

**КЫРГЫЗСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ИМЕНИ И. К. АХУНБАЕВА**

На правах рукописи
УДК 618.146-002-06:616.993.1

ДЖУМАБАЕВА САЛТАНАТ МУКАНОВНА



**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ТРИХОМОНАДНОЙ
ИНФЕКЦИИ И МОНИТОРИНГ РЕЗИСТЕНТНОСТИ T.VAGINALIS
К ПРЕПАРАТАМ 5-НИТРОИМИДАЗОЛА**

14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология

03.02.03 – микробиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Адамбеков Д. А.

Бишкек – 2025

СОДЕРЖАНИЕ

СОДЕРЖАНИЕ	2-3
ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ, СИМВОЛОВ, ЕДИНИЦ И ТЕРМИНОВ	4-5
ВВЕДЕНИЕ	6-15
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16-56
1.1 Современные представления о распространенности трихомонадной инфекции	16-24
1.2 Роль <i>T.vaginalis</i> в воспалительных заболеваниях органов мочеполовой системы	24-29
1.3 Состояние иммунной системы у больных трихомониазом	29-41
1.4 Чувствительность и резистентность <i>T.vaginalis</i> к противопротозойным препаратам.....	42-56
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	57-66
2.1 Описание групп наблюдения	57-58
2.2 Лабораторные методы	58-65
2.3 Статистические методы	66-66
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	67-120
3.1 Распространенность инфекций, передаваемых половым путем у РС. Клинико-лабораторная характеристика трихомонадной инфекции у РС	67-78
3.2 Состояние клеточного и гуморального звеньев иммунитета у РС с трихомонадной инфекцией	78-104
3.3 Изучение чувствительности <i>T.vaginalis</i> к препаратам группы 5-нитроимидазола (метронидазол)	104-112

3.4	Определение внутриклеточного содержания метронидазола в лизатах <i>T.vaginalis</i> с помощью ВЭЖХ.....	112-120
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	121-121
	ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	122-122
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	123-147
	ПРИЛОЖЕНИЯ	148-150

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ, СИМВОЛОВ, ЕДИНИЦ И ТЕРМИНОВ

ВЗОМТ – воспалительные заболевания органов малого таза
ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
ВПГ – вирус простого герпеса
ВПЧ – вирус папилломы человека
ВЭБ – вирус Эпштейна Барра
ГГ – генитальный герпес
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ИППП – инфекции, передаваемые половым путем
ИФА – иммуноферментный анализ
КОЕ – колониеобразующие единицы
КС – координационное соединение
МПК – минимальная подавляющая концентрация
МИК – минимальная ингибирующая концентрация
ПИФ – прямая иммунофлуоресценция
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РИФ – реакция иммунофлуоресценции
СКДС – сывороточно-казеиновая дифференциальная среда
РНИФ – реакция непрямой иммунофлуоресценции
РНК – рибонуклеиновая кислота
РПГА – реакция пассивной гемагглютинации
РС – работницы секс-бизнеса
РСК – реакция связывания комплемента
СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита
УГИ – урогенитальная инфекция
УГН – уязвимые группы населения
УГТ – урогенитальный трихомоноз

ФП – фагоцитарный показатель
ФЧ – фагоцитарное число
ЦМВ – цитомегаловирус
ЦНИКВИ – Центральный научно-исследовательский кожно-венерологический институт

ADH – аргининдигидролаза
GPI – гликозил-фосфатидилинозитол
IgA – иммуноглобулин А
IgM – иммуноглобулин М
IgG – иммуноглобулин G
IgE – иммуноглобулин E
LPG – липофосфогликан
MAPK – митоген-активированный протеинкиназный путь
NK – натуральные киллеры
SLPI – растворимый ингибитор лейкоцитарной протеазы

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы диссертации. По данным экспертов Европейского регионального бюро ВОЗ, в настоящее время во всех новых независимых государствах Восточной Европы наблюдается неблагоприятная эпидемиологическая ситуация в отношении инфекций, передаваемых половым путем (ИППП).

Как и прежде, наибольший удельный вес в структуре всех ИППП занимает трихомониаз (24,7%).

Ежегодно в мире урогенитальным трихомониазом (УГТ) заболевают 156 млн. человек, при этом распространенность трихомониаза среди сексуально активных женщин достигает 30-50%. Почти одна треть всех визитов к врачу по поводу инфекционного вульвовагинита обусловлена инфицированием трихомонадами. Заболевание встречается повсеместно и с одинаковой частотой возникает у мужчин и женщин. Важность проблемы состоит в том, что наибольшую опасность представляют посттрихомонадные осложнения. Трихомонадная инфекция может служить причиной не только бесплодия, но и различных патологий беременности, родов, послеродового периода, новорожденного, а также детской смертности.

В Российской Федерации заболеваемость УГТ в последние годы составляет около 200 случаев на 100 тыс. населения [1,2]. Среди женщин, обратившихся к врачу по поводу выделений из влагалища, УГТ диагностируют по данным различных авторов в 18-50%, а иногда и 80 % случаев, у мужчин с негонококковыми уретритами трихомонадные поражения составляют до 20-34,8 % [3,4,5,6].

В Казахстане, начиная с 90-х годов, эпидемиологическая ситуация по ИППП несмотря на улучшение продолжает оставаться неблагоприятной, ее показатели остаются на достаточно высоком уровне, как у взрослого населения, так и у подростков и молодежи. Среди всех инфекционных заболеваний ИППП в Республике Казахстан являются одними из самых распространенных. О

масштабах эпидемии можно судить по тому факту, что ИППП по интенсивным показателям в 4 раза превышает заболеваемость туберкулезом, почти в 2 раза вирусные гепатиты, уступая по частоте случаев лишь гриппу.

В динамике (2017-2018 годы) в Республике Казахстан отмечается снижение заболеваемости УГТ с 38,3 до 33,4 на 100 тыс. населения, соответственно. Самая высокая заболеваемость трихомонадной инфекцией в стране была зарегистрирована в возрастной группе 18-44 лет, как среди мужчин, так и женщин.

По данным Национального статистического комитета Кыргызской Республики пик заболеваемости ИППП находился в 1997 году.

Так, заболеваемость основными (сифилис, гонорея, уrogenитальный трихомониаз) ИППП в 1997 году по Кыргызской Республике составила – 18272 случая (среди лиц мужского пола – 6210 случаев; женского – 12062). Регистрация уrogenитального хламидиоза в КР начата с 2002 года и на 2002 год составила 4398 случаев, в своем большинстве зарегистрированная у лиц женского пола – 3865 случаев против 533 – у лиц мужского пола. Тенденция к медленному снижению заболеваемости ИППП наблюдается лишь с 2005 года, составив – 13555 случаев основных ИППП.

В динамике за последние годы наблюдается дальнейшее снижение заболеваемости основными ИППП и за период 2017-2018 гг. составило – 4012 случаев против 3195 - в 2018 году.

Заболеваемость УГТ в 2017 году составила 1576 (у лиц мужского пола 313 случаев, женского – 1263) случаев, в 2018 году – 1191 (у лиц мужского пола 313 случаев, женского – 878), что значительно ниже показателя 1997 года – 8526 случаев (1074 случая – у лиц мужского пола, 7452 – женского). Во всех исследуемых годах заболеваемость УГТ была выше у лиц женского пола и самая высокая заболеваемость зарегистрирована среди возрастной группы от 20-39 лет.

Затяжное воспаление в мочеполовом тракте при уrogenитальных инфекциях (УГИ) приводит к значительным и часто труднообратимым

изменениям в слизистой оболочке, что негативно сказывается на репродуктивной функции пациентов. Это указывает на не только медицинскую, но и социальную значимость данной проблемы.

Иммунные нарушения у больных инфекциями, передающимися половым путем (ИППП), в виде иммунодефицита давно считаются доказанными, поскольку они были подтверждены в ряде крупных исследований как в России, так и за рубежом. Врачи сходятся во мнении, что у пациентов с УГИ наблюдается нарушение всех звеньев иммунной системы, характеризующееся замедлением иммунных реакций и доминированием патологического иммунного ответа над нормальными защитными функциями организма.

Тем не менее, многие аспекты иммунопатологии при УГИ остаются не до конца изученными. В частности, среди исследователей все еще существуют разногласия относительно преобладающих изменений в определенных звеньях иммунной системы.

Метронидазол, относящийся к группе 5-нитроимидазолов, остается основным препаратом для лечения УГИ. Однако его длительное использование в качестве противопротозойного средства с 1959 года привело к появлению устойчивых форм *Trichomonas vaginalis*. В научной литературе описаны более 100 штаммов, устойчивых к метронидазолу в США, и около 20 штаммов – в Европе [7,8].

До сих пор неясны механизмы развития резистентности простейшего к метронидазолу. Согласно мнению некоторых авторов [9,10,11,12], лекарственная устойчивость *T.vaginalis* может быть обусловлена в первую очередь снижением активности пируват-ферродоксин-оксиредуктазы микробной клетки, что приводит к снижению накопления цитотоксических нитрорадикальных ионных интермедиатов. Другие исследователи этого феномена утверждают, что резистентность может быть связана с нарушением транспортных систем клетки, включая феномен выброса, либо с тем, что в состав микробиоценоза половых органов могут входить микроорганизмы,

способные захватывать нитрогруппы и тем самым снижать активность метронидазола и его аналогов [13,7,14,15].

Неудачи в терапии УГТ могут быть вызваны множеством факторов, связанных как с особенностями организма пациента, так и с микроорганизмами. Большинство специалистов отмечают, что основные причины неэффективного лечения включают низкую приверженность пациентов к терапии и повторное заражение, хотя в ряде исследований акцентируется внимание на устойчивости *Trichomonas vaginalis* к метронидазолу. Другие возможные причины неудач в лечении включают недостаточное всасывание препарата в желудочно-кишечном тракте, слабую доставку лекарства в урогенитальные органы, инактивацию его влагалищной микрофлорой, а также низкий уровень цинка в крови.

Эти факты стали основой для проведения данного исследования.

Связь темы диссертации с приоритетными научными направлениями, крупными научными программами (проектами), основными научно-исследовательскими работами, проводимыми образовательными и научными учреждениями. Исследование проведено в рамках проекта Глобального Фонда по борьбе с ВИЧ/СПИД/ИППП, туберкулезом и малярией (2004 - 2016 гг), проектами, финансируемыми USAID «Профилактика ИППП и ВИЧ среди уязвимых групп РС и МСМ» с 01.01.2016 по 01.12.2017 гг. и научно-технического проекта «Разработка новых противоинфекционных препаратов» с 2014-2023 гг.

Цель и задачи исследования.

Изучить эффективность защитных факторов макроорганизма при трихомонадной инфекции у женщин из группы риска и особенности лекарственной устойчивости *T.vaginalis* к препаратам из группы 5-нитроимидазола, для совершенствования диагностики и лечения.

Задачи исследования:

1. Изучить ассоциативные взаимоотношения *T.vaginalis* с условно-патогенными микроорганизмами.

2. Изучить защитные факторы макроорганизма при инфекциях, вызванных *T.vaginalis*.

3. Провести мониторинг распространенности резистентных штаммов *T.vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазола и изучить эффект совместного действия препаратов 5-НИ и КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) на резистентные штаммы *T.vaginalis* методом *Checkerboard* шахматной доски.

Научная новизна полученных результатов.

На основании данных микробиологического анализа у РС с трихомонадной инфекцией выявлены качественные изменения вагинального биотопа, свидетельствующие о глубоких нарушениях взаимоотношений между разными видами микроорганизмов. Показано, что хроническое течение заболевания чаще, чем подострое протекает как смешанная инвазия, с микробными ассоциациями из 3-х и более возбудителей ИППП.

Установлены неблагоприятные изменения практически всех гуморальных факторов и показателей фагоцитарной активности нейтрофилов у РС с трихомонадной инфекцией, более выраженные при остром течении заболевания. Выявленные изменения характеризовались дисбалансом гуморального иммунитета и нарушением средних значений показателей фагоцитарной активности нейтрофилов.

Установлена зависимость частоты обнаружения метронидазолустойчивых штаммов *T.vaginalis* от особенностей клинического течения трихомонадной инфекции, структуры микробиоценоза. Метронидазолустойчивые штаммы *T.vaginalis* встречаются чаще у РС с хроническим течением, чем у РС с подострым трихомониазом. Метронидазолустойчивые штаммы *T.vaginalis* чаще обнаруживаются у РС с трихомонадной инфекцией, протекающей как смешанная инвазия.

Метронидазолустойчивые штаммы *T.vaginalis* встречаются чаще у женщин с хроническим течением заболевания, чем с подострым и чаще обнаруживаются у женщин со смешанными инвазиями. Данные по

определению степени чувствительности *T.vaginalis* к метронидазолу могли бы способствовать оптимизации мер мониторинга по предотвращению распространения резистентных штаммов *T.vaginalis*.

Понижение МИК метронидазола наблюдается у 26 (65,0%) штаммов *T.vaginalis* к метронидазолу до концентрации 500 мкг/мл и у 12 (30,0%) штаммов *T.vaginalis* до 250 мкг/мл. У 5% штаммов трихомонад снижается МИК метронидазола до 125 мкг/мл.

В результате совместного тестирования КС и метронидазола не было выявлено антагонистического или нейтрального взаимодействия. Значение МИК метронидазола у устойчивых штаммов *T.vaginalis* понизилась в четыре раза.

Хроматографию можно описать как процесс массопереноса с участием адсорбции. ВЭЖХ использует насосы для пропускания жидкости под давлением и смеси образцов через колонку, заполненную адсорбентом, что приводит к разделению компонентов образца. Результат ВЭЖХ показал внутриклеточное наличие метронидазола даже в самых низких разведениях (0,06 мкг/мл- 0,07 мг/мл). Данный эксперимент свидетельствует, что устойчивость некоторых выделенных трихомонад к метронидазолу связана не с плохой проницаемостью клеточной оболочки трофозоида и с не выбросом препарата из клетки, а со снижением образования комплексов с ДНК, с нарушением образования свободных радикалов и снижением концентрации цитотоксических продуктов метаболизма, т.е устойчивость к механизму действия препарата связана с ферментными нарушениями.

Эффект потенцирования антибактериальной активности КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетрайодида калия) и метронидазола, не способного в обычных условиях проникать через наружную мембрану *T.vaginalis* к внутриклеточным мишеням, заслуживает более детального изучения в отношении возбудителей инфекций, передающихся половым путем с множественной резистентностью.

Вероятно, сочетанное использование КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетрайодида калия) и метронидазола, позволит не

только преодолеть резистентность *T.vaginalis*, но и несколько замедлит дальнейшую селекцию резистентных штаммов *T.vaginalis*. Требуется проведение клинических исследований для обоснования эффективности комбинированной терапии с использованием КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) и метранидазола.

Практическая значимость полученных результатов.

Выявленные изменения в иммунном статусе у РС с трихомонадной инфекцией позволят практическому здравоохранению рекомендовать проведение более углубленного лабораторного обследования с изучением иммунной реактивности лиц, страдающих УГТ с целью коррекции выявленных нарушений.

Полученные результаты мониторинга чувствительности и резистентности *T. vaginalis* позволят обосновать необходимость постоянного контроля над распространением резистентных линий указанных штаммов в рамках общегосударственной программы мониторинга резистентности возбудителей инфекционных заболеваний.

Совместное использование КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) и метранидазола, позволит не только преодолеть резистентность *T.vaginalis*, но и несколько замедлит дальнейшую селекцию резистентных штаммов *T.vaginalis*. Требуется проведение клинических исследований для обоснования эффективности комбинированной терапии с использованием КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) и метранидазола.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ),— это метод аналитической химии, используемый для разделения, идентификации и количественного определения каждого компонента в смеси. Результат ВЭЖХ показал внутриклеточное наличие метранидазола даже в самых низких разведениях (0,06 мкг/мл- 0,07 мкг/мл). Данный эксперимент свидетельствует, что устойчивость некоторых выделенных трихомонад к метранидазолу связана не с плохой проницаемостью клеточной оболочки трофозонта и с не выбросом

препарата из клетки, а со снижением образования комплексов с ДНК, с нарушением образования свободных радикалов и снижением концентрации цитотоксических продуктов метаболизма, т.е. устойчивость к механизму действия препарата связана с нарушением ферментных систем клетки.

Результаты исследований внедрены в практическую лабораторную деятельность с целью усовершенствования диагностики лекарственной устойчивости возбудителей ИППП.

Комбинированная терапия с использованием КС и метронидазола резистентных штаммов *T.vaginalis* один из путей при элиминации резистентных возбудителей инфекции.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

Установлена связь структуры микробиоценоза у РС с трихомонадной инфекцией с особенностями клинического течения заболевания. Выявленные нарушения между облигатными микроорганизмами в вагинальном биотопе у РС с трихомонадной инфекцией могут способствовать рецидивированию патологического процесса и ухудшению качества жизни. При хроническом течении чаще встречаются смешанная инвазия, микробные ассоциации из 3-х и более возбудителей ИППП.

Доказаны статистически значимые различия в показателях гуморального иммунитета и фагоцитарной активности нейтрофилов между инфицированными женщинами и контрольной группой. Более выраженные изменения уровней IgG, IgA и фагоцитарной активности нейтрофилов наблюдались при остром течении трихомонадной инфекции. Для хронического течения заболевания более характерными были показатели γ -, β -, α 1-глобулинов и альбуминов.

Метронидазолустойчивые штаммы *T.vaginalis* встречаются чаще у РС с хроническим течением заболевания, чем с подострым и чаще обнаруживаются у РС со смешанными инвазиями. Данные по определению степени чувствительности *T.vaginalis* к метронидазолу будут способствовать оптимизации мер мониторинга по предотвращению распространения

резистентных штаммов *T.vaginalis*. Метронидазолустойчивые штаммы *T.vaginalis* встречаются чаще у женщин с хроническим течением заболевания, чем с подострым и чаще обнаруживаются у женщин со смешанными инвазиями. Данные по определению степени чувствительности *T.vaginalis* к метронидазолу могли бы способствовать оптимизации мер мониторинга по предотвращению распространения резистентных штаммов *T.vaginalis*.

Понижение МИК метронидазола наблюдается у 26 (65,0%) штаммов *T.vaginalis* к метронидазолу до концентрации 500 мкг/мл и у 12 (30,0%) штаммов *T.vaginalis* до 250 мкг/мл. У 5% штаммов трихомонад снижается МИК метронидазола до 125 мкг/мл.

В результате совместного тестирования КС и метронидазола не было выявлено антагонистического или нейтрального взаимодействия. Значение МИК метронидазола у устойчивых штаммов *T.vaginalis* понизилась в четыре раза.

Эффект потенцирования антибактериальной активности КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетрайодида калия) и метронидазола, не способного в обычных условиях проникать через наружную мембрану *T.vaginalis* к внутриклеточным мишеням, заслуживает более детального изучения в отношении возбудителей инфекций, передающихся половым путем с множественной резистентностью.

При количественном определении метронидазола внутриклеточно, выявили наличие метронидазола в самых низких разведениях (0,06 мкг/мл) у трихомонад. Данный эксперимент свидетельствует, что устойчивость некоторых выделенных трихомонад к метронидазолу связана с нарушением фермента пируват-ферродоксин оксиредуктазы на генетическом уровне.

Вероятно, сочетанное использование КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетрайодида калия) и метронидазола, позволит не только преодолеть резистентность *T.vaginalis*, но и несколько замедлит дальнейшую селекцию резистентных штаммов *T.vaginalis*. Требуется проведение клинических исследований для обоснования эффективности

комбинированной терапии с использованием КС (альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодида калия) и метранидазола.

Личный вклад соискателя. Все лабораторные исследования, обработка результатов исследования и написание диссертации выполнены соискателем лично.

Обсуждение результатов диссертации. Результаты исследования и основные положения диссертации доложены на научной конференции молодых ученых «Дни науки КГМА-2016», посвященной 125-летию со дня рождения выдающегося ученого, первого ректора КГМА, профессора Б.Я.Эльберта (г.Бишкек, 2016), на 15 ежегодной конференции молодых ученых-медиков стран СНГ, посвященной памяти профессора Б.У.Джарбусынова (Алматы, 2017). Опубликовано 7 статей, в том числе 1 статья в рецензируемых в РИНЦ журнале, в рекомендованных НАК ПКР КР и Казахстана.

Структура и объем диссертации.

Диссертация состоит из введения, основной части диссертации, включающей 3 главы, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы. Работа изложена на 150 листах компьютерного набора, содержит 15 таблиц, 29 рисунков. Список использованной литературы состоит из 234 наименований, из них отечественных – 110, иностранных – 124.

ГЛАВА 1.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современные представления о распространенности трихомонадной инфекции

Ежегодно в мире, по данным ВОЗ, регистрируют более 333 млн. новых случаев инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), из них на долю мочеполового трихомониаза приходится 180 млн. случаев ежегодно, что свидетельствует о его наибольшей распространённости среди других ИППП во всем мире в последнее десятилетие [17, 18, 19].

УГТ играет ведущую роль в этиологической структуре ИППП, являясь частой причиной хронических воспалительных заболеваний мочеполовой сферы человека [20, 21].

Трихомониаз продолжает оставаться актуальной и важной проблемой для врачей многих специальностей – дерматовенерологов, акушеров-гинекологов, урологов, что обуславливается как большой распространенностью, так и значительным количеством тяжелых осложнений. У женщин наличие трихомониаза отрицательно сказывается на беременности, процессе родов, повышается риск получения послеабортных инфекций и инфекций после кесарева сечения, а также возможно развитие рака шейки матки.

По данным эпидемиологических исследований, в Российской Федерации ежегодно на каждые 100 тысяч человек населения фиксируется от 261 до 343 случаев урогенитального трихомониаза, 101 случай сифилиса, 82,3 случая гонореи и 95 случаев хламидиоза. [22, 23].

В Республике Казахстан по данным статистической отчетности в 2015 году на 100 тыс. населения зарегистрировано 227,3 случаев ИППП, из них 54,2 – трихомониаза, 28,4 – сифилиса, 23,6 – гонореи и 25,8 случаев хламидиоза.

Заболевание вызывается простейшими рода *Trichomonas*. В настоящее время известно более 50 разных видов трихомонад. В норме в ротовой полости

обитают *T.tenax*, в толстой кишке – *T.hominis*. Влагалищные паразиты - *Trichomonas vaginalis*. Таким образом, из трех разновидностей трихомонад, обнаруженных у человека, болезнетворными являются только *T.vaginalis*. При смешанной инфекции трихомонады очень часто сопутствуют развитию других ИППП, таких как хламидиоз, гарднереллез, уреаплазмоз и др. и препятствуют полноценному избавлению от микроорганизмов, которые вызывают все перечисленные заболевания.

Таким образом, на сегодняшний день урогенитальный трихомониаз (УГТ) является широко распространенным инфекционным заболеванием мочеполовой системы. По данным Всемирной организации здравоохранения, трихомониазом заражено около 10% населения, а в некоторых социальных группах заболеваемость достигает 40%. Лица, являющиеся носителями скрытых и бессимптомных форм инфекции, играют ключевую роль в ее распространении. В связи с этим лечение трихомониаза необходимо проводить у партнеров пациента, даже если у них отсутствуют клинические проявления заболевания.

Среди девочек и подростков, страдающих неспецифическими вульвовагинитами, у 55,8% выявлены хламидийные урогенитальные инфекции, у 10,2% – уреаплазменные, у 7,3% – гонококковые, у 5,8% – гарднереллезные, и у 20,6% – трихомонадные инфекции. В 54,4% случаев была обнаружена смешанная инфекция, а у 53,5% диагностированы воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ). По данным В.В. Дубенского и В.П. Кузнецова, у 62,1% пациентов был выявлен урогенитальный хламидиоз, у 24,3% – гонококковая инфекция, у 16,2% – уреаплазменная, у 16% – герпетическая, и у 14,8% – трихомонадная инфекция.

Трихомонадоносительство представляет собой не просто временное носительство простейших, а активный системный инфекционный процесс с ответной реакцией организма на патогенный фактор. Частота носительства *Trichomonas vaginalis* среди женщин, прошедших обследование, варьируется от 10 до 35%, а среди мужчин – от 2 до 41%.

Иммунный ответ на инфицирование *T. vaginalis* у носителей выражен недостаточно, что связано с антигенным сходством трихомонад с некоторыми тканями человеческого организма. Также отмечается увеличение концентрации секреторного IgA в слизи влагалища и шейки матки.

Так, при исследовании микрофлоры уретры у 71 пациента с УТ у 35% больных простатитом наблюдалось сочетание трихомонад с хламидиями, у 17% выявлены только трихомонады. В 16% случаев уретритов обнаружена смешанная трихомонадно-хламидийная инфекция, а в 35% – трихомонадная моноинфекция. Изучение сопутствующей микрофлоры показало наличие условно-патогенных микроорганизмов: у 66% пациентов обнаружен *Staphylococcus epidermidis*, у 40% – *Enterococcus faecalis*, а *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* – у 8% пациентов. Концентрация этих микроорганизмов превышала 10^4 КОЕ/мл, что указывает на их возможную роль в поддержании воспалительного процесса в уретре [30].

Бактериальный вагиноз наблюдается у 20% женщин репродуктивного возраста. Это заболевание развивается вследствие значительного нарушения баланса вагинальной микрофлоры и связано с заменой нормальной флоры, в которой доминируют лактобактерии, на анаэробные микроорганизмы, такие как *Gardnerella vaginalis* и *Mycoplasma hominis*. Кроме гарднерелл, в вагинальном секрете у женщин с бактериальным вагинозом в большом количестве обнаруживаются анаэробные бактерии, такие как бактероиды, пептококки и пептострептококки.

Как показали исследования, *Lactobacillus spp.* являются бактериями-симбионтами, выделяющимися из вагинального биотопа здоровых женщин фертильного возраста в концентрации 10^7 - 10^8 КОЕ/мл.

В связи с этим, основные функции вагинальной флоры заключаются в защите, стимуляции иммунитета, а также, по некоторым данным, противоопухолевой активности бактерий [32, 33].

Механизм защиты объясняется тем, что при разрушении клеток эпителия происходит высвобождение гликогена, который метаболизируется до глюкозы

с помощью ферментативных систем вагинальных эпителиоцитов, либо с участием ферментов различных видов *Lactobacillus spp.* В результате брожения глюкоза превращается в молочную кислоту, накопление которой приводит к снижению рН (3,8-4,2) влагалищной среды, что останавливает рост условно патогенных микроорганизмов (УПМ). Кислая влагалищная среда содержит молочную кислоту в недиссоциированной форме, которая обладает бактерицидными свойствами. Поэтому молочная кислота, проникая через липиды клеточных мембран, способствует отщеплению ионов водорода, повышению внутриклеточного значения рН и, тем самым, вызывает блокирование жизненно-важных функций бактериальной клетки. Доказано, что видовая принадлежность *Lactobacillus spp.* определяет степень интенсивности метаболизма гликогена до молочной кислоты.

Однако, ученые выдвинули гипотезу, что весьма вероятным механизмом причинно-следственной связи для указанных ассоциаций является отсутствие выработки молочной кислоты *Lactobacillus*. O'Hanlon и др. продемонстрировали ингибирование *T. vaginalis* молочной кислотой, что позволило в приведенном исследовании также предположить, что молочная кислота может играть защитную роль против *T.vaginalis* [34]. Предыдущие исследования показали значительную связь между вагинальным микробиомом и приобретением *T.vaginalis*

Основной целью одного из исследований было выявление условно-патогенных микроорганизмов, которые ассоциировались с *T.vaginalis*. Показано, что среди всей условно-патогенной флоры *Candida spp.* (53 %) чаще ассоциировалась с *T.vaginalis*, затем на втором месте была протейная инфекция с 20 % распространенностью, после этого – стрептококковая инфекция с 13 % распространенностью и другие микроорганизмы с 7 % встречаемостью каждый. В целом, четыре основных микроорганизма (*Proteus*, *Strep.*, *Candida spp.* и *Gonococci*), ассоциировались с *T.vaginalis*. [35-39].

В связи с полученными данными, ученые сделали выводы о том, что дрожжевые инфекции являются распространенным типом вагинальных

инфекций, и они особенно часто встречаются у беременных женщин, поскольку в этот период у них возникает иммунодефицит [40, 41, 42, 43]. Именно поэтому *Candida spp.* была ведущей инфекцией, которая ассоциировалась с *T.vaginalis* среди всех больных в исследовании. Виды *Proteus*, а также другие микроорганизмы, такие как *Klebsiella spp.*, *E. coli* и др. являются серьезными инфекциями у людей и наиболее часто встречаются в мочевыводящих путях [44, 45, 46, 47, 48].

Выявленная статистически значимая корреляция между *T.vaginalis* и гонококковой инфекцией показывает тесную связь между этими двумя инфекциями. Тот факт, что один из двух положительных случаев гонококков, обнаруженных среди 99 участников, был одним из 20 положительных случаев у пациентов с *T.vaginalis*, указывает на то, что действительно существует сильная корреляция между *T.vaginalis* и инфекцией, вызванной гонококками. Более того, существует высокая вероятность того, что указанные инфекции будут иметь ассоциации, поскольку они обе являются инфекциями, передаваемыми половым путем [49, 50, 51].

Говоря об ассоциативных связях *Trichomonas vaginalis* с условно-патогенными микроорганизмами, следует учитывать, что полимикробные ассоциации урогенитальных инфекций в более чем 50% случаев протекают бессимптомно или с незначительными симптомами, скрыто. Резервирующая роль трихомонад во взаимодействии с другими инфекциями, передающимися половым путем (ИППП), способствует формированию патогенных микробиоценозов урогенитального тракта, что обеспечивает персистенцию различных микроорганизмов в организме человека. По данным некоторых исследователей, урогенитальный трихомониаз как моноинфекция встречается лишь у 10,5% больных, тогда как смешанные формы с другими микроорганизмами выявляются у 89,5% пациентов. Трихомонады часто ассоциируются с микоплазмами (47,3%), гонококками (29,1%), гарднереллами (31,4%), уреоплазмами (20,9%), хламидиями (18,2%) и грибковыми инфекциями (15,7%).

Наиболее часто в микробиоценозе с вагинальными трихомонадами встречаются микоплазмы (66,3%), среди которых преобладает *Ureaplasma urealyticum* (53,9%). Грамотрицательные внутриклеточные микроорганизмы (хламидии, микоплазмы и уреаплазмы) часто сочетаются с основными возбудителями бактериального вагиноза, такими как простейшие *Trichomonas vaginalis* и условно-патогенные анаэробы *Gardnerella vaginalis*, а также с хроническими латентными и рецидивирующими вирусными инфекциями, такими как вирусы простого герпеса 1 и 2 типа (ВПГ), цитомегаловирус (ЦМВ) и вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ).

У практически здоровых людей отсутствовали маркеры специфических половых инфекций, условно-патогенная микрофлора присутствовала в виде единичных колоний (до 10^3 КОЕ/см³), фекальные микроорганизмы (энтерококки и энтеробактерии) не обнаруживались, а количество условно-патогенной микрофлоры в выделениях урогенитального тракта у женщин было минимальным.

Стоит отметить, что полиморфизм патогенных простейших, бактерий и вирусов, в сочетании с условно-патогенной микрофлорой, ведет к развитию полирезистентности и замедленному ответу на лекарственные препараты. Кроме того, ассоциативный симбиоз урогенитальных инфекций приводит к слабовыраженному или бессимптомному течению заболевания на фоне ослабления иммунной защиты организма, что вызывает значительные морфофункциональные изменения, особенно в репродуктивной системе.

Инфекции, передающиеся половым путем (ИППП), особенно при сочетании простейших (трихомонады и гарднереллы) с другими специфическими микроорганизмами (хламидии, уреаплазмы, микоплазмы) и вирусами (герпес, цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр), приводят к наиболее серьезным и распространенным осложнениям у женщин, включая экскреторно-токсическое бесплодие, которое наблюдается в 40% случаев.

Таким образом, характерными чертами клинического проявления ассоциированных ИППП являются длительное течение с маловыраженными

или отсутствующими симптомами, что способствует поддержанию воспалительного процесса, а также наличие остаточных эффектов и осложнений [52, 53, 54, 55, 56].

Все перечисленные выше особенности ИППП, обуславливают необходимость их более детального изучения для выявления причин возникновения указанной резистентности к известным на сегодняшний день лекарственным препаратам, а также для разработки более эффективных терапевтических подходов для этих заболеваний [57].

В связи с вышеизложенным, проблема штаммов *T. vaginalis*, устойчивых к лекарственным препаратам, приобретает особую актуальность, а также важность в клиническом и эпидемиологическом контексте. Однако исследований по данной теме пока недостаточно, и результаты зачастую противоречивы. Прогресс в изучении этой проблемы ограничивается отсутствием доступных и широко применяемых методов для определения чувствительности *T. vaginalis* к антипротозойным препаратам.

Урогенитальный трихомониаз представляет собой многоочаговую инфекцию, часто смешанную протозойно-бактериальную или протозойно-вирусную, что требует учета этиологии и сопутствующей микрофлоры. Трихомонады урогенитального тракта локализуются в тех же местах, что и гонококки, но, в отличие от них, чаще проявляют себя как тканевые паразиты благодаря наличию протеаз. Фибропектины способствуют прикреплению трихомонад к эпителиальным клеткам, а антитрипсин на их поверхности защищает от разрушения в местах инокуляции. Вирулентный фактор, связанный с β -гемолитической активностью, помогает трихомонадам преодолевать защитные механизмы организма. Продукция гиалуронидазы (фактора проникновения) подчеркивает их инвазивные свойства, что вызывает у пациентов эрозивно-язвенные поражения наружных половых органов, инфильтраты в подслизистом слое и метаплазию эпителия.

Мочеполовой трихомониаз может протекать как в клинически выраженной форме (острой, подострой, хронической), так и бессимптомно, что

связано с феноменом трихомонадоносительства. Трихомонады активно размножаются в половых путях женщин, чаще всего у тех, кто уже имел половой контакт, но также возможно заражение девочек от инфицированных родителей или при рождении от больной матери. У женщин трихомониаз поражает большие железы преддверия, влагалище, придатки яичников, а трихомонады могут быть обнаружены в секрете матки, маточных трубах и даже околоплодной жидкости. У мужчин трихомониаз поражает уретру, семенные пузырьки, предстательную железу, бульбоуретральные железы, мочевого пузырь и почечные лоханки.

Выраженность клинических проявлений при любом диагнозе зависит от формы инфекции, а потеря специфичности симптомов и цикличность течения связаны с высокой частотой смешанных инфекций. Согласно различным данным, трихомониаз как моноинфекция встречается только в 3-13% случаев [60, 61].

Изучение взаимодействия трихомонад с вирусами показало, что трихомонады могут быть переносчиками вирусов: при сохранении нейтрального рН среды культивирования жизнеспособные вирусы простого герпеса (ВПГ) сохранялись в трихомонадах 6 дней, а реовирусы 1, 2 типов - 9 дней. Сочетание вируса папилломы человека (ВПЧ) и ЦМВ может способствовать развитию диспластических изменений органов при УГТ в связи с раздражающим действием генома ЦМВ в эпителиальных клетках (возможна пожизненная персистенция и реактивация ЦМВ).

Смешанные инфекции у мужчин встречаются в 70 %, а у женщин в 90 % общего числа больных воспалительными заболеваниями УГТ [62]. Имеются сообщения о взаимостимулирующем действии смешанной трихомонадно-уреаплазменной, гонорейно-уреаплазменной инфекций. В связи с этим при воспалительных процессах органов, УГТ могут одновременно находиться ассоциированные инфекции, которые усиливают патогенные свойства друг друга [63, 64].

Смешанная инфекция является качественно новой формой инфекции, а не суммарной составляющей ее моноинфекций, что зависит от количественного соотношения патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, от взаимоотношений между отдельными патогенами и от активации некоторых из них в присутствии других. При смешанных инфекциях одни возбудители могут создавать благоприятные условия для проникновения, персистенции и размножения других микроорганизмов [65, 66]. Так, известна связь между гонококковой инфекцией и инфицированностью микоплазмой (уреаплазмой), показано синергическое действие уреаплазм и гарднерелл у беременных при гипертонии. Следует отметить, что ответные иммунные реакции организма на смешанную инфекцию менее интенсивны, чем на бактериальную моноинфекцию.

Успехи в профилактике и лечении урогенитальной, как правило, смешанной вирусно-бактериальной инфекции непосредственно зависят от совершенства используемых методов диагностики, которые применяются не менее 2 раз при работе с пациентом – при выделении и идентификации возбудителей, и при определении степени излеченности. У 27 % больных паразитоценоз был представлен тремя, у 5,2 %-четырьмя возбудителями. Причем, чаще отмечалось сочетание хламидий с гарднереллами и грибами рода *Candida*. Полученные данные обосновывают необходимость тщательного бактериологического обследования больных с ИППП с целью выявления сочетаний патогенных агентов, а также углубленного изучения патогенеза смешанных инфекций урогенитального тракта, что позволит проводить дифференцированную комплексную терапию [67, 68, 69].

В свете представленных данных обзора трихомониаз имеет важное медицинское, социальное и экономическое значение не только из-за высокой распространенности инфекции, но и из-за доказанной роли *T.vaginalis* как кофактора ВИЧ-инфекции и рака шейки матки [70].

1.2 Роль *T.vaginalis* в воспалительных заболеваниях органов мочеполовой системы

Воспалительные заболевания мочеполовых органов, как у мужчин, так и у женщин, вызванные *Trichomonas vaginalis*, в настоящее время являются актуальной медико-социальной проблемой. Это связано с их широкой распространенностью, склонностью к хроническому течению и частым рецидивам.

Проникая в уретру, *T. vaginalis* распространяется по слизистой оболочке, покрытой биопленкой, которая включает различные микроорганизмы (сапрофитные, условно-патогенные и патогенные). Поскольку трихомонада является довольно крупным микроорганизмом, она способна поглощать более мелкие микроорганизмы, включая возбудителей инфекций, передающихся половым путем (ИППП), и неспецифическую микрофлору, что приводит к их сохранению внутри трихомонады.

По этой причине хронический урогенитальный трихомониаз чаще всего представляет собой смешанную протозойно-бактериальную инфекцию. Установлено, что смешанные инфекции протекают более агрессивно, характеризуясь вялотекущим характером и устойчивостью к стандартной терапии. Одной из причин усиления агрессивности смешанных инфекций является частая смена половых партнеров, что ведет к обмену полимикробными комплексами и изменению состава микрофлоры.

У пациентов с УГТ трихомонады и полимикробные ассоциации, входящие в микробиоту уретры, взаимно влияют друг на друга, вызывая изменения в урогенитальном тракте, которые до конца еще не изучены. Нелеченый или неполностью вылеченный уретрит в конечном итоге может привести к воспалению предстательной железы, поскольку выводные протоки акцинусов простаты становятся входными воротами для инфекции [71, 72, 73]. Известно, что у 10-94% пациентов с простатитом выявляются урогенитальные трихомонады, а у 47-96% — неспецифическая микрофлора. Поэтому важным аспектом лечения уретропростатитов является не только очищение

урогенитального тракта от *T. vaginalis* и других возбудителей ИППП, но и восстановление микрофлоры уретры. [74,75,76]

Исследования, проведенные на беременных женщинах, показали, что среди женщин с высоким уровнем акушерско-гинекологической патологии, инфекционный риск по УГТ был значительным, и распространенность *T. vaginalis* среди них составила 55%. В 90% случаев трихомониаз у беременных рассматривался как хроническое заболевание, при этом только у трети пациенток оно протекало в форме моноинфекции, а у большинства (65%) была выявлена сопутствующая уrogenитальная инфекция, включая грибковую (40%), уреapлазменную (30%), хламидийную (15%), микоплазменную (7%), условно-патогенную (14%) и сифилитическую (2%).[77,78,79]. Бессимптомное течение трихомонадной инфекции наблюдалось у одной трети беременных [80,81,82].

По данным Васильева М. М. (1990), *T. vaginalis* может вызывать язвы и эрозии на коже головки полового члена у мужчин и на слизистой оболочке наружных половых органов у женщин, что требует проведения дифференциальной диагностики с заболеваниями, имеющими схожие клинические проявления, такими как сифилис и генитальный герпес [84, 85, 86, 87].

Исследования Межевитиновой Е. А. с соавторами и Тихомирова А. Л. с соавт. показали, что у женщин наиболее часто встречаются трихомонадные эндоцервициты (81%), вульвовагиниты (62%) и реже – уретриты (18%), а также воспаление ампулы прямой кишки. Изолированное поражение отдельных участков мочеполовой системы наблюдается крайне редко. У женщин трихомониаз зачастую проявляется в виде паразитоносительства или протекает в хронической форме.[88,89,90]

Инфицирование трихомонадами у беременных сопровождается предрасположенностью к повреждениям плаценты, преждевременным родам и невынашиванию беременности. Трихомонадная инвазия может способствовать развитию опухолей шейки матки, воспалительным заболеваниям органов малого таза (ВЗОМТ) и бесплодию. Кроме того, как и другие инфекции,

передающиеся половым путем, трихомониаз увеличивает риск заражения ВИЧ, поскольку в очагах воспаления наблюдается накопление Т-лимфоцитов, чувствительных к ВИЧ [91, 92, 93, 94].

При экспериментальном заражении штаммами *T.vaginalis* лабораторных животных показано, что трихомонадная инфекция, однажды возникнув, сохраняется в течение длительного времени у самок лабораторных животных, у самцов лишь в течение короткого времени [95, 96, 97].

В соответствии с тяжестью инфекции, трихомониаз, может быть классифицирован как острый, хронический или бессимптомный.

При острой стадии заболевания клиническая картина проявляется в виде диффузных вульвитов из-за обильных выделений из половых путей, как правило, пенистого, слизисто-гнойного характера желтого или зеленого цвета [97]. Небольшие точечные геморрагические пятна могут обнаруживаться на слизистых оболочках влагалища и шейки матки. Эта пестрая клиническая картина напоминает "клубничный" внешний вид и была зарегистрирована только у 2 % пациентов [98]. Данные симптомы являются циклическими, усугубляющимися с приближением менструального цикла.

При хроническом течении инфекции, клинические симптомы слабо выражены, сопровождаются зудом и диспареунией, вагинальный секрет может быть очень скуден в смеси со слизью. Эта форма заболевания является особенно важной с эпидемиологической точки зрения, поскольку эти люди являются основными источниками передачи инфекции [99].

В исследованиях Swygard Н. [100] показано от 25 до 50 % инфицированных трихомониазом женщин являлись бессимптомными носителями инфекции и имели нормальную вагинальную среду, с рН от 3,8 до 4,2 с нормальной микрофлорой влагалища.

Другими осложнениями, связанными с трихомониазом являются аднекситы, сальпингиты, эндометриты, бесплодие, эрозии шейки матки, низкий вес новорожденных, рожденных от матерей, больных трихомониазом [101,

102]. Трихомониаз также является кофактором передачи ВИЧ-инфекции [103, 104].

По данным Krieger et al. [105] из всех случаев негонококкового уретрита у мужчин в 11 % причиной являлись трихомонады. У большинства пациентов продолжительность инфекции составляла около 10 дней или менее. Клиническая симптоматика была представлена скудными выделениями из уретры гнойного характера, дизурией, легким зудом, жжением в уретре сразу после полового акта [106].

Из осложнений, связанных с трихомониазом отмечены негонококковый уретрит, простатит, баланопостит, эпидидимит, болезни мочеиспускательного канала и бесплодие [107, 108, 109]. В большинстве случаев (от 14 до 60 %) трихомониаз среди мужского населения связан с инфицированными женщинами-партнерами [110, 111, 112].

В исследованиях Позняка А.Л. с соавторами [113], посвященных взаимосвязи трихомонадной инвазии и бактериальной инфекции у 288 пациентов с хроническим урогенитальным хламидиозом, было установлено, что *T. vaginalis* чаще всего выявлялась в эякуляте больных (78,2%) и в секрете предстательной железы (35,9%). Реже трихомонады обнаруживались в соскобах из уретры (15,5%) и в центрифугате первой порции мочи (13,2%). В большинстве случаев преобладала хроническая форма трихомониаза, характеризующаяся маловыраженными или отсутствующими симптомами.

При изучении морфологии *T. vaginalis* было отмечено, что у пациентов с трихомонадно-хламидийной смешанной инфекцией преобладали округлые или овальные, неподвижные или малоподвижные формы клеток. В некоторых случаях клетки *T. vaginalis* были лишены жгутиков и ундулирующей мембраны, приобретая амебоидную форму. Эти клетки повторяли форму эпителиальных клеток или имели атипичные формы деления, что значительно усложняло диагностику урогенитального трихомониаза.

Эти данные представляют интерес для дальнейших исследований, поскольку многие аспекты этой проблемы остаются нерешенными, включая

иммунопатологические процессы при урогенитальном трихомониазе. Несмотря на доказанность нарушений иммунного статуса у больных с УГТ, среди исследователей все еще существуют разногласия относительно изменений в различных звеньях иммунной системы.

1.3 Состояние иммунной системы у больных трихомониазом

По мнению большинства исследователей, в последние годы инфекции, передающиеся половым путем (ИППП), редко проявляются как моноинфекции, представляя собой смешанные протозойно-бактериальные процессы. Это определяет топографию поражения и степень выраженности клинических проявлений. Взаимодействие простейших, бактериальных и вирусных агентов с организмом хозяина может сопровождаться не только нарушениями антиоксидантной системы, но и повреждением клеточных и гуморальных факторов как врожденного, так и приобретенного иммунитета. Биологические особенности микроорганизмов, их формы паразитирования и способность уклоняться от иммунологического контроля ведут к развитию персистенции, что сопровождается длительным инфицированием, деструкцией пораженных тканей и нарушением их функций.

Исследования показали, что хронические урогенитальные инфекции ассоциируются с увеличением базовой (спонтанной) ферментативной активности нейтрофильных гранулоцитов, что отражает их перегруженность антигенами, одновременно снижая коэффициент стимуляции хемилюминесценции нейтрофилов, что свидетельствует о снижении резервных возможностей фагоцитов.

Снижение активности мононуклеарно-фагоцитарной системы у пациентов проявлялось уменьшением содержания лизосомального катионного белка в нейтрофилах, повышенной активностью фермента миелопероксидазы и снижением всех показателей фагоцитарной активности (ФП, ФЧ, ПЗФ). В периферической крови наблюдалось увеличение количества незрелых форм В-клеток и макрофагов, не имеющих маркеров Т- или В-клеток, так называемых

"нулевых" клеток или К-клеток. Эти клетки с высокой цитотоксической активностью активировались в результате взаимодействия с Fc-фрагментами антител IgG, которые адсорбировались на клетках-мишенях.[114]

Одновременно наблюдалось увеличение субпопуляции натуральных киллеров (NK-клеток), которые содержат рецепторы к Fc-фрагменту антител и к C3-компоненту комплемента. Однако их цитотоксическая активность происходила в отсутствие сенсibilизированных лимфоцитов, что характерно для реакций клеточного иммунитета. Цитолиз усиливался при наличии на клетках-мишенях C3-компонента или антител, связанных с рецепторами Fc-фрагментов.

В результате исследований были зафиксированы разнонаправленные изменения показателей неспецифического клеточного иммунитета у пациентов с ассоциированными инфекциями.

При этом иммунодефицитные состояния, как врожденные, так и приобретенные, значительно влияют на степень вирулентности в ходе инфекционного процесса, содействуют симбиозу условно-патогенных бактерий и микробов-комменсалов, что способствует хронизации, рецидивам и осложненному течению инфекционно-воспалительных заболеваний. Отсутствие характерных симптомов воспаления, обусловленное сниженной иммунной реактивностью, затрудняет диагностику осложнений, появление очагов скрытой инфекции и контроль над результатами лечения.

Недостаточная изученность клеточных факторов, ответственных за противоинфекционный иммунитет при урогенитальных инфекциях, ассоциированных с условно-патогенной флорой, ограничивает возможность проведения адекватного лечения с учетом особенностей иммунного ответа организма.

Отсутствие классических признаков воспаления и множественные инфекционные осложнения зависят от уровня напряженности иммунных реакций у пациента, особенно при наличии феномена "антигенной мимикрии", когда структура HLA-антигенов схожа с антигенами патогенных

микроорганизмов. Это приводит к «иммунологической толерантности» (нечувствительности) к микробам и вирусам, что осложняет борьбу с инфекцией.

Ассоциации между простейшими и бактериями или вирусами оказывают модулирующее влияние на врожденный иммунитет и воспалительный процесс [115, 116]. Известно, что *T.vaginalis* и *M.hominis* имеют один и тот же путь аргининдигидролазы (ADH), который служит альтернативным источником АТФ посредством очистки от аргинина. Последующее истощение аргинина блокирует выработку оксида азота (NO) макрофагами хозяина, изменяет механизм защиты хозяина и улучшает выживаемость паразита [117]. Кроме того, доказано, что широко изученный симбиотический паттерн *M.hominis*, поддерживаемый *T.vaginalis*, играет ключевую роль в воспалении во время трихомониаза, тем самым усиливая тяжесть заболевания [118, 119, 120]. Было также обнаружено, что *T.vaginalis*, ассоциированный с *M.hominis*, обладает более высокой фагоцитарной активностью, по сравнению с изолятами, не содержащими микоплазмы [121].

Необходимо учитывать, что *T. vaginalis* выделяет растворимые антигены, которые нейтрализуют действие антител и цитотоксических Т-лимфоцитов. Кроме того, вагинальная трихомонада способна адсорбировать белки плазмы хозяина на своей поверхности, что затрудняет иммунной системе организма распознавание трихомонады как инородного агента.[122,123,124]

У пациентов с урогенитальным трихомониазом развивается гиперчувствительность замедленного типа, сопровождаемая антигенной мимикрией и персистенцией возбудителя, что может провоцировать аутоиммунные процессы.

Было установлено, что способность урогенитальных трихомонад захватывать и резервировать различные патогенные и условно-патогенные микроорганизмы снижает антигенные защитные механизмы организма хозяина, ослабляет фагоцитарную реакцию и уменьшает иммунный ответ на инфекционные факторы. Резервирующая роль трихомонад играет ключевую

роль в формировании патогенных микробиоценозов урогенитального тракта, что способствует длительному нахождению различных микроорганизмов в организме человека [125].

Адгезионные белки, цистеиновые протеазы *T.vaginalis* и липофосфогликан (lipophosphoglycan – LPG) играют определенную роль в патогенезе этого заболевания и развитии защитных механизмов против иммунитета человека [126, 127, 128, 129].

Слизистая оболочка влагалища является скудной питательной средой для паразита. Поскольку трихомонада не способна самостоятельно синтезировать некоторые липиды, предполагается, что эритроциты могут служить основным источником жирных кислот, необходимых для её выживания. Помимо липидов, железо также играет важную роль в метаболизме *T. vaginalis* и может поступать за счёт разрушения эритроцитов. Трихомонада фагоцитирует эритроциты, и её гемолитическая активность связана с уровнем вирулентности паразита.

Некоторые уникальные особенности паразита включают в себя: наличие огромного генома (179 441 227 bp); использование гидрогеносом вместо митохондрий, которые, в отличие от митохондрий, не содержат генетического материала; присутствие редко встречающейся смеси ферментов как эукариотического, так и прокариотического класса; наличие уникальной молекулы липофосфогликан гликозил-фосфатидилинозитола (glycosyl-phosphatidylinositol – GPI), которая показала структурные сходства с прокариотическими гликоконъюгатами и играет основную патогенетическую и иммунорегуляторную роль [130, 131, 132]. Кроме того, *T.vaginalis* содержит в себе вирусы и микоплазму, которые могут быть связаны с серьезностью повреждения слизистой оболочки, воспалительными симптомами и последствиями для репродуктивной системы человека [133, 134, 135, 136].

Интересно, что иммуновоспалительные реакции на инфекцию *T.vaginalis* изучались также *in vitro* и в моделях мыши. Эксперименты *in vitro* проводились с цервикальными и вагинальными эпителиальными клетками [137, 138] и

различными типами иммунных клеток. Как провоспалительные, так и иммуносупрессивные ответы наблюдались, как описано ниже.

У женщин были обнаружены как циркулирующие, так и слизистые антитела [139], и было показано, что цистеиновые протеазы *T. vaginalis*, присутствующие в сыворотке и вагинальных выделениях женщин с симптомами заболевания, могут разрушать IgG, IgM и IgA. Кроме того, цистеиновые протеазы *T. vaginalis*, включая CP30, индуцируют апоптоз во влагалищных эпителиальных клетках и в множественных иммунных клетках слизистой оболочки, что охарактеризовано ниже [140].

Так, в культуре лейкоцитов, *T. vaginalis* стимулировали интерлейкины IL-8, лейкотриены, реактивных промежуточных продуктов азота и индуцибельную синтазу оксида азота (inducible nitric oxide synthase – iNOS). Было показано, что *T. vaginalis* производит лейкотриены, способные активировать клетки хозяина.

В Т-клетках, макрофагах и дендритных клетках *T. vaginalis* приводил к апоптозу и продуцированию иммуносупрессивных цитокинов (IL-10, TGF β). Некоторые белки *T. vaginalis* (адгезины и CP30) индуцируют опосредованный каспазой апоптоз и иммуносупрессивные цитокины. *T. vaginalis*-индуцированный апоптоз в нейтрофилах был связан с активацией каспазы-3 и уменьшенной экспрессией антиапоптотической белковой последовательности миелоидной клеточной лейкемии 1 (myeloid cell leukemia sequence 1 – Mcl-1), а в макрофагах она была связана с внеклеточными сигнально-регулируемыми киназами (ERK). Было показано, что инфекция *T. vaginalis* активирует толл-подобные рецепторы (toll-like receptors – TLR)-4, индуцируя неопределенные вещества, высвобождаемых во влагалищных выделениях. На сегодняшний день трихомонадные лиганды для TLR4 не идентифицированы. Сообщалось, что *T. vaginalis* индуцирует экспрессию COX-2 и избыточную регуляцию TLR2, 4 и 9 с помощью p38 митоген-активированный протеинкиназный путь (mitogen-activated protein kinase – MAPK). Принимающие рецепторы у хозяина, опосредующие эти эффекты, остаются неизученными.

В одном из исследований, иммортализованные вагинальные и цервикальные линии эпителиальных клеток человека были созданы и использованы для моделирования эпителиального иммунного ответа и воспалительной реакции. Эта экспериментальная модель дала важную информацию о видовой специфичности инфекции, индуцированной *T.vaginalis*, и молекулярных механизмах взаимодействия хозяина-паразита [141, 142].

LPG у *T.vaginalis* стал предметом обширных исследований с тех пор, как было обнаружено, что LPG является наиболее распространенным гликоконъюгатом на поверхности паразита ($2-3 \times 10^6$ копий/паразит) и отвечает за прикрепление паразита к вагинальным эпителиальным клеткам. Это чистый карболипид (без пептидного компонента), закрепленный на поверхности паразита через инозитол-фосфоцерамид. В отличие от LPG других паразитов (*Leishmania*), трихомонадный LPG не претерпевает структурных изменений во время развития паразита. Наблюдалось соотношение доза-реакция между *T.vaginalis* LPG и прилипанием паразита. LPG запускает избыточную регуляцию видоспецифического воспалительного ответа и селективных хемокинов (IL-8 и макрофагальный воспалительный белок-3 α) цервикальными и вагинальными эпителиальными клетками человека в TLR-независимым способом.

Экзогенный галектин-1 улучшает адгезию к цервикальным эпителиальным клеткам. Сшивающие свойства димерной формы галектин-1 способствуют высокой способности к связыванию *T.vaginalis* [143]. Вагинальные эпителиальные клетки высвобождали галектин-1 и галектин-3 при инфекции *T.vaginalis*, и эти галектины модулировали воспалительные реакции вагинальных эпителиальных клеток [144].

Галектины представляют собой эволюционно консервативное семейство гликопротеинов, которые содержат одну или две углеводно-распознающие домены со сродством к галактозосодержащим олигосахаридам (β -галактозидам). Галектин-3 уникален тем, что он содержит один углеводно-распознающий домен и один связывающий участок домена, не углеводно-распознающий.

Внутриклеточные галектины (такие как галектин-3) регулируют сплайсинг пре-мРНК, переносимый в ядро для регуляции транскрипции. Галектины также могут быть связаны с мембраной или секретироваться, а на поверхности клетки они сшивают гликоконъюгаты, участвующие в клеточной адгезии, пролиферации, апоптозе и множественных иммунных функциях. Сообщалось, что у галектин-1 и галектин-3 есть противостоящие иммунные функции, галектин-1 подавляет и галектин-3 усиливает ответы лейкоцитов на воспалительные стимулы [145].

Несмотря на все серьезные последствия, связанные с *T.vaginalis*, лечение этой инфекции по-прежнему ограничивается одним терапевтическим вариантом – семейством препаратов нитроимидазола. Помимо проблематики, связанной с побочными эффектами, отсутствием лечения сексуальных партнеров, неточной диагностикой, все большее число лекарственной устойчивости в клинических изолятах имеет значение. В связи с этим ученые определили, что воздействие трихомонадной инфекции на здоровье общественности требует раннего и правильного диагноза, быстрого лечения, а также исследований патогенетических механизмов данного заболевания и особенностей иммунного ответа хозяина, участвующих в инфекции.

Иммунные реакции в репродуктивном тракте опосредуются взаимодействием между клетками, анатомическими компонентами и молекулами, которые составляют сложную среду, регулирующую половыми гормонами и специфическим микробиомом. Развитие множества иммунологических механизмов позволило хозяину предотвратить появление или распространение патогенных инфекций.

Эпителиальные клетки и слизь, присутствующие в женском репродуктивном тракте, обеспечивают сильный физический барьер, препятствующий передаче микроорганизмов и особенно ИППП.

Так, семейство муцинов состоит из гликозилированных белков, которые присутствуют и специфически экспрессируются на апикальной поверхности эпителиальных клеток через половые пути. Помимо этих особенностей,

цервикальная слизь может препятствовать передаче многих патогенов из-за низкого pH, поддерживаемого молочной кислотой, продуцируемой комменсальными бактериями, главным образом *Lactobacillus spp.* при нормальном репродуктивном цикле здоровых женщин. Было показано, что увеличение вагинального pH и анаэробных бактерий используется для постановки клинического диагноза инфекций, включая бактериальный вагиноз, вызванный *Gardnerella vaginalis* (pH > 4,5) и паразитом *T. vaginalis* (pH 5,0-6,0) [146, 147, 148, 149, 150].

T. vaginalis обладает от 11 до 23 различными протеазными активностями, большинство из которых являются лизосомальными. Среди паразитирующих простейших клеточные протеазы *T. vaginalis* являются самыми многочисленными. Эти протеазы участвуют как вероятные литические факторы в процессе разрушения эритроцитов. Активность клеточных протеаз также необходима для прикрепления *T. vaginalis* к эпителиальным клеткам и проникновения в глубокие слои тканей. Кроме того, клеточные протеазы *T. vaginalis* способны разрушать иммуноглобулины G и A, которые присутствуют во влагалище.

Цистеиновые протеазы (cysteine proteases – CP) кроме важной роли в виде инвазии слизистой также участвуют в механизмах иммунитета. Было показано, что CP могут разрушать все подклассы иммуноглобулинов хозяина, продуцируемые в ответ на инфекцию, а также белки внеклеточного матрикса и гемоглобин.]

Секреторный ингибитор лейкоцитарной протеазы (secretory leukocyte protease inhibitor – SLPI) является своего рода антимикробным пептидом и играет важную роль в защите женских слизистых оболочек. Цистеин протеазы *T.vaginalis* способны разрушать SLPI и превращать его в нефункциональную субстанцию. Было показано, что уровни SLPI в женском генитальном тракте уменьшаются в зависимости от *T.vaginalis*. Другим интересным преимуществом паразитов является недостаточная система комплемента, наблюдаемая в цервикальной слизи и влагалище. В то же время паразит избегает

комплементарного лизиса в качестве стратегического механизма уклонения от иммунных реакций.

В этом контексте врожденный иммунный ответ опосредуется через экспрессию рецепторов распознавания образов (pattern recognition receptors – PRR), в основном представленных Toll-подобными (Toll-like – TLR) и NOD-подобными (NOD-like – NLR) рецепторами. Эти рецепторы участвуют в профилактике и борьбе с инвазивными патогенами, посредством распознавание незнакомых структур. После стимуляции PRR опосредуют непосредственное уничтожение патогенов, секрецию цитокинов, хемокинов и антимикробных пептидов и дают сигнал об активации адаптивных ответов. Репродуктивный тракт женских половых органов секретирует TLR в вагинальных, эндоцервикальных и эпителиальных клетках. Было продемонстрировано, что в женском тракте стимулируются различные иммунные сигналы, такие как выделение цитокинов IL-6 и IL-8 в эндоцервикальных и эпителиальных клетках, распознавание инвазивных патогенов и модуляция внутриклеточной передачи ядерного фактора- κ B (NF- κ B).

Молекулярная мимикрия определяется как структурное, функциональное или иммунологическое сходство, разделяемое между макромолекулами, обнаруженными на патогенах и тканях-хозяевах. Паразит *T.vaginalis* также покрывает себя белками плазмы хозяина, чтобы не быть распознанным иммунной системой хозяина. Эта адаптация предотвращает распознавание ассоциированных с патогенами молекулярных структур (pathogen-associated molecular patterns – PAMP), и, следовательно, запуск иммунного ответа в виде антител и, в связи с этим, опосредованного компонентами лизиса не произойдет.

Кроме этого, как и многие другие простейшие паразиты, *T.vaginalis* проявляет фенотипическую вариацию в качестве механизма иммунной защиты. Ученые доказали участие двух поверхностных иммуногенов (P230 и P270) в фенотипической вариации паразита.

Тем не менее, по отношению к антимикробным пептидам хорошо установлено, что супероксидные радикалы, оксид азота (NO) и другие реактивные виды азота, высвобождаемые иммунными эффекторными клетками, являются важными цитотоксическими медиаторами против разнообразных микроорганизмов, включая паразитов. Уже было продемонстрировано, что продукты NO, выделяемые макрофагами, являются цитотоксичными для *T.vaginalis*, что указывает на важную роль этих иммунных клеток в механизме защиты хозяина против паразита. Кроме того, стимуляция макрофагов с увеличением *T.vaginalis* вызывает увеличение производства NO и экспрессию индуцибельных уровней NO-синтазы (iNOS). Реактивные азотистые радикалы могут также играть роль в ограничении инфекции *T.vaginalis*, так как уровни этих медиаторов и iNOS-белков различаются в вагинальных промываниях у здоровых женщин, а также у пациентов с выраженными симптомами данного заболевания и теми, у которых заболевание протекает бессимптомно.

В женском репродуктивном тракте экспрессия и высвобождение цитокинов регулируются несколькими факторами, включая стероидные гормоны, окислительно-восстановительную систему и простагландины.

Иммунomodулирующие реакции на инфекцию *T.vaginalis* изучались *in vitro* с цервикальными и вагинальными эпителиальными клеточными линиями в сочетании с различными типами иммунных клеток.

Исследования показали, что галектин-1 подавляет хемокины IL-8, MIP-3a и RANTES, которые облегчают поступление фагоцитов, что позволяет исключить внеклеточный паразитизм или врожденный мостик для адаптивного иммунитета.

Активация хемокинов и провоспалительных цитокинов в иммунных клетках хозяина во время инфекции *T.vaginalis* играет важную роль во врожденном и адаптивном иммунитете.

Нейтрофилы являются основными клетками, поступающими в место инфекции, играющими роль в исходном реактивном ответе на лекарственную терапию, а также опосредующими высвобождение оксида азота при условии стимуляции паразитами. Кроме этого, нейтрофилы являются преобладающими

воспалительными клетками, обнаруженными в вагинальных выделениях пациентов, инфицированных *T.vaginalis*. Было продемонстрировано, что живые трофозоиты могут индуцировать продукцию IL-8 у нейтрофилов и что этот механизм может быть опосредован через сигнальные пути NF- κ B и митоген-активированные протеинкиназы (mitogen-activated protein kinases – MAPK). Это научное открытие позволило ученым объяснить, как нейтрофилы накапливаются или опосредуют начальный реактивный ответ после острой инфекции *T.vaginalis*. Нейтрофильный апоптоз, индуцированный живыми *T.vaginalis*, опосредуется активацией каспазы-3 [155, 156, 157, 158]. Макрофаги в мочеполовом тракте также является критическим компонентом иммунной защиты хозяина против *T.vaginalis*. Трихомонады могут стимулировать макрофаги и DC, приводящие к получению иммуносупрессивных цитокинов, таких как IL-10 и TGF β [159, 160, 161, 162].

Подобно нейтрофилам, в макрофагах каспаза-3 была связана с фосфорилированием p38 MAPK сигнального каскада. Воспалительные реакции, вызванные *T.vaginalis* в макрофагах, также связаны с активацией NF- κ b, зависящей от разрушения I κ b-a [163, 164, 165].

У паразитов возможными физиологическими функциями являются ферменты, участвующие в разрушении нуклеотидов, связанных с защитой от цитолитических эффектов внеклеточного АТФ. Была продемонстрирована биохимическая характеристика полного ферментного каскада, который разрушает АТФ до аденозина при помощи NTPD-аз и экто-50-нуклеотидазы с разрушением аденозина в инозин при помощи аденозиндезаминазы (adenosine deaminase – ADA). Недавно ученые показали, что пять предполагаемых *T.vaginalis* NTPD-аз (*T.vaginalis* NTPDase1e5) экспрессировались штаммами *T.vaginalis* [166, 167, 168, 169, 170].

В литературе указано, что необходимо поощрять дальнейшие исследования, направленные на развитие знаний об иммунологических аспектах этого заболевания для того, чтобы добиться сокращения бремени *T.vaginalis* [171, 172, 173, 174].

Следовательно, исследование иммунного статуса у женщин особенно важно для более полного понимания иммунных механизмов при трихомониазе.

Исходя из вышеизложенного, представляется возможным заключить, что изучение трихомонадной инфекции имеет важное значение в общественном здравоохранении, включая серьезные последствия и затраты, связанные с ней. К сожалению, трихомониаз не является заболеванием, подлежащим отчетности, и сообщается об увеличении неудачных попыток в диагностике и лечении *T.vaginalis*.

В этой связи возрастает роль лабораторной диагностики трихомонадной инфекции, поскольку существующие статистические данные не отображают истинное распространение этой инфекции в общей популяции, т.к. данное заболевание протекает бессимптомно у 1/3 женщин и большинства мужчин. Важность распространения трихомонадной инфекции для общественного здравоохранения подчеркивается и тем фактом, что заболевание превалирует у женщин репродуктивного возраста, сопровождаясь серьезными неблагоприятными последствиями для репродуктивной системы, распространение этой инфекции, в последние годы растет и у подростков [175].

Одной из важнейших задач является исследование механизмов формирования устойчивости *T. vaginalis* к существующим противопротоzoйным препаратам. Многие авторы считают, что неэффективность терапии урогенитального трихомониаза может быть связана с рядом факторов, как со стороны макроорганизма, так и микроорганизма [176,177,178].

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ, или HPLC) — это метод аналитической химии, который используется для разделения, идентификации и количественного анализа каждого компонента в смеси. Этот метод основан на применении насосов для подачи жидкого растворителя под давлением, который содержит смесь образцов, через колонку, заполненную твердым адсорбентом. Каждый компонент смеси взаимодействует с адсорбентом по-разному, что приводит к различной скорости их прохождения через колонку и, следовательно, к их разделению по мере выхода.

Хроматографию можно описать как процесс массопереноса с участием адсорбции. ВЭЖХ использует насосы для пропускания под давлением жидкости и смеси образцов через колонку с адсорбирующим материалом, что обеспечивает разделение компонентов смеси. Адсорбент, заполняющий колонку, представляет собой гранулированный материал из твердых частиц (например, кремнезем или полимеры) размером 2–50 мкм. Компоненты смеси разделяются в зависимости от степени их взаимодействия с частицами адсорбента. Жидкость под давлением, называемая «подвижной фазой», обычно представляет собой смесь растворителей (например, воды, ацетонитрила или метанола). Состав и температура подвижной фазы играют ключевую роль в процессе разделения, влияя на взаимодействия между компонентами образца и адсорбентом, такие как гидрофобные, диполь-дипольные или ионные взаимодействия, либо их комбинации.

Прибор для ВЭЖХ обычно включает в себя такие элементы, как дегазатор, пробоотборник, насосы и детектор. Пробоотборник вводит смесь образцов в поток подвижной фазы, которая доставляет их в колонку. Насосы регулируют поток и состав подвижной фазы, проходящей через колонку. Детектор генерирует сигнал, пропорциональный количеству компонентов, выходящих из колонки, что позволяет проводить количественное определение. Управление прибором ВЭЖХ и обработка данных выполняются с помощью микропроцессора и специализированного программного обеспечения. В некоторых моделях насосов ВЭЖХ используются градиентные схемы для изменения соотношения растворителей в подвижной фазе. Широко применяются различные типы детекторов, такие как УФ/Вис, фотодиодные матрицы (PDA) или масс-спектрометрические детекторы. Многие приборы также оснащены колонной печью для поддержания стабильной температуры во время разделения.

С помощью ВЭЖХ можно определить внутриклеточное содержание лекарственных препаратов.

1.4 Чувствительность и резистентность *T.vaginalis* к противопротозойным препаратам

Лечение мочеполового трихомониаза остается одной из актуальных задач для врачей во многих странах мира. Вопросы терапии урогенитального трихомониаза продолжают привлекать внимание специалистов из-за его широкой распространенности, высокого риска заражения при незащищенных половых контактах, склонности инфекции к хронизации, возможности рецидивов и высокой вероятности осложнений, связанных с репродуктивной системой.

Классическое лечение трихомониаза заключается в использовании препаратов, производных 5-нитроимидазолов (5-НИМЗ), которые являются единственной группой лекарств, эффективной против *T. vaginalis* и обладающей высокой активностью в отношении простейших. Антипротозойное действие этих препаратов было установлено в 1956 году. В 1960 году метронидазол был впервые применен для лечения трихомонадной инфекции. В последующие годы были разработаны аналоги метронидазола и новые препараты этой группы, отличающиеся высокой активностью против простейших и анаэробных бактерий.[179,180,181]

Эти препараты обладают быстрым бактерицидным эффектом: минимальные бактерицидные концентрации для большинства анаэробов обычно равны или превышают минимальные ингибирующие концентрации в 2-4 раза. Также отмечен продолжительный постантибиотический эффект в отношении анаэробов и простейших.

По данным Американского центра по контролю и профилактике заболеваний (CDC), метронидазол считается высокоэффективным средством против трихомонад, назначаемым в дозе 2 грамма однократно или по 500 мг дважды в день в течение семи дней.

Механизм действия метронидазола заключается в нарушении структуры ДНК чувствительных микроорганизмов и стимуляции выработки интерферона. Действие 5-НИМЗ на *T. vaginalis* проявляется в анаэробной среде, как в

присутствии трихомонад, так и бактерий (например, при бактериальном вагинозе), благодаря их способности проникать через клеточную стенку возбудителя.

В последние годы актуальной стала еще одна группа препаратов — 5-нитрофураны (5-НИТФ), такие как нифуратель. Нитрофураны применяются в качестве монотерапии, если лечение 5-нитроимидазолами невозможно, например, при наличии гиперчувствительности.

Однако длительное использование метронидазола с 1959 года для лечения урогенитального трихомониаза привело к появлению устойчивых штаммов *T. vaginalis*, особенно в последние десятилетия. Хотя первые случаи устойчивости *T. vaginalis* к метронидазолу были зарегистрированы еще в 1962 году.

В те же годы S. Squires и J. Fadzean предложили метод серийных разведений метронидазола в жидкой питательной среде для определения чувствительности *T. vaginalis* в анаэробных условиях. Критерием оценки служила минимальная подавляющая концентрация (МПК), которая соответствует наименьшей концентрации препарата, вызывающей полную иммобилизацию всех клеток трихомонад. Этот метод позволил авторам доказать, что все штаммы *T. vaginalis*, изученные ими, были чувствительны к метронидазолу при концентрациях от 0,25 до 1 мкг/мл.[182]

По данным CDC, в 1989 году до 5% всех клинических изолятов *T. vaginalis* проявляли определенную степень устойчивости к метронидазолу. Однако стоит отметить, что уровень резистентности большинства штаммов был сравнительно низким, и лишь некоторые изоляты имели высокую устойчивость.

В 90-х годах XX века появились исследования, подтверждающие возникновение и распространение штаммов *T. vaginalis*, устойчивых к значительно более высоким концентрациям метронидазола: 32 мкг/мл [182], 50 мкг/мл и даже 250 мкг/мл [183]. Тогда же было предложено считать штаммы *T. vaginalis* чувствительными к метронидазолу в анаэробных условиях только в

тех случаях, когда паразитоцидный эффект наблюдается при концентрациях выше 15 мкг/мл [184, 185]. В то время процент устойчивых к метронидазолу штаммов *T. vaginalis*, выделенных у пациентов с трихомонозом, варьировался от 5% [186] до 20% [187].

Эта тенденция сохранилась и в последующие годы. Например, при тестировании 126 клинических штаммов *T. vaginalis*, выделенных в 2004-2005 гг., резистентность к метронидазолу была выявлена у 9,5% изолятов, причем низкий уровень резистентности был у 7,9% штаммов, а средний или высокий – у 1,6% [188]. Были также опубликованы данные о более чем 100 штаммах *T. vaginalis*, резистентных к метронидазолу, в США, и около 20 – в Европе [7, 8].

Несмотря на это, исследований по данной проблеме все еще недостаточно, и результаты многих из них противоречивы. Прогресс в изучении этой проблемы пока сдерживается отсутствием методов, доступных для широкого практического применения, для определения чувствительности *T. vaginalis* к антипротозойным препаратам.

Механизмы резистентности простейших к метронидазолу до сих пор остаются неясными. По мнению некоторых авторов [9, 10, 189, 12], лекарственная устойчивость *T. vaginalis* может быть связана со снижением активности фермента пируват-ферродоксин-оксидоредуктазы в микробной клетке, что уменьшает накопление цитотоксических нитро-радикальных ионных промежуточных продуктов. Другие исследователи считают, что резистентность может быть обусловлена нарушениями транспортных систем клетки, включая механизм выброса веществ, или тем, что микроорганизмы, входящие в состав микробиоценоза половых органов, могут захватывать нитрогруппы, тем самым снижая активность метронидазола и его аналогов [13, 7, 14, 15].

Для изучения механизмов и сроков формирования устойчивости урогенитальной трихомонады к препаратам на основе 5-нитроимидазола, Горчаков Д.А. и соавторы [190] экспериментально исследовали клинические изоляты *T. vaginalis*, полученные от пациентов с низкой приверженностью

лечению и длительно не поддававшихся терапии различными схемами, а также от пациентов с впервые поставленным диагнозом «урогенитальный трихомониаз», которые ранее не получали лечение препаратами 5-НИ. Культивирование изолятов проводилось в проточном ферментере собственной конструкции с периодическими пересевами на среду «Vagicult». Воздействие на культуру паразита осуществлялось препаратами 5-НИ (метронидазол, тинидазол), а также лазерным и СВЧ-излучением. Для изучения роли цитоплазматической мембраны простейших исследовалось изменение её проницаемости под воздействием этих факторов. В ряде экспериментов, при комбинированном воздействии препаратов и электромагнитного излучения на культуру, были получены штаммы, устойчивые к метронидазолу. При последующем культивировании этих штаммов устойчивость достоверно снижалась, что указывало на формирование резистентности по принципу наследуемой модификационной изменчивости, связанной с временной перестройкой цитоплазматической мембраны паразита.

Полученные данные позволили авторам предположить, что цитоплазматическая мембрана простейшего играет ключевую роль в формировании популяции резистентных штаммов *T. vaginalis*. Адаптивные изменения в цитоплазматической мембране представляют собой проявления наследуемой модификационной изменчивости [191, 192].

Устойчивость *T. vaginalis* к метронидазолу тесно связана с общим для всех препаратов класса 5-НИ механизмом действия, который впервые описал D. Edwards в 1970 году. Он полагал, что анаэробные бактерии, являющиеся представителями или ассоциированными с бактериальным вагинозом, «захватывают» нитрорадикалы и нейтрализуют действие метронидазола до того, как он начнет воздействовать на простейшие.

Сами по себе эти препараты не обладают цитотоксическим действием. Их эффект основан на способности простейших восстанавливать нитрогруппу препаратов внутри клеток, что приводит к образованию метаболитов, повреждающих ДНК, обеспечивая тем самым бактерицидное действие.

Активация 5-НИ происходит в гидрогеносомах *Trichomonas vaginalis* (органеллах, аналогичных митохондриям и участвующих в синтезе АТФ), с участием ферментов, таких как пируват-ферредоксин оксидоредуктаза, гидрогеназа и другие [7, 8].

По данным [8, 15], механизм развития устойчивости трихомонад к 5-НИ связан с нарушениями в процессах превращения препаратов в активные метаболиты. В зависимости от задействованного метаболического пути, резистентность делится на аэробную и анаэробную. Хотя точные механизмы устойчивости до конца не выяснены, предполагается, что при аэробной резистентности ингибируется экспрессия гена, ответственного за синтез ферредоксина, а при анаэробной наблюдается снижение активности или отсутствие пируват-ферредоксин оксидоредуктазы и гидрогеназы.

Степень устойчивости «диких» штаммов варьируется в зависимости от уровня нарушения указанных метаболических процессов. Было установлено, что аэробная резистентность может развиваться *in vivo* у пациентов, проходящих лечение стандартными дозами метронидазола в течение короткого времени. Этот тип резистентности также можно получить *in vitro* путем культивирования трихомонад на средах с сублетальными концентрациями препарата [193].

Анаэробная резистентность чаще всего наблюдается у лабораторных штаммов, хотя есть отдельные случаи выявления высокорезистентных изолятов в клинической практике [8]. Этот тип резистентности развивается *in vitro* при культивировании штаммов *T. vaginalis* в условиях постепенного увеличения концентрации метронидазола (от 1 до 100 мг/мл) на протяжении 12-21 месяца [194].

Основной причиной развития устойчивости является снижение активности нитроредуктаз в клетках микроорганизма и уменьшение внутриклеточной биотрансформации препаратов. Это приводит к снижению образования комплексов с ДНК, уменьшению процессов образования свободных радикалов и снижению концентрации цитотоксических

метаболитов. Развитие устойчивости к метронидазолу, как и к другим антимикробным препаратам, может быть связано также с нарушением работы транспортных систем клетки (снижение проницаемости клеточной стенки у анаэробов и микроаэрофилов, а также клеточной оболочки у простейших), включая механизм выброса [195].

Особую актуальность в настоящее время проблема лекарственноустойчивых штаммов *T.vaginalis* приобретает в связи с клиническим и эпидемиологическим значением [84, 196, 197].

Лечение хронического трихомониаза часто представляет значительную сложность из-за циркуляции штаммов трихомонад, устойчивых к большинству антипротозойных препаратов. Это связано, прежде всего, с использованием эмпирических схем лечения (без предварительного определения чувствительности *T. vaginalis* к антипротозойным средствам), недостаточной концентрацией препарата в пораженных тканях, побочными эффектами и ассоциативным характером хронических урогенитальных инфекций [9, 198].

В последние годы было выявлено, что некоторые штаммы *T. vaginalis*, выделенные у пациентов с хроническими формами инфекции, многократно и длительно лечившихся по поводу воспалительных заболеваний урогенитального тракта, демонстрируют устойчивость не только к метронидазолу, но и к другим производным 5-нитроимидазолов и нитрофуранов [199]. При этом в мире по-прежнему отсутствуют стандартные методики лечения трихомониаза, вызванного штаммами *T. vaginalis*, устойчивыми к метронидазолу, хотя сообщения о таких штаммах продолжают появляться [200, 201].

По мнению Бельковой Ю.А. и соавторов [202], неэффективность лечения урогенитального трихомониаза может быть обусловлена множеством факторов, как со стороны макроорганизма, так и микроорганизма. Основными причинами неудач в лечении считаются низкая приверженность пациентов к терапии и повторные заражения, хотя некоторые исследования акцентируют внимание на резистентности *T. vaginalis* к метронидазолу.

Среди других причин неэффективности лечения также называют недостаточную абсорбцию препарата в желудочно-кишечном тракте, плохую доставку лекарства в урогенитальные органы, инактивацию препарата вагинальной микрофлорой и низкий уровень цинка в плазме крови [203].

Ю.Ф. Захаркив с соавторами [204] исследовали чувствительность штаммов *T. vaginalis* к метронидазолу, тинидазолу, макмирору, фуразолидону, а также к более новым препаратам, обладающим противотрихомонадной активностью, таким как наксоджин и орнидазол (тиберал). Паразитоцидное действие препаратов было более выраженным при их сочетании, особенно в комбинациях макмирор + наксоджин и макмирор + орнидазол. При сочетании фуразолидона с тинидазолом, фуразолидона с метронидазолом, макмирора с тинидазолом и макмирора с метронидазолом также наблюдался более выраженный паразитоцидный эффект по сравнению с их отдельным применением.

Таким образом, в последние годы наблюдается повышенное внимание к урогенитальному трихомониазу из-за высокой частоты бессимптомных форм инфекции, что делает её трудно контролируемой [205, 206], а также из-за частых осложнений, трудностей лабораторной диагностики скрытых и хронических форм. Проблема устойчивости к антипротозойным препаратам приобретает глобальные масштабы, особенно с учётом возрастающей резистентности штаммов *T. vaginalis* к препаратам из группы 5-НИ. Для решения этой проблемы необходимы мониторинг резистентности клинических штаммов и назначение препаратов с учётом их чувствительности.

Определение тактики ведения пациентов с трихомониазом, вызванным штаммами, устойчивыми к метронидазолу, остаётся сложной задачей, поскольку 5-НИ по-прежнему являются единственными препаратами с доказанной эффективностью в лечении трихомониаза.

На сегодняшний день ведутся активные поиски новых антибиотиков или альтернативы к антибиотикам. Вот несколько направлений, по которым ведутся исследования против резистентности бактерий к антибиотикам:

1. применение уже одобренных препаратов для лечения неинфекционных болезней;
2. поиск или разработка потенциаторов антибиотиков, которые блокировали бы резистентность бактерий, или повышали бы проницаемость мембран для проникновения антибиотика внутрь клетки;
3. синергетические комбинации антибиотиков;
4. альтернативные пути лечения болезней без антибиотиков.

Потенциаторы могут непосредственно подавлять активность ферментов, отвечающих за устойчивость к антибиотикам, или снижать активность эффлюксных насосов. Кроме того, путем модуляции экспрессии генов антибиотикорезистентности (ARG) потенциаторы могут уменьшать их уровень в клетках и функции устойчивости. Увеличение проницаемости мембраны также может способствовать уничтожению антибиотикоустойчивых бактерий, позволяя антибиотикам достигать порогового уровня [207].

Chawla и соавторы обобщили текущее состояние в области разработки и исследования потенцирующих агентов и их механизмов действия против патогенов, устойчивых к антибиотикам. Соединения, не являющиеся антибиотиками, которые восстанавливают чувствительность патогенов к антибиотикам, называются потенциаторами или адьювантами антибиотиков. Потенциаторы действуют только в сочетании с антибиотиками, усиливая их эффективность против резистентных патогенов. В работе обсуждены различные механизмы действия потенциаторов, включая прямое ингибирование ферментов резистентности или эффлюксных насосов, а также снижение стабильности и передачи векторов, несущих гены устойчивости. Для поиска и разработки новых потенциаторов использовались как природные, так и синтетические соединения. Ингибиторы β -лактамаз являются одними из наиболее часто используемых потенциаторов в клинической практике [208, 209, 210].

Синергический эффект между антибиотиками с различной структурой может значительно усилить антимикробную активность препаратов, которые

при одиночном применении лишь замедляют рост резистентных патогенов. Такая комбинированная терапия может помочь ограничить развитие и распространение устойчивых микроорганизмов.

Синергетическая антибактериальная активность способствует увеличению проницаемости клеточной мембраны за счет нарушения её целостности, что облегчает действие антибиотиков в борьбе с инфекцией [211, 212, 213].

Важно отметить, что Zhang и коллеги сообщили, что характеристики устойчивости к препаратам могут различаться в зависимости от типа патогенов и их географического распределения, что добавляет сложности в проблему. Таким образом, разработка синергетических антибиотиков для борьбы с резистентными патогенами требует многоцентровой региональной или глобальной валидации [214].

Многokратное воздействие сублетальных доз антибиотиков приводит к генетическим изменениям и является ключевым фактором появления резистентности у микроорганизмов. Однако генетические признаки, свидетельствующие об устойчивости к антибиотикам, очень разнородны у разных бактерий. Нет единого признака устойчивости, который был бы универсально консервативным. В то время как резистентные к антибиотикам внутриклеточные патогены обычно возникают из-за спонтанных мутаций в целевых генах, внеклеточные патогены приобретают устойчивость в основном через горизонтальный перенос генов. Таким образом, создание антибиотиков-потенциаторов для подавления функций резистентности требует широкого геномного мониторинга для правильной идентификации целей и разработки специфичных для патогена потенциаторов или противомикробных препаратов [215, 216, 217].

В настоящее время в клинической практике используются лишь несколько потенциаторов, ингибирующих активность β -лактамаз.

ВОЗ признаёт борьбу с устойчивостью к противомикробным препаратам одной из приоритетных проблем современного здравоохранения [218].

Мировое научное сообщество осознало бесперспективность пассивного отношения к процессам возникновения и распространения лекарственной резистентности. При этом речь идет не столько о пропаганде и быстрейшем внедрении в практику новых антибиотиков, сколько о раннем выявлении неблагоприятных тенденций и разработке мер, направленных на «продление жизни» известных препаратов. Работы в этом направлении находятся в центре внимания ряда международных и национальных организаций (ВОЗ, Международного и Европейского обществ химиотерапии, Альянса за разумное использование антибиотиков и др.) [219, 220, 221].

На протяжении длительного времени лекарственные препараты используются в различных комбинациях. Основная цель такого подхода, как правило, заключается в повышении эффективности терапии, а в некоторых случаях — в улучшении её переносимости. В настоящее время существует множество готовых комбинированных лекарственных средств, включая антимикробные препараты [222].

Но в то же время нельзя забывать об обратной стороне медали, т.к. при комбинировании антибиотиков бактерицидного и бактериостатического типа действия может не проявиться синергизм в их антимикробном эффекте, так как бактериостатические антибиотики, угнетая размножение микроорганизмов, не создают условий для антимикробного эффекта бактерицидных антибиотиков. В этой связи не рекомендуется комбинировать антибиотики этих типов действия, например, пенициллины (естественные, изоксазол-, амидино-, амино-, карбокси- и уреидопенициллины) с макролидами (азитромицин, джозамицин), пенициллины с тетрациклинами (миноциклин), левомицетин с ристомицином [223].

Не следует комбинировать антибиотики из одной химической группы, например, пенициллины с пенициллинами, аминогликозиды друг с другом. При этом возможно увеличение токсичности. Не рекомендуется сочетание нитрофуранов с левомицетином и ристомицином из-за возможного усиления отрицательного побочного эффекта на кроветворение. При назначении

нитрофуранов и фуранов не следует принимать алкоголь, так как развивается антабусный эффект. Антибиотики (аминогликозиды, полимиксин В, бацитрацин, виомицин) усиливают действие мышечных релаксантов и могут на длительный период задерживать восстановление дыхания. Противомикробные средства нередко вступают в физико-химические взаимодействия со многими лекарственными средствами. Поэтому нерационально вводить другие лекарственные средства в смеси с антимикробными средствами. При необходимости назначения других средств перорально их целесообразно принять поочередно, друг за другом, через промежутки в 30 минут или более. Нередко встречается физико-химическая несовместимость антибиотиков между собой и с другими лекарственными веществами [224, 225, 226].

Известно, что комбинации антибактериальных средств могут повысить эффективность антибиотиков и снизить устойчивость к антибактериальным препаратам за счет независимых, синергических эффектов. Комбинированная терапия широко используется для лечения рака, вирусных и микобактериальных инфекций. Однако по причине сложности утверждения регулируемыми органами антибактериальных препаратов комбинации данных веществ только сейчас включены в общую стратегию лечения бактериальных инфекций [227, 228, 229].

В течение длительного времени эффекты синергии антибактериальных препаратов и механизмы, лежащие в их основе, оставались неизученными. Началу исследований синергии способствовало распространение множественной лекарственной устойчивости вследствие появления возбудителей, с трудом поддающихся лечению традиционными методами.

В настоящее время в сфере здравоохранения встречаются устойчивые штаммы следующих микроорганизмов: метициллин- и ванкомицин-устойчивый *Staphylococcus aureus*; группа микробов, имеющих бета-лактамазу (семейство Enterobacteriaceae и др.); мультирезистентная *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Candida*; карбапенем-устойчивый *Acinetobacter*; ванкомицин-устойчивые *Enterococcus*; *Streptococcus* группы А, устойчивый к

эритромицину и другим препаратам. Доступность, широкое и необоснованное применение антибиотиков привело к тому, что антибиотикорезистентность стала глобальной проблемой, которая указывает на необходимость разработки новых препаратов, активных в отношении резистентных микроорганизмов, или мониторинга уже известных на наличие синергетических антибактериальных эффектов [230, 231].

Для понимания эффекта синергии необходимо ввести термин «аддитивность», означающий отсутствие взаимодействия или инертность. Именно проблема математического определения аддитивности была предметом споров среди ведущих исследователей этой темы в течение последнего столетия. Любое отклонение от аддитивности рассматривается как синергизм (супераддитивность, потенцирование, коализм) или антагонизм (субаддитивный эффект, отрицательная синергия). Синергия же вызывает особый интерес, поскольку подразумевает достижение терапевтического эффекта при использовании меньшего количества компонентов препарата, а также снижение числа побочных эффектов.

Началу исследований синергии в практических лабораториях способствовало применение новых методов в молекулярной биологии и аналитической химии. В то же время большинство современных методик определения эффективности антибактериальных препаратов опирается на классические показатели минимальной ингибирующей концентрации (МИК) и минимальной бактерицидной концентрации (МБК). МИК определяется как самая низкая концентрация противомикробного агента, которая предотвращает видимый рост микроорганизмов, МБК – как самая низкая концентрация антимикробного агента, необходимая для полного уничтожения микроорганизмов (уменьшение исходного посевного материала на 99,9 % за 18-24 ч)[232].

Фильтр-клинические исследования за период с 2019 г. показали, что метод «шахматной доски» и анализ на антимикробную эффективность под названием «timekill» (определение скорости гибели бактериальных клеток или

анализ «времени уничтожения») являются наиболее часто используемыми количественными методиками в измерении эффектов антибактериальной синергии.

Измерение синергии с помощью метода «шахматной доски» используется для определения влияния на антимикробную эффективность комбинации антибиотиков по сравнению с их индивидуальной активностью. Это сравнение представлено как значение индекса фракционной ингибирующей концентрации (ФИК). Значение индекса ФИК учитывает комбинацию антибиотиков, которая дает наибольшее отклонение от МИК отдельного антибиотика. Затем значение индекса ФИК используется для категоризации взаимодействия двух протестированных антибиотиков. Авторы метода предлагают следующую трактовку индекса ФИК: синергия – комбинация соединений увеличивает ингибирующую активность (снижение МИК) одного или обоих соединений, чем соединения по отдельности ($\text{ФИК} < 0,5$); отсутствие взаимодействия – комбинация не имеет увеличения ингибирующей активности из-за аддитивного эффекта обоих соединений вместе ($\text{ФИК} = 0,5-4$); антагонизм – комбинация соединений увеличивает МИК или снижает активность отдельных соединений ($\text{ФИК} > 4$).

Метод «шахматной доски» направлен на выявление синергидного эффекта при сочетанном воздействии антибиотиков на бактериальную клетку при лечении заболеваний, вызванных микроорганизмами с экстремальной и полной антибиотикорезистентностью.

Классический синтез новых антибиотиков не может сдерживать появление и распространение множественной лекарственной устойчивости. В связи с этим необходимы дополнительные стратегии для расширения терапевтических возможностей за счет синергетических комбинаций веществ, проявляющих антибактериальные эффекты. Недавно проведенный метаанализ, включавший 2841 респондента, выявил более низкую смертность среди пациентов, получавших комбинированную терапию, по сравнению с пациентами, получавшими монотерапию. Такой подход выглядит

многообещающим в преодолении резистентности и может быть реализован через использование методов тестирования бактерицидности в различных комбинациях. Метод «шахматной доски», а также их модификации являются наиболее распространенными и надежными тестами *in vitro*, которые отражают эффекты комбинаций антибиотиков. Поскольку в настоящее время назначение комбинированной антибиотикотерапии проводится эмпирически и в случае ее клинической неэффективности необходима микробиологическая верификация диагноза с последующим рациональным выбором этиотропного лечения, описанные методы исследования синергии могут быть адаптированы для микробиологических лабораторий с целью перехода от исследовательского тестирования комбинаций антибиотиков к рациональному, клинически значимому. Это позволит повысить компетентность специалистов и проводить микробиологическое тестирование изолятов, выделенных от конкретного пациента, в лабораториях любой оснащенности с минимальными экономическими затратами.

В связи с этим необходимость современной медицины в новых противомикробных препаратах новых классов, к которым резистентность у микроорганизмов еще не выработана, стоит крайне остро. Альтернативным путем преодоления антибиотикоустойчивости является создание потенциатора АБП (антибактериальных препаратов), способного усилить действие антибактериальных агентов, тем самым преодолевая снижение эффективности терапии при классическом назначении антибиотиков. Такие работы проводятся в АО «НЦПП», новые лекарственные средства при этом проходят соответствующие стадии доклинических исследований, согласно международным и национальным стандартам.

Практическая значимость результатов работы состоит в повышении эффективности лечения антибиотикоустойчивых социально-значимых инфекционных заболеваний путем создания оригинальных высокоэффективных и конкурентоспособных отечественных лекарственных препаратов.

Альбуминовый комплекс поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраиодид калия

(координационное соединение- КС) с направленным противоинфекционным действием обладает следующими свойствами:

- доклинические исследования нового лекарственного средства в соответствии с международными стандартами Надлежащей лабораторной практики (GLP) *in vitro* и *in vivo* показали малую токсичность КС-альбуминового комплекса поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраидид калия;

- установлено, что КС - альбуминовый комплекс поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраидид калия, обладает синергетическим эффектом при совместном тестировании с антибиотиками различных групп в отношении патогенных микроорганизмов;

- в эксперименте по оценке мутагенной активности КС, установлено отсутствие мутагенной и промутагенной активности исследуемого соединения. Разработанное инновационное лекарственное средство – КС (альбуминовый комплекс поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетраидид калия) является оригинальным отечественным препаратом. После завершения всех этапов, данное лекарственное средство можно будет эффективно использоваться для лечения социально-значимых заболеваний.

ГЛАВА 2.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Описание групп наблюдения

Работа выполнялась на базе Кыргызской государственной медицинской академии им. И.К. Ахунбаева МЗ КР и АО «Научного центра противомикробных препаратов» МЗ РК.

Проведено клинико-лабораторное обследование на ИППП (сифилис, гонококковая инфекция, хламидийная инфекция, урогенитальный трихомониаз, вирус простого герпеса (ВПГ – 2 тип), урогенитальный уреа-микоплазмоз, цитомегаловирусная инфекция, урогенитальный кандидоз) у 150 женщин, предоставляющих сексуальные услуги на платной основе (основная группа) и 139 женщин, обратившихся на плановый осмотр к гинекологу (контрольная группа). Общий объем выборки составил 289 человек.

У всех обследуемых проведено клинико-anamnestическое обследование. При сборе анамнеза обращали внимание на жалобы – чувство зуда, боли, выделения; давность заболевания; характер половой жизни; дата последнего полового контакта; собирались сведения о предполагаемом источнике заражения и других половых партнерах; отмечалось в прошлом наличие венерических заболеваний. При осмотре обращали внимание на характер выделений, наличие патологических изменений на слизистых (эрозий, очагов кровоизлияний).

Диагноз урогенитального трихомониаза выставляли на основании результатов лабораторного исследования. Выявление трихомонад проводили методом исследования нативных и окрашенных препаратов водным раствором метиленового синего, посева отделяемого на питательные селективные среды для культуральной диагностики трихомониаза.

Материалом для микроскопического и культурального исследования на *T.vaginalis* служили отделяемого слизистых оболочек уретры, цервикального канала, заднего свода влагалища.

Материалом для исследования на другие ИППП и иммунного статуса – венозная кровь.

2.2 Лабораторные методы исследования

Микроскопия мазка. Содержимое уретры, цервикального канала и заднего свода влагалища исследовали в нативном и окрашенном препаратах. Окраску проводили 1 % раствором метиленовой сини. С целью выявления гонококков и флоры применяли окраску по Граму. При микроскопии нативных и окрашенных препаратов, в отсутствии типичных трихомонад, обращали внимание на скопления лейкоцитов на клетках плоского эпителия или вокруг них, большое количество слизи в мазках, безъядерные клеточные образования, дрожжеподобные грибы рода *Candida*.

Микроскопирование нативного и окрашенного мазков проводили на фазово-контрасном микроскопе Leica DM 2500, производства Германия.

Культуральный метод. Для культивирования влагалищных трихомонад использовали питательную среду ООО «Диагност-Мед», г.Омск (Россия). Инкубацию проводили в термостате Binder при 37⁰С, производства Германия. Микроскопию и идентификацию культур производили на 3-5 день, при отрицательных результатах на 7-9-й, так как длительность цикла развития влагалищных трихомонад в культуре зависит от величины посевной дозы.

Бактериологическое выделение культур трихомонад проводили с целью определения чувствительности выделенных штаммов *T.vaginalis* к протистоцидным препаратам, а также с целью определения микрофлоры содержимого уретры и влагалища. Стерильной бактериологической петлей производили посев материала на сахарный бульон, с которого впоследствии делали пересев на чашки с желточно-солевым и кровяным агаром, среды Эндо, Левина, лакто-агар.

Диагностику остальных ИППП проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа крови (ИФА) с использованием диагностических тест-систем «Вектор-Бест» (Россия). Определяли типоспецифические сывороточные антитела класса IgG («анамнестические») и IgM («острые») к возбудителям ИППП. Учет результатов ИФА проводили на спектрофотометре «Мультискан» по оптической плотности в исследуемых лунках на длине волны 492 нм. Результаты выражали величиной титра антител.

Определение чувствительности к метронидазолу. Чувствительность трихомонад к метронидазолу *in vitro* оценивали методом серийных разведений, с определением минимальной ингибирующей концентрации (МИК), вызывающей иммобилизацию всех клеток *T.vaginalis* с использованием жидкой питательной среды фирмы ООО «Диагност-Мед» (Россия). Использовали субстанцию метронидазола фирмы Sigma-Aldrich (Германия).

Процедуру осуществляли в стерильных 96-луночных планшетах из полистирола (BIOLOGIX, Китай). Предварительно в необходимое количество лунок планшета вносят соответствующую жидкую питательную среду в количестве 100 мкл. Во все первые лунки рядов (A1-H1) вносят по 100 мкл базового раствора антимикробного агента, после чего производят ряд серийных двукратных разведений: смесь бульона и метронидазола из лунки № 1 в количестве 100 мкл переносят в лунку № 2, полученную смесь из лунки № 2 в объеме 100 мкл переносят в лунку № 3. Действие повторяют до достижения необходимого количества двукратных разведений. Из последней лунки удаляют 100 мкл смеси.

Таким образом, в каждом ряду планшета (лунки А-Н) будут получены серийные разведения с рабочими концентрациями 2000, 1000, 500, 250, 125, 63, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5; 0,25; 0,12; 0,06 мкг/мл.

После приготовления рабочей суспензии во все лунки, содержащие 100 мкл смеси метронидазол + бульон, и положительный контроль внесут по 30 мкл рабочего инокулюма. Таким образом, финальная концентрация клеток/лунку

после засева составила $\sim 2-8 \times 10^5$ КОЕ/мл. Планшеты инкубируют в термостате в течение 3-5 дней при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

Оценку устойчивости проводили на основе степени подавления роста трихомонад в присутствии препарата и их способности к размножению при пересеве на питательную среду без антибиотиков.

Устойчивые штаммы проверяли на внутриклеточное количественное содержание метронидазола с помощью ВЭЖХ для дифференциации от штаммов у которых резистентность вызвана не генными мутациями – в изменении фермента пируват-ферродоксина оксидоредуктазы, а модификационными изменениями в цитоплазматической мембране. К устойчивым штаммам были отнесены те, у которых концентрация клеток в пробирках с антипротозойным препаратом составляла не менее 50% от контрольного образца. Воздействие препарата считалось оптимальным при максимальном лизисе клеток трихомонад.

Целью исследования с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) было определение содержания лекарственного средства внутри клеток *T. vaginalis* при культивировании в присутствии метронидазола.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) — это метод аналитической химии, применяемый для разделения, идентификации и количественного анализа каждого компонента в смеси. Метод основан на использовании насосов, которые под давлением пропускают растворитель, содержащий смесь образцов, через колонку, заполненную твердым адсорбентом. Компоненты смеси взаимодействуют с адсорбентом по-разному, что приводит к их разделению по мере выхода из колонки с разной скоростью.

Хроматография представляет собой процесс массопереноса, связанный с адсорбцией. ВЭЖХ использует насосы для прокачивания жидкости и смеси образцов через колонку, что приводит к их разделению. Активный компонент колонки, адсорбент, представляет собой гранулированный материал,

состоящий из твердых частиц (например, кремнезем или полимеры) размером 2-50 мкм. Компоненты смеси отделяются друг от друга благодаря разной степени взаимодействия с адсорбентом. Жидкость под давлением, называемая «подвижной фазой», обычно состоит из смеси растворителей (например, воды, ацетонитрила или метанола). Состав и температура подвижной фазы играют важную роль в процессе разделения, влияя на взаимодействия между компонентами образца и адсорбентом. Эти взаимодействия могут быть гидрофобными, диполь-дипольными, ионными или их комбинацией.

Для проведения анализа ВЭЖХ требуются подготовительные этапы.

1. *Подготовка культур микроорганизмов для анализа методом ВЭЖХ* (высокоэффективная жидкостная хроматография).

Проницаемость мембран микроорганизмов под воздействием лекарственного средства метронидазол изучаются на выделенных штаммах *T.vaginalis*. Для адекватной оценки взаимодействия с лекарственным препаратом суспензия микроорганизмов должна быть приготовлена из культуры в экспоненциальной фазе роста и содержать в основном молодые развивающиеся, активно метаболизирующие клетки.

2. *Приготовление суспензии T.vaginalis*

Культуры *T.vaginalis* выращивали в жидкой питательной среде в течение 18-24 ч с постоянным перемешиванием при 100 об/мин. По истечении времени инкубации измеряли мутность по МакФарланду с помощью денситометра. Концентрация микробных клеток в такой суспензии соответствует приблизительно $1,5 \times 10^9$ КОЕ/мл.

3. *Воздействие лекарственным препаратом*

Штаммы *T.vaginalis* культивируют в жидкой питательной среде ООО «Диагност-тест» в течение 18-24 часов при (37 ± 1) °С при постоянном перемешивании 100 об/мин. По истечению времени инкубации, производят замер оптической плотности суспензии на денситометре.

Суспензию разлить в 12 (4 варианта по 3 повтора) пробирки равными объемами и воздействовать метронидазолом в сублетальных концентрациях (1/2 МБК, 1/4 МБК, 1/8 МБК) в течение 30 минут на *T.vaginalis*

4. Отмывка микроорганизмов от препаратов

Отмывку клеток от лекарственного препарата, провести центрифугированием при 2000 об/мин в течение 30 минут. Затем удалить надосадочную жидкость и внести равные объемы стерильного физ. раствора. Встряхивать на термошейкере при скорости 1400 об/мин в течение 3-5 мин. Затем центрифугировать при 2000 об/мин в течение 30 минут. Процедуру отмывки провести 3-хратно.

5. Разрушение клеток и подготовка супернатанта для замера ВЭЖХ

Разрушение микробных клеток проводили в несколько этапов: обработка детергентами, температурный шок, ультразвуковое гомогенизирование.

На первом этапе во все образцы вносили по 1,6 мл лизирующего буфера, состоящего из 10 mM Tris-HCL, 1 mM EDTA и 1% SDS. Время воздействия лизирующим буфером проводить в течение 60 мин при $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$. По истечению 60 минут, опытные образцы помести на 20 минут в низкотемпературный морозильник при минус 80 $^\circ\text{C}$. После заморозки, культуры гомогенизировали ультразвуком по 2,5 минуты.(5 подходов по 30 секунд).

Для получения супернатанта, после обработки ультразвуком, центрифугировать при 14000 g в течение 10 минут. Для замера отобрать супернатант и передать для дальнейшего испытания на ВЭЖХ.

Метод «Checkerboard». При одновременном испытании двух или более препаратов *методом «Checkerboard»*, могут давать разные фенотипические эффекты: синергизм, аддитивность, антагонизм или индифферентность. Для оценки эффекта комбинации двух противомикробных препаратов можно использовать метод разведения в агаре и метод дисковой диффузии. Дополнительным методом, используемым в настоящее время, является анализ шахматной доски в 96-луночном микропланшете, который дает хорошую

оценку эффекта комбинации лекарств *in vivo*. Последний использует жидкую среду и двумерную шахматную доску микроразведений с двумя агентами для оценки комбинаций антимикробных агентов против микроорганизмов. В шахматном анализе два противомикробных препарата тестируются в двойных серийных разведениях, а концентрация каждого препарата проверяется как по отдельности, так и в комбинации. Таким образом, можно определить действие отдельных препаратов, но прежде всего эффект, производимый их комбинацией. Затем характер взаимодействия между двумя противомикробными препаратами определяется либо алгебраически, либо геометрически. Дополнительно для оценки воспроизводимости полученных результатов все исследования для метронидазолрезистентных *T.vaginalis* (определение МИК метронидазола в присутствии фиксированной концентрации второго АМП, определение чувствительности к комбинациям АМП методом «шахматной доски») выполняли в двух независимых повторях.

Интерпретацию результатов производили после расчета индекса фракционной ингибирующей концентрации ($\Phi ИК_{инд}$) с использованием следующей формулы:

$$\Phi ИК_{инд} = \left(\frac{A_c}{A_a} \right) + \left(\frac{B_c}{B_a} \right), \quad (1)$$

где A и B – два протестированных вещества;

A_c и B_c – концентрации каждого соединения при минимальной эффективной комбинации, мкг/мл;

A_a и B_a – МИК, полученные при тестировании веществ по отдельности, мкг/мл.

Индекс ФИК вычисляли для каждого ряда разведений. Для интерпретации использовали наименьшие значения. Синергизм определяли при индексе ФИК, равном или меньшем 0,5; частичный синергизм засчитывали при ФИК более 0,5; но менее 1. Аддитивность – при индексе ФИК, равном 1. Индифферентность – при отсутствии изменения МИК, либо при тестировании

антибиотиков по отдельности, либо в комбинации (ФИК более 1, но менее 4) и антагонизм – при ФИК более 4.

Определение МИК координационного соединения (альбуминовый комплекс поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетрайодида калия) в отношении штаммов T.vaginalis.

Определение МИК КС (альбуминовый комплекс поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетрайодида калия) проводили методом двукратных серийных разведений. Для этого приготовили суспензию трихомонад по стандарту мутности Мак Фарланда 0,5. Из этого разведения приготовили суспензию *T.vaginalis* в $1,5 \times 10^6$. Затем в 96-луночных полистироловых планшетах разлили по 100 мкл физиологический раствор 0,9 %. В 1 ряд во все лунки внесли по 100 мкл испытуемое КС (альбуминовый комплекс поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетрайодида калия). Далее произвели разведение до 12 лунки. После этого во все лунки внесли по 30 мкл суспензию трихомонад. Инкубировали 30 мин при 37°C . Затем из каждой лунки сделали высеv на жидкую питательную среду по 50 мкл. Инкубировали 48 часов при 37°C .

Учет результатов проводили по помутнению среды, а также готовили препараты для микроскопического исследования по методу «висячей капли».

Иммунологические исследования. Оценка иммунного статуса проводилась путем анализа состояния гуморального и клеточного звеньев иммунной системы. Состояние клеточного звена иммунитета оценивалось по параметрам лейкограммы и популяциям лимфоцитов: Т-лимфоциты (CD3+); Т-хелперы/индукторы (CD4+); Т-супрессоры/цитотоксические клетки (CD8+); В-лимфоциты (CD19+), а также иммунорегуляторный индекс (ИРИ), который рассчитывался как соотношение $\text{CD3}^+ + \text{CD4}^+$ к $\text{CD3}^+ + \text{CD8}^+$. Исследования проводились на автоматическом проточном цитометре FACS Calibur компании «Becton Dickinson» (США) с использованием моноклональных антител от той же компании. Подсчет проводился на выборке из 10 000 клеток, а результаты представлялись в виде точечных графиков, выводимых на принтер.

Для исследований кровь брали из вены в объеме 5-10 мл и помещали в пробирку с гепарином, смешанным со средой Хэнкса. Затем образцы обрабатывали моноклональными антителами определенной специфичности, инкубировали в течение 15 минут и подвергали тройной промывке с использованием фосфатно-солевого буфера (PBS) при 2100 об/мин в течение 5 минут. Для стабилизации клеточных мембран применялся фирменный фиксирующий раствор Cell Fix от компании «Becton Dickinson».

Оценка гуморального звена иммунитета проводилась путем определения концентрации иммуноглобулинов классов А, М и G в сыворотке крови методом радиальной иммунодиффузии по Манчини, используя планшеты для иммунодиффузии от компании «Реофарм» (Москва). Сыворотку крови пациентов разводили в зависимости от необходимой концентрации для каждого класса иммуноглобулинов, а через сутки измеряли диаметр диффузии в агаре и рассчитывали концентрацию с помощью специальной шкалы. Полученные результаты анализировались с помощью программного обеспечения.

Исследовались следующие показатели клеточного иммунитета: CD3+, CD19+, CD4+, CD8+, CD16+. Дополнительно изучались показатели гуморальных факторов врожденного иммунитета: общий белок, белковые фракции, альбумины, α 1-глобулины, α 2-глобулины, β -глобулины, γ -глобулины, а также иммуноглобулины классов IgA, IgM, IgG, IgE.

Для более детального анализа состояния гуморального и клеточного звеньев иммунитета был рассчитан иммунорегуляторный индекс (ИРИ), представляющий соотношение $CD3^+ + CD4^+$ к $CD3^+ + CD8^+$.

Также проводилась оценка фагоцитарной активности нейтрофилов в крови как маркера неспецифического клеточного иммунитета. Изучались такие показатели, как фагоцитарный индекс, активированный НСТ-тест и спонтанный НСТ-тест.

2.3 Статистические методы

Для оценки значимости полученных в ходе данного исследования результатов были применены статистические методы обработки материала. Использованы методы вариационной статистики с определением среднеарифметической (M), средней ошибки среднеарифметической (m), критерия Фишера (t). Результаты считались значимыми при $p < 0,05$ [207].

ГЛАВА 3.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Клинико-лабораторные исследования трихомонадной инфекции у РС. Распространенность инфекций, передаваемых половым путем у РС.

Клинико-лабораторные и медико-социологические исследования были проведены среди женщин, занимающихся секс-работой (СР) - 150 (возраст от 20 до 40 лет), при этом средний возраст участниц составил 25-28 лет.

Основную группу в исследовании составили 96 работниц коммерческого секса (РКС) с трихомонадной инфекцией. И 139 здоровых женщин, обратившихся на плановый осмотр к гинекологу, составили контрольную группу.

Дополнительно в основной группе были выделены пациенты с острой (n = 48) и хронической (n = 48) формой трихомонадной инфекции, что позволило наблюдать изменения в клеточном звене иммунитета, вызванные этой инфекцией.

Выбор данного контингента для исследования обусловлен широкой распространенностью ИППП среди уязвимых по отношению к ИППП групп населения (РС, ПИН, МСМ).

Среди секс-работниц преобладала возрастная категория от 20 до 24 лет – 65 человек, возрастная группа от 25 до 29 лет включала 30 участниц, группа от 30 до 35 лет состояла из 28 человек, а самая старшая возрастная группа от 35 до 40 лет была представлена меньшим числом.

Таблица 3.1.1 – Распределение РС по возрасту (n = 150)

Возраст	абс. число	%
20-24 лет	65	43,3
25-29 лет	30	20,0
30-35 лет	28	18,7
35-40 лет	27	18,0
Всего	150	100

Представителями города были 19,3 % (29) РС, приезжими из сельских местностей 80,7 % (121). По национальной принадлежности 29,6 % составляли кыргызки, 24,6 % – русские, 14,7 % – узбечки, 14,7 % – казашки и 16,4 % – лица других национальностей. В зарегистрированном браке на момент обследования ни одна из РС не состояла. На русском языке почти свободно говорили 95,1 % РС, не знали и не понимали русского языка лишь 4,9 %.

Не были официально трудоустроены и не обучались 83,6% секс-работниц, учились в высших и средних учебных заведениях 16,4% РС. О потреблении алкоголя два-три раза в неделю или чаще сообщили 52,5% респондентов, о наличии эпизодического опыта употребления наркотических веществ в прошлом сообщили 5,9% РС.

У 82,0% секс-работниц основным источником дохода являлись услуги сексуального характера, в то время как 17,6% отметили среди причин занятия сексом такие факторы, как «пример подруги» и «принуждение» (в основном со стороны половых партнеров). Начало половой жизни составил в среднем $18,9 \pm 0,5$ лет (в диапазоне от 14 до 20 лет). Опыт работы в секс-индустрии менее года среди секс-работниц имели 58,8%, 23,5% – от одного до трех лет, 11,7% – от трех до пяти лет, и 5,9% работали в данной сфере более пяти лет. О возврате к этой деятельности после перерывов, не связанных с предоставлением сексуальных услуг, сообщили часть женщин.

У 150 женщин из основной группы и 139 женщин, обратившихся на плановый осмотр к гинекологу (контрольная группа), в общей сложности 289 человек, было проведено клинико-лабораторное обследование на инфекции, передаваемые половым путем (ИППП) — сифилис, гонококковая инфекция, хламидийная инфекция, урогенитальный трихомониаз, вирус простого герпеса (ВПГ-2 тип), урогенитальный уреа-микоплазмоз, цитомегаловирусная инфекция, урогенитальный кандидоз.

ИППП выявлено у 100 % женщин основной и у 20,1 % (у 28 из 139 обследованных) контрольной групп.

Структура заболеваемости ИППП основной и контрольных групп представлена в таблице 3.1.2.

Таблица 3.1.2 – Структура заболеваемости ИППП в основной и контрольных группах

Нозологическая форма	Основная группа (n=150)		Контрольная группа (n=139)	
	абс. число	%	абс. число	%
трихомонадная	96	64,0	1	3,6
хламидийная	83	55,3	1	3,6
кандидозная	55	36,7	12	42,9
микоплазменная	37	24,6	10	35,7
уреаплазменная	34	22,3	17	60,7
герпесвирусная	32	21,3	-	-
гонококковая	7	4,7	-	-
сифилис	5	3,4	-	-
цитомегаловирусная	2	1,4	-	-

Из данных представленных в таблице 3.2 видно, что у более половины (у 64,0 %) PC отмечена частота выявления трихомонадной инфекции – у 96 из 150, частота хламидийной инфекции составила 55,3 % (у 83 PC), кандидозная инфекция зарегистрирована у 55 (36,7 %) PC. До настоящего времени в литературе имеются разногласия в отношении микроорганизмов семейства *Mycoplasmataceae*, одни исследователи считают микоплазмы абсолютными патогенами, другие – условно-патогенными комменсалами. В данном исследовании почти у половины представительниц секс-бизнеса установлена микоплазменная инфекция: приблизительно в одинаковых процентных соотношениях выделены *M.hominis* (24,6 %) и *Ur.urealyticum* (22,3 %). Также отмечен относительно высокий удельный вес герпесвирусной инфекции (ВПГ I и II типы) – у 32 PC, что составило 21,3 % обследованных. Частота выявления гонококковой и цитомегаловирусной инфекций - 4,7 % и 1,4 % соответственно. Результаты обследования на сифилис показали у 11 (7,3 %) PC наличие сифилиса в прошлом (по выявлению антител, принадлежащих к иммуноглобулинам классов IgG и данным анамнеза) и 5(3,4 %) PC сифилис без

клинических проявлений (наличие антител принадлежащих к иммуноглобулинам класса IgM).

У 28 женщин контрольной группы с ИППП спектр возбудителей ИППП намного меньше в отличие от женщин из основной группы и представлен, в основном, представителями условно-патогенной микрофлоры (микоплазмы, дрожжеподобные грибы *Candida*). У более половины – в 60,7 % (у 17 из 28) отмечено выявление уреаплазменной инфекции, затем по мере убывания идет кандидозная инфекция, частота которой составила 42,9 % (у 12 из 28) и микоплазменная инфекция, обусловленная *M.hominis*, которая зарегистрирована в 35,7 % случаев (у 10 женщин). Лишь по одному случаю выявлены трихомонадная (3,6 %) и хламидийная (3,6 %) инфекции.

На рисунке 3.1.1 представлена частота моно- и микст-инфекции у женщин основной и контрольной групп. У подавляющего (88,0 %) числа PC с ИППП наблюдается микст-инфекция (у 132 из 150). Лишь у 18 (12,0 %) PC – моно-инфицирование. В контрольной группе почти в равных (в 53,6 % – моно-, в 46,4 % - микст) соотношениях наблюдается моно-и микст-инфицирование.

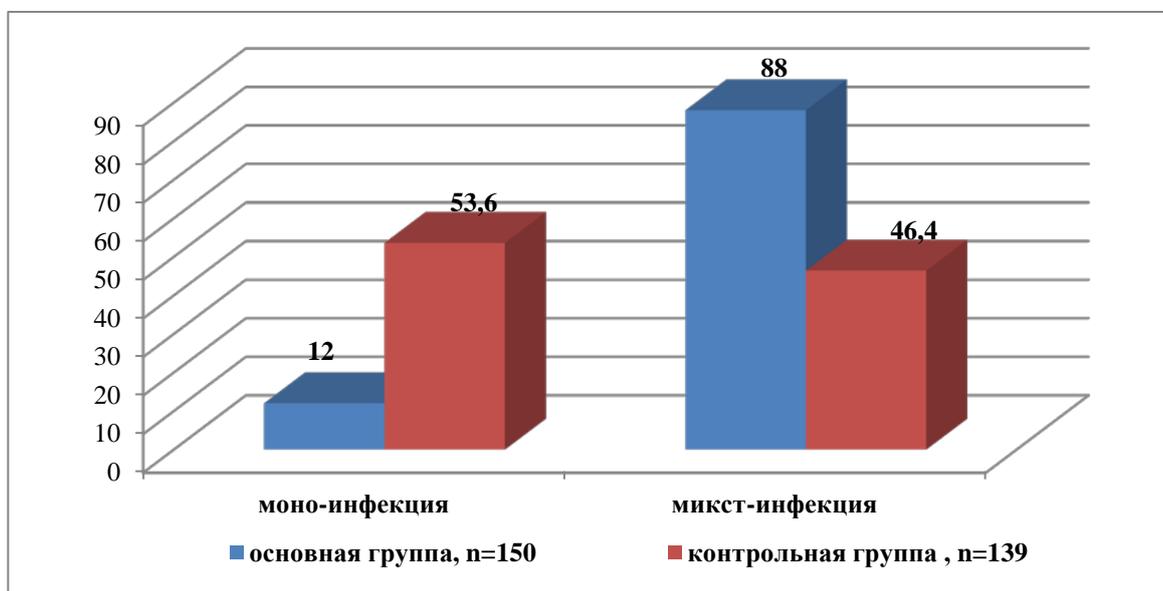


Рисунок 3.1.1 – Частота моно- и микст-инфекции в основной и контрольной группах.

В таблице 3.1.3-3.1.4 представлена частота выявления возбудителей ИППП в моно-инфекции и ассоциации у лиц основной и контрольной групп.

Таблица 3.1.3 – Частота выявления возбудителей ИППП в моно-инфекции и ассоциации у РС (n=150)

Название инфекций	абс. число	%
<i>Моно-инфекция:</i>		
хламидийная	12	66,6
трихомонадная	4	22,2
<i>Название инфекции</i>		
сифилис	1	5,6
герпесвирусная	1	5,6
<i>Микст-инфекция:</i>		
трихомонадная, кандидозная	23	17,4
хламидийная, уреоплазменная	15	11,4
трихомонадная, хламидийная, кандидозная	11	8,3
хламидийная, микоплазменная	8	6,1
трихомонадная, хламидийная	7	5,3
трихомонадная, кандидозная, микоплазменная	6	4,5
трихомонадная, герпесвирусная	6	4,5
трихомонадная, уреоплазменная	5	3,8
хламидийная, уреоплазменная, герпесвирусная	4	3,0
трихомонадная, микоплазменная	4	3,0
трихомонадная, хламидийная, микоплазменная	3	2,3
трихомонадная, уреоплазменная, герпесвирусная	3	2,3
хламидийная, герпесвирусная	3	2,3
трихомонадная, кандидозная, микоплазменная, герпесвирусная	3	2,3
трихомонадная, хламидийная, канди-дозная, микоплазменная	3	2,3
трихомонадная, кандидозная, гонококковая	3	2,3
хламидийная, уреоплазменная,	2	1,5

Название инфекций	абс. число	%
гонококковая		
трихомонадная, кандидозная, уреоплазменная	2	1,5
трихомонадная, микоплазменная, герпесвирусная	2	1,5
трихомонадная, хламидийная, герпесвирусная	2	1,5
трихомонадная, хламидийная, кандидозная, герпесвирусная	1	0,8
трихомонадная, кандидозная, микоплазменная, уреоплазменная, герпесвирусная	1	0,8
хламидийная, гонококковая	1	0,8
хламидийная, сифилис	1	0,8

трихомонадная, хламидийная, кандидозная, уреоплазменная	1	0,8
хламидийная, микоплазменная, герпесвирусная	1	0,8
хламидийная, микоплазменная, герпесвирусная, цитомегаловирусная	1	0,8
хламидийная, уреоплазменная, сифилис	1	0,8
трихомонадная, хламидийная, кандидозная, микоплазменная, герпесвирусная	1	0,8
хламидийная, кандидозная	1	0,8
трихомонадная, хламидийная,	1	0,8

Название инфекций	абс. число	%
сифилис		
трихомонадная, кандидозная, герпесвирусная	1	0,8
хламидийная, кандидозная, микоплазменная	1	0,8
трихомонадная, хламидийная, микоплазменная, герпесвирусная	1	0,8
трихомонадная, микоплазменная, сифилис	1	0,8
хламидийная, микоплазменная, цитомегаловирусная	1	0,8
трихомонадная, герпесвирусная, гонококковая	1	0,8

Как видно из таблицы 3.1.3 у подавляющего большинства РС выявлено микст-инфицирование - у 132 (88,0 %), лишь у 18 (12,0 %) – в моно-инфекции.

Представленные данные наглядно демонстрируют многочисленные варианты различных сочетаний возбудителей ИППП при микст-инфекции у женщин основной группы. Отмечена наиболее высокая частота выявления трихомонозно-кандидозной инфекции – у 17,4 % (в 23 случаях) РС; хламидийно-уреоплазменной – у 11,4 % (в 15 случаях) и трихомонозно-хламидийно-кандидозной инфекции – у 8,3 % (в 11 случаях) РС. У 6,1 % (в 8 случаях) РС – хламидийно-микоплазменная (обусловленная *M.hominis*) инфекция; у 5,3 % (в 7 случаях) – трихомонозно-хламидийная; по 4,5 % - трихомонозно-кандидозно-микоплазменная и трихомонозно-герпесвирусная (ВПГ-2); у 3,8 % РС – трихомонозно-уреоплазменная (обусловленная *U.urealyticum*); по 4 случая (3,0 %) отмечены хламидийно-уреоплазменно-герпесвирусная и трихомонозно-микоплазменная инфекции; по 3 случая (2,3 %) – трихомонозно-кандидозно-гонококковая, трихомонозно-хламидийно-кандидозно-микоплазменная, трихо-монадно-

кандидозно-микоплазменно-герпесвирусная, хламидийно-герпесви-русная, трихомонадно-уреаплазменно-герпесвирусная и трихомонадно-хлами-дийно-микоплазменная инфекции. По 2 случая зарегистрированы хламидийно-уреаплазменно-гонококковая, трихомонадно-кандидозно-уреаплазменная, трихомонадно-микоплазменно-герпесвирусная и трихомонадно-хламидийно-герпесвирусная инфекции и по 1 случаю – трихомонадно-кандидозно-уреамикоплазменно-герпесвирусная, хламидийно-гонококковая, хламидийно-сифилитическая, трихомонадно-хламидийно-кандидозно-уреаплазменная, хламидийно-микоплазменно-герпесвирусная, хламидийно-микоплазменно-герпесвирусная и цитомегаловирусная инфекции, хламидийно-уреаплазменно-сифилитическая, трихомонадно-хламидийно-кандидозно-микоплазменно-герпесвирусная, хламидийно-кандидозная, трихомонадно-хламидийно-сифилитическая, трихомонадно-кандидозно-герпесвирусная, хламидийно-кандидозно-микоплазменная, трихомонадно-хламидийно-микоплазменно-герпесвирусная, трихомонадно-микоплазменно-сифилитическая, хламидийно-микоплазменно-цитомегаловирусная и трихомонадно-герпесвирусо-гонококковая инфекции.

Сифилис выявлен у 5 РС, в одном случае в моно-инфекции, в 4-х – в сочетании с хламидийной инфекцией, хламидийно-уреаплазменной, трихомонадно-хламидийной и трихомонадно-микоплазменной инфекциями.

Из 7 случаев гонококковой инфекции – во всех отмечено сочетание с трихомонадно-кандидозной (у 3), хламидийно-уреаплазменной (у 2), трихомонадно-герпесвирусной (у 1) и хламидийной (у 1) инфекциями.

Необходимо отметить, что количество микробных ассоциантов от 3 и более наблюдалось почти у половины РС – в 44,0 % (у 58 из 132). Наиболее частыми были сочетания трихомонадной, хламидийной, микоплазменной, уреаплазменной, кандидозной и герпесвирусной инфекций.

В контрольной группе, у женщин, проходивших плановый осмотр у гинеколога ИППП выявлены у 28 (20,1 %) из 139 обследованных. В отличие от лиц основной группы у этой категории женщин в основном отмечены микоплазменная инфекция, представленная двумя видами микоплазм – *U.urealyticum*, *M.hominis* и дрожжеподобные грибы рода *Candida*.

Наиболее чаще (у более половины с ИППП) из вышеуказанного зарегистрирована уреоплазменная инфекция – у 60,7 % женщин (в 17 случаях из 28), почти у половины - 42,9 % (в 12 из 28) кандидозная инфекция и в 35,7% (у 10 из 28 обследованных) микоплазменная инфекция, обусловленная *M.hominis*. По одному (по 3,6 %) случаю выявлены хламидийная и трихомонадная инфекции (таблица 3.1.4).

Таблица 3.1.4 – Частота выявления возбудителей ИППП в моно-инфекции и ассоциации у лиц контрольной группы (n=139)

Нозологическая форма	абс. число	%
<i>Моноинфекция:</i>	15	53,6
уреоплазменная	10	66,7
кандидозная	5	33,3
<i>Микст-инфекция:</i>	13	46,4
микоплазменная, уреоплазменная	5	38,5
кандидозная, микоплазменная	4	30,7
кандидозная, уреоплазменная	2	15,4
хламидийная, микоплазменная	1	7,7
трихомонадная, кандидозная	1	7,7

По характеру инфицирования в отличие от лиц основной группы у более половины (53,6 %) женщин контрольной группы с ИППП выявлено моно-инфицирование (в 15 случаях из 28), смешанное инфицирование наблюдается у 46,4 % (у 13 из 28) женщин.

Моно-инфекция у 66,7 % лиц представлена уреоплазменной (у 10) и у 33,3 % - кандидозной (у 5) инфекциями.

При микст-инфекции наблюдается наиболее частое сочетание двух видов микоплазм (*Ur.urealyticum*, *M.hominis*) – у 38,5 % (в 5 случаях), у 30,7 % (в 4 случаях) женщин – кандидо-микоплазменная и у 15,4 % (в 2 случаях) – кандидо-уреоплазменная инфекции. По одному случаю выявлены хламидийно-микоплазменная (7,7 %) и трихомонадно-кандидозная (7,7 %) инфекции.

В контрольной группе ни в одном случае не выявлены сифилис и гонококковая инфекция.

У женщин основной группы с ИППП трихомонадная инфекция выявлена у 96 (64,0 %). У подавляющего большинства – у 95,8 % отмечено микстинфицирование (у 92 из 96), лишь у 4 (4,2 %) РС – моно-инфекция.

В таблице 3.1.5 представлены наиболее чаще выделяемые возбудители ИППП при смешанном инфицировании.

Таблица 3.1.5 – Частота обнаружения разных видов возбудителей ИППП при смешанных инвазиях у РС с трихомонадной инфекцией (n=92)

Возбудители	Количество случаев	% случаев
<i>C.albicans</i>	57	61,9
<i>C.trachomatis</i>	31	33,7
<i>M.hominis</i>	25	27,2
Возбудители	Количество случаев	% случаев
ВПГ-2	21	22,8
<i>Ur.urealyticum</i>	12	13,0
<i>N.gonorrhoeae</i>	4	4,3
<i>T.pallidum</i>	2	2,2

Из вышепредставленных данных таблицы 3.1.5 видно, что у большей части РС с трихомонадной инфекцией наблюдается сочетание с кандидозной – у 61,9 % (в 57 случаях из 92) лиц, у 33,7 % (в 31 случаях из 92) с хламидийной инфекцией, у 27,2 % (в 25 из 92) - с микоплазменной инфекцией, обусловленной *M.hominis*, у 22,8 % (в 21 из 92) – герпесвирусной (ВПГ- 2) и у 13,0 % (в 12 случаях из 92) РС – уреоплазменной инфекцией.

Сочетание сифилиса с трихомонадной инфекцией наблюдалось в 2-х случаях (2,2 %).

В 4-х случаях – сочетание с гонококковой инфекцией (4,3 %).

В таблице 3.1.6 представлено количество ассоциаций возбудителей ИППП у РС с трихомонадной инфекцией.

Таблица 3.1.6 – Количество ассоциаций возбудителей ИППП у РС с трихомонадной инфекцией

Количество возбудителей ИППП	абс. число	%
3	36	39,1
4	9	9,8
5	2	2,2
Всего	47	51,1

Как видно из таблицы 3.1.6 у более половины (51,1 %) РС с трихомонадной инфекцией отмечалось сочетание 3-х и более возбудителей ИППП.

Наиболее частыми ассоциантами трихомонадной инфекции являлись кандидозная, хламидийная, микоплазменная и герпесвирусная инфекции.

Спектр сопутствующей бактериальной микрофлоры при урогенитальном трихомониазе у обследованных нами РС методом бак. посева представлен в таблице 3.1.7.

Таблица 3.1.7 – Результаты бактериологического исследования отделяемого влагалища у РС с трихомонадной инфекцией и женщин контрольной группы

Микроорганизмы	Основная группа (n=96)		Контрольная группа (n=20)	
	Количество случаев	% высева	Количество случаев	% высева
Лактобациллы	15	15,6	5	25,0
Энтерококки	19	19,7	2	10,0
Кишечная палочка	26	27,1	2	10,0
Протей	22	22,9	2	10,0
Стафилококки	48	50,0	6	30,0
Стрептококк В	25	26,0	2	10,0
Коринебактерии	18	18,7	2	10,0
Энтеробактерии	20	20,8	2	10,0

Из данных таблицы 3.1.7 видно, что спектр условно-патогенной микрофлоры РС с трихомонадной инфекцией достаточно отличается от контрольной группы. У женщин с трихомонадной инфекцией в отделяемом из влагалища наблюдается снижение содержания лактофлоры, повышенное содержание условно-патогенной микрофлоры.

В наружных половых органах здоровых мужчин и женщин в ассоциации с другими возбудителями ИППП чаще определяются такие условно-патогенные микроорганизмы как эпидермальный стафилококк, энтерококк, зеленящий и пиогенный стрептококки, кишечная палочка, дифтероиды и др., они очень редко, но могут быть самостоятельными возбудителями уретрогенных инфекций, не более чем в 1-5 % случаев [233, 234].

Известно, что при УГТ наблюдается выраженная обсемененность условно-патогенной микрофлорой: стрептококками, энтерококками, стафилококками и т.д. [233, 234].

Определение видового состава влагалищной микрофлоры и отделяемого из шейки матки показало высокий уровень инфицирования кишечной палочкой и энтеробактериями. Это свидетельствует о качественных изменениях вагинального биотопа у женщин с трихомонадной инфекцией и нарушениях взаимоотношений между разными видами микроорганизмов.

Глубокие нарушения взаимоотношений между облигатными микроорганизмами отмечаются у РС с трихомонадной инфекцией, что приводит к рецидивам патологического процесса и ухудшению качества жизни.

В нашем исследовании в подавляющем (65,9 %) большинстве случаев наблюдалось подострое и хроническое течение трихомонадной инфекции, кроме того у 34,0 % РС отмечено бессимптомное трихомонадоносительство. У данных изолятов при микроскопическом исследовании обнаруживались все формы простейшего: от грушевидной формы до шаровидной, лишенной жгутиков и подвижности.

Таким образом, проведенное исследование позволило выявить ИППП у 100 % РС. Отмечена наиболее высокая частота выявления трихомонадной (64,0 %), хламидийной (55,3 %), уреамикоплазменной (47,3 %), кандидозной (36,7 %) и герпесвирусной (21,3 %) инфекций.

У подавляющего большинства (95,8 %) РС с трихомонадной инфекцией зарегистрировано микст-инфицирование, наиболее частыми ассоциантами были кандидозная (61,9 %), хламидийная (33,7 %), микоплазменная (27,2 %) и герпесвирусная (22,8 %) инфекции. Указанные возбудители ИППП у более половины (51,1 %) РС встречались в сочетании из 3-х и более ИППП.

У РС с трихомонадной инфекцией выявлены качественные изменения вагинального биотопа, свидетельствующие о глубоких нарушениях взаимоотношений между разными видами микроорганизмов. Выявленные нарушения между облигатными микроорганизмами могут способствовать рецидивированию патологического процесса и ухудшению качества жизни.

У подавляющего (65,6 %) большинства РС наблюдалось подострое и хроническое течение трихомонадной инфекции, у 34,4 % РС отмечено бессимптомное трихомонадоносительство.

3.2 Состояние клеточного и гуморального звеньев иммунитета у РС с трихомонадной инфекцией

Часто бессимптомное течение, рецидивы урогенитального трихомониаза и возможная взаимосвязь этих явлений с состоянием иммунной системы пациентов подчеркивают необходимость проведения клинико-иммунологического анализа у данной группы.

Проведено клинико-иммунологическое исследование среди 96 секс-работниц с трихомонадной инфекцией и среди 139 здоровых женщин, обратившихся на плановый осмотр к гинекологу.

Результаты иммунологических исследований у секс-работниц с трихомонадной инфекцией представлены в таблице 3.2.1.

Таблица 3.2.1 – Показатели клеточного и гуморального звеньев иммунной системы у женщин с трихомонадной инфекцией

Показатели (M±m)	Острое течение (n=48)	Хроническое течение (n=48)	Контрольная группа	Референтные значения
CD3 ⁺ , абс. (%)	1,13 ± 0,24 (50,36 ± 10,9)	1,92 ± 0,54 (59,18 ± 24,5)	1,70 ± 0,44 (62,6 ± 1,1)	1,1 – 1,7 (50 – 76)
CD4 ⁺ , абс. (%)	0,77 ± 0,12 (34,1 ± 5,3)	0,71 ± 0,17 (35,87 ± 7,5)	0,76 ± 0,38 (32,95 ± 1,1)	0,7 – 1,1 (31 – 46)
CD8 ⁺ , абс. (%)	0,53 ± 0,11 (26,57 ± 11,9)	0,5 ± 0,04 (26,96 ± 2,0)	0,59 ± 0,21 (25,20 ± 9,0)	0,5 – 0,9 (26 – 40)
CD16 ⁺ , абс. (%)	0,2 ± 0,08 (10,57 ± 4,1)	0,21 ± 0,19 (10,6 ± 8,5)	0,27 ± 0,16 (12,16 ± 3,2)	0,2 – 0,4 (9 – 19)
CD19 ⁺ , абс. (%)	0,25 ± 0,01 (12,29 ± 2,1)	0,27 ± 0,13 (12,48 ± 6,1)	0,23 ± 0,19 (12,6 ± 1,1)	0,15 – 0,4 (6 – 14)
ИРИ (CD3 ⁺ + CD4 ⁺ / CD3 ⁺ + CD8 ⁺), у.е.	1,14 ± 0,09	1,19 ± 0,20	1,5 ± 0,08	1,5 – 2,5
Фагоцитарный индекс, %	83	42	69	60 – 80
Активированный НСТ-тест, %	62	26	33	30 – 50
Спонтанный НСТ-тест, %	9	3	3	3 – 7
Общий белок, г/л	67 ± 2,1	65 ± 2,2	74 ± 8,1	65 – 85
Фракции белка, альбумины, г/л	54,1 ± 2,3	61,7 ± 2,2	55,0 ± 2,3	35 – 55
α1-глобулины, г/л	3,5 ± 0,8	4,2 ± 0,8	3,0 ± 0,7	1,4 – 3,0
α2-глобулины, г/л	6,2 ± 0,4	7,3 ± 1,5	8,7 ± 1,3	5,6 – 9,1
β-глобулины, г/л	11,6 ± 1,5	12,9 ± 2,7	9,1 ± 1,9	5,4 – 9,1
γ-глобулины, г/л	23,2 ± 2,1	26,3 ± 3,2	15,5 ± 2,1	8,1 – 17,0
IgA, г/л	1,16 ± 0,10	0,9 ± 0,27	2,11 ± 0,10	1,3 – 3,1

Показатели (M±m)	Острое течение (n=48)	Хроническое течение (n=48)	Контрольная группа	Референтные значения
IgM, г/л	0,9±0,06	1,0±0,44	1,32±0,08	0,9 – 1,5
IgG, г/л	7,66±0,40*	7,9±0,32	12,74±0,63	8,0 – 13,0
IgE, КЕ /л	135,2±9,2*	141,2±5,2	98,1±6,1	0 – 100
Примечание: * – достоверность разности средних величин (p<0,05 по сравнению с контрольной группой)				

Из представленных данных таблицы 3.2.1 видно, что средние уровни CD3⁺ в обеих исследуемых группах РС с трихомонадной инфекцией, как с острой, так и с хронической формой заболевания были в пределах нормы: 1,13 ± 0,24 (50,36 ± 10,9%) и 1,92 ± 0,54 (59,18 ± 24,5%) против 1,70 ± 0,44 (62,6 ± 1,1%) в контроле.

Таким образом, результаты изучения маркера CD3⁺ не показали статистически значимых различий между средними значениями инфицированных женщин и контрольной группой (p>0,05).

Важно учесть, что данный показатель является одним из наиболее важных маркеров Т-лимфоцитов. Эти данные позволяют сделать вывод, что клеточно-эффекторное звено иммунитета как в группе женщин с острой, так и с хронической трихомонадной инфекцией не было нарушено (рисунок 3.2.1).

Средние уровни CD4⁺ также в обеих (при острой и хронической формах) обследуемых группах показали результаты, соответствующие нормальным значениям - 0,77 ± 0,12 (34,1 ± 5,3 %) и 0,81 ± 0,17 (35,87 ± 7,5 %), соответственно, против 0,76 ± 0,38 (32,95 ± 1,1 %) в контрольной группе.

Таким образом, средние уровни CD4⁺ как в группе женщин с острым течением заболевания, так и хроническим, находились в пределах нормы и не

показали статистически значимых различий между средними значениями инфицированных женщин и контрольной группой ($p > 0,05$) (рисунок 3.2.2).

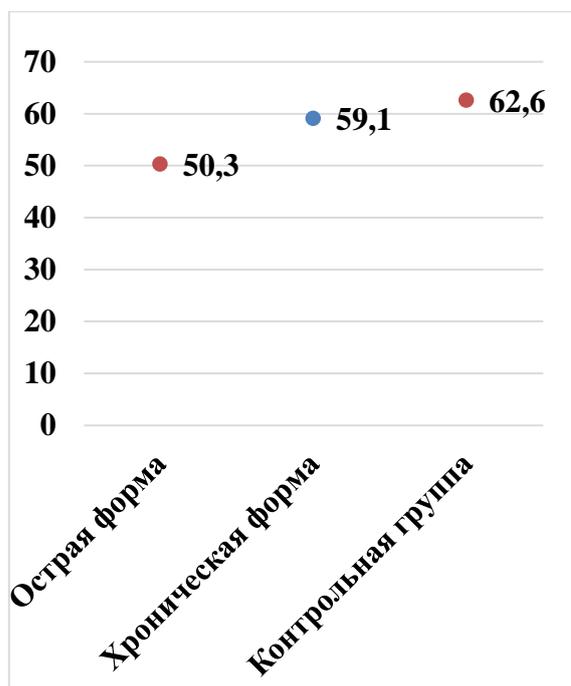


Рисунок 3.2.1 – Средние значения CD3⁺ (%) у женщин с трихомонадной инфекцией.

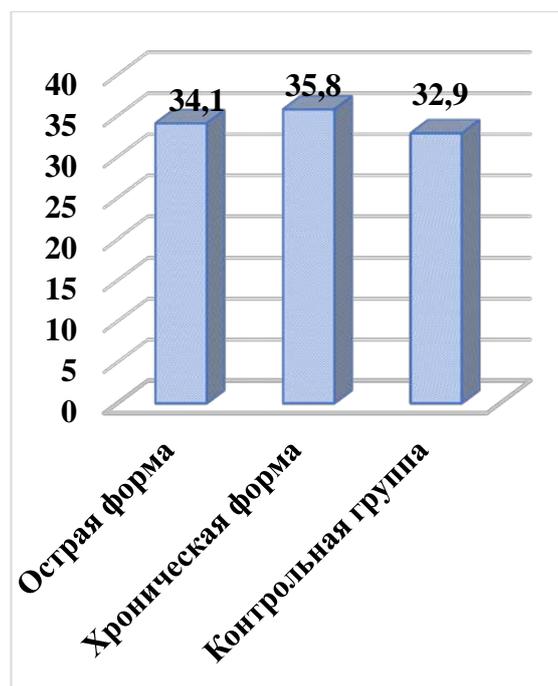


Рисунок 3.2.2 – Средние значения CD4⁺ (%) у женщин с трихомонадной инфекцией.

Аналогичные результаты получены и при изучении содержания других маркеров клеточного звена иммунитета.

Так, средние уровни маркера CD8⁺ у женщин с острой формой заболевания в абсолютных числах составили $0,53 \pm 0,11$ ($26,57 \pm 11,9$ %), с хронической – $0,5 \pm 0,04$ ($26,96 \pm 2,0$ %) против $0,59 \pm 0,21$ ($25,20 \pm 9,0$ %) в контроле.

Таким образом, средние уровни CD8⁺ как в группе женщин с острой трихомонадной инфекцией, так и хронической находились в пределах нормы и не показали статистически достоверных различий между средними значениями инфицированных женщин и контрольной группой ($p > 0,05$) (рисунок 3.2.3).

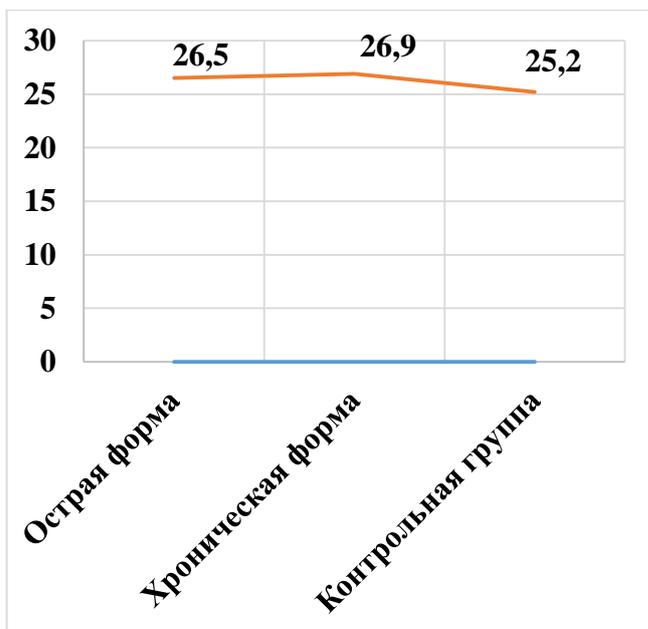


Рисунок 3.2.3 – Средние значения CD8⁺ (%) у женщин с трихомонадной инфекцией.

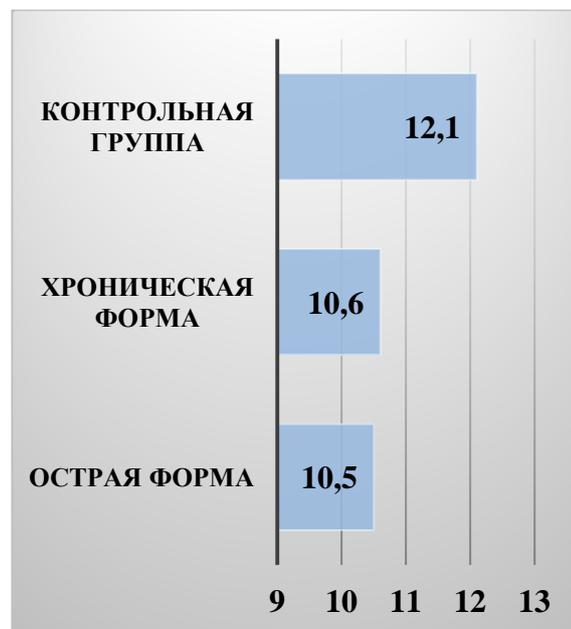


Рисунок 3.2.4 – Средние значения CD16⁺ (%) у женщин с трихомонадной инфекцией.

Абсолютные числа средних значений маркера CD16⁺ в группе женщин с острой формой заболевания составляли $0,2 \pm 0,08$ ($10,57 \pm 4,1$ %), с хронической формой – $0,21 \pm 0,19$ ($10,6 \pm 8,5$ %), что также соответствовало абсолютным и процентным значениям показателей контрольной группы - $0,27 \pm 0,16$ ($12,16 \pm 3,2$ %).

Таким образом, средние уровни маркера CD16⁺ как в группе женщин с острой инфекцией, вызванной *T.vaginalis*, так и с хронической, находились в пределах нормы и не показали статистически достоверных различий между средними значениями инфицированных женщин и контрольной группой ($p > 0,05$) (рисунок 3.2.4).

Средние значения маркеров CD19⁺ при острой и хронической формах трихомонадной инфекции в абсолютных числах и процентном соотношении составили – $0,25 \pm 0,01$ ($12,29 \pm 2,1$ %) и $0,27 \pm 0,19$ ($12,48 \pm 6,1$ %), соответственно, что было в пределах нормы и соответствовало показателям контрольной группы - $0,23 \pm 0,19$ ($12,6 \pm 1,1$ %).

Таким образом, результаты изучения маркера CD19⁺ не показали статистически достоверных различий между средними значениями инфицированных женщин и контрольной группой ($p > 0,05$) (рисунок 3.2.5).



Рисунок 3.2.5 – Средние значения CD19⁺ (%) у женщин с трихомонадной инфекцией.

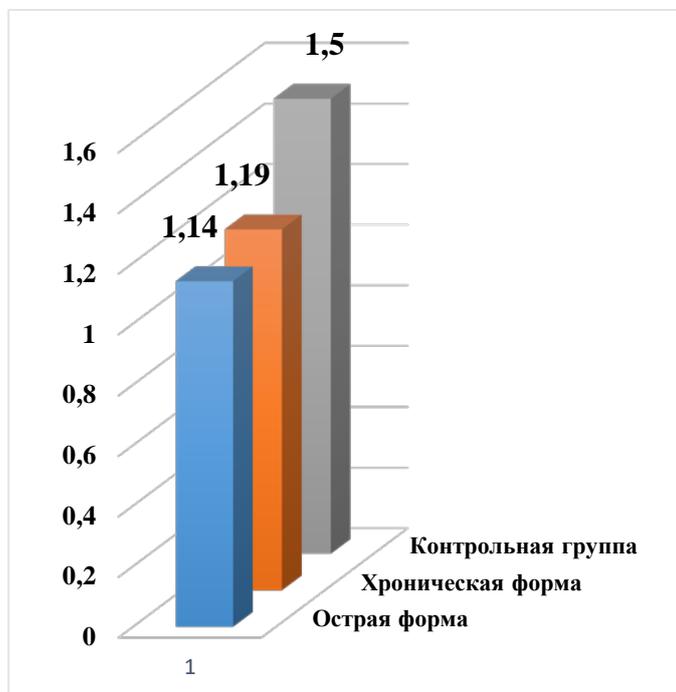


Рисунок 3.2.6 – Средние значения ИРИ (CD3⁺+CD4⁺/CD3⁺+CD8⁺)(у.е.) у женщин с трихомонадной инфекцией.

Средние уровни иммунорегуляторного индекса (ИРИ) (CD3⁺ + CD4⁺ / CD3⁺ + CD8⁺), в группе женщин с острой формой трихомонадной инфекции составляли $1,14 \pm 0,09$ у.е., что находилось ниже нормы. В группе женщин с хронической формой заболевания показатели также были ниже нормальных значений – $1,19 \pm 0,20$ у.е., по сравнению с показателями лиц контрольной группы – $1,5 \pm 0,08$ у.е. (рисунок 3.2.6).

Однако, статистически достоверных различий между средними значениями у инфицированных женщин и контрольной группой ($p > 0,05$) выявлено не было. Вместе с тем, следует учесть, что, по данным литературы, понижение данного показателя наблюдается при различных хронических бактериальных инфекциях [150].

Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов в крови пациенток с острым течением трихомонадной инфекции имели тенденцию к повышению и составляли для фагоцитарного индекса – 83 %, активированного НСТ-теста – 62 %, спонтанного НСТ-теста – 9 %. Напротив, тенденция к понижению наблюдалась у женщин с хроническим течением и составляла для фагоцитарного индекса – 42 %, активированного НСТ-теста – 26 %, спонтанного НСТ-теста – 3 %. При этом, в контрольной группе показатели фагоцитарной активности нейтрофилов в крови пациенток в среднем составляли для фагоцитарного индекса – 69 %, активированного НСТ-теста – 33 %, спонтанного НСТ-теста – 3 %, что находилось в пределах нормы (рисунок 3.2.7).

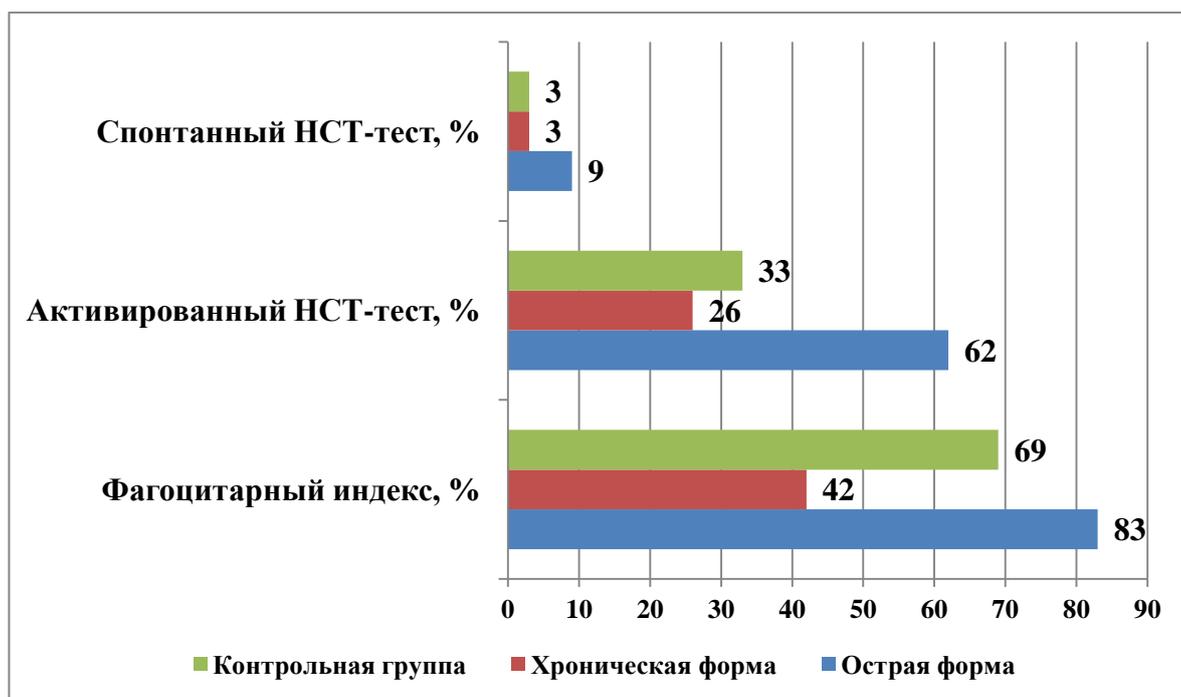


Рисунок 3.2.7 – Средние значения показателей фагоцитарной активности нейтрофилов в крови пациенток с трихомонадной инфекцией.

Таким образом, отмечается повышение показателей фагоцитарной активности нейтрофилов в крови пациенток с острой инфекцией, вызванной *T.vaginalis*, и понижение – в группе с хронической. Указанное повышение в группе женщин с острой трихомонадной инфекцией подтверждает наличие в их

организме бактериальных воспалительных процессов. Согласно данным литературы, понижение показателей фагоцитарной активности нейтрофилов в крови пациенток свидетельствует о различных нарушениях в системе неспецифического клеточного иммунитета у данной категории пациентов, что также может быть связано с пониженной продукцией фагоцитов, быстрым их разрушением, нарушением подвижности, а также повреждением их основной функции – поглощения и уничтожения бактериального агента.

Среди показателей активности гуморальных факторов врожденного иммунитета у женщин обеих испытуемых групп, как с острым, так и хроническим течением трихомонадной инфекции показатели общего белка были несколько ниже нормальных значений – $67 \pm 2,1$ г/л и $65 \pm 2,2$ г/л, соответственно, против $74 \pm 8,1$ г/л – у лиц контрольной группы (рисунок 3.2.8).

Таким образом, результаты изучения показателей активности гуморальных факторов врожденного иммунитета (общий белок, г/л) показали статистически достоверные различия между средними значениями у инфицированных женщин и контрольной группой ($p < 0,05$).

Выявлены изменения выше нормальных значений показателей альбуминов у женщин с хронической формой заболевания - $61,7 \pm 2,3$ г/л, у женщин с острой формой были в пределах нормы, составив $54,1 \pm 2,3$ г/л. В контрольной группе данный показатель в среднем составлял $55,0 \pm 2,3$ г/л, который также соответствовал нормальным значениям (рисунок 3.2.9).

Таким образом, выявлены нарушения в содержании средних уровней альбуминов в группе женщин с хроническим течением трихомонадной инфекции. Выявленные изменения показали статистически значимые различия между средними значениями у инфицированных женщин и контрольной группой ($p < 0,05$).

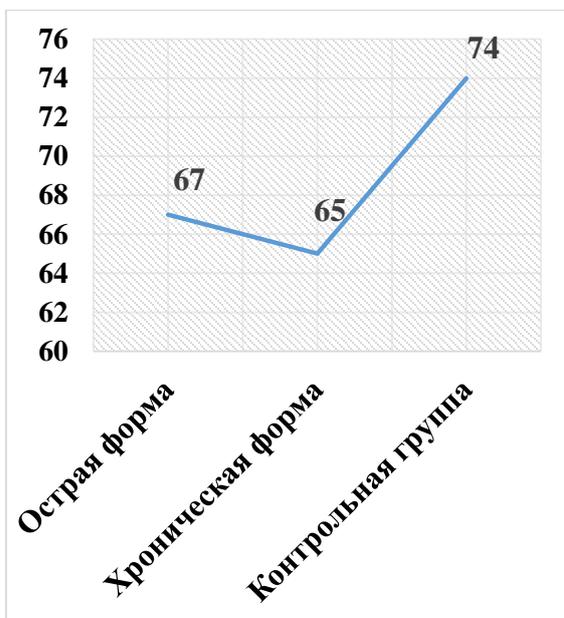


Рисунок 3.2.8 – Средние значения показателей активности гуморальных факторов врожденного иммунитета (общий белок, г/л) в крови пациенток с трихомонадной инфекцией.

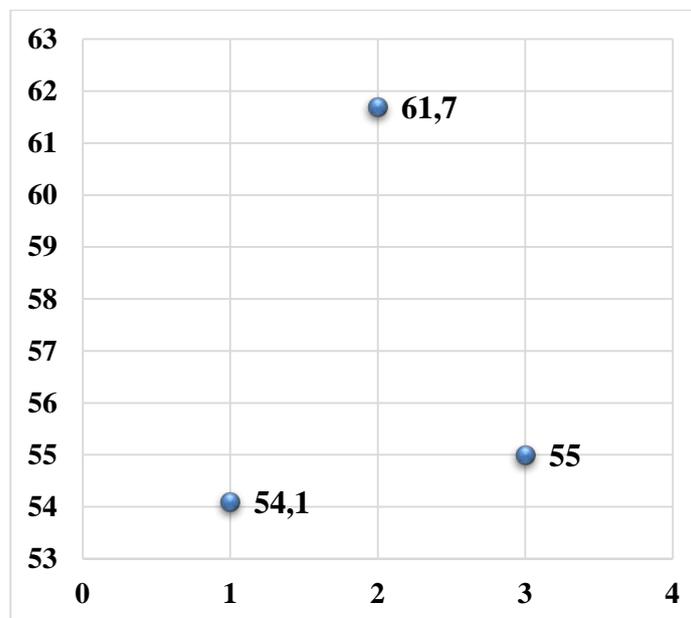


Рисунок 3.2.9 – Средние значения показателей активности гуморальных факторов врожденного иммунитета (альбуминов, г/л) в крови пациенток с трихомонадной инфекцией.

Выше нормальных значений установлено содержание $\alpha 1$ -глобулинов в сыворотке крови у женщин обеих испытуемых групп. Так, средние показатели $\alpha 1$ -глобулинов у женщин с острым течением трихомонадной инфекции составили $3,5 \pm 0,8$ г/л, с хроническим – $4,2 \pm 0,8$ г/л. Указанный показатель у лиц контрольной группы в среднем составлял $3,0 \pm 0,7$ г/л, что также находилось в пределах нормы (рисунок 3.2.10).

Таким образом, выявлено повышенное содержание средних уровней $\alpha 1$ -глобулинов у обеих групп женщин с трихомонадной инфекцией. Интересным является тот факт, что при нормальных значениях общего белка в организме, встречающиеся изменения соотношения белковых фракций позволяют диагностировать нарушения патологического функционирования. Отмечается, что $\alpha 1$ -глобулины повышаются при различных воспалительных заболеваниях [152]. Результаты изучения показателей $\alpha 1$ -глобулинов показали статистически значимые различия между средними значениями у инфицированных женщин и контрольной группой ($p < 0,05$).

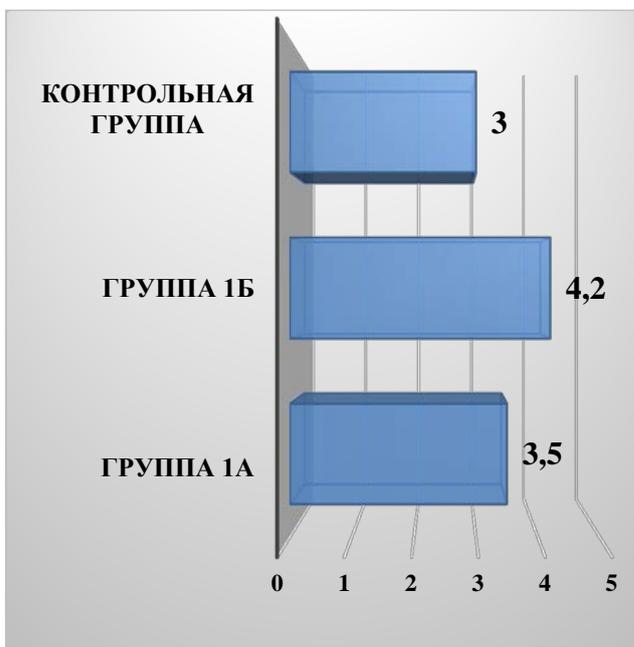


Рисунок 3.2.10 – Средние значения показателей активности гуморальных факторов врожденного иммунитета (α 1-глобулинов, г/л) в крови пациенток с трихомонадной инфекцией.

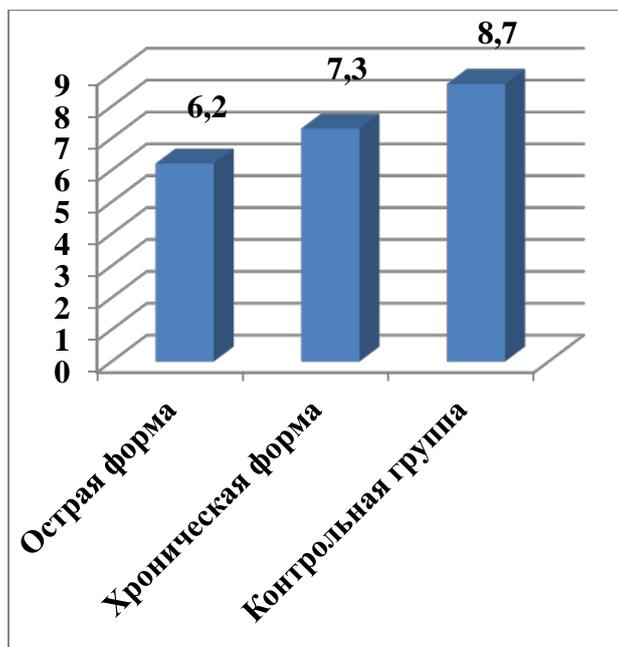


Рисунок 3.2.11 – Средние значения показателей активности гуморальных факторов врожденного иммунитета (α 2-глобулинов, г/л) в крови пациенток с трихомонадной инфекцией.

При исследовании α 2-глобулинов в сыворотке крови испытуемых выявлено сниженное содержание указанных показателей у женщин обеих групп с трихомонадной инфекцией. В группе пациентов с острым течением содержание α 2-глобулинов было $6,2 \pm 0,4$ г/л, с хроническим – $7,3 \pm 1,5$ г/л. Из представленных данных рисунка 3.2.11, средний уровень α 2-глобулинов составлял $8,7 \pm 1,3$ г/л в контрольной группе, что находилось в пределах нормальных значений.

Таким образом, в сыворотке крови у пациенток с трихомонадной инфекцией содержание α 2-глобулинов продемонстрировало статистически значимые различия между средними показателями у инфицированных женщин и контрольной группой ($p < 0,05$).

При анализе содержания β -глобулинов в сыворотке крови у пациенток с трихомонадной инфекцией показал повышенные уровни данного показателя в обеих исследованных группах. У женщин с острым течением инфекции

уровень β -глобулинов составил $11,6 \pm 1,5$ г/л, а у женщин с хроническим течением — $12,9 \pm 2,7$ г/л. Для сравнения, в контрольной группе данный показатель составил $9,1 \pm 1,9$ г/л (рисунок 3.2.12).

Роль β -глобулинов в организме человека чрезвычайно важна. Известно, что β -глобулины участвуют в реакциях иммунитета в организме [251].

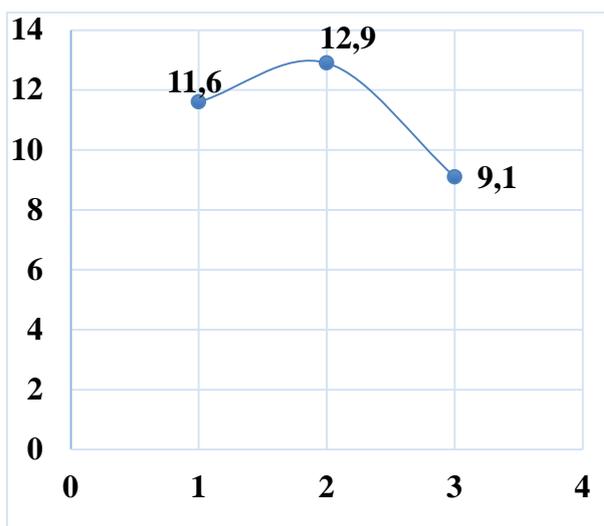


Рисунок 3.2.12 – Средние значения показателей в крови пациенток с трихомонадной инфекцией активности гуморальных факторов врожденного иммунитета (β -глобулинов, г/л).

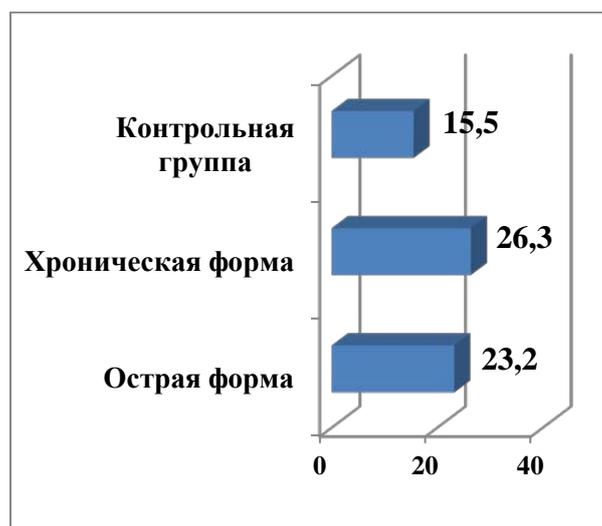


Рисунок 3.2.13 – Средние значения показателей в крови пациенток с трихомонадной инфекцией активности гуморальных факторов врожденного иммунитета (γ -глобулинов, г/л).

Таким образом, средние уровни β -глобулинов как в группе женщин с острой инфекцией, вызванной *T.vaginalis*, так и с хронической инфекцией, были выше нормы. Показаны статистически значимые различия между средними значениями у инфицированных женщин и контрольной группой ($p < 0,05$).

Повышенные показатели получены при изучении содержания γ -глобулинов в сыворотке крови у женщин с трихомонадной инфекцией. Так, средние показатели γ -глобулинов у лиц с острым течением трихомонадной инфекции составили $23,2 \pm 2,1$ г/л, с хроническим - $26,3 \pm 3,2$ г/л, против $15,5 \pm 2,1$ г/л в контрольной группе (рисунок 3.2.13).

Таким образом, установлено повышенное содержание γ -глобулинов, как в группе женщин с острым течением инфекционного процесса, так и хроническим.

Показаны статистически значимые различия между средними значениями у инфицированных женщин и контрольной группой ($p < 0,05$).

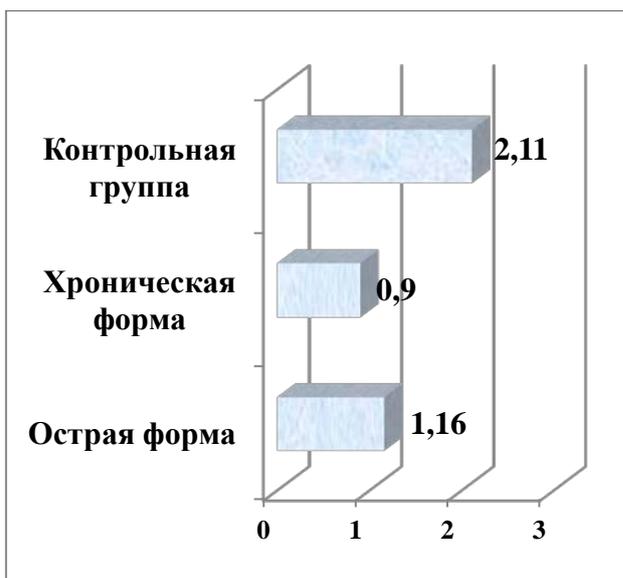


Рисунок 3.2.14 – Средние значения IgA (г/л) у женщин с трихомонадной инфекцией.

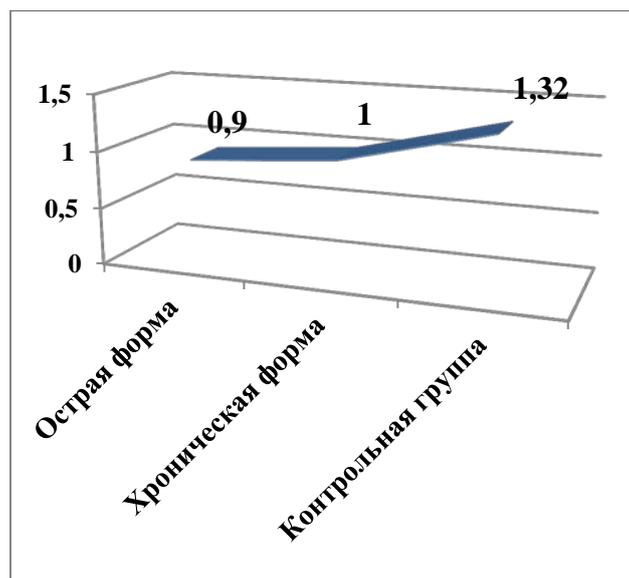


Рисунок 3.2.15 – Средние значения IgM (г/л) у женщин с трихомонадной инфекцией.

Некоторые авторы отмечают, что γ -глобулины изменяются под воздействием каких-либо воспалительных процессов в организме, в особенности, протекающих в хронической форме с локализацией в половой системе [152].

Сниженное содержание у лиц обеих испытуемых групп обнаружено при исследовании содержания IgA. У лиц с острым течением трихомонадной инфекции, средние значения иммуноглобулина IgA в группе составили $1,16 \pm 0,10$ г/л, у лиц с хроническим течением – $0,9 \pm 0,27$ г/л, в контрольной группе – $2,11 \pm 0,10$ г/л (рисунок 3.2.14).

Таким образом, результаты изучения маркера IgA показали статистически значимые различия между средними значениями у инфицированных женщин и контрольной группой ($p < 0,05$).

Следует отметить, что данный белок отвечает за состояние гуморального ответа в организме и его используют для определения местного иммунитета, так как этот гамма-глобулин защищает стенки мочеполовых путей женщин от прикрепления бактерий. Данные литературы

указывают на то, что понижение указанного показателя в крови испытуемых наблюдается при различных хронических бактериальных инфекциях [152].

Средние значения IgM в обеих испытуемых группах пациентов с трихомонадной инфекцией имели некоторую тенденцию снижения по сравнению с таковыми контрольной группы - при острой форме – $0,9 \pm 0,06$ г/л и хронической – $1,0 \pm 0,44$ г/л, против $1,32 \pm 0,08$ г/л в контроле (рис. 3.2.15).

Таким образом, результаты изучения маркера IgM показали статистически достоверные различия между средними значениями у инфицированных женщин и контрольной группой ($p < 0,05$).

Аналогично, ниже нормы зарегистрированы средние значения уровня IgG также в обеих испытуемых группах: при остром течении заболевания этот показатель составил $7,66 \pm 0,40$ г/л, при хроническом – $7,9 \pm 0,32$ г/л, против 12,74 в контроле (рисунок 3.2.16).

Таким образом, отмечается понижение средних уровней IgG как в группе женщин с острой трихомонадной инфекцией, так и хронической. Показаны статистически достоверные различия между средними значениями у инфицированных женщин и контрольной группой ($p < 0,05$).

Известно, что данные показатели обеспечивают вторичный иммунитет в ответ на присутствующую в организме человека инфекцию. Указано, основная роль этого маркера в организме человека состоит в образовании комплекса «антиген-антитело». В литературе имеются сведения, что в организме человека данный показатель понижается, как правило, в результате хронической инфекции [152].

Исследование уровня IgE в сыворотке крови пациентов с трихомонадной инфекцией показало значительное повышение относительно контрольных значений. Так, в группе женщин с острым течением инфекционного процесса указанный показатель составил – $135,2 \pm 9,2$ КЕ/л и у женщин с хроническим течением – $141,2 \pm 5,2$ КЕ/л против $98,1 \pm 6,1$ КЕ/л в группе контроля (рисунок 3.2.17).

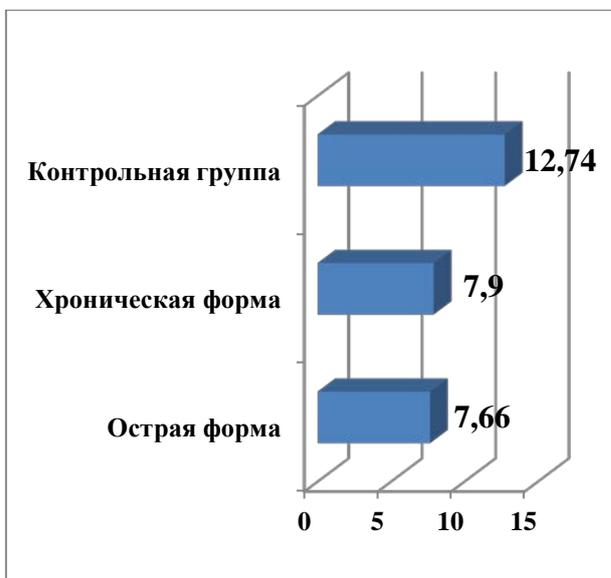


Рисунок 3.2.16 – Средние значения IgG (г/л) у женщин с трихомонадной инфекцией.

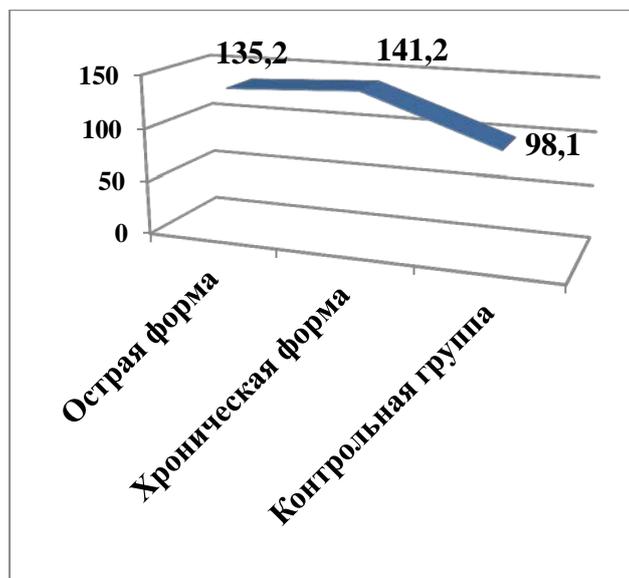


Рисунок 3.2.17 – Средние значения IgE (KE/л) у женщин с трихомонадной инфекцией.

Таким образом, отмечено повышение средних уровней IgE, как в группе женщин с острой инфекцией *T.vaginalis*, так и хронической. Показаны статистически значимые различия между средними значениями у инфицированных женщин и контрольной группой ($p < 0,05$).

По данным литературы, повышение значений IgE свидетельствует о наличии общей аллергизации организма, что имеет место при хронических инфекционных процессах [152].

Таким образом, как следует из приведенных выше данных, в основной группе отмечаются нормальные средние значения показателей клеточного иммунитета, что проявляется отсутствием изменений количества лимфоцитов $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$, $CD19^+$ как при острой, так и при хронической формах трихомонадной инфекции, а также отсутствием статистически значимой разницы этих показателей по сравнению с контрольной группой ($p > 0,05$). Некоторое снижение количества лимфоцитов при изучении соотношения ИРИ ($CD3^+ + CD4^+ / CD3^+ + CD8^+$) по сравнению с контрольной группой не показало статистически значимой разницы в средних значениях этого показателя ($p < 0,05$).

Для таких показателей как : $\alpha 1$ -глобулины, $\alpha 2$ -глобулины, β -глобулины, γ -глобулины, IgA, IgG, IgE, фагоцитарной активности нейтрофилов, альбумины,

общий белок, доказаны статистически значимые различия в показателях гуморального иммунитета между инфицированными женщинами и контрольной группой ($p < 0,05$).

Дополнительно, нами также было изучено изменение выявленных нарушений иммунитета в динамике.

На рисунке 3.2.18 представлено результаты изучения средних показателей гуморального иммунитета (IgE, КЕ/л) в динамике (сравнение значений при острой и хронической инфекциях).

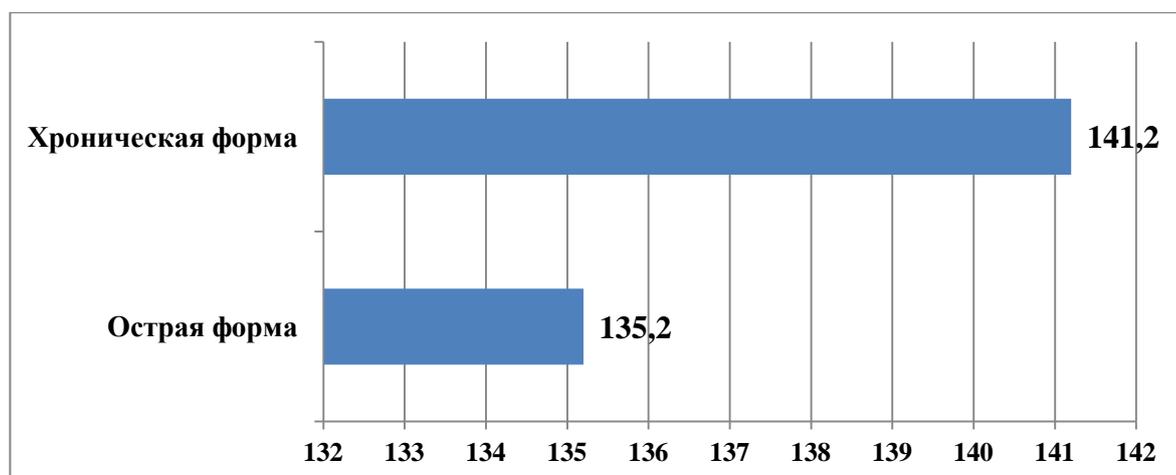


Рисунок 3.2.18 – В зависимости от длительности заболевания динамика иммунологических нарушений (IgE, КЕ /л) в крови женщин с трихомонадной инфекцией.

Из представленных данных на рисунке 3.2.18, для иммуноглобулина IgE в динамике степень выраженности нарушений не имела существенных отличий при остром и хроническом течении трихомонадной инфекции.

На рисунке 3.2.19 представлено изучение средних показателей гуморального иммунитета (фагоцитарная активность нейтрофилов) в динамике (сравнение значений при острой и хронической инфекциях). Как показано на рисунке 3.2.19, нарушения средних значений показателей фагоцитарной активности нейтрофилов при острой инфекции *T.vaginalis* были более выраженными в соответствии со спонтанным и активированным НСТ-тестом, чем при хронической инфекции.

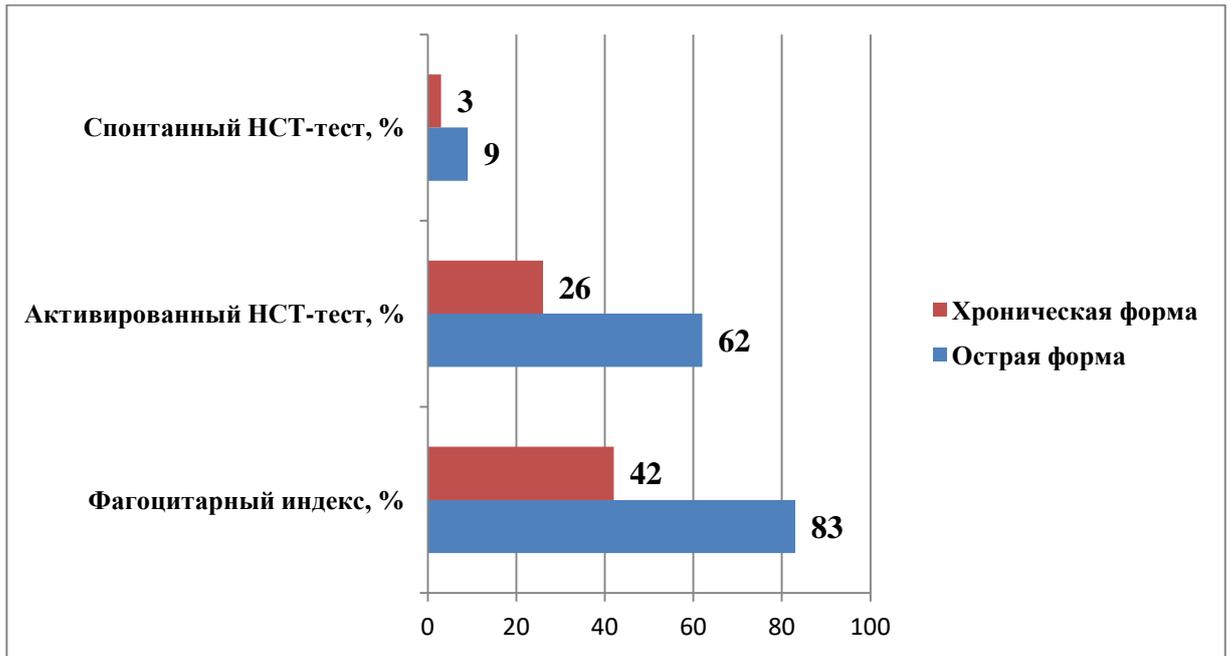


Рисунок 3.2.19 – Динамика иммунологических нарушений (фагоцитарная активность нейтрофилов) в крови женщин с трихомонадной инфекцией в зависимости от длительности заболевания.

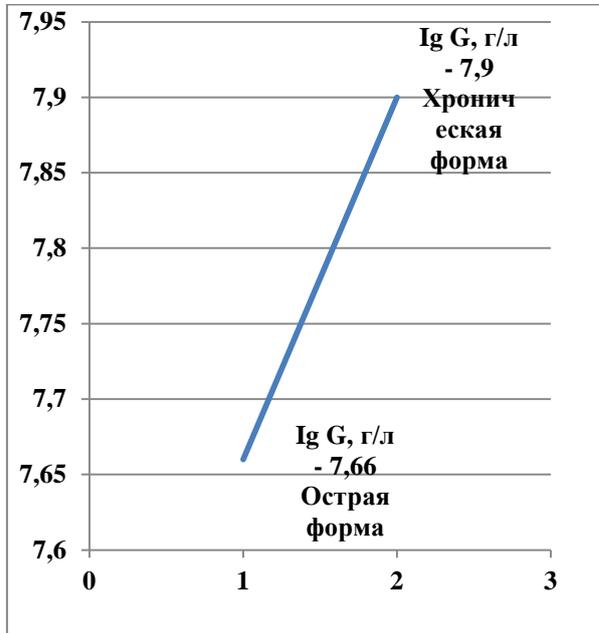


Рисунок 3.2.20 – Динамика иммунологических нарушений (IgG, г/л) в крови женщин с трихомонадной инфекцией в зависимости от длительности заболевания.

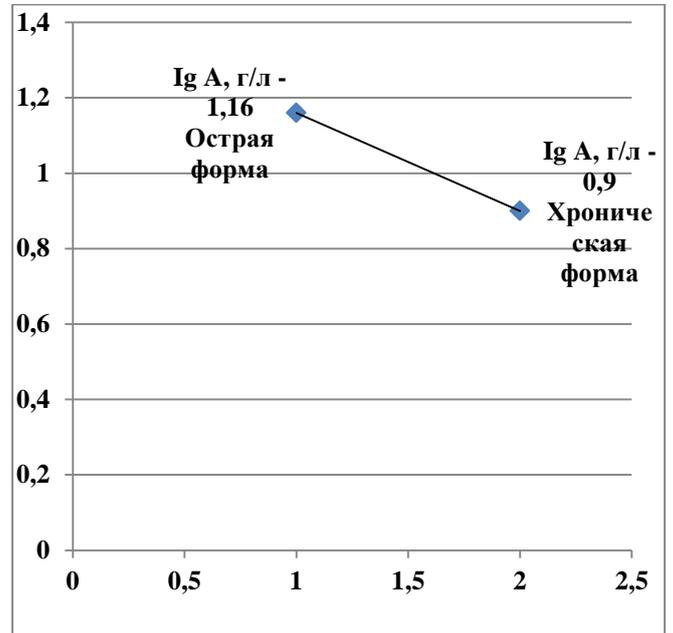


Рисунок 3.2.21 – Динамика иммунологических нарушений (IgA, г/л) в крови женщин с трихомонадной инфекцией в зависимости от длительности заболевания.

Изучение средних показателей гуморального иммунитета (IgG, г/л) в динамике (сравнение значений при острой и хронической инфекциях) представлено на рисунке 3.2.20.

Как показано на рисунке 3.2.20, при острой инфекции *T.vaginalis* были более выраженными нарушения средних значений IgG, чем при хронической инфекции.

Изучение средних показателей гуморального иммунитета (IgA, г/л) в динамике (сравнение значений при острой и хронической инфекциях) представлено на рисунке 3.2.21.

Как показано на рисунке 3.2.21, при остром течении трихомонадной инфекции наблюдаются более выраженные нарушения средних значений IgA, чем при хронической инфекции.

Изучение средних показателей гуморального иммунитета (γ -глобулины, г/л; β -глобулины, г/л; $\alpha 1$ -глобулины, г/л; $\alpha 2$ -глобулины, г/л; альбумины, г/л) в динамике (сравнение значений при острой и хронической инфекциях) представлено на рисунке 3.2.22.

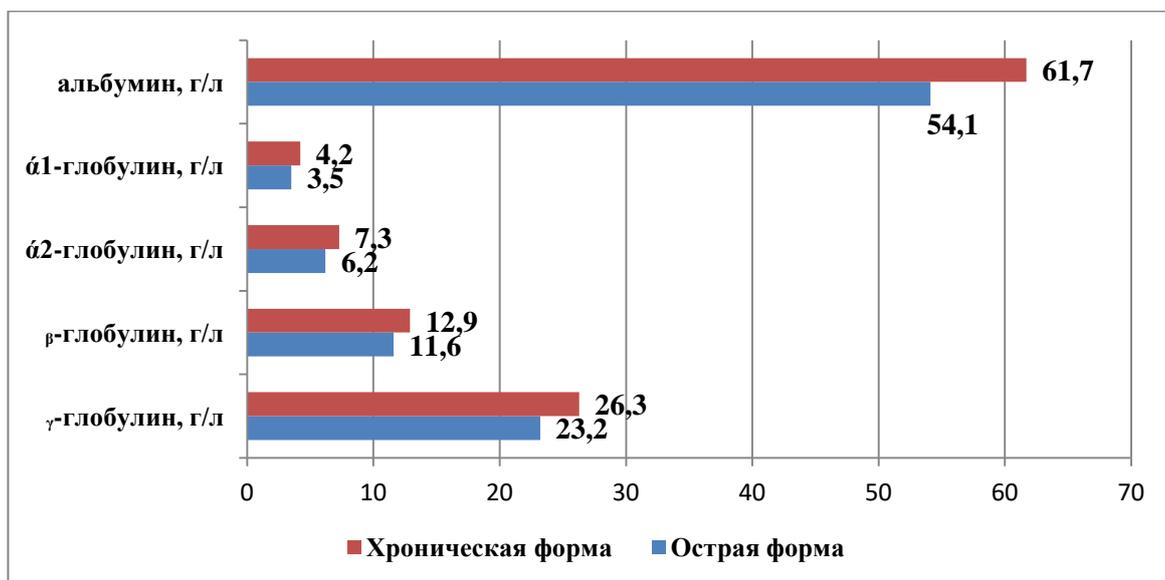


Рисунок 3.2.22 – Динамика иммунологических нарушений (γ -глобулины, г/л; β -глобулины, г/л; $\alpha 1$ -глобулины, г/л; $\alpha 2$ -глобулины, г/л; альбумины, г/л) в крови женщин с трихомонадной инфекцией в зависимости от длительности заболевания.

Из данных, представленных на рисунке 3.2.22, при хроническом течении трихомонадной инфекции были более характерными нарушения таких показателей как γ -глобулины, β -глобулины, $\alpha 1$ -глобулины, $\alpha 2$ -глобулины, альбумины, чем при острой инфекции.

Итак, в результате изучения динамики иммунологических нарушений в крови женщин с трихомонадной инфекцией в зависимости от длительности заболевания выявлено, что в динамике степень выраженности нарушений не имела существенных отличий при остром и хроническом течении заболевания для IgE. При этом, нарушения средних значений показателей фагоцитарной активности нейтрофилов при острой инфекции были более выраженными в соответствии со спонтанным и активированным НСТ-тестом, чем при хронической инфекции. При острой форме были также более выраженными нарушения средних значений IgG, IgA, чем при хронической. При хроническом процессе были более характерными нарушения таких показателей как γ -глобулины, β -глобулины, $\alpha 1$ -глобулины, альбумины, чем при остром.

Учитывая полученные данные в отношении показателей со статистически значимыми различиями между инфицированными женщинами и контрольной группой, нами была изучена степень повреждения иммунитета исходя из сравнения полученных уровней показателей иммунитета с референтными значениями для показателей, которые достоверно отличались от контрольной группы ($p < 0,05$).

В группе женщин с острой инфекцией, вызванной *T.vaginalis*, фагоцитарный индекс был выше нормы в среднем на 38 %, а в группе женщин с хронической инфекцией, указанный показатель ниже нормы в среднем на 30%. Выявленные изменения были статистически значимыми ($p < 0,05$).

В группе женщин с острой инфекцией, вызванной *T.vaginalis*, активированный НСТ-тест, как показатель фагоцитарной активности нейтрофилов, показал значения выше нормы в среднем на 24 %, в группе женщин с хронической инфекцией - ниже нормы в среднем на 13,33 %. Выявленные изменения были статистически значимыми ($p < 0,05$).

В группе женщин с острым течением трихомонадной инфекции спонтанный НСТ-тест, отражающий фагоцитарную активность нейтрофилов, показал значения, превышающие норму в среднем на 29%. В то же время, у женщин с хронической инфекцией данный показатель находился на нижней границе нормы. Обнаруженные изменения в группе с острым течением инфекции имели статистически значимую разницу ($p < 0,05$).

У женщин с хронической трихомонадной инфекцией уровень альбуминов был выше нормы в среднем на 12,18%, в то время как у женщин с острой инфекцией данный показатель находился в пределах нормальных значений. Обнаруженные изменения в группе женщин с хронической инфекцией были статистически значимыми ($p < 0,05$).

При остром течении трихомонадной инфекции, уровень α 1-глобулинов зарегистрирован выше нормы, в среднем, на 16,67 %, при хроническом - выше нормы в среднем на 40 %, что в 2,5 раза больше, чем в группе женщин с острым течением заболевания. Выявленные изменения были статистически значимыми ($p < 0,05$).

Аналогично, в группе женщин с острым течением трихомонадной инфекции β -глобулины были выше нормы в среднем на 27,47 %, а при хроническом течении – превысили нормальные значения, в среднем на 41,76 %, что также значительно больше, чем у женщин с острым течением. Выявленные изменения были статистически значимыми ($p < 0,05$).

Содержание γ -глобулинов в группе женщин с острым инфекционным процессом также зарегистрировано выше нормы в среднем на 36,47 %, при хроническом – выше нормы почти в 2 раза, что составило, в среднем, 54,71 %. Выявленные изменения были также статистически значимыми ($p < 0,05$).

Уровень IgA у женщин с острым течением трихомонадной инфекции, выше нормы в среднем на 10,77 %, с хроническим течением – на 46,15 %, что выше в 4,5 раза, чем при остром течении. Выявленные изменения также статистически значимые ($p < 0,05$).

Уровень IgG в группе женщин с острой формой зарегистрирован выше нормы в среднем на 4,25 %, при хронической – на 1,25 %. Выявленные изменения в группе женщин с острой инфекцией были достоверно значимыми ($p < 0,05$), при хронической – изменения не представляли статистической значимости.

Повышение секреции иммуноглобулина E также наблюдалось у женщин обеих испытуемых групп. Причем большее отклонение от нормы в сторону повышения зарегистрировано у женщин с хроническим течением заболевания. Так, у женщин с острым течением уровень IgE был выше нормы в среднем на 13,52 %, у женщин с хроническим – выше нормы на 14,12 %. Выявленные изменения также статистически значимые ($p < 0,05$).

Нами установлены неблагоприятные изменения практически всех гуморальных факторов и показателей фагоцитарной активности нейтрофилов в крови испытуемых женщин с трихомонадной инфекцией.

Таким образом, несмотря на сохранение общего уровня белка в нормальных значениях, отмечался некоторый дисбаланс в его основных фракциях. В особенности, увеличение $\alpha 1$ -, β - и γ -глобулиновых фракций приводит к повышению глобулинов. Вместе с этим, среди всех γ -глобулинов IgE характеризовались показателями, что были значительно выше нормы, при этом, уровни IgA и IgG характеризовались существенным понижением в сыворотке крови испытуемых.

Исходя из вышеизложенного, по данным таблицы 3.2.2 можно увидеть выраженность нарушений иммунного статуса женщин с трихомонадной инфекцией по состоянию гуморального звена иммунитета в процентном отношении как для острой, так и для хронической форм.

Из данных представленных в таблице 3.2.2 видно, среди показателей активности гуморальных факторов врожденного (неспецифического) иммунитета для острого течения заболевания было характерным значительное превалирование нарушений для IgG, проявляющегося в большем снижении по сравнению с показателями у женщин с хроническим течением. Кроме этого,

процент понижения показателя IgG не был статистически значимым ($p > 0,05$) при хроническом процессе у женщин.

Таблица 3.2.2 – Динамика иммунологических нарушений в сыворотке крови женщин с трихомонадной инфекцией в зависимости от длительности заболевания (%)

Показатели	Острая форма	Хроническая форма	Контрольная группа
Фагоцитарный индекс	↑ (83)	↓ (42)	69
Активированный НСТ-тест	↑ (62)	↓ (26)	33
Спонтанный НСТ-тест	↑ (9,0)	Норма	3
Общий белок	↓ (67,0)	↓ (65,0)	74
Фракции белка, альбумины	Норма	↑ (61,7)	55
α1-глобулины	↑ (3,5)	↑ (4,2)	3
α2-глобулины	↓ (6,2)	↓ (7,3)	8,7
β-глобулины	↑ (11,6)	↑ (12,9)	9,1
γ-глобулины	↑ (23,2)	↑ (26,3)	15,5
IgA	↓ (1,16)	↓ (0,6)	2,11
IgM	↓ (0,9)	↓ (1,0)	1,32
IgG	↓ (7,6)	↓ (7,9)	12,74
IgE	↑ (135,2)	↑ (141,2)	98,1

Примечание: ↓ – показатель ниже нормы, ↑ – показатель выше нормы

Однако при хронической форме трихомонадной инфекции показатели активности гуморальных факторов врожденного (неспецифического) иммунитета были более выражены, что отмечалось практически среди всех маркеров, а именно: IgA, γ-глобулины, β-глобулины, α1-глобулины, альбумины. Показатели IgM, α2-глобулины и общий белок были в пределах нормы при острой и хронической формах, а нарушения показателей IgE как при острой, так и хронической формах не отличались по степени выраженности нарушений.

При этом, уровень альбуминов находился в пределах нормы при острой форме трихомонадной инфекции.

Выявлены нарушения показателей фагоцитарной активности нейтрофилов в крови, как маркеров неспецифического клеточного иммунитета, в частности, более значимые (в процентном отношении) нарушения в сторону повышения фагоцитарного индекса, активированного НСТ-теста, спонтанного НСТ-теста установлены при остром течении трихомонадной инфекции.

Однако, эти же маркеры значительно понижались при хроническом течении трихомонадной инфекции, или были в пределах нормальных значений (спонтанный НСТ-тест).

Итак, нарушения фагоцитарной активности лейкоцитов, и, в особенности, их понижение при хронической форме заболевания свидетельствует о значительном нарушении иммунного статуса, именно в организме женщин с хронической трихомонадной инфекцией [148].

Таким образом, реализация патогенных свойств *T.vaginalis* обусловлена длительностью персистенции микроорганизма в организме женщин, однако нами выявлено, что нарушения со стороны иммунитета в гуморальном звене наблюдались в том числе и при острой инфекции.

На рисунке 3.2.23 показано повышение в процентном отношении показателей иммунитета у женщин с острым течением трихомонадной инфекции по сравнению с нормой.

Выявленные нарушения при остром течении трихомонадной инфекции были статистически значимыми ($p < 0,05$).

На рисунке 3.2.24 представлены данные, свидетельствующие о снижении гуморальных факторов (IgA, IgG) иммунитета в процентном отношении при остром течении трихомонадной инфекции в сравнении с показателями нормы. Выявленные нарушения в сравнении с показателями нормы были статистически значимыми ($p < 0,05$).

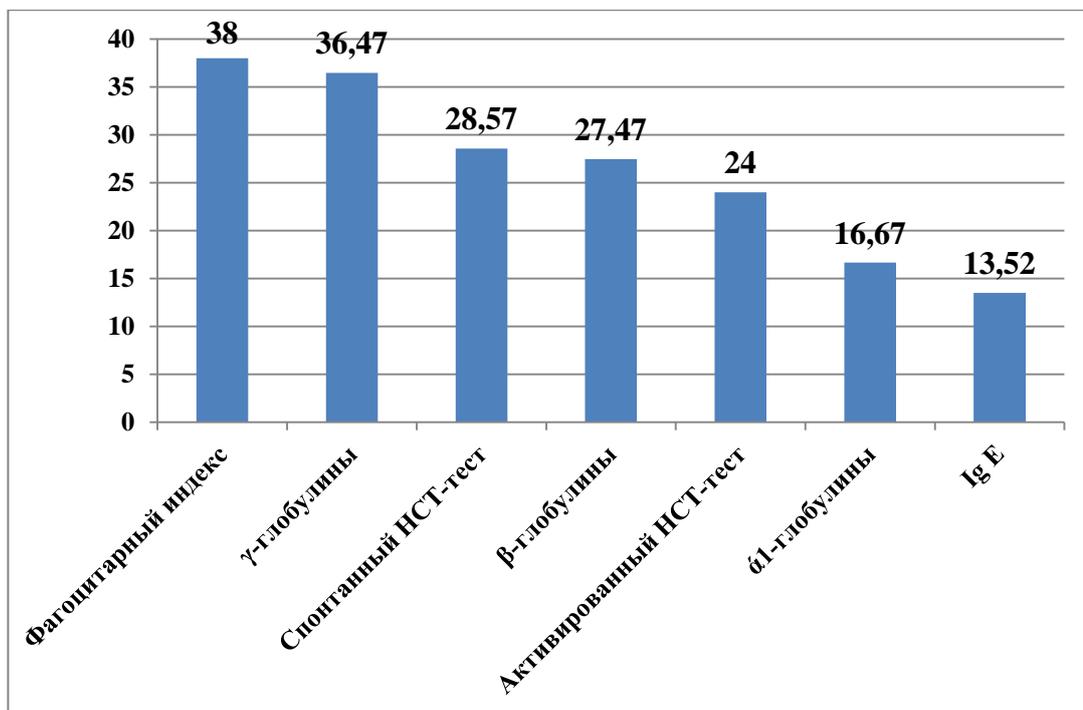


Рисунок 3.2.23 – Процент повышения показателей иммунитета у женщин с острым течением трихомонадной инфекции по сравнению с нормой.

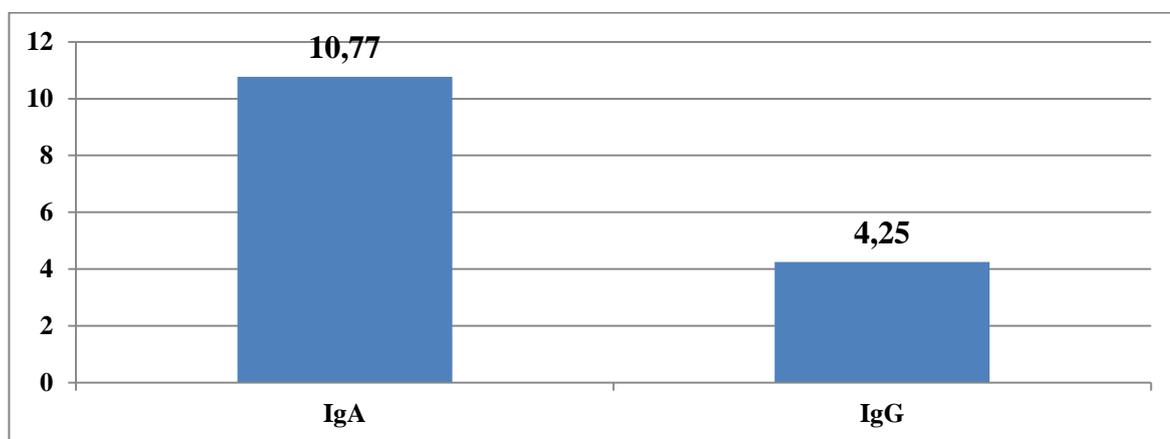


Рисунок 3.2.24 – Процент снижения показателей иммунитета у женщин с острым течением трихомонадной инфекции по сравнению с нормой.

На рисунке 3.2.25 показано снижение показателей иммунитета в процентном отношении у женщин при хроническом течении трихомонадной инфекции по сравнению с нормой.

Выявленные нарушения у женщин с хронической инфекцией были статистически значимыми ($p < 0,05$). Показатели IgG были исключены из рисунка 3.25, так как они не были статистически значимыми ($p > 0,05$).

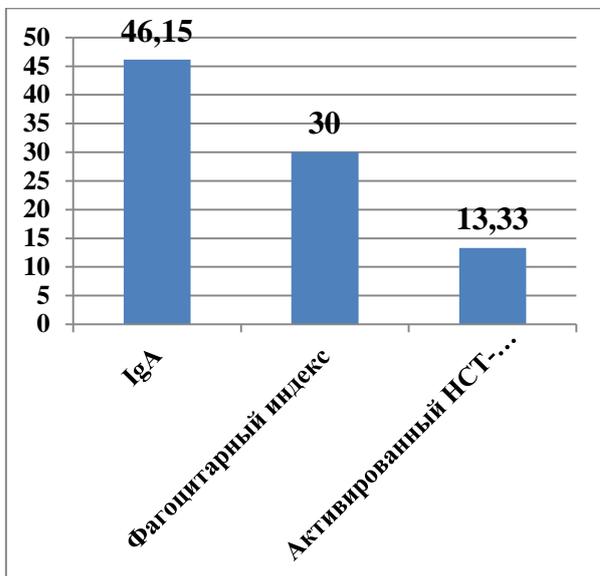


Рисунок 3.2.25 – Процент снижения показателей иммунитета у женщин при хроническом течении трихомонадной инфекции по сравнению с нормой.

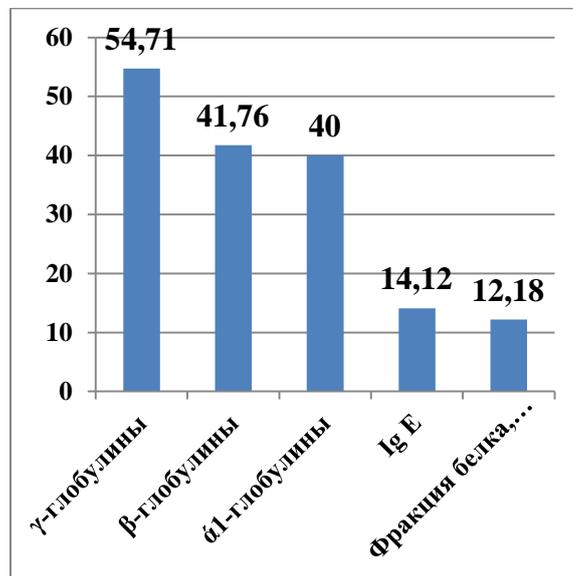


Рисунок 3.2.26 – Процент повышения показателей иммунитета у женщин при хроническом течении трихомонадной инфекции по сравнению с нормой.

На рисунке 3.2.26 показан повышенный уровень иммунных белков сыворотки крови женщин с хроническим течением трихомонадной инфекции. Показатели представлены в процентном соотношении в сравнении с нормальными значениями.

На представленном рисунке 3.2.26 отображены статистически значимые нарушения в иммунитете в процентном отношении у женщин с хроническим течением трихомонадной инфекции по сравнению с нормой ($p < 0,05$).

Таким образом, на основании представленных данных, в основной группе наблюдаются нормальные средние значения показателей клеточного иммунитета, что выражается в отсутствии изменений в количестве лимфоцитов CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD19+ как при острой, так и при хронической

формах трихомонадной инфекции, так же, по сравнению с контрольной группой не было выявлено статистически значимых различий этих показателей ($p > 0,05$). Не показало статистически значимой разницы ($p > 0,05$) в средних значениях в сравнении с контрольной группой незначительное снижение числа лимфоцитов при анализе соотношения ИРИ ($CD3+ + CD4+ / CD3+ + CD8+$). Эти результаты можно объяснить тем, что поверхностные белки трихомонад не вызывают выраженного системного иммунного ответа.

Доказаны статистически значимые различия в показателях гуморального иммунитета между инфицированными женщинами и контрольной группой для таких показателей: $\alpha 1$ -глобулины, $\alpha 2$ -глобулины, β -глобулины, γ -глобулины, IgA, IgG, IgE, фагоцитарной активности нейтрофилов, альбумины, общий белок ($p < 0,05$).

В результате изучения динамики иммунологических нарушений в крови женщин с трихомонадной инфекцией в зависимости от длительности заболевания выявлено, что степень выраженности нарушений не имела существенных отличий при острой и хронической формах трихомонадной инфекции для IgE. При этом, нарушения средних значений показателей фагоцитарной активности нейтрофилов при остром течении были более выраженными в соответствии со спонтанным и активированным НСТ-тестами, чем при хроническом. При острой форме были также более выраженными нарушения средних значений IgG, IgA, чем при хронической. При хронической форме трихомонадной инфекции были более характерными нарушения таких показателей как γ -глобулины, β -глобулины, $\alpha 1$ -глобулины, альбумины, чем при острой форме.

Установлены неблагоприятные изменения практически всех гуморальных факторов и показателей фагоцитарной активности нейтрофилов в процентном отношении в крови пациенток с инфекцией, вызванной *T.vaginalis*.

При этом, несмотря на сохранение общего уровня белка в нормальных значениях, отмечался некоторый дисбаланс в его основных фракциях. Увеличение $\alpha 1$ -, β - и γ -глобулиновых фракций приводит к повышению

глобулинов. Вместе с этим, среди всех γ -глобулинов IgE характеризовались показателями, что были значительно выше нормы, при этом, IgA и IgG характеризовались существенным понижением уровней в крови испытуемых при остром течении трихомонадной инфекции.

Кроме этого, при сравнении степени выраженности нарушений показателей иммунитета выявлено, что среди показателей активности гуморальных факторов врожденного (неспецифического) иммунитета для острой инфекции было характерным значительное превалирование нарушений IgG показателя (понижение) по сравнению с хронической инфекцией. Вместе с этим, процент понижения показателя IgG не был статистически значимым ($p > 0,05$) при хронической инфекции у женщин с *T.vaginalis*.

Однако, при хронической инфекции, вызванной *T.vaginalis* показатели активности гуморальных факторов врожденного (неспецифического) иммунитета были более выражены, чем при острой инфекции *T.vaginalis*, что отмечалось практически среди всех маркеров, а именно: IgA, γ -глобулины, β -глобулины, $\alpha 1$ -глобулины, альбумины.

Показатели IgM, $\alpha 2$ -глобулины и общий белок были в пределах нормы при острой и хронической формах инфекции, а нарушения показателей IgE, как при острой, так и хронической инфекциях не отличались по степени выраженности нарушений. При этом, альбумины не нарушались при остром течении трихомонадной инфекции.

Интересными были и нарушения показателей фагоцитарной активности нейтрофилов в крови женщин с трихомонадной инфекцией, так как маркеры неспецифического клеточного иммунитета, а именно: фагоцитарный индекс, активированный НСТ-тест, спонтанный НСТ-тест нарушались при острой инфекции более значимо (в процентном отношении) в сторону повышения, однако, эти же маркеры значительно понижались при хронической инфекции, или были в пределах нормальных значений (спонтанный НСТ-тест). Согласно данным литературы [187], в организме женщин с хронической трихомонадной

инфекцией свидетельством о значительном нарушении иммунного статуса является нарушения фагоцитарной активности лейкоцитов.

Из результатов данного исследования следует, что реализация патогенных свойств *T.vaginalis* обусловлена длительностью персистенции микроорганизма в организме женщин, однако, нарушения со стороны иммунитета в гуморальном звене наблюдались в том числе и при острой инфекции.

3.3 Изучение чувствительности *T.vaginalis* к препаратам группы 5-нитроимидазола (метронидазолу)

В работе изучена чувствительность к метронидазолу 40 штаммов *T.vaginalis*, выделенных от женщин, больных трихомониазом, с подострым (n=10) и хроническим (n=30) течением трихомонадной инфекции. Чувствительность штаммов *T. vaginalis* к метронидазолу *in vitro* оценивалась методом серийных разведений в жидкой питательной среде с определением минимальной ингибирующей концентрации препарата по стандартной методике. Учет результатов испытания после посева проводилась на 3-й и 5-й дни. Степень чувствительности или устойчивости штаммов *T. vaginalis* определялась по подавлению роста в присутствии препарата, а также их способности к размножению при пересеве на питательную среду, не содержащую антибиотиков.

Как показали результаты исследования 1-го опыта все исследованные штаммы *T.vaginalis* показали абсолютную резистентность относительно всех концентраций метронидазола, что обусловило использование более высоких концентраций метронидазола в следующей серии опыта.

Во 2-ой серии опыта были взяты максимально высокие концентрации метронидазола, соответствующие 2000, 1000, 500, 250, 125, 63, 32, 16, 8, 4, 2, 1 мкг/мл.

Полученные результаты определения чувствительности клинических штаммов *T.vaginalis* при различных концентрациях метронидазола представлена в таблице 3.3.1.

Таблица 3.3.1 – Результаты определения чувствительности *T.vaginalis* при различных концентрациях метронидазола (n=40)

Характеристика штаммов	Концентрация метронидазола (мкг/мл)			
	2000	1000	500	250
отсутствие роста	29	11	-	-
неподвижные клетки, грушевидной формы	5	-	-	-
неподвижные клетки, шаровидной формы	-	-	-	-
подвижные клетки, грушевидной формы	4	14	40	40
подвижные клетки, шаровидной формы	1	-	-	-
единичные, подвижные клетки с неизменной морфологией	1	9	-	-
подвижные формы	-	6	-	-
Всего:	40	40	40	40

Из данных, представленных в таблице 3.3.1, следует, что при высокой концентрации метронидазола (2000 мкг/мл) чувствительность штаммов *T.vaginalis* к препарату была выявлена только в 72,5 % (29) пробах, где наблюдалось отсутствие роста. При концентрации 1000 мкг/мл метронидазола рост не был зафиксирован в 27,5 % (11) пробах, в 12,5 % (5) пробах обнаружены неподвижные клетки с сохраненной морфологией. В 10% пробах (4 штамма) зарегистрированы подвижные клетки грушевидной формы, в 2,5 % (1) пробах – подвижные клетки шаровидной формы, а в 2,5 % (1) пробах – подвижные клетки с неизменной морфологией.

Согласно литературным данным, обнаружение неподвижных клеток *T.vaginalis* различной формы является нормальной частью их жизненного цикла. В неблагоприятных условиях такие клетки, даже будучи неподвижными, могут

перейти в подвижные и жизнеспособные формы при изменении условий окружающей среды.

При концентрации метронидазола 1000 мкг/мл было зарегистрировано 5 (12,5 %) штаммов *T. vaginalis*, где клетки имели неподвижную шаровидную форму. Почти половина (35 %) штаммов при этой концентрации была подвижной.

На концентрациях метронидазола 500 и 250 мкг/мл наблюдался интенсивный рост культуры с наличием подвижных, неизмененных форм простейших.

Изучение чувствительности штаммов *T. vaginalis* показало отсутствие роста в 29 (72,5 %) случаях только при самой высокой концентрации метронидазола (2000 мкг/мл) (таблица 3.3.2). В остальных концентрациях большинства штаммов наблюдался рост, что свидетельствует о их резистентности к препарату.

Таким образом, при концентрации 2000 мкг/мл метронидазола устойчивость проявили 27,5 % (11 из 40) штаммов, чувствительными оказались 72,5 % (29) штаммов.

Таблица 3.3.2 – Чувствительность к метронидазолу штаммов *T.vaginalis*, выделенных от женщин с трихомонадной инфекцией (n=40)

Характеристика штаммов	Концентрация метронидазола (мкг/мл)			
	2000	1000	500	250
чувствительные	29(72,5 %)	11(27,5 %)	-	-
устойчивые	11(27,5 %)	29(72,5 %)	40(100,0%)	40(100,0%)
Всего:	40	40	40	40

К концентрации 1000 мкг/мл разведения метронидазола резистентность проявило подавляющее большинство 72,5 % (29 из 40 исследованных штаммов) испытуемых штаммов *T.vaginalis* и оказались чувствительными лишь 27,5% (11 из 40 штаммов).

К третьему (500 мкг/мл) и четвертому (250 мкг/мл) разведениям метронидазола устойчивость проявили все (100,0 %) исследуемые штаммы *T.vaginalis*.

В таблице 3.3.3 представлена чувствительность к метронидазолу штаммов *T.vaginalis* в зависимости от течения заболевания.

Как видно из представленных данных таблицы 3.3.3 лишь 9 (22,5 %) исследованных штаммов *T.vaginalis*, выделенных от женщин с хроническим течением трихомонадной инфекции, проявили чувствительность к двум концентрациям метронидазола – 7 (17,5%) штаммов к 2000 мкг/мл и 2 (5,0 %) – к 1000 мкг/мл, при подостром течении – 9 (22,5 %) и 6 (15,0 %) штаммов соответственно. При более низких (250 и 125 мкг/мл) концентрациях метронидазола чувствительных штаммов ни при подостром, ни при хроническом течении заболевания выявлено не было.

Таблица 3.3.3 – Чувствительность штаммов *T.vaginalis* к различным концентрациям метронидазола, в зависимости от течения заболевания (n=40)

Течение заболевания	Чувствительные				Устойчивые			
	Концентрации метронидазола (мкг/мл)							
	2000	1000	500	250	2000	1000	500	250
Подострое (n=10)	9 90%	6 60,0%	-	-	1 10%	4 40,0%	10 100%	10 100%
Хроническое (n=30)	7 23,3%	2 6,6 %	-	-	23 76,6%	28 93,3%	30 100%	30 100%
Всего:	16	8	-	-	30	32	40	40

К концентрации 1000 мкг/мл проявили устойчивость более половины – 28 (93,3 %) испытуемых штаммов, выделенных от женщин с хроническим течением трихомонадной инфекции против 4 (40,0 %) штаммов, выделенных от женщин с подострым течением заболевания.

Устойчивость проявили больше половины 72,5 % (29) исследованных штаммов к самому высокому разведению метронидазола (2000 мкг/мл), выделенных от женщин с хроническим течением трихомонадной инфекции против 10 % (1) - с подострым течением.

Все 30 штаммов испытуемых *T.vaginalis*, выделенных от женщин с хроническим течением заболевания, оказались устойчивыми при более низких (500 и 250 мкг/мл) концентрациях метронидазола – по 100,% штаммов. У женщин с подострым течением трихомонадной инфекции зарегистрировано также по 10 устойчивых штаммов к каждому разведению – по 100,0 %.

Таким образом, проведенные исследования по изучению чувствительности штаммов *T.vaginalis*, выделенных от женщин с хронической трихомонадной инфекцией свидетельствует о высокой устойчивости клинических изолятов ко всем концентрациям метронидазола – к концентрациям 2000 и 1000 мкг/мл – 76,6 и 93,3 % испытуемых штаммов соответственно, к концентрациям 500 и 250 мкг/мл – 100 % испытуемых штаммов. Менее высокую устойчивость во всех концентрациях метронидазола проявили клинические изоляты, выделенные у женщин с подострой формой трихомонадной инфекции: при 2000 мкг/мл - 10 %; при 1000 мкг/мл - 40,0 %; при 500 мкг/мл и 250 мкг/мл - 100 %.

Определение минимальной ингибирующей концентрации комплексов калийного поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетрайодида с альбумином в отношении штаммов Trichomonas vaginalis.

Учет результатов проводили по помутнению среды, а также готовили препараты для микроскопического исследования по методу «висячей капли».

В таблице 3.3.4 представлена чувствительность к КС штаммов *T.vaginalis* в зависимости от течения заболевания. В результате определения МИК КС выяснили, что 10 (25 %) штаммов трихомонад чувствительны к аддукту в максимальной концентрации 32 мкг/мл.

Таблица 3.3.4 – Результаты МИК КС (альбуминовый комплекс поли-(1-4)-альфа-D-глюкозо-тетрайодида калия) в отношении *T.vaginalis*

Кол-во штаммов	Концентрация аддукта иода в мкг/мл											
	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,13	0,6	0,3	0,15
10(25 %)	-*	+**	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12 (30 %)	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5(12,5 %)	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7(17,5 %)	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
6(15 %)	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Примечание:</i> *- нет роста; **+ рост												

12 (30 %) штаммов трихомонад проявляют чувствительность к КС в концентрации 16 мкг/мл. 5 штаммов (12,5 %) проявляют чувствительность к КС в концентрации 8 мкг/мл. 7 (17,5) штаммов трихомонад проявили чувствительность в концентрации 4 мкг/мл. 6 (15 %) испытуемых штаммов трихомонад проявили чувствительность в концентрации 2 мкг/мл.

T.vaginalis по отношению к Координационному Соединению демонстрируют высокую устойчивость.

Для определения совместного действия препарата 5-НИ и КС методом Checkerboard «шахматной доски», готовятся разведения метронидазола: во все лунки 96-луночного полистиролового планшета вносится физ.раствор по 100 мкл. Затем по всему ряду А вносится метронидазол по 100 мкл. Титрование делается сверху вниз до ряда G, таким образом для вещества А (метронидазола)

создаем двукратный серийный убывающий градиент концентрации. Затем в 12 лунку и весь ряд вносится 2-й препарат В (координационное соединение)[233].

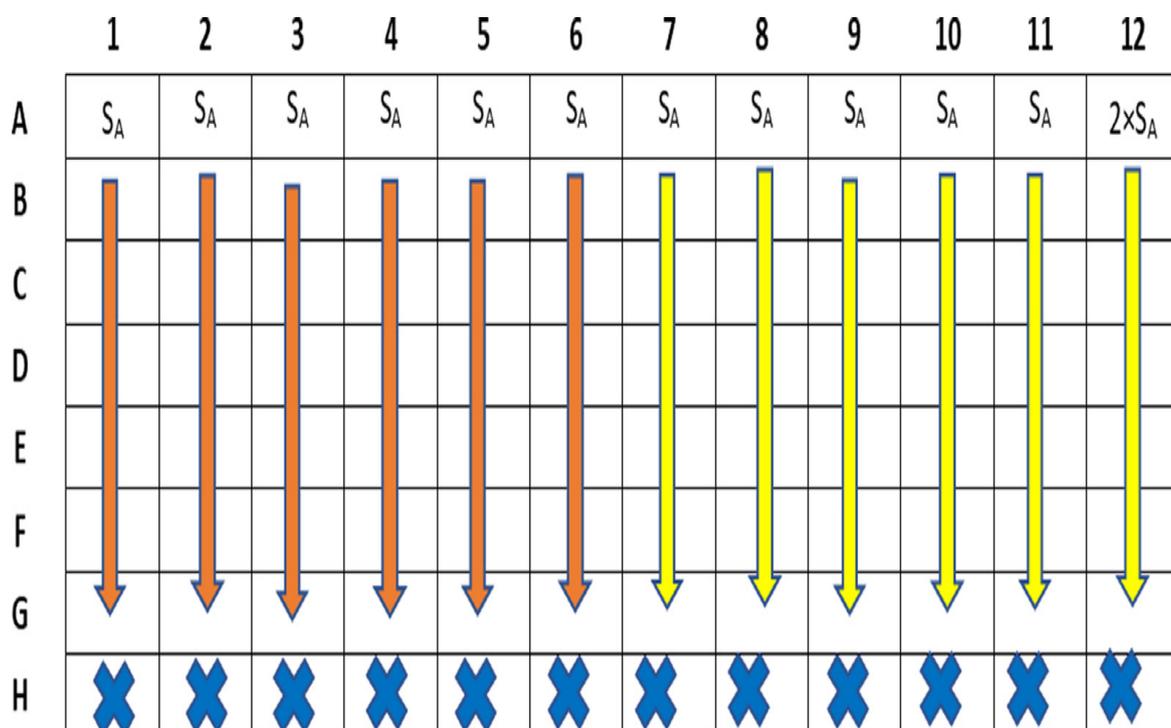


Рисунок 3.2.27 – Разведение метронидазола сверху вниз (S_A) с А до G.

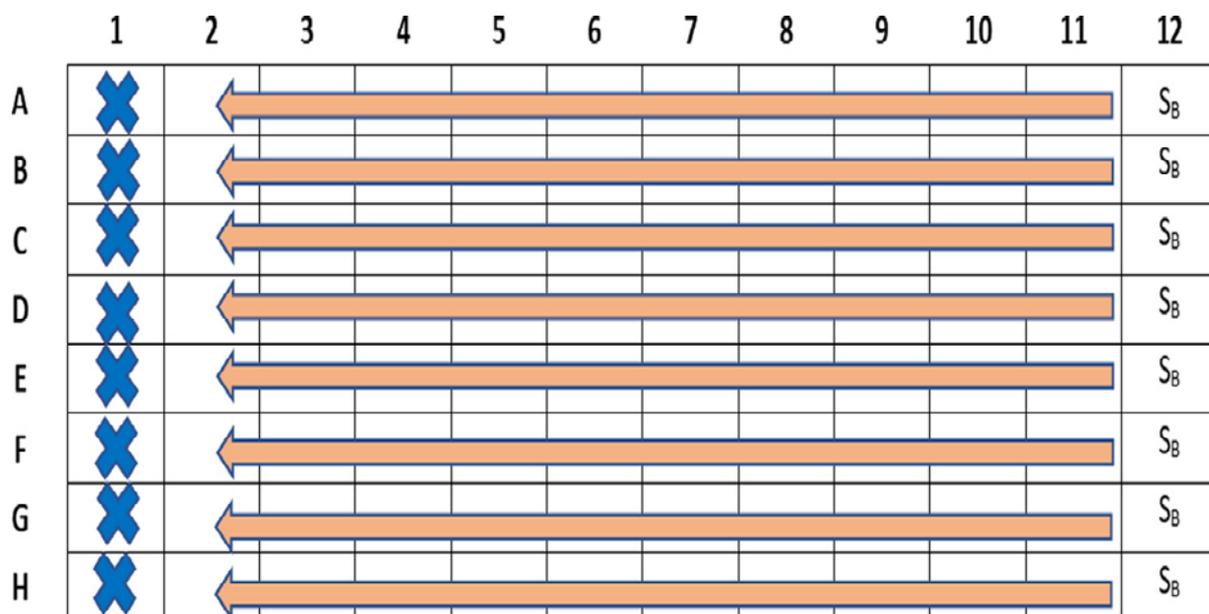


Рисунок 3.2.28 – Разведение координационного соединения по горизонтали с 12 лунки до 2.

В последних рядах готовятся разведения препаратов по отдельности.

Титрование делается уже по горизонтали с 12 лунки до 2 лунки. Уже по горизонтали создаем двукратные серийные разведения для препарата В. Затем во все лунки внесли суспензию культур *T.vaginalis* по 30 мкл.

Инкубацию проводили при 37 °С – 30 мин. Через 30 мин произвели высеv на жидкую питательную среду. Инкубация при 37 °С– 48 часов. Через 48 часов пробирки просматривали на проходящий свет и делали микроскопические препараты «висячей капли».

Результат совместного действия метронидазола и КС в отношении штаммов *T.vaginalis* представлен в таблице 3.3.5.

Таблица 3.3.5 – Результат совместного действия метронидазола и КС в отношении *T.vaginalis*

Кол-во штаммов и (%)	МИК метронидазола, мкг/ мл	Кол-во штаммов и (%)	МИК КС, мкг/ мл	Кол-во штаммов и (%)	МИК метронидазола с КС, мкг/мл	Кол-во штаммов и (%)	МИК КС с метронидазолом, мкг/мл	ФИК ≤0,5
1	2	3	4	5	6	7	8	9
29 (72,5)	2000	10(25)	32	19 (47,5)	500	26(65,0)	4↓*	0,5
11(27,5)	1000	12 (30)	16	17(42,5)	250	12(30,0)	4↓	0,5
-	500	5 (12,5)	8	2 (5)	125	2(5,0)	4↓	0,38
-	250	7 (17,5)	4	1(2,5)	62,5	-	-	-
-	125	6 (15)	2	1 (2,5)	31,25	-	-	-
-	62,5	-	1	-	15,6	-	-	-

Примечание: *↓- снижение

По данным таблицы 3.3.5 наблюдается снижение МИК метронидазола у штаммов *T.vaginalis* при совместном действии метронидазола и КС. Понижение МИК метронидазола наблюдается у 26 (65,0%) штаммов *T.vaginalis* к метронидазолу до концентрации 500 мкг/мл и у 12 (30,0%) штаммов *T.vaginalis* до 250 мкг/мл. У 5% штаммов трихомонад снижается МИК метронидазола до 125 мкг/мл.

В результате совместного тестирования КС и метронидазола не было выявлено антагонистического или нейтрального взаимодействия. Значение МИК метронидазола у устойчивых штаммов *T.vaginalis* понизилась в четыре раза.

При тестировании комбинации метронидазола и КС, были получены индексы ФИК (фракционная ингибирующая концентрация) равные и меньше 0,5, что говорит о синергизме данных препаратов по отношению к штаммам трихомонад.

Эффект потенцирования антибактериальной активности КС и метронидазола, не способного в обычных условиях проникать через наружную мембрану *T.vaginalis* к внутриклеточным мишеням, заслуживает более детального изучения в отношении возбудителей инфекций, передающихся половым путем с множественной резистентностью.

Вероятно, комбинированное использование КС и метронидазола, позволит не только преодолеть резистентность *T.vaginalis*, но и несколько замедлит дальнейшую селекцию резистентных штаммов *T.vaginalis*. Требуется проведение клинических исследований для обоснования эффективности комбинированной терапии с использованием КС и метронидазола.

Предполагается, что комбинированное применение комплекса и метронидазола может не только преодолеть резистентность *T. vaginalis*, но и замедлить дальнейшую селекцию резистентных штаммов. Для подтверждения эффективности такой комбинированной терапии необходимо проведение клинических исследований.

3.4 Определение внутриклеточного содержания метронидазола в лизатах *T.vaginalis* с помощью ВЭЖХ.

В ходе ВЭЖХ анализа раствора очищенного бактериального лизата, содержащего метронидазол, было показано, что на хроматограммах (таблица 3.4.1) присутствует пик со средним временем удерживания RT 7,174 мин, полностью соответствующий пику со средним временем удерживания RT 7,222 мин в стандартном образце метронидазола. Это

свидетельствует о том, что в исследуемом образце присутствует метронидазол.

Таблица 3.4.1 – Результаты исследования на ВЭЖХ внутриклеточного содержания метронидазола в лизатах *T.vaginalis*

№ п/п	Код образца	Фактически полученный результат		
		RT, мин	S пика, мЕА·с	C, мг/л
1	Метронидазол стандартный раствор	7,222	1118,3	[10]
2	Очищенный бактериальный лизат, содержащий метронидазол 250 мкг	7,115	4970,5	44,45
3	Очищенный бактериальный лизат, содержащий метронидазол 125 мкг	7,111	942,1	8,430
4	Очищенный бактериальный лизат, содержащий метронидазол 63 мкг	7,097	179,1	1,602
5	Очищенный бактериальный лизат, содержащий метронидазол 31 мкг	7,100	56,6	0,506
6	Очищенный бактериальный лизат, содержащий метронидазол 16 мкг	7,100	9,5	0,085
7	Очищенный бактериальный лизат, содержащий метронидазол 8 мкг	7,094	2,7	0,024
8	Очищенный бактериальный лизат, содержащий метронидазол 4 мкг	7,087	2,2	0,020
9	Очищенный бактериальный лизат, содержащий метронидазол 2 мкг	7,044	2,1	0,019
10	Очищенный бактериальный лизат, содержащий метронидазол 1 мкг	7,058	1,9	0,017
11	Очищенный бактериальный лизат, содержащий метронидазол 0,5 мкг	7,051	1,9	0,017
12	Очищенный бактериальный лизат, содержащий метронидазол 0,25 мкг	7,058	1,4	0,013
13	Очищенный бактериальный лизат, содержащий метронидазол 0,12 мкг	7,035	1,13	0,010
14	Очищенный бактериальный лизат, содержащий метронидазол 0,06 мкг	7,054	0,84	0,007
<i>Примечание</i> – [10] – концентрация стандартного образца 10 мг/л				

Результат ВЭЖХ показал внутриклеточное наличие метронидазола в низких разведениях (0,06 мкг/мл) у 56 штаммов *T.vaginalis*.

Данный эксперимент продемонстрировал, что устойчивость *Trichomonas vaginalis* к метронидазолу не обусловлена низкой проницаемостью клеточной мембраны трофозоида или выбросом препарата из клетки, а связана с нарушением образования комплексов с ДНК, снижением активности процесса образования свободных радикалов и уменьшением уровня цитотоксичных метаболитов, то есть с устойчивостью к молекулярному механизму действия препарата. Нитроимидазолы, к которым относится метронидазол, являются ДНК-ориентированными соединениями, которые избирательно воздействуют на микроорганизмы, обладающие нитроредуктазами — ферментами, способными восстанавливать нитрогруппы. Препараты группы 5-НИМЗ активируются в клетках микроорганизмов, где нитроредуктазы катализируют взаимодействие с ферридоксин-содержащими белками и нитросоединениями, что приводит к образованию активных метаболитов. Данные метаболиты обладают бактерицидным и протистоцидным действием, которые выражаются в связывании с ДНК, РНК и с другими клеточными белками. Активные метаболиты препарата приводят к нарушению репликации ДНК и синтезу белков в клетке, также повреждающих ДНК, что в конечном итоге приводит к клеточной гибели. Результаты высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) показали нарушение процесса образования активных метаболитов 5-НИМЗ, что является основной причиной устойчивости клинических штаммов трихомонад, выявленных в исследовании.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное клинико-лабораторное исследование на ИППП у 150 РС позволило выявить ИППП у 100 % РС. Наше исследование подтверждает известный факт о том, что концентрация ИППП в межэпидемический период сосредоточена в группах риска. Выявлена наиболее высокая частота трихомонадной (64,0 %), хламидийной (55,3 %), уреа-микоплазменной (47,3 %), кандидозной (36,7 %) и герпесвирусной (21,3 %) инфекций.

У подавляющего большинства (95,8%) секс-работниц с трихомонадной инфекцией было выявлено микст-инфицирование. Наиболее распространенными сопутствующими инфекциями оказались кандидоз (61,9%), хламидиоз (33,7%), микоплазменная инфекция (27,2%) и герпесвирусная инфекция (22,8%). У более чем половины (51,1%) секс-работниц эти возбудители ИППП встречались в комбинации из трех и более инфекций.

Подострое и хроническое течение трихомонадной инфекции наблюдалось у подавляющего большинства (65,6%) секс-работниц, в то время как у 34,4% отмечалось бессимптомное трихомонадоносительство.

Выяснилось, что хроническое течение трихомонадной инфекции чаще проявляется в виде смешанной инвазии с микробными ассоциациями, состоящими из трех и более возбудителей ИППП, чем подострое течение.

На основании данных микробиологического анализа отделяемого влагалища у РС с трихомонадной инфекцией выявлены качественные изменения вагинального биотопа, характеризующееся сниженным содержанием лактофлоры и повышенным содержанием условно-патогенной микрофлоры. Определение видового состава влагалищной микрофлоры и отделяемого из шейки матки показало высокий уровень инфицирования кишечной палочкой и энтеробактериями.

Выявленные изменения свидетельствуют о глубоких нарушениях взаимоотношений между разными видами микроорганизмов. Данные нарушения между облигатными микроорганизмами могут способствовать рецидивированию патологического процесса и ухудшению качества жизни.

У РС с трихомонадной инфекцией установлены существенные нарушения показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета.

Особенностью современных урогенитальных инфекций является их частая ассоциация с другими инфекциями. По мнению ряда авторов, при совместном культивировании в условиях различных форм микробного биоценоза происходят изменения не только количественного и видового состава микроорганизмов, но и их биологических свойств, таких как факторы патогенности [232]. Таким образом,

в ассоциациях патогенность каждого микроорганизма усиливается. Более того, для смешанных инфекций часто характерно вялое течение и множественные очаги поражения.

Сочетание трихомониаза с другими урогенитальными инфекциями не только осложняет диагностику и изменяет клиническое течение заболевания, но в ряде случаев может привести к неудачам в лечении, развитию осложнений и рецидивам болезни [229,230, 231].

Установлено повышение показателей фагоцитарной активности нейтрофилов в крови пациенток с острой трихомонадной инфекцией и понижение – в группе с хронической. Указанное повышение в группе женщин с острой трихомонадной инфекцией подтверждает наличие в их организме бактериальных воспалительных процессов. Согласно данным литературы, понижение показателей фагоцитарной активности нейтрофилов в крови пациенток свидетельствует о различных нарушениях в системе неспецифического клеточного иммунитета у данной категории пациентов, что также может быть связано с пониженной продукцией фагоцитов, быстрым их разрушением, нарушением подвижности, а также повреждением их основной функции – поглощения и уничтожения бактериального агента. Такие нарушения в комплексе указывают на понижение устойчивости организма к инфекции, что, как правило, встречается при тяжелых инфекционных заболеваниях. Интересно отметить, что указанные нарушения обуславливают незавершенный фагоцитоз при хронической инфекции и, таким образом, создают условия для постоянного персистирования возбудителей инфекции в организме женщин. Полученные данные в этом исследовании согласуются с данными, полученными другими авторами [148,149,150].

Средние уровни альбуминов в группе женщин с острым течением трихомонадной инфекции находились в пределах нормы, а в группе женщин с хроническим течением были выше нормы, что, по данным литературы, свидетельствует об инфекционных заболеваниях. Однако, существующие на данный момент в литературе данные в отношении нарушения баланса альбуминов

при трихомонадной инфекции противоречивы, и, в связи с этим, на данный момент достоверных данных в отношении повышения или понижения альбуминов при инфекции, вызванной *T.vaginalis* в литературе имеется недостаточно [151].

Среди показателей активности гуморальных факторов врожденного иммунитета выявлено, что средние уровни α 1-глобулинов как в группе женщин с острой инфекцией *T.vaginalis*, так и с хронической, были выше нормы. Интересно отметить, что при нормальных значениях общего белка в организме, встречающиеся изменения соотношения белковых фракций позволяют диагностировать нарушения патологического функционирования. Так, по данным литературы известно, что α 1-глобулины повышаются при различных воспалительных заболеваниях. Вместе с этим, в литературе также указано, что α 1-глобулины являются острофазовыми белками крови. С другой стороны, авторы в литературе указывают, что влияние инфекции, вызванной *T.vaginalis* на данный маркер иммунитета изучено недостаточно [152].

Средние уровни β -глобулинов как в группе женщин с острым течением трихомонадной инфекции, так и хроническим, были выше нормы. Роль β -глобулинов в организме человека чрезвычайно важна. Так, известно, что β -глобулины участвуют в реакциях иммунитета в организме. Однако, влияние трихомонадной инфекции на указанный маркер иммунитета, исходя из сведений, имеющихся в литературе, изучено на данный момент недостаточно [152].

Уровни γ -глобулинов также были выше нормы в обеих испытуемых группах. γ -глобулины изменяются под воздействием каких-либо воспалительных процессов в организме, в особенности, протекающих в хронической форме с локализацией в половой системе. Однако, влияние трихомонадной инфекции на данный маркер иммунитета также изучено на данный момент в науке недостаточно [152].

Отмечается понижение средних уровней IgA как в группе женщин с острым течением трихомонадной инфекции, так и хроническим. Следует отметить, что данный белок отвечает за состояние гуморального ответа в организме и его

используют для определения местного иммунитета, так как этот гамма-глобулин защищает стенки мочеполовых путей женщин от прикрепления бактерий. Снижение данного показателя в крови наблюдается при различных хронических бактериальных инфекциях, что коррелируется с литературными источниками. Средние уровни IgM в группах женщин с острой и хронической формой трихомонадной инфекции находились в пределах нормальных значений, что согласуется с результатами других исследований [148].

Также в обеих испытуемых группах отмечено понижение средних уровней IgG. Известно, что данные показатели обеспечивают вторичный иммунитет в ответ на присутствующую в организме человека инфекцию. Указано, что основная роль этого маркера в организме человека состоит в образовании комплекса «антиген-антитело». В литературе имеются сведения, что в организме человека данный показатель понижается, как правило, в результате хронической инфекции. Полученные нами данные в отношении иммуноглобулинов IgG согласуются с данными других авторов [150].

Как в группе женщин с острой формой трихомонадной инфекции, так и хронической доказано повышение средних уровней IgE. По данным литературы, повышение значений IgE свидетельствует о наличии общей аллергизации организма, что также бывает при различных хронических инфекционных процессах. Однако, влияние инфекции, вызванной *T.vaginalis* на указанный маркер иммунитета изучено на данный момент недостаточно [152].

Интересными были и нарушения показателей фагоцитарной активности нейтрофилов в крови женщин с трихомонадной инфекцией, так как маркеры неспецифического клеточного иммунитета, а именно: фагоцитарный индекс, активированный НСТ-тест, спонтанный НСТ-тест нарушались при острой инфекции более значительно (в процентном соотношении) в сторону повышения, однако эти же маркеры значительно понижались при хронической инфекции, или были в пределах нормальных значений (спонтанный НСТ-тест). [234]

Итак, нарушения фагоцитарной активности лейкоцитов, и, в особенности, их понижение при хронической инфекции свидетельствует о значительном

нарушении иммунного статуса именно в организме женщин с хронической трихомонадной инфекцией [148]. Таким образом, реализация патогенных свойств *T.vaginalis* обусловлена длительностью персистенции микроорганизма в организме женщин, однако нами выявлено, что нарушения со стороны гуморального звена иммунитета наблюдались в том числе и при острой форме трихомонадной инфекции.

При количественном определении внутриклеточного содержания метронидазола с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) было выявлено наличие метронидазола, даже в самых низких концентрациях препарата. Устойчивость этих трихомонад к метронидазолу не обусловлена недостаточной проницаемостью клеточной мембраны трофозоида или выбросом препарата из клетки, а связана с нарушением образования комплексов с ДНК, снижением образования свободных радикалов и уменьшением концентрации цитотоксических метаболитов, что свидетельствует о механизме устойчивости на уровне ферментных нарушений. Нитроимидазолы представляют собой ДНК-ориентированные вещества, обладающие избирательным действием на микроорганизмы, которые имеют ферментные системы — нитроредуктазы, способные восстанавливать нитрогруппу.

При изучении чувствительности к метронидазолу штаммов *T.vaginalis*, выделенных от женщин с хронической формой трихомонадной инфекцией, выявили о высокой устойчивости клинических изолятов ко всем концентрациям метронидазола – к концентрациям 2000 и 1000 мкг/мл – 27,5 и 72,5% испытуемых штаммов соответственно, к концентрациям 500 и 250 мкг/мл – 100 % испытуемых штаммов.

Менее высокую устойчивость во всех концентрациях метронидазола проявили клинические изоляты, выделенные у женщин с подострой формой трихомонадной инфекции: 10 % при 2000 мкг/мл; 40 % при 1000 мкг/мл; 100 % при 500 мкг/мл и 250 мкг/мл.

Метронидазолустойчивые штаммы *T.vaginalis* встречаются чаще у женщин с хроническим течением заболевания, чем с подострым и чаще обнаруживаются у женщин со смешанными инвазиями. Данные по определению степени чувствительности *T.vaginalis* к метронидазолу могли бы способствовать оптимизации мер мониторинга по предотвращению распространения резистентных штаммов *T.vaginalis*.

При совместном тестировании штаммов *T. vaginalis*, устойчивых к метронидазолу и комплексу соединению, методом «шахматной доски», было зафиксировано снижение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) у 80 % штаммов *T. vaginalis* в четыре раза.

Эффект потенцирования антибактериальной активности КС и метронидазола, который, как правило при модификационной изменчивости, не проникает через наружную мембрану *T. vaginalis* к внутриклеточным мишеням, требует более глубокого изучения, особенно в контексте возбудителей инфекций, передающихся половым путем, и обладающих множественной резистентностью.

Предполагается, что комбинированное применение комплекса и метронидазола может не только преодолеть устойчивость *T. vaginalis*, но и замедлить дальнейшую селекцию резистентных штаммов. Для подтверждения эффективности данной комбинированной терапии необходимы дополнительные клинические исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Выявлены качественные изменения вагинального биотопа у РС с трихомонадной инфекцией, свидетельствующие о глубоких нарушениях взаимоотношений между разными видами микроорганизмов. Выявлены нарушения между облигатными микроорганизмами, способствующие рецидивированию патологического процесса и ухудшению качества жизни.

2. Доказаны статистически значимые различия в показателях гуморального иммунитета между инфицированными женщинами и контрольной группой таких показателей: α 1-глобулины, α 2-глобулины, β -глобулины, γ -глобулины, IgA, IgG, IgE, фагоцитарной активности нейтрофилов, альбумины, общий белок. Установлены неблагоприятные изменения всех гуморальных факторов и показателей фагоцитарной активности нейтрофилов в процентном отношении в крови пациенток с трихомонадной инфекцией.

3. При определении МИК штаммов *T. vaginalis* к метронидазолу выявили устойчивость в разведении в 2000 мкг/мл 27,5 % трихомонад. К разведению в 1000 мкг/мл проявили устойчивость 72,5 % штаммов *T. vaginalis*. При совместном тестировании метронидазола и КС методом «шахматной доски» наблюдается снижение МИК метронидазола у штаммов *T. vaginalis* в четыре раза. При тестировании комбинации метронидазола и КС, были получены индексы Фракционной Ингибирующей Концентрации равные и меньше 0,5, что говорит о синергизме данных препаратов по отношению к штаммам трихомонад.

4. Результат ВЭЖХ показал внутриклеточное наличие метронидазола в низких разведениях (0,06 мкг/мл), что свидетельствует о ферментных нарушениях штаммов трихомонад.

Полученные результаты открывают перспективы для разработки альтернативных схем комбинированной терапии инфекций, передающихся половым путем, возбудители которых проявляют резистентность к антимикробным препаратам.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Рекомендуется проведение иммунологического обследования лиц с урогенитальной инфекцией.

Рекомендуется определение чувствительности клинических изолятов *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ для осуществления контроля над распространением резистентных штаммов *T.vaginalis*.

Рекомендуется проводить определение внутриклеточного содержания препаратов 5-нитроимидазола методом ВЭЖХ, что даст возможность дифференциации природы устойчивости ферментных нарушений и модификационной устойчивости.

Метод исследования синергии, примененный в данном исследовании, может быть адаптирован для использования в микробиологических лабораториях, что позволит перейти от исследовательского тестирования комбинаций антибиотиков к их рациональному применению в клинической практике. Это будет способствовать повышению квалификации специалистов лабораторий и осуществлению микробиологического тестирования изолятов, полученных от конкретных пациентов, в лабораториях с различным уровнем оснащенности при минимальных экономических затратах.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кубанова А.А. с соавт. Заболеваемость инфекциями, передаваемыми половым путем, в Российской Федерации [Текст] / А.А. Кубанова // Клиническая дерматология и венерология. – 2017.– № 4. - С. 9-12.
2. Фриго Н.В., Ротанов С.В., Лесная И.Н., Полетаева О.А., Полевщикова С.А. Лабораторная диагностика ИППП в Российской Федерации. Результаты национального исследования [Текст] / Н.В., Фриго, С.В., Ротанов, И.Н. Лесная и др. // Вестник дерматологии и венерологии. – 2008.– № 5. С. 33-41.
3. Захаркив Ю.Ф. Этиологическая структура воспалительных заболеваний уrogenитального тракта среди социально адаптированных групп населения и роль *Trichomonas vaginalis* в их возникновении в связи с устойчивостью штаммов возбудителя к действию лекарственных препаратов. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб, 2005. – 23 с.
4. Горина Е.Ю. Оптимизация терапии трихомониаза с учетом микробио-экосистемы уrogenитального тракта и иммунного гомеостаза. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2002. 21 с.
5. Избранные лекции по дерматовенерологии. Учебное пособие в 5 томах / Под ред. Э.А. Баткаева М., 2006.–Т.2.-263 с.
6. Романенко И.М., Кулага В.В., Афонин С.Л. Лечение кожных и венерических болезней. Рук-во для врачей: в 2 т. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. – Т.1. - 904 с.
7. Морева Ж.Г. О проблеме морфологической устойчивости *Trichomonas vaginalis* к действию антисептических препаратов // Успехи современного естествознания. – 2005.– № 5.- С. 110-110.
8. Upcroft P, Upcroft JA. Drug targets and mechanisms of resistance in the anaerobic protozoa. Clin Microbiol Rev.– 2001. – № 14 (1). – P. 150-64.
9. Белькова Ю.А., Козлов С.Н. Общие подходы к терапии инфекции, вызванной резистентными к метронидазолу штаммами *Trichomonas vaginalis* //Фарматека. – 2007.– № 10. - С. 20-24.

10. Kulda J. Trichomonads, hydrogenosomes and drug resistance // *Int J Parasitol.*– 1999.– № 29 (2).–P. 199-212.
11. Meri T., Jokiranta T.S., Suhonen L., Meri S. Resistance of *Trichomonas vaginalis* to Metronidazole: Report of the First Three Cases from Finland and Optimization of In Vitro Susceptibility Testing under Various Oxygen Concentrations // *J Clin Microbiol.* - 2000. - №38(2). - P. 763-7.
12. Kissinger P. et al. A randomized trial of metronidazole in a single 2 g dose versus 500 mg twice daily for 7 days for the treatment of trichomoniasis in women//*The Lancet. Infectious diseases.* – 2018. – Т. 18. – N. 11. – С. 1251.
13. Красовский В.М. Применение метронидазола, тинидазола, ниморазола, тенонитрозола, орнидазола в лечении больных с хроническим урогенитальным трихомониазом [Текст] / В.М. Красовский // *Здоровье мужчины.* - 2008. - №1. - С. 26-30.
14. Sobel J.D. Tinidazole therapy for metronidazole-resistant vaginal trichomoniasis / J.D.Sobel, P. Nyirjesy, W. Brown // *Clin. Infect. DiP.* - 2001. - Vol.33. -№8. - P.1341-1346.
15. Диагностика вульвовагинального кандидоза: сопоставление информативности клинических данных и результатов лабораторных исследований / Т.А.Румянцева, Ю.А.Савочкина, Т.В.Долгова [и др.] // *Акушерство и гинекология.*-2015.-№3.-С. 55-61.
16. Махлай Н.С. Разработка препаратов для выявления и идентификации *Trichomonas vaginalis*. Автореф. дис.; канд. биол. наук. М., 2012.– 27 с.
17. Manavi K., Young H., Clutterbuck D. Sensitivity of microscopy for the rapid diagnosis of gonorrhoea in men and women and the role of gonorrhoea serovars // *Int. J. STD AIDS.* – 2003. – Vol. 14, № 6. – P. 390-394.
18. Aldeen, A. Haghdoost, P. Hay I I *Sex Transmitted Infection.* 2003. – V. 79.- P. 229-233.
19. Kalichman S.C., Pellowski J., Turner C. Prevalence of sexually transmitted co-infections in people living with HIV/AIDS: systematic review with implications for using HIV treatments for prevention // *Sex.Transm.Infect.*–2011.– № 87.-P. 183-90.

20. Van Schalkwyk, J., Yudin, M.H., Yudin, M.H., Allen, V., Bouchard, C., Boucher, M., ... van Schalkwyk, J. (2015). Vulvovaginitis: Screening for and Management of Trichomoniasis, Vulvovaginal Candidiasis, and Bacterial Vaginosis. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*, 37(3), 266-274. doi: 10.1016/s1701-2163(15)30316-9.
21. American academy of Pediatrics. Sexually Transmitted Infections. Red Book editor Kimberly DW, 31st Edition, 2018, AAP Point-of-Care-Solutions. p. 821-823
22. Тихомиров А.Л., Олейник Ч.Г. Урогенитальный трихомониаз // *Лечащий Врач*, МГМСУ, М. – 2003.– № 7.–С. 27-29.
23. Скрипкин К.К., Шарапова Г.Я., Селицкий Г.Д. Инфекции, передаваемые половым путем. СПб.: МЕДпресс информ, 2001.
24. Chaika N. Epidemiological studies of chlamydial infection in St. Peterburg, Russia / N. Chaika, T. Smirnova // *Proc. 3rd Meet. Eur. Soc. Chlam. Res.*, Sept. 11-14, 1996. Vienna, Austria, 1996. - P. 399.
25. Дубенский В.В. Обоснование иммунокоррекции при лечении урологических инфекций / В.В. Дубенский, В.П. Кузнецов, Д.Л. Беляев // Тез. докл. VII Рос. съезда дерматологов и венерологов. Казань, 1996. - Ч. III.-С. 137-138.
26. Conrad M.D. et al. Extensive genetic diversity, unique population structure and evidence of genetic exchange in the sexually transmitted parasite *Trichomonas vaginalis* // *PLoS neglected tropical diseases*.-2012.-Т.6.-№3.-С. 1573.
27. Бухарин О.В. Характеристика изменений микробиоценоза у больных хроническим неспецифическим уретритом [Текст] / О.В. Бухарин, Ю.Б. Иванов, М.Д. Кузьмин // *Журнал микробиологии*. – 2001. – № 4.– С. 86-89.
28. Feng RM, Z Wang M, Smith JS et al. Risk of high-risk human papillomavirus infection and cervical precancerous lesions with past or current trichomonas infection: a pooled analysis of 25,054 women in rural China. *J Clin Virol*. 2018 Feb-Mar; 99-100: 84-90. doi: Клинические рекомендации – Урогенитальный трихомониаз – 2021-2022-2023 (06.07.2021) – Утверждены Минздравом РФ Улучшенную вёрстку от

<http://disuria.ru> представляет аптека "Семейная" <https://аптека-омск.рф> 14 из 21
10.1016/j.jcv.2017.12.015. Epub 2017 Dec 30.

29. Машкилейсон А.Л. К проблеме урогенитального хламидиоза / А.Л. Машкилейсон, М.А. Гомберг, А.М. Соловьев // 3111111. - 1995. - № 5. - С. 28-33.

30. Чуприн А.Е., Якубович А.И. Тактика терапии смешанной трихомонадной инфекции урогенитального тракта мужчин // Клиническая дерматология и венерология. – 2003.– №1. - С. 25 - 27.

31. Сагалов А.В. Микробиологическая характеристика воспалительных процессов у мужчин, обследующихся по поводу бесплодного брака / А.В. Сагалов, Л.И. Бахарева, А.А. Чернядьева // Актуальные вопросы практической и теоретической медицины. Челябинск, 1997. – С. 178-180.

32. O'Hanlon D.E., Moench T.R., Cone R.A. In vaginal fluid, bacteria associated with bacterial vaginosis can be suppressed with lactic acid but not hydrogen peroxide // BMC infectious diseases. – 2011.–Т.11.– №1.– С. 200.

33. Vickovic, N., et al. Metronidazole 1.5 gram dose for 7 or 14 days in the treatment of patients with chronic prostatitis caused by *Trichomonas vaginalis*: A randomized study. J Chemother, 2010. 22: 364.

34. Brotman R.M. et al. Bacterial vaginosis assessed by gram stain and diminished colonization resistance to incident gonococcal, chlamydial, and trichomonal genital infection // Journal of Infectious Diseases.– 2010.– Т. 202.–№ 12. – С. 1907-1915.

35. Peipert J.F. et al. Bacterial vaginosis, race, and sexually transmitted infections: does race modify the association? // Sexually transmitted diseases. – 2008. - Т.35.–№4. - С. 363-367.

36. Brotman R.M. et al. Association between *Trichomonas vaginalis* and vaginal bacterial community composition among reproductive-age women // Sexually transmitted diseases.– 2012.– Т.39.– № 10.– С. 807.

37. García M.H. et al. Prevalence of vaginal candidiasis in pregnant women. Identification of yeasts and susceptibility to antifungal agents // Revista Argentina de microbiologia. – 2006.– Т.38.– № 1.– С. 9-12.

38. Workowski K.A., Berman S.M. Centers for Disease Control and Prevention sexually transmitted disease treatment guidelines // *Clinical infectious diseases*. – 2011.– T. 53.– № 3.– C. S59-S63.
39. Thurman A.R., Doncel G.F. Innate immunity and inflammatory response to *Trichomonas vaginalis* and bacterial vaginosis: relationship to HIV acquisition // *American journal of reproductive immunology*. – 2011.– T.65.– № 2.– C. 89-98.
40. Ravel J. et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2011.– T.108.– № 1.– C. 4680-4687.
41. Ronald A. The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens // *The American journal of medicine*. – 2002.– T.113.– № 1.– C. 14-19.
42. Chen C.Y. et al. *Proteus mirabilis* urinary tract infection and bacteremia: risk factors, clinical presentation, and outcomes // *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. – 2012.– T.45.– № 3.– C. 228-236.
43. Conrad M.D. et al. Extensive genetic diversity, unique population structure and evidence of genetic exchange in the sexually transmitted parasite *Trichomonas vaginalis* // *PLoS neglected tropical diseases*. – 2012.– T.6.– № 3.– C. 1573.
44. Forney L.J. et al. Comparison of self-collected and physician-collected vaginal swabs for microbiome analysis // *Journal of clinical microbiology* .– 2010. -T.48. – № 5.– C. 1741-1748.
45. Bai G. et al. Comparison of storage conditions for human vaginal microbiome studies // *PloS one*. – 2012.– T.7.– № 5.– C. 36934.
46. Gatski M. et al. The influence of bacterial vaginosis on the response to *Trichomonas vaginalis* treatment among HIV-infected women // *Sexually transmitted infections*.– 2011.– C. sti. 2010.046441.
47. Van Der Pol B. *Trichomonas vaginalis* infection: the most prevalent nonviral sexually transmitted infection receives the least public health attention // *Clinical Infectious Diseases*. – 2007.– T.44.– № 1.– C. 23-25.
- 48 Mielczarek E., Blaszkowska J. *Trichomonas vaginalis*: pathogenicity and potential role in human reproductive failure // *Infection*.– 2016.– T. 44.– № 4.– C. 447-458.

49. Лукьянов И.Э. Комплексное лечение урогенитальных микст-инфекций (хламидиоз, трихомоноз, микоплазмоз, герпес) в комбинации с производными бензимидазола, озонотерапией и фототерапией: дисс.... канд. мед. наук: 14.01.20 / И.Э. Лукьянов, 2016.-175 с.

50. Fichorova R.N. et al. The villain team-up or how *Trichomonas vaginalis* and bacterial vaginosis alter innate immunity in concert // *Sex. Transm. Infect.*–2013. – С. sextrans–2013-051052.

51. Frolund M. et al. Comparison between culture and a multiplex quantitative real-time polymerase chain reaction assay detecting *Ureaplasma urealyticum* and *U. parvum* // *PloS one.*–2014.– Т.9.– № 7.– С. e102743.

52. Glaser K., Speer C.P. Neonatal CNS infection and inflammation caused by *Ureaplasma* species: rare or relevant? // *Expert review of anti-infective therapy.*–2015.– Т.13.– № 2.– С. 233-248.

53. Fettweis JM, Serrano MG, Huang B, Brooks JP, Glascock AL, Shath NU. Vaginal microbiome Consortium, Strauss JF 3rd, Jefferson KK, Buck GA. An emerging *Mycoplasma* associated with trichomoniasis, vaginal infection and disease. *PLoSOne.* – 2014;9:e 110943.

54. Allen-Daniels MJ, MG Serrano, LP Pflugner, JM Fettweis, MA Prestosa, VN Koparde, JP Brooks, JF Straus, 3 rd, R Romero, T Chaiworapongsa, DA Eschenbach, GA Buck & KK Jefferson Identification of a gene in *Mycoplasma hominis* associated with preterm birth and microbial burden in intraamniotic infection // *Am.J.Obstet.Gynecol.*– 2015,212:779 e771-779 e 713.

55. Levy SB, Gunta J, Edemekong P Screening for Sexually Transmitted Diseases. *Prim Care.* 2019 Mar; 46(1): 157-173. doi: 10.1016/j.pop.2018.10.013. Epub 2018 Dec 24.

56. Карпов С.А. Строение клетки протистов / С.А. Карпов. СПб.: «ТЕССА», 2001.–383 с.

57. Барышова М.В., Бульвахтер Л.А. Хронический трихомоноз и результаты парентерального лечения метронидазолом. [Текст] / М.В.Барышова, Л.А.Бульвахтер // *ИППП.* – 2001.– № 2.– С. 72-74.

58. Datta S, Mercer CH, Keeling MJ. et al. Capturing sexual contact patterns in modelling the spread of sexually transmitted infections: Evidence using Natsal-3. PLoS One. 2018 Nov 1; 13(11): e0206501. doi: 10.1371/journal.pone.0206501.

59. Делекторский В.В., Яшкова Г.Н., Назарова Г.Н. и др. Урогенитальные инфекции (хламидии, микоплазмы, уреаплазмы). Клиника, диагностика, лечение. Пособие для врачей. М.: Детстом-1, 2000.– 28 с.

60. Козлова В.И., Пухнер А.Ф. Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий. Руководство для врачей. М.: Триада-Х, 2003. 439 с.

61. Скрипкин К.К., Шарапова Г.Я., Селицкий Г.Д. Инфекции, передаваемые половым путем / К.К. Скрипкин, Г.Я., Шарапова, Г.Д. Селицкий. СПб.: МЕДпресс-информ, 2001.– 363 с.

62. Ляшенко Ю.И., Иванов А.И. Смешанные инфекции // Издательство «Медицина», М.: 1989.– 486 с.

63. Исаков В.А., Ермоленко Д.К., Захаркив Ю.Ф. и др. Диагностика и лечение урогенитального трихомониаза. Руководство для врачей. СПб., 2006. –98 с.

64. Исаков В.А., Архипова Е.И., Ермоленко Д.К. Терапия урогенитального хламидиоза: Руководство для врачей. СПб.-В. Новгород, 2004.-76 с.

65. Куляшова Л.Б., Березина Л.А., Исаков В.А., Сварваль А.В., Ферман Р.С., Гончаров С.Б. Этиологическая роль хламидий при заболеваниях репродуктивной сферы (аналитический обзор). СПб., 2007.–56 с.

66. Lewis D.A Trichomoniasis // Vaginal infections. – 2010.–Vol. 3.– P. 291-292.

67. Гриценко В.А., Андрейчев В.В., Иванов Ю.Б. Урогенитальный трихомониаз у мужчин: Клинико-микробиологические аспекты. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН [Электр. ресурс]. 2014. 1:1-13.

68. Martin D.H. The microbiota of the vagina and its influence on women's health and disease. Am J Med Sci. 2012; 343(1):2-9.

69. Allsworth JE, Ratner JA, Peipert JF. Trichomoniasis and other sexually transmitted infections: results from the 2001-2004 NHANES surveys. Sex Transm Dis. 2009;36(12):738-744.

70. Клинические рекомендации по ведению больных инфекциями, передаваемыми половым путем, и урогенитальными инфекциями.-М.: Изд-во «Деловой экспресс», 2012.– С. 85-90.

71. Дмитриев Г.А., Сюч Н.И. Мочеполовой трихомониаз (клинико-лабораторное обследование и ведение пациентов). М.: Медицинская книга, 2005.– 128 с.

72. Нечаев В.В., Иванов А.К., Пантелеев А.М. Социально-значимые инфекции. В 2-х частях. Часть 2-я «Микст-инфекции» // Изд-во «С-Пб. гос. мед. академия имени И.И. Мечникова, Береста». – 2011.– 320 с.

73. Хворик Д.Ф. Хламидийно-ассоциированные инфекции: диагностика и лечение: монография / Д.Ф. Хворик.-Гродно: ГрГМ, 2011. – 328 с.

74. Чинов Г.П. Хламидийная, трихомонадная инфекции в сочетании с условно-патогенными бактериями (клинические проявления, особенности патогенеза, лечение и профилактика): автореф. дис. канд. мед. наук: 14.01.20 / Г.П. Чинов; Институт дерматологии и венерологии АМН Украины. – Харьков, 2007. – 36 с.

75. Гаврусев А.А., Рубаник Л.В., Строщий А.В., Полещук Н.Н. Особенности клиники хронического уретропростатита при неэффективном лечении урогенитальных инфекций. [Текст] / А.А. Гаврусев, Л.В. Рубаник, А.В. Строщий // Клиническая медицина. – 2014.– №2.– С. 4-9.

76. Price MA et al. Addition of treatment for trichomoniasis to syndromic management of urethritis in Malawi: a randomized clinical trial. Sexually Transmitted Diseases, 2003, 30(6): 516-522.

77. Молочков В.А., Иванов О.Л., Чеботарев В.В. Инфекции, передаваемые половым путем. Клиника, диагностика, лечение. М.: Медицина, 2006.– 632 с.

78. Мавров Г.И., Осинская Т.В. Особенности урогенитального трихомоноза в гестационном и перинатальном периодах.– 2012.– С. 5-8.

79. Васильев М. М. Особенности клиники мочеполового трихомоноза, совершенствование диагностики и лечения (клинико-экспериментальное исследование): автореф. дис. д-ра мед. наук.– Москва, 1990.– 40 с.

80. Межеветинова Е.А. Трихомонадный вульвовагинит: клиника, диагностика, лечение // Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН, Москва, Consilium medicum.– 2004.– Т.6.– № 7.
81. Тихомиров А.Л. Урогенитальный трихомониаз / А.Л. Тихомиров, Ч.Г. Олейник // Тр. МГМСУ.– М., Б.и., 2003.– С. 1-7.
82. Урогенитальный трихомониаз: пособие для врачей / Д.К. Ермоленко и др. // С.-Петерб. науч.-исслед. ин-т эпидемиологии и микробиологии им. Пастера. – СПб.; Новгород, 2007.– 96 с.
83. Трихомониаз // Адашкевич В.П. Кожные и венерические болезни.- 2-е изд. / В.П. Адашкевич, В.М. Козин.-М.: Мед. лит., 2009.– С. 510-515.
84. Кисина В.И., Вавилов В.А., Гуцин А.П. Урогенитальный трихомониаз: современный взгляд на проблему // Врач. – 2010.– № 1.– С. 18-20.
85. Тютюнник В.Л. Влияние инфекции на течение беременности, плод и новорожденного // Вестник акушеров-гинекологов. – 2001.– № 1.– С. 20-23.
86. Гришкевич, А.Н. Проблема трихомонадной инфекции в акушерской практике на современном этапе / А.Н. Гришкевич, О.К. Кулага // ARS medica. Искусство медицины. – 2010.– № 3. – С. 61-68.
87. Zhang ZF et al. Trichomonas vaginalis and cervical cancer. A prospective study in China. Annals of Epidemiology, 1995,5(4): 325-332.
88. Zhang ZF., Begg C.B. Is Trichomonas vaginalis a cause of cervical neoplasia. Results from a combined analysis of 24 studies / Z.-F. Zhang, C.B. Begg // Int. J. Epidemiol. - 1994.-Vol.23.- P. 682-690.
89. Magnus M, Clark R, Myers L, et al. Trichomonas vaginalis among HIV-infected women: are immune status or protease inhibitor use associated with subsequent T.vaginalis positivity? // Sex Transm Dis.– 2003.– № 30.– P. 839-43.
90. Quinlivan EB, Patel SN, Grodensky CA, et al. Modeling the impact of Trichomonas vaginalis infection on HIV transmission in HIV-infected individuals in medical care // Sex Transm Dis.– 2012.– № 39.– P. 671-7.
91. Трихомонадный вульвовагинит: клиника, диагностика и лечение // Consilium Medicum.– 2004.– № 7.– С. 482-88.

92. Swygard H. Trichomoniasis: clinical manifestations, diagnosis, management / H. Swygard, A.C.Sena, M.M.Hobbs et al. // Sex. Transm. Infect. 2004.–Vol.80.– P.91 - 95.

93. Васильев М.М. Особенности клиники мочеполового трихомоноза, совершенствование диагностики и лечения (клинико-экспериментальное исследование): автореф. дис. д-р мед. наук. - Москва, 1990.– 40 с.

94. Balcus JE, Richardson BA, Rabe LK, et al. Bacterial vaginosis and the risk of *Trichomonas vaginalis* acquisition among HIV-1 negative women. Sex Transm Dis.– 2014; 41(2):123-128.

95. Gatski M, Martin D.H., Clark R.A., et al. Co-occurrence of *Trichomonas vaginalis* and bacterial vaginosis among HIV-positive women. Sex Transm Dis.-2011; 38(3):163-166.

96. Krieger J.N. *Trichomonas vaginalis* and trichomoniasis / J.N. Krieger, J.F. Alderete, S.P. Holmes et al. // Sexually transmitted diseases. New York.: McGraw-Hill, 1999.– P.589-591.

97. Preethi V, Mandal J, Haldar A, Parija SC. Trichomoniasis: An update. Trop Parasitol. – 2011;1:73-75.

98. Kissinger P. *Trichomonas vaginalis*: a review of epidemiologic, clinical and treatment issues. BMC Infect Dis.– 2015;15:307.

99. Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. Clin Microbiol Rev.– 1998;11(2): 300-317.

100. Гриценко В.А. Хронические урогенитальные инфекции у мужчин – загадки этиологии и клиники / В.А. Гриценко, В.В. Андрейчев, Ю.Б. Иванов, О.С. Журлов // Матер. III междисциплинарной научно-практич. конфер. «Урогенитальные инфекции и репродуктивное здоровье». – СПб.: 2010.– С. 28 -30.

101. Гриценко В.А. Клинико-микробиологические особенности хронического течения урогенитального трихомониаза и хламидиоза у мужчин / В.А. Гриценко, В.В. Андрейчев, Ю.Б. Иванов, и др// Матер. III междисциплинарной научно-практич. конфер. «Урогенитальные инфекции и репродуктивное здоровье: клинико-лабораторная диагностика и терапия». – М.–2010. – С. 28-29.

102. Sena A.C. et al. *Trichomonas vaginalis* infection in male sexual partners: implications for diagnosis, treatment and prevention // *Clinical Infectious Diseases*. – 2007,44(1):13-22.

103. Позняк А.Л., Сидорчук С.Н., Захаркив Ю.Ф., Гудков Р.В., Хлопунова О.В., Ковалишин И.М. Терапия хронической трихомонадной инвазии у больных с микст-хламидийной мочеполовой инфекцией [Текст] / А.Л. Позняк, С.Н., Сидорчук, Ю.Ф. Захаркив и др. // *Журнал инфектологии*. – 2009.– Т.1.– №4.– С.60-65.

104. Ермоленко Д.К. Урогенитальный трихомониаз: пособие для врачей / Д.К. Ермоленко, В.А. Исаков, С.Б. Рыбалкин, Т.С. Смирнова, Ю.Ф. Захаркив. - СПб; Великий Новгород, 2007.– 96 с.

105. Кондратьева Ю.С., Неймарк А.И. Смешанные урогенитальные инфекции: клинико-терапевтические подходы [Текст] / Ю.С. Кондратьева, А.И. Неймарк // *Вестник дерма-тологии и венерологии*. – 2011.– № 4.– С. 112-116.

106. Rappelli P., F.Carta, G.Delogu, M.F. Addis, D. Dessi, P. Cappucinelli & P.L. Fiori *Mycoplasma hominis* and *Trichomonas vaginalis* symbiosis: multiplicity of infection and transmissibility of *Mycoplasma hominis* to human cells // *Arch.Microbiol.*– 2001,175:70-74.

107. Hirt RP, Sherrard J. *Trichomonas vaginalis* origins, molecular pathobiology and clinical considerations // *Curr.Opin.Infect.Dis.*–2015;28(1):72-9.

108. Morada M., M.Manzur, B.Lam, C.Tan, J.Tachezy, P.Rappelli, D.Dessi, P.L.Fiori & N. Yarlett. Arginine metabolism in *Trichomonas vaginalis* infected with *Mycoplasma hominis* // *Microbiology.*– 2010,156:3734-3743.

109. Dessi D., G.Delogu, E.Emonte, M.R.Catania, P.L.Fiori & P.Rappelli Long-term survival and intracellular replication of *Mycoplasma hominis* in *Trichomonas vaginalis* cells: potential role of the protozoon in transmitting bacterial infection // *Infect.Immunol.* – 2005,73:1180-1186.

110. Dessi D., P.Rappelli, N.Diaz, P.Cappuccinelli & P.L.Fiori *Mycoplasma hominis* and *Trichomonas vaginalis*: a unique case of symbiotic relationship between two obligate human parasites // *Front.Biosci.* – 2006,11:2028-2034.

111. Cirillo L.A., C.E. McPherson, P. Bossard, K. Stevens, S. Cherian, E. Shim, K.L. Clark, S.K. Burley, K.S. Zaret Binding of the winged-helix transcription factor HNF3 to a linker histone site on the nucleosome // *EMBO J.*, 17(1998), pp. 244-254.
112. Mercier S. et al. Galectin-1 promotes HIV-1 infectivity in macrophages through stabilization of viral adsorption // *Virology.* - 2008.- T.371.- №1.- C. 121-129.
113. Nieminen J. et al. Role of galectin-3 in leukocyte recruitment in a murine model of lung infection by *Streptococcus pneumoniae* // *The Journal of Immunology.*- 2008.- T.180.- № 4.- C. 2466-2473.
114. Sood, Seema; Mohanty, Srujana; Kapil, Arti; Tolosa, Jorge; Mittal, Su-neeta. InPouch TV culture for detection of *Trichomonas vaginalis* // *The Indian Journal of Medical Research.* - 2007.- 125 (4): 567-71.
115. Fichorova R.N., Yamamoto H.S., Fashemi T., Foley E., Ryan S., Beatty N., et al. *Trichomonas vaginalis* lipophosphoglycan exploits binding to Galectin-1 and -3 to modulate epithelial immunity // *J Biol Chem.*- 2016.- №291.- p. 998e1013.
116. Nam Y.H., Min A., Kim S.H., Lee Y.A., Kim K.A., Song K.J., et al. Leukotriene B (4) receptors BLT1 and BLT2 are involved in interleukin-8 production in human neutrophils induced by *Trichomonas vaginalis*-derived secretory products // *Inflamm Res.*- 2012.- №61.- p. 97e102.
117. Kerschbaumer R.J., Rieger M., Volke D., Le Roy D., Roger T., Garbaraviciene J., et al. Neutralization of macrophage migration inhibitory factor (MIF) by fully human antibodies correlates with their specificity for the beta-sheet structure of MIF // *J Biol Chem.*- 2012.- № 287.- p. 7446e55.
118. Kaur S., Khurana S., Bagga R., Wanchu A., Malla N. Antitrichomonas IgG, IgM, IgA, and IgG subclass responses in human intravaginal trichomoniasis // *Parasitol Res.*- 2008.- № 103.- p. 305e12.
119. Zubáčová Z., Cimbůrek Z., Tachezy J. Comparative analysis of trichomonad genome sizes and karyotypes // *Molecular and biochemical parasitology.*-2008.- T.161.- № 1.- C. 49-54.

120. Ton Nu P.A., Nguyen V.Q., Cao N.T., Dessi D., Rappelli P., Fiori P.L. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* infection in symptomatic and asymptomatic women in Central Vietnam // *J Infect Dev Ctries.* – 2015.– № 9.– p. 655e60.
121. Bastida-Corcuera F.D., Singh B.N., Gray G.C., Stamper P.D., Davuluri M., Schlangen K., et al. Antibodies to *Trichomonas vaginalis* surface glycolipid // *Sex Transm Infect.* – 2013. – № 89. – p. 467e72.
122. Malla N., Goyal K., Dhanda R.S., Yadav M. Immunity in urogenital protozoa // *Parasite Immunol.* – 2014.– № 36.– p. 400e8.
123. Okumura C.Y., Baum L.G., Johnson P.J. Galectin-1 on cervical epithelial cells is a receptor for the sexually transmitted human parasite *Trichomonas vaginalis* // *Cell Microbiol.* – 2008.– № 10. - p. 2078e90.
124. Kaur S. et al. Antitrichomonas IgG, IgM, IgA, and IgG subclass responses in human intravaginal trichomoniasis // *Parasitology research.* – 2008. – T.103.– № 2.– C. 305.
125. Fichorova R. N. Impact of *T. vaginalis* infection on innate immune responses and reproductive outcome // *Journal of reproductive immunology.* - 2009. -T.83.– № 1-2.– C. 185-189.
126. Muzny C.A., Schwebke J.R. The clinical spectrum of *Trichomonas vaginalis* infection and challenges to management // *Sex Transm Infect.* – 2013. - № 89. – p. 423e5.
127. Poole D.N., McClelland R.S. Global epidemiology of *Trichomonas vaginalis* // *Sex Transm Infect.* – 2013.– № 89.– p. 418e22.
128. Allsworth J.E., Ratner J.A., Peipert J.F. Trichomoniasis and other sexually transmitted infections: results from the 2001-2004 National Health and Nutrition Examination Surveys // *Sex Transm Dis.* - 2009. - №36. - p.738e44.
129. Lazenby G.B., Soper D.E., Nolte F.S. Correlation of leukorrhea and *Trichomonas vaginalis* infection // *J Clin Microbiol.* - 2013. - №51. - p. 2323e7.
130. Burnstock G., Verkhratsky A. Evolutionary origins of the purinergic signalling system // *Acta Physiol.* - 2009. - №195. - p. 415e47.

131. Mendoza Lopez MR; Becerril Garcia C; Fattel Facenda LV; et al. CP30, a cysteine proteinase involved in *Trichomonas vaginalis* cytoadherence // Departamento de Patologia Experimental, Centra de Investigacion y de Estudios Avanzados del Institute Politecnico Nacional, Mexico City D.F. CP 07360, Mexico. Infect Immun. - 2000, Sep; 68(9): 4907-12.

132. Дмитриев Г.А., Сюч Н.И., Сосновцева О.П. Клинико-лабораторная оценка давности заболевания урогенитальным трихомониазом. [Текст] /Г.А., Дмитриев, Н.И. Сюч, О.П. Сосновцева // Клиническая дерматология и венерология. - 2004. - №4. - С.61-64.

133. Han I.H., Goo S.Y., Park S.J., Hwang S.J., Kim Y.S., Yang M.S., et al. Proinflammatory cytokine and nitric oxide production by human macrophages stimulated with *Trichomonas vaginalis* // Korean J Parasitol. – 2009. - №47. - p. 205e12.

134. Escario A., Gomez Barrio A., Simons Diez B., Escario J.A. Immunohistochemical study of the vaginal inflammatory response in experimental trichomoniasis // Acta Trop. - 2010. - №114. - p. 22e30.

135. Frasson A., Carli G., Bonan C., Tasca T. Involvement of purinergic signaling on nitric oxide production by neutrophils stimulated with *Trichomonas vaginalis* // Purinergic Signal. - 2012. - №8. - p. 1e9.

136. Song H.O., Shin M.H., Ahn M.H., Min D.Y., Kim Y.S., Ryu J.S. *Trichomonas vaginalis*: reactive oxygen species mediates caspase-3 dependent apoptosis of human neutrophils // Exp Parasitol. - 2008. - №118. - p. 59e65.

137. Amjadi F., Salehi E., Mehdizadeh M., Aflatoonian R. Role of the innate immunity in female reproductive tract // Adv Biomed Res. - 2014. - №3. - p.1.

138. Figueroa-Angulo E.E., Rendon-Gandarilla F.J., Puente-Rivera J., Calla-Choque J.S., Cardenas-Guerra R.E., Ortega-Lopez J., et al. The effects of environmental factors on the virulence of *Trichomonas vaginalis* // Microbes Infect.-2012. - №14. - p. 1411e27.

139. Frasson A.P., Dos Santos O., Meirelles L.C., Macedo A.J., Tasca T. Five putative nucleoside triphosphate diphosphohydrolase genes are expressed in *Trichomonas vaginalis* // FEMS Microbiol Lett. - 2016. - p. 363.

140. Frasson A.P., Charao M.F., Rosemberg D.B., et al. Analysis of the NTPDase and ecto-50-nucleotidase profiles in serum-limited *Trichomonas vaginalis* // Mem Inst Oswaldo Cruz. - 2012. - №107. - p. 170e7.

141. Menezes C.B., Durgante J., de Oliveira R.R., Dos Santos V.H., Rodrigues L.F., Garcia S.C., et al. *Trichomonas vaginalis* NTPDase and ecto-50-nucleotidase hydrolyze guanine nucleotides and increase extracellular guanosine levels under serum restriction // Mol Biochem Parasitol. - 2016. - №207. - p. 10e8.

142. Vieira Pde B., Silva N.L., Kist L.W., Oliveira G.M., Bogo M.R., Carli G.A., et al. Iron from haemoglobin and haem in modulates nucleotide hydrolysis in *Trichomonas vaginalis* // Mem Inst Oswaldo Cruz. - 2015. - №110. - p. 201e8.

143. Primon-Barros M., Rigo G.V., Frasson A.P., Santos O., Smiderle L., Almeida S., et al. Modulatory effect of iron chelators on adenosine deaminase activity and gene expression in *Trichomonas vaginalis* // Mem Inst Oswaldo Cruz. - 2015. - №110. - p. 877e83.

144. Vieira P.B., Giordani R.B., Macedo A.J., Tasca T. Natural and synthetic compound anti-*Trichomonas vaginalis*: an update review // Parasitol Res. - 2015. - №114. - p. 1249e61.

145. Giordani R.B., Vieira P.B., Weizenmann M., Rosemberg D.B., Souza A.P., Bonorino C., et al. Candimine-induced cell death of the amitochondriate parasite *Trichomonas vaginalis* // J NatProd. - 2010. - №73. - p. 2019e23.

146. Giordani R.B., Vieira P.B., Weizenmann M., Rosemberg D.B., Souza A.P., Bonorino C., et al. Lycorine induces cell death in the amitochondriate parasite, *Trichomonas vaginalis*, via an alternative non-apoptotic death pathway // Phytochemistry. - 2011. - №72. - p. 645e50.

147. Giordani R.B., Weizenmann M., Rosemberg D.B., De Carli G.A., Bogo M.R., et al. *Trichomonas vaginalis* nucleoside triphosphate diphosphohydrolase and ecto-50-nucleotidase activities are inhibited by lycorine and candimine // Parasitol Int. - 2010. - №59. - p. 226e31.

148. Benchimol M, de Andrade Rosa I, da Silva Fontes R, Burla Dias AJ. *Trichomonas* adhere and phagocytose sperm cells: adhesion seems to be a prominent

stage during interaction // *Parasitol.Res.* - 2008; 102:597 - 604.

149. Chang JH, Kim SK, Choi IH, Lee SK, Morio T, Chang EJ. Apoptosis of macrophages induced by *Trichomonas vaginalis* through the phosphorylation of p38 mitogen-activated protein kinase that locates at downstream of mitochondria-dependent caspase activation // *Int J Biochem Cell Biol.* - 2006; 38:638 - 647.

150. Malla N., Goyal K., Dhanda R.S., and Yadav M. Immunity in urogenital protozoa // *Parasite Immunology.* - 2014. - vol. 36. - pp. 400 - 408.

151. Fichorova RN. Impact of *T. vaginalis* infection on innate immune responses and reproductive outcome // *J Reprod Immunol.* - 2009;83:185-9.

152. Fichorova RN, Trifonova RT, Gilbert RO, et al. *Trichomonas vaginalis* lipophosphoglycan triggers a selective upregulation of cytokines by human female reproductive tract epithelial cells // *Infect Immun.* - 2006; 74: 5773-9.

153. Кисина В.И. Клинические аспекты и лечение урогенитального трихомониаза препаратами группы 5-нитроимидазолов. *Consilium Medicum.* - 2003. - №3. - С.162-164.

154 Васильев М. М. Особенности клиники мочепоолового трихомоноза, совершенствование диагностики и лечения (клинико-экспериментальное исследование): автореф. дис. д-ра мед. наук.-Москва, 1990.-40 с.

155. Van Der Pol B. *Trichomonas vaginalis* infections. In: Kumar B, Gupta S, eds. *Sexually transmitted infections*, 2nd ed. New Delhi, Elsevier, 2012: 602-609.

156 Протокол ведения больных. Урогенитальный трихомониаз. Утверж. Минздравсоцразвития РФ 14.01.2005.

157 Безжгутиковая форма *Trichomonas vaginalis*: морфология, ультраструктура и особенности лабораторной диагностики / Н.Н.Полещук, Л.В.Рубаник, Т.В.Андрюшина и др. // *Материалы IX съезда ВНПОЭМП.-М., 2007.* - С. 128-129.

158 Мартикайнен З.М., Григорьев А.Н., Рыжкова О.С. Сравнение лабораторных методов диагностики инфекций, вызываемых *Trichomonas vaginalis* [Текст]/ З.М. Мартикайнен, А.Н. Григорьев, О.С. Рыжкова // *Журнал акушерства и женских болезней.* - 2014. - Т.LXIII. - №1. - С. 5-9.

159. Martikaynen ZM, Grigoryev JS, et al. Comparison of laboratory methods for diagnosis of *Trichomonas vaginalis* // *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. - 2014; LXIII (1): 5-9.

160. Григорьев А.Н. Современное состояние проблемы лабораторной диагностики урогенитального трихомониаза [Текст] / А.Н Григорьев // *Журнал акушерства и женских болезней*. - 2013. - Т. LXIII. - №1.- С. 32 - 41.

161. Zhou X, Bent SJ, Schneider MG, et al. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. *Microbiology*. 2004; 150 (8) : 2565-2573.

162. Гущин А.Е., Рыжих П.Г., Махлай Н.С. Сравнение пределов обнаружения микроскопии, культурального посева и метода амплификации нуклеиновых кислот, используемых в лабораторной практике для выявления *Trichomonas vaginalis*. [Текст] / А.Е. Гущин, П.Г. Рыжих, Н.С. Махлай // *Клиническая дерматология и венерология*. - 2012. - №3. - С. 16 - 21.

163. Трихомониаз мочеполовой // Кулага В.В. Кожные и венерические болезни. Практикующему врачу / В.В. Кулага, В.А. Лемешко. - Луганск: Элтон-2, 2009. - С. 320 - 323.

164. Самцов А.В., Теличко И.Н., Иванов А.М. Современные проблемы терапии урогенитального трихомониаза. [Текст] / А.В. Самцов, И.Н. Теличко, А.М. Иванов // *Воен.-мед. журн.* - 2007. - Т. 328. - №8. - С. 45 - 49.

165. Рахматуллина М.Р. Урогенитальный трихомониаз: проблемы диагностики и терапии: научное издание / М.Р. Рахматуллина // *Вестн. последипл. мед. образования*. - 2008. - №1. - С. 19 - 22.

166. Дмитриев Г.А., Глазко И.И. Диагностика инфекций, передаваемых половым путем. - М., 2007. - 320 с.

167. Schmid G.P, Matheny L.C, Zaidi A.A, Kraus S.J. Evaluation of six media for the growth of *Trichomonas vaginalis* from vaginal secretions // *J. Clin. Microbiol.*-1989.-Vol.27.-P. 1230-1233.

168. Borchardt K., Zhang M., Shing H. A comparison of the sensitivity of the InPouch TV, Diamond's and Trichosel media for detection of *Trichomonas vaginalis* // *Genitourin Med.*-1997.-Vol.4.-P. 297-298.
169. Smith R.F. Detection of *Trichomonas vaginalis* in vaginal specimens by direct immunofluorescence assay // *J. Clin. Microbiol.*-1986.-Vol.4.-P.1107-1108.
169. Krieger J.N., Holmes K. K., Spence M. R., Rein M. F., McCormack W. M., Tam M. R. Geographic variation among isolates of *Trichomonas vaginalis*: demonstration of antigenic heterogeneity by using monoclonal antibodies and the indirect immunofluorescence technique // *J. Infect. Dis.*-1985.-Vol.152.-P. 979-984.
170. Torian B.E., Connelly R.J., Stephens R.S, Stibbs H.H. Specific and common antigens of *Trichomonas vaginalis* detected by monoclonal antibodies // *Infect. Immun.* - 1984. - Vol.43.-P. 270 - 275.
171. Особенности диагностики мочеполового трихомониаза: научное издание / И. Н. Теличко [и др.] // *Клинич. дерматология и венерология.* - 2006. - №3. - С. 17-20.
172. Леонтьев И.Г., Леонтьев Д.И. Современные комбинированные препараты при лечении урогенитального трихомониаза и ассоциированных уретрогенных инфекций у мужчин.[Текст] / И.Г. Леонтьев, Д.И. Леонтьев // *Клиническая дерматология и венерология.* - 2013. - №11. – С. 63 - 68.
173. Юнусова Е.И. Диагностика урогенитального трихомониаза // *Журн. Практическая Медицина.* – 2009. - №5. - С. 43-46.
174. Mason P.R. Serodiagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection by the indirect fluorescent antibody test // *J. Clin. Pathol.*-1979.-Vol. 32.-P. 1211-1215.
175. Megan Brooks. Growing Antibiotic Resistance Prompts New WHO STI Guidelines. *Medscape* August 31, 2016.
176. Савичева А.М., Соколовский Е.В., Домейка М. Порядок проведения микроскопического исследования мазков из урогенитального тракта // *Методические рекомендации для лечащих врачей. Серия Ex libris «Журнал акушерства и женских болезней».* - СПб: Изд-во Н-Л, 2007. - 60 с.

177. Рыжих П.Г., Гуцин А.Е. К вопросу о лабораторной диагностике урогенитального трихомониаза с учетом концентрации *Trichomonas vaginalis* в биологическом материале [Текст] / П.Г. Рыжих, А.Е. Гуцин // Клиническая дерматология и венерология. - 2013. - №5. - С. 44-48.

178. Киясов И.А., Хузаханов Ф.В. Современные тенденции заболеваемости инфекциями, передающимися половым путем, и пути ее профилактики [Текст] / И.А. Киясов, Ф.В. Хузаханов // Успехи современного естествознания. - 2015. - №2. - С. 51 - 55.

179. Фидаров А.А., Скрипкин Ю.К., Кулагин В.И., Фидаров А.В., Наровлянский А.Н., Мезенцева М.В., Тускаева Д.Ю. Роль иммунологических нарушений в патогенезе инфекций, передаваемых половым путем [Текст] / А.А. Фидаров, Ю.К. Скрипкин, В.И. Кулагин и др. // Успехи современного естествознания. - 2006. - №3. - С. 19-22.

180. Ахмадиев Е.Е. Эффективность иммуномодулятора беталейкин в лечении урогенитального трихомониаза: дисс. ... канд. мед. наук.-Алматы, 2008. -143 с.

181. Ниязалиева М.С., Адамбеков Д.А., Альджамбаева И.Ш., Бестужева Г.Р. Показатели иммунитета при некоторых ИППП у представителей групп поведенческого риска в КР. [Текст] / М.С. Ниязалиева, Д.А. Адамбеков, И.Ш. Альджамбаева и др. // Здоровье и образование в XXI веке. - 2008. - №2. - С. 228 - 230.

182. Sood S., Kapil A. An update on *Trichomonas vaginalis* // Indian J. Sex. Transm. Dis.-2008.-Vol.29.-P. 7-14.

183. Stepwise diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection in adolescent women / Pattullo L. [et al.] // J. Clin. Microbiol. - 2009. - Vol.47. - N1.- P. 59-63.

184. Раздольская Н.В. Диагностическое значение цитоморфологических, культуральных и иммуногенных свойств *Trichomonas vaginalis*: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. - СПб. - 2009, 24 с.

185. Matsuo J. A simple and rapid method for cryopreservation of *Trichomonas vaginalis* // Parasitol. Res. - 2007, 101:907-911.

186. Захаркив Ю.Ф., Никитин А.Ф., Белугина Е.Е., Стрельцова К.Г. Чувствительность отдельных штаммов *T.vaginalis* к противопротозойным препаратам, применяемым для лечения воспалительных заболеваний уrogenитального тракта // Военно-медицинская академия.- Санкт-Петербург. - 2013.
187. Полещук Н.Н., Рубаник Л.В., Гаврусев А.А., Капитулец Н.Н., Костюк С.А. Ультроструктурные параметры метронидазолустойчивости *Trichomonas vaginalis* и трансформация простейших в различные морфоформы при длительном культивировании // Здоровоохранение. - 2010. - №5.- С. 29-33.
188. Чураков А.А. Хронический простатит, ассоциированный с трихомо-ниазом и хламидиозом: оптимизация обследования и лечения больных и их половых партнеров: автореф. дисс. ... д-ра мед.наук. - Саратов, 2007. - 50 с.
189. Bergan T. Antibacterial activity and pharmacokinetics of nitroimidazoles // A.review. - Scand J Infect Dis 1985; 17 (Suppl. 46): 64-71.
190. Кисина В.И. Клинико-диагностические аспекты и лечение вагиналь-ных инфекций // Consilium. - 2002. - Т.6. - №3. - С. 202-204.
191. Самохин В.Л. Клинико-фармакокинетическое обоснование приме-нения синтетических 5-нитроимидазолов в терапии мочеполового трихомо-ниаза: Дис. ...канд. мед. наук.-М., 2003.-167 с.
192. Лесовой В.Н., Аркатов А.В., Книгавко А.В., Кривицкий В.А. Динамика чувствительности влагалищной трихомонады к антипротозойным препаратам. [Текст] Лесовой В.Н., Аркатов А.В., Книгавко А.В., // Здоровье мужчины. - 2006. - №3. - С. 144-145.
193. Squires S. Strain sensitivity of *Trichomonas vaginalis* to metronidazole / S. Squires, McFadzean // Brit. J. Vener. Dis. - 1962. - Vol.38. - P.218.
194. CDC. Sexually Transmitted Diseases Treatment GuidelineP. MMWR.-2010.- Vol.59 (No. RR-12).-116p.
195. Debbia E.A, Campora U, Massaro S. et al. In vitro activity of metronidazole alone and in combination with clotrimazole against clinical isolates of *Trichomonas vaginalis* // J Chemother. - 1996; 8(2): 96-101.

196. Taru Meri IT, Jokiranta Sakari, Suhonen I. Lauri et al. Resistance of *Trichomonas vaginalis* to Metronidazole: Report of the First Three Cases from Finland and Optimization of In vitro Susceptibility Testing under Various Oxygen Concentrations // J Clin Microbiol. - 2000; 38(2): 763-7.

197. Miller M, Lossick JG, Gorrell TE et al. In vitro susceptibility of *Trichomonas vaginalis* to metronidazole and treatment outcome in vaginal trichomoniasis // Sex Transm Dis.-1988; 15:17-24.

198. Narcisi EM, Secor WE. In vitro effect of tinidazole and furazolidone on metronidazole resistant *Trichomonas vaginalis* // Antimicrob Agents Chemother.-1996; 40: 1121-5.

199. Du Bouchet L, Spence MR, Rein MF et al. Multicenter comparison of clotrimazole vaginal tablets, oral metronidazole and vaginal suppositories containing sulfanilamide, aminacrine hydrochloride and allantoin in the treatment of symptomatic trichomoniasis // Sex Transm Dis.-1997; 3: 156-60.

200. Barrientes F.J. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* isolates showing resistance to metronidazole and tinidazole / F.J. Barrientes, L.F Lawing., J.R. Schwebke / 45th ICAA, 2005. - Washington, 2005. - Abstr. L-2234.

201. Горчаков Д.А., Луцевич И.Н., Софьина А.В., Софьин В.С. Лекарственная устойчивость *Trichomonas vaginalis* как проявление наследуемой модификационной изменчивости у простейших [Текст] / Д.А. Горчаков, И.Н Луцевич, А.В. Софьина, и др. // Фундаментальные исследования. - 2012. - №12-1. - С. 40 - 43.

202. Горчаков Д.А., Луцевич И.Н, Кобзева А.В, Софьин В.С., Пляченко Д.А. Модификационная изменчивость простейших как причина появления атипичных форм *Tr. Vaginalis*. [Текст] / Д.А. Горчаков, И.Н. Луцевич, А.В, Кобзева, и др. // Тезисы 2-го Конт. конгр. дерматологов МДО/ 4-го Всерос. конгр. дерматовенерологов (Санкт-Петербург, 6-9 июля 2011 г.). – СПб. - 2011. - С. 213-214.

203. Софьин В.С. Морфофизиологические, генетические и эволюционные аспекты *Tr. Vaginalis*. [Текст] / В.С. Софьин // Научно-медицинский Вестник

Саратовского государственного медицинского университета. - 2003. - №2. - С. 64-70.

204. Schwebke J.R. Trichomoniasis / J.R. Schwebke, D. Burgess // Clin. Microbiol. Rev. - 2004. - Vol.17. - №4. - P.794 - 803.

205. Белькова Ю.А., Козлов С.Н. Общие подходы к терапии инфекции, вызванной резистентными к метронидазолу штаммами *Trichomonas vaginalis*. [Текст] / Ю.А. Белькова, С.Н. Козлов // Фарматека. - 2011. - №19(232). - С. 1-9.

206. Новиков Е.А. Применение методов вариационной статистики в биологии и медицине [Текст] / Е.А. Новиков // Проблемы репродукции. - 1995. - №1.- С. 20-22.

207. Падейская Е.Н. Метронидазол - антимикробный препарат для лечения бактериальных и протозойных инфекций [Текст] / Е.Н. Падейская // Реферативный медицинский журнал. - 2005. - №14. - С. 909.

208. Johnston VJ, Mabey DC. Global epidemiology and control of *Trichomonas vaginalis* // Curr Opin Infect Dis. - 2008; 21(1): 56-64.

209. Малова И.О. Урогенитальный трихомоноз. [Текст] / И.О. Малова // Клиническая дерматовенерология в 2-х т. / под ред. Ю.К. Скрипкина.-М.: ГЭОТАР – Медиа. 2009. - Т.1. - С. 473 - 498.

210. European (IUSTI/WHO) Guideline on the Management of Vaginal Discharge / J. Sherrard, G. Donders, D. White, J. Skov-Jensen // Int.J. STD / AIDP.- 2011. - Vol.22. - №8. - P. 42-49.

211. Bachmann LH, Hobbs MM, Seña AC, Sobel JD, Schwebke JR, Krieger JN, et al. *Trichomonas vaginalis* genital infections: progress and challenges // Clin Infect Dis. - 2011; 53(Suppl 3): S. 160-172.

212. Schwebke J.R. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* Isolates with Resistance to Metronidazole and Tinidazole / J.R. Schwebke, F.J. Barrientes // Antimicrob. Agents Chemother. - 2006. - Vol.50. - P. 4209 - 4210.

213. Захаркив Ю.Ф., Никитин А.Ф., Стрельцова К.Г., Позняк А.Л., Гудков Р.В., Сидорчук С.Н. Культуральный метод в оценке чувствительности *Trichomonas vaginalis* к препаратам 5-нитроимидазольного ряда и других групп

[Текст] / Ю.Ф. Захаркив, А.Ф. Никитин, К.Г. Стрельцова, и др.// Гинекология. – 2007. - №05. – С. 31-34.

214. Кубанова А.А., Кубанов А.А., Мелехина Л.Е., Богданова Е.В. Организация оказания медицинской помощи по профилю «Дерматовенерология» в Российской Федерации. Динамика заболеваемости инфекциями, передаваемыми половым путем, болезнями кожи и подкожной клетчатки, 2013-2015 гг. [Текст] /А.А. Кубанова, А.А. Кубанов, Л.Е. Мелехина и др.// Вестник дерматологии и венерологии. - 2016. - №3. - С. 12 - 28.

215. Megan Brooks. Growing Antibiotic Resistance Prompts New WHO STI Guidelines. Medscape August 31, 2016.

216. Савичева А.М., Соколовский Е.В., Домейка М. Порядок проведения микроскопического исследования мазков из урогенитального тракта [Текст] / А.М Савичева, Е.В. Соколовский, М. Домейка // Методические рекомендации для лечащих врачей. Серия Ex libris «Журнал акушерства и женских болезней». - СПб: Изд-во Н-Л. - 2007. - 60 с.

217. Рыжих П.Г., Гуцин А.Е. К вопросу о лабораторной диагностике урогенитального трихомониаза с учетом концентрации *Trichomonas vaginalis* в биологическом материале [Текст] / П.Г. Рыжих, А.Е. Гуцин // Клиническая дерматология и венерология. - 2013. -№5. - С. 44-48.

218. Андрейчев В.В. Сопутствующая неспецифическая бактериальная инфекция урогенитального тракта у мужчин с хроническим трихомониазом и хламидиозом [Текст] / В.В.Андрейчев // Материалы XI Всероссийского съезда дерматовенерологов и косметологов. - С-Петербург. - 2011. - С. 56 - 57.

219. *Trichomonas vaginalis* genital infections progress and challenges / Bachmann L.H. [et al.] // Clin. Infect. Dis. - 2011. - Vol.53. - N3.- P. 160-172.

220. Рубаник Л.В. Папилломавирусная инфекция урогенитального тракта и другие патогены (*Chlamydia trachomatis*, вирусы герпеса, *Trichomonas vaginalis*) как кофакторы воспаления и триггеры морфологической трансформации клеток. [Текст] / Л.В. Рубаник // Медицинская панорама. - 2016. - №1. - С. 17 - 22.

221. Горчаков Д.А., Луцевич И.Н., Софьина А.В., Софьин В.С. Лекарственная устойчивость *Trichomonas vaginalis* как проявление наследуемой модификационной изменчивости у простейших [Текст] / Д.А. Горчаков, И.Н. Луцевич, А.В. Софьина, и др. // Фундаментальные исследования. - 2012. - №12-1. - С. 40 - 43.

222. Горчаков Д.А., Луцевич И.Н., Кобзева А.В., Софьин В.С., Пляченко Д.А. Модификационная изменчивость простейших как причина появления атипичных форм *Tr. Vaginalis*. [Текст] / Д.А. Горчаков, И.Н. Луцевич, А.В. Кобзева, и др. // Тезисы 2-го Конт. конгр. дерматологов МДО/ 4-го Всерос. конгр. дерматовенерологов (Санкт-Петербург, 6-9 июля 2011 г.). – СПб. - 2011. - С. 213-214.

223. Софьин В.С. Морфофизиологические, генетические и эволюционные аспекты *Tr. Vaginalis*. [Текст] / В.С. Софьин // Научно-медицинский Вестник Саратовского государственного медицинского университета. - 2003. - № 2. - С. 64 -70.

224. Schwebke J.R. Trichomoniasis / J.R. Schwebke, D. Burgess // Clin. Microbiol. Rev. - 2004. - Vol.17. - №4. - P.794 - 803.

225. Белькова Ю.А., Козлов С.Н. Общие подходы к терапии инфекции, вызванной резистентными к метронидазолу штаммами *Trichomonas vaginalis*. [Текст] / Ю.А. Белькова, С.Н. Козлов // Фарматека. - 2011. - №19(232). - С. 1-9.

226. Новиков Е.А. Применение методов вариационной статистики в биологии и медицине [Текст] / Е.А. Новиков // Проблемы репродукции. - 1995. - №1.- С. 20-22.

227. Падейская Е.Н. Метронидазол - антимикробный препарат для лечения бактериальных и протозойных инфекций [Текст] / Е.Н. Падейская // Реферативный медицинский журнал. - 2005. - №14. - С. 909.

228. European (IUSTI/WHO) Guideline on the Management of Vaginal Discharge / J. Sherrard, G. Donders, D. White, J. Skov-Jensen // Int.J. STD / AIDP.- 2011. - Vol.22. - №8. - P. 42-49.

229. Bachmann LH, Hobbs MM, Seña AC, Sobel JD, Schwebke JR, Krieger JN, et al. *Trichomonas vaginalis* genital infections: progress and challenges // *Clin Infect Dis.* - 2011; 53(Suppl 3): S. 160-172.

230. Кубанова А.А., Кубанов А.А., Мелехина Л.Е., Богданова Е.В. Организация оказания медицинской помощи по профилю «Дерматовенерология» в Российской Федерации. Динамика заболеваемости инфекциями, передаваемыми половым путем, болезнями кожи и подкожной клетчатки, 2013-2015 гг. [Текст] /А.А. Кубанова, А.А. Кубанов, Л.Е. Мелехина и др.// Вестник дерматологии и венерологии. - 2016. - №3. - С. 12 - 28.

231. Megan Brooks. Growing Antibiotic Resistance Prompts New WHO STI Guidelines. *Medscape* August 31, 2016.

232. Рыжих П.Г., Гущин А.Е. К вопросу о лабораторной диагностике урогенитального трихомониаза с учетом концентрации *Trichomonas vaginalis* в биологическом материале [Текст] / П.Г. Рыжих, А.Е. Гущин // Клиническая дерматология и венерология. - 2013. -№5. - С. 44-48.

233. P.Bellio, L.Fagnani, L.Nazzicone, G.Celenza New and simplified method for drug combination studies by checkerboard assay//*MethodsX.*-2021.-8.101543

234. Martikaynen ZM, Grigoryev JS, et al. Comparison of laboratory methods for diagnosis of *Trichomonas vaginalis* // *Journal of Obstetrics and Women's Diseases.* - 2014; LXIII (1): 5-9.

УТВЕРЖДАЮ
 Директор ГКП на ПХВ «Кожно-венерологического диспансера», УОЗ
 г. Алматы
 Исламов Е.Н.
 «_____» _____ 2024 г.



Акт внедрения результатов научно-исследовательских, научно-технических работ, или результатов научной и научно-технической деятельности

1. Автор внедрения: Джумабаева Салтанат Муқановна

2. Наименование научно-исследовательских, научно-технических работ и (или) результатов научной и (или) научно-технической деятельности: диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.03 – микробиология и 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология на тему «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ».

3. Краткая аннотация: Для дифференциации природы устойчивости штаммов *T.vaginalis* к препаратом 5-НИ при неудачах терапии рекомендуется определение внутриклеточного содержания препарата с помощью ВЭЖХ. Метод определения внутриклеточного содержания препарата поможет дифференцировать природу происхождения устойчивости штаммов *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ для коррекции тактики лечения.

4. Эффект от внедрения: Результаты количественного определения препаратом 5-НИ в лизатах штаммов *T.vaginalis* поможет в выборе тактики терапии, т.к. на сегодняшний день эмпирическое назначение препаратов не приводит к успеху лечения, способствует дальнейшему распространению резистентных штаммов *T.vaginalis*.

Количественное внутриклеточное определение препаратов у резистентных штаммов *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ необходим для полной элиминации возбудителя инфекции из организма больного и прекращения дальнейшего распространения резистентных штаммов.

5. Место и время внедрения: Лаборатория ГКП на ПХВ «Кожно-венерологического диспансера», г.Алматы.

6. Форма внедрения: Методика приготовления лизата *T.vaginalis* для внутриклеточного определения препаратов 5-НИ.

Представители организации, в которую внедрена разработка:

Заведующий лабораторией микробиологии
 Жеребцова Л.А. ГКП на ПХВ
 «Кожно-венерологический диспансер»



Представитель организации, из которой исходит внедрение:

Заведующий лабораторией микробиологии
 АО «Научный центр противоиных инфекционных препаратов», PhD доктор Джумагазиева А.Б

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

УТВЕРЖДАЮ



Врио Директора АО «Научный центр
противоинфекционных препаратов», доктор
медицинских наук,

А.А. Азембаев

2024 г.

Акт внедрения результатов научно-исследовательских, научно-технических работ, или результатов научной и научно-технической деятельности

1. Автор внедрения: Джумабаева Салтанат Мукановна

2. Наименование научно-исследовательских, научно-технических работ и (или) результатов научной и (или) научно-технической деятельности: диссертация на соискание степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология и 03.02.03- микробиология на тему: «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ»

3. Краткая аннотация: Внедрение модифицированного метода *Checkerboard* для определения совместного действия иодсодержащих препаратов КС с лекарственными препаратами на резистентные штаммы *T.vaginalis* без высева на свежие среды с дальнейшей верификацией роста бактерий раствором резазурина. Культуральный метод выделения возбудителей инфекций с определением антибиотикочувствительности занимает около 10 дней исследования. При применении растворов резазурина для верификации роста культур сокращает время исследования в два раза.

При наличии окислительно-восстановительной реакции, резазурин меняет синий цвет на розовый. Далее нет надобности в высева на свежие питательные среды. Данный метод значительно экономит питательные среды и рабочее время сотрудников.

4. Эффект от внедрения:

- одновременно определяется чувствительность микроорганизмов к каждому препарату по отдельности и совместно, что может быть использовано в практической медицине, как с лечебной, так и профилактической целью;

- значительная экономия времени и питательных сред.

Методика предназначена для специалистов лабораторий медицинских организаций.

5. Место и время внедрения: Лаборатория микробиологии АО «Научный центр противоинфекционных препаратов».

6. Форма внедрения: Методика исследования совместного действия иодсодержащих соединений и других лекарственных средств в отношении резистентных штаммов микроорганизмов.

Представитель организации, в которую внедрена разработка:

Заведующий лабораторией микробиологии АО
«Научный центр противоинфекционных
препаратов», PhD доктор Джумагазиева А.Б



Представитель организации, из которой исходит внедрение:

Зам.заведующего лабораторией микробиологии
АО «НЦПП» Искакбаева Ж.А.



Колын растаймын
заверяю

Мамандар бөлімінің басшысы
Начальник отдела кадров

«22» маусым 2024 жыл

УТВЕРЖДАЮ
 Директор РЦДВ, к.м.н., врач высшей
 категории Юсупова М

«27» _____ 2024 г.

Акт внедрения результатов научно-исследовательских, научно-технических работ, или результатов научной и научно-технической деятельности

1. **Автор внедрения:** Джумабаева Салтанат Муқановна

2. **Наименование научно-исследовательских, научно-технических работ и (или) результатов научной и (или) научно-технической деятельности:** диссертация на соискание степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.09 – клиническая иммунология и аллергология и 03.02.03- микробиология на тему: «Иммунологические аспекты трихомонадной инфекции и мониторинг резистентности *T.vaginalis* к препаратам 5-НИ»

3. **Краткая аннотация:** Внедрение модифицированного метода *Checkerboard* для определения совместного действия иодсодержащих препаратов КС с лекарственными препаратами на резистентные штаммы *T.vaginalis* без высева на свежие среды с дальнейшей верификацией роста бактерий раствором резазурина. Культуральный метод выделения возбудителей инфекций с определением антибиотикочувствительности занимает около 10 дней исследования. При применении растворов резазурина для верификации роста культур сокращает время исследования в два раза.

При наличии окислительно-восстановительной реакции, резазурин меняет синий цвет на розовый. Далее нет надобности в высеве на свежие питательные среды. Данный метод значительно экономит питательные среды и рабочее время сотрудников.

4. **Эффект от внедрения:**

- одновременно определяется чувствительность микроорганизмов к каждому препарату по отдельности и совместно, что может быть использовано в практической медицине, как с лечебной, так и профилактической целью;
- значительная экономия времени и питательных сред.

Методика предназначена для специалистов лабораторий медицинских организаций.

5. **Место и время внедрения:** Лаборатория микробиологии АО «Научный центр противoinфекционных препаратов».

6. **Форма внедрения:** Методика исследования совместного действия иодсодержащих соединений и других лекарственных средств в отношении резистентных штаммов микроорганизмов.

Представитель организации, в которую внедрена разработка:
 Заместитель директора РЦДВ по лечебной части
 Асанов А.Б.



Представитель организации, из которой исходит внедрение:
 Заведующая бактериологической лабораторией
 Дуйшоналиева Н.З.

