

## 実験的移行性幼線虫症の研究

### (3) 犬蛔虫幼虫感染家兎の抗体価の推移

近藤 力<sup>王</sup> 至\* 小 泉 勤<sup>†</sup> 坪 田 宣 之\*  
大 西 義 博\* 吉 村 裕 之\*

(昭和56年8月10日 受領)

**Key words:** visceral larva migrans, *Toxocara canis*, latex agglutination, larval precipitate test, complement fixation test, Ouchterlony, immunoelectrophoresis

犬蛔虫幼虫移行症については、多くの研究者によつて、はやくから免疫血清学的診断法の研究が種々進められてきた。Fellers (1953) は犬蛔虫幼虫移行症を疑わせる幼児について赤血球凝集反応を試み、健康人や他の寄生虫保有者にくらべ抗体価の上昇がみられ、本症の免疫血清学的診断法として適用できることを報告した。その後、Kagan *et al.* (1959), Jung and Pacheco (1960), Wood *et al.* (1965), Aljeboori and Ivey (1970), Krupp (1974), Enayat and Pezeshki (1977), de Savigny and Tizard (1977), Glickman *et al.* (1978) らが臨床例や実験的な感染動物に対し、赤血球凝集反応を行ない、反応の感受性、特異性をはじめ、他の寄生虫感染との間にみられる交差反応を検討した。

Zapart and Przytkowski (1979) は犬蛔虫幼虫感染マウスに対し、犬蛔虫成虫抗原によるラテックス凝集反応を用い、感染後の経過日数に従つてその抗体価が上昇していくことを報告した。

今回、著者らは犬蛔虫幼虫移行症を起こさせた家兎血清について、犬蛔虫成虫抗原によるラテックス凝集反応、幼虫沈降物付着試験、補体結合反応、Ouchterlony法、免疫電気泳動法を用い、それぞれの反応抗体価の経時的推移を比較し、ラテックス凝集反応および他種血清学的反応との関連につき考察したのでその概要を報告する。

本研究の一部は昭和53年度文部省科学研究総合研究A (課題番号 337016) および昭和56年度一般研究C (同 56570159) の補助をうけて行なわれた。記して謝意を表する。

\* 金沢大学医学部寄生虫学教室

† 金沢大学医学部付属動物実験施設

#### 材料および方法

##### 犬蛔虫幼虫感染家兎血清：

実験に用いた家兎は日本白色在来種 2.5~3.0kg の6羽で、投与犬蛔虫卵は Oshima (1961) の方法に準じ、近藤 (1970) の方法に従つて倍養、6週以上を経過した幼虫包蔵卵 (虫卵と略す) で、家兎1羽あたり100,000個をポリエチレンチューブにより、確実に胃内に投与した。血清は虫卵投与直前と虫卵投与後1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 13週目にそれぞれ採血、分離後 -20C で保存した。

##### 免疫血清検査：

###### 1) ラテックス凝集反応

ラテックス凝集反応に用いた反応試薬の調製は坪田・小沢 (1977), 近藤ら (1980) の方法に準じた。抗原に用いた犬蛔虫雌成虫は、仔犬より得たもので、採集後37C 生理食塩水中で3~5時間飼養した後、直ちに凍結乾燥、-20C に保存した。抗原はこの保存虫体を細切り、超音波 (20KHz, 10分) 摩砕、0.1% 食塩水で4C 48時間抽出後 16,000 rpm (20,000 G) 60分遠心、その上清を4C 15時間透析、凍結乾燥したものである。反応試薬は抗原蛋白濃度が2.5mg/ml になるように0.2M-塩化アンモニウム・アンモニア緩衝液 (pH 8.0) で溶解したものを抗原液とした。抗原感作は抗原液2容に対し、ラテックス粒子 ( $\phi$ -0.9 $\mu$ m: 武田薬品工業 KK) を0.2M-塩化アンモニウム・アンモニア緩衝液 (pH 8.0) に、5% (w/v) となるように懸濁させたもの1容を加え、37C 60分感作した。次いで同じ緩衝液で2回遠心洗滌し、余剰の抗原を除去した後、感作ラテックス粒子を終濃度が0.1% (w/v) になるように牛血清アルブミン0.5%

(w/v)加同緩衝液に懸濁させたものを反応試薬とした。この時の至適抗原量の決定は抗原量を 10.0, 5.0, 2.5, 1.25, 0.63mg/ml の5段階にわけ、抗原あるいは抗体過剰がみられなかつた量の2.5mg/ml を至適抗原量とした。

## 2) 幼虫沈降物付着試験

幼虫沈降物付着試験に用いた犬蛔虫幼虫は近藤(1970)の方法に従い、6週間以上培養した虫卵を生理食塩水中に懸濁させ、その懸濁液をホモジナイザー内の底部に密着させたピストン上に滴下、手動により静かにピストンを数回上下し、物理的に幼虫を脱殻させた。卵殻と幼虫の混在した液は3~5回生理食塩水で洗浄(1,000 rpm 5分間遠心沈澱させる)し、Fig. 1に示した様なベールマン氏法を改変した装置により、脱殻幼虫のみを回収した。濾紙はメリタジャパンKKのコーヒー濾過用のものを用いた。

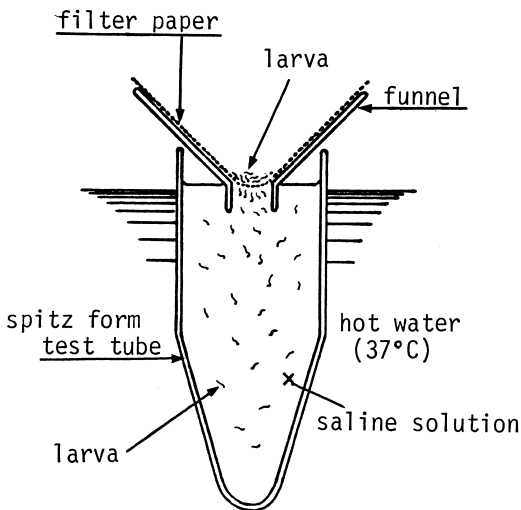


Fig. 1 Modified Baermann's apparatus.

幼虫沈降物付着試験はStevenson and Jacobs (1977)の方法に準じ、U型マイクロプレートに2倍希釈系列により、各孔に希釈被検血清を分注、同時に幼虫20隻宛をそれぞれ投入、37°C 3時間恒温室内で反応させた。判定は虫体周囲に沈降物が付着している幼虫が5隻以上ある場合の最終希釈濃度をもって、幼虫沈降物付着試験による血清の抗体価とした。

## 3) 補体結合反応

補体結合反応による試験は井上(1973)の方法に準じ、50%溶血法(マイクロタイター法)によつた。抗原は前述の方法によつて保存された虫体を細切し、PBS

(pH 7.2)を加え、超音波摩砕、虫体乾燥重量に対し100倍になるように、更にPBSを加え、4°C 48時間抽出、4°C 15時間透析した後、7,000 rpm (3,700G) 20分遠心した上清である。力価の測定はbox titrationによつて行ない、牛血清アルブミンを基準とする蛋白濃度の測定法で定量した。その結果、今回試験に用いた至適濃度とする蛋白量は4.6mg/mlであつた。

## 4) Ouchterlony 法および免疫電気泳動法

Ouchterlony 法および免疫電気泳動法による検討は辻(1974)の方法に準じ、近藤ら(1977)に従つて行なつた。この場合の抗原は、前述のラテックス凝集反応に用いたものと同じのものであつて、抗原孔には凍結乾燥重量として2mgを0.032mlの蒸留水に溶かしたものを注入した。

## 成 績

虫卵投与後の家兔血清について、経時的に各種免疫血清学的反応を行なつた結果は、次のごとくである。

### 1) ラテックス凝集反応

ラテックス凝集反応による抗体価の経時的推移は、Fig. 2に実線で示した。虫卵投与前の平均抗体価は $1:2^{2.8}$ であつたが、虫卵投与後の平均抗体価は、1週目に $1:2^{3.7}$ 、2週目に $1:2^{5.0}$ と次第に増加して行き、3週目には $1:2^{6.5}$ と最高値に達した。その後、5週目、7週目の平均抗体価は、わずかに低値を示す傾向がみられたが、9週目には $1:2^{6.8}$ 、11週目および13週目では $1:2^{7.0}$ と、比較的高値の持続がみられた。

### 2) 幼虫沈降物付着試験

幼虫沈降物付着試験ではFig. 3に示したごとく、沈降物は幼虫の頭部、排泄孔および肛門部に付着、血清中に遊離しているものも認められた。幼虫沈降物付着試験による抗体価の経時的推移は、Fig. 2に鎖線で示した。沈降物は虫卵投与後1週目に、少量の付着が認められはじめ、その時の平均抗体価は $1:2^{0.5}$ であつた。この抗体価は週の経過に従つて急増し、虫卵投与後5週目には $1:2^{4.7}$ と最高値に達した。その後、7週目には $1:2^{2.2}$ 、9週目に $1:2^{0.7}$ と急激に低下し、11、13週目ではほとんど認められなくなつた。

### 3) 補体結合反応

補体結合反応による抗体価の推移は、Fig. 2の点線で示した。虫卵投与直前の抗体価は平均 $1:2^{1.3}$ であつたが、1週目には $1:2^{1.5}$ 、3週目では $1:2^{4.7}$ と急激に増加してゆき、5週目には $1:2^{5.5}$ と最高値に達した。その後は徐々に低下していき、幼虫沈降物付着試験でみ

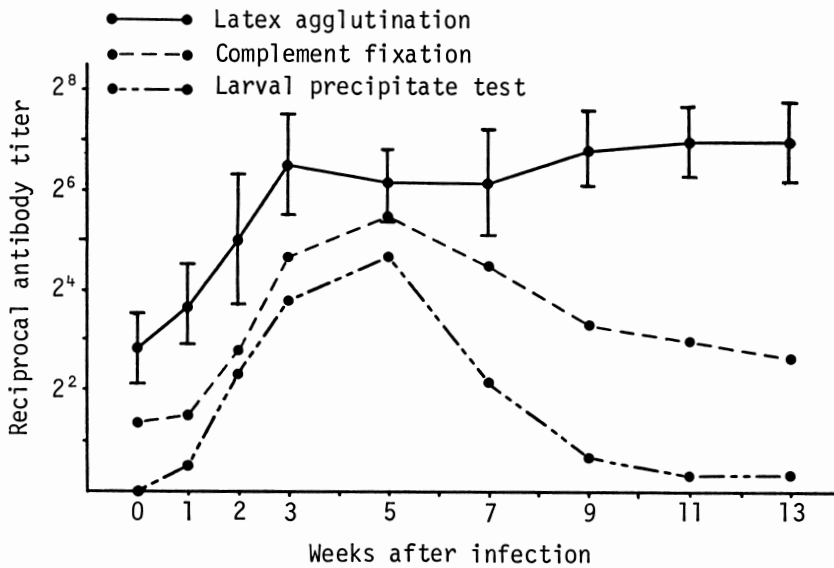


Fig. 2 Transition of antibody titers in rabbits inoculated with *Toxocara canis* infective eggs.

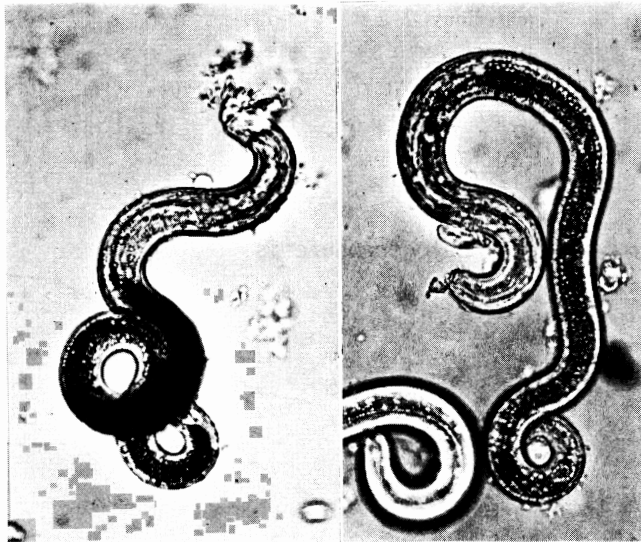


Fig. 3 Precipitation appearing in oral or anal and excretory pores of larvae at 7 weeks of infection.

られたように抗体価の急激な減少はみられず、9週目では  $1:2^{3.3}$ 、13週目には  $1:2^{2.7}$  であった。

#### 4) Ouchterlony 法

Ouchterlony 法により沈降線が認められはじめるのは、虫卵投与後2週目であった。Fig. 4は沈降線がみられた5週目(3本)、7週目(4本)、9週目(6本)、13週目(7本)の像を示したものである。確認された沈

降線数は個体により多少の差がみられたが、その経時的推移を確認沈降線数の平均値により Fig. 5に鎖線で示した。虫卵投与後2週目では0.4本で、以後3週目に1.8本、5週目で3.6本と次第に増加、13週目には5.3本となった。

#### 5) 免疫電気泳動法

免疫電気泳動法による沈降線数は Ouchterlony 法に

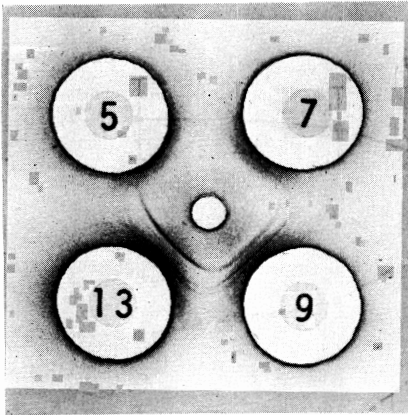


Fig. 4 Precipitin bands proved by gel diffusion technique in sera taken from infected rabbits. Each number indicates weeks after infection.

よる場合と同様、個体により差がみられたが、経時的推移を出現沈降線の平均値により Fig. 5 に実線で示した。沈降線が認めはじめられるのは、Ouchterlony 法とほぼ同じ時期で、その数は虫卵投与後 2 週目に平均 0.8 本で、以後 3 週目に 2.8 本、5 週目には 5.8 本と経過週に従ってその数は増加し、13 週目には 8.8 本となった。Fig. 6 は虫卵投与後 3 週目から 13 週目にいたる沈降線の出現状

況を示したもので、虫卵投与後 5 週目までその数は増加し 7 本となったが、以後 13 週目にいたって 13 本の沈降線が確認できた。

#### 考 察

犬蛔虫幼虫移行症の免疫血清学的診断に関する研究には、これまで赤血球凝集反応、補体結合反応、蛍光抗体法、酵素抗体法、寒天ゲル内沈降反応などが適用され、使用抗原の患者血清、実験感染動物血清に対する感受性、種間の特異性などが検討されてきた。

今回、著者らは犬蛔虫幼虫移行症を起こさせた家兎の血清について、犬蛔虫雌成虫抽出抗原を用いたラテックス凝集反応、補体結合反応、Ouchterlony 法、免疫電気泳動法、犬蛔虫幼虫を用いた幼虫沈降物附着試験により得られた抗体価の推移を比較した。その結果は Figs. 2, 5 に示したが、ラテックス凝集反応、幼虫沈降物附着試験、補体結合反応による抗体価は、それぞれ虫卵投与前のそれにくらべ、虫卵投与後は経時的に増加、あるいは変化した。虫卵投与前の家兎血清は成虫抽出抗原を用いたことによるものか、非特異的反応として凝集がみられた。このことは Hogarth-Scott (1968) が線虫角皮抗原を用いた場合、健康人においても非特異的類属反応として、自然抗体による凝集がみられることを指摘していることから、本実験においても角皮を含む全虫体

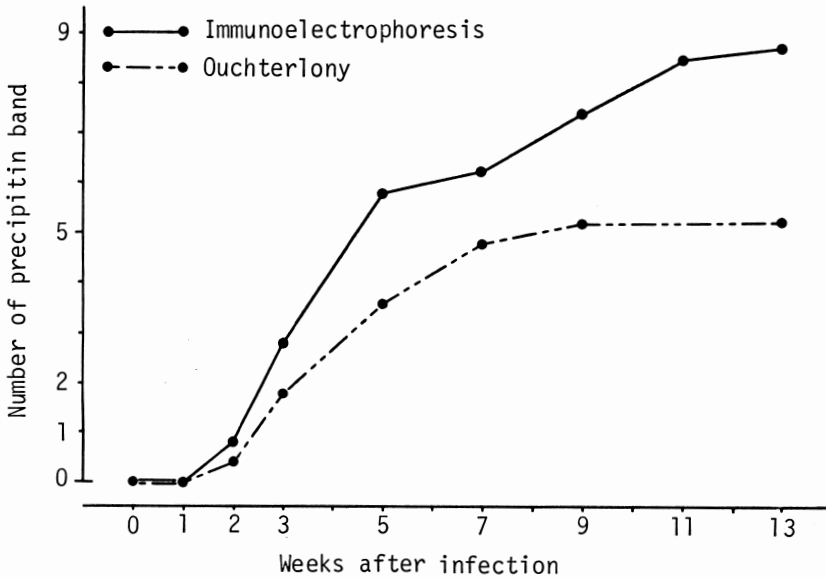


Fig. 5 Transition of precipitin bands in rabbits inoculated with *Toxocara canis* infective eggs.

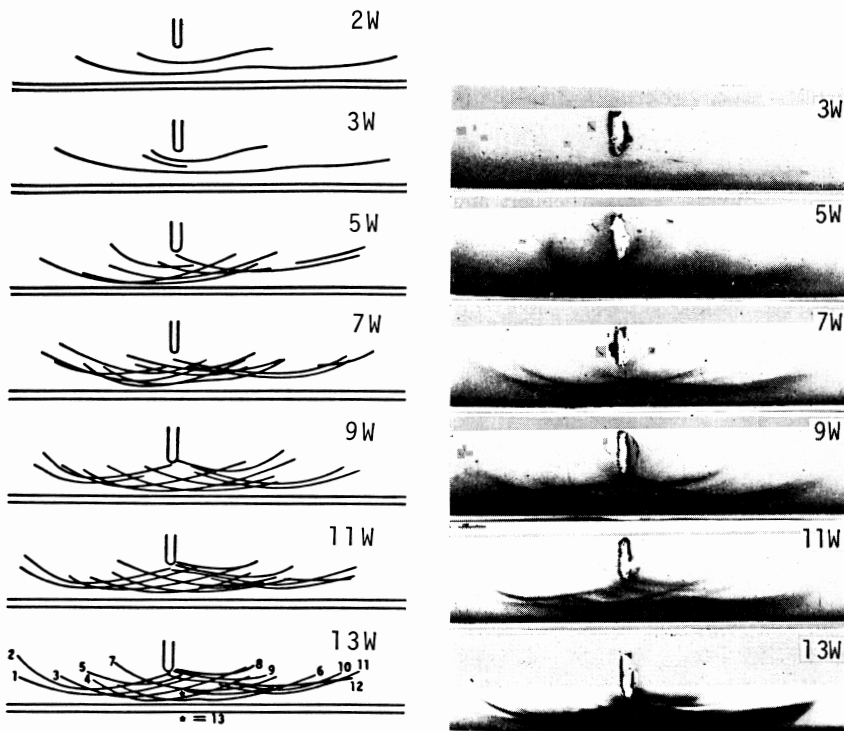


Fig. 6 Transition of immunoelectrophoretic patterns of sera periodically collected from the infected rabbits (W: indicates weeks).

抗原を用いている点で、同様に凝集がみられることが推察された。一方、補体結合反応では家兔の個体差によるものか、うち1例に抗補体作用によるものか、若干の抗体価がみられ、平均抗体価としては $1:2^{1.5}$ となった。これらのことについては、更に抗原の精製、非特異反応に対する検討が望まれる。今回行なった前3試験では、いずれも虫卵投与後の抗体価が、虫卵投与前の抗体価にくらべ、1週目にわずかではあるが上昇している傾向がみられ、2週目以降3週目にかけては、顕著な上昇が確認された。その後はラテックス凝集反応による抗体価のみが、 $1:2^6 \sim 2^8$ と変動がみられるものの、比較的高値を持続した。また、幼虫沈降物付着試験、補体結合反応による抗体価はさらに上昇し、5週目には共に最高値に達したが、その後は幼虫沈降物付着試験では急速に、補体結合反応では徐々に減少して行く傾向がみられた。他方、Ouchterlony法、免疫電気泳動法による沈降線は、虫卵投与後2週目に初めて確認された。これら沈降線は、その後経時的に数を増して行き、13週目にはOuchterlony法では平均5.3本、免疫電気泳動法では平均8.8本が認められた。

Fellers (1953) は犬蛔虫幼虫移行症を疑った幼児の血清について、赤血球凝集反応を試みた結果、初診時よりも約1カ月後にみた抗体価の方が、ほぼ20倍もの増加を示していたことを報告した。しかも、健康者や他の寄生虫保有者の抗体価が全て陰性であったことから、本反応が診断法として評価しようとした。その後、本症を疑わせる幼児の症例について、Kagan *et al.* (1959), Jung and Pacheco (1960), Wood *et al.* (1965), Krupp (1974), de Savigny and Tizard (1977), Glickman *et al.* (1978)などは赤血球凝集反応に加え、bentonite flocculation, 酵素抗体法, Ouchterlony法, カウンター電気泳動法などにより、対照群にくらべ有意に抗体価が高いことを認めた。一方、抗原の特異性については、成虫抗原を用いるよりも虫卵 (Kagan *et al.*: 1959), 幼虫 (Glickman *et al.*: 1978), 幼虫排泄・分泌物 (de Savigny and Tizard: 1977)を用いる方がより高いが、いずれも交差反応がみられたとしている。Kagan *et al.* (1959) は犬蛔虫幼虫移行症の猿、犬の血清について抗原の特異性を、Wood *et al.* (1965), de Savigny and Tizard (1977) は家兔で、Aljeboori and

Ivey (1970) は家兎とヒヒで, Enayat and Pezeshki (1977) はモルモットと, それぞれの血清について虫卵投与後の抗体価の推移, 抗原の感受性および特異性を検討した. その結果, 赤血球凝集反応が, 本症の診断法として評価できるものの, 他の寄生虫感染との間に交差反応がさげられないとしている. また, Aljeboori and Ivey (1970), Glickman *et al.* (1978) などは, より特異的抗原性をもつものは幼虫抗原であると報告した.

これら諸氏の成績から赤血球凝集反応抗体価の経時的推移をみると, 著者らが行なったラテックス凝集反応抗体価の推移とほぼ同じ傾向がみられるが, 抗原の特異性, 交差反応についてはさらに検討の必要が望まれる.

一方, Zapart and Przyalkowski (1976) は犬蛔虫抗原によるラテックス凝集反応, 重層法による沈降反応を行ない, 虫卵投与後 4 週目まで経過日数に従い抗体価が上昇することを認め, 著者らの示す経時的抗体価の推移と, ほぼ同様の傾向を示した.

ところで犬蛔虫幼虫移行症において, 宿主の産生する抗体の本質に関する報告は少なく, 今までに報告されているほとんどの症例は, 臨床検査資料から総 IgM, IgG 量の増加が指摘されている. Diconza (1972) は犬蛔虫幼虫感染ラット血清をセファデックス G-200, DEAE セルローズで分画し, その第 II ピークのフラクション中に幼虫沈降物付着試験に反応する抗体が含まれ, 7S 抗体であろうとし, さらに 19S 抗体も関与していると述べた. 一方, de Savigny and Tizard (1977) は同様な家兎血清について赤血球凝集反応抗体価の推移から, IgM, IgG についての検討が今後の課題であるとしている. また, 補体結合反応にあずかる抗体としては, IgM, IgG クラスの抗体が考えられているが, IgM クラス抗体は補体に関与する活性においても, 感染初期では IgG クラスの抗体にくらべ効率よく反応することが知られている (清水, 1977; Müller, 1978). 一方, IgG クラスの抗体は, 産生される時期が幾分おくれるが, 長期にわたって生体防衛にかかわるためか, 生産量は多量であることが知られている (水谷: 1975, Müller: 1978). この様なことから, 犬蛔虫幼虫感染家兎においても感染初期の段階では, 主として IgM クラスの抗体が, 長期経過血清では IgG クラスの抗体が, 今回行なったそれぞれの血清学的試験の反応に関係しているものと推察される.

今後, 実験的犬蛔虫幼虫移行症における経時的な抗体, 特に産生 IgM, IgG クラスの抗体について, 抗体の吸着, 不活化などを始め, 種々な血清学的試験, 幼

虫, 幼虫排泄物・分泌物抗原の種特異性による検討を試みる必要が考えられた.

## 総 括

実験的に犬蛔虫幼虫移行症をおこさせた家兎血清について, ラテックス凝集反応, 幼虫沈降物付着試験, 補体結合反応, Ouchterlony 法, 免疫電気泳動法を用い, 各試験による虫卵投与後の抗体出現の推移を比較検討し, 以下に示す結果を得た.

1) ラテックス凝集反応による抗体価の推移は, 虫卵投与後から 3 週目にかけて急増し, 平均  $1:2^{6.5}$  に達した. その後は  $1:2^{6\sim 2^8}$  と多少の変動がみられるものの, 13 週目には  $1:2^{7.0}$  と高値が持続した.

2) 幼虫沈降物付着試験および補体結合反応による抗体価の推移は, ラテックス凝集反応と同様虫卵投与後経時的に急増し, 5 週目にはそれぞれ平均  $1:2^{4.7}$ ,  $1:2^{5.5}$  と最高値に達した. その後, 幼虫沈降物付着試験による抗体価は急速に低下し, 9 週目には  $1:2^{0.7}$ , 11 週目以降はごくわずかししか認められなくなった. 一方, 補体結合反応の抗体価は, その後徐々に低下してゆき, 13 週目には平均  $1:2^{2.7}$  となった.

3) Ouchterlony 法と免疫電気泳動法では, 虫卵投与後 2 週目に始めて沈降線の出現を認め, その数は平均 Ouchterlony 法では 0.4 本, 免疫電気泳動法では 0.8 本であった. その後, 次第にその数は増加し, 13 週目には 5.3 本, 8.8 本となった.

## 文 献

- 1) Aljeboori, T. I. and Ivey, M. H. (1970): An improved hemagglutination technique for detecting antibody against *Toxocara canis*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 19, 244-248.
- 2) Diconza, J. J. (1972): *Toxocara canis*: some characteristics of larval precipitating antibodies in rat serum. *Internat. J. Parasit.*, 2, 471-479.
- 3) Enayat, M. S. and Pezeshki, M. (1977): The comparison of counterimmunoelectrophoresis with indirect haemagglutination test for detection of antibodies in experimentally infected guinea pigs with *Toxocara canis*. *J. Helminthol.*, 51, 143-148.
- 4) Fellers, M. F. X. (1953): Agglutination studies in visceral larva migrans. *Am. J. Dis. Child.*, 86, 767-771.
- 5) Glickman, L., Schantz, P., Donbroske, R.

- and Cypess, R. (1978) : Evaluation of serodiagnostic tests for visceral larva migrans. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 27, 492-498.
- 6) Hogarth-Scott, R. S. (1968) : Naturally occurring antibodies to the cuticle of nematodes. *Parasitol.*, 58, 221-226.
- 7) 井上 栄 (1973) : マイクロ法による補体結合試験. *臨床検査*, 17, 838-847.
- 8) Jung, R. C. and Pacheco, G. (1960) : Use of a hemagglutination test in visceral larva migrans. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 9, 185-191.
- 9) Kagan, I. G., Norman, L. and Allain, D. S. (1959) : Studies on the serology of visceral larva migrans. I. Hemagglutination and flocculation tests with purified ascaris antigens. *J. Immunol.*, 83, 297-301.
- 10) 近藤力王至 (1970) : 移行性幼線虫症の実験的研究. *京府医大誌*, 79, 32-56.
- 11) 近藤力王至・吉村裕之・西田和義・大西義博・上村 清 (1977) : 広節裂頭条虫症の免疫血清学的研究. (1) 感染者の血清グロブリン, 特に IgE 値および沈降反応について. *寄生虫誌*, 26, 265-270.
- 12) 近藤力王至・吉村裕之・大西義博・赤尾信明・坪田宣之・鈴木俊夫・石郷岡清基 (1980) : 広節裂頭条虫症の免疫血清学的研究. (2) ラテックス凝集反応と酵素抗体法による検討. *寄生虫誌*, 29, 55-60.
- 13) Krupp, I. M. (1974) : Hemagglutination test for the detection of antibodies specific for *Ascaris* and *Toxocara* antigens in patients with suspected visceral larva migrans. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 23, 378-384.
- 14) 水谷昭夫 (1975) : 抗原抗体反応の基礎知識 : 抗体. *免疫血清検査* : 河合忠編, 28-42, 医学書院, 東京.
- 15) Müller, F. (1978) : Syphilis: Current immunological diagnostics. *Clinical immunology review* : 12. *Immuno-Review*, 14(4), 47-51.
- 16) Oshima, T. (1961) : Standardization of techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observations on the normal migration routes of the larvae. *J. Parasit.*, 47, 652-656.
- 17) de Savigny, D. H. and Tizard, I. R. (1977) : Toxocaral larva migrans: the use of larval secretory antigen in haemagglutination and soluble antigen fluorescent antibody tests. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 71, 501-507.
- 18) 清水 章 (1977) : IgM の構造と機能. *最新医学*, 32, 420-426.
- 19) Stevenson, P. and Jacobs, D. E. (1977) : *Toxocara* infection in pigs. The use of indirect fluorescent antibody tests and an *in vitro* larval precipitate test for detecting specific antibodies. *J. Helminth.*, 51, 149-154.
- 20) 坪田宣之・小沢 光 (1977) : トキソプラズマラテックス凝集反応に関する研究. (第1報) マイクロタイター用試薬の調製条件と安定性. *寄生虫誌*, 26, 276-285.
- 21) 辻 守康 (1974) : 寄生蠕虫類の免疫電気泳動法について. *寄生虫誌*, 23, 335-345.
- 22) Wood, R. M., Ellison, A. C., Kelley, K. C. and Kaufman, H. E. (1965) : Antibody to *Toxocara canis* in humans. *Arch. Ophthalmol.*, 73, 482-486.
- 23) Zapart, W. and Przyjałkowski, Z. (1976) : Serological and haematological investigations in the course of experimental *Toxocara canis* infection in laboratory mice. *Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Biol.*, 24, 293-298.

**Abstract**

EXPERIMENTAL STUDIES ON VISCERAL LARVA MIGRANS  
3. TRANSITIONAL OBSERVATIONS OF ANTIBODY TITERS IN  
SERA OF EXPERIMENTALLY INFECTED RABBITS  
WITH *TOXOCARA CANIS* EGGS

KAORU KONDO, NOBUYUKI TSUBOTA, YOSHIHIRO OHNISHI,  
HIROYUKI YOSHIMURA  
(*Department of Parasitology, School of Medicine,  
Kanazawa University, Kanazawa City, Japan*)

AND

TSUTOMU KOIZUMI  
(*Institute for Experimental Animals, School of Medicine,  
Kanazawa University, Kanazawa City, Japan*)

The transitional changes of antibody titers of the sera periodically taken from rabbits experimentally infected with *Toxocara canis* eggs were examined by means of latex agglutination test (LA), larval precipitate test (LP), complement fixation test (CF), agar-gel diffusion (Ouchterlony) and immunoelectrophoresis (IEP).

The antigen used for the experiments was prepared with adult female worm of *Toxocara canis*, according to the methods of Tsuji (1974) and Kondo *et al.* (1977). The larvae for LP were collected by modification of Baermann's technique.

The results obtained were summarized as follows:

- 1) Antibody titers of LA rapidly increased to average  $1:2^{6.5}$  at 3 weeks of infection, then the titers ranging from  $1:2^6$  to  $1:2^8$  were kept until 13 weeks of infection (Fig. 2).
- 2) Larval precipitation and complement fixation tests reached maximum titers as  $1:2^{4.7}$  or  $1:2^{5.5}$  respectively at five weeks of infection. Thereafter the former gradually decreased to  $1:2^{0.7}$  at 9 weeks and the latter more slowly decreased to  $1:2^{2.7}$  at 13 weeks of infection.
- 3) Precipitin bands proved by both Ouchterlony and IEP were first found at two weeks of infection, and their numbers were 0.4 or 0.8 respectively. The numbers of these bands increased to be demonstrated as 5.3 or 8.8 respectively at 13 weeks.

The antibodies taking part in visceral larva migrans were discussed in present study.