

トキソプラズマ抗体の分析

1. ゲル内拡散法による沈降抗体の分析

米谷 武士 鈴木 俊夫
関野 敏 大鶴 正満

新潟大学医学部医動物学教室

横山 政徳

新潟県衛生研究所

(昭和45年10月2日 受領)

はじめに

トキソプラズマ (以下 Tp と略す) 感染と関連があると思われる症例の診断に際して、生検組織または体液中に原虫が証明される場合はむしろ稀であり、血清中 (時には体液中) における Tp 抗体の検出を有力な根拠とする例の方が多い。しかし、血清反応陽性のヒトの全てが現在 Tp に罹患しているか、または感染を耐過したものであるかどうかという点についての説明は未だ十分でなく、なお検討の余地がのこされている。また動物実験による Tp 感染と Tp 抗体との緊密な関連が立証されたとしても、自然感染による Tp 症には不顕性感染が圧倒的に多いものと推測され、現症との関連は推定の域を出ない。しかも現在採用されている血清反応の成績だけでは感染後の経過期間を知ることはほとんど不可能である。

著者らは Tp 抗体を分析することによつて、これらの問題を解明する糸口が引き出せはしないかと期待し検討を続けている。本報においては、各種動物から分離した Tp 株のマウスにおける抗体産生状況とその他の実験動物種の抗体産生の差異を色素試験 (以下 DT と略す) および赤血球凝集反応 (以下 HA と略す) で経時的に追跡し、Ouchterlony 法ならびに免疫電気泳動法を用いて抗体の分析を試み、さらにそれらを Tp 症の疑われた症例、健康者で Tp 抗体陽性例の成績と比較しながら本症診断への実用的価値などについて検討してみた。

実験材料および実験方法

1. 被検ヒト血清

- 1) 症例：新潟大学附属病院眼科外来を訪れた患者 2

例および入院患者 1 例

2) 屠場従業員：新潟県内の屠場で屠殺解体作業に従事しているもののうち DT 1 : 16あるいは HA 1 : 200 以上のもの、および両試験とも陽性のもの 35 例。

2. 実験動物および Tp 感染法

1) マウス、モルモット、ウサギは新潟市内の動物商から購入し、雌雄別は考慮しなかつた。

2) *Toxoplasma* 株：RH 株および Beverley 株は、東大医科研から分子をうけマウス継代中のものを使用した。各種動物からの分離株 (以下分離株と略す) は、さきに米谷、鈴木ら (1968 a, b.) が Trypsin 消化法を用いてヒト、イヌ、ネコ、ブタ、メンヨウ、ヤギの筋肉中より分離継代中のものの中から 1 株ずつ選んで実験に供した。

3) HA, Ouchterlony 法および免疫電気泳動法の抗原：RH 株を用い Jacobs & Lunde (1957) に従つて作製した。

4) 接種法と採血法：Beverley 株をマウス 30 匹 (腹腔内)、モルモット 10 匹 (皮下)、ウサギ 5 羽 (皮下) にシスト数 100 個あて接種し、マウスは採血日ごとに 5 匹あてエーテル麻酔下で頸動脈から、モルモットおよびウサギは同一個体について心臓穿刺により、15, 30, 60, 90, 120 日目に採血した。分離株も上記 Beverley 株同様各株それぞれマウスに 30 匹あて接種し経時的に採血した。

3. 色素試験

RH 株を使用し、Sabin & Feldman (1948) の原法に従つたが、抗凝固剤として Kobayashi et al. (1968) が提唱した Alsever 液を反応系中に 6.5% の割合に加え

た。

4. 赤血球凝集反応

Lewis & Kessel-医科研法 (常松, 1963) に従って行なった。

5. 寒天二重拡散法

Ouchterlony 法の変法を用いた。すなわち、95ml の生食水に0.07M 硼酸緩衝液 (pH 8.0) 4 ml と0.1% マーゾニン加生食水 1 ml を加えた緩衝食塩水に1% になるよう Agarose を溶解してガラス板上に流した。4 mm 間隔で5 mm の孔をあけ、一方に抗原、他方に被検血清を満し、湿潤箱に入れ室温で24時間反応させた。

6. 免疫電気泳動法

Scheidegger (1955) の Micromethod に準じて行なった。すなわち、Veronal-HCl (pH 8.6, $\mu=0.05$) 緩衝液に Agarose を0.9% に溶解して縦横 8 cm の正方形のガラス板上に流し、中心からやや陰極側に直径 5 mm の孔をあけて抗原を満し、両端電圧30Volt で3時間半泳動した後、抗原孔から4 mm 離して切った溝に被検血清を注入して湿潤箱で室温24時間反応させた。沈降線保存のため1万倍のマーゾニンを加えた生食水で3日以上洗浄し、ついで濾紙をのせ乾燥し、Amidoschwarz 10B で染色した。

実験成績

1. 実験動物における成績

分離株および Beverley 株接種マウスにおける DT および HA 抗体産生状況は Fig. 1 の通りである。棒グラフは5匹のマウスのプール血清の抗体価を示している。DT は接種後15日目の検査で陽性を示し、次第に上昇して60日目頃にはピークに達するが、その後はむしろ低下した。これに対して、HA は接種後15日目では全例陰性であるが、30日目にはイヌ分離株を接種したものを除いて陽性となり、その後も次第に上昇が認められた。分離株接種による抗体産生状況はイヌ分離株で多少弱いほかほとんど差がないようであるが、Beverley 株接種マウスに比べると抗体産生の程度が低かった。

Fig. 2 は Beverley 株をマウス、モルモット、ウサギに接種した際の抗体産生の状況を示したものである。マウスは5匹のプール血清について調べた抗体価を示し、モルモットは10匹、ウサギでは5羽について調べた抗体価の中間値を表示している。これによるとウサギの抗体価がやや高いようであるが、実験例が少なくそのうえ個体によりかなりの違いもあるため動物差とすることができない。

Jacobs & Lunde の方法に従って作製した HA 用水溶性抗原を電気泳動して Beverley 株接種後6ヵ月以上経過し HA 価 1 : 130,000以上を示すウサギ血清を反応させたところ Fig. 3 に示したような8本の沈降線がみられた。泳動度の遅い沈降線より順に No. 1 ~ No. 7 と番号を付けて検討を行なうと、No. 4 および No. 3 は最も明瞭に現われる線であり、これに対応する抗原成分が沈降抗体を産生する主要な成分と考えられた。なお、No. 1 は弱い2本の沈降線からなるが、これは常に同時に出現するものであるため分離せずに取り扱った。

分離株を接種したマウスと Beverley 株を接種したマウス、モルモット、ウサギ血清での沈降線の出現状況を経時的に調べ、模式図のパターンに従って番号を記入したのが Tab. 1 である。分離株接種マウス血清間での沈降線の出現順序ならびに数はかなり類似しており、4ヵ月経過したものでは若干の例外 (ネコ) はあるにせよ分離株による差異はほとんど認められなかった。Beverley 株を接種した動物では分離株を接種したものに比べて沈降線は早期に多数みられるが、沈降線の出現順序と使用した実験動物の種類との間には特異な関係がなく、きわめて類似していた。

Fig. 4 は Beverley 株を接種したマウス血清における沈降線の出現状況を示したものである。接種1ヵ月後には No. 4 および No. 5 が現われ日数の経過につれて数と強さを増し、3ヵ月目には全部の沈降線が出そろうのがみられた。

以上の成績から明らかなように、Beverley 株と動物由来株接種マウス血清間、並びに Beverley 株接種各動物血清間には RH 株水溶性抗原に対する沈降線の出現部位にはあまり相違がみられず、ほぼ一定の順序で出現し、消退し、沈降線の数も感染後の経過につれて増減するかにみえたが詳細に検討すれば、これは血清の抗体価特に HA 価と常に平行するものであることがわかった。

2. 屠場従業員における成績

さきに著者ら (米谷, 横山, 1969) が屠場従業員の血中抗体価の調査に当り DT または HA が陽性であった40名について再度調査を行ない、DT 1 : 16以上で HA 1 : 200以上のもの、またはその一方のみが陽性であった35名の血清について前記実験動物血清同様 Ouchterlony 法ならびに免疫電気泳動法によつて分析した成績を Tab. 2 に示した。免疫電気泳動による沈降線のパターンは実験動物において得られたそれにきわめて似ており、その沈降線出現部位も感染の初期か感染後かなり経過した、すなわち抗体価の低い時期のパターンに類似し

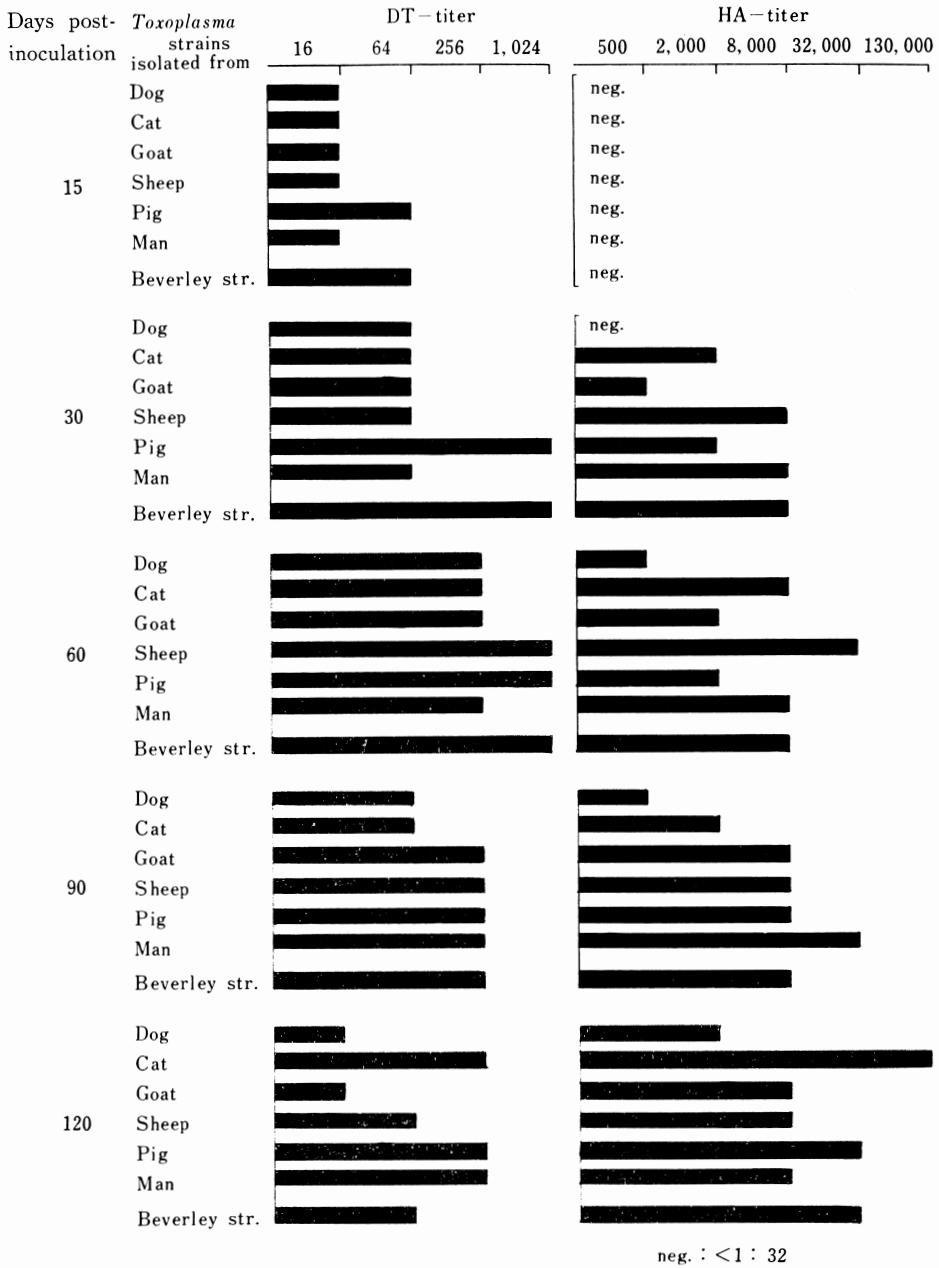


Fig. 1 Graphic representation showing the occurrence of DT- and HA-antibodies in mice at varying time after inoculation with various strains of *Toxoplasma* antibody titers are each indicated at the mean value on pooled sera of 5 mice.

ていた。

3. Tp 症の疑われた症例における成績

臨床的に Tp 症の疑われた 3 症例についての免疫電気泳動を Fig. 5, Tab. 3 に示した。これらの症例 1 は

先天性、症例 2, 3 はおそらく後天性 Tp 症と思われるが、沈降線のパターンはほとんど差異がみられなかった。

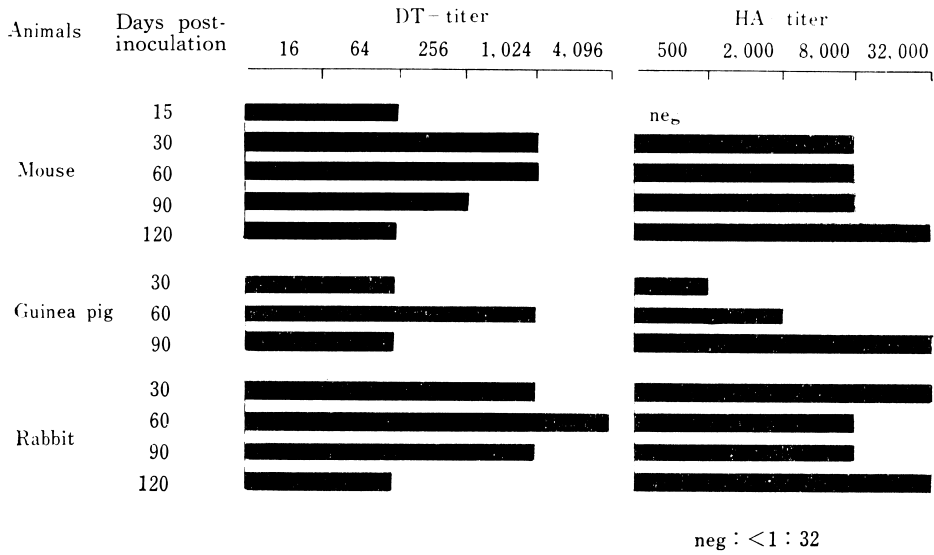


Fig. 2 Graphic representation showing the occurrence of DT- and HA-antibodies induced by inoculation of Beverley strain in three animal species.

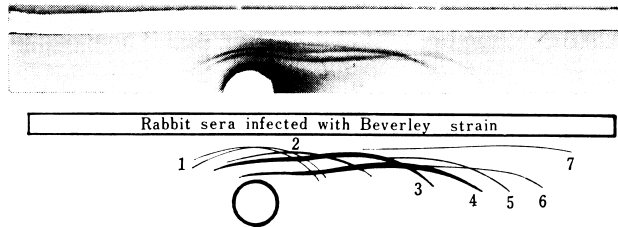


Fig. 3 Photographic and diagrammatic illustrations of immunoelectrophoretic pattern between HA-antigen and immune rabbit serum.

Table 1 Occurrence of precipitin bands revealed by immunoelectrophoresis during the course of experimentally induced *Toxoplasma* infection with isolated strains from various animals and Beverley strain.

<i>Toxoplasma</i> strains isolated from	Animals	Days postinoculation				
		15	30	60	90	over 120
Cat		nt	4	4	4.5	1.4.5
Dog		nt	neg.	3.4.5	3.4.5	1.4.5
Sheep	Mouse	neg.	4	3.4.5	3.4.5	1.3.4.5
Goat		neg.	4	4.5	3.5	3.4.5
Pig		neg.	4	3.5	1.3.5	3.4.5
Man		nt	4	4	1.4.5	1.3.4.5
Beverley strain		Rabbit	nt	1.2.3.4.5	1.2.3.4.5.6	1.2.3.4.5.6
	Guinea pig	nt	3.4.5	3.4.5	1.3.4.6	nt
	Mouse	neg.	4.5	1.4.5.6	1.2.3.4.5.6.7	1.2.3.4.5.6.7

nt: not tested * over 6 months

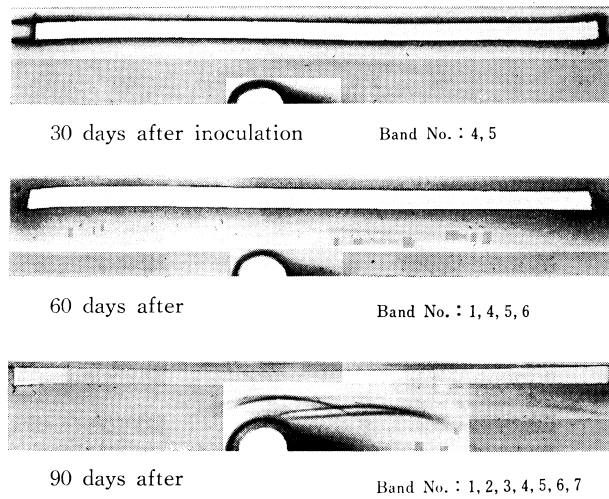


Fig. 4 The state of appearance of precipitin bands during the course of the infection with Beverley strain.

Table 2 Number of precipitin bands revealed by Ouchterlony method and immunoelectrophoresis

Serum number	Reciprocal of		No. of Ouchterlony bands	Band number identified by immunoelectrophoresis
	HA-titer	DT-titer		
1	2,000	64	2	3, 4
2	4,000	16	3	1, 4
4	1,000	64	1	3 or 4
5	1,000	16	1	none
6	500	16	1	none
7	2,000	64	3	3
8	2,000	64	3	4
9	2,000	16	2	1, 4
10	500	16	2	3
12	2,000	16	1	none
13	8,000	64	4	1, 4, 5
14	4,000	64	3	3, 5
15	200	64	none	none
16	500	16	1	none
17	500	16	1	none
18	2,000	64	4	1, 3
19	500	16	1	none
20	2,000	16	1	none
21	4,000	64	2	1, 3 or 4
22	4,000	64	3	1, 3, 4
26	1,000	16	3	1, 4
27	200	16	1	none
28	2,000	64	2	3
29	1,000	16	4	1, 3
30	200	16	1	none
31	200	16	none	none
32	2,000	16	3	3
33	neg.	16	none	none
34	neg.	16	none	none
35	2,000	neg.	2	3, 4
36	500	neg.	none	none
37	200	neg.	none	none
38	200	neg.	1	none
39	200	neg.	none	none
40	200	neg.	1	none

neg. : <1 : 200 (HA), <1 : 16 (DT)

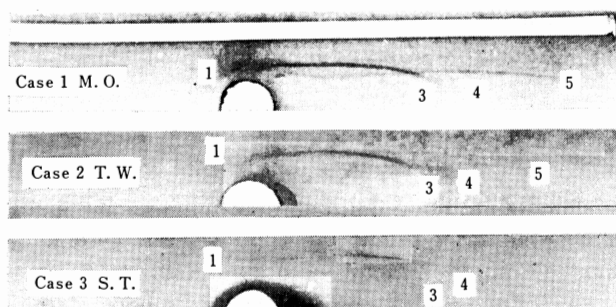


Fig. 5 Photographic illustration of immunoelectrophoretic patterns between HA-antigen and sera from suspected cases of human toxoplasmosis.

Table 3 Number of precipitin bands in sera from three suspected patients of toxoplasmosis.

Case	Clinical diagnosis	HA-titer	DT-titer	Band number identified by immunoelectrophoresis
M. O. ♀ 8 yrs.	Congenital ocular toxoplasmosis	16,000	64	1, 3, 4, 5
T. W. ♀ 22 yrs.	Uveitis diffusa Habitual abortion	16,000	256	1, 3, 4, 5 or 6
S. T. ♂ 19 yrs.	Chorioretinitis exudativa centralis	8,000	64	1, 3, 4

考 察

著者らの今回の実験ではマウス、モルモット、ウサギに Tp を感染させ、それらでの抗体産生状況を経時的に追跡するとともに、Ouchterlony 法ならびに免疫電気泳動法によって沈降抗体を分析した。ついで、それらの成績を Tp 症の疑われた患者、Tp 血清反応陽性者などについて行なつた分析成績と比較することにより、本症診断の参考に資することが可能か否かを検討した。

ヒトと実験動物での成績を比較検討する際、十分考慮しなければならない点は、ヒトとそれらの動物との Tp に対する感受性ひいては抗体産生の量的ないしは質的な差異、さらには Tp 株の相違によつて宿主の反応性の違いである。動物種によつては Tp に対する感受性ないしは親和性の低いもののあることがよく知られている。親和性とは、ある動物の細胞内での Tp の増殖能力と解されるから、一般的にいつてそれに平行した抗体産生が起きると考えられている。しかし Erichsen *et al.* (1953), Horboe *et al.* (1954), Jones *et al.* (1959) のニワトリに対する感受性実験をみると、活動性の Tp 感染があるにもかかわらず DT は陰性かまたはきわめて低い値を示し、著者ら (1968 a, b) の追試でも Tp 感染ニワトリでは DT ならびに HA 抗体を検出し得なかつた。Lunde *et al.* (1963) のラッテを用いた感染実験におい

ては HA は DT に比べてきわめて遅く現われ、しかもかなり低く、そのうえ早期に陰性となることなどから、この種の動物での抗体産生がきわめて悪いか、または産生されたとしても普通の抗原-抗体反応では検出し得ない種類の抗体であるのか、さらには Downs *et al.* (1955) が報告したような抗原-抗体反応をブロックする Inhibitor の存在を考えなければならない場合もある。また Chordi *et al.* (1964) が述べているように、免疫電気泳動によると抗体産生は動物種によつて量的のみではなく質的にもかなり異なるという点にも留意する必要がある。

著者らが今回の実験に使用したマウス、モルモット、ウサギでの Bevarley 株感染による抗体産生の比較では、モルモットでやや抗体が低いほか著しい差がみられなかつた。しかし、このデータからだけでモルモットでの抗体産生能が劣るとするには実験例数も少なく確実なものではない。免疫電気泳動による沈降抗体のみの分析ではこれら実験動物間に著しい差異が認められなかつた。ヒトとこれら実験動物との間の Tp に対する感受性を比較することは困難であるが、HA 価の高いヒト血清と感染動物血清との免疫電気泳動による比較ではかなり類似したものであり、沈降抗体に関する限り質的な相違はあまり明らかではなかつた。

一般に、Tp は形態学的ならびに生物学的特性により

一属一種とされているが、株によつて増殖型を示すものとシスト型を示すものがあり、実験に使用する動物の種類にも関係するが、株による病原性にもかなり差があり、抗体産生量にも著しい差のあることが知られている。

今回の実験には、著者らが各種動物から分離してマウスに継代中のシスト形成株と Beverley 株とを用いた。しかし、著者らが慢性髄膜炎の患者から分離した増殖型を示す株と RH 株はマウス、モルモットに特に強い病原性を示し、十分な抗体、特に沈降抗体の産生をみる前に斃死してしまうため用いられなかった。分離株を接種したマウスでの DT, HA 価には株間に著しい差が認められなかったが、これを Beverley 株接種のマウスに比べると抗体産生がかなり劣っているのがわかった。しかし、この際にも免疫電気泳動によると、少なくとも沈降抗体については質的な差としてとらえることができなかった。このことは抗原として RH 株を使用していることに一因があるかとも思われるため、今後、抗原を変えて検討してみたい。

Ouchterlony 法を用いて抗 Tp 沈降抗体の検出を試みた O'connor (1957) は、実験的に Tp を感染させた家兎の血清との間に 1 本の沈降線を認めた。さらに、Tp 性葡萄膜炎の疑われた 4 例の患者の前眼房水と血清の γ -globulin に沈降抗体を証明したと述べた。Tönjum (1961) は 2 例の Tp 症患者血清と RH 株接種 3~4 日目のマウス腹水の遠心清との間に 2 本の沈降線の現われるのを認め、*Toxoplasma gondii* が少なくとも 2 つ以上の水溶性抗原物質を産生することを示すものであるとし、さらにこの物質と Weinman *et al.* のいわゆる Toxotoxin との関係についても考察を加えた。Strannegård (1962) のウサギを用いた実験では感染後 2 週目頃から沈降線がかすかにみえるようになり、12 週目頃になると最高で 4~6 本に達すると述べた。ついで、Tp 抗体陽性の 48 例の患者について Ouchterlony 法と DT ならびに補体結合反応価との関係を調べ、沈降線の数と DT 価との相関は低いながらも補体結合反応価との間にはかなり密接な関係があることを認めた。Chordi *et al.* (1964) は沈降線の数は HA 価にさらに緊密な関連のあることを見出し、沈降線は 1 : 800 以上の例にのみみられると述べた。

著者らが Tp 症の疑われた患者および屠場従業員について Ouchterlony 法によつて検討したところでは、HA 価 1 : 500 以上 (少数例では 1 : 200 以上) の例に 1~4 本の沈降線がみられ、しかも HA 価とかなり比例して

いることがわかった。しかし、DT 価との関係はあまり緊密ではないようであつた。Körting (1958) は RH 株を感染させたウサギの血清を免疫電気泳動法を用いて分析し、沈降抗体は γ -globulin に相当する部位に現われることを認めた。さらに、Toxoplasmin を電気泳動して抗血清を反応させると Albumin, α_1 -, α_2 -, β_2 -globulin に相当する部位に著明な沈降線が β_2 から γ -globulin 位にかけて弱い沈降線がみられたと述べた。また、Chordi *et al.* (1964) は HA 用抗原を電気泳動して DT 価 1 : 4096 以上、HA 価 1 : 12,000 以上の 4 例のヒト血清を反応させたところ、2 本の沈降線がみられたと報告した。

著者らも HA 抗原を電気泳動して Beverley 株感染ウサギ血清を反応させたところ、前記のごとく 8 本の沈降線がみられた。このことは Tp が感染することによつて虫体を構成する少なくとも 8 成分が沈降抗体の産生に関与してくることを示すものである。電気泳動度の遅い成分より順に番号をつけたところ、それらのうちの No. 4 と No. 3 の成分が特に強い沈降線を示し、しかも感染の初期から現われ、抗体価のかなり低下したものにもみられることは、これらが沈降抗体産生にあづかる主要な虫体構成成分で感染の経過とは関係のないものであることを示していると思われた。さらに沈降線の数、出現部位などについてみてもヒトを含む動物種による差異がほとんどみられず、感染後の時間的経過にも相違が認められなかった。このことはヒトの症例についても同様で、先天性と後天性 Tp 症との間にも差異がみられなかった。すなわち、沈降線の数および出現部位に関係する因子は単に血清の抗体価特に HA 価であると判断された。したがつて、Tp 免疫抗体すなわち血清反応陽性血清を何ら処理することなく RH 株水溶性抗原の Ouchterlony 法、免疫電気泳動法などによつて Tp 沈降抗体をさらに詳細に分析したとしても、おそらく Tp 感染と臨床症状との関係、さらには感染後の経過期間などを判断する資料とはなり得ないものと推測された。しかも実験的に Tp 抗原を泳動して接種動物血清を反応させるばかりでなく、接種動物血清の泳動に対し抗原を作用させた場合の沈降線の出現と消長をみる必要があり、さらには抗原作製法および血清処理法についても検討を要する面がなお多く残されているものと考えられる。

結 語

ヒトおよび各種動物から分離した *Toxoplasma gondii* シスト形成株をマウスに接種した群と、Beverley 株

をマウス、モルモット、ウサギに接種した群とについて HA および DT によつて抗体産生状況を追跡するとともに Ouchterlony 法ならびに免疫電気泳動法によつて沈降抗体の推移を経時的に分析した。さらに Tp 症の疑われた症例および Tp 血清反応陽性者血清について同様の分析を行ない、動物実験によつて得られた成績と比較し、かかる手段が Tp 症の臨床診断に役立つ資料を提供するか否かについて検討した。

1. 分離株ならびに Beverley 株接種動物のいずれも DT は接種15日目の検査で陽性となり、60日で最高価に達し、90日後にはやや低下した。

2. HA は DT よりやや遅れて陽性となり、90日後にかなり高い値となり、その後も高価が持続した。

3. 分離株間では抗体産生にほとんど差がないが、Beverley 株に比較するとかなり劣っていた。

4. HA 用抗原を電気泳動して抗体価の高いウサギ血清を反応させると、8本の沈降線が認められた。

5. Tp 接種動物について経時的に調べると、かかる沈降線は接種後30日頃から現われ、一定の順序で沈降線数は増加し、120日目頃にはほとんど出そろつた。

6. Beverley 株接種動物における沈降線は分離株接種のものに比べて早期に強く現われるが、動物種による差異は認められなかつた。

7. Tp 症が現われた患者血清における沈降線の出現状況も動物におけるパターンにきわめて類似しており、先天性および後天性感染の相違もみられなかつた。

8. 外見上健康な Tp 抗体陽性者における沈降線も動物におけるパターンに類似し、沈降線の数はいずれも HA 価に比例して増加の傾向が認められた。

9. 以上の結果から RH 株を抗原とした Ouchterlony 法ならびに抗原の免疫電気泳動法による抗体の分析は Tp 症の臨床診断に役立つものとは考え難い。

稿を終わるにあたり、ご助言をいただいた新潟県衛生研究所篠川至所長に深謝し、また屠畜・食肉関係者の採血についてご協力をいただいた県下各保健所の職員に感謝の意を表す。

本研究は第39回日本寄生虫学会大会において発表した。

参考文献

1) Chordi, A., Walls, W. and Kagan, I. G. (1964) : Analysis of *Toxoplasma gondii* antigen by agar diffusion methods. J. Immun., 93, 1034-1044.

2) Downs, C. M., Fevurly, L. and Meyer, M. M. (1955) : Studies on hemagglutination inhibition phenomena. I. The presence of inhibiting antigen in typhus-infected animals. J. Immun., 75, 35-42.

3) Erichsen, S. and Harboe, A. (1953) : Toxoplasmosis in chickens. 1. an epidemic outbreak of toxoplasmosis in a chicken flock in Southeastern Norway. Acta Path. et Microbiol. Scandinav., 33, 56-71.

4) Harboe, A. and Erichsen, S. (1954) : Toxoplasmosis in chickens. 3. Attempts to provoke a systemic disease in chickens by infection with a chicken strain and a human strain of *Toxoplasma*. Acta Path. et Microbiol. Scandinav., 35, 109-116.

5) Jacobs, L. and Lunde, M. N. (1957) : A hemagglutination test for toxoplasmosis. J. Parasit., 43, 308-314.

6) Jones, F. E., Melton, M. N., Lunde, M. N., Eyles, D. E. and Jacobs, L. (1959) : Experimental toxoplasmosis in chickens. J. Parasit., 45, 31-37.

7) Kobayashi, A., Kumada, M. and Tsunematsu, Y. (1968) : Effects of anticoagulants on the dye test for toxoplasmosis. Japan, J. Med. Sci. and Biol., 21, 71-89.

8) Körting, H. J. (1958) : Immuno-electrophoretische Untersuchungen bei der Toxoplasmose. Zbl. Bakt. Orig., 172, 621-629.

9) Lunde, M. N. and Jacobs, L. (1963) : Toxoplasma hemagglutination and dye test antibodies in experimentally infected rats. J. Parasit., 49, 932-936.

10) 米谷武士・鈴木俊夫・横山政徳(1968) : ニワトリのトキソプラズマ抗体と原虫保有状況ならびにヒナに対する接種試験. 寄生虫誌, 17, 312.

11) 米谷武士・鈴木俊夫・関川弘雄・横山政徳(1968) : ウシ, メンヨウ, ヤギ, ネコおよびネズミにおけるトキソプラズマ抗体調査ならびに原虫分離試験. 寄生虫誌, 17, 561.

12) 米谷武士・横山政徳(1969) : と畜・食肉関係業者並びにその家族のトキソプラズマ抗体保有調査. 寄生虫誌, 18, 649.

13) O'Connor, G. H. (1957) : Anti-toxoplasma-precipitins in aqueous humor. Arch. Ophth., 57, 52-57.

14) Sabin, A. B. & Feldman, H. A. (1948) : Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). Science, 108(2815), 660-663.

15) Scheidegger, J. J. (1955) : Une microméthode de l'immunoélectrophorèse. Internat. Arch.

- Allergy, 7, 103-110.
- 16) Strannegård, Ö. (1962) : Studies of *Toxoplasma* precipitinogens and their corresponding antibodies by means of diffusion-in-gel methods. Brit. J. Exp. Path., 43, 600-613.
- 17) Tönjum, A. M. (1962) : Soluble antigens produced by *Toxoplasma gondii*. Acta Path. et Microbiol. Scandinav., 54, 96-98.
- 18) 常松之典(1963) : *Toxoplasma* 症の診断について. モダンメディア, 9, 443-449.

Abstract

ANALYSES OF *TOXOPLASMA* ANTIBODIES. I. ANALYSIS OF PRECIPITATING ANTIBODY BY MEANS OF GEL-DIFFUSION METHOD

TAKESHI MAITANI, TOSHIO SUZUKI, SATOSHI SEKINO AND
MASAMITSU OTSURU

(Department of Medical Zoology, Niigata University School of
Medicine, Niigata, Japan)

MASANORI YOKOYAMA

(Niigata Public Health Laboratory, Niigata, Japan)

The present study was made to see whether the analysis of *Toxoplasma* antibody by means of Ouchterlony double-diffusion technique and immunoelectrophoresis could offer the more convenient data for clinical diagnosis of toxoplasmosis.

Sera from animals experimentally infected with *Toxoplasma*, patients suspected of toxoplasmosis and persons with positive dye tests (DT) and hemagglutination tests (HA) were analyzed by Ouchterlony technique and immunoelectrophoresis, and the results obtained were as follows :

Mice were intraperitoneally inoculated with 100 cysts of each of 6 strains which had been isolated earlier from man and animals. In addition, mice, guinea pigs and rabbits were inoculated with Beverley strain by the same way. All of the animals gave positive DT on about the 15th day and the highest titer on the 60th day, whereas HA became positive on the 30th day and reached maximum values about 3 months after inoculation. There were no significant differences among those strains isolated from man and animals in regard to the production of the antibodies, but the titers produced by these strains were shown slightly lower than those by Beverley strain. A correlation was shown between the number of precipitin bands and HA-titer, but no relationship between DT-titer and precipitating antibodies.

Immunoelectrophoresis revealed at least 8 precipitin bands between HA-antigen (Jacobs & Lunde, 1959) and a rabbit immune serum. Such precipitin bands were demonstrable in regular sequence during the course of experimentally induced infection. Furthermore, the precipitin bands developed earlier and much definitely in the animals inoculated with Beverley strain than in the cases inoculated with the strains isolated from man and animals, but it seemed that the immunoelectrophoretic pattern had no relation to the animal species. The pattern of human sera was closely similar to that of immune rabbit serum, and showed no difference between congenital and acquired toxoplasmosis.

From the results mentioned above it was not thought that gel-diffusion method and immunoelectrophoresis could be an adequate tool for the clinical diagnosis of toxoplasmosis.