

<https://doi.org/10.3176/biol.1980.2.02>

УДК 616.2+576.893.161.21 : 616—097

Эльмар РЫЙГАС, Юрий ТЕРАС, Вирве КААЛ,  
Инна КАЗАКОВА, Хельги САРДИС

## РЕЗУЛЬТАТЫ КВАНТИТАТИВНОЙ РЕАКЦИИ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА И РЕАКЦИИ ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ С СЫВОРОТКАМИ КРОВИ БОЛЬНЫХ ПРИ ТРИХОМОНАДНОЙ ИНВАЗИИ ЛЕГКИХ

Установив, что в среднем у 10% больных с хронической легочной патологией в бронхах можно найти трихомонады и что сыворотки крови этих людей содержат специфические к трихомонадам агглютинины (Казакова и др., 1980), мы решили выяснить, содержатся ли в сыворотках крови этих больных и комплементсвязывающие антитела, а также антитела, выявляемые с помощью реакции иммунофлуоресценции, о чем в литературе никаких сведений найти не удалось. Поэтому в настоящей работе мы основывались на данных, полученных в секторе протозоологии Института экспериментальной биологии АН ЭССР, как при исследовании антигенных свойств трихомонад, обитающих в организме человека (Терас, 1961, 1964; Казакова, Терас, 1968; Терас и др., 1968; Терас, Казакова, 1970; Кумм и др., 1972; Рыйгас и др., 1973; Казакова, 1975; Казакова и др., 1976), так и при определении с помощью реакции связывания комплемента (РСК) и иммунофлуоресценции специфических антител в сыворотке крови больных трихомонозом урогенитального тракта (Терас, 1962, 1973; Нигесен, 1964; Нигесен и др., 1964; Яакмэс и др., 1964; Терас и др., 1965, 1976).

### Материал и методика

Было запланировано провести РСК с теми же антигенами, которые мы использовали в реакции агглютинации (Казакова и др., 1980), но в ходе опытов выяснилось, что многие антигены, приготовленные для РСК из штаммов трихомонад, изолированных из бронхов, мокроты и ротовой полости обследованных больных, обладали антикомплементарностью. Так как освободить их от антикомплементарности различными известными методами нам не удалось, мы были вынуждены провести РСК только с теми антигенами, которые не обладали такими свойствами.

Чаще всего подходящие антигены удавалось приготовить из серотипных штаммов *T. tenax* (серотипы А, В, С и D), идентифицированных ранее в секторе протозоологии ИЭБ АН ЭССР (Кумм и др., 1973), и из одного штамма трихомонад, изолированного нами из бронхов. Эти антигены мы использовали для квантитативной РСК, проведенной с сыворотками крови 75 обследованных больных, из которых у 27 мы



обнаружили трихомонады в бронхах, у 21 — в мокроте или ротовой полости, а у 27 не нашли эти простейшие ни в дыхательных путях, ни в ротовой полости. Однако для того, чтобы правильно оценить результаты РСК с сыворотками крови больных с легочной патологией, мы прежде всего попытались выяснить предельные титры нормальных комплементсвязывающих антител (КСА), используя для этого сыворотки крови 32 детей в возрасте от 5 до 12 лет без заболеваний ротовой полости и дыхательных путей.

Антигены для РСК были приготовлены по методу, разработанному и ранее применявшемуся в нашем секторе для исследования антигенных свойств разных видов трихомонад (Терас, 1962; Яакмээс, 1965; Ellamaa, Rõigas, 1977). Согласно этой методике 2—3-дневные культуры трихомонад, выращенные в питательной среде ТТ-4 (Терас и др., 1971), трижды промывали путем центрифугирования подогретым 0,85%-ным раствором NaCl. Плотность простейших определяли в счетной камере Бюркера. После этого трихомонады лизировали добавлением 1 мл стерильной дистиллированной воды на каждые 40 млн. простейших в осадке, смесь тщательно взбалтывали в течение 20 мин и оставляли на 24 ч при 4°C. Затем суспензию встряхивали с осколками стекла в колбах с широким дном по 8 ч в течение 3 дней. К супернатанту, полученному при центрифугировании (7000 г в течение 10 мин), добавляли равный объем 1%-ного раствора фенола, приготовленного в 1,7%-ном растворе NaCl. Таким образом, 1 мл антигена содержал лизат из 20 млн. простейших, 0,85% NaCl и 0,5% фенола. Рабочий титр полученных антигенов определяли по Галлманну (Hallmann, 1953).

РСК проводили на поливиниловых пластинках, используя квантитативный метод Боас'а (Резникова, 1967), причем объем каждого ингредиента, предназначенного для проведения реакции, по ранее определенному рабочему титру составлял 0,1 мл. В реакциях использовали начальные разведения сывороток крови обследованных (1:40, 1:50 и 1:60), из которых в дальнейшем были получены разведения до 1:640, 1:800 и 1:960. За титр каждой сыворотки принимали последнее разведение сыворотки, которое давало положительную реакцию, т. е. полную задержку гемолиза.

При приготовлении антигенов для реакции иммунофлуоресценции исходили из имеющихся в литературе данных по изучению различных микроорганизмов с помощью меченных флуорохромом антител (Goldman, 1953, 1966; Михайлов, 1961; Мацелюх, 1966; Jentzsch, 1967; Рыйгас, 1975), причем тест-антигены готовили из 24—48-часовых культур штаммов трихомонад, выращенных в среде ТТ-4 и трижды промытых изотоническим раствором поваренной соли. Из отмытого осадка готовили суспензию плотностью 2 млн. простейших в 1 мл изотонического раствора NaCl.

Реакцию иммунофлуоресценции проводили по непрямому методу (РИФ), используя разработанную нами ранее схему (Рыйгас, 1975), согласно которой из исследуемых сывороток крови обследованных больных готовили разведения 1:2, 1:4, 1:8 и 1:16, которые наносили на тест-антиген и оставляли во влажной камере на 30 мин при 37°. После этого препараты промывали проточной водой 30 мин, затем фосфат-буфером (рН 7,4) 10 мин и дистиллированной водой 3 раза по 10 сек. После высушивания на все препараты наносили конъюгат (иммунная сыворотка кроликов, иммунизированных человеческим  $\gamma$ -глобулином, конъюгированная флуоресценции изотиоцианатом), взятый в двукратном рабочем титре. Препараты обрабатывали конъюгатом в течение 30 мин при 37° в условиях влажной камеры, затем промывали



по вышеприведенной схеме, высушивали и окрашивали водным раствором (1 : 5000) синьки Эванса в течение 30 мин. Препараты исследовали с помощью люминесцентного микроскопа МЛ-2, используя в иммерсионной системе нелюминесцирующее масло, объектив МИ 90×, окуляр 4× и фильтры ФС 1-4 и БС 8-2.

Для оценки индуцированной флуоресценции за основу брали имеющиеся в литературе рекомендации (Левина, Неймарк, 1960; Collins и др., 1966; Zweibaum и др., 1966) и выработывали шкалу диапазоном от 0 (отсутствие индуцированной флуоресценции) до +++ (максимальное флуоресцирование).

### Результаты и их обсуждение

Перед тем как приступить к анализу полученных результатов следует отметить, что на основе данных исследования сывороток крови детей контрольной группы титры КСА ниже 1:40 мы рассматривали как отрицательную реакцию, а титры начиная с 1:40 — уже как доказательство наличия в сыворотках крови обследованных специфических к трихомонадам антител. Так, выяснилось, что из 27 сывороток крови больных с легочной патологией, у которых трихомонады не обнаружены ни в дыхательных путях, ни в ротовой полости, специфические КСА мы не установили в 17 (табл. 1). Что касается остальных 10 больных, сыворотки крови которых с одним, двумя или тремя типоспецифическими антигенами *T. tenax* дали положительную реакцию, то они, по-видимому, все же были инфицированы трихомонадами, которые только при однократном обследовании установить не удалось.

Из 21 сыворотки крови тех больных, у которых не обнаружили трихомонады в бронхах, но нашли их в мокроте или ротовой полости, благодаря одновременному использованию антигенов четырех серотипов *T. tenax*, мы установили положительную РСК в 18 случаях. Во всех этих случаях мы установили зависимость результатов РСК от использованных антигенов. Так, выяснилось, что если бы мы провели РСК с сыворотками крови этих больных (21) только с одним антигеном, обнаружили бы специфические КСА с антигеном серотипа *A T. tenax* в 7 случаях, с антигеном серотипа *B* в 14 случаях, с антигеном серотипа *C* в 12 случаях и с антигеном серотипа *D* в 3 случаях (табл. 1). При этом следует отметить, что ни в одной сыворотке нам не удалось обнаружить специфические КСА одновременно с помощью всех четырех антигенов, и даже в случаях, когда положительную реакцию давали два или три антигена, титры КСА были часто неодинаковыми.

Таблица 1

Результаты количественной РСК в сыворотках крови больных при использовании типоспецифических антигенов *T. tenax*

Место обнаружения трихомонад	Число сывороток, с которыми проведена РСК	Число сывороток, в которых титры КСА с антигенами <i>T. tenax</i> $\geq 1:40$				Число сывороток, в которых не менее чем с одним антигеном титры КСА $\geq 1:40$
		A	B	C	D	
В мокроте или ротовой полости	21	7	14	12	3	18
Не найдены	27	5	6	3	0	10



Таблица 2

Результаты количественной РСК в сыворотках крови больных, у которых трихомонады обнаружены в дыхательных путях

Место обнаружения трихомонад	Число сывороток, с которыми проведена РСК	Число сывороток, в которых титры КСА с антигенами $\geq 1:40$		Число сывороток, в которых не менее чем с одним антигеном титры КСА $\geq 1:40$
		Серотип С <i>T. tenax</i>	Штамм из бронхов	
В бронхах	14	4	7	9
В бронхах и мокроте	4	0	3	3
В бронхах, мокроте и ротовой полости	3	1	1	1
В бронхах и ротовой полости	6	4	4	5
Всего	27	9	15	18

Учитывая большую зависимость результатов РСК от использованного антигена, мы определили КСА в сыворотках крови тех 27 больных, у которых трихомонады обнаружены в бронхах, как с антигеном серотипа С *T. tenax*, так и с помощью антигена штамма, изолированного нами из бронхов в ходе данной работы (штамм 53 III\*). Как явствует из табл. 2, специфические к трихомонадам КСА были установлены в 18 сыворотках из 27 исследованных, причем с антигеном серотипа С *T. tenax* эти антитела удалось обнаружить у 9, а с антигеном штамма 53 III — у 15 больных. Тот факт, что с антигеном серотипа С *T. tenax* и с антигеном штамма 53 III одновременно были установлены специфические КСА только в 6 сыворотках из указанных 27, свидетельствует о том, что для получения достоверных данных о содержании в сыворотках специфических КСА необходимо РСК, как и реакцию агглютинации (Казакова и др., 1980), проводить с антигенами нескольких штаммов, причем изолированных не только из ротовой полости, но и из бронхов.

Хотя в наших опытах результаты как РСК, так и реакции агглютинации в большой мере зависели от использованных антигенов, между титрами КСА и агглютининов никакой корреляции установить не удалось. Так, при сопоставлении результатов РСК с результатами реакции агглютинации, полученными при исследовании сывороток крови больных с трихомонадами в бронхах с использованием одних и тех же антигенов, выяснилось, что в некоторых случаях, когда РСК была отрицательной, в этих же сыворотках при реакции агглютинации установлено содержание специфических агглютининов, а когда РСК была положительной, титр агглютининов не превышал даже предельного значения нормоагглютининов. Таким образом, эти две реакции как бы дополняют друг друга, в результате чего мы обнаружили специфические антитела в сыворотках крови всех тех обследованных больных, у которых трихомонады были найдены в бронхах.

Следует отметить, что такая же зависимость результатов РСК от использованных антигенов, а также отсутствие корреляции между титрами КСА и агглютининов получены в секторе протозоологии и ранее при исследовании антител, специфических как к *T. vaginalis* (Терас,

\* I — штамм, изолированный из ротовой полости, II — штамм, изолированный из мокроты, III — штамм, изолированный из бронхов.



Таблица 3

## Результаты РИФ с сыворотками крови больных

Место обнаружения трихомонад	Число сывороток, с которыми проведена РИФ	Флуоресценция с антигенами штаммов трихомонад								
		из ротовой полости			из мокроты			из бронхов		
		(±)	+	++	(±)	+	++	(±)	+	++
В бронхах	17	3	11	3	0	15	2	2	12	3
Не найдены	18	18	0	0	17	1	0	17	1	0

1962; Нигесен, 1964; Якмээс и др., 1964), так и к *T. hominis* (Казакова, 1975; Казакова и др., 1976).

Одновременно с РСК, проведенной с сыворотками крови 35 обследованных больных, мы провели и РИФ, причем 18 из этих сывороток были получены от пациентов, у которых трихомонады в дыхательных путях и ротовой полости не были найдены, а 17 — от больных, у которых трихомонады обнаружены в бронхах. Исходя из опыта, полученного при проведении РСК и реакции агглютинации, РИФ решили провести используя культуры штаммов трихомонад, изолированных как из ротовой полости, так и из мокроты и бронхов.

Выяснилось, что при РИФ, проведенной с сыворотками крови пациентов, у которых трихомонады как в дыхательных путях, так и в ротовой полости не обнаружены, флуоресценция или отсутствовала, или была выражена очень слабо (±). Более интенсивную флуоресценцию трихомонад, которую мы считали положительной, т. е. достоверным доказательством наличия специфических к трихомонадам антител, наблюдали в этой группе лишь в двух случаях. Можно предположить, что эти люди все же были инфицированы трихомонадами, но возможно, мы не смогли установить это в результате однократного исследования материала из бронхов, так как больные, как правило, не соглашались на повторное проведение бронхоскопии.

РИФ дала положительные результаты со всеми 17 исследованными сыворотками крови больных с трихомонадами в бронхах, но и здесь мы наблюдали зависимость результатов от штамма трихомонад, использованного в качестве тест-антигена (табл. 3). Так, выяснилось, что из использованных в качестве тест-антигена штаммов штамм, изолированный из мокроты (53 II), оказался единственным, особи которого начали интенсивно (+ или ++) флуоресцировать после обработки всеми 17 исследованными сыворотками. Интересно отметить, что со штаммами 53 I и 53 III, изолированными у того же больного из ротовой полости и бронхов, мы наблюдали положительную реакцию в первом случае под действием 14, а во втором случае под влиянием 15 сывороток.

Среди исследованных сывороток было только 3 таких, под влиянием которых флуоресцировали с одинаковой интенсивностью трихомонады всех 5 штаммов, и 8 таких, с которыми РИФ оказалась положительной при использовании всех тест-антигенов.

Из вышесказанного вытекает, что с помощью РСК и РИФ, так же как и с помощью реакции агглютинации, можно установить наличие антител, специфических к этим простейшим. Хотя результаты всех трех реакций в этом отношении были сходными, данные исследования каждой сыворотки в отдельности в этих реакциях очень часто не совпадали. Никакой корреляции не установлено и между результатами реакций РИФ, агглютинации и РСК, с одной стороны, и имеющейся легочной патологией обследованных больных, с другой. Также не отмечено ника-



кой зависимости результатов этих реакций от того, обнаружены трихомонады у больного только в дыхательных путях или одновременно и в ротовой полости.

Но учитывая, что в сыворотках крови многих обследованных, у которых трихомонады обнаружены в бронхах и мокроте, специфические антитела установлены с помощью всех трех реакций именно с антигенами штаммов трихомонад, изолированных из дыхательных путей, либо чаще, либо в более высоких титрах, чем с антигенами штаммов трихомонад, изолированных из ротовой полости, мы пришли к выводу, что при дальнейшем выяснении возможной роли трихомонад в легочной патологии человека необходимо провести сравнительные исследования антигенных свойств штаммов трихомонад, обитающих в дыхательных путях и в ротовой полости.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Казакова И. И. Агглютиногенность и агглютинабельность штаммов *Trichomonas hominis* Davaine. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1975, 24, 130—140.
- Казакова И. И., Терас Ю. Х. Межштаммовые различия антигенных свойств *Trichomonas hominis* Davaine. — Сб. докл. науч. конф. по актуальн. вопр. снижения инфекционных заболеваний и гигиеническим пробл. Таллин, 1968, 151—153.
- Казакова И. И., Кумм Р. А., Терас Ю. Х. Сравнительное исследование антигенных свойств видов трихомонад, обитающих в организме человека. — Матер. II Всес. съезда протозоологов. Ч. 2. Мед. протозоология. Киев, 1976, 43—44.
- Казакова И. И., Терас Ю. Х., Рыйгас Э. М., Сардис Х. Я., Кумм Р. А., Каал В. А. Трихомонадная инвазия дыхательных путей и содержание специфических агглютининов в сыворотках крови у больных с легочной патологией. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1980, 29, 85—94.
- Кумм Р. А., Терас Ю. Х., Казакова И. И. Об антигенных свойствах *Trichomonas tenax*. — Сб. докл. II респ. съезда эпидемиол., микробиол., инфекционистов и гигиенистов. Таллин, 1972, 360—361.
- Кумм Р. А., Терас Ю. Х., Каллас Э. В. Серотипы *Trichomonas tenax*. — Матер. VI Прибалтийск. науч.-коорд. конф. по вопр. паразитол. Вильнюс, 21—22 июня 1973. Вильнюс, 1973, 91—93.
- Левина Е. Н., Неймарк Ф. М. Выявление коклюшных бактерий методом люминесцирующих антител. — Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1960, 5, 3—7.
- Мацелюх Б. П. Применение иммунофлюоресцентной микроскопии для выявления ядерных элементов у актиномицетов. — Генетика, 1966, 5, 135—139.
- Михайлов И. Ф. Изучение свойств комплекса антиген—антитело методом флюоресцирующих антител. — Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1961, 3, 28—35.
- Нигесен У. К. Изучение специфических агглютининов при трихомонозе уrogenитального тракта. Матер. к III науч.-коорд. совещ. по паразитол. пробл. ЛитССР, ЛатССР и ЭстССР. Вильнюс, 1964, 98—99.
- Нигесен У. К., Терас Ю. Х., Яакмэс Х. П., Томпель Х. Я., Рыйгас Э. М. Реакция агглютинации при трихомонозе уrogenитального тракта. — Матер. V конф. Таллинск. НИИ эпидемиол., микробиол. и гигиены. Таллин, 1964, 110—112.
- Резникова Л. С. Комплемент и его значение в иммунологических реакциях. М., 1967.
- Рыйгас Э. М. Изучение метода прямой иммунофлюоресценции для дифференцирования серотипов трихомонад. — Паразитология, 1975, 9, 278—284.
- Рыйгас Э. М., Элламаа М. Х., Кумм Р. А. Комплемент-связывающие антитела в крови кроликов при иммунизации *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas hominis* и *Trichomonas tenax*. — Матер. VI Прибалтийск. науч.-коорд. конф. по вопр. паразитол. Вильнюс, 21—22 июня 1973. Вильнюс, 1973, 148—151.
- Терас Ю. Х. О содержании в сыворотке крови здоровых людей и кроликов антител, агглютинирующих, иммобилизирующих и лизирующих *Trichomonas vaginalis*. — В кн.: Исследования по микробиологии. I. (АН ЭССР, Ин-т эксперим. и клинич. мед.). Таллин, 1961, 43—53.



- Терас Ю. Х. О реакциях агглютинации и связывания комплемента при трихомониазе уrogenитального тракта. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1962, 11, 108—118.
- Терас Ю. Х. Антигенные и иммуногенные свойства *Trichomonas vaginalis*. — Матер. к III науч.-коорд. совещ. по паразитол. пробл. ЛитССР, ЛатССР и ЭстССР. Вильнюс, 1964, 107—108.
- Терас Ю. Х. Трихомонозы человека. — В кн.: Зоопаразитология. Т. 3. Паразитические простейшие. М., 1973, 63—96.
- Терас Ю. Х., Казакова И. И. Внутривидовые вариации *Trichomonas hominis* Davaine. — В кн.: Проблемы паразитологии в Прибалтике. Рига, 1970, 253—254.
- Терас Ю. Х., Яакмээс Х. П., Нигесен У. К., Рыйгас Э. М., Томпель Х. Я. Реакция агглютинации, реакция связывания комплемента и внутрикожная проба при трихомонозе уrogenитального тракта. — Матер. X респ. конф. дерматовенерологов ЭССР. Тарту, 1965, 6—8.
- Терас Ю. Х., Казакова И. И., Томпель Х. Я. Об антигенных свойствах *Trichomonas hominis* Davaine. — Сб. научн. тр. ЭСХА, Матер. по паразитол. Тарту, 1968, 53—59.
- Терас Ю. Х., Томпель Х. Я., Каллас Э. В., Кумм Р. А. Культивирование и получение аксенических культур трихомонад, обитающих в организме человека. — Матер. I съезда Всес. общ. протозоологов. Окт. 1971, г. Баку. Баку, 1971, 165—166.
- Терас Ю. Х., Рыйгас Э. М., Ленцнер Х. П., Нигесен У. К. Результаты серологических, иммунологических и аллергических реакций у больных, зараженных *Trichomonas vaginalis*. — В кн.: Паразитологические исследования в Прибалтике. Рига, 1976, 27—29.
- Яакмээс Х. П. Реакция связывания комплемента и внутрикожная проба при трихомонозе уrogenитального тракта. — Автореф. дисс. канд. мед. наук. Таллин, 1965.
- Яакмээс Х. П., Терас Ю. Х., Нигесен У. К., Томпель Х. Я., Рыйгас Э. М. Зависимость реакции связывания комплемента и реакции агглютинации от серотипа штамма *Trichomonas vaginalis* у больных трихомонозом. — Матер. V конф. Таллинск. НИИ эпидемиол., микробиол. и гигиены. Таллин, 1964, 123—125.
- Collins, W. E., Jeffrey, G. M., Guinn, E., Skinner, J. C. Fluorescent antibody studies in human malaria. IV. Cross-reactions between human and simian malaria. — Amer. J. Trop. Med. Hyg., 1966, 15, 11—15.
- Ellamaa, M., Rõigas, E. Eksperimentaalne uurimus *Trichomonas vaginalis*'ele, *T. hominis*'ele ja *T. tenax*'ile spetsiifiliste komplementisiduvate antikehade tekkest ja kadumisest küülikute vereseerumis. — ENSV TA Toimet. Biol., 1977, 26, 56—62.
- Goldman, M. Cytochemical differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba coli* by means of fluorescent antibody. — Amer. J. Hyg., 1953, 58, 319—328.
- Goldman, M. Evaluation of a fluorescent antibody test for amebiasis, using two widely differing ameba strains as antigen. — Amer. J. Trop. Med. Hyg., 1966, 15, 694—700.
- Hallmann, L. Bakteriologische Nährböden. Stuttgart, 1953.
- Jentzsch, K. D. Immunofluoreszenz in der medizinischen Mikrobiologie (Technik und Anwendung). Leipzig, 1967.
- Zweibaum, A., Halpern, B., Palou, R. O., Veyre, C. Mise en évidence d'un phénomène de prozone en immunofluorescence. — C. r. Acad. sci. D, 1966, 19, 2108—2112.

Институт экспериментальной биологии  
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию  
22/V 1979



Elmar RÕIGAS, Jüri TERAS, Virve KAAL,  
Inna KAZAKOVA, Helgi SARDIS

### TRIHOMONAADSE INVASIOONIGA KOPSUHAIGETE VERESEERUMI ANALÜÜS KVANTITATIIVSE KOMPLEMENTISIDUMIS- JA INDIRECTSE IMMUNOFLUORESTSENTSTESTI ABIL

Seoses sellega, et krooniliste kopsukahjustustega haigete bronhidest aspireeritud materjalil leidus 10%-l juhtudest trihomonaseid ja vereseerumis avastati spetsiifilisi aglutiniine (Kazakova jt., 1980), tegid autorid peremehe-parasiidi vahekorra lähemaks selgitamiseks veel mõningaid uurimisi. Selgus, et trihomonastega infitseerunud haigete vereseerumis on olemas ka spetsiifilisi komplementisiduvaid antikehi (KSA). Nagu aglutiniinide tiiter, sõltub ka KSA-de tiiter reaktsioonis kasutatud antigeeni tüübispetsiifilisusest ja sellest, kas antigeen oli valmistatud suust või hingamisteedest isoleeritud trihomonaste tüvest. Analoogilises sõltuvuses trihomonaste tüvedest ja serotüüpidest oli samade haigete vereseerumis ka indirektselt immunofluorestsentsi abil sedastatud spetsiifiliste antikehade helendumise intensiivsus.

Elmar RÕIGAS, Jüri TERAS, Virve KAAL,  
Inna KAZAKOVA, Helgi SARDIS

### RESULTS OF QUANTITATIVE COMPLEMENT FIXATION AND INDIRECT IMMUNOFLUORESCENCE METHOD WITH BLOOD SERA OF PERSONS IN CASES OF TRICHOMONAD INVASION OF LUNGS

With the aim of detecting complement fixing antibodies (CFA) in the blood sera of patients suffering from various lung diseases we have investigated 75 persons. In 27 cases trichomonads were found in samples obtained from bronchi by bronchoscopy, and in 21 cases from the oral cavity or sputum, but not from bronchi. For the same purpose we have studied 27 sera of persons with lung diseases in which the protozoa were detected neither in bronchi nor in oral cavity or sputum. In addition we have investigated the blood sera of 32 healthy children and have revealed that with antigens which were prepared from four serotypes of *T. tenax* the titres of specific CFA should be considered at least 1:40.

First we have tested the above-mentioned 27 sera of cases where the trichomonads were not detected at all and have found that in 17 cases the titres of CFA were <1:40. In remaining 10 cases the titres were  $\geq 1:40$ , but as we could investigate our patients by bronchoscopy only once, we consider that in these cases an infestation with trichomonads cannot be firmly excluded. From 27 persons with findings of trichomonads in bronchi, 18 had the titre of CFA in blood serum  $\geq 1:40$  and only 9 patients <1:40.

Simultaneously, by the aid of the indirect immunofluorescence method (IIFM), we studied the blood sera of 35 patients suffering from chronic inflammatory lung diseases. In 17 cases trichomonads were detected in the respiratory tract or oral cavity, but in remaining 18 cases we did not find any protozoa. In the cases mentioned first, the fluorescence was clearly expressed (+ or ++), but in the trichomonad-negative cases it was absent or marked as ( $\pm$ ). As the results of CF and IIFM depended on the origin of the strains used as antigens, it is necessary to elucidate if there are taxonomic differences between the strains of trichomonads isolated from bronchi and those from the oral cavity.