

6 山羊の肝蛭症の1例

家畜保健衛生所 田中知未 葛城肅仁

はじめに

肝蛭症は、主に反芻類の胆管に肝蛭が寄生することにより引き起こされ、多くの場合、症状を示さず慢性経過をたどる疾病であるが、消瘦、貧血、食欲減退、繁殖障害、泌乳量の低下等を呈し、経済的損失を与えることがある。最盛期には牛の感染率が80%を超えた地域があったが、1990年以降、駆虫薬の普及や水田の土地改良等により、国内における家畜の肝蛭症は激減している [1]。

今回、県内の山羊飼養農家にて肝蛭症が発生したので概要を報告する。

発生概要

平成29年5月3日、成山羊5頭を飼養する農家で、1頭が歩様踴躍を呈した後、用水路に転落し死亡した。同居山羊には異常はみられなかった。

当該農場では、山羊は水田の畦畔にて定置放牧されており、用水路の水を飲んでいった。水田は減農薬農法を取り入れていた。また、周辺でシカが多く出没することから、放牧場内への侵入防止のための金属柵が設置されていた。

I 死亡山羊の病性鑑定

材料・方法

1. 病理解剖

死亡山羊（ザーネン種、4歳、雌）を常法により解剖した（図1）。

2. 病理組織検査

病理解剖時に採材した脳および主要臓器を10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、常法によりパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を実施した。

3. 細菌検査

病理解剖時に採材した脳および主要臓器を5%羊血液寒天培地、チョコレート寒天培地を用い、常法により培養した。

4. 寄生虫検査

病理解剖時に採材した直腸便を用い、浮遊法および沈殿法を実施した。

結果

1. 剖検所見

肝臓は辺縁部が退色しており、胆管は拡張し、胆管および胆嚢壁は肥厚していた（図2）。管腔には褐色を帯びた粘稠液が大量に貯留しており、長径約4cmの肝蛭が多数認められた（図3）。肝蛭は肥厚した胆嚢内や肝臓の断面にも認められた。また、気管および気管支内には泡沫性の液体が充満していた。

2. 病理組織検査

肝臓に肝蛭の虫体を容れた虫道が多数認められた（図4）。虫道周囲には出血を伴い、好酸球を主体とする重度の細胞浸潤および線維組織の増生が認め

られた (図 5)。また、虫体では腸管、卵巣および精巣等の内部構造や皮棘が観察された (図 6)。小葉間胆管周囲には好酸球を主体とする細胞浸潤および線維組織の増生が認められ、線維化巣内には小胆管の増生が軽度に認められた (図 7)。一部の胆管では内腔に好酸球が浸潤していた。胆管周囲に増生した線維組織は小葉内に浸潤し、類洞には好酸球が浸潤していた。肺では肺胞、気管支腔内に漿液が貯留しており、肺胞内に好中球が軽度に浸潤していた。また、肺小葉間結合組織の肥厚が認められた (図 8)。

3. 細菌検査

有意な菌は検出されなかった。

4. 寄生虫検査

浮遊法にて線虫卵 (6, 200 epg) が検出された。

II 肝蛭の遺伝子解析

材料・方法

死亡山羊より検出された肝蛭について、ミトコンドリア由来酵素である NADH 脱水素酵素サブユニット 1 遺伝子 (ND1) の配列を決定し、BLAST 解析にて既知の配列との相同性検索を実施した。肝蛭の DNA は QIAamp DNA Kit を用いて抽出した。PCR のプライマーの塩基配列は Itagaki ら [2] の報告に従った。

結果

相同性検索の結果、死亡山羊より検出された肝蛭の ND1 配列は、*Fasciola hepatica* (KR422396) と 99% 一致した。

III 同居山羊検査

材料・方法

山羊の放牧場に立入し、死亡山羊の病性鑑定後に導入した 2 頭を含む 6 頭のお同居山羊の血液と糞便を採材した。採材した血液を用いて、血液生化学検査およびゲル内沈降反応による肝蛭の抗体検査を実施した。また、糞便を用いて、沈殿法による肝蛭の虫卵検査および ELISA (*Fasciola hepatica* ELISA キット) による肝蛭の抗原検査を実施した。

結果

平成 24 年に導入した山羊 1 頭で血清抗体および糞便抗原が陽性となった。また平成 28 年に導入した山羊 1 頭で血清抗体が陽性となった。いずれの山羊も糞便中に肝蛭の虫卵はみられなかった (表 1)。血液生化学検査では、血清抗体および糞便抗原が陽性となった山羊 (No. 1) で γ -GTP の上昇がみられた。また、放牧場に立入した際に、用水路内に肝蛭の中間宿主であるヒメモノアラガイの生息を確認した (図 9)。

表 1 同居山羊検査の結果について

材料	山羊 No.	1	2	3	4	5	6
		導入年 (平成)	24	28	28	28	29
血清	抗体検査	+	-	+	-	-	-
	虫卵検査	-	-	-	-	-	-
糞便	抗原検査	+	-	-	-	-	-



図 1 死亡山羊の外観

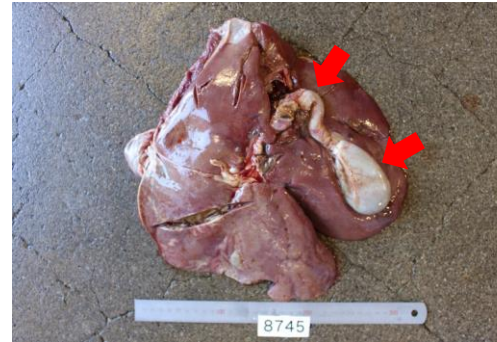


図 2 胆管の拡張、胆管および胆嚢壁の肥厚

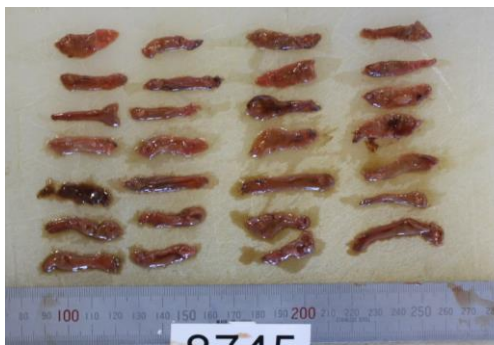


図 3 胆管および胆嚢から検出された肝蛭

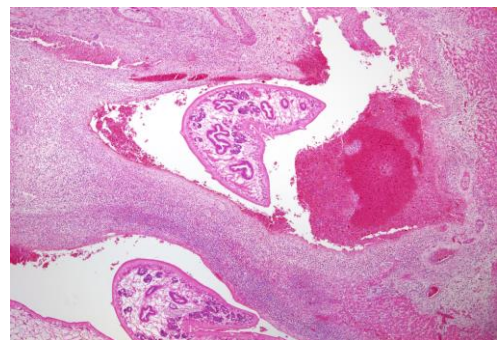


図 4 肺 (HE 染色×40) 虫体を容れた虫道

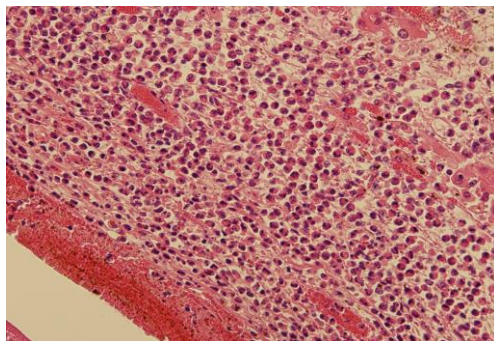


図 5 肝臓 (HE 染色×400)

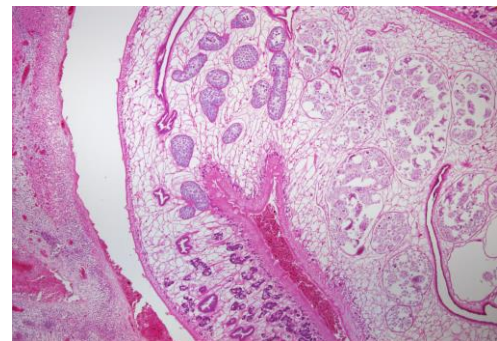


図 6 肝臓 (HE 染色×40)

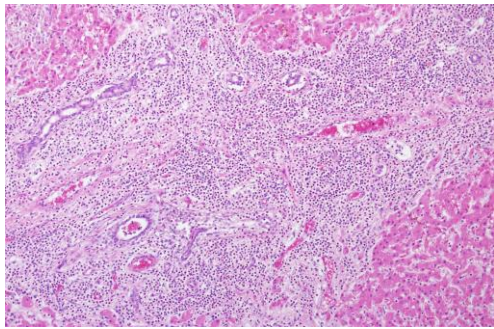


図7 肝臓 (HE 染色×100)

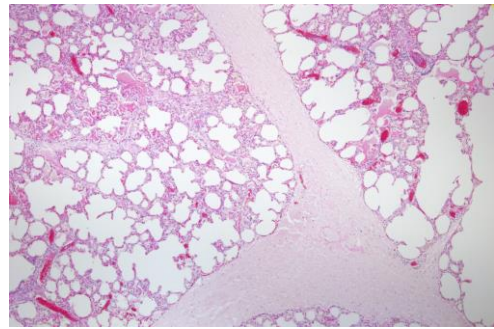


図8 肺 (HE 染色×100)



図9 用水路でみられたヒメモノアラガイ
(長径 0.3~0.5 cm)

IV 県内の汚染状況調査

材料・方法

県内牛飼養農家 45 戸で採材した 704 頭分の血清(平成 25 年度から平成 29 年度の 5 条検査の余剰検体)および県内山羊飼養農家 3 戸で採材した 8 頭分の糞便(平成 29 年度の病性鑑定の余剰検体)を用い、血清抗体検査および糞便の虫卵検査、抗原検査を実施した。

結果

牛血清を用いた抗体検査では 1 戸 4 頭で陽性となった。山羊の糞便を用いた虫卵検査および抗原検査の結果は全て陰性であった。

血清抗体が陽性となった牛飼養農場に立入し、牛舎横の水田跡で放牧していることや、放牧場にヒメモノアラガイが生息していることを確認した。また、飼養牛 6 頭分の糞便を採材し、虫卵検査および抗原検査を実施した結果、2 頭の糞便より虫卵が検出され(図 10)、虫卵が検出された 2 頭を含む 4 頭で抗原陽性となった。



図10 糞便中の肝蛭卵

考察

死亡山羊の病性鑑定の結果、山羊は溺水により死亡したものと考えられた。また、肝蛭の重度寄生と線維化を伴う好酸球性肝炎が認められたことにより、本症例を山羊の肝蛭症と診断した。同居山羊検査で肝蛭の寄生が示唆されたことや、放牧場の用水路内に肝蛭の中間宿主であるヒメモノアラガイが確認されたことから、放牧場で肝蛭の生活環が成立し、山羊への感染を繰り返していたことが明らかとなった。肝蛭は野生動物と家畜の間で相互伝播することが知られており [3]、当該放牧場の周囲に野生のシカが多くみられていることから、山羊を導入する前に肝蛭の生活環が成立していた可能性がある。

日本に分布している肝蛭の学名は未確定で『日本産肝蛭』と総称されている。日本産肝蛭は形態的に変位幅が大きく多様であるが、DNA による遺伝子型から、*F. hepatica* に類似する虫体（遺伝子型 Fsp1）と *F. gigantica* に類似する虫体（遺伝子型 Fsp2）が識別されている [4] [5]。今回、死亡山羊から検出された肝蛭は遺伝子解析の結果、*F. hepatica* に類似する虫体（遺伝子型 Fsp1）であることが判明し、既知の国内分布状況 [2] に一致した（図 11）。

肝蛭に感染していても、糞便中に虫卵が検出されない場合があり、この原因として、肝蛭が未成熟であることや寄生数が少ないことなどが知られている。これは、糞便の虫卵検査のみでは肝蛭に感染した家畜の摘発が不十分であることを意味する。今回、死亡山羊の解剖時に、肝臓から多数の肝蛭が検出されたにもかかわらず、直腸便を用いた寄生虫検査で肝蛭の虫卵が検出されなかった。同居山羊の検査では、虫卵検査に加え、血清抗体検査および糞便抗原検査を実施し、いずれの山羊からも虫卵は検出されなかったが、6 頭中 2 頭で、血清抗体および糞便抗原の両方もしくは血清抗体のみが陽性となった。これらの結果から、糞便の虫卵検査結果のみで肝蛭の感染の有無を判断することは困難であり、感染家畜の摘発には、血清抗体検査や糞便抗原検査等を併せて実施することが必要性であると言える。

今回、余剰検体を用いた県内の汚染状況調査において、牛飼養農家 1 戸で肝蛭の汚染が確認された。当該農場の放牧場には以前よりヒメモノアラガイの生息が確認されており、継続的に牛に感染していたと考えられた。肝蛭の予防として中間宿主貝の駆除は現実的ではなく、給与する稲わらを 4 ヶ月以上保存することや、定期的な駆虫薬の投与が重要となる [4]。しかし、肝蛭に感染した家畜は症状を示さず、慢性経過をたどる傾向にあるため、肝蛭に汚染された農場においても、徹底した予防が行われなことが多い。今後、無農薬・減農薬農法等の環境保全を重視した農法の振興により、環境中に中間宿主貝が保持され、シカ等の野生動物によって肝蛭の汚染地域が拡大することが懸念される。したがって、家畜飼養者の意識向上のためにも、日頃の衛生指導の中で、肝蛭症の予防法について周知する必要があると考える。

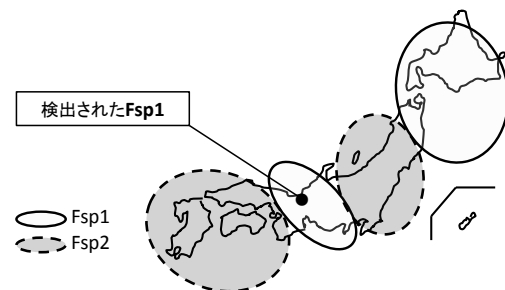


図 11 肝蛭の遺伝子型の国内分布状況

引用文献

- [1] Okajima J, Shibata K, Takahashi E, Nagafuchi T, Okajima K, Nonaka N: Current status and its epidemiological consideration of *Fasciola* and *Eurytrema* infections in beef cattle of Japan. *Vet Med Sci*, 78, 785-790 (2016)
- [2] Itagaki T, Kikawa M, Sakaguchi K, Shimo J, Terasaki K, Shibahara T, Fukuda K: Genetic characterization of parthenogenic *Fasciola sp.* in Japan on the basis of the sequences of ribosomal and mitochondrial DNA. *Parasitology*, 131, 679-685 (2005)
- [3] 関まどか: 家畜・野生動物における肝蛭寄生バイオマーカーを用いた血清診断法の開発とその応用. *岩獣会報*, 42, 2, 51-55 (2016)
- [4] 石井俊雄: 改訂 獣医寄生虫学・寄生虫病学 2 蠕虫他. 183-202
- [5] Madoka I, Noriyuki I, Tadashi I: DNA Types of Aspermic *Fasciola* Species in Japan. *J. Vet. Med. Sci*, 72, 10, 1371-1374 (2010)