

## 日本住血吸虫症の免疫に関する研究

### (5) タンニン酸処理赤血球凝集反応の検討

佐藤 重房 沢田 利貞  
永田 泰之助 米山 邦彦

群馬大学医学部衛生学教室

(昭和 36 年 10 月 12 日受領)

#### 緒 言

schistosomiasis の agglutination test について、Liu & Bang (1950), Standen (1952), Stirewalt & Evans (1955), Oliver-González *et al.* (1955) および Kagan & Levine (1956) 等は *Schistosome* の living cercaria に実験的 *Schistosome* 感染動物および *schistosomiasis* 患者血清を作用させると agglutination が起ることを認め、なお、患者血清については、急性期の cercarial agglutinin titer は慢性期の titer よりも高く、また、治療によつてその titer が低下することを認めた。しかし、しばしば本反応は正常血清によつても非特異的に現れ、Oliver-González および Kagan は本反応は Cercarienhüllen Reaktion (CHR test) と種々な点で類似していると報告している。hemagglutination test について、Oliver-González *et al.* (1949) および山口 (1953) 等は 正常人血清の 81.8~81.7% にヒツジ赤血球を凝集する反応物質が存在し、この血清中の反応物質は *Schistosoma mansoni* や *Schistosoma japonicum* の虫体抗原によつて吸収され、ヒツジ赤血球と *Schistosome* 成虫との間には共通抗原が存在するが、その反応機序に関しては不明であると述べている。

Boyden (1951) によつて、タンニン酸で処理したヒツジ赤血球は蛋白質抗原を吸着し、その結果として特異抗体の存在で赤血球凝集反応を起すことを報告した。その後、本反応は Stavitsky (1953) により詳細に検討され、血清学および臨床医学の種々の分野に応用されている。Kagan (1955) は *Schistosoma mansoni* および *Schistosomatium douthitti* の実験的感染動物および抗原免疫した動物の抗血清について、タンニン酸処理赤血球凝集反応を行つたところ、本反応は cercarial agglutination test や CHR test よりも反応は鋭敏で、且つ特異的であると報告した。Kagan & Oliver-González (1958) 等

は本反応によつて schistosomiasis mansoni の治療の判定を実施できることを報告した。著者らは schistosomiasis japonica におけるタンニン酸処理赤血球凝集反応について、Stavitsky (1953) の報告した方法に準じてその反応条件を検討するとともに実験的感染動物および虫体抗原免疫動物の抗血清についての本反応を行つて 2, 3 知見を得た。

#### 実験材料

1) 血球：血液をヒツジの頸静脈より採り、予め保存液 (Alsever: ブドウ糖 2.05%, クエン酸ナトリウム 0.8%, 食塩 0.42%, クエン酸 0.055%, pH 6.1) を入れた茄子型コルベンに等量加え、よく混和してから冷蔵庫 (4~6°C) に貯え、使用時に、この血清を遠心して得た血球を生理食塩水で数回洗滌して実験に使用した。

2) 磷酸緩衝生理食塩水： $\frac{1}{15}$  M,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\frac{1}{15}$  M,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  液を 3 : 7 および 7 : 3 の比に混合して各 pH 7.2 および pH 6.4 の磷酸緩衝液を作つた。これら 2 種の磷酸緩衝液に 8.5% 食塩水を 9 : 1 の割合に加え、各 pH 7.2 および pH 6.4 の磷酸緩衝生理食塩水 (以下緩衝液と省略) を調製した。

3) タンニン酸：タンニン酸は純正化学 K.K. 製品を使用した。赤血球を処理する際のタンニン酸希釈液は pH 7.2 緩衝液を用いた。

4) 赤血球凝集反応、沈降反応および家兔免疫に用いた抗原：*Schistosoma japonicum* cercaria 感染後 78 週目の罹患山羊より得た虫体を凍結乾燥し、sample 瓶に密封して deep freezer (-20°C) に保存した。使用時に乾燥虫体を計量した後メノールの乳鉢で十分に磨砕した。

赤血球感作抗原液は虫体末に緩衝液 (pH 6.4) を加え、1% 虫体浮游液とし、良く混和後 sonic disintegrator (10° KC, 10°C 以下) に 30 分間曝射してから冷却遠心 (14,000 rpm, -5°C, 30 分間) し、その上清液を ampule

内に密封し、抗原の原液(1:100)として deep freezer (-20°C)に保存した。

沈降反応用抗原液は上記の方法により、虫体末に生理食塩水を加えて1%虫体浮游液とし、これより抗原の原液(1:100)を作製した。

家兎の免疫には虫体末に生理食塩水を加えて、1%虫体浮游液を作りこれを抗原(1:100)として用いた。

#### 5) 被験血清

a) 虫体免疫家兎抗血清: 1%虫体浮游液1回量1 ml (乾燥虫体10 mg 含有)を週2回皮下に注射し、これを3週間つけ、注射終了後1週目に全採血を行つて血清を分離し、非働化(56°C, 30分間)後、1万倍の割合にマーズニンを加え、deep freezer (-20°C)に保存した。

b) cercaria を人工感染した家兎血清: cercaria 100 隻 per kg を経皮感染させ50日後に全採血を行い分離して得た血清を虫体免疫家兎抗血清と同様に保存した。

### 実験方法

タンニン酸処理赤血球凝集反応は Stavitsky (1953)の方法に準じて実施した。

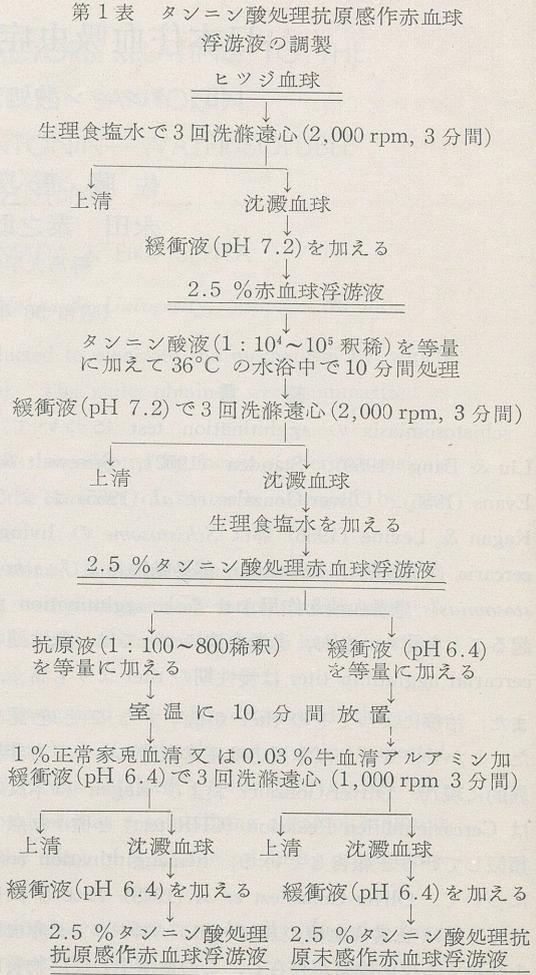
#### 1) 赤血球の処理および感作

a) 赤血球タンニン酸処理: 赤血球を含んだ保存液(Alsever)を遠心して分離したヒツジ血球を生理食塩水で3回洗滌遠心(2,000 rpm, 3分間)して得た血球を緩衝液(pH 7.2)に浮游させ2.5%赤血球浮游液とし、 $1:10^4 \sim 10^5$ 希釈タンニン酸液を等量に加えて、浴槽内(37°C)で10分間処理した。次に遠心(2,000 rpm, 3分間)して血球を分離した後、更に緩衝液(pH 7.2)で3回洗滌遠心(2,000 rpm, 3分間)して得た血球を生理食塩水に浮游して2.5%赤血球浮游液を得た。

b) 赤血球の抗原感作: 2.5%タンニン酸処理赤血球浮游液に1:100~800希釈抗原液を等量に混和し、室温に10分間放置して抗原感作を行つた後、遠心(1,000 rpm, 3分間)により得た血球を1%正常家兎血清加緩衝液(pH 6.4)または0.03%牛血清アルブミン加緩衝液(pH 6.4)で3回洗滌遠心(1,000 rpm, 3分間)した後、同一緩衝液を以て2.5%赤血球浮游液を作製した。対照はタンニン酸処理赤血球浮游液に生理食塩水を加え同一操作を行つて2.5%赤血球浮游液とした(第1表)。

#### 2) 被験血清の処理

実験動物より採血分離した被験血清は予め非働化(56°C, 30分間)した後、ヒツジ赤血球に対する非特異的な異種凝集素を除去するために被験血清にヒツジ洗滌血球



を等量に加え、孵卵器内(36°C)で2時間処理して異種凝集素を吸収した。この吸収血清を1%正常家兎血清加緩衝液(pH 6.4)または0.03%牛血清アルブミン加緩衝液(pH 6.4)で1:10に希釈して実験に用いた。

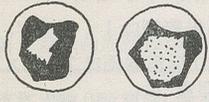
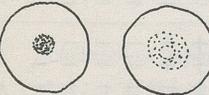
#### 3) 赤血球凝集反応の術式

前記の処理を終つた1:10希釈血清を1%正常家兎血清加緩衝液(pH 6.4)または0.03%牛血清アルブミン加緩衝液(pH 6.4)で1:10~10×2<sup>8</sup>に倍数希釈し、この希釈血清を小試験管に1 ml づつ分注し、これらに2.5%抗原感作赤血球を0.05 ml づつ滴下し、よく混和後、室温に放置して3~24時間のちに管底の赤血球凝集塊の出現の有無を観察し、最小凝集素価をもって測定した。対照は1%正常家兎血清加緩衝液(pH 6.4)または0.03%牛血清アルブミン加緩衝液(pH 6.4)にタンニン酸処

理抗原感作赤血球を加えたものおよび希釈血清の試験管列の各々にタンニン酸処理抗原未感作赤血球、タンニン酸未処理抗原感作赤血球およびタンニン酸未処理抗原未感作赤血球を加えて観察した。

4) 赤血球凝集反応の判定基準

第1表及び第1図を参照。

管底像	判定
	卅
	卅
	+
	±
	-

第1図 管底像と判定

第2表 反応の判定条件と判定

反応の判定条件	判定
管底の凝集塊の強く現われたもの又は辺縁をとりかこんで全部に強い凝集の認められたもの	卅
辺縁の一部に強い凝集の認められたもの	卅
辺縁をとりかこんで弱い凝集が認められたもの	+
辺縁の一部に弱い凝集が認められたもの	±
全く凝集が認められず管底に血球が点として集つたり又はリング状に認められたもの	-

実験成績

実験的 schistosomiasis japonica のタンニン酸処理赤血球凝集反応について Stavitsky の報告した方法に準じてその反応条件の検討を行った。

1. 赤血球処理に必要なタンニン酸液の至適濃度の検討

a) 被験血清の希釈に1%正常家兎血清加緩衝液(pH

6.4)を使用した場合

*Schistosoma japonicum* 虫体抗原で免疫した家兎抗血清(沈降原価 1:100×2<sup>4</sup>)を1%正常家兎血清加緩衝液(pH 6.4)で1:10~10×2<sup>8</sup>に希釈し、この希釈血清に1:10<sup>4</sup>~10<sup>5</sup>希釈タンニン酸液で処理し、1:100抗原液で感作したヒツジ血球を加えて赤血球凝集反応を行ったところ、1:10<sup>4</sup>タンニン酸液で処理した抗原感作血球の凝集素価は1:10×2<sup>7</sup>であつた。しかし、同時に希釈血清列の対照に疑陽性、抗原未感作血球に陽性(凝集素価1:10×2<sup>2</sup>)を認めた。1:2×10<sup>4</sup>タンニン酸液で処理した抗原感作血球の凝集素価は1:10×2<sup>6</sup>、1:4×10<sup>4</sup>タンニン酸液では1:10×2<sup>4</sup>、1:6×10<sup>4</sup>タンニン酸液では1:10×2<sup>5</sup>、1:8×10<sup>4</sup>タンニン酸液では1:10×2、1:10<sup>5</sup>タンニン酸液では反応は疑陽性であつた。なお、1:2×10<sup>4</sup>~10<sup>5</sup>タンニン酸液で処理した抗原未感作血球およびこれらの希釈血清列の各対照の赤血球凝集反応はいずれも陰性であり、タンニン酸未処理の抗原感作および未感作血球の凝集反応も陰性であつた(第3表)。

第3表 赤血球の処理に必要なタンニン酸液の濃度の検討\*

タンニン酸液の濃度	抗原	被験血清の希釈 10×2 <sup>n</sup> (n=0...8)								対照	
		0	1	2	3	4	5	6	7		8
1:10 <sup>4</sup>	{感作 未感作	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	+	±	±
1:2×10 <sup>4</sup>	{感作 未感作	卅	卅	卅	±	+	+	+	-	-	-
1:4×10 <sup>4</sup>	{感作 未感作	卅	卅	卅	+	+	卅	-	-	-	-
1:6×10 <sup>4</sup>	{感作 未感作	卅	卅	卅	+	+	+	-	-	-	-
1:8×10 <sup>4</sup>	{感作 未感作	卅	卅	±	-	-	-	-	-	-	-
1:10 <sup>5</sup>	{感作 未感作	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-
未処理	{感作 未感作	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\* (a) 被験血清の希釈に1%正常家兎血清加緩衝液(pH 6.4)を使用した場合

b) 被験血清の希釈に0.03%牛血清アルブミン緩衝液(pH 6.4)を使用した場合

前実験と全く同一の操作によつて被験血清を0.03%牛血清アルブミン加緩衝液(pH 6.4)で希釈した血清について赤血球凝集反応を行ったところ、1:10<sup>4</sup>タンニン酸液で処理した抗原感作血球の凝集素価は1:10×2<sup>7</sup>であり、抗原未感作血球でも反応は陽性(凝集素価1:10×2<sup>2</sup>)であつた。1:2×10<sup>4</sup>タンニン酸液で処理した抗原感作血球の凝集素価は1:10×2<sup>5</sup>であり、同



抗原感作血球の凝集素価は  $1:10 \times 2^3$ ,  $1:800$  抗原感作血球の凝集素価は  $1:10 \times 2^2$  であった。

$1:8 \times 10^4$  タンニン酸液で赤血球を処理した場合、 $1:100$  抗原感作血球の凝集素価は  $1:10 \times 2^2$ ,  $1:200$  および  $800$  抗原感作血球の凝集素価は  $1:10 \times 2^2$ ,  $1:600$  抗原感作血球の凝集素価は  $1:10 \times 2$  であった。

なお、各希釈血清列の対照および抗原未感作血球の反応はいずれも陰性であった(第6表)。

第6表 赤血球の感作に必要な抗原液の濃度の検討\*

タンニン酸液の濃度	抗原液の濃度	被験血清の希釈								対照	
		0	1	2	3	4	5	6	7		8
$1:6 \times 10^4$	$1:100$	+	+	+	+	+	+	±	-	-	-
	$1:200$	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	$1:400$	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	$1:800$	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-
	未感作	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$1:8 \times 10^4$	$1:100$	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	$1:200$	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-
	$1:400$	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-
	$1:800$	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	未感作	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\* (b) 被験血清の希釈に  $0.03\%$  牛血清アルブミン加緩衝液 (pH 6.4) を使用した場合

3. *Schistosoma japonicum* 虫体抗原による免疫および人工感染した家兎血清のタンニン酸処理赤血球凝集反応と沈降反応の成績

予備実験により被験血清の希釈に  $1\%$  正常家兎血清緩衝液 (pH 6.4) を使用した際のヒツジ赤血球の処理に必要なタンニン酸液の濃度は  $1:2 \times 10^4$ , 感作抗原液の濃度は  $1:100$  が適していることが判つたので、これらの反応条件にしたがつて、虫体抗原免疫 (1回 10 mg, 週2回, 3週間) および人工感染 (cercaria 数 100 隻 per kg, 経皮感染後 50 日目) した家兎血清について赤血球凝集反応を行い、同時に虫体抗原を用いて沈降反応を行った。

免疫および感染前の被験血清に対する両反応はいずれも陰性であった。

虫体免疫した家兎 No. 21, 22, 24 の凝集素価はいずれも  $1:10 \times 2^6$  で、その沈降原価は  $1:100 \times 2^3$ ,  $1:100 \times 2^4$ ,  $1:100 \times 2^3$  であった。また、No. 23 の凝集素価は  $1:10 \times 2^5$ , その沈降原価は  $1:100 \times 2^4$  であり、No. 25 の凝集素価は  $1:10 \times 2^4$ , その沈降原価は  $1:100 \times 2^3$  であった。

cercaria を人工感染した家兎 No. 31 および 33 の凝

集素価は  $1:10 \times 2^5$ , No. 32 の凝集素価は  $1:10 \times 2^6$  で、これら3羽の家兎の沈降原価はいずれも  $1:100 \times 2^4$  であった(第7表)。

### 考 按

*schistosomiasis japonica* のタンニン酸処理赤血球凝集反応について、Stavitsky (1953) の方法に準じてその反応条件を検討した。

ヒツジ赤血球の処理に純正化学製タンニン酸を使用した<sup>2)</sup>が、Boyden, (1951), Stavitsky, (1953), Garabedian (1957) および堀田ら (1960) の報告した Merck および Schering のタンニン酸による結果と差異は認められなかった。

タンニン酸液の希釈濃度は抗原感作後の赤血球の洗浄および被験血清の希釈に  $1\%$  正常家兎血清加緩衝液 (pH 6.4) を用いた場合と  $0.03\%$  牛血清アルブミン加緩衝液 (pH 6.4) を用いた場合とでは反応に大きな差異が認められた。すなわち、前者を用いた場合は  $1:10^4$  タンニン酸液で処理した抗原感作血球に非特異的凝集が認められたが、 $1:2 \times 10^4 \sim 8 \times 10^4$  タンニン酸液では非特異的凝集は認められず、凝集素価は  $1:10 \times 2^6 \sim 10 \times 2$  であったが、後者を用いた場合には  $1:10^4 \sim 4 \times 10^4$  タンニン酸液で処理するといずれも非特異的凝集が認められ、 $1:6 \times 10^4$  および  $1:8 \times 10^4$  タンニン酸液処理では非特異的凝集は認められず凝集素価は  $1:10 \times 2^6$  および  $1:10 \times 2^2$  であり、前者に比較して特異的反応が現れるためのタンニン酸液の濃度が著しく限定されることがわかつた。黒梅 (1959) は蛔虫症において後者の場合に  $1:5 \times 10^4$  タンニン酸液を用いたところ、しばしば非特異的な凝集反応が認められることを指摘した。これらの事実より、抗原感作後の赤血球の洗浄および被験血清の希釈には  $0.03\%$  牛血清アルブミン加緩衝液 (pH 6.4) を用いることは適当ではなく、 $1\%$  正常家兎血清加緩衝液 (pH 6.7) を用いる方が良いことがわかつた。この場合のタンニン酸液の至適濃度は  $1:2 \times 10^4$  であった。

$2.5\%$  タンニン酸処理赤血球浮遊液に等量の希釈抗原液 ( $1:100 \sim 800$ ) を加えて抗原感作を室温に 10 分間放置して行つたところ、赤血球の感作に適した抗原液の濃度は  $1:100$  であった。

$1:2 \times 10^4$  タンニン酸液でヒツジ赤血球を処理し、 $1:100$  抗原液で感作し、赤血球の洗浄および被験血清の希釈に  $1\%$  正常家兎血清加緩衝液 (pH 6.4) を用いて、虫体抗原免疫家兎血清について赤血球凝集反応を行つたところ、その凝集素価は  $1:10 \times 2^4 \sim 10 \times 2^6$  であった。

第7表 抗原免疫及び人工感染した家兎血清のタンニン酸処理赤血球凝集反応 (HA) と沈降反応 (PT) の成績

家兎番号	抗 原 免 疫*				人 工 感 染**			
	HA		PT		HA		PT	
	免疫前	免疫後	免疫前	免疫後	感染前	感染後	感染前	感染後
21	0	10×2 <sup>6</sup>	0	100×2 <sup>3</sup>				
22	0	10×2 <sup>6</sup>	0	100×2 <sup>4</sup>				
23	0	10×2 <sup>5</sup>	0	100×2 <sup>4</sup>				
24	0	10×2 <sup>6</sup>	0	100×2 <sup>3</sup>				
25	0	10×2 <sup>4</sup>	0	100×2 <sup>3</sup>				
31					0	10×2 <sup>3</sup>	0	100×2 <sup>4</sup>
32					0	10×2 <sup>3</sup>	0	100×2 <sup>4</sup>
33					0	10×2 <sup>3</sup>	0	100×2 <sup>4</sup>

\*1 虫体抗原免疫……1回 10 mg (1 ml), 週 2 回, 3 週間

\*\* 人工感染……100 隻 cercariae per kg 経皮感染

また, cercaria を人工感染した家兎血清の凝集素価は 1 : 10×2<sup>5</sup>~10×2<sup>6</sup> であつた。なお, これらの実験家兎の免疫前および感染前に採集した対照血清の赤血球凝集反応はすべて陰性で非特異的凝集反応は認められなかつた。

タンニン酸処理赤血球凝集反応は schistosomiasis japonica の血中抗体証明法として cercarial agglutination test や CHR test に比べて, 鋭敏且確實であることを認めた。また, 沈降反応との相関性は認められなかつたが, これは赤血球凝集反応および沈降反応の反応機構の差によるものと考えられた。

結 語

schistosomiasis japonica におけるタンニン酸処理赤血球凝集反応について検討した。

1) 抗原感作後の赤血球の洗滌および被験血清の希釈には 0.03% 牛血清アルブミン加緩衝液 (pH 6.4) よりも 1% 正常家兎血清加緩衝液 (pH 6.4) がすぐれている。また, 赤血球処理の場合のタンニン酸液の至適濃度は 1 : 2×10<sup>4</sup> 希釈であつた。

2) 赤血球感作に必要な抗原液の濃度は 1 : 100 が適当であつた。

3) 虫体抗原による免疫家兎血清の凝集素価は 1 : 10×2<sup>6</sup> で, 人工感染した家兎血清の凝集素価は 1 : 10×2<sup>5</sup>~10×2<sup>6</sup> であつた。

4) タンニン酸処理赤血球凝集反応と沈降反応との間に相関性は認められなかつた。

本論文の要旨は昭和 36 年 4 月第 30 回日本寄生虫学会総会に於いて発表した。

参 考 文 献

1) Boyden, S. V. (1951): The adsorption of pro-

teins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera. J. Exper. Med., 93 (2), 107-120.

2) Garabedian, G. A., Matossian, R. M. & Djianian, A. Y. (1957): An indirect hemagglutination test for hydatid disease. J. Immunol., 78 (4), 269-272.

3) 堀田恭子・米村充・渡辺清久 (1960): 血球凝集反応によるジフテリア抗毒素価の測定。日本細菌学誌, 15 (2), 179-183.

4) Kagan, I. G. (1955): Hemagglutination after immunization with Schistosome antigens. Science, 122 (3165), 375-377.

5) Kagan, I. G. & Levine, D. M. (1956): Studies on the serology of schistosomiasis II. The in vitro activity of cercariae of Schistosoma mansoni in sera of normal and antigen-injected animals. Exper. Parasit., 5 (1), 48-58.

6) Kagan, I. G. & Oliver-Gonzalez, J. (1958): Hemagglutination studies with Schistosoma antigen. J. Parasit., 44 (5), 457-460.

7) 黒梅恭芳 (1959): 蛔虫アレルギーにおける血中抗体に関する研究, 第 1 報, 体腔液感作タンニン酸処理赤血球凝集反応の検討。アレルギー, 8 (1), 17-23.

8) Liu, C. & Bang, F. B. (1950): Agglutination of cercariae of Schistosoma mansoni by immune sera. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 74 (1), 68-72.

9) Oliver-González, J. (1952): Agglutinations for sheep cells in human serums and their relationship to the A<sub>2</sub> isoagglutinin-like substance infections organism. J. Infect. Dis., 90 (1), 44-47.

10) Oliver-González, J., Bauman, P. M. & Benenson, A. S. (1955): Immunological aspects of infections with Schistosoma mansoni. Am. J.

- Trop. Med. Hyg., 4(3), 443-452.
- 11) Oliver-González, J. & González, L. M. (1949): Release of the A<sub>2</sub> isoagglutinin-like substance of infectious organisms into human blood serum. J. Infect. Dis., 85(1), 66-71.
  - 12) Standen, O. D. (1952): The *in vitro* effect of normal and immune serum upon the cercariae of *Schistosoma mansoni*. J. Helminth., 26(1), 25-42.
  - 13) Stavitsky, A. B. (1954): Micromethods for the study of proteins and antibodies I. Procedure and general applications of hemagglutination and hemagglutination-inhibition reactions with tannic acid and protein-treated red blood cells. J. Immunol., 72(5), 360-367.
  - 14) Stavitsky, A. B. (1954): Micromethods for the study of proteins and antibodies II. Specific applications for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with tannic acid and protein-treated red blood cells. J. Immunol., 72(5), 368-375.
  - 15) Stirewalt, M. A. & Evans, A. S. (1955): Serologic reactions in *Schistosoma mansoni* infections. 1. Cercaricidal, precipitation, agglutination and CHR phenomena. Exper. Parasit., 4(2), 123-142.
  - 16) Vogel, H. & Minning, W. (1949): Hüllenbildung bei *Bilharzia*-Cercarien in Serum *bilharzia* infizierter Tiere und Menschen. Zbl. Bakt. 153, 91-105.
  - 17) 山口富雄 (1953): 日本住血吸虫の抗原性に関する一実験. 寄生虫誌, 2(1), 92.

## IMMUNOLOGICAL STUDIES ON SCHISTOSOMIASIS JAPONICA

### V. ON THE HEMAGGLUTINATION TEST WITH TANNIC ACID AND ANTIGEN-TREATED RED BLOOD CELLS

SHIGEFUSA SATO, TOSHISADA SAWADA, YASUNOSUKE NAGATA

KUNIIHIKO YONEYAMA

(Department of Hygiene, School of Medicine, Gunma University Maebashi, Japan)

The hemagglutination test with tannic acid and antigen-treated red cells were investigated on schistosomiasis japonica.

1) Buffered saline containing 1% normal rabbit serum is more satisfactory than that containing 0.03% bovin serum albumin, in washing sheep blood red cells which were treated with antigen and in diluting antisera.

2) Sheep blood red cells which were incubated in a 1:20,000 dilution of tannic acid for 10 minutes at 37°C were then treated with antigen in a dilution of 1:100 for 10 minutes at room temperature.

Hemagglutination tests were conducted with the antisera of 5 rabbits, immunized by the subcutaneous injections of 10 mg of adult worms twice a week for 3 weeks, and with the sera of 3 rabbits, infected with 100 cercariae per Kg. The sera of 5 rabbits showed positive reactions in dilutions of 1:10<sup>2</sup> and 1:10<sup>3</sup> and the sera of 3 rabbits showed positive reaction in dilutions of 1:10<sup>2</sup> and 1:10<sup>3</sup>.

3) The correlation was not found in the results of hemagglutination and precipitation.