日間にわたって観察した。すなわち、50 mg/kg および75 mg/kg 投与した家兎では、まったく異常をみとめられなかった。しかし、100 mg/kg を投与した家兎4頭中2頭は、投薬後2日目および3日目にわたり、元気喪失、食欲の減退を呈した。また、副作用を示した家兎のうち1頭は斃死し、他のものは投薬後4日目にいたり症状も軽減して回復した。

考 察

家畜肝蛭症の撲滅対策のうち、もつとも実施可能な方法は駆虫剤による肝蛭の駆除であり、今日では多種の駆虫剤の創製または改良がおこなわれている。しかし、これらの駆虫剤の成虫殺滅有効量では幼肝蛭を駆除することはできない。

肝蛭感染による病状は感染動物の種類、肝蛭寄生数、感染経過日数などによって多様にあられるが、本症は慢性に経過するという概念から、感染初期の病害が看過されやすい。幼肝蛭によって惹起される肝組織の破壊、出血および壊死などは、宿主がこうむる各種変化のうちでも重要な病変である。したがって、今後の肝蛭駆除剤の開発にあたっては、とくに幼肝蛭の殺滅を考慮しなければならないものと考えられる。

今回、Rafoxanide の家兎幼肝蛭にたいする殺滅効果について検討をおこなった。その結果、感染後21, 28, 35日において、本剤50, 75 mg/kg および100 mg/kg をそれぞれ1回の投与によって、いずれも完全に殺滅することができた。

本剤の幼肝蛭にたいする駆除試験は、すでに羊でこころみられている。Boray (1969) は、感染後6週を経過したものに20 mg/kg を投与し、90%以上の効果のみとめ、Campbell *et al.* (1970) も10~15 mg/kg の投与量によって完全駆除ができたと報告した。

Ross (1970) は、メタセルカリア300コずつ感染させた羊35頭に、本剤を第1胃に注入して効果を検討している。それによると、感染後4週のものに7.5 mg/kg 投与

では45%、10 mg/kg では67%、6週のものに7.5 mg/kg では87%、10 mg/kg では97%とそれぞれ殺滅効果を示したという。Armour and Corba (1970) も同様の試験をこころみ、2, 4, 6週を経過したものに7.5~15.0 mg/kg の投与によって、いずれも優れた効果のあることをみとめている。また、Edwards and Parry (1972) は本剤の安全性と駆虫効果を検討し、羊肝蛭の感染4週のものに7.5 mg/kg と15 mg/kg を経口投与したところ、安全指数8.0, 4.0を、駆除効果60%、90%をそれぞれみとめたとのべた。

以上のように、本剤の羊幼肝蛭にたいする駆除効果は、感染後6週のものに7.5 mg/kg の投与量によってかなり高い殺滅効果をおさめている。しかし、Presidente and Knapp (1972) がおこなった子牛感染幼肝蛭の殺滅試験では、感染後6週のものに7.5 mg/kg および10.0 mg/kg の投与でいずれも58.8%の駆除効果を示したという。このように投薬量、感染経過日数などがほぼ同じであっても、感染動物の異なることによって幼肝蛭の殺滅効果は一様でない。

幼肝蛭の駆除にあたり、もつとも考慮しなければならないのは、幼肝蛭をできるかぎり感染直後において殺滅することである。同じ幼肝蛭であってもきわめて幼若なものから成虫に近い幼虫があり、幼肝蛭の末期虫体を殺滅してもその後の病変をいちじるしく軽減することはむずかしい。

本実験において、感染後21日の幼肝蛭を50 mg/kg の投与によって完全に殺滅できたことは、幼肝蛭駆除剤としてかなり優れていることを立証したものと見える。なお、Boray (1969) は各種肝蛭駆除剤の比較試験において、本剤はきわめて安全性の高い製剤であるとのべていることから、投薬量のわずかの増加によって、より早期の幼肝蛭の殺滅が可能であると推察される。

本剤投与による副作用は、50 mg/kg および75 mg/kg 投与では異常はみとめられなかったが、100 mg/kg を投与した家兎4頭のうち2頭に、投薬後2~3日目にわたり食欲の減退と元気喪失がみられた。

む す び

肝蛭感染家兎24頭を用い、Rafoxanide[3,5-diiodo-3'-chloro-4'-(p-chlorophenoxy) salicylanilide]の幼肝蛭殺滅効果を検討し、つぎのような結果を得た。

1. 本剤50 mg/kg を肝蛭感染後21, 28, 35日に1回投与することによって、幼肝蛭を完全に殺滅することが

できた。また、感染後28日に75 mg/kg と21日に100 mg/kg の投与でも同様の殺滅効果がみとめられた。

2. 本剤の副作用は、50 mg/kg と75 mg/kg の投与では異常はみられなかつたが、100 mg/kg 投与では、4頭中2頭に食欲の減退と元氣消失をみとめた。

稿を終わるにあたり、供試薬剤の提供を受けたマルビー・メルク シャープ アンド ドーム株式会社に深謝する。

文 献

- 1) Armour, J. and Corba, J. (1970) : The anthelmintic activity of rafoxanide against immature *Fasciola hepatica* in sheep. *Vet. Rec.*, 87, 213-214.
- 2) Armour, J. and Corba, J. (1972) : The anthelmintic efficiency of diamphenethide against *Fasciola hepatica* in sheep. *Vet. Rec.*, 91, 211-213.
- 3) Boray, J. C. (1969) : Experimental fascioliasis in Australia. *Advanc. Parasit.*, 7, 95-210.
- 4) Boray, J. C. and Happich, F. A. (1968) : Standardised chemotherapeutical test immature and mature *Fasciola hepatica* infections in sheep. *Aust. Vet. J.*, 44, 72-78.
- 5) Boray, J. C., Happich, F. A. and Andrews, J. C. (1967) : Comparative chemotherapeutical test in sheep infected with immature and mature *Fasciola hepatica*. *Vet. Rec.*, 80, 218-224.
- 6) Campbell, W. C., Ostlind, D. A. and Yaktis, J. J. (1970) : The efficacy of 3,5-diiodo-3'-chloro-4' (p-chlorophenoxy) salicylanilide against immature *Fasciola hepatica* in sheep. *Res. Vet. Sci.*, 11, 99-100.
- 7) Edwards, C. M. and Parry, T. O. (1972) : Treatment of experimentally-produced acute fascioliasis in sheep. *Vet. Rec.*, 90, 523-526.
- 8) 木村 重・小野 豊(1971) : 肝蛭症の治療に関する研究(8) Bis-(2-hydroxy-3,5-dichlorophenyl) sulfoxide・diethylcarbamazine による幼肝蛭殺滅試験. *寄生虫誌*, 20, 34-39.
- 9) 小野 豊・木村 重(1966) : 宿主体内における肝蛭幼虫殺滅に関する研究 I. *日獣誌*, 28(学会号), 396-397.
- 10) 小野 豊・木村 重(1968) : 肝蛭幼虫に対する I-129 [bis-(2-hydroxy-3,5-dichlorophenyl) sulfoxide・diethylcarbamazine] の駆虫効果. *日獣誌*, 30(学会号), 81.
- 11) Presidente, P. J. A. and Knapp, S. E. (1972) : Anthelmintic effect of rafoxanide against immature *Fasciola hepatica* in calves. *Amer. J. Vet. Res.*, 33, 1603-1610.
- 12) Ross, D. B. (1970) : Treatment of experimental *Fasciola hepatica* infection of sheep with rafoxanide. *Vet. Rec.*, 87, 110-111.

Abstract

STUDIES ON THE TREATMENT OF FASCIOLIASIS
IX. ANTHELMINTIC EFFECT OF RAFOXANIDE ON IMMATURE
STAGE OF *FASCIOLA* SP. IN RABBITS

Shige KIMURA

*(Department of Animal Hygiene, Faculty of Agriculture,
Kobe University, Kobe, Japan)*

Bithionol and salicylanilide derivatives have been used most frequently as anthelmintics against liver flukes of cattle in Japan. These drugs at their recommended dose levels generally have a good action against the adult fluke, but no effect against immature flukes. Consequently, there remains a need for a safe and effective agent for the control of liver flukes in the pre-bile duct stage in the liver.

The present experiment was performed to determine the anthelmintic effects of rafoxanide [3,5-diiodo-3'-chloro-4'-(p-chlorophenoxy) salicylanilide] against immature flukes of *Fasciola* sp., using 24 rabbits. The results obtained are summarized as follows.

1. Twenty-one rabbits were each infected experimentally with 20 *Fasciola* sp. metacercariae, and given various doses of 50 to 100 mg/kg of rafoxanide. The drug was given orally to rabbits with pipette. Autopsy was performed during the period from 24 days to 77 days after infection. A single dose of 50 mg/kg was highly effective (100%) against immature flukes of three, four and five weeks of age. The drug was fairly effective (100%) against immature flukes of three and four weeks of age at a single dose of 75 and 100 mg/kg.

2. Side effects appeared in two of the four animals at 2 and 3 days after administration with 100 mg/kg of rafoxanide. The effects were consisted of depression and loss of appetite. However, none of the treated rabbits manifested any clinical sign of intoxication following administration with 50 and 75 mg/kg of the drug.