

Министерство охраны здоровья Украины
Национальный медицинский университет им. А. А. Богомольца

А Л Ь - С А Н О Р И

Тарек Мохаммад

на правах рукописи

УДК: 576.8.06:611.62+616.643-002.931

МИКРОФЛОРА УРЕТРА ПРИ ТРИХОМОНАДНЫХ УРЕТРИТАХ.

03.00.07. - Микробиология.

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук.

Киев - 1996



Диссертация - рукопись

Работа выполнена на кафедре микробиологии вирусологии и иммунологии Львовского медицинского института и кафедре микробиологии Львовского государственного университета им. И. Франко.

Научные руководители: Доктор медицинских наук,
профессор **В. В. Данилейченко**.
Кандидат биологических наук,
доцент **С. П. Гудзь**.

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
профессор **А. В. Руденко**.
Доктор медицинских наук,
профессор **И. К. Падченко**

Ведущая организация: Киевский институт усовершенствования
врачей.

Защита состоится 19 сентября 1996 г. в 13³⁰ час. на
заседании Специализированного совета Д. 01. 21. 03 при Национальном
медицинском университете им. А. А. Богомольца по адресу: 252057, Ки-
ев, пр. Перемоги, 34.

Отзывы на автореферат высылать по адресу: Киев-57, пр. Перемо-
ги, 34, санитарно-гигиенический корпус, Бордоносу В. Г.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке университета.

Автореферат разослан "15 августа 1996 г.

Учёный секретарь
специализированного совета,
доктор медицинских наук

В. Г. Бордонос

№ 33, 492

АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ.

Трихомоиаз - распространенное заболевание урогенитальной системы человека. Частота поражений людей в разных странах не одинакова. По данным литературы в Польше - трихомоиаз составляет 4% всех негонорейных поражений мочеполовой системы /Szarmach H. et al 1985/, в Болгарии - 10% /Бонев А. 1985/, в бывшем СССР - от 23 до 47% /Задорожный Б. А., Петров Б. Р. 1978/. В США ежегодно заражаются трихомонадами от 2,5 до 3 млн. женщин /Rein M.F., Muller M., 1984/. Частота заболеваний среди мужчин составляет 50% /Charles D., 1980/. По данным ВОЗ /1981/ в США удельный вес трихомонадной инфекций среди болезней, передающихся половым путем составляет от 10 до 30%; в тропических странах этот показатель достигает 40%. Частота случаев заболевания существенно варьирует, достигая в определенных социально-экономических группах населения 40% /Fouts A.C., Kraus S.J. 1980, Fowler J.E. 1981/. Tuttle J.P. et al 1977/ отмечают, что частота заболевания трихомоиазом составляет 2-50 % и среди заразившихся в большинстве случаев заболевание протекает без выраженных клинических симптомов.

Однако в отношении развития трихомонадной инфекции на фоне нахождения в уретре других микроорганизмов у исследователей нет единого мнения. Так, И.И. Ильин /1991/ пишет, что при острой трихомонадной инфекции обнаруживаются только одни *Trichomonas vaginalis*, а бактериальная флора как правило является не "соучастником" воспаления, а только обильно размножившимися комменсалами. Однако он не исключает возможность участия в этом процессе патогенных бактерий. В.И. Жуков /1983/ считает возможным участие услов-

ЛНБ ім. В. Стефаника
АН України

но - патогенных бактерий в развитии трихомонадной инфекции. Б. В. Клименко /1987/ рассматривает трихомониаз как протозойно - бактериальное заболевание, и поражения, по его мнению вызываются действием трихомонадных и микробных токсинов. И. И. Ильин /1983/ категорически утверждает, что сопутствующие трихомонадным поражениям бактерии как правило лишены патогенных свойств.

Следовательно, остается не решенным вопрос не только о роли условно - патогенных, но и сапрофитных микроорганизмов различных таксономических групп в течении трихомониаза.

Вместе с тем существуют ряд не прямых доказательств того, что эта бактериальная флора вегетирующая в уретре принимает участие в воспалительных процессах при трихомониазах. Таким доказательством может служить посттрихомонадный уретрит, этиологическим фактором которого в большинстве случаев является условно - патогенные бактерии /Клименко Б. В. 1987, Шапошников О. К. 1991/.

Целью наших исследований, явилось изучение видового состава микрофлоры уретры больных хроническими трихомонадными уретритами с установлением степени патогенности выделенных бактерий, а также изучение характера поверхностного взаимодействия между трихомонадами и сопутствующей микрофлорой.

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью представленной работы явилось совершенствование различных методов микробиологической диагностики трихомониаза, а также изучение характера поверхностного взаимодействия между трихомонадами и микробами ассоциантами.

В соответствии с этим при выполнении работы поставили следую-

щие задачи:

-оценить диагностическую пригодность разных методов микроскопической диагностики трихомониаза;

-идентифицировать наиболее часто выделяемые при трихомонадной инфекции микробы ассоцианты и определить их патогенные свойства;

-определить степень чувствительности к антибиотикам микробов-ассоциантов;

-изучить ультраструктуру *Tr. vaginalis* и характер её взаимодействия с выделенными микроорганизмами.

Основные положения диссертационной работы, которые выносятся на защиту: комплексная оценка методов микробиологической диагностики трихомонадной инфекции с рекомендацией наиболее эффективных. Характеристика спектра микробов-ассоциантов вегетирующих в уретре при хронической трихомонадной инфекции и особенности их взаимодействия с трихомонадами по результатам электронно-микроскопических исследований.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.

-проведенный анализ разных методов микроскопической диагностики трихомониаза показал, что наиболее эффективными являются методы окраски по Романовскому-Гимзе и метиленовой синью;

-впервые показано, что структурно-морфологические изменения слизистой оболочки уретры - "трихомонадный эффект" регистрируется и у мужчин с хроническим трихомониазом;

-установлен видовой состав микрофлоры сопутствующей трихомонадным уретритам;

-показано, что стафилококки, являющиеся наиболее частыми ас-

социантами, принадлежали к 8 видам, большинство из которых обладали патогенными свойствами;

-показано, что представители класса Mollicutes /Mycoplasma hominis и Ureaplasma urealyticum/ вызывают деструкцию эпителия уrogenитального тракта и взаимодействуют со сперматозоидами;

-предложена питательная среда для культивирования трихомонад, позволяющая получать стабильную культуру простейшего;

-представлены результаты электронно-микроскопического изучения трихомонад и особенности их взаимодействия с клетками хозяина и сопутствующей микрофлорой.

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ РАБОТЫ. Полученные данные могут быть использованы практическими лабораториями при диагностике хронических трихомонадных уретритов, что позволит значительно повысить её эффективность. Изучение сопутствующей микрофлоры, а также характера её взаимодействия с трихомонадами свидетельствует о необходимости комплексного обследования больного для достижения эффективного специфического лечения.

ДЕКЛАРАЦИЯ О ЛИЧНОМ ВКЛАДЕ ДИССЕРТАНТА В РАЗРАБОТКУ НАУЧНЫХ ДАННЫХ, КОТОРЫЕ ВНОСЯТСЯ НА ЗАЩИТУ. Автором диссертации разработана программа исследований, лично выполнены все микробиологические методы. Диссертантом проведен самостоятельный анализ всего полученного фактического материала; разработка основных положений и выводов работы также принадлежат диссертанту.

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ. Материалы диссертации представлены на I учредительном съезде украинского микробиологического общества (Одес-

са, 1993), на заседании Львовского областного общества дермато-венерологов (Львов, 1994), на заседании Львовского отделения украинского микробиологического общества (Львов, 1995).

ПУБЛИКАЦИИ. По материалами диссертации опубликовано 5 работ.

СТРУКТУРА И СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ.

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описи материалов и методов исследований, результатов собственных исследований и заключения, выводов и списка литературы. Текст диссертации изложен на 105 страницах, диссертация иллюстрирована 24 рисунками, 10 таблицами и одной схемой. Список литературы включает 201 источник.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Для выполнения задач и целей поставленных в диссертации было обследовано 190 больных мужчин с жалобами на зуд, жжение в области мочеполовой системы, слизистые выделения из уретры, спонтанные или при нажатии. Они безуспешно лечились в течении двух лет.

Для постановки диагноза трихомониаза исследовали нативные препараты, препараты окрашенные метиленовой синью и по Романовскому-Гимзе, а также использовали культуральный метод.

Использовали метод непрямого обнаружения трихомонад путём изучения их воздействия на клетки хозяина, которое проявляется в скоплении лейкоцитов на поверхности эпителиальных клеток, а также

в дегенерации клеток плоского эпителия, проявляющегося в утрате цитоплазматических границ и ядра и появлении вокруг него небольшого просветления (перинуклеарное гало).

Для выявления сопутствующей бактериальной и грибковой микрофлоры использовали стандартные питательные среды (Биргер М.О., 1982).

Для обнаружения микоплазм использовали модифицированную среду Хейфлика, в основе которой был триптический перевар бычьего сердца. Для *M. hominis* использовали полужидкую среду с аргинином, для *U. urealyticum* использовали среду с мочевиной и индикатором фенольным красным. Для получения колоний готовили плотные питательные среды, содержащие 2% агара (Hayflick L., 1965, Автушенко С.С., 1975, Делекторский В.В. и соавт., 1984).

Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили по общепринятым методикам, согласно определителю Bergey's /1984/, учитывая морфологические и физиолого-биохимические свойства микроорганизмов. Патогенные свойства стафилококков, анаэробную ферментацию маннита, продукцию коагулазы, ДНК-зы, лецитиназы, чувствительность к новобиоцину, и образование гемолизинов альфа, бета, дельта определяли общепринятыми тестами (Акатов А.К.; Зуева В.С., 1983, Ахматов М.А. и соавт., 1981, Биргер М.О., 1982). Видовая принадлежность 120 культур стафилококков определена с использованием стафитеста фирмы "Lachema", позволяющий идентифицировать до 30 видов стафилококков. Стафитест содержит такие биохимические тесты: глицерин, сахароза, трегалоза, маннитол, уреазы, реакция фогес-проскауэра, редукция нитратов, фосфатаза.

Для электронно-микроскопических исследований использовали 3-4 суточную культуру трихомонад. Культуру переносили в специаль-

ную центрифужную пробирку, центрифугировали при 4000 оборотов 15-20 мин., осадок освобождали от питательной среды и фиксировали 2% глутаральдегидом в 0,2М растворе какодилата натрия на протяжении 1 часа. Образцы промывали и постфиксировали 1% раствором четырёхокси осмия в том же буфере на протяжении 1 часа. После дегидратации материала в эталоне возрастающей концентрации производили заливку в эпоксидную смолу /ЭПОН-812/. Полимеризацию осуществляли при 60 С в течении 48 часов. Срезы получали на ультрамикротоме УМТП-6, контрастировали насыщенным спиртовым раствором уранилацетата и свинцом по Рейнольдсу и изучали в электронном трансмиссионном микроскопе УЭМВ-100Б.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.

1. Диагностика трихомониаза.

Диагноз трихомониаза устанавливали с помощью микроскопии нативного и окрашенного препаратов, по цитологическим изменениям эпителия уретры, а также по результатам культивирования. Эти методы исследования позволили не только более достоверно установить наличие трихомониаза у больных, но дали возможность сравнить их надёжность как способа обнаружения этиологического агента заболевания.

Анализ результатов микроскопического исследования показал, что при использовании одного метода диагноз трихомониаза был подтверждён только у 15,35% больных, причём чаще всего на основании выявления трихомонадного эффекта /6,31%/: двумя методами трихомо-

нады были обнаружены в 53,66% случаев, чаще всего /31,57%/ диагноз подтверждался при окраске метиленовой синью или по Романовскому и по обнаружению трихомонадного эффекта, при использовании трёх методов трихомонады выявлено у 25,25% больных, а всеми четырьмя методами только у 5,26% больных.

Если проанализировать полученные результаты то видно, что в тех комбинациях, где применяли нативный метод исследования, число положительных результатов самое низкое.

Подытоживая положительные результаты полученные при помощи одного метода исследования констатировали следующее: нативный метод позволил установить диагноз у 42 больных (22,10%), окраска метиленовой синью у 141 - (74,21%), окраска по Романовскому у 144 (75,78%), трихомонадный эффект у 93 больных (48,89%).

Эти данные показывают, что при микроскопической диагностике трихомоноза наиболее эффективен их поиск в окрашенных препаратах; тогда как на результаты исследования нативного метода влияют различные условия: чувствительность трихомонад к охлаждению, качество раствора, разбавителя и др.

Таким образом, исследование мазков из уретры после окраски метиленовым синим или по Романовскому-Гимзе даёт наиболее положительные результаты.

Что касается трихомонадного эффекта он был обнаружен почти у каждого второго больного, поэтому мы считаем обусловленным его применение в качестве диагностического теста.

Метод культивирования выгоден тем, что он позволяет обнаружить большее количество трихомонад и способствует их идентификации как в нативных, так и в окрашенных препаратах. В работе для выращивания трихомонад использовали питательную среду в нашей модифи-

кации, её состав: к 100мл раствора Рингера добавляли 15мл 2% раствора триптона, 10мл дрожжевого автолизата, 10мл 10% раствора глюкозы, 20мл лошадиной сыворотки, 10мл 1% раствора глутатиона и комплекс антибиотиков: пенициллин, стрептомицин - по 1000 мкг/мл, полимиксин - 400ед/мл, амфотерицин В (40ед/мл). Культивирование проводили при t 35° С.

На 4-ый день посева мы обнаружили единичные трихомонады (4-5 в поле зрения). Их количество увеличилось на 6-7 день до 50 особей. Пересевы каждые 4 дня дали положительные результаты.

2. Сопутствующая микрофлора при трихомонадных уретритах.

Результаты изучения видового состава микрофлоры уретры при трихомонадных уретритах представлены в табл.1.

Выделенные микроорганизмы принадлежали к разным таксономическим группам. Как видно из данных таблицы при трихомонадных уретритах имеются довольно разнообразные микробные ассоциации, которые состоят из одного, двух, трёх или четырёх ассоциантов.

Самыми частыми из ассоциантов трихомонадных уретритов являются стафилококки.

У 24,74% больных стафилококки были единственным ассоциантом, а у 75,02% больных они были выделены в ассоциации с другими микроорганизмами. Чаще всего ассоциации трихомонад со стафилококками сопровождались выделением еще одного вида микроорганизмов: *M. hominis* - у 10 больных /5,26%; *U. urealyticum* - 50 /26,31%; *Str. pyogenes* - 4 /2,11%; *E. coli* - 11 /5,78%; *Kl. pneumoniae* - 3 /1,58%; *P. mirabilis* - 1 /0,52%; *M. lacunata* - 6 /3,16%; *A. calcoaceticus* - 2 /1,05%; *C. albicans* - 5 /2,6%.

Частота ассоциации стафилококков, выделенных от больных трихомонадным уретритом с другими микроорганизмами. Таблица 1

Ассоциации стафилококка	Вид микроорганизма	Количество ассоциантов	% стафилококков в ассоциации
Ассоциация с одним видом	<i>M. hominis</i>	10 (5,26%)	48,42%
	<i>U. urealyticum</i>	50 (26,31%)	
	<i>Str. pyogenes</i>	4 (2,11%)	
	<i>E. coli</i>	11 (5,78%)	
	<i>Kl. pneumoniae</i>	3 (1,58%)	
	<i>P. mirabilis</i>	1 (0,52%)	
	<i>M. lacunata</i>	6 (3,16%)	
	<i>A. calcoaceticus</i>	2 (1,05%)	
Ассоциация с двумя видами	<i>M. hominis</i> и <i>U. urealyticum</i>	11 (5,78%)	23,68%
	<i>Str. pyogenes</i> , <i>M. hominis</i>	1 (0,52%)	
	<i>Str. pyogenes</i> , <i>U. urealyticum</i>	6 (3,16%)	
	<i>E. coli</i> , <i>M. hominis</i>	1 (0,52%)	
	<i>E. coli</i> , <i>U. urealyticum</i>	8 (4,10%)	
	<i>Kl. pneumoniae</i> , <i>U. urealyticum</i>	3 (1,58%)	
	<i>Pr. mirabilis</i> , <i>U. urealyticum</i>	1 (0,52%)	
	<i>M. lacunata</i> , <i>M. hominis</i>	1 (0,52%)	
Ассоциация с тремя видами	<i>M. lacunata</i> , <i>U. urealyticum</i>	1 (0,52%)	3,13%
	<i>A. calcoaceticus</i> , <i>M. hominis</i> , <i>U. urealyticum</i>	5 (2,63%)	
	<i>C. albicans</i> , <i>M. hominis</i> , <i>U. urealyticum</i>	7 (3,68%)	
	<i>Str. pyogenes</i> , <i>M. hominis</i> , <i>U. urealyticum</i>	1 (0,52%)	
	<i>M. lacunata</i> , <i>M. hominis</i> , <i>U. urealyticum</i>	1 (0,52%)	
	<i>A. calcoaceticus</i> , <i>M. hominis</i> , <i>U. urealyticum</i>	1 (0,52%)	
	<i>C. albicans</i> , <i>M. hominis</i> , <i>U. urealyticum</i>	2 (1,05%)	
	<i>Str. pyogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>U. urealyticum</i>	1 (0,52%)	

Значительно реже наблюдались ассоциации трихомонад и стафилококков с двумя видами микроорганизмов. Так *M. hominis.* и *U. urealyticum.* были обнаружены у 11 больных /5,78%; *Str. pyogenes.* *M. hominis.* у - 1 /0,52%; *Str. pyogenes* и *U. urealyticum.* - у 6 /3,16%; *E. coli* и *M. hominis.* - у 1 /0,52%; *E. coli* и *U. urealyticum.* - у 8 /4,10%; *Kl. pneumoniae* и *U. urealyticum.* - у 3 /1,58%; *Pr. mirabilis* и *U. urealyticum.* - у 1 больного /0,52%; *M. lacunata* и *M. hominis.* или *U. urealyticum.* по 1 т.е. /0,52% и 0,52%; *A. calcoaceticus* и *U. urealyticum.* - у 5 /2,63%; *C. albicans* и *U. urealyticum.* - у 7 /3,68%.

Ассоциации трихомонад со стафилококками и еще тремя микробными видами были обнаружены только у 6 больных (3,13%).

Таким образом, показано, что при трихомонадных уретритах высеваются микроорганизмы, принадлежащие к разным таксономическим группам.

3. Идентификация стафилококков по стафи-тесту и определение их патогенных свойств.

Из 190 культур стафилококков отобрано 70 коагулазоположительных стафилококков /к.п.с./ и 50 коагулазоотрицательных стафилококков /к.о.с./ для определения их видовой принадлежности по стафи-тесту. Установлено, что из 30 видов стафилококков, которых можно идентифицировать по стафи-тесту, как ассоцианты трихомониазов, обнаружено 8 видов, при 9 неидентифицированных культурах. Стафилококки принадлежали к таким видам: *S. aureus* 57 /47,5%; *S. intermedius* 3 /2,5%; *S. haemolyticus* 6 /5%; *S. epidermidis* 28

/23,5%/; *S. capitis* 6 /5%/; *S. hominis* 4 /3,3%/; *S. warneri* 2 /1,6%/; *S. saprophyticus* 5 /4,1%/.

Результаты изучения признаков патогенности 8 видов стафилококков представлены в таблице 2. Так 30 культур *S. aureus* /52,63%/ обладали альфа, бета, дельта - токсинами и 32 культуры /56,14%/ имели изучаемые нами факторы патогенности. 13 культур /20,31%/ *S. aureus* имели одновременно стафилококсыны и факторы агрессии.

16 культур *S. epidermidis* /57,12%/ обладали тремя стафилококсынами, 14 /50%/ культур обладали факторами агрессии, а 7 /25%/ культур имели одновременно факторы агрессии и стафилококсыны.

Проведенное нами изучение патогенности стафилококков охватило 190 культур. В таблице 3 приведены данные по наличию токсинов и ферментов агрессии у 120 культур *S. aureus*.

Как видно, изученные культуры в (92,50%±2,40) случаев продуцировали плазмокоагулазу. Анаэробная ферментация маннита отмечена в (93,30%±2,28%) случаев. Лецитиназной активностью стафилококки обладали в (79,16%±3,70%) случаев. Стафилококковая нуклеаза обнаружена в (79,16%±3,70%). Стафилококсыны альфа, бета, дельта обнаружены в (95,83%±1,82%), (58,33±4,50%), (95,83%±1,82%), соответственно.

При сопоставлении различных факторов патогенности установлено, что культуры *S. aureus* в (27,51±4,07%) /33 штамма/ обладали всеми факторами патогенности. 76 культур (63,33±4,39%) обладали 5-6 признаками патогенности. Остальные 11 культур (9,16±2,63%) имели 4 признака патогенности.

При анализе и сопоставлении плазмокоагулазных способностей стафилококков и отдельных признаков, обуславливающих патогенность, наблюдалась корреляция с продукцией альфа и дельта - токсинов в (95,83±1,82%). Корреляция с продукцией бета-токсина далеко не пол-

Таблица 2

Признаки патогенности стафилококков, идентифицированных по стафи-тесту (абс. число)

В и д	Коагуляция плазмы		Лецитиназа		Уреаза		ДНК-аза		Альфа токсин		Бета токсин		Дельта токсин		Сбраживание маннита	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
<i>S. aureus</i>	57	0	37	20	57	0	33	24	49	8	34	23	56	1	57	0
<i>S. intermedius</i>	3	0	2	1	3	0	2	1	2	1	2	10	3	0	2	1
<i>S. haemolyticus</i>	4	2	4	2	0	6	3	3	5	1	4	2	5	1	4	2
<i>S. epidermidis</i>	0	28	18	10	28	0	16	12	24	4	18	10	26	2	3	25
<i>S. capitis</i>	0	6	3	3	0	6	3	3	5	1	4	2	5	1	0	6
<i>S. hominis</i>	0	4	2	2	4	0	2	2	3	1	2	2	4	0	0	4
<i>S. warneri</i>	0	2	1	1	2	0	1	1	2	0	1	1	2	0	2	0
<i>S. saprophyticus</i>	0	5	3	2	5	0	3	2	4	1	3	2	4	1	5	0

Признаки патогенности 120 культур *S. aureus*, выделенных от больных трихомонадным уретритом.

Ферменты и токсины агрессии	Положительный результат		
	Абс. количество	%	$\pm m$
Плазмокоагулаза	111	92,50	2,40
Ферментация маннита в анаэробных условиях	112	93,30	2,28
Лецитиназа	95	79,16	3,70
ДНК - аза	95	79,16	3,70
Гемотоксины:			
Альфа	115	95,83	1,82
Бета	70	58,33	4,50
Дельта	115	95,83	1,82

ная: (58,33 \pm 4,50%).

Также наблюдалась корреляция между плазмокоагулазой и ферментацией маннита в анаэробных условиях: (93,30 \pm 2,28%).

Изучение патогенных свойств остальных 70 культур стафилококков (таблица 4) показало, что наиболее активно они продуцировали гемотоксины альфа и дельта (71,42 \pm 5,40) и (91,42 \pm 3,34%), соответственно. Анаэробное расщепление маннита отмечено у (14,20 \pm 4,17%) культур. Плазмокоагулазой обладали (12,85 \pm 3,40%), а лецитиназу продуцировали (42,85 \pm 5,91%) культур. ДНК-азой активностью обладали (35,71 \pm 5,73%) культур.

Сопоставляя различные признаки патогенности в этой группе стафилококков отмечено, что 7 культур (10 \pm 3,5%) обладали всеми факторами патогенности, 21 культура (30 \pm 5,4%) обладали 3 стафилотоксинами. 14 культур (20 \pm 4,7%) имели ферменты агрессии ДНК-азу и лецитиназу.

Наиболее часто определялись гемотоксины. Установить какую-либо закономерность комплекса признаков не удалось, так как у разных штаммов сочетаются различные факторы агрессии.

Таким образом, изучение признаков патогенности 8 видов стафи-

Признаки патогенности 70 культур стафилококков, выделенных от больных трихомонадным уретритом.

Ферменты и токсины агрессии	Положительный результат		
	Абс. количество	%	±m
Плазмокоагулаза	9	12,85	3,40
Ферментация маннита в анаэробных условиях	10	14,20	4,17
Лецитиназа	30	42,85	5,91
ДНК - аза	25	35,71	5,73
Гемотоксины:			
Альфа	50	71,42	5,40
Бета	43	61,42	5,82
Дельта	64	91,42	3,34

лакокков показало, что как коагулазоположительные, так и коагулазоотрицательные стафилакокки обладают разными признаками патогенности и вполне могут принимать активное участие в воспалительном процессе. Безусловно, сложным, дискуссионным и далеким от решения является вопрос, за счет каких факторов коагулазоотрицательные стафилакокки вызывают воспалительные процессы у больного. Однако их присутствие обуславливает необходимость считаться с ними как с потенциальными возбудителями уретритов.

При сравнении лекарственной чувствительности культур коагулазоположительных и коагулазоотрицательных стафилококков установлено, что к некоторым антибиотикам таким, как новобиоцин, цефолексин, рифампицин, чувствительность почти одинакова.

Однако к оксациллину, доксициклину, тетрациклину и эритромицину у коагулазоотрицательных стафилококков чувствительность больше чем у коагулазоположительных; к карбенициллину и гентамицину более чувствительны оказались коагулазоположительные стафилококки.

4. *M. hominis* и *U. urealyticum*.

Другими наиболее часто выделяемыми при трихомонадных уретритах ассоциантами были представители класса Mollicutes *M. hominis* и *U. urealyticum*. Для их выделения исследуемый материал высевали на полужидкую среду с аргинином для *M. hominis* и на среду с мочевиной для обнаружения *U. urealyticum*.

Рост микоплазмы определяли по изменению цвета индикатора в питательной среде. Затем мы высевали на твердые среды, обнаруживали колонии диаметром 50-100 мкм, состоящие из мельчайших коковидных частиц. В оптимальных условиях колонии *U. urealyticum* имеют характерный вид "яичницы - глазуньи", а размер такой же, как мелкие колонии *M. hominis*. В результате обследования 190 больных трихомониазом обнаруживали наличие: у 29 (15,26%) *M. hominis*, а у 98 (51,57%) *U. urealyticum*, совместно *M. hominis* и *U. urealyticum* были выделены у 16 (8,4%) больных. При выделении этих микроорганизмов обращено внимание на возраст больных. Так *U. urealyticum* чаще наблюдалась в возрастной группе 19-25 лет, тогда как *M. hominis* доминировала в более старших возрастных группах. В тех случаях когда регистрировались ассоциации трихомонад и микоплазм при микроскопическом исследовании патологического материала обнаружили деструкцию эпителиальных клеток. Эти патогенные потенции микоплазм связаны, по видимому, с конкурентным уничтожением микоплазмами некоторых веществ, важных для метаболизма клетки-хозяина (прежде всего аргинин, других аминокислот, сахаров и др.), а также с выделением значительных количеств аммиака и перекиси водорода, оказывающих токсическое действие на клетки эпителия урогенитального тракта.

При электронно-микроскопическом исследовании пробы спермы:

инфицированных *M. hominis* мужчин, были видны микоплазмы, тесно связанные с шейной частью сперматозоида.

5. Ультра-структура урогенитальных трихомонад и их взаимодействия с микробами ассоциантами.

Было проведено изучение ультраструктуры трихомонад и их взаимодействия с микробами ассоциантами.

В результате электронно-микроскопического изучения установлено, существование простейшего в трёх формах: грушевидной, амёбовидной и круглой.

Tr. vaginalis грушевидной формы на переднем узком окончании тела имеется углубление, которое продолжается внутрь клетки в виде аксонемы, блефаропласта, парабазального аппарата, пелты. На поверхности на небольшом расстоянии от тела имеются 4 жгутика. От основания каждого блефаропласта тянется коста в виде периодического чередования электронноплотных и электронносветлых полос. Парабазальный аппарат в виде системы микротрубок расположенных в несколько рядов начинается в зоне блефаропластов и простирается внутрь цитоплазмы клетки на некотором расстоянии от ядра. У основания ядра микротрубки парабазального аппарата организованы в виде колпачка. В цитоплазме, которая примыкает к блефаропластам, видны также профили трубочек аксостиль-осевого стержня. Несколько глубже, примерно в конце первой трети тела *Tr. vaginalis*, выявляется ядро овальной формы. Задний конец *Tr. vaginalis* заканчивается шипиком, к которому со стороны цитоплазмы примыкает значительных размеров коста.

Боковые поверхности клеток имеют ундулирующую мембрану, воз-

ле которой всегда находится возвратный жгутик, некоторые клетки могут иметь две ундулирующие мембраны с возвратными жгутиками.

Tr. vaginalis снаружи покрыта перипластом, в котором различаем плазматическую мембрану довольно большой толщины. Поверхностный слой цитоплазмы, примыкающий к перипласту, образует неровности в виде углублений или выступов различной формы вплоть до образования специализированных псевдоподий.

Цитоплазма *Tr. vaginalis* представлена в основном мелкозернистой гиалоплазмой, рибосомами, полисомами, гранулярным эндоплазматическим ретикулумом, агранулярным эндоплазматическим ретикулумом, комплексом Гольджи. Комплекс Гольджи, как правило, в виде стопок цистерн, микротрубочек, пузырьков, первичных лизосом находится на небольшом удалении от ядра. К комплексу Гольджи примыкают различной величины лизосомы, аутофаголизосомы, остаточные тельца, вакуоли. На более удаленном месте от комплекса Гольджи в гиалоплазме находятся округлой формы электронноплотные паракостальные гранулы.

Ядро *Tr. vaginalis* представлено хроматином и ядрышком. Кариотека данной органеллы имеет наружную и внутреннюю ядерные оболочки пронизанные порами.

Tr. vaginalis круглой формы несколько отличается ультраструктурной организацией от таковой грушевидной формы. Это касается электронной плотности цитоплазмы, которая, в данном случае несколько меньше и заполнена значительно большим количеством пищеварительных вакуолей, остаточных телец, аутофаголизосом.

В цитоплазме этих клеток, хотя и выявляются паракостальные гранулы, однако они малых размеров, а некоторые из них подвержены вакуолизации и распаду. Весьма важной характеристикой круглой формы есть наличие в цитоплазме примыкающей к ядру гипертрофиро-

ванного комплекса Гольджи. Ядро у этих форм клеток имеет грушевидную форму, а его хроматин представлен в основном в виде глыбок гетерохроматина. Ядрышко находится ближе к кариотеке.

Круглые формы трихомонад не имеют ундулирующей мембраны и жгутиков.

На поверхности или на очень малом расстоянии от перипласта *Tr. vaginalis* мы наблюдали скопление микроорганизмов различных форм и размеров. Выявлено также взаимодействие микроорганизмов с поверхностью трихомонад. Это явление заключается в взаимодействии оболочки микроорганизмов с перипластом, затем происходит прикрепление этих микробных клеток к поверхности трихомонад, видна инвагинация этих клеток. Эти микроорганизмы в последствии оказываются внутри фагосом трихомонад.

Считают, что основной функцией фагосом является участие во внутриклеточном пищеварении. Однако в наших препаратах были обнаружены неповрежденные микроорганизмы внутри фагосом трихомонад.

В ультратонких срезах культуры *Tr. vaginalis* нами выявлены также клетки амебовидной формы. Основные компоненты тела у них такие же, как и у клеток других форм, которые выше описаны. Особенности клеток амебовидной формы являются многочисленные выступы цитоплазмы (псевдоподии).

Таким образом, нами доказано существование круглых форм трихомонад, а также установлено, что между трихоманадами и сопутствующей микрофлорой существует тесное взаимодействие проявляющееся в персистенции микробных клеток внутри фагосом трихомонад.

ВЫВОДЫ.

1. Сравнительное изучение методов микроскопической диагностики трихомоназа позволило установить, что более эффективными способами обнаружения трихомонад являются окраски по Романовскому-Гимзе и метиловым синим, дающих соответственно 75,78% и 74,21% положительных результатов. Токсическое влияние трихомонад на клетки эпителия уретры /трихомонадный эффект/ может быть использовано как косвенный показатель наличия трихомонад в патологическом материале.

2. При бактериологическом обследовании больных хроническим трихомонадным уретритом установлено постоянное присутствие микробов ассоциантов, принадлежащих к разным таксономическим группам.

3. Стафилококки, являющиеся наиболее частыми ассоциантами, принадлежали к 8 видам: *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. saprophyticus*. Большинство как коагулазоположительных так и коагулазоотрицательных стафилококков обладали патогенными свойствами.

4. Представители класса Mollicutes (*M. hominis*, *U. urealyticum*) выделены соответственно у 15,26% и 57,7% больных. Установлено их взаимодействие с мужскими половыми клетками.

5. На предложенной питательной среде для культивирования трихомонад установлены закономерности роста простейших, в зависимости от окислительно-восстановительного потенциала среды, от количества возбудителя в посевном материале и от длительности срока культивирования.

6. Изучение ультра-тонких срезов трихомонад доказало существование круглых форм простейшего, не имеющих жгутиков и ундулирующей мембраны, а также возможность персистенции микробов-ассоциантов в фагосомах трихомонад.

ТАРЕК МОХАММАД АЛЬ-САНОРИ

Мікрофлора уретри при трихомонадних уретритах
дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата
біологічних наук за спеціальністю 03.00.07 мікробіологія.

Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця

В роботі представлені результати мікробіологічного обстеження 190 хворих трихомонадним уретритом. Проведено аналіз різних методів мікроскопічної діагностики трихомоніазу. Встановлено, що найбільш ефективними є методи фарбування за Романовським-Гімза і метиленовим синім. Також показано, що структурно-морфологічні зміни клітини епітелію - трихомонадний ефект - можна використовувати в якості діагностичного тесту.

Встановлено, що стафілококи, які є найбільш частими асоціантами, належали до 8 видів, більшість яких проявляли патогенні властивості.

Також показано, що із патогенних мікроорганізмів виділяються мікоплазми, *M.hominis* і *U.urealyticum*. Вони викликали деструкцію епітеліальних клітин уrogenітального тракту і взаємодіяли з сперматозоїдами.

Проведений аналіз ультраструктури *Tr.vaginalis* показав, що трихомонади активно взаємодіють з мікробами-асоціантами. Така взаємодія приводить до персистенції цих мікробних клітин всередині фагосом трихомонад, що може обумовити посттрихомонадний уретрит.

SUMMARY

Al-Sanouri T. M. Microflora of urethra with trichomonias urethritis.

The thesis for obtaining a degree of Philosophy Doctor (biological sciences), speciality 03.00.07. - microbiology.

National medical university named after O.O.Bogomolets. Kiev, 1996

Results of microbiological examination of 190 patients with trichomonose urethritis are presented in the Manuscript. The analysis of different methods of microscopic diagnostics was undertaken and Romanovsky-Gimsa and methylene blue stainings were found out to be the most efficient method. Also it was shown that the structural and morphological changes in the epithelial cell could be used as a diagnostic test.

It was discovered that staphylococci which were the most frequent associates belonged to 8 species and the majority of them revealed pathogenic properties.

It was shown that mycoplasma *M.hominis* and *U.urealyticum* isolated from pathogenic microorganisms caused decomposition of the epithelial cells in genitourinary tract and interacted with spermatozoa.

The undertaken analysis of *Tr.vaginalis*' ultrastructure revealed its active interaction with microbes-associates. The interaction led to persistence of these microbic cells in the inner structure of phagosomes.

Ключові слова: трихомоніаз, асоціації, уретрит, стафілококи, мікоплазми, патогенні властивості, ультраструктура трихомонад.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.

1. Петрус В.С., Тарек Аль-Санори. Мікробні асоціації у хворих уретритом /Матеріали Установочного VIII з'їзду українського мікробіологічного товариства. - Одеса, вересень, 1993р. //Мікробіол. журнал. - 1994. -N1. - С.96.

2. Тарек Аль-Санори, Данилейченко В.В. Микрофлора при трихомонадных уретритах //Інфекційні хвороби. Результати науково-дослідної роботи дисертаційних досліджень. - Львів, 1994. - С.52-53.

3. Тарек Мохаммад Аль-Санори. Видовая принадлежность стафилококков, выделенных от больных трихомонадным уретритом //Мікробіол. журнал. - 1995. - N5. - С.63-69.

4. Тарек Мохаммад Аль-Санорі. Роль супутньої мікрофлори при трихомонадных уретритах. // Патогенез і терапія шкірних і венеричних хвороб. - Львів-Хмельницький. - 1996. - N 3. - С.13 - 17.

5. Тарек Мохаммад Аль-Санори. Микробные ассоциации при трихомонадных уретритах. // Микробиол. журн. - 1996. - N 2. - С. 64 - 69.

СВІДОЦТВО ПРО ВИКОНАННЯ ЗАДАЧ НА ТЕМУ ВИСВІДЧЕННЯ

Львівський державний університет імені Івана Франка, Львів, Україна

1. Завдання № 1. Тема: "Вплив температури на швидкість хімічних реакцій".
Виконано: [Ім'я студента]
Дата: [Дата виконання]

2. Завдання № 2. Тема: "Вивчення кінетики хімічних реакцій".
Виконано: [Ім'я студента]
Дата: [Дата виконання]

3. Завдання № 3. Тема: "Вивчення впливу концентрації на швидкість реакції".
Виконано: [Ім'я студента]
Дата: [Дата виконання]

4. Завдання № 4. Тема: "Вивчення впливу каталізатора на швидкість реакції".
Виконано: [Ім'я студента]
Дата: [Дата виконання]

5. Завдання № 5. Тема: "Вивчення впливу тиску на швидкість реакції".
Виконано: [Ім'я студента]
Дата: [Дата виконання]

Поліграфічне оформлення 19.07.96. Формат 60x84/16. Бум. тип. №1.
Печ. офсет. Усл. печ. л. 1,6. Усл. кр.-от. 1,8. Уч.-изд. л. 1,8.
Тираж 100. Зак. 186.

Машинно-офсетна лабораторія Львівського державного університету
ім. І. Франка, 290602, Львів, ул. Університетська, 1.

Ab 35.412
AB 35.412