

## 日本住血吸虫症調査のための牛における 皮内反応の基礎的検討

保 阪 幸 男\* 朝 日 博 子\* 石 崎 達†  
田 辺 将 信‡ 仙 田 房 雄§ 奥 田 俊 郎§

(昭和54年10月25日 受領)

千葉県の利根川流域において、同河川敷に放牧された乳牛に、日本住血吸虫症が発生したことが報告され、再登場した人畜共通寄生虫症として注目される(横川ら, 1971)。牛の本症調査にあたり、第1次のスクリーニングの手段として、ヒトで広く用いられているような皮内反応が応用出来れば便利であろう。

牛における寄生虫症診断のための即時型皮内反応については、肝蛭症に関する報告は多く、抗原の検討および応用価値の評価などもなされている(小野ら, 1952 a, b; 升, 1958 a, b)。ところが日本住血吸虫症の皮内反応については、ヒトにおいて多くの検討がなされているが、牛のそれはほとんどみられない。

著者らは、牛の日本住血吸虫症調査に、皮内反応を応用するための方法術式に関する問題について検討し、その応用性の評価を試みた。

### 材料と方法

皮内反応用抗原：抗原としては、いずれも日本住血吸虫成虫体より抽出した Melcher 抗原と、いわゆる VBS 抗原を試験に供した。Melcher 抗原は Melcher (1943) の方法により、蛋白窒素量を 30 $\gamma$ /ml に調製し、VBS 抗原は Chaffee ら (1954) と同様の方法で作製し、総蛋白量を 50~100 $\gamma$ /ml としたものを使用した。

被検査動物：実験的に日本住血吸虫セルカリアを感染させた牛4頭と、千葉県の本症流行地における自然感染牛を使用した。また利根川流域で飼育されている牛で

COP 反応陽性のもの、および本症非流行地で飼育され、健康であると判定されたものも使用された。

抗原注射方法：皮内用2段式マント針をつけたディスプレイザブルシリンジ(1ml用)を使用し、通常は牛の尾根部内側の皮内、一部は頸部側面の皮内に一定量の抗原を注入した。

反応部位の測定：一般的には、透明なプラスチック製直定規を用い、膨疹の大きさを十字形に測定し、その平均値をとって膨疹直径を表示した。

### 成 績

#### 1. 抗原注射部位について

日本住血吸虫感染牛5頭の尾根部内側および頸部側面の皮内に、Melcher 抗原または VBS 抗原を0.1ml 注射し、反応発現状況を観察した。その結果、いずれの抗原でも頸部では反応が非常に不安定であり、ある個体では膨疹の発現がまったくないか、それが現れても限界不明のため、その大きさを測定することが困難であった。ところが尾根部内側に抗原を注射した場合には、いずれの抗原でも反応は明らかに現われ、注射後15~20分に膨疹が観察され、その大きさは直径11mm以上であった。しかし発赤は全く現われない例もあった。

#### 2. 抗原注射量について

前項で述べたように、Melcher 抗原および VBS 抗原のいずれも、0.1ml の注射で明らかに反応が現われているので、ここでは Melcher 抗原の0.1ml, 0.07ml および0.05ml の注射量について、膨疹の現われかたを比較検討した。

結果は Table 1 に示したように、4頭の感染牛において、膨疹の大きさには注射量による差はほとんどみられ

\* 国立予防衛生研究所寄生虫部

† 独協医科大学アレルギー内科

‡ 慶応義塾大学医学部寄生虫学教室

§ 杏林大学保健学部

なかつた。

### 3. 使用抗原について

まず Melcher 抗原 (protein N 30 $\gamma$ /ml) と VBS 抗原 (total protein 100 $\gamma$ /ml) について反応発現状態をみるために、5頭の感染牛にいずれかの抗原を0.05ml注射し、経時的に膨疹と発赤を観察した。Table 2がその結果であるが、膨疹はいずれの例でも現われ、20~30分後に最高に達するようであつた。発赤の発現は不安定で

Table 1 Wheal reaction in the cattle injected with different amounts of antigen (Melcher's antigen, 30 $\gamma$ /ml)

Amounts of antigen injected	Cattle number	Wheal diameter after antigen injection	
		15min.	30min.
0.05ml	B-1	10×16	10×16
	B-2	9×12	10×12
	D-1	9×17	11×17
	D-2	9×12	11×12
0.07ml	B-1	11×15	11×16
	B-2	10×10	11×12
	D-1	7×16	12×16
	D-2	ND	ND
0.1ml	B-1	10×16	10×16
	B-2	10×10	12×12
	D-1	11×14	11×15
	D-2	8×12	11×12

Table 2 Wheal and erythema resulted from the skin test with two different antigens in the cattle infected with *S. japonicum*

Cattle number	Antigen used	Reaction	Wheal diameter after antigen injection				
			10min.	20min.	30min.	40min.	60min.
D-1	Melcher	Wheal	10×11	11×13	11×13	11×11	10×11
		Erythema	—	+	+	+	+
D-2	VBS	Wheal	9×15	11×17	12×17	12×15	12×15
		Erythema	—	±	±	—	—
B-1	Melcher	Wheal	9×12	12×15	12×15	12×12	12×12
		Erythema	—	±	+	+	+
B-2	VBS	Wheal	9×17	15×18	15×18	14×17	14×15
		Erythema	+	+	+	+	+
B-3	VBS	Wheal	11×17	16×17	16×17	16×16	16×16
		Erythema	—	—	—	—	—

A 0.05 ml of the antigen was injected.

あり、まったく現われない例もあつた。

つぎに両抗原の反応性について更に検討するために、同一個体に Melcher 抗原 (protein N 30 $\gamma$ /ml) と VBS 抗原 (total protein 50 $\gamma$ /ml) をそれぞれ同時に注射し、30分後に膨疹を測定した。結果は Table 3 のように、5例の牛におけるそれぞれの膨疹は、11mm以上の直径を示し、抗原の違いによる差はほとんどないことがわかつた。

### 4. 反応の消長について

抗原注射後発現する反応の消長をさらに検討するために、7頭の牛に Melcher 抗原または VBS 抗原0.07ml注射し、膨疹直径を経時的に測定した。その結果は Fig. 1 のようであり、膨疹は注射後5~10分より現われ、20~30分で最大に達し、40分~60分後までそれが持続することがわかつた。その後は時間の経過とともに大きさを減じ、4~8時間後にほとんど消失するようであつた。

### 5. 陽性判定基準の検討

日本住血吸虫卵陽性または COP 反応陽性の牛を含む150頭の集団に、VBS 抗原による皮内反応を実施した。その際の膨疹直径の計測値度数分布をみると、Fig. 2 のように、直径10~11mmを境とし、その前後に2峰性の分布がみられる。この場合、虫卵陽性牛およびCOP 反応陽性牛のほとんどは、膨疹直径10mm以上の集団に属していることが確認された。このような傾向は、別に Melcher 抗原で皮内反応を行つた88頭の牛でもみられた。

Table 3 Wheal diameters in the skin test with two Different antigens in the cattle which were positive COP test

Cattle number	Antigen used	Wheal diameter 30 minutes after antigen injection
D-2	Melcher	11×13
	VBS	12×17
B-2	Melcher	12×12
	VBS	15×18
FA-1	Melcher	15×22
	VBS	15×22
FA-2	Melcher	18×25
	VBS	21×31
FA-6	Melcher	20×25
	VBS	16×20

A 0.07 ml of the antigen was injected

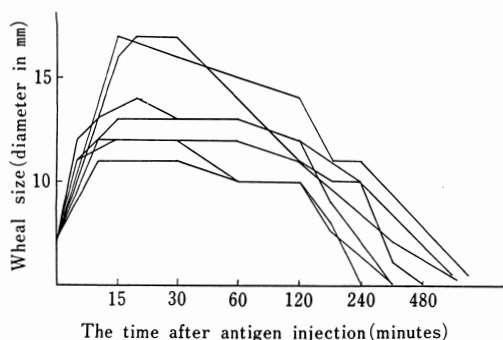


Fig. 1 Changes of wheal diameter after the injection of antigen in the skin of cattle.

#### 6. 集団検査における皮内反応と糞便検査およびCOP 反応の結果について

日本住血吸虫症流行地およびその周辺で飼育中の牛計239頭について、VBS 抗原による皮内反応、COP 反応および糞便検査を実施し、相互の関係をみると、Table 4 のようであった。被検牛239頭中皮内反応陽性は34頭(14.2%)であり、COP 反応陽性は30頭(12.6%)、虫卵陽性は11頭(4.6%)であった。またCOP 反応陽性牛30頭中皮内反応陽性のもは26頭(86.7%)現れ、11頭の虫卵陽性牛のうち皮内反応陽性は10頭(90.9%)であった。虫卵陰性群では、皮内反応が陽性に現れたものが10.5%あり、COP 反応が陽性に現れたものは8.3%であった。これらの結果より、皮内反応と糞便検査の相互の関係を統計的にみると、両者の間には明らかに有意の相

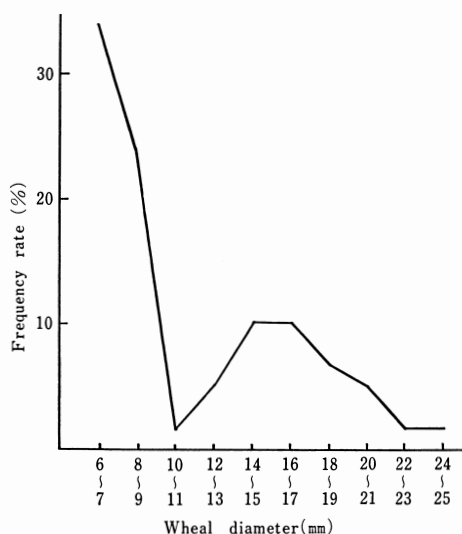


Fig. 2 The distribution of wheal size according to the diameter measurement in the skin test with VBS antigen in cattle.

Table 4 Relations of the result of skin test to the results of stool examination and COP test for schistosomiasis in cattle

		Skin test		Total
		No. & % positive	No. & % negative	
Stool examination	Egg positive (90.9%)	10	1 (9.1%)	11
	Egg negative (10.5%)	24	204 (89.5%)	228
COP test	Positive (86.7%)	26	4 (13.3%)	30
	Negative (3.8%)	8	201 (96.2%)	209

関があることが示された。また皮内反応とCOP 反応の結果についても、同様に有意の相関があることがわかった。

#### 考 察

本研究は牛の日本住血吸虫症診断に皮内反応を応用することを試み、とくにその方法術式に関する検討を行なったものである。方法の基準化を主眼とし、以下その各項について考察する。

##### 1. 使用抗原と反応発現状態について。

本研究で使用した抗原は、日本住血吸虫成虫体より抽出した Melcher 抗原と VBS 抗原であるが、結論的には、両抗原のいずれを使用してもよいといえる。

従来ヒトの皮内反応においては、判定の基準を主として膨疹反応にしているが、伊藤ら (1972) は、発赤も考慮した判定基準を用いるのが妥当であろうとしている。牛の場合には、上記いずれの抗原を使用しても、膨疹は安定して現れるが、発赤は非常に不安定であり、現われたとしても確実な測定は困難であった。

これらのことより、牛の日本住血吸虫の皮内反応には、Melcher 抗原 (protein N 30 $\gamma$ /ml) または VBS 抗原 (total protein 100 $\gamma$ /ml) を標準抗原とし、膨疹の大きさを指標として判定するのがよいと考えられる。

## 2. 抗原の注射部位と注射量について

抗原の注射部位としては、注射が容易であり、また反応の観察も容易である頸部側面と、通常肝蛭皮内反応で使われる尾根部内側とを比較検討した。その結果、尾根部内側での反応発現は安定しているが、頸部側面のそれはきわめて不安定であり、抗原注射部位としては、尾根部内側が適していると考えられた。

抗原の注射量については、0.05ml, 0.07ml および 0.1 ml の 3 段階の量を検討したが、それぞれの反応発現状態の間には差は認められなかった。しかし 0.05ml の注射量では、抗原注入を確認することが困難である例が現われ、その確認が容易である 0.07ml を標準注射量とするのがよいようであった。

牛の肝蛭症皮内反応では、抗原注射量を 0.2ml としている例が多い。ところがヒトの寄生虫症皮内反応の場合には、0.02~0.05ml で充分であるとされている。日本住血吸虫の場合、抗原材料としての成虫体が非常に小さいために、大量の抗原を得ることが比較的困難であることなどを考慮すれば、抗原の注射量は可能なかぎり少量にすることが望まれる。

## 3. 判定時間と陽性判定基準について

反応の判定時間については、多くの即時型皮内反応の場合、注射後 15 分としている。ところが牛に日本住血吸虫抗原を注射した場合には、膨疹反応の発現がややおそく、注射後 15 分では最大値に達しない例が多かった。また一般的に、反応がやや長時間持続するようであり、判定時間としては注射後 20~30 分が適当であろうと思われる。

陽性判定基準については、集団的に行なつた皮内反応の膨疹直径計測度数分布をみると、直径 10~11mm を境とし、その前後に 2 峰性の分布を示し、明らかに 2 群

にわかれることがわかつた。また虫卵陽性牛および COP 反応陽性牛のほとんどが、膨疹直径 10mm 以上の群に入ったことなどより、直径が 10mm 以上の膨疹が現れた場合に、これを陽性反応と判定するのが妥当であろう。

小野・磯田 (1952) は、牛の肝蛭症皮内反応における判定基準について、膨疹直径 15mm 以上を陽性とし、11~14mm を疑陽性としている。日本住血吸虫症の場合、かりにこの基準を適用すると、明らかに感染牛である虫卵陽性例が疑陽性または陰性と判定されるものが多くなる。使用抗原およびその注射量の相違などを考慮し、日本住血吸虫症皮内反応の場合には、以上の標準的方法により、膨疹直径 10mm 以上を陽性反応であるとしてよいと考える。

## 4. 実用性について

前述した方法の各種基準にしたがい、本症流行地およびその周辺で実施した 239 頭の皮内反応の結果をみると、日本住血吸虫卵陽性牛 11 頭中 10 頭 (90.9%) が反応陽性であり、虫卵陰性群における皮内反応陽性率は 10.5% であつた。これをいわゆるみかけの陽性とするのは考慮を要することであるが、かりにそうだとすれば、みかけの陽性は約 10%、みかけの陰性は約 9% となる。また皮内反応の適中率は約 90% とすることができる。

小野ら (1952 b) は、牛の肝蛭症皮内反応の適中率は 95% とし、充分実用性が高いとしている。虫種の違い、抗原の違いおよび牛の感作状態などを考慮し、本研究で推定した日本住血吸虫症皮内反応の適中率をみると、それが約 90% であつたということは、肝蛭症の場合とほとんど同様に充分実用性があると考えることができる。

一方、前述のように、みかけの陰性およびみかけの陽性が現れることを考えると、個々の牛の診断にあたっては問題なしとはいえない。しかし本来皮内反応は、個々の臨床診断に適するよりは、むしろ疫学的調査などにおける第一次のスクリーニングの手段と考えられているものである。前述した適中率 90% が確保されるとすれば、その点での実用性は充分高いと考えてよいであろう。

## 要 約

牛の日本住血吸虫症調査にあたり、皮内反応を応用することを試み、とくにその方法術式に関して検討し、以下のような結果を得た。

1. 日本住血吸虫成虫体より抽出した VBS 抗原 (total protein 100 $\gamma$ /ml) および Melcher 抗原 (protein N 30 $\gamma$ /ml) は、いずれも同様に標準抗原として使用することができる。

2. 抗原注射部位は尾根部内側の皮内とし、注射量は0.07~0.1mlとするのがよい。

3. 反応の判定時間は抗原注射後20~30分が適当である。

4. 反応の陽性判定基準としては、膨疹反応を指標とし、膨疹直径10mm以上のものを陽性反応とするのが妥当であろう。

5. COP 反応陽性牛30頭に皮内反応を実施し、26例(86.7%)が陽性反応を示し、また虫卵陽性牛11頭では10頭(90.9%)が陽性反応を示した。

6. いわゆるみかけの陰性が約9%、またみかけの陽性が約10%現れることより、牛における日本住血吸虫症の即時型皮内反応は、個々の診断には適さない面がある。しかし疫学調査などにおける、第1次スクリーニングの手段として応用することは推奨される。

終りにのぞみ、本研究の一部は農林水産特別試験研究費補助金により実施された。研究代表者の日本獣医畜産大学藤田潤吉博士をはじめ関係者各位の御協力に対し感謝の意を表します。またデータの解析にあたり有意義な御助言をいただいた国立予防衛生研究所寄生虫部長林滋生博士に感謝の意を表します。

## 文 献

1) Chaffee, E. F., Bauman, P. M. and Shapilo, J. J. (1954): Diagnosis of schistosomiasis

by complement-fixation. Amer. J. Trop. Med., 3, 905-913.

- 2) 伊藤洋一・保阪幸男・石崎 達・久津見晴彦 (1972): 日本住血吸虫症及びウエステルマン肺吸虫症流行地及び非流行地住民における各種寄生虫皮内反応の特性について. 寄生虫誌, 21, 266-274.
- 3) 升 茂 (1958 a): 肝蛭抗原の研究 I. 虫体諸物質の抗原性. 北里実験医学, 31, 29-35.
- 4) 升 茂 (1958 b): 肝蛭抗原の研究 III. 肝蛭虫体より作製した硫安抗原の皮内反応に依る牛肝蛭症診断成績. 北里実験医学, 31, 131-138.
- 5) Melcher, L. R. (1943): A antigenic analysis of *Trichinella spiralis*. J. Inf. Dis., 73, 31-40.
- 6) 小野 豊・磯田政恵・藤ヶ谷敏明・木村 重 (1952 a): 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, 348-349.
- 7) 小野 豊・磯田政恵・藤ヶ谷敏明 (1952 b): 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, 349-350.
- 8) 小野 豊・磯田政恵 (1952): 皮内反応による畜牛肝蛭症 (寄生虫病) の診断. 畜産の研究, 6, 559-560.
- 9) 横川宗雄・佐野基人・小島荘明・荒木国興・小川京子・山田 完・下徳辺昭郎・飯島太郎・樋口勝治・早坂成郎 (1971): 千葉県利根川流域の乳牛における日本住血吸虫症の発生について (1). 寄生虫誌, 20, 507-511.

**Abstract**

THE INTRADERMAL TEST FOR THE SURVEY OF  
SCHISTOSOMIASIS IN CATTLE

YUKIO HOSAKA, HIROKO ASAHI

*(Department of Parasitology, National Institute  
of Health, Tokyo 141)*

TATSUSHI ISHIZAKI

*(Department of Clinical Immunology, School of Medicine,  
Dokkyo University, Tochigi Prefecture, Japan)*

MASANOBU TANABE

*(Department of Parasitology, School of Medicine,  
Keio University, Tokyo, Japan)*

FUSAO SENDA AND TOSHIRO OKUDA

*(School of Health Science, Kyorin University,  
Tokyo, Japan)*

The immediate intradermal test was standardized and evaluated for the survey of schistosomiasis japonica in cattle. The results summarized are as follows :

1. An antigen (100  $\gamma$ /ml total protein) extracted from adult worms with veronal buffered saline had a comparable sensitivity to the Melcher's antigen (30  $\gamma$ /ml protein N) as a standardizing antigen in detecting cattle schistosomiasis.

2. An antigen injection of 0.07-0.1 ml amount on the inner hairless surface at the root of the tail was found suitable for the reaction in the skin test.

3. The optimal time for reading the reaction was 20-30 minutes after the antigen injection.

4. The interpretation of the result of the skin test should be made on the basis of wheal reaction and the average diameter of 10 mm or more can be adopted as positive.

5. Of 30 cattle which were positive in COP test, 26 (86.7 %) showed a positive reaction for the skin test with the schistosome antigen. Of 11 egg positive cases, 10 (90.9 %) reacted positively to the antigen.

6. Because of a false-negative rate of ca. 9 % as being observed in the ova positive cases as well as a false-positive rate of ca. 10 % determined with the animals in the schistosomiasis free area, the immediate intradermal test in cattle is of limited value for the diagnosis of schistosomiasis in an individual case. Nevertheless, the use of the skin test in the epidemiological survey is still advocated.