

АШАКОВА ЛЯЗАТ МУНСЫЗБАЕВНА

**ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ
TRICHOMONAS VAGINALIS И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ
ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ТРИХОМОНОЗА**

03.00.19 – Паразитология, гельминтология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Ашакова

Республика Казахстан
Алматы
1999 г.

Работа выполнена в Научно-исследовательском кожно-венерологическом институте Министерства здравоохранения, образования и спорта Республики Казахстан

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор **Акышбаева К.С.**,
кандидат биологических наук **Брагина Е.Е.**

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор **Панин В.Я.**,
кандидат биологических наук, доцент **Есимов Б.К.**

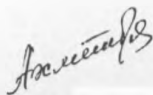
Ведущая организация **Казахский государственный аграрный университет**

Защита состоится **28** июня 1999 года в 14:00 час. на заседании диссертационного совета Д 53.23.01 в Институте зоологии Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан по адресу: 480060, Алматы, Академгородок, Институт зоологии Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института зоологии Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан.

Автореферат разослан 21 мая 1999 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук
Ахметбекова Р.Т.



ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Трихомоноз является одним из наиболее распространенных заболеваний, передающихся половым путем, которое по распространенности занимает первое место в мире. Ежегодно в мире болеет трихомонозом 250 млн. человек. (Schwarcz, Whittington, 1990; Kilmarx, Black, Limpakarnjanarat, Shafber. et al., 1996; Purevdava et al., 1997; Margaret Hammerschlag, 1998).

В Казахстане интенсивный показатель зарегистрированной заболеваемости трихомонозом в 1998 году составил 151,2 на 100 000 жителей. В США ежегодно регистрируется до 3 миллионов случаев трихомоноза (Glaser, Schachter, Benes et al., 1991; French et al., 1997; French et al., 1997).

Мочеполовой трихомоноз – многоочаговое заболевание. По данным М.В. Яцуха (1989), В.И. Бедновой с соавт. (1990) трихомонады выявлены у больных женщины во влагалище (95%), уретре – (28,9%), парауретральных протоках – (4,5%), канале шейки матки – (2,5%), мочевом пузыре – (0,4%). У 5,5% мужчин трихомонады обнаружены в уретре, секрете предстательной железы.

Трихомоноз дает большое число осложнений; у мужчин регистрируются простатиты (19,4-28%), эпидидимиты (10-20,8%), везикулиты (8%), купериты (6%), циститы (5,5%), баланопоститы (6%), рубцовые сужения уретры (3%) (Богачева, 1963; Молочков, Ильин, 1998; Gardner, Culbertson, Bennett, 1986). У женщин трихомонадная инфекция приводит к развитию не только кольпита, эндоцервицита, цистита и проктита, но может играть существенную роль в формировании эктопий шейки матки, тубоовариальных гнойных образований, миомы матки. Осложнения трихомоноза могут быть причиной бесплодия, патологии беременности, родов, заболеваний новорожденного, детской смертности, что имеет социальное значение (Вишневская, 1989; Васильев, 1990; Делекторский и соавт., 1991; Ильин, 1991; Тыналиев с соавт., 1995; Калининна с соавт., 1997; Cotch et al., 1996).

Все вышеперечисленные клинические особенности трихомонадной инфекции, высокая частота хронических и вялотекущих форм заболевания указывают на необходимость повышения качества лабораторной диагностики. Применение бактериоскопических методов не всегда надежно. Культивирование влагалищных трихомонад является более эффективным методом диагностики трихомоноза (Яцуха, 1977; Яцуха с соавт., 1982; Биргер, 1982; Беднова, 1983; Беднова, 1985; Овчинников, 1987; Джусупгалиева, 1996; Nagesha et al., 1970; Spence et al., 1980).

По данным Н.М. Овчинникова с соавт. (1979), В.В. Делекторского с соавт. (1985), К.С. Ақышбаевой с соавт. (1991), Н.З. Яговдик (1992), А.А. Robinson (1998), Е.А. Межевигинова с соавт. (1998), трихомонадная инфекция в большинстве случаев протекает как смешанный протозойно-бактериальный

Работа выполнена в Научно-исследовательском кожно-венерологическом институте Министерства здравоохранения, образования и спорта Республики Казахстан

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор **Акышбаева К.С.**,
кандидат биологических наук **Брагина Е.Е.**

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор **Панин В.Я.**
кандидат биологических наук, доцент **Есимов Б.К.**

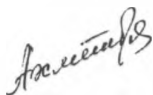
Ведущая организация **Казахский государственный аграрный университет**

Защита состоится 28 июня 1999 года в 14:00 час. на заседании диссертационного совета Д 53.23.01 в Институте зоологии Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан по адресу: 480060, Алматы, Академгородок, Институт зоологии Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института зоологии Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан.

Автореферат разослан 21 мая 1999 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук
Ахметбекова Р.Т.



процесс. Зарегистрированы случаи безуспешного лечения трихомоноза и увеличение числа рецидивов заболевания. Возникновение резистентных и с пониженной чувствительностью к метронидазолу штаммов *Trichomonas vaginalis* является причиной неудач лечения трихомоноза, развития торпидно протекающих и асимптомных форм (Кривошеев с соавт., 1997; Jensen, 1983; Земцов, 1995; Spence et al., 1997). В этой связи, проведение работ по изучению уровня чувствительности штаммов *T.vaginalis* к протистоцидным препаратам является основой прогноза эффективности протистоцидных препаратов и уменьшения распространения устойчивых штаммов. Наличие резистентных штаммов *T.vaginalis* обуславливает необходимость изучения их структурно-функциональных особенностей на фоне изменения их чувствительности и совершенствования методов лабораторной диагностики.

Цель и задачи исследования. Целью настоящего исследования явилось изучение роли биологических свойств *T.vaginalis* в патогенезе трихомонадной инфекции и совершенствование лабораторной диагностики.

Исходя из цели задачами исследования явились:

1. Оценка уровня чувствительности циркулирующих штаммов *T. vaginalis* к протистоцидным препаратам;
2. Проведение сравнительного анализа методов лабораторной диагностики трихомонадной инфекции;
3. Разработка питательной среды с основой из плаценты человека для культуральной диагностики трихомонад;
4. Изучение морфофункциональных особенностей *T.vaginalis*;
5. Изучение влияния протистоцидных препаратов на *T. vaginalis*.

Научная новизна и практическая ценность диссертации. На основании проведенного комплексного клинко-лабораторного исследования выявлена тенденция к повышению уровня резистентности к протистоцидным препаратам, циркулирующих в регионе штаммов *T. vaginalis*.

Впервые разработана элективная питательная среда с основой из плацентарного инфуза, позволившая расширить возможности культуральной диагностики трихомонадной инфекции.

Впервые получены морфологические и ультраструктурные критерии потенциальной способности *T. vaginalis* к вариабельной изменчивости, позволяющей адаптироваться к изменяющимся условиям обитания (неподвижные, цистоподобные формы).

Впервые дана ультраструктурная характеристика форм адаптации *T. vaginalis*, выделенных от больных с рецидивами заболевания.

Предложенная питательная среда с основой из плаценты человека для культуральной диагностики трихомоноза внедрена в НИКВИ МЗОиС РК, городском КВД г. Алматы, ОКВД Алматинской области. Полученные данные об уровне чувствительности штаммов *T. vaginalis* к протистоцидным препаратам могут быть использованы для адекватной терапии трихомонадной

инфекции. Материалы исследований внедрены в учебно-научную работу кафедры дерматовенерологии Института усовершенствования врачей г. Алматы.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Полиморфизм форм адаптации *T. vaginalis* в зависимости от условий обитания: от типичных до цистоподобных.

2. Тенденция повышения уровня резистентности *T. vaginalis* к протистоцидным препаратам, широко используемым в регионе.

3. Разработана и внедрена питательная среда с основой из плаценты человека, расширяющая возможности культуральной диагностики трихомонадной инфекции.

Апробация работы и публикации. Основные положения работы доложены и обсуждены на научно-практической конференции дермато-венерологов (Алматы, 1996 г.), на V Конгрессе "Антибиотики и химиотерапия в лечении инфекционных болезней" в г. Санкт-Петербурге, 1997 г., на 7 Европейском конгрессе дермато-венерологов, Франция, Ницца, 7-10 октября 1998г, на межлабораторной конференции НИКВИ МЗОиС 14 апреля 1999 г. По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 88 страницах. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 разделов собственных исследований, заключения, выводов, списка использованных источников, включающего 157 наименований. Текст диссертационной работы иллюстрирован 30 оригинальными рисунками (16 микрофотографий, 14 диаграмм) и 6 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Дан анализ основных исследований, освещающих современные аспекты патогенеза и лабораторной диагностики инфекции, обусловленной *T. vaginalis*.

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для решения поставленных в работе задач проведено клинико-лабораторное обследование 157 больных с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта (ВЗУТ) в возрасте от 17 до 53 лет, обратившихся в консультативное отделение и поступивших в клинику Научно-исследовательского кожно-венерологического института МЗОиС РК, а также направленных из Городского центра репродукции человека г.Алматы. Больные были обследованы на заболевания, передаваемые половым путем (ЗППП). Лабораторные исследования базировались на комплексе диагностических

методов, позволяющих с высокой степенью достоверности выявить ЗППП: гонорею, хламидиоз, гарднереллез, кандидоз (приказ №936 от 12.07.85 г. "Об унификации лабораторных методов исследования в диагностике гонореи и трихомоноза", М., 1985; Методические рекомендации "Основные этапы лабораторной диагностики кандидозов и их антибиотическая терапия", Алматы, 1997); «Лабораторная диагностика урогенитального хламидиоза» (Алматы, 1994). Диагностику трихомонадной инфекции проводили бактериоскопическим (нативный препарат, окраска по Романовскому-Гимзе, по Граму) и бактериологическим методами (сыворотно-казеиновая дифференциальная среда (СКДС), среда Джонсона-Трасселя). Для микробиологического исследования использовали материал из очагов поражения уретры, влагалища.

Чувствительность штаммов *T.vaginalis* к протистоцидным препаратам исследовали методом серийных разведений в соответствии с разработанной методикой Г.А.Дмигрияева (1988).

При лабораторно-экспериментальном исследовании выполнено 3947 исследований (табл.1).

Таблица 1

Объем проведенных лабораторно-экспериментальных исследований

Виды исследований	Всего выполнено
Клинико-лабораторное обследование больных ВЗУТ (n=157) на хламидиоз, гонорею, уреаплазмоз, <i>Mycoplasma hominis</i> -инфекцию, кандидоз, гарднереллез, трихомоноз.	2826
Выделение и идентификация <i>T.vaginalis</i> .	471
Определение чувствительности <i>T.vaginalis</i> к протистоцидным препаратам методом серийных разведений.	500
Электронно-микроскопическое Изучение	150

Штаммы *T.vaginalis*, использованные в эксперименте, были выделены от больных с моно-трихомонадной инфекцией и соответствовали следующим критериям: активноподвижность более 90%, морфологически интактны со всеми присущими органоидами, число подвижных особей до 20 в поле зрения. Инкубацию проводили при 37°C. Наблюдение за культурами осуществляли в 2-х временных интервалах: 24, 48 часов.

Подготовка материала для исследования в трансмиссионном электронном микроскопе проводилась по следующей схеме: фиксация 3% глютаральдегидом на 0,1 М какодилатном буфере (pH-7.35) на холоду в течение 2 часов с последующей 2-кратной промывкой по 15 минут 0,1 М какодилатным буфером с добавлением 5,4% сахарозы; постфиксация 1% забуференным раствором тетраоксида осмия в течение 3 часов. Дегидратация материала проводилась этиловым спиртом в порядке возрастающей концентрации с переходом до ацетона. Заливка в эпоксидную смолу - эпон-аралдит. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме LKB-4800 с помощью стеклянных ножей; Контрастирование осуществлялось при помощи водного 3% раствора уранилацетата и гидроокиси свинца по Рейнольдсу (Reynolds, 1963). Срезы изучали в электронном микроскопе JEM -100 CX.

Статистическую обработку результатов исследования проводили методом вариационной статистики. Вычисляли среднеарифметическую (M), среднюю ошибку среднеарифметической (m) критерий Фишера (t). Результаты считались достоверными при $p < 0.05$.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Совершенствование лабораторной диагностики трихомоноза

Высокая заболеваемость трихомонозом и обширность поражения мочеполовых органов трихомонадной инвазией (Speigel, 1991; Maysick, Jarber 1995; Verapol, Steven, Mariza et al., 1998) указывают на актуальность исследований по совершенствованию методов лабораторной диагностики заболевания. Наиболее чувствительным методом является культуральный, который по эффективности превосходит бактериоскопические методы исследования и является «золотым стандартом» (Васильев, 1990; Taylor-Robinson, 1989; Maysick, Garber, 1995). Успешность выделения *T.vaginalis* зависит, в первую очередь, от качества питательной среды. Существует ряд модификаций приготовления отдельных компонентов, входящих в состав питательной среды и сред в целом (Васильев, 1990; Вахнина с соавт., 1996; Дмитриев с соавт., 1992; Borchardt et al., 1997). В Республике Казахстан централизованного приготовления стандартных питательных сред для

методов, позволяющих с высокой степенью достоверности выявить ЗППП: гонорею, хламидиоз, гарднереллез, кандидоз (приказ №936 от 12.07.85 г. "Об унификации лабораторных методов исследования в диагностике гонореи и трихомоноза", М., 1985; Методические рекомендации "Основные этапы лабораторной диагностики кандидозов и их антибиотическая терапия", Алматы, 1997); «Лабораторная диагностика урогенитального хламидиоза» (Алматы, 1994). Диагностику трихомонадной инфекции проводили бактериоскопическим (нативный препарат, окраска по Романовскому-Гимзе, по Граму) и бактериологическим методами (сывороточно-казеиновая дифференциальная среда (СКДС), среда Джонсона-Трасселя). Для микробиологического исследования использовали материал из очагов поражения уретры, влагалища.

Чувствительность штаммов *T.vaginalis* к протистоцидным препаратам исследовали методом серийных разведений в соответствии с разработанной методикой Г.А.Дмитриева (1988).

При лабораторно-экспериментальном исследовании выполнено 3947 исследований (табл.1).

Таблица 1

Объем проведенных лабораторно-экспериментальных исследований

Виды исследований	Всего выполнено
Клинико-лабораторное обследование больных ВЗУТ (n=157) на хламидиоз, гонорею, уреаплазмоз, <i>Mycoplasma hominis</i> -инфекцию, кандидоз, гарднереллез, трихомоноз.	2826
Выделение и идентификация <i>T.vaginalis</i> .	471
Определение чувствительности <i>T.vaginalis</i> к протистоцидным препаратам методом серийных разведений.	500
Электронно-микроскопическое Изучение	150

Штаммы *T.vaginalis*, использованные в эксперименте, были выделены от больных с моно-трихомонадной инфекцией и соответствовали следующим критериям: активноподвижность более 90%, морфологически интактны со всеми присущими органоидами, число подвижных особей до 20 в поле зрения. Инкубацию проводили при 37°C. Наблюдение за культурами осуществляли в 2-х временных интервалах: 24, 48 часов.

Подготовка материала для исследования в трансмиссионном электронном микроскопе проводилась по следующей схеме: фиксация 3% глутаральдегидом на 0.1 М какодилатном буфере (pH-7.35) на холоду в течение 2 часов с последующей 2-кратной промывкой по 15 минут 0,1 М какодилатным буфером с добавлением 5,4% сахарозы; постфиксация 1% забуференным раствором тетраоксида осмия в течение 3 часов. Дегидратация материала проводилась этиловым спиртом в порядке возрастающей концентрации с переходом до ацетона. Заливка в эпоксидную смолу - эпоп-аралдит. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме LKB-4800 с помощью стеклянных ножей; Контрастирование осуществлялось при помощи водного 3% раствора уранилацетата и гидроокиси свинца по Рейнольдсу (Reynolds, 1963). Срезы изучали в электронном микроскопе JEM -100 CX.

Статистическую обработку результатов исследования проводили методом вариационной статистики. Вычисляли среднеарифметическую (M), среднюю ошибку среднеарифметической (m) критерий Фишера (t). Результаты считались достоверными при $p < 0.05$.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Совершенствование лабораторной диагностики трихомоноза

Высокая заболеваемость трихомонозом и обширность поражения мочеполовых органов трихомонадной инвазией (Speigel,1991; Maysick, Jarber 1995; Verapol, Steven, Mariza et al.,1998) указывают на актуальность исследований по совершенствованию методов лабораторной диагностики заболевания. Наиболее чувствительным методом является культуральный, который по эффективности превосходит бактериоскопические методы исследования и является «золотым стандартом» (Васильев, 1990; Taylor-Robinson,1989; Maysick, Garber,1995). Успешность выделения *T.vaginalis* зависит, в первую очередь, от качества питательной среды. Существует ряд модификаций приготовления отдельных компонентов, входящих в состав питательной среды и сред в целом (Васильев,1990; Вахнина с соавт.,1996; Дмитриев с соавт.,1992; Borchardt et al.,1997). В Республике Казахстан централизованного приготовления стандартных питательных сред для

методов, позволяющих с высокой степенью достоверности выявить ЗППП: гонорею, хламидиоз, гарднереллез, кандидоз (приказ №936 от 12.07.85 г. "Об унификации лабораторных методов исследования в диагностике гонореи и трихомоноза", М., 1985; Методические рекомендации "Основные этапы лабораторной диагностики кандидозов и их антибиотическая терапия", Алматы, 1997); «Лабораторная диагностика урогенитального хламидиоза» (Алматы, 1994). Диагностику трихомонадной инфекции проводили бактериоскопическим (нативный препарат, окраска по Романовскому-Гимзе, по Граму) и бактериологическим методами (сывороточно-казеиновая дифференциальная среда (СКДС), среда Джонсона-Трасселя). Для микробиологического исследования использовали материал из очагов поражения уретры, влагалища.

Чувствительность штаммов *T.vaginalis* к протистоцидным препаратам исследовали методом серийных разведений в соответствии с разработанной методикой Г.А.Дмитриева (1988).

При лабораторно-экспериментальном исследовании выполнено 3947 исследований (табл.1).

Таблица 1

Объем проведенных лабораторно-экспериментальных исследований

Виды исследований	Всего выполнено
Клинико-лабораторное обследование больных ВЗУТ (n=157) на хламидиоз, гонорею, уреаплазмоз, <i>Mycoplasma hominis</i> -инфекцию, кандидоз, гарднереллез, трихомоноз.	2826
Выделение и идентификация <i>T.vaginalis</i> .	471
Определение чувствительности <i>T.vaginalis</i> к протистоцидным препаратам методом серийных разведений.	500
Электронно-микроскопическое Изучение	150

Сравнительный анализ бактериоскопических и бактериологических методов исследования

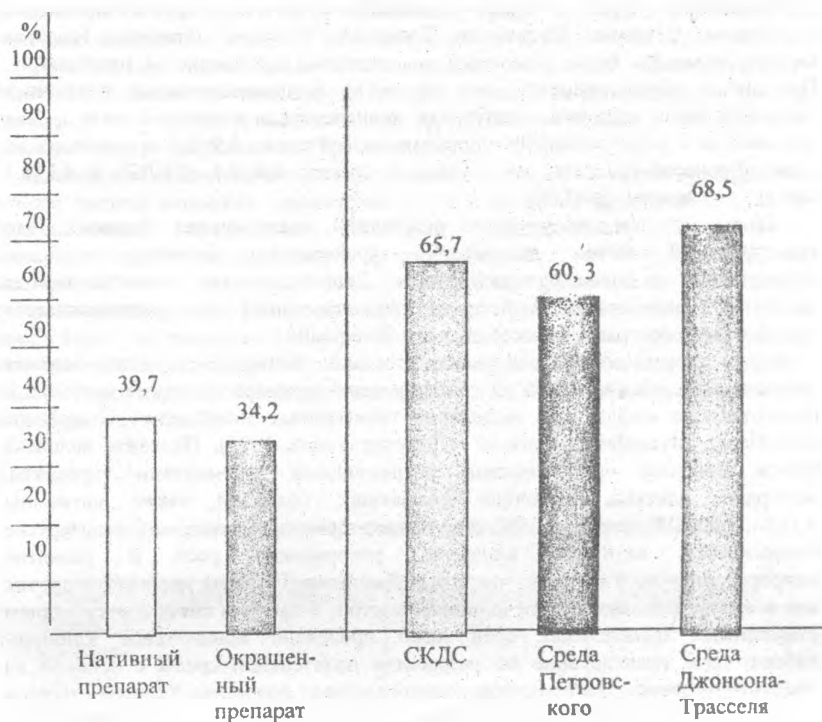


Рисунок 1.

Визуально было констатировано, что *T. vaginalis* на всех средах давали типичный рост, вызывая легкое помутнение среды с образованием незначительного придонного осадка.

Для изучения ростовых свойств питательных сред нами изучена динамика роста *T. vaginalis* в процессе культивирования через 24 и 48 часов, которую проводили на основании оценки морфологических свойств, скорости роста, жизнеспособности клеток *T. vaginalis*. Процент активноподвижных трихомонад при сроке наблюдения 24 часа наиболее высоким был на среде Джонсона-Трасселя (30,9±7,1%). На остальных средах: СКДС и Петровского был соответственно 19,0±6,0% и 22,6±6,4%. Такое же соотношение сохранялось

T.vaginalis не проводится, что резко ограничивает широкое применение культурального метода и затрудняет борьбу с этим заболеванием.

На первом этапе исследований был проведен анализ элективных свойств наиболее часто используемых питательных сред для выделения *T. vaginalis*: среда СКДС, среда Петровского, среда Джонсона-Трасселя. Последняя среда, по мнению многих авторов, является оптимальной питательной средой (Беднова, 1990; Васильев, 1990). Для сравнительного изучения диагностической значимости вышеуказанных питательных сред было проведено клинко-лабораторное обследование 73 больных с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта (51 женщина, 22 мужчины), обратившихся в Научно-исследовательский кожно-венерологический институт. Одинаковое количество исследуемого материала из уретры (у мужчин) и заднего свода влагалища (у женщин) вносили в каждую из испытываемых сред и инкубировали в термостате при 37°C, просматривали через 24, 48 часов. Одновременно проводили исследование нативного препарата и мазков, окрашенных метиленовым синим и по Романовскому-Гимзе. Выявлены достоверные различия в частоте выделения *T.vaginalis* при использовании бактериоскопических и бактериологических методов. Применение культурального метода значительно повышает процент обнаружения трихомонад до 68,5% против 39,7%. Более выражено это различие в группе женщин: 35,1% против 70,6%, что наиболее важно, учитывая большую частоту асимптомных, торпидных форм заболевания у больных трихомонозом женщин.

При морфологическом исследовании *T. vaginalis* в препаратах, окрашенных метиленовым синим, ядра клеток окрашены в синий, протоплазма - в голубой цвет разной интенсивности (до бесцветной), сопутствующая бактериальная флора - в синий цвет разной интенсивности. Бактериоскопию мазков окрашенных метиленовым синим используют как ориентировочный для получения общей картины микроэкологии очагов поражения и изучения морфологических свойств микроорганизмов. Наиболее распространенным методом в лабораторной диагностике трихомоноза является метод окраски по Романовскому-Гимзе, который требует большого навыка и кропотливого исследования, но позволяет с большой достоверностью обнаружить *T.vaginalis*.

Использование комплекса культуральных методов позволило увеличить процент выделения *T. vaginalis* до $68,5 \pm 6,5$ % ($p < 0,05$) (среда Джонсона-Трасселя). На общепринятой среде (СКДС) этот процент составил $65,7 \pm 7,3$ %. У женщин этот показатель был выше при использовании всех изученных сред: $68,6 \pm 7,3$; $60,8 \pm 8,7$ и $70,6 \pm 7,5$ %, чем у мужчин ($59,1 \pm 13,6$; $59,1 \pm 13,6$; $63,6 \pm 12,8$ % соответственно). По изученным показателям среда Петровского уступала вышеуказанным питательным средам ($60,3 \pm 7,5$ %; $60,8 \pm 8,7$ % и $59,1 \pm 13,6$ % соответственно) (рис. 1).

через 48 часов: $18,9 \pm 6,0$; $12,5 \pm 5,1$; $14,7 \pm 5,5\%$. Морфологическое исследование показало сохранение всех структурных органелл трихомонад: эксцентрично расположенное ядро в виде «сливовой косточки», вакуолизирующая цитоплазма, жгутики. Популяции *T.vaginalis* в среде Джонсона-Трасселя характеризовались более высокими показателями концентрации простейших. При оценке интенсивности роста по числу активноподвижных интактных *T.vaginalis* были получены следующие данные: среднее число в поле зрения трихомонад с вышеуказанными признаками составило $5,9 \pm 0,8$ простейших на среде Джонсона-Трасселя, на остальных средах: $4,4 \pm 0,5$ (СКДС) и $4,1 \pm 0,5$ (среда Петровского) ($p > 0,05$).

Таким образом, полученные результаты исследования показали, что культуральный метод диагностики трихомоноза является наиболее эффективным и более целесообразным. Диагностическая ценность метода зависит от элективных свойств питательной среды, что подтверждается значениями некоторых параметров роста *T.vaginalis*.

Ранее проведенные исследования показали возможность использования питательных сред с основой из триптического перевара плаценты человека и плацентарного инфуза для выделения генитальных микоплазм *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* (Джусупгалиева, 1996). Плацента человека богата многими органическими соединениями, ферментами (протеазы, экстеразы, лактазы, щелочная фосфатаза), содержит также витамины А, D, D₁, D₂, D₆, С, Е, липиды, ДНК, стероидные гормоны, микроэлементы и другие биологически активные вещества, ускоряющие рост и развитие микроорганизмов. Учитывая, что среда Джонсона-Трасселя дорогостояща, так как в основе используется печеночный настой, а также в связи с отсутствием стандартных питательных сред нами проведено комплексное клинко-лабораторное исследование по разработке питательной среды с основой из плаценты человека. Использовали водный экстракт плаценты. Условия отбора и приготовления основы среды были в соответствии с методическими рекомендациями НИКВИ (1994 г.).

Основной состав среды для выделения трихомонад с основой из плацентарного инфуза:

Раствор Рингера NaCl – 6,5 г, KCl – 0,14 г, CaCl₂ – 0,12 г. Растворить в 100 мл, доводят объем до 1000 мл; 0,5% водный раствор метиленовой сини 0,5 мл; 25% водный раствор мальтозы 100 мл; солянокислый цистеин 2,4 г; плацентарный инфуз 320 мл; рН=6,3, стерилизация 0,5 атм – 30 минут; дрожжевой аутолизат 20% на 100 мл среды 10 мл; сыворотка крупного рогатого скота на 100 мл среды 30 мл; гидролизат казеина 10 мл на 100 мл среды; стрептомицин, пенициллин 8000 ЕД.

Для определения элективных свойств разработанной среды проведено клинко-лабораторное обследование 84 лиц, направленных в консультативное

отделение НИКВИ с диагнозом "обследование". Подготовка материала из очагов поражения (уретра, влагалище) была в соответствии с ранее описанной. В качестве контрольных сред применяли среду Джонсона-Трасселя, как наиболее элективную, и среду СКДС (общепринятую в лабораторной сети РК).

Трихомонады были выделены в следующих частотных пределах: 33,3 – 36,9%. Использование питательной среды с основой из плацентарного инфуза позволило получить процент выделения 35,7±5,2%, что вполне соответствовало с показателем среды Джонсона-Трасселя (рис. 2).

Дальнейшее исследование ростовых свойств питательных сред проведено на основе оценки основных параметров роста и развития штаммов *T.vaginalis*. Используются следующие критерии: подвижность (подвижные, малоподвижные и неподвижные), форма (сохранена, не сохранена), число жизнеспособных трихомонад в поле зрения. Во все сравниваемые питательные среды вносили равные количества инокулюма, содержащего жизнеспособные простейшие со следующей характеристикой: > 5 в поле зрения, процент активноподвижных более 70%. Всего было изучено 50 штаммов *T. vaginalis*. Через 24 часа инкубирования при температуре 37° С проводили тестирование на подвижность (табл. 2).

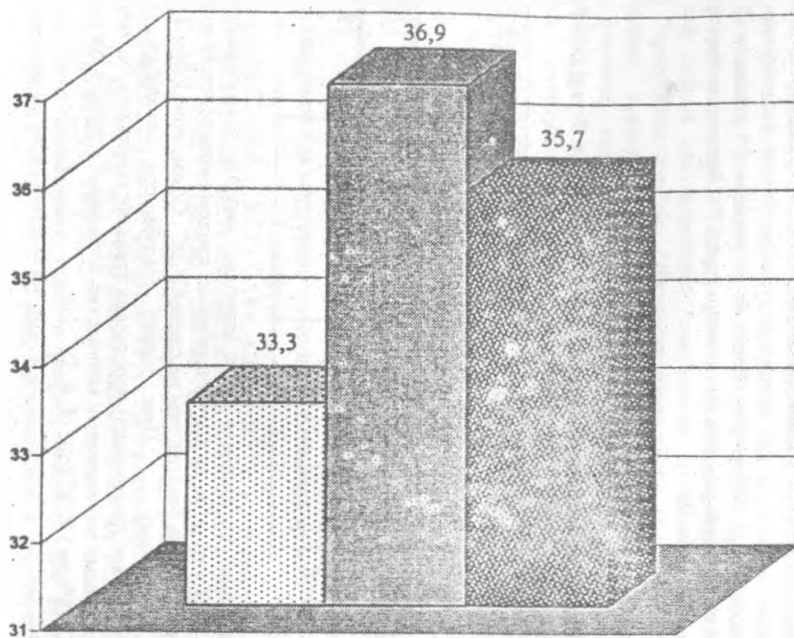
Таблица 2

Количественная характеристика подвижности *T.vaginalis* (%)

Среды	Активноподвижные	Малоподвижные	Неподвижные
Среда Джонсона-Трасселя	62,5	20,1	17,4
среда СКДС	51,4	33,6	15,0
Среда с плацентарной основой	59,7	24,8	15,5

Испытуемая питательная среда позволяет создать благоприятные условия для роста *T.vaginalis*: активноподвижные трихомонады составили в среднем 59,7%, что на 8,3% больше, чем на среде СКДС. Сохранение форм *T.vaginalis* - у 82,4% простейших. При оценке следующего параметра (количество жизнеспособных трихомонад) определена такая же тенденция. На плацентарной среде с данными показателями количество штаммов *T.vaginalis* составило 78,5% против 73,8% на СКДС (рис. 3, 4, 5).

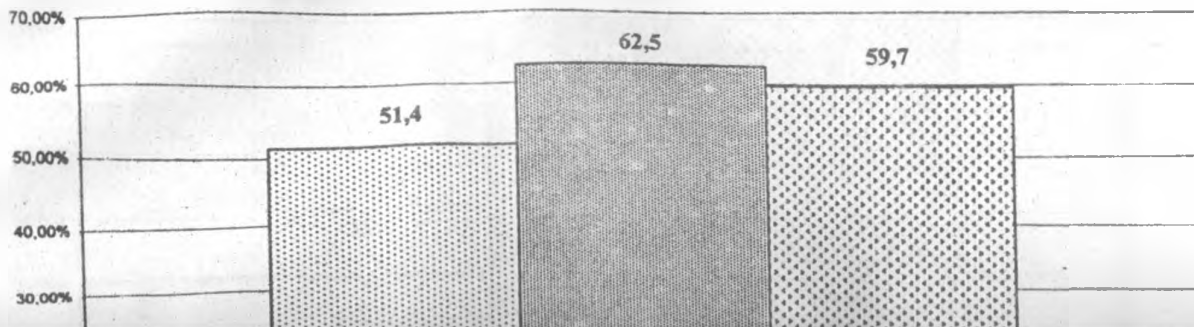
Частота выделения *Trichomonas vaginalis*

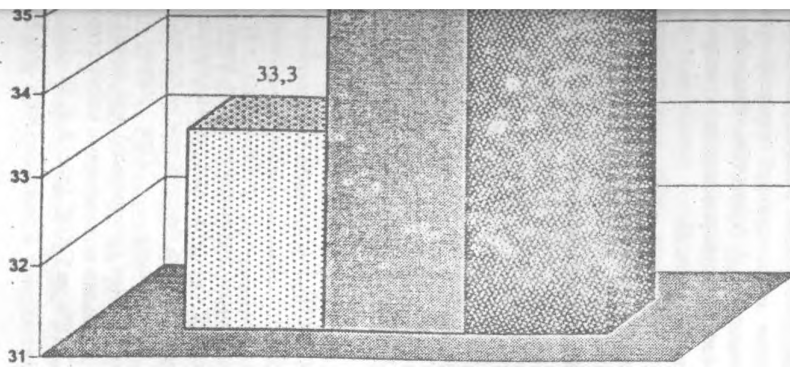


□ I - среда СКДС ■ II - среда Джонсона-Трасселя ■ III - среда с плацентарной основой

Рисунок 2.

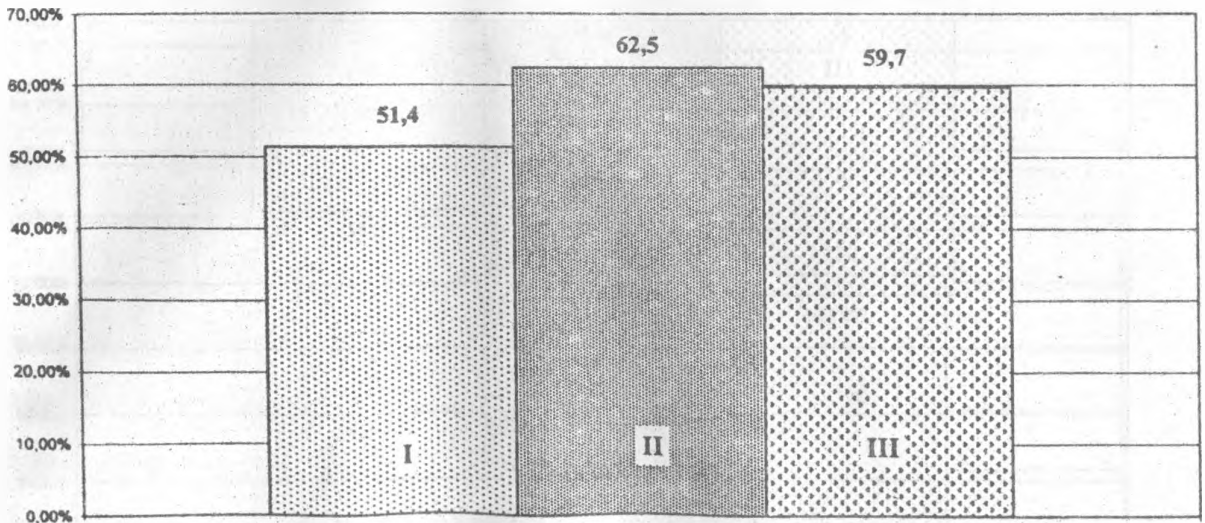
Подвижность трихомонад в испытуемой и контрольных средах (% активно подвижных)





□ I - среда СКДС □ II - среда Джонсона-Трасселя ■ III - среда с плацентарной основой
Рисунок 2.

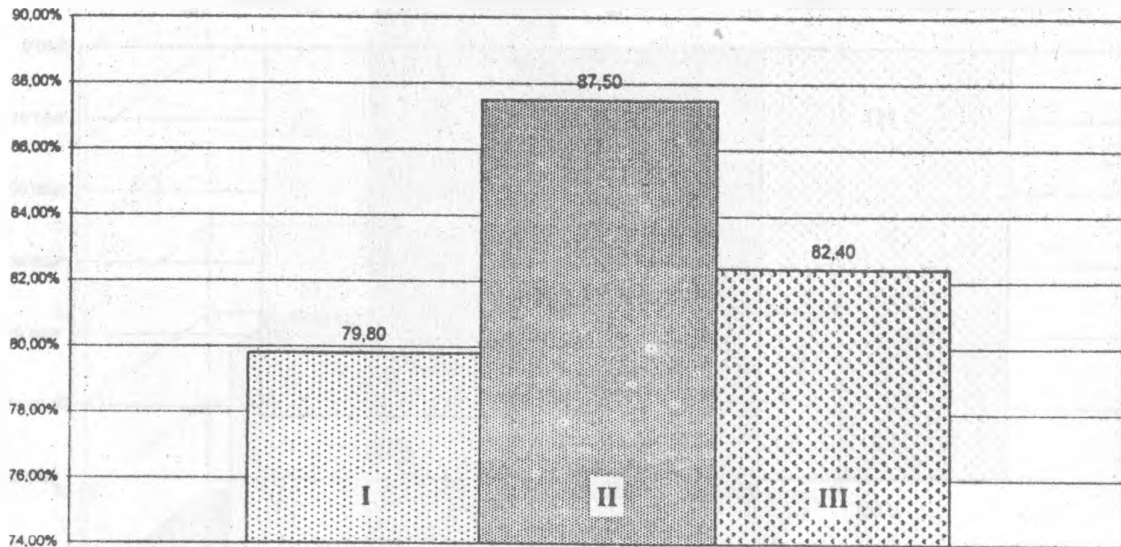
Подвижность трихомонад в испытуемой и контрольных средах (% активн. подвижных)



□ I - среда СКДС □ II - среда Джонсона-Трасселя □ III - среда с плацентарной основой

Рисунок 3.

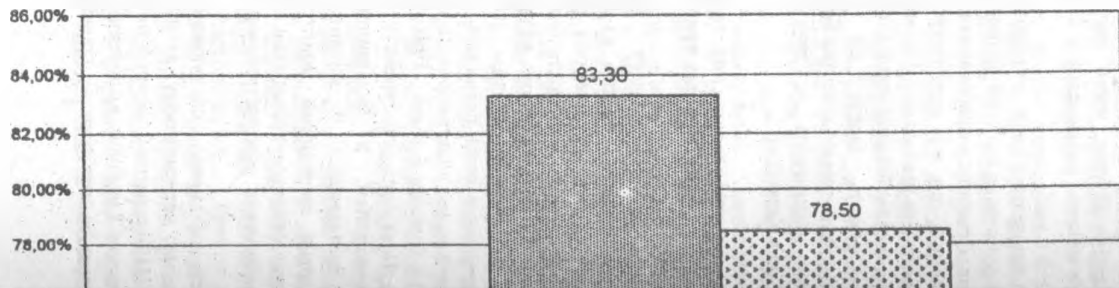
Формы трихомонад в испытуемой и контрольных средах (% сохраненных форм)

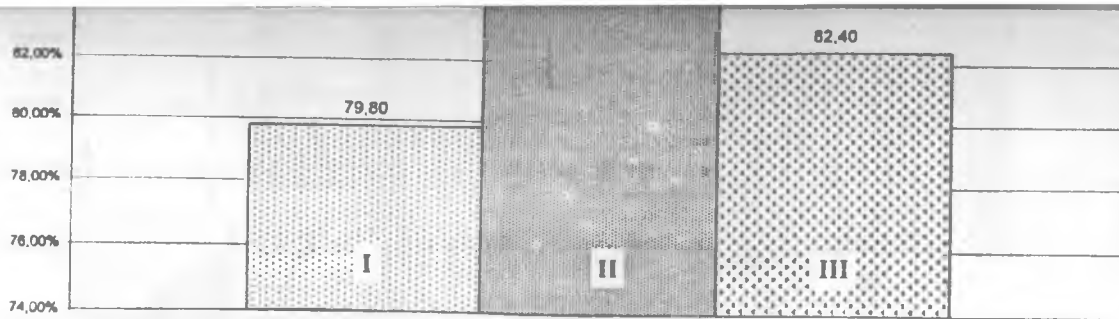


□ I - среда СКДС ■ II - среда Джонсона-Трасселя ▨ III - среда с плацентарной осн.

Рисунок 4 .

Количество жизнеспособных трихомонад в испытуемой и контрольных средах

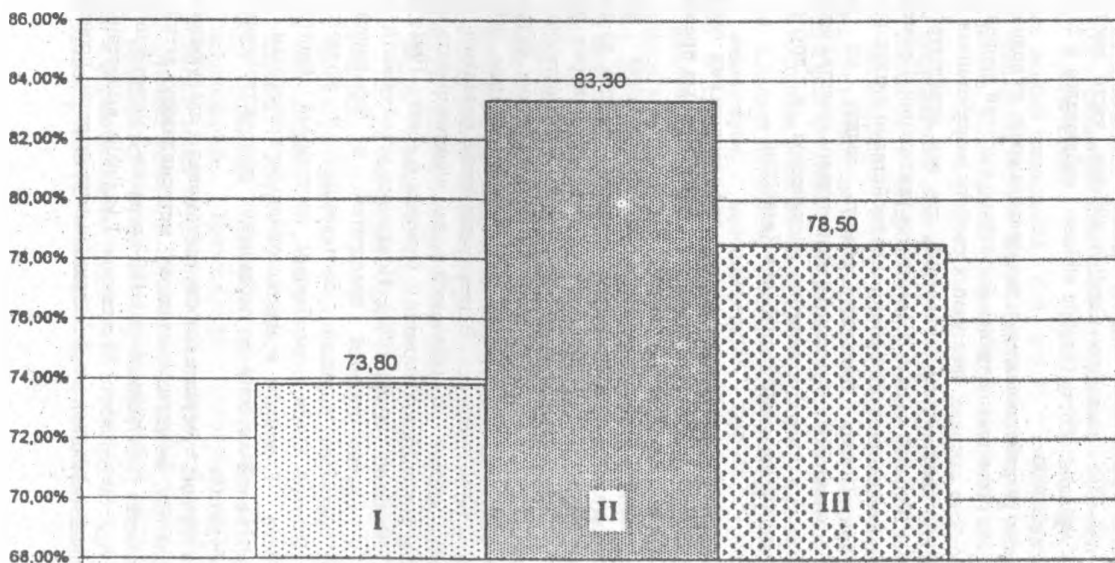




□ I - среда СКДС ■ II - среда Джонсона-Трасселя ▨ III - среда с плацентарной основой

Рисунок 4 .

Количество жизнеспособных трихомонад в испытуемой и контрольных средах



□ I - среда СКДС ■ II - среда Джонсона-Трасселя ▨ III - среда с плацентарной основой

Рисунок 5 .

Как видно из вышепредставленных данных, разработанная нами среда с плацентарной основой по элективным свойствам сопоставима со средой Джонсона-Трасселя и превышает по всем изученным показателям среду СКДС. Данная среда позволяет выделить *Candida albicans*, часто выступающей в ассоциации с *T.vaginalis*. Рост *Candida albicans* наблюдался в 23,3% случаев трихомонадной инфекции.

Таким образом, разработанная нами питательная среда из водного экстракта плаценты человека позволила получить достаточно высокий процент выделения трихомонад. Помимо высоких элективных свойств разработанная питательная среда экономична, проста в приготовлении, так как используется плацента человека, которая большей частью подвергается утилизации. Применение более доступных обладающих высокими ростовыми свойствами питательных сред для диагностики трихомоноза позволит решить задачу по расширению культуральной диагностики трихомоноза, оптимизации качества исследования в лабораториях кожно-венерологических диспансеров и других лечебно-профилактических учреждений Республики Казахстан.

3.2 Изучение чувствительности и морфологических свойств *Trichomonas vaginalis* под действием протистоцидных препаратов

Терапия урогенитального трихомоноза представляет значительные трудности, которые определяются рядом факторов. Одним из них является возрастающая резистентность *T.vaginalis* к наиболее широко применяемым препаратам – производным нитроимидазола. Недостаточно высокие концентрации препаратов, неконтролируемое их применение являются одними из основных факторов, при которых действуют механизмы, работающие на распространение резистентности. В последние годы появились сообщения о способности вагинальной сопутствующей флоры инактивировать метронидазол, что приводит к безуспешной терапии (Суворов с соавт., 1991; Кривошеев с соавт., 1997; Erickson et al., 1981). Появление устойчивости влагалищных трихомонад к протистоцидным препаратам, в большинстве случаев, обуславливает развитие торпидно протекающих и асимптомных форм заболевания. В этой связи, необходим постоянный мониторинг уровня чувствительности *T.vaginalis* к протистоцидным препаратам, что является основой эффективной терапии и уменьшения распространения устойчивых штаммов возбудителя.

Нами была изучена чувствительность трихомонад к следующим препаратам: трихополу, флагилу, метрагилу, медазолу, метронидазолу, активным началом которых является метронидазол (1 β -оксиэтил-2-метил-5-нитроимидазол). Определение чувствительности 50 штаммов *T.vaginalis*, выделенных от больных с трихомонадной инфекцией к протистоцидным препаратам проведено методом

серийных разведений. Концентрации препаратов составляли 1-10 мкг/мл. Культуры *T.vaginalis* инкубировали в течение 24 часов. Результаты опытов оценивали по четырехбалльной системе: от + до ++++ (++++ - полное соответствие интенсивности роста *T.vaginalis* в опытной пробирке с контрольной; +++ - снижение интенсивности роста на 50% по сравнению с контрольными показателями; ++ - наличие всего лишь двух-трех малоподвижных особей трихомонад в поле зрения; + - единичные простейшие в поле зрения препарата). Кроме подвижности оценивали морфологические свойства трихомонад, интактность, наличие жгутиков и других структурных органелл.

Результаты исследований показали, что основной диапазон чувствительно сти штаммов колебался в интервале от 1 до 5 мкг/мл. Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) для 100% штаммов была 5 мкг/мл. Наибольшей чувствительностью обладали штаммы *T.vaginalis* к медазолу (МИК - 0,1-0,5 мкг/мл) и флагилу (МИК - 0,1-1,0 мкг/мл). МИК трихопола, метрагила, метронидазола составила более высокий уровень: 5 мкг/мл; 3 мкг/мл; 4 мкг/мл соответственно. Следует отметить, что при МИК метронидазола 3 мкг/мл сохранялись измененные, малоподвижные формы *T.vaginalis*, что свидетельствует о снижении чувствительности к данному препарату по сравнению с другими. Наиболее высокий процент высокочувствительных штаммов отмечался к медазолу и флагилу (61,5 и 50,0% соответственно), что коррелируется с данными К.К. Борисенко и соавт. (1998 г.) о клинической эффективности медазола (94,4% этиологическая излеченность у женщин и 95,2% у мужчин). К метрагилу и трихополу процент высокочувствительных штаммов снизился до 30,8% и 11,5%. К метронидазолу высокочувствительных штаммов отмечено не было. Следует отметить, что чувствительные штаммы наблюдались ко всем препаратам. Количество чувствительных штаммов распределилось следующим образом: к метронидазолу - 88,5%, к трихополу - 77,0%, к метрагилу - 65,4%, к медазолу и флагилу чувствительность была одинакова - 38,5%, слабочувствительных - к трихополу, флагилу, метронидазолу - 11,5%, к метрагилу - 3,8%, к медазолу слабочувствительных штаммов не отмечалось.

Исходя из полученных данных, нами были изучены штаммы *T.vaginalis* под действием метронидазола *in vitro* на светооптическом уровне. Изучение контрольного штамма *T.vaginalis* показало полное его соответствие по морфологическим свойствам типичным представителям рода *Trichomonas*, семейство *Trichomonadidae*. Трихомонады удлиненно-овальной формы размерами 21,9x19,1 мкм., окружены плазматической мембраной. Видны жгутики, ундулирующая мембрана. Цитоплазма клеток сетчатого строения, что, по-видимому, объясняется чередованием базофильных и небазофильных участков. Ядро в форме «сливовой косточки», высокой оптической плотности, расположено эксцентрично. В некоторых трихомонадах ядерные структуры

распадаются на ряд плотно прилегающих друг к другу глыбок высокой оптической плотности, что свидетельствует о биологической активности простейшего. В других же клетках структуры ядер выглядят компактно.

При действии метронидазола в концентрации до 3 мкг/мл изменяются некоторые морфологические свойства простейшего: форма клеток приближается к округлой, цитоплазма теряет характерное сетчатое строение. Контуры клеток размыты, жгутики и ундулирующая мембрана не определяются. Ядра занимают центральное положение в клетках, сохраняя первоначальную форму «сливовой косточки», но значительно гипертрофированы, разрыхлены по оптической плотности, ядерный материал сходен с контрольным. В других клетках более значительная гипертрофия ядра сочетается с изменением ядерной оболочки.

Полученные результаты исследований показывают, что под действием метронидазола изменяются, в первую очередь, форма трихомонад: клетки приобретают вид округлых структур с плотной оболочкой, заполненных электронно-плотным гранулярным содержимым, сходных с «голубыми формами», описанными ранее М.М.Васильевым (1990).

Изучение морфологических изменений *T.vaginalis*, выделенных в процессе протистоцидной терапии показало, что паразит уже на 2-3-й день лечения становится неподвижным, теряет ундулирующую мембрану и жгутики. В большинстве случаев простейшие округлой формы, с плотной оболочкой. Некоторые клетки приобретают высокую оптическую плотность, что затрудняет идентифицировать материал ядра от цитоплазмы. Другие клетки имеют более светлую структуру, с плохо контурируемым материалом ядра. Все клетки *T.vaginalis* окружены двойной оболочкой. На фоне вышеописанных разновидностей клеточных форм *T.vaginalis* наблюдаются длинные капсулярные формы, внутри которых выявляются клетки по своей структуре, приближающиеся к типичным простейшим.

Таким образом, проведенное целенаправленное изучение уровня чувствительности *T.vaginalis* к наиболее широко применяемым протистоцидным препаратам позволило прийти к заключению о тенденции увеличения уровня резистентности штаммов трихомонад. Наиболее чувствительными были штаммы к медазолу и флагилу, подтвержденные исследованиями *in vitro* и *in vivo*. Выявлены некоторые биологические особенности трихомонад, позволяющие оценить их как биологическую целесообразность “принятие предохранительных мер” простейшими (цистоподобные образования, “голубые формы” сохранения). Дальнейшие исследования были направлены на изучение ультраструктуры трихомонад под действием протистоцидных препаратов.

3. 3 Особенности ультраструктуры *Trichomonas vaginalis*

На ультратонких срезах трихомонады контрольного штамма округлой эллипсовидной формы с хорошо выраженными псевдоподиями, окруженные однослойной мембраной, которая ограничивает цитоплазму клетки от среды обитания. Как любые эукариотные клетки, трихомонады содержат оформленное ядро, по длинной оси 5-6 мкм, по короткой 3,2 мкм, заключенное в две ядерные оболочки, внутреннюю и наружную, которые образуют перенуклеарное пространство вокруг ядра. На наружной ядерной оболочке располагаются многочисленные рибосомы. Ядро – пузырьковидного типа, расположенное эксцентрично, заполнено кариоплазмой с характерными нитями и мелкими глыбками средней электронной плотности, по-видимому, белковой природы, на фоне которых наблюдаются глыбки хроматина, расположенные как в центре, так и по периферии ядра. Глыбки хроматина высокой электронной плотности, состоят из неоформленных гранул. Вся цитоплазма трихомонады насыщена мелкими гликогеновыми глыбками или розетками диаметром около 250 нм, среди которых располагаются свободные гранулы отдельных рибосом или рибосом собранных в полисомы. Связанные с мембранами рибосомы наблюдаются в районе ядер, на малочисленных фрагментах эндоплазматической сети. Вблизи ядра располагается крупная пластинчатая структура аппарата Гольджи, собранная из ряда мешочков, образующих характерный рисунок пластинки. Количество упакованных мешочков на срезах варьирует от 8 до 10 единиц. Движение трихомонад осуществляется за счет ундулирующей мембраны и жгутика. У основания ундулирующей мембраны располагаются базальные тельца или блефаропласт: структура, заключенная в мембрану, имеющая гомогенный электронно-плотный фибриллярный и трубчатый материал. Блефаропласт дает начало жгутику, который покрыт поверхностной мембраной, окружающей 9 парных микротрубочек и пару разделенных микротрубочек, расположенных в центре (9 + 1). Помимо плазматической мембраны аппарат трубочек заключен в нежный фибриллярный комплекс. Вблизи блефаропласта, как правило, наблюдается фибриллярная структура (коста), электронно-микроскопическое строение которой напоминает строение коллагенового волокна. Поверхность трихомонад способна образовывать псевдоподии, которые служат для поглощения питательных субстратов из среды обитания, например, остатков эпителиальных клеток влагалища (Овчинников с соавт., 1979; Делекторский с соавт., 1989; Nielsen, 1975). Встречаются крупные округлые структуры, по контрасту сходные с липидными включениями, но имеющие мелкогранулярные неоформленные островки электронно-плотного материала.

Изучение действия метронидазола *in vitro* показало, что при воздействии 3 мкг/мл наблюдаются лишь «тени» *Tr.vaginalis*, структура их нарушена, на

некоторых участках отсутствует поверхностная мембрана. Цитоплазма клетки вакуолизирована. Вакуоли округлой формы, эксцентрично расположенные с электронно-плотным содержимым. Внутренняя сторона вакуоли покрыта электронно-плотным гранулярным материалом. Встречаются в цитоплазме простейших участки аппарата Гольджи, липидные включения, полностью отсутствуют гранулы гликогена. Содержимое цитоплазмы очень рыхлое. Мембранные оболочки ядра не выявляются, но в то же время сохраняются следы ядерных пор. Хроматин ядра приобретает мелкогранулярную рыхлую форму. На фоне таких клеток встречаются клетки, которые сохраняют свою поверхностную мембрану, но имеют морфологическую картину цитоплазмы и ядра подобную вышеописанным. Эти клетки заключены в одну мембранную оболочку. На мембране оболочки видны гранулы электронно-плотного вещества. У поверхности наружных мембран клеток, заключенных в общую оболочку наблюдаются видоизмененные жгутики.

При действии метронидазола в концентрации 5 мкг/мл отмечаются более выраженные изменения: на фоне разрушенной материнской клетки, внутри некоторых трихомонад наблюдаются клетки с отличной от материнской клетки организацией цитоплазмы. Следует отметить, что поверхностная оболочка этих клеток представляет собой мелкозубчатую структуру с периодичным повторением участков мембраны, уплотненных глыбками электронно-плотного материала. Такая оболочка характерна цистным стадиям токсоплазмид (Бэйр с соавт. 1978, Федосеев 1989). Дальнейшее изучение ультраструктуры *T. vaginalis*, выделенных от больных с рецидивами заболевания также показало образование наружной оболочки аналогичной вышеописанной структуре при действии протистоцидных препаратов. Все это позволяет предположить, что деление трихомонад проходит не по схеме классического митоза с образованием экваториальной пластинки и разделением хромосом между дочерними особями, а путем процесса внутреннего почкования ядра, что присуще простейшим группы токсоплазмид, имеющих происхождение от жгутиконосцев и другим представителям паразитических простейших. Эти данные свидетельствуют о наличии у *T. vaginalis* механизмов, позволяющих противостоять факторам макроорганизма и действию протистоцидных препаратов, что возможно объясняет появление устойчивых штаммов и асимптомных форм трихомоноза.

Изучение ультраструктуры *T. vaginalis*, выделенных от больных с рецидивами заболевания, позволило получить ряд новых данных. *T. vaginalis* сохраняют целостность строения, но они видоизменены как по форме, так и по структуре. Поверхностная мембрана клеток сохранена, но приобретает зубчатый рисунок в результате множественных инвагинаций. Мембрана покрыта электронноплотным материалом. При инвагинации внутренние мембраны свободны, а наружные заполнены электронноплотным материалом. Вблизи поверхностной мембраны наблюдаются измененные жгутики: структура

9+1 перерождается в электронноплотный материал, но мембрана их сохраняется. Клетки содержат неоформленный ядерный материал, лишенный первичных ядерных мембран и представляющий собой скопления мелких, электронноплотных гранул, оформленных в глыбки. На некоторых срезах границы ядер контурируются за счет скоплений электронноплотных глыбок. Отдельные глыбки ядерного материала диффузно наблюдаются по всей цитоплазме. Цитоплазма содержит липидные включения, которые встречаются по всему ее объему, но преимущественно в контакте с глыбками ядерного материала. Вся цитоплазма насыщена нежными фибриллярными нитями, которые отсутствуют в сфере ядра. Наряду с описанными формами трихомонад в некоторых случаях встречаются грибы *Candida*, которые являются одним из ассоциантов трихомонад.

Таким образом, электронно-микроскопическое изучение *T. vaginalis*, выделенных от больных с рецидивами заболевания, показало изменение ультраструктуры (нарушение формулы 9+1 жгутиков, дезорганизация ядерного материала). Сохранение ядерного материала при целостности простейшего свидетельствуют о жизнеспособности и возможности перехода в патогенную вегетативную форму.

Анализ полученных данных указывает на возрастающую резистентность циркулирующих штаммов *T. vaginalis* к протистоцидным препаратам нитроимидазолового ряда, структурную и функциональную их гетерогенность, что проявляется одновременным сосуществованием различных форм трихомонад от типично грушевидных до цистподобных. Последние можно рассматривать как формы биологической адаптации, позволяющие персистировать *T. vaginalis* в очагах поражения и, возможно, объясняющих трихомонадоносительство и резистентность к протистоцидным препаратам. Все это подчеркивает актуальность исследования по разработке селективной питательной среды. Разработанная питательная среда с основой из плаценты человека позволяет повысить качество культуральной диагностики трихомоноза.

ВЫВОДЫ

1. Изучение уровня чувствительности циркулирующих в регионе штаммов *Trichomonas vaginalis* показало возрастание уровня резистентности к протистоцидным препаратам нитронимидазолового ряда. Основным диапазоном чувствительности отмечен в пределах 1-5 мкг/мл

2. Наибольшей чувствительностью обладали штаммы *Trichomonas vaginalis* к медазолу (МИК – 0,1-0,5 мкг/мл) и флагилу (МИК – 0,1-1,0 мкг/мл), что определяет перспективность применения данных препаратов в клинической практике.

3. Бактериоскопические методы исследования при трихомонадной инфекции являются ориентировочными. Частота выделения *Trichomonas vaginalis* составила 34,2 – 39,7%.

4. Сравнительная оценка бактериоскопических и бактериологических методов лабораторной диагностики трихомоноза установила достоверное увеличение процентного выделения *Trichomonas vaginalis* при использовании культурального метода. Применение комплекса культуральных методов в диагностике трихомонадной инфекции является более эффективным и целесообразным. Процент выделения на среде СКДС – 65,7%, среде Петровского – 60,3%, среде Джонсона-Трасселя – 68,5%.

5. Разработанная питательная среда с основой из плаценты человека для выделения *Trichomonas vaginalis* показала высокие элективные свойства, что подтверждается достоверным увеличением количества жизнеспособных клеток до 78,5%, активноподвижных – до 59,7% с сохранением их форм у 82,4% простейших.

6. Получены морфологические и ультраструктурные критерии потенциальной способности *Trichomonas vaginalis* к варибельной изменчивости (неподвижные, цистоподобные, «голубые формы») в зависимости от условий обитания. Формы биологической адаптации возможно играют роль в возрастающей резистентности штаммов трихомонад, а также в генезе персистенции простейших в очагах поражения при трихомонадоносительстве.

7. *Trichomonas vaginalis* под действием протистоцидных препаратов характеризуются изменениями ультраструктуры ядерного материала (частичное или полное исчезновение ядерной оболочки, конденсация хроматина), поверхностной мембраны с множественными инвагинациями, нарушением турбулярного комплекса (9+1) жгутикового аппарата. (от грушевидной до цистоподобных форм).

ВЫВОДЫ

1. Изучение уровня чувствительности циркулирующих в регионе штаммов *Trichomonas vaginalis* показало возрастание уровня резистентности к протистоцидным препаратам нитроимидазолового ряда. Основной диапазон чувствительности отмечен в пределах 1-5 мкг/мл

2. Наибольшей чувствительностью обладали штаммы *Trichomonas vaginalis* к медазолу (МИК – 0,1-0,5 мкг/мл) и флагилу (МИК – 0,1-1,0 мкг/мл), что определяет перспективность применения данных препаратов в клинической практике.

3. Бактериоскопические методы исследования при трихомонадной инфекции являются ориентировочными. Частота выделения *Trichomonas vaginalis* составила 34,2 – 39,7%.

4. Сравнительная оценка бактериоскопических и бактериологических методов лабораторной диагностики трихомоноза установила достоверное увеличение процентного выделения *Trichomonas vaginalis* при использовании культурального метода. Применение комплекса культуральных методов в диагностике трихомонадной инфекции является более эффективным и целесообразным. Процент выделения на среде СКДС – 65,7%, среде Петровского – 60,3%, среде Джонсона-Трасселя – 68,5%.

5. Разработанная питательная среда с основой из плаценты человека для выделения *Trichomonas vaginalis* показала высокие элективные свойства, что подтверждается достоверным увеличением количества жизнеспособных клеток до 78,5%, активноподвижных – до 59,7% с сохранением их форм у 82,4% простейших.

6. Получены морфологические и ультраструктурные критерии потенциальной способности *Trichomonas vaginalis* к варибельной изменчивости (неподвижные, цистоподобные, «голубые формы») в зависимости от условий обитания. Формы биологической адаптации возможно играют роль в возрастающей резистентности штаммов трихомонад, а также в генезе персистенции простейших в очагах поражения при трихомонадоносительстве.

7. *Trichomonas vaginalis* под действием протистоцидных препаратов характеризуются изменениями ультраструктуры ядерного материала (частичное или полное исчезновение ядерной оболочки, конденсация хроматина), поверхностной мембраны с множественными инвагинациями, нарушением турбулярного комплекса (9+1) жгутикового аппарата. (от грушевидной до цистоподобных форм).

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Джусупалиева М.Х., Ашакова Л.М. Совершенствование методов лабораторной диагностики микоплазменной инфекции //Первый конгресс дерматовенерологов Казахстана.: Тезисы докл.-Алматы., 1996 г. - С.42.
2. Акишбаева К.С., Жантуриев Б.М., Нурушева С.М., Константинова Т.В., Шлыкова Н.А., Ашакова Л.М. Предварительные результаты лечения атриканом трихомонадной инфекции у женщин.// Конференция, посвященная 65-летию Абидова М.М// Сб. научн. тр.-Ташкент.,1996. - С. 182.
3. Акишбаева К.С., Нурушева С.М., Шлыкова Н.А. , Ашакова Л.М. Клинико-лабораторная оценка эффективности полижинакса у больных урогенитальным кандидозом// Научно-практическая конференция, посвященная 75-летию ЦНИКВИ.:Тезисы докл.- Москва,1996.- С. 7.
4. Ашакова Л.М. Частота обнаружения трихомонад при смешанных инфекциях урогенитального тракта/ Научно –практическая конференция 22-23 октября 1997 г.: Тезисы докл.– Москва,1997.-С.130.
5. K.S. Akyshbaeva, L. Ashakova, D. Abdusametov, G. Akyshbayeva. Prevalence and treatment of genitourinary Trichomoniasis in out-patients of gynecological clinic.//5th Scientific meeting of the European Society of Chemotherapy Infections Diseases.- St.-Petersburg, 1997.-p. 63.
6. Калоиди И.А., Ашакова Л.М., Абдусаметов Д.М., Туякова Г. Этиологическая роль некоторых возбудителей при воспалительных процессах урогенитального тракта, влияющих на фертильность мужчин.// Проблемы инфекции в акушерстве, гинекологии, дерматовенерологии и урологии//Сб. научн. тр. –Алматы,1998.- С. 146-151.
7. Абдусаметов Д.М., Джусупалиева М.Х., Ашакова Л.М. Трихомонадная инфекция у мужчин//Первая Международная конференция по первичной и вторичной профилактике инфекций, передающихся преимущественно половым путем.: Тезисы докл.-Алматы,1998.- С. 13.
8. Калоиди И.А., Ашакова Л.М., Абдусаметов Д.М., Котлярова Т. Влияние ассоциированных инфекций урогенитального тракта на репродуктивную функцию мужчин//Новости дерматологии и венерологии. Центральноазиатский научно-практический журнал.-Ташкент,1998.-№ 2.- С. 27-28.
9. Akyshbaeva K.S., Ashakova L.M., Abdusametov D., Kotlyarova T. Influence of mycoplasmosis infection on the reproductive function//7th Congress of the European Academy of Dermatology and Veneriology. October 7-11.-France,Nice.- 1998.-p. 297.
10. Ашакова Л.М. Клинико-лабораторная оценка эффективности противотрихомонадного препарата медазола// КазГМУ им. Асфендиярова// Сб. научн. тр. – Алматы, 1999 г. – С. 69-71.
11. Ашлкова Л.М. Совершенствование лабораторной диагностики трихомоноза // Новости дерматологии и венерологии.-Ташкент, 1999 г. -№2.- С. 32-34.

Тұжырым

Апакова Ләзат Мұңсызбайқызы

Trichomonas vaginalis іс-тің биологиялық қасиетін зерттеу және трихомонозға зертханалық анықтауды жетілдіру

Биология ғылымдарының кандидаты ғылыми дәрежесін қорғау

03.00.19.—паразитология, гелминтология

Ақзам-жыныс жолдарында қабыну аурулары бар 157 науқасқа зертханалық тәсілдер қолданылып, клинико-зертханалық тексеру жүргізілді.

Салыстырмалы зерттеудің нәтижелері жасанды әдісті қолданғанда *Trichomonas vaginalis* іс-ті бөліп алу процентін жоғары екендігін көрсетті.

Адам жатығы негізінде жасалған қоректік орта *Trichomonas vaginalis* іс-тің бөлінуін 35,7 процентке жоғарылататындығын айқындады.

Нитроимидазол қатарындағы протистоцидті дәрілер *Trichomonas vaginalis* іс-тің резистенттілік дәрежесін жоғарылатады.

Метазол және Флагилдің трихомонадтарды есуін төжейтін ең кіші қорылығы /0,1-0,5мкг/мл және 0,1-1,0мкг/мл/ анықталды. Цист тәрізді және қозғалмайтын *T. vaginalis* түрлерінің протистоцидті дәрілердің әсерінен туған морфологиялық және ультраструктуралық өзгерістері көрсетілді.

Ashakova Lyazat M.

**Study of Biological Characteristics of
Trichomonas Vaginalis and Improvement of
Laboratory Diagnostics**

Thesis of the Degree of the Candidate of Biological Science
03.00.19 - parasitology, helminthology

SUMMARY

457 patients with inflammatory diseases of urogenital tract have passed the clinic and laboratory examination with the use of complex of laboratory methods. A comparative appraisal of the methods of trichomoniasis laboratory diagnostics evidenced the increase of the percentage detection of *Trichomonas vaginalis* when using the culture method. A new culture medium was developed on the basis of a human placenta having high elective characteristics (the percentage of detection of *Trichomonas vaginalis* is 35.7%). The increase of the resistance level of *Trichomonas vaginalis* against protistocide agents of nitroimidazol row. Strains of *Trichomonas vaginalis* are the most sensitive to medazol (Minimum Inhibition Concentration - 0,1-0,5 mlg/ml) and flagyl (Minimum Inhibition Concentration - 0,1-1,0mkg/ml). The morphological and ultrastructural alterations of cystiform and akinetic forms of trichomoniasis (alteration of flagellate tract, disorganisation of nucleus material) as a result of the effect of protistocide agents have been studied.