

TRICHOMONAS VAGINALIS'È AGLUTINOGEENSETEST OMADUSTEST

J. TERAS,
meditsiinikandidaat

Kirjanduse põhjal on spetsiifiliste aglutiniinide tekkimist *Trichomonas vaginalis*'e kultuuridega vaksineeritud küülikute vereseerumis kirjeldanud mitmed autorid [5, 6, 7, 8], kuid ei leidu andmeid vaksineerimisviisi mõju kohta aglutiniinide tekke dünaamikale ja aglutiniinide tiitri olenevuse kohta vaksineerimisviisist. Arvestades nende küsimuste tähtsust *T. vaginalis*'e antigeensete omaduste ja urogenitaaltrakti trihhomoniaasi immunoloogia tundmaõppimisel, võtsimegi endi ülesandeks võrrelda spetsiifiliste aglutiniinide tekke dünaamikat *T. vaginalis*'e kultuuridega intravenoosselt, intramuskulaarselt ja subkutaanselt vaksineeritud küülikutel.

Metoodika

Küülikute vaksineerimiseks, samuti aglutinatsioonireaktsiooniks kasutasime TV-1-söötmes [2] penitsilliini ja streptomüsiini abil puhastatud ning seejärel TV-4-söötmes [3] kultiveeritud *T. vaginalis*'e puhaskultuure. Pärast kultuuride kolmekordset pesemist isentrifugeerimise teel 0,85% -lise NaCl-lahusega määrasime kultuuride tiheduse Bürkeri loenduskaambi abil. Seejärel valmistasime nii aglutinatsioonireaktsiooniks kui ka küülikute vaksineerimiseks vajaliku tihedusega trihhomoonaste suspensioonid. Sellist elusaid trihhomoonaseid sisaldavat suspensiooni, mida olime celnevalt hoolikalt loksutanud ja 37° C-ni soojendanud, süstisime küülikutele kõrvaveeni.

Intravenoosselt immuniseerisime küülikuid ka trihhomoonaste surmatud kultuuriga, millega vaksineerisime neid ka subkutaanselt ja intramuskulaarselt. Subkutaanselt süstisime vaktsiini epileeritud ja seejärel 70% -lise alkoholiga desinfitseeritud abaluu piirkonda. Intramuskulaarselt manustasime trihhomoonaste surmatud kultuure tuharalihastesse.

Trihhomoonaste surmamiseks kuumutasime pestud kultuure kahe tunni jooksul veevannis 58—60° temperatuuris. Seejärel tegime kontrollkülvid TV-1- ja TV-4-söötmesse, vereagarile ja glükoosipuljongisse. Edaspidises töös kasutasime ainult steriilseid vaktsiine.

Oma katsetes kasutasime ca 2,5 kg raskusi küülikuid. Igal vaksineerimisel päeval võtsime kõikidelt katseloomadelt kõrvaveenist klaassüstlaga ca 5 ml verd aglutinatsioonireaktsiooniks.

Vajaliku antigeeni valmistamiseks ja reaktsiooni läbiviimiseks kasutasime oma varasemat metoodikat [3]. Kõikidel juhtudel teostasime aglutinatsioonireaktsiooni antigeeniga, mille valmistasime küülikute vaksineerimiseks kasutatud *T. vaginalis*'e tüvest.

Kasutasime nelja *T. vaginalis*'e tüve, millest kolm isoleerisime trihhomoniaasi põdevatelt naistelt (tüved nr. 1, 2 ja 3) ja ühe (tüvi nr. 4) trihhomoniaasi põdevalt mehelt. Tüved nr. 1 ja nr. 4 isoleeriti seksuaalpartneritelt.

Üldse vaksineerisime 16 küülikut, neist: eluskultuuridega intravenoosselt kuus isast, surmatud kultuuridega intravenoosselt neli (2 isast ja 2 emast), subkutaanselt neli (2 isast ja 2 emast) ja intramuskulaarselt kaks emast. Vaksineeriti enamikul juhtudest kolm korda kümnapäevaste vaheaegadega. Igast rühmst vaksineerisime ühe katselooma ka neljandat korda. Samuti määrasime igas rühmas vähemalt ühel katseloomal aglutiniinide tiitri ka 35—70 päeva pärast viimast vaksineerimist.

Uurimistulemused

Küülkute intravenoosselt vaktsineerimisel *T. vaginalis*'e eluskultuuridega (vt. tab. 1) selgus, et trihhomoonaste toimel tekkisid katseloomade veres spetsiifilised antikehad. Määrates aglutiniinide tiitri nii enne esimest vaktsineerimist kui ka 10 päeva pärast iga vaktsineerimist selgus, et neljal küülikul ei leidunud esimese vaktsineerimise järel veres veel trihhomoonaseid aglutineerivaid aglutiniine, kuna kahel katseloomal oli aglutiniinide tiiter juba vähe tõusnud: küülikul nr. 5 1:80-lt 1:320-ni ja küülikul nr. 6 1:80-lt 1:400-ni.

Aglutiniinide tiiter tõusis kõikidel katseloomadel hüppeliselt pärast teist (maksimaalselt kuni 1:5120) ja pärast kolmandat vaktsineerimist (kuni 1:10 240). Seega tõusis aglutiniinide tiiter pärast kolmekordset kümnepäevaste vaheaegadega vaktsineerimist enamikul küülikutel kuni 1:5120—1:6400 ja ühel küülikul koguni 1:10 240-ni.

Neljas vaktsineerimine näitas, et aglutiniinide tiiter pärast kolmandat vaktsineerimist enam ei tõusnud (küülik nr. 5). Teisel sama tüvega vaktsineeritud katseloomal (küülik nr. 6) täheldasime 35 päeva pärast kolmandat vaktsineerimist aglutiniinide tiitri langust 1:5120-lt 1:1600-ni. 70 päeva pärast kolmandat vaktsineerimist oli aglutiniinide tiiter veel ainult 1:640.

Tabel I

Küülkute vaktsineerimise tulemused

Küülku nr.	<i>T. vaginalis</i> e tüve nr.	Vaktsineerimiseks kasutatud algloomade arv (milj.)				Aglutiniinide tiiter				
						Enne	Pärast			
							I	II	III	IV
						vaktsineerimist				

Intravenoosselt, eluskultuur:

1	1	8	10	20		(—)	(—)	1:5120	1:10 240	
2	4	8	10	20		(—)	(—)	1:5120	1:5120	
3	2	10	20	25		1:20	1:40	1:2560	1:5120	
4	2	10	20	25		1:40	1:40	1:2560	1:2560	
5	3	20	30	40	40	1:80	1:320	1:3200	1:6400	1:6400
6	3	20	30	40		1:80	1:400	1:3200	1:5120	

Intravenoosselt, surmatud kultuur:

7	2	10	20	25		(—)	1:80	1:320	1:640	
8	2	10	20	25		1:20	1:40	1:1280	1:5120	
9	3	20	30	40	40	1:80	1:200	1:2560	1:3200	1:3200
10	3	20	30	40		1:80	1:160	1:400	1:2560	

Subkutaanselt, surmatud kultuur:

11	2	10	20	25		(—)	(—)	1:40	1:40	
12	2	10	20	25		1:20	(—)	1:40	(—)	
13	3	20	30	40		1:80	1:160	1:640	1:800	
14	3	20	30	40	40	1:80	1:200	1:400	1:640	1:400

Intramuskulaarselt, surmatud kultuur:

15	3	20	30	40		1:80	1:160	1:800	1:800	1:640
16	3	20	30	40	40	1:80	1:40	1:640	1:640	

Samuti nagu *T. vaginalis*'e eluskultuuridega vaksineeritud küülikutel, tekkisid spetsiifilised aglutiniinid ka surmatud kultuuridega intravenoosselt immuniseeritud küülikutel. Siingi täheldasime pärast esimest vaksineerimist ainult vähest aglutiniinide tiitri tõusu (maksimaalselt kuni 1:200). Pärast teist vaksineerimist oli aglutiniinide tiiter kahel küülikul tõusnud 1:1280-ni ning 1:2560-ni ja kahel küülikul 1:320-ni ning 1:400-ni. Kümme päeva pärast kolmandat vaksineerimist tõusis aglutiniinide tiiter kahel küülikul juba 1:2560-ni ja 1:5120-ni, ühel katseloomal aga ainult 1:640-ni. Aglutiniinide tiiter pärast neljandat vaksineerimist, võrreldes kolmandaga, ei muutunud ka surmatud kultuuridega süstitud katseloomal (küülik nr. 9). 35-ndaks päevaks pärast kolmandat vaksineerimist oli aglutiniinide tiiter küülikul nr. 10 langenud 1:2560-lt 1:800-ni.

T. vaginalis'e surmatud kultuuridega subkutaanselt vaksineeritud kahel katseloomal (nr. 11 ja 12) ei tekkinud spetsiifilisi aglutiniine ka pärast kolmekordset vaksineerimist. Tõenäoliselt oli see tingitud sellest, et kasutatud vaksiiniansused (10, 20, 25 miljonit alglooma), millest piisas antikehade tekkeks intravenoossel manustamisel, osutusid subkutaanselt kasutades liiga väikeseks. Seda oletust kinnitasid meie edaspidised katsed, kus selgus, et vaksiini annuse suurendamisel peaaegu kahekordseks tekkisid aglutiniinid ka surmatud kultuuridega subkutaanselt vaksineeritud küülikutel. Nii tõusis aglutiniinide tiiter ühel katseloomal (nr. 13) juba pärast esimest vaksineerimist 1:80-lt 1:160-ni ja pärast teist vaksineerimist koguni 1:640-ni. Pärast esimest vaksineerimist oli aglutiniinide tiiter tõusnud ka teisel küülikul (nr. 14) 1:80-lt 1:200-ni ja pärast teist vaksineerimist kuni 1:400-ni.

Spetsiifiliste aglutiniinide tiitri tõusu võis mõlemal subkutaanselt vaksineeritud katseloomal täheldada ka pärast kolmandat vaksineerimist (küülikul nr. 13 1:640-lt 1:800-ni ja küülikul nr. 14 1:400-lt 1:640-ni). Küülikul nr. 14 ei tõusnud aglutiniinide tiiter enam neljanda vaksineerimise järel, vaid koguni langes 1:640-lt 1:400-ni. Küülikul nr. 13 langes aglutiniinide tiiter 35-ndaks päevaks pärast kolmandat vaksineerimist 1:800-lt 1:200-ni.

Spetsiifilised aglutiniinid tekkisid ka *T. vaginalis*'e surmatud kultuuridega intramuskulaarselt vaksineeritud küülikutel. Pärast esimest vaksineerimist me siin aglutiniinide tiitri tõusu veel ei täheldanud. See toimus alles pärast teist vaksineerimist: ühel juhul 1:640-ni ja teisel juhul 1:800-ni. Sama tiiter jäi püsima ka pärast kolmandat vaksineerimist ja ei muutunud küülikul nr. 16 ka pärast neljandat vaksineerimist. 35-ndaks päevaks pärast kolmandat vaksineerimist oli aglutiniinide tiiter langenud ka selle rühma katseloomal (1:800-lt 1:200-ni).

T. vaginalis'e kultuuridega intravenoosselt, subkutaanselt ja intramuskulaarselt vaksineerimise tulemuste võrdlemisel selgus, et spetsiifiliste aglutiniinide tiiter oleneb suurel määral antigeeni manustamise viisist. Kõige kõrgem aglutiniinide tiiter tekkis *T. vaginalis*'e elusate kultuuridega intravenoosselt vaksineeritud küülikutel, ulatudes ühel juhul koguni 1:10 240-ni. On huvitav, et aglutiniinide tiiter tõusis närgatavalt juba pärast teist eluskultuuridega vaksineerimist, jäädes osal katseloomadest püsima ka pärast kolmandat vaksineerimist. Kõrge aglutiniinide tiiter tekkis ka enamikul surmatud kultuuridega vaksineeritud küülikutel, kuid nii aglutinatsiooni intensiivsuse kui ka aglutiniinide tiitri tõusu kiiruse põhjal tuleb *T. vaginalis*'e eluskultuuride aglutinogeenset toimet pidada suhteliselt tugevamaks.

Väärrib märkimist, et me küülikute intravenoossel vaksineerimisel ei täheldanud aglutiniinide tekke sõltuvust vaksineerimiseks kasutatud antigeeni annustest. Nii näiteks oli aglutiniinide tiiter küülikutel nr. 2, 3 ja 6 võrdne, kuigi vaksineerisime neid erinevate antigeeni annustega.

Aglutiniinide tekkimine subkutaanselt vaksineerimisel näis olenevat kasutatud antigeeni hulgast, kasjuures suhteliselt väiksema antigeeniannuse kasutamisel aglutiniinide tiiter peaaegu üldse ei muutunud.

Võrreldes subkutaanse, intramuskulaarse ja intravenoosse vaksineerimise tulemusi ilmneb, et aglutiniinide tiiter tõusis nii subkutaanse kui ka intramuskulaarse vaksineerimise järel turduvalt vähem kui pärast intravenoosset vaksineerimist.

Ka Trussell [6] täheldas, et intramuskulaarselt vaktseeritud küülikuile tekkisid spetsiifilised antikehad tunduvalt nõrgemal kujul kui intravenoosselt vaktseeritud katseloomadel. Subkutaanse vaktseerimise kohta me kirjandusest andmeid ei leidnud.

Tähelepanuväärne on, et pärast neljandat vaktseerimist aglutiniinide tiiter meie katsetes enam ei tõusnud ja, olenemata vaktsiini manustamise viisist, jäi enamasti sama kõrgeks nagu pärast kolmandat vaktseerimist.

Arvestades seda, et aglutiniinide piirtiiter pärast viimast vaktseerimist kiiresti langes, võib oletada, et *T. vaginalis*'e invasioon tekitas katseloomadel ainult nn. infektsiooni ehk mittesteriilse immuunsuse, mis, erinevalt postinfektsioosest, paljude autorite poolt ka steriilseks nimetatud immuunsusest [1], kaob varsti pärast haiguse-tekijata kadumist organismist. Edaspidi vajab see küsimus kindlasti üksikasjalikku uurimist, sest immuunsuse vormist on olnud väga suurel määral ka serodiagnostika praktiline väärtus.

Kirjanduse andmeil on spetsiifiliste aglutiniinide küsimust *T. vaginalis*'e antigeeniga intravenoosselt vaktseeritud küülikutel uurinud ka Tokura [7], Trussell [8], Magara [6] ja Lanceley [5]. Kõik nimetatud autorid leidsid, et intravenoosel süstimisel tekivad katseloomadel spetsiifilised aglutiniinid. Elusate trihhomoonaste intravenoosel süstimisel sai Trussell [8], samuti nagu meiegi, kõige kõrgemaks aglutiniinide tiitriks 1:10 240, kusjuures *T. vaginalis*'e surmatud kultuuridega vaktseeritud küülikutel oli aglutiniinide tiiter ka Trusselli andmeil suhteliselt madalam.

Meist tunduvalt madalamaid aglutiniinide tiitri väärtusi said aga Magara [6] ja Lanceley [5]. Magara andmeil oli küülikute vereseerumi kõige kõrgemaks aglutiniinide tiitriks 1:1280, Lanceley' katsetes aga ainult 1:320.

Et Magara sai suhteliselt madalad aglutiniinide tiitrid, on nähtavasti tingitud sellest, et ta vaktseeris küülikuid küll 5 korda, kuid ainult ühepäevaste vaheaegade ja surmas loomad juba 10 päeva pärast viimast injektsiooni. Lanceley, kes küülikute vaktseerimiseks kasutas küll umbes samasuguseid antigeeni annuseid kui meie, süstis, nagu Magaragi, trihhomoonaseid katseloomadele liiga lühikeste intervallide järel. Võib oletada, et selline liiga sagedane antigeeni manustamine põhjustas antikehade tekkimises negatiivse faasi. Ka Tokura [7] leidis, et *T. vaginalis*'e antigeeni liiga sagedase injektsiooni tulemusena tekivad katseloomadel retikuloendoteliaalse süsteemi häired, mistõttu antikehade moodustumine organismis on takistatud. Ei ole võimatu, et Magara ja Lanceley saadud madalamad aglutiniinide tiitri väärtused on tingitud ka nende katsetes kasutatud *T. vaginalis*'e tüvede suhteliselt nõrgematest antigeensetest omadustest.

Nagu meiegi, täheldas ka Magara [6] antikehade piirtiitri kiiret langemist pärast viimast intravenoosset vaktseerimist. Magara andmeil ei sisalda küülikute vereseerum juba kuus nädalat pärast viimast antigeeni injektsiooni spetsiifilisi aglutiniine üldse enam. Siinkohal väärib märkimist, et antikehade kiiret kadumist on täheldatud ka kariloomade trihhomoniaasi korral. Nii näiteks leidis Florent [4], et trihhomoniaasist tervistunud veistel normaliseerus aglutiniinide tiiter mõne kuu jooksul.

Fakt, et spetsiifilised antikehad püsivad ainult lühikest aega, on väga oluline trihhomoniaasi serodiagnostika kasutamise seisukohast praktikas, eriti ravitulemuste kontrolli ja ülemiste genitaalide põletikkude trihhomonaalse etioloogia selgitamisel.

KIRJANDUS

1. Зильбер Л. А., Основы иммунитета. Медгиз, М., 1948.
2. Терас Ю., О защитном действии сыворотки крови больных трихомониазом урогенитального тракта на белых мышей, внутрибрюшинно инфицированных культурами *Trichomonas vaginalis*. Изв. АН ЭССР, сер. биол., 1961, 1, 19—26.

3. Teras, J., Inimeste ja küülikute vereseerumite normaalsete antikehade toimest *Trichomonas vaginalis*'ele. ENSV TA Toimet. Biol. Seer., 1961, 4, 271—279.
4. Florent, A., Immunologie dans la trichomonase bovine. Les Infestations à *Trichomonas*. Premier Symposium Européen, Reims 28—30 mai 1957. Paris, 1957, 308—313.
5. Lanceley, F., Laboratory Aspects of *Trichomonas vaginalis*. Brit. J. Venereal Diseases, 1954, 30, 3, 163—166.
6. Magara, M., Étude des caractères sérologiques et de la pathogénèse expérimentale du *Trichomonas vaginalis*. Les Infestations à *Trichomonas*. Premier Symposium Européen, Reims 28—30 mai 1957. Paris, 1957, 197—199.
7. Tokura, N., Biologische und immunologische Untersuchungen über die menschenparasitären Trichomonaden. Igaku Kenkyu, Fukuda, Japan, 1935, 9, 1—13, Ref.: Zbl. Bact., Par. und Inf. Krankh., Ref. 1936, Bd. 121, 149.
8. Trussell, R., Microagglutination Tests with *Trichomonas vaginalis*. J. Parasitol., 1946, 32, 563.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
 Eksperimentaalse ja Kliinilise Meditsiini Instituut

Saabus toimetusse
 12. V 1961

ОБ АГГЛЮТИНОГЕННЫХ СВОЙСТВАХ *TRICHOMONAS VAGINALIS*

Ю. Тераc,

кандидат медицинских наук

Резюме

Для выявления антигенных свойств *T. vaginalis* была изучена динамика образования специфических агглютининов у подопытных животных.

Опыты проводились на 16 кроликах, которых вакцинировали по 3—4 раза с промежутками в 10 дней интравенно живыми культурами и интравенно, внутримышечно и подкожно убитыми культурами. Для вакцинации и реакции, агглютинации применялись культуры *T. vaginalis*, выращенные в среде «TV-1» [2], содержащей пенициллин и стрептомицин, а затем в среде «TV-4» [3] и трижды промывались стерильным физиологическим раствором. Трихомонады умерщвлялись на водной бане при температуре 58—60° в течение двух часов. Для реакции агглютинации применялась методика, описанная в работе [3].

Результаты опытов показали, что титр агглютининов в значительной степени зависит от метода вакцинации. Наивысший титр агглютининов (1:10240) был получен у кроликов, вакцинированных интравенно живыми культурами; агглютиногенное действие убитых культур оказалось значительно менее выраженным (титр до 1:5120).

При подкожной вакцинации у части животных специфические агглютинины не образовались даже при трехкратной вакцинации. Повышение титра агглютининов (до 1:800) достигалось в этих случаях лишь при почти двухкратной увеличении дозы антигена. Следовательно, при подкожной вакцинации имеет существенное значение количество примененного антигена, которое в пределах доз, примененных при интравеннозной вакцинации, не оказывает влияния на результаты опытов. Такие же результаты были получены у животных, вакцинированных внутримышечно.

Учитывая, что титр агглютининов у большинства животных после последней вакцинации сравнительно быстро падает, можно предполагать, что *T. vaginalis* вызывает у кроликов только инфекционный или нестерильный иммунитет, который в отличие от послеинфекционного или так называемого стерильного иммунитета исчезает вскоре после исчезновения возбудителя из организма.

Институт экспериментальной и клинической медицины Поступила в редакцию
 Академии наук Эстонской ССР 12 V 1961

ÜBER DIE AGGLUTINOGENEN EIGENSCHAFTEN DER *TRICHOMONAS VAGINALIS*

J. Teras

Zusammenfassung

Um die antigenen Eigenschaften der *Trichomonas vaginalis* festzustellen, untersuchte der Verfasser die Entstehungsdynamik der spezifischen Agglutinine bei 16 Kaninchen, die in 10-tägigen Intervallen insgesamt 3 bis 4mal intravenös, intramuskulär oder subkutan mit lebendigen oder abgetöteten Trichomonadenkulturen vakziniert wurden.

Zur Vakzination und Agglutination wurden Reinkulturen der *Trichomonas vaginalis* verwendet. Dabei wurde die Reinigung der Kulturen im Nährboden TV-1 [2] mit Zusatz von Penicillin und Streptomycin durchgeführt, weil die weitere Auszucht im Nährboden TV-4 [3] erfolgte. Demzufolge wurde die Kultur in steriler Kochsalzlösung dreimal ausgewaschen. Die Trichomonaden wurden im Wasserbade (2 Stunden bei 58–60°C) abgetötet. Die hierbei angewandte Methode der Agglutination ist vom Verfasser schon früher publiziert worden [3].

Es hat sich herausgestellt, dass der Titer der Agglutinine vom Vakzinationsmodus abhängig ist. Der höchste Titer (bis 1:10 240) wurde bei den mit lebendigen Kulturen intravenös vakzinierten Kaninchen beobachtet, da die agglutinogene Wirkung der abgetöteten Kulturen beträchtlich schwächer war (Titer bis 1:5120).

Beim subkutanen Vakzinationsmodus konnte man sogar nach dreimaliger Vakzination keine spezifischen Agglutinine nachweisen. Nur wenn man die Dosis des Antigens nahezu verdoppelte, stieg der Titer der Agglutinine um ein geringes (bis 1:800). Somit kann man annehmen, dass bei subkutaner Vakzination die Menge des Antigens eine wesentliche Rolle spielt, während bei intravenöser sowie intramuskulärer Vakzination die Forschungsergebnisse von den angewandten Dosen nicht beeinflusst werden.

Da der Titer der Agglutinine nach der letzten Vakzination bei den meisten Versuchstieren verhältnismässig schnell sank, ist es wahrscheinlich, dass *T. vaginalis* bei den Kaninchen nur eine sogenannte nichtsterile oder Infektionsimmunität hervorgerufen hatte, insofern die letztere — im Gegensatz zur sogenannten postinjektösen oder sterilen Immunität — bald nach dem Schwinden des Krankheitserregers aus dem Organismus absinkt.

Institut für experimentelle und klinische Medizin
der Akademie der Wissenschaften der Estnischen SSR

Eingegangen
am 12. Mai 1961