

コットンラット糸状虫症における同種および 異種抗原を用いたゲル内沈降反応

神谷正男* 江下優樹**
高岡正敏*** 田中寛

東京大学医科学研究所寄生虫研究部

(昭和52年2月7日 受領)

はじめに

ヒトの糸状虫症において、血液検査でマイクロフィラリアが検出されない場合、免疫学的方法を用いて診断しようとする試みがなされてきた。その際、同種抗原を用いた例として、*Onchocerca volvulus* およびパンクロフト糸状虫 *Wuchereria bancrofti* の凍結切片を用いた蛍光抗体法(Ten Eyck, 1973)、*O. volvulus* 抗原を用いた免疫電気泳動法(Biguët *et al.*, 1964) およびロア糸状虫 *Loa loa* のマイクロフィラリア抗原を用いた Ouchterlony 法などで診断を試みた報告があるが、材料の入手の点で問題があるので、ほとんどの場合、異種抗原が用いられている。例えば動物の糸状虫である犬糸状虫 *Dirofilaria immitis*(Kagan, 1963; McQuay, 1967), *Dipetalonema viteae*(Capron *et al.*, 1968, 1970) やその他の線虫類の豚蛔虫 *Ascaris suum*(Niel *et al.*, 1972), 馬蛔虫 *Parascaris equorum*, 牛蛔虫 *Neoascaris vitulorum*(Pethithory *et al.*, 1973) などが抗原として用いられている。その他にも多くの報告があるが異種、同種いずれの抗原を用いる場合でも同種間の免疫現象および異種間の交叉反応性等を実験的に把握する必要があると考えられる。Tanaka *et al.*(1968, 1969) は実験的にコットンラット糸状虫 *Litomosoides carinii* をコットンラット *Sigmodon hispidus* に感染させて、*L. carinii* 抗原を用いて間接血球凝集テスト(HA) および補体結合反応(CF)を行い、感染との一致がともに93%以上であったと報告している。また石井ら(1968)は感

染コットンラットのCF値とHA値の経時変化について観察し、いずれの反応においても感染後4週以前では反応がみとめられず、ほとんどの場合、マイクロフィラリアが末梢血に出現する時期、すなわち、感染後8週以後に初めてHAおよびCFともに反応価の上昇をみとめている。

本研究においてはゲル内沈降反応で感染後約11週目のコットンラット血清よりコットンラット糸状虫抗原で抗体の検出を試みた。同時に異種間の交叉反応をみるため、犬糸状虫、広東住血線虫 *Angiostrongylus cantonensis* 抗原を用いて同様の反応を行った。また感染コットンラットを経時的に採血しゲル内沈降反応とHAにおいて、それぞれの反応が出現する時期を観察した。

材料および方法

コットンラット(終宿主)にイエダニ *Ornithonyssus bacoti*(中間宿主)を用いて、コットンラット糸状虫を実験的に感染させた。これらの材料は1953年より当研究部で累代飼育されているものである。

感染方法は神田・田坂(1966)の方法を用い、生後約4週の雄、体重65~70gのコットンラットを用い、感染幼虫約80匹を感染させた。採血方法は感染11週後に大腿動脈から全採血した。また経時採血に用いたコットンラットは感染群5匹、非感染群5匹で眼窩穿刺により約0.5mlを感染前および感染後1, 2, 4, 6, 8, 10週にそれぞれ1回採血した。同時に血液2.5mm³をメランジュール型ピペットでとり、スライドガラス上に2本の線として塗り、ギームザ染色後マイクロフィラリアを算定した。血清は分離後、56C 30分間熱処理を行いアンフルに封入して-20Cで凍結保存した。

1. ゲル内沈降反応

現所属

* 北海道大学獣医学部家畜寄生虫病学教室

** 帝京大学医学部寄生虫学教室

*** 東京医科歯科大学医動物学教室

Ouchterlony 法による2重ゲル内拡散法 (DD) および免疫電気泳動法 (IEP) を用いた。寒天の作製には0.1%アジ化ソーダを加えたバルビタール緩衝液 (pH 8.6, $\mu=0.05$) を使用し, 1.5%寒天 (Difco, noble agar) を調製した。あらかじめ溶解した後, 分注して冷室に保存し, 使用ごとに湯煎して溶かした。DD にはあらかじめ0.15%寒天液に浸し乾燥させたスライドガラスに厚さ約2mm になるように2ml の寒天液をのせ湿潤箱中に室温で約30分放置してゲル化を待ち, 径15mmの円周上に等間隔に直径3mmの穴を6個, 中心に1個あけた。抗原としては犬糸状虫, コットンラット糸状虫, 広東住血線虫の3種を用い, その乾燥重量に対して100倍量の0.15M リン酸緩衝食塩水 pH 7.2 (PBS) を用い氷水中で冷却しながらガラスホモジナイザーで1分間磨砕を2分間隔で10回およびテフロンホモジナイザーで同様に10回行った。その後, マグネチックスターラーで一晩, 抽出し, 20,000Gで1時間遠心した上清をコロジオンバック (Sartorius) で限外濾過し全量を $1/10$ 量に濃縮し原液とした。ゲルの中心の穴に免疫血清原液をおき, 周囲に抗原原液の連続2倍希釈液を入れて最も多くの沈降帯がみとめられる最高積倍数を最適濃度とすると, 乾燥重量の40倍であった。

被検血清の反応の場合はゲルの中心の穴に抗原液を, 周囲に血清をそれぞれ入れた。この反応でコットンラット糸状虫以外の抗原に対して沈降帯の認められた血清を中心に, 犬糸状虫, 広東住血線虫およびコットンラット糸状虫抗原を周囲に入れて比較した。反応は4C 湿潤箱中で3日間続け生理食塩水で2日間洗浄後, 蒸留水で湿らせた濾紙をのせて乾燥させ, Coomassie brilliant Blue R 250 (ICI) (St. de Groth, 1963) を用いた染色液で一晩染色後, 約1時間脱染色を行い乾燥した。なんらかの沈降帯が認められたものを陽性とした。使用した染色液原液, 染色液, 脱染色液の処方は次のごとくである。

染色原液; Coomassie brilliant blue R 250 (ICI) 2.5g, メタノール500ml, 酢酸100ml を加え蒸留水で全量を1,000ml とする。

染色液; 染色液原液25ml, メタノール400ml, 酢酸50ml, グリセリン25ml を加え蒸留水で全量を1,000ml とする。

脱染色液; メタノール200ml, 酢酸50ml, グリセリン25ml を加え全量を1,000ml とする。

IEP は Kamiya *et al.* (1973) の方法に従った。抗原は虫体乾燥重量の10倍抽出液を用い幅11cm に70mA,

1時間, 4C の冷蔵庫中で通電した。その他の手技はDD に同じである。

2. 間接血球凝集テスト

本反応で感染コットンラットにおける HA 価の経時変化を測定し IEP の結果と比較した。手技はマイクロプレートを用いた Kamiya and Tanaka (1969) の方法に準じたが, 羊血球は Csizmas (1960) の方法によりホルマリン固定したものを使用した。タンニン酸処理は1:60,000の濃度で行い, 抗原はコットンラット糸状虫体乾燥重量の5,000倍のPBSで抽出したものを使用した (Tanaka *et al.*, 1968)。

結 果

コットンラット糸状虫, 広東住血線虫および犬糸状虫の3種の抗原を用いた Ouchterlony 法による2重ゲル内拡散法の結果を Table 1 に示した。感染コットンラット血清88検体のうち, コットンラット糸状虫抗原に対して86検体 (97.7%) が陽性で1~4本の沈降帯が認められた。異種の抗原である犬糸状虫抗原に対しては8検体 (9.1%), 広東住血線虫抗原に対しては7検体 (8%) がそれぞれ陽性で1~2本の沈降帯が認められた。なお犬糸状虫抗原に対して陽性であった8検体のうち7検体は広東住血線虫抗原に対しても陽性であった。また, 非感染の正常コットンラット血清82検体はいずれの抗原に対しても陰性であった。異種抗原に反応した血清に対して3種の抗原を比較したところ, Fig. 1 に示したごとく, コットンラット糸状虫抗原にのみ出現する沈降帯と3種抗原間に共通に出現する沈降帯が認められた。3種

Table 1 Results of immunodiffusion test of cotton rat sera by Ouchterlony method using antigens of *Litomosoides carinii* (Lc), *Dirofilaria immitis* (Di) and *Angiostrongylus cantonensis* (Ac)

Reaction	Antigens	Cotton rat sera	
		infected	non-infected
Positive	Lc	86 (97.7%)	0 (0%)
	Di	8 (9.1%)	0 (0%)
	Ac	7 (8.0%)	0 (0%)
Negative	Lc	2 (2.3%)	82 (100%)
	Di	80 (91.0%)	82 (100%)
	Ac	81 (92.0%)	82 (100%)
No. examined		88	82

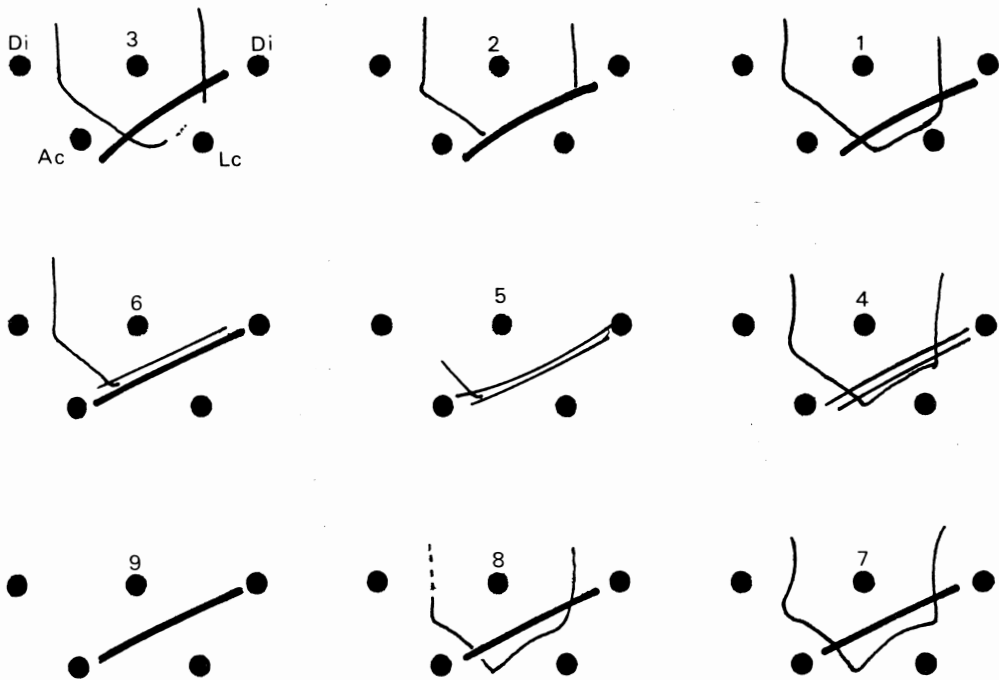


Fig. 1 Schematic illustration of precipitating bands in double diffusion test with antigens of *D. immitis*, *L. carinii* and *A. cantonensis* against serum Nos. 1-8 which showed a cross reaction and No. 9 which showed no cross reaction.

Numerals indicate sample No. of sera. Arrangement of antigens showing in No. 3.

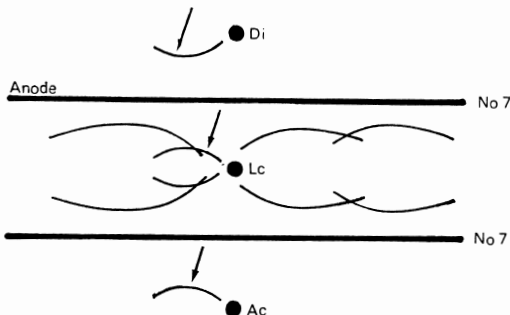


Fig. 2 Immuno-electrophoretic pattern observed when a serum sample No. 7 was tested against antigens from *Dirofilaria immitis* (Di), *Litomosoides carinii* (Lc) and *Angiostrongylus cantonensis* (Ac).

Arrow showed the band which were presumed to be common between Di, Lc and Ac antigens.

抗原に共通に認められた沈降帯はいずれもコットンラット糸状虫抗原に対してのみ認められる明瞭な沈降帯よりも抗原側に近い位置に出現した。これらの血清のうち、血清 No. 7 を IEP で 3 種抗原に対して反応させ、比較

すると Fig. 2 に示したごとく、犬糸状虫および広東住血線虫抗原に認められる沈降帯 (✓印) は陽極側の原点に近く、小さな弧として認められた。類属反応を示したその他の血清にも同様の沈降帯が認められた。

経時的に採血した感染コットンラット血清、5 例 (No. 101~105) についての HA 価と IEP の結果及びマイクロフィラリアの出現数を Table 2 に示した。マイクロフィラリアは 6 週目までいずれも陰性で 8 週目より血液 2.5 mm^3 あたりそれぞれ、15, 9, 125, 45, 63 匹検出され、全例陽性に転じた。HA は 4 週以前はすべて陰性、6 週目に 5 例中 2 例 (No. 103, 104) がそれぞれ 128, 32 倍で陽性を示した。8 週目では 5 例中 1 例 (No. 105) のみ陰性で、その他は陽性、10 週目に全例が陽性を示した。マイクロフィラリアの出現する時期および HA が陽性になる時期はほぼ一致したが、IEP では HA で陽性になる時期およびマイクロフィラリアが検出される時期よりも早く反応が認められた。非感染対照群の 5 例は観察の全期間を通じて HA, IEP およびマイクロフィラリアともに陰性であった。Photo. 1 に最初に IEP で反応が

Table 2 Sequential changes in titers of HA, appearance of precipitating bands with homologous antigen and number of microfilariae in cotton rats infected with *Litomosoides carinii*

Weeks after infection	Cotton rat No.														
	101			102			103			104			105		
	Mf	HA	IEP	Mf	HA	IEP	Mf	HA	IEP	Mf	HA	IEP	Mf	HA	IEP
0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
2	—	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—	+
4	—	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—	+
6	—	—	+	—	—	+	—	128	+	—	32	+	—	—	+
8	15	1024	+	9	64	+	125	16384	+	45	1024	+	63	—	+
10	620	512	+	462	512	+	329	2048	+	156	1024	+	685	4095	+

Mf.....Number of microfilariae/2.5mm³

HA.....Titers of indirect hemagglutination test with serum dilution 1:32 or more

IEP.....Immunoelectrophoresis

+.....Presence of any precipitating band

—.....Negative

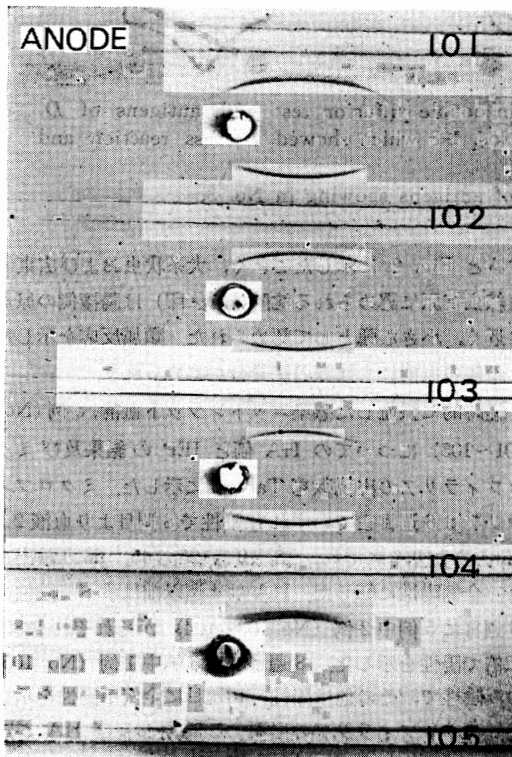


Photo. 1 First precipitating band against *L. carinii* antigen in immunoelectrophoretic pattern developed with the sera from cotton rat Nos. 101, 103 and 105 one week after infection, and from Nos. 102 and 104 two weeks after infection.

認められた血清（感染後1週目の3例 No. 101, 103, 105と2週目の2例, No. 102, 104）の結果を示している。陰極側の原点に近い位置にそれぞれ同様の沈降帯が認められた。また、これらの血清は広東住血線虫および犬糸状虫抗原には反応しなかった。

考 察

粗抗原を用いるかぎり HA, CF においては構成成分のもつ抗原価の総和として表現されるため類属反応を区別することは困難と考えられる。Kagan (1963), McQuay (1967) は犬糸状虫抗原を用いて、HA, ベントナイト絮状テストで人糸状虫症の診断を試みているが、反応性は患者の病歴によって様々であり、特異性の点で問題があることを指摘している。同じく、Tanaka *et al.* (1970) による CF, Fujita *et al.* (1970) による HA も特異性の点で問題があり異種糸状虫抗原を用いることの限界をのべてる。

一方、特異抗原が明らかされていない場合はゲル内沈降反応のごとく、定性的な方法によって、より特異的反應の検索がなされている。抗原としては、糸状虫類にかぎらず、その他の線虫類も用いられている。Niel *et al.* (1972) は豚蛔虫抗原を用いてゲル内沈降反応でヒトの糸状虫症患者血清を調べたところ、特に *O. volvulus* 症患者に対して診断に意義のある沈降帯を認めている。また、Pethithory *et al.* (1973) は豚蛔虫、馬蛔虫、牛蛔虫などの抗原を用いて DD でアフリカの *O. volvulus*

患者について、また Capron (1968) は *D. viteae* 抽出液で *O. volvulus*, ロア糸状虫およびバンクロフト糸状虫患者血清に反応する沈降帯を認めている。今回の同種抗原を用いたゲル内沈降反応で、同種間における反応出現の時期、HA との比較などの免疫現象および異種抗原（広東住血線虫と犬糸状虫）に対する交叉反応性などを明らかにしたが、ヒトの糸状虫症の免疫診断においても同様に、出現する沈降帯を分析することによって特異反応の検索ができる点でゲル内沈降反応、殊に IEP は有効な方法と考えられる。

今回の成績で IEP では HA より早い時期に反応が認められ、さらに、最初に出現する沈降帯は異種抗原（広東住血線虫と犬糸状虫）に対して認められないことなどは興味深い。佐藤ら (1962) は日本住血吸虫感染ウサギにおいて HA と沈降反応の成績に相関性が認められないことを述べ、両者の反応機構の差によるとしている。

コットンラット糸状虫の感染では感染後 4 週頃、宿主のコットンラットの胸腔に到達し成虫となり、8 週頃からコットンラットの末梢血中にマイクロフィラリアが出現することが知られている（田中、1964；神田・田坂、1966）。DD、IEP などで反応が認められる時期にはコットンラット糸状虫は幼虫で、発育段階にあると考えられ、幼虫由来の抗原に対して産生された抗体をコットンラット糸状虫の成虫抗原で検出していることを意味していると思われる。このことは広東住血線虫で Kamiya (1975), Bouthemey *et al.* (1974), マンソン住血吸虫で Capron *et al.* (1965), アニサキスで辻 (1975) が報告していると同様、コットンラット糸状虫においても幼虫と成虫の間に共通抗原が存在することを示唆していると考えられる。Fujita and Kobayashi (1969) は HA 用のコットンラット糸状虫成虫抗原の 6 倍の蛋白濃度の感染幼虫抗原を用いたにもかかわらず、いずれの時期の感染血清にも HA 価を認めるものはなかったと報告している。また、石井らは、同じくコットンラット糸状虫において、間接蛍光抗体法によって感染幼虫の断端には抗体の結合部位が認められないことを報告している。これらの報告に使用された抗原は感染幼虫自体の抗原で、今回の IEP で最初に認められた沈降帯に関する抗原は幼虫由来の抗原ではあるが、そのなかでも発育過程の代謝・排泄物と考えられる。Fujita and Kobayashi (1969) はコットンラット糸状虫感染のコットンラット血清において感染後 6～7 週目に初めて HA 活性を有する IgM

を検出し、その後次第に IgG に活性が認められるようになり、12 週目にはほとんど IgG のみ HA 活性が認められることを観察している。今回の実験で、IEP で反応が認められたが、HA では検出できなかった感染後 1～4 週の抗体がどの免疫グロブリンで、以後どのような経過をたどるのか興味深い。IEP 抗原の性状とともに今後明らかにしなければならない問題である。

む す び

ヒトの糸状虫症の免疫診断法の検索のためのモデルとして、実験的にコットンラット糸状虫を感染させたコットンラット血清に対して同種の抗原を用いてゲル内沈降反応を実施し、犬糸状虫、広東住血線虫抗原との類属反応および HA と比較し反応出現時期を明らかにした。

1) 感染後 11 週の水清 88 検体のうちコットンラット糸状虫抗原に対して 86 検体 (97.7%)、犬糸状虫抗原に 8 検体 (9.1%)、広東住血線虫抗原に 7 検体 (8%) が陽性であった。また非感染の正常コットンラット血清 82 検体はいずれの抗原に対しても反応しなかった。類属反応が低率に認められたが、同種抗原に対して高い反応性が得られた。

2) 類属反応を示した血清は Ouchterlony 法において 3 種抗原に共通の沈降帯が認められた。これら類属反応の認められた血清を IEP で比較すると陽極側の原点に近い位置に特徴的な沈降帯が認められ、3 種抗原間に共通の反応と考えられる。

3) 感染コットンラット 5 匹を経時的に IEP で調べ HA と比較した。IEP では感染後 1 週目に 5 例中 4 例、2 週目には全例に特徴的な沈降帯が陰極側に認められた。他の 2 種抗原には認められず、コットンラット糸状虫抗原に特異的反応と考えられる。一方、HA では 6 週目に 5 例中 3 例、8 週目に全例が陽性になった。

以上の結果から、コットンラット糸状虫症において、同種抗原を用いたゲル内沈降反応は類属反応、特異反応をそれぞれの特徴的な沈降帯で区別しうる点、および HA よりも早く反応が出現する点で有効な分析方法と考えられる。

本研究は医科研究所寄生虫研究部におけるフィラリア症の研究の一部をなすもので、要旨は第 42 回日本寄生虫学会大会 (1973) で発表した。

ご指導をいただいた佐々学教授ならびに聖マリアンナ医大病害動物学教室神田錬蔵教授に感謝いたします。

文 献

- 1) Biguet, J., D'Haussy, R., Aubry, M. and Rose, F. (1964) : Étude des anticorps précipitants chez les sujets atteints d'onchocercose. Bull. Soc. Path. Exot., 57, 1098-1116.
- 2) Bouthemey, F., Capron, A., Afchain, D. and Wattré, P. (1974) : Structure antigenique du nematode *Angiostrongylus cantonensis*. Aspects immunologiques des relations hôte-parasite. Ann. Parasit. Hum. Comp., 47, 531-550.
- 3) Capron, A., Biguet, J., Rose, F. and Vernes, A. (1965) : Les antigènes de *Schistosoma mansoni*. II. Étude immunoelectrophorétique comparée de divers stades larvaires et des adultes des deux sexes. Aspects immunologiques des relations hôte-parasite de la cercaire et de l'adulte de *S. mansoni*. Anns. Inst. Pasteur, Paris, 106, 798-810.
- 4) Capron, A., Gentilini, M. and Vernes, A. (1968) : Le diagnostic immunologique des filarioses. Possibilités nouvelles offertes par l'immunoelectrophorese. Pathol. Biol., 16, 1039-1045.
- 5) Capron, A., Gentilini, M. and Biguet, M. (1970) : Immunologic diagnosis of filariasis by immunoelectrophoresis. In "Singh, K. S., Tanden, B. K. [Editors], H. D. Srivastava commemoration volume", Izatnagar, U. P. Indian Veterinary Research Institute, 527-536 pp.
- 6) Csizmas, L. (1960) : Preparation of formalinized erythrocytes. Proc. Soc. Exp. Biol. 103, 157-160.
- 7) Fujita, K., Tanaka, H., Sasa, M., Shichinohe K., Asaii, Y. and Kurokawa, K. (1970) : Cross-reaction among filarial species in hemagglutination test. Japan. J. Exp. Med., 40, 66-77.
- 8) Fujita, K. and Kobayashi, J. (1969) : The sequential appearance of 19 S and 7 S antibody in cotton rats infected with the cotton rat filaria, *Litomosoides carinii*. Japan. J. Exp. Med. 39, 481-490.
- 9) 石井 明・田中 寛・藤田紘一郎・神谷正男・松田 肇・小林準三 (1968) : フィラリア感染コトナラットの補体結合反応価と間接赤血球凝集反応価の経時変化について. 寄生虫誌, 17, 402-406.
- 10) Kagan, I. K. (1963) : A review of immunologic methods for the diagnosis of filariasis. J. Parasit. 49, 773-798.
- 11) Kamiya, M. and Tanaka, H. (1969) : Hemagglutination test in rats infected with *Angiostrongylus cantonensis*. Japan. J. Exp. Med., 39, 593-599.
- 12) Kamiya, M., Tharavaniji, S. and Harinasuta, C. (1973) : Antigenicity for hemagglutination and immunoelectresis teats in fractionated antigens from *Angiostrongylus cantonensis*. Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth., 4, 187-194.
- 13) Kamiya, M. (1975) : Immunodiagnosis of *Angiostrongylus cantonensis* infection. In "Diagnostic methods for important helminthiasis and amoebiasis in Southeast Asia and the Far East" ed. by Harinasuta, C. and Reynolds, D. C., Bangkok, SEAMEO-TROPMED., 140-163 pp.
- 14) 神田鍊蔵・田坂定晴 (1966) : *Litomosoides carinii* の定量的接種法によるコトナラットの発症経過の観察. 寄生虫誌, 15, 138-147.
- 15) McQuay, R. M. (1967) : Parasitologic studies in a group of fourloughed missionaries. II. Helminth findings. Am. J. Trop. Med. Hyg., 16, 161-166.
- 16) Niel, G., Gentilini, M., Couture, J., Pinon, J. M. and Danis, M. (1972) : Applications des extrais antigeniques d'*Ascaris suum* au diagnostic des filarioses en double diffusion. Valeur comparee a celle de antigenes *Onchocerca volvulus* et *Depetalonema viteae*. Bull. Soc. Pathol. Exot., 65, 569-579.
- 17) Petithory, J., Brumpr, L. C., Jaeger, G. and Soilleux, M. (1972) : Étude sérologique de la loase en Ouchterlony au moeyen d'un antigène homologue. *ibid.*, 65, 859-866.
- 18) Petithory, S., Brumpr, L. and Bahno, M. (1973) : Etudes des passibilité diagnostiques serologiques de l'onchocercose par double diffusion avec des antigenes heterologues. Ann. Parasitol. Hum. Comp., 48, 343-350.
- 19) 佐藤重房・沢田利貞・永田泰之助・米山邦彦 (1962) : 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. 寄生虫誌, 11, 19-25.
- 20) De St. Groth, S. F., Webster, R. G. and Datyner, A. (1963) : Two new staining procedures for quantitative estimation of proteins on electrophoretic strips. Biochim. Biophys. Acta., 71, 377-391.
- 21) Ten Eyck, D. R. (1973) : *Onchocerca volvulus* and *Wuchereria bancrofti*: fluorescent antibody staining of frozen homologous sections for diagnosis. Exp. Parasit. 34, 154-161.
- 22) 田中英文 (1964) : フィラリア実験動物としてのコトナラットに関する研究. (2) *Litomosoides*

- carinii* の感染経過について. 寄生虫誌, 13, 507-513.
- 23) Tanaka, H., Kobayashi, J., Matsuda, H. and Sasa, M. (1968): Hemagglutination test with *Litomosoides carinii* antigen in the diagnosis of cotton rat filariasis. Japan. J. Exp. Med., 38, 19-25.
- 24) Tanaka, H., Kobayashi, J., Ishii, A. and Sasa, M. (1969): Complement fixation test with adult *Litomosoides* antigen in cotton rat filariasis. Japan. J. Exp. Med., 36, 393-398.
- 25) Tanaka, H., Fujita, K., Sasa, M., Tagawa, M., Naito, M. and Kurokawa, K.: (1970): Cross-reactions in complement fixation test among filaria species. Japan. J. Exp. Med., 40, 47-58.
- 26) 辻 守康 (1975): 数種寄生蠕虫類の感作血清による免疫電気泳動像の比較研究. 寄生虫誌, 24, 227-236.

Abstract

GEL DIFFUSION TEST IN COTTON RATS, *SIGMODON HISPIDUS*
INFECTED WITH *LITOMOSOIDES CARINII*

MASAO KAMIYA, MASATOSHI TAKAOKA, YUKI ESHITA

AND

HIROSHI TANAKA

(*Department of Parasitology, Institute of Medical Science, University of Tokyo*)

Sera collected from 88 cotton rats infected with *Litomosoides carinii* in order to examine the reaction by gel diffusion tests such as the Ouchterlony method and immunoelectrophoresis using homologous and heterologous antigens such as *Dirofilaria immitis* and *Angiostrongylus cantonensis*. And also 5 cotton rats were bled sequentially 1, 2, 4, 6, 8 and 10 weeks after infection to determine the appearance of immunoelectrophoresis, indirect hemagglutination reactions and microfilariae.

Of 88 cotton rats 11 weeks after infection, 86 (97.7%) were positive against *L. carinii* antigen and showed 1 to 4 precipitating bands by Ouchterlony method. Eight cases (9.0%) were positive against *D. immitis* antigen, and 7 (8.0%) were positive against *A. cantonensis* antigen. The sera which showed cross reactions against *D. immitis* and *A. cantonensis* antigens, were tested on the same gel plate with antigens of *L. carinii*, *A. cantonensis* and *D. immitis* antigens. A few bands were observed only against *L. carinii* and one band was observed against *L. carinii*, *A. cantonensis* and *D. immitis* in common. Immunoelectrophoretic pattern of the common band among *L. carinii*, *A. cantonensis* and *D. immitis* was a small arc located at anode side close to the original well. Sera of 5 infected cotton rats bled at intervals were examined by immunoelectrophoresis and indirect hemagglutination tests using *L. carinii* antigen. Hemagglutination activities and microfilariae were not detected in blood before 8 weeks, whereas immunophoretic activities were detected as early as one week after infection in 3 cotton rats and 2 weeks in all of them. The band observed first in immunoelectrophoresis was at cathode side close to the original well against *L. carinii* antigen and no bands were observed against *A. cantonensis* and *D. immitis* antigens.

From these results, it can be said that the gel diffusion test is superior to indirect hemagglutination test in detecting at earlier stage of infection and as a specific reaction in cotton rat filariasis.