

## 肝蛭症の凝集反応 Rapid Flocculation Test に関する研究

## (2) 各種抗原液の検討

進 貞 夫 藏 元 虎 藏 市 原 強 市 原 鶴 雄

化学及血清療法研究所 (所長 竹屋男綱博士)

(昭和33年7月11日受領)

## 緒 言

肝蛭虫体抗原の抗原性に関しては、Oliver-Gonzalez (1953), Uroquhart ら (1954), 吉田ら (1954), 前川ら (1954), 樺ら (1955), 小野ら (1956) の従来の諸報告は、いずれも多糖体及び蛋白抗原に注目した研究に限られている。著者等は、虫体の脂質抗原をとりあげ、先般来実験を行つてゐるが、池降反応における成績は既報 (1956) した通りである。前報 (1958) においては、山羊肝蛭症血清を用いて、所謂凝集反応を試み、その基礎的反応条件を主として、種々の検討を行つた。この実験は、凍結乾燥虫体のアルコール可溶性脂質分画(抗原L)に、コレステリンを添加した抗原に基づいたものであつた。この場合、コレステリン抗原粒子に適当な大きさを与える所謂増感剤の役割をなすものである。一般に、この凝集反応においては、抗原として菌体、虫体若しくは臓器等の抽出物が用いられるのは、他の血清反応と同様であるが、更に、増感剤として、種々の非抗原性物質が用いられる。例えば、コレステリンの他に、ベントナイト及びカオリンも用いられている。二、三の研究者は、増感剤によつて鋭敏化された反応を、更に、抗原粒子の凝集程度の観察を容易にし、判定を正確にするため、抗原粒子に種々の色素を吸着させた着色抗原液を使用している。

本報においては、上記のような増感剤の他に更に、

SADAO SUSUMI, TORAZO KURAMOTO, TSUYOSHI ICHIHARA, & TSURUO ICHIHARA: Studies on the rapid flocculation test for fascioliasis (2) Examination for various antigen emulsions (The Chemo-Sero Therapeutic Research Institute, Kumamoto)

二、三の非抗原性物質を増感剤として用いた場合、これらの増感剤に色素を吸着させ、着色抗原とした場合及び抗原L以外に、虫体の多糖体抗原(抗原B)を用いた場合の各種抗原について、それらが示す反応原性の考察を試みた。

## 材料及び方法

## 1. 血清

前報と同様に、当研究所で購入した生後1年以上の成熟山羊血清を用い、更に、血清対照として、離乳前の幼若山羊材料を用いた。

## 2. 抗原液

Table 1. に示したように、9種の抗原液について実験を行つた、すなわち、これらの抗原液は大別すると、a) 二、三の非抗原性物質を増感剤としたもの(抗原1, 2, 3, 4及び5)、b) これらの増感剤に色素を着色せしめたもの(抗原6及び7)及びc) 虫体の精製多糖体分画を抗原に用いたもの(抗原8及び9)の3区分になる。各抗原液は、次のようにして調製された。

区分a) 抗原1については、前報に詳細に記された。これは抗原L感作コレステリン液である。抗原2については、まず Stock Bentonite を Bozicevich 法 (1951) に準じて次のようにして作つた。ベントナイト(和光製)の0.5gを蒸溜水100ccに懸濁し、1分間 Waring Blendor にかけて。これを更に、蒸溜水を加えて全量を500ccにした。烈しく振盪して1時間放置した。上清をとり、これを1,300 rpm, 15分間遠心後、再び上清をとり、1,600 rpm, 15分間遠心を行つた。この最後の沈澱を集め、リン酸緩衝液100ccに懸濁し、Waring Blendor に1分間かけ、冷暗所に保存した。これを Stock Bentonite と

Table 1. Various antigen emulsions examined.

Antigen no.	Constituent of antigen			
1	Antigen L	+	Cholesterin	+ Buffered sol.
2	Antigen L	+	Bentonite	+ Buffered sol.
3	Antigen L	+	Kaolin	+ Buffered sol.
4	Antigen L	+	Diatomite	+ Buffered sol.
5	Antigen L	+	Talc	+ Buffered sol.
6	Antigen L	+	Cholesterin	+ Buffered sol. + Dye
7	Antigen L	+	Bentonite	+ Buffered sol. + Dye
8	Antigen L + Antigen B	+	Cholesterin	+ Buffered sol.
9	Antigen B	+	Bentonite	+ Buffered sol.

し、実験に際しては、抗原 L、生理的食塩水及び Stock Bentonite を抗原区分 I (1:4:5) 抗原区分 II (1:9:5) 及び抗原区分 III (1:14:5) の割合に混合し、抗原 L 感作ベントナイト粒子の均一な浮游液を得、これらを Test Antigen として反応に用いた。抗原 3、4 及び 5 においても、Stock Kaolin, Stock Diatomite 及び Stock Talc は、大体 Stock Bentonite に従って調製された。抗原 2 の場合と同じく、それぞれの Stock 液と生理的食塩水及び抗原 L とを上記の割合に混合し、抗原区分 I、II 及び III をつくつた。

区分 b) 抗原 6 及び 7 は、前者は、色素を磷酸緩衝液に溶解し、これに前報のコレステリン加抗原 L 液を 10% になるよう懸濁して、30 分間冷暗所に放置して感作し、色素吸着抗原 L 感作コレステリン粒子の浮游液を Test Antigen として用い、後者は抗原 2 の Stock Bentonite に色素を吸着させ、1 時間放置後、抗原 L 液を 10% になるように懸濁して、30 分間冷暗所において感作を行い、色素吸着抗原 L 感作ベントナイト液とした。色素としてはエオジン (Merck 製)、クリスタル紫 (Merck 製)、ゲンチアナ紫 (和光製)、ブリリアントクレゾル青 (Merck 製)、マラヒット緑 (片山製)、ライト緑 (Merck 製)、アズール II (和光製)、チオニン (和光製)、フクシン (片山製) メチレン青 (和光製)、メチル紫 (片山製) 及びナイト青 (Bayer 製) の 12 種類を用い、コレステリン及びベントナイトに対する吸着性を検し、更に、この着色増感剤のみの懸濁液を、ガラス板上に 0.05cc のせ、120rpm で 5 分間回転を行い、80 倍光学顕微鏡下 (以下 80 倍光顕下と略) で、自然凝集性を調べた。この吸着性及び自然凝集性の二者より、良好と思われる色素を選択し、実験に使用することとした。

区分 c) 抗原 8 及び 9 に用いた精製多糖体 (抗原 B) は既報に従って調製した。すなわち、洗滌した新鮮虫体を 8% 三塩化醋酸で抽出し、この抽出液の透析内液について 75% アセトン濃度で沈澱を集め、これを 4% 三塩化醋酸に不溶性の沈澱が生じなくなる迄反覆する。最後に得られた粉末をアセトン、アルコール及びエーテルで脂質を洗滌除去後、真空乾燥して白色粉末を得た。これを抗原 B とした。これは、糖定性反応陽性であり、蛋白定性反応陰性であつた。抗原 8 は、磷酸緩衝液で抗原 B を 800 倍、1,600 倍、3,200 倍及び 6,400 倍に稀釈し、それぞれの稀釈液に、コレステリン加抗原 L 液を 10% になるよう懸濁し、1 時間放置後、抗原 L、B 感作コレステリン液としたものである。抗原 9 は、抗原 2 に記した Stock Bentonite に、抗原 B を 400 倍、800 倍、1,600 倍及び 3,200 倍になるようにそれぞれ溶解し、1 時間放置後、抗原 B 感作ベントナイト液としたものである。

### 3. 反応術式

前報のように、ガラス板 (直径 20mm, 深さ 3mm の凹みを有するもの) の凹みに血清を 0.05cc 入れ、1cc が 60 滴になるように調製された 1cc 注射器で、抗原液を 1 滴 ( $\frac{1}{60}$ cc) 加えた。これを 5 分間、120rpm の速度で水平回転した後、直ちに、80 倍光顕下若しくは肉眼で、抗原粒子の凝集度を観察し、+++ 以上、++、+、- 及び - に分けて成績を判定記載した。尚、+ 以上の凝集を反応陽性とした。

### 4) 沈降反応術式

沈降反応は、既報に準じて行つた。すなわち、56°C 30 分間加温した非働性血清を小試験管にとり、これに抗原液を等量に重層し、1 時間静置後、その成績を判定した。抗原には、抗原 L を少量含んだ抗原 B の 800 倍乃至

Table 2. Antigenic properties of some materials sensitized with lipid antigen (antigen L)

Serum No.	Developing materials						Kaolin						Diatomite						Talc								
	Bentonite		Kaolin		Diatomite		Talc		Bentonite		Kaolin		Diatomite		Talc		Bentonite		Kaolin		Diatomite		Talc				
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II			
22	1	2	4	1	2	4	1	2	3	1	2	4	1	2	4	1	2	3	1	2	4	1	2	3	1	2	4
36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60†	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\* I....Antigen L : Saline : Developing material sol. 1 : 4 : 5  
 II.... " : " : " 1 : 9 : 5  
 III.... " : " : " 1 : 14 : 5  
 † Noninfested serum with *F. hepatica*. The following tables are same.

1,600 倍溶液を用いた。

実験成績

1. 抗原L感作二、三物質の抗原性

Table 2. に示したように、ベントナイトにおいては抗体価1において陽性反応がみられ、抗体価4においては、疑陽性反応(判定は陰性)のみられるものが若干認められる程度である。抗原区分I、II及びIIIをみると、IIIがやや弱反応を示すように思われた。

カオリン、珪藻土及びタルクにおいては、いずれも抗体価は0であつた。又、感染陰性血清に対していずれも全く反応を示さないのは、供試したどの増感剤についても同様であつた。

2. 色素吸着抗原液の抗原性

まず、コレステリンに対する色素の吸着性及び自然凝集性を検討したところ、アズールII、エオジン、マラヒット緑及びライト緑の4種の色素が最も適当であつた。これに反し、ベントナイトに対する色素の吸着性及び自然凝集性はいずれもあまり良好とはいえず、それらの色素の緩衝液に対する溶解性から、エオジン及びライト緑の2種の色素を選定し、以下の実験に用いることとした。

色素吸着抗原L感作コレステリン液についてはアズールII、エオジン、マラヒット緑及びライト緑の4種の色素をそれぞれ用いた場合の反応と、対照として行つた抗原L感作コレステリン液による反応とは、Table 3. のように全く差異は認められなかつた。又、色素吸着抗原液の場合は、抗原粒子の凝集度が肉眼的に容易に観察され、その肉眼による判定成績は80倍光顕下の成績とよく一致した。

色素吸着抗原L感作ベントナイト液では、エオジン及びライト緑の場合、Table 4. のように、Table 2. の抗原L感作ベントナイト液による反応と、全く差異は認められなかつた。

3. 抗原L、B感作コレステリン液の抗原性

該抗原液はコレステリン粒子を抗原L及び各濃度の抗原Bで感作したものである。すなわち、前述の抗原Lコレステリン液を最終濃度10%になるよう、抗原Bの800倍、1,600倍、3,200倍及び6,400倍稀釈緩衝液でもつて懸濁した。Table 5. に示されたように、対照抗原として実験した抗原L感作コレステリン液による反応成績と、抗原L、B感作コレステリン液による反応成績とは若干の相違が認められた。いずれの抗原B濃度においても、おむね抗体価において1段階の低下が認め

Table 3. Antigenic property of stained cholesterin sensitized with lipid antigen

Serum no.	Dyes	Not stained			Azur-II			Eosin			Malachite green			Light green		
	Serum dilutions	32	64	128	32	64	128	32	64	128	32	64	128	32	64	128
31		+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
32		+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
33		+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-
34		+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
36		+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
38		+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
40		+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
42		+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
48		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53		+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
43†		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52†		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 4. Antigenic property of stained bentonite sensitized with lipid antigen

Serum no.	Dyes	Eosin						Light green								
	Antigen emulsions	I		II		III		I		II		III				
	Serum dilutions	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4			
32		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36		+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
40		-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
42		+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
48		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60†		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

られた。

4. 抗原B感作ベントナイト液の抗原性

抗原Bの濃度 400倍, 800倍, 1,600 倍及び3,200 倍稀釈の4段階について実験したが, Table 6. のようにいずれも抗体価 1 乃至 2 の弱反応を示した。抗原Bの 3,200 倍稀釈の場合は, 他の濃度に較べて若干抗原性が低下しているように思われた。

5. 着色抗原による山羊血清における反応成績

前述の実験より, コレステリン以外の増感剤を用いた抗原液では所期の目的を期待し得ないことが解つた。そこで, 肝蛭感染陽性山羊血清 36 例及び陰性山羊血清 54 例, 合計 90 例について抗原L感作着色コレステリン液

を用いて, 未着色抗原液による反応と比較検討を行つた。着色抗原液としては, アズールII, マラヒット緑及びライト緑によつたものを用いた。着色抗原液による反応は, すべて肉眼的観察により判定することとし, 対照抗原として用いた抗原Lコレステリン液による反応は, 肉眼的観察による判定及び80倍光顕下判定を併用した。その成績は Table 7. に示した通りである。すなわち, F分布表により危険率5%として, 各抗原液による反応陽性率の信頼限界をみると, 肝蛭感染山羊血清36例について, 未着色抗原(光顕下判定)81.9~99.3%, 未着色抗原(肉眼的判定) 71.6~95.3%, アズールII (肉眼的判定) 81.9~99.3%, マラヒット緑(肉眼的判定) 81.9~99.3%

Table 5 Antigenic property of cholesterin sensitized with antigen L and B

Serum no.	Antigen B dilutions	Control*			800**			1,600**			3,200**			6,400**		
	Serum dilutions	32	64	128	32	64	128	32	64	128	32	64	128	32	64	128
31		+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32		+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
33		+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
34		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36		+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-
38		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40		+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-
42		+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
48		+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
53		+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
43†		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52†		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\* Antigen L only. \*\* The concentration of antigen L is equal to the control.

Table 6. Antigenic property of bentonite sensitized with polysaccharide antigen (antigen B)

Serum no.	Antigen B dilutions	400			800			1,600			3,200		
	Serum dilutions	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
32		+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
36		+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-
40		+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
42		+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
48		+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
60†		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

及びライト緑(肉眼的判定)78.2~98.2%であった。これにより、肉眼的判定による着色抗原液の成績は、未着色抗原液による80倍光顕下の成績との間に全く有意の差は認められなかった。且つ、抗原粒子の凝集度の判定が容易であることから、前者は後者より優れていると考えられた。尚、感染陰性血清54例中2例について、併行実施した沈降反応も含めて、いずれの反応にも陽性成績が示されたことは感染の“きめて”の判定方法のみならず、反応そのものの特質を、より一層検討することを要求するものであろう。この2例の山羊においては糞便検査及び剖検の結果いずれも一般寄生虫は陰性であった。

Table 7. Results of rapid flocculation test with stained antigen emulsions for 90 goat sera

	+	+	+	+	+	+	-	-
Infestation with* <i>F. hepatica</i>	+	+	+	+	+	+	-	-
Precipitation test	+	+	+	-	±	-	+	-
L+C**	+	+	+	+	-	-	+	-
L+C***	+	-	+	+	-	-	+	-
L+C+Azur-II***	+	+	+	+	-	-	+	-
L+C+Malachite green***	+	+	+	+	-	-	+	-
L+C+Light green***	+	+	-	+	-	-	+	-
No. of cases	26	3	1	4	1	1	2	52

\* Judged by autopsy, egg examination of the feces and gall bladder contents.

\*\* Observed microscopically at a magnification of 80x.

\*\*\* Observed macroscopically.

L is antigen L, and C is cholesterin.

考察

所謂凝集反応の肝蛭症に対する試みについて、前報及び本報にその成績が示された。これらの種々の実験、特に種々の供試抗原の検討成績から、抗原物質として虫体の脂質分画を、増感剤としてコレステリンを用いた抗原

懸濁液が、最も優れた反応原性を与えることが解つた。

旋毛虫症においては、Suessenguth *et al.* (1944)は虫体の蛋白及び多糖体分画を示すアルカリ抽出物で、コレステリンを感作した。Bozicevich *et al.* (1951)は虫体の蛋白及び多糖体分画を示す生理的食塩水抽出物で、ベントナイトを感作した。そして、両報告いずれも好成績を得ている。肺吸虫症では、横川 (1956 a, b) が虫体のペロナル緩衝液抽出物でベントナイトを感作し、好結果を報告している。肝蛭症においても、これらの諸研究に述べられた抗原の調製方法を試みたが、いずれも所期の成績は得られなかつた。虫体の脂質分画及び多糖体分画でベントナイトを感作したが、Table 2. 及び Table 6. に示されたように、抗原性は全く微弱であつた。更に、増感剤となる非抗原性物質として、ベントナイト以外に、カオリン、珪藻土及びタルクを用いた場合にも、同様に抗原性は微弱であるか或は全く示されなかつた。つまり、肝蛭症においては、少くとも脂質抗原の増感剤としては、コレステリンが最も優れていることが解つた。多糖体は、コレステリンを増感剤とした所謂凝集反応の抗原としては、脂質抗原に劣るように思われた。Table 5. のように、脂質及び多糖体分画の2者でコレステリンを感作すると、脂質単独で感作した場合よりも、反応原性が若干低下する成績が得られたことは、本反応の興味を助長するものである。

色素を抗原粒子に吸着させ、着色抗原として、反応を試みた報告が二、三ある。すなわち、梅毒(井出ら: 1936)において、クリスタル紫及びアズールⅡを用い、旋毛虫症(Bozicevich *et al.*: 1951)において、チオニン青○が用いられている。尚、後者は、吸着させる色素としては、酸性色素より塩基性色素の方が適当であると述べている。著者等は12種の色素について実験し、アズールⅡ、マラヒット緑及びライト緑の3種により、最もよい結果を得た。これらの着色抗原液を検討する目的は、増感剤の添加により鋭敏化され且つ抗原凝集度の判定が容易になつた反応を、増感剤の着色により、更に判定を確実にしようとするにある。感染山羊血清36例についての結果をみると、抗原L感作コレステリン液(未着色抗原)による反応の光顕下判定は、その肉眼的判定成績より若干優れている。これに反し、着色抗原液による反応は、肉眼的判定を行つた場合、未着色抗原液の光顕下判定成績と同一の結果が得られた。

いずれにしても、本反応のための抗原については、脂質抗原の精製、蛋白抗原の検討等、未だ、検討の余地が

数多く残されており、更に、種々の問題を追求しなければならない。

## 要 約

前報に続いて、更に、二、三の抗原液を調製し、肝蛭症の所謂凝集反応について、検討を加えた。その成績を要約すると、次のようである。

1. 脂質抗原を感作原とした場合、増感剤としては、コレステリンが最も適当で、ベントナイト、カオリン、珪藻土及びタルクは不適當であつた。
2. 脂質抗原感作コレステリン液を着色抗原液とするには、アズールⅡ、マラヒット緑及びライト緑が良好であつた。
3. 多糖体抗原を感作原とした場合、コレステリン及びベントナイトはいずれも、増感剤として適当ではなかつた。

おわりに、所長竹屋男綱先生に敬意を表し、御指導、御校閲をいたゞいた熊本大学教授六反田藤吉、岡村一郎両先生に厚く御礼申し上げます。なお、本研究に御協力下さつた河内山娃子嬢並びに所員各位に心から感謝いたします。

本報告の要旨は第43回日本獣医学会(昭和32年4月)において発表した。

## 文 献

- 1) Bozicevich, J., Tobie, J. E., Thomas, E. H., Hoyen, H. M. & Ward, S. B. (1951): A rapid flocculation test for the diagnosis of trichinosis. *Pub. Health Rep.*, 66 (25), 806-814. —2) 市原鶴雄・進貞夫・蔵元虎蔵 (1956): 肝蛭症の診断に関する研究, I. 沈降反応抗原, *日本獣医学雑誌*, 18 (4), 119-129. —3) 井出惣兵衛・井出琯男 (1936): 井出梅毒反応(梅毒血液染色法)に就て, *皮膚科泌尿器科雑誌*, 39 (2), 214-219. —4) 蔵元虎蔵・進貞夫・市原鶴雄 (1957): 肝蛭症の凝集反応について, II. 第43回日本獣医学会講演. —5) 前川一之・北沢馨・櫛節政久 (1954): 肝蛭 Allergen の精製及び結晶化, *日本農芸化学会誌*, 28 (5), 365-368. —6) Oliver-Gonzalez, J. (1953): *In vivo* inhibition of blood agglutinins by polysaccharides from animal parasites, *Proc Soc. Exp. Biol. and Med.*, 82 (4), 559-561. —7) 小野元雄・渡辺晋 (1956): 肝蛭症に於ける肝蛭虫体多糖体分画物の皮内反応に関する研究, *日本獣医学雑誌*, 18 (4), 141-148. —8) Suessenguth, H. & Kline, B. S. (1944): A simple rapid flocculation slide test for trichinosis in

man and in swine., Am. J. Clin. Path., 14 (5) 471-484.—9) 進貞夫・蔵元虎蔵・市原強・市原鶴雄 (1958) : 肝蛭症の凝集反応(Rapid Flocculation Test) に関する研究, I. 抗原及び反応術式に関する考察, 寄生虫誌, (6), 666-673. —10) 椿精一・升茂 (1955) : 皮内及び補体結合試験に於ける牛肝蛭症 (*Fasciola hepatica*) 抗原の研究, 獣医畜産新報, No. 154, 249-254. —11) Uroquhart, G. H., Mulligan, W. & Jennings, F. W. (1954) : Artificial immunity to *Fasciola hepatica* in rabbits. 1. Some studies with protein antigens of *F. hepatica*., J. Infect. Dis., 94 (2), 126-133. —12) 横川宗雄 (1956 a) : 肺吸虫症の“Rapid Flocculation Test”について, 国立公衆衛生院研究報告, 5 (2), 7-10. —13) 横川宗雄 (1956 b) : 肺吸虫症の皮内反応・補体結合反応及び凝集反応 (Rapid Flocculation Test) について, 臨床病理, 4 (3), 224-230. —14) 吉田孝・兼清知彦・渡辺昇蔵 (1954) : めん, 山羊の肝蛭症の診断に関する研究, 皮内反応と糞便検査との関係について (附) 肝蛭症の補体結合反応について, 日本獣医師会雑誌, 7 (2), 64-67.

### Summary

In a previous report the examinations of fundamental conditions of the rapid flocculation test (RF test) for goat fascioliasis were carried out using the cholesterol crystals sensitized with lipid antigen (antigen L). As a result, we observed that the specific reactions show the antibody titer of 1:32 or above. In the present paper the experimental results with various antigen emulsions

prepared by means of other procedures were showed.

Nine kinds of antigen emulsions were employed in the examinations. These emulsions could classified as follows: (I) the emulsions that used some nonantigenic substances, (II) the emulsions that contained the coloured particles, (III) the emulsions that contained the micro-particles sensitized with polysaccharide antigen (antigen B). When lipid antigen (antigen L) was used, the excellent developing material was cholesterol crystal, and bentonite, kaolin, diatomite and talc were all inferior. Twelve dyes were used for staining the sensitized cholesterol crystals and bentonite particles. Among these dyes, azur-II, malachite green and light green were applicable. The reactivity of emulsion sensitized with antigen B and L was slightly weaker than the one with antigen L only. Moreover, the bentonite particles were not sensitized with antigen B as same as antigen L only. The reactions with all preparations for the infested goat sera showed the antibody titer of 1:32 as the minimum titer. The agglutinant of the stained cholesterol crystals sensitized with antigen L were easily observed macroscopically. There were no difference between with stained emulsions (macroscopically observed) and unstained emulsion (microscopically observed at a magnification of 80×) on the judgements of the reactions.