

ХИМИОТЕРАПИЯ

Г. М. ПАРОНИКЯН

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ TRICHOMONAS VAGINALIS

Культивирование патогенных простейших, и, в частности, *Trichomonas vaginalis*, трудная и еще не полностью разрешенная задача. Это, прежде всего, объясняется тем обстоятельством, что изучению влагалищной трихомонады в прошлом придавалось незаслуженно малое значение, ввиду неясности роли этого простейшего в патологии человека. В настоящее время по мере того, как выясняется патогенное значение *T. vaginalis* для человека, вопрос изучения этих простейших, а, следовательно, умения культивирования их на искусственных питательных средах приобретает большое значение.

Нами было изучено 5 сред, предложенных различными авторами, как для выращивания некоторых патогенных простейших, так и специально для трихомонад.

*Культивирование T. vaginalis на яичной среде III. М. Матевосяна и на кислой среде Линча.* Среда III. М. Матевосяна [2], предложенная автором для выращивания *Ent. histolytica*, состоит из двух частей—плотной и жидкой. Перед употреблением в заранее заготовленные пробирки со скошенной плотной средой добавляется 4—5 мл жидкой части среды и 1—2 петли стерильного рисового крахмала. Культура *T. vaginalis* засеивается на дно пробирки и инкубируется в термостате при 37°.

Кислая среда Линча [1, 5], предложенная для культивирования трихомонад, состоит из обыкновенного мясо-пептонного бульона и уксусной кислоты.

Пересевы культуры на обеих средах делаются через каждые 2—3 дня.

Сравнительные данные по культивированию *T. vaginalis* на среде Матевосяна и на кислой среде Линча приведены на таблице 1.

Количество выращенных трихомонад нами учитывалось путем микроскопирования свежих мазков при увеличении в 600 раз и количество флягеллят в одном поле зрения условно обозначалось знаком „+“. Так один „+“ означает, что в поле зрения микроскопа было обнаружено до 5 подвижных флягеллят; „++“ до 10, „+++“ до 25 и „++++“ свыше 25. Отсутствие же подвижных трихомонад в 25 полях зрения микроскопа обозначалось знаком „—“.

Из приведенной таблицы 1 видно, что рост *T. vaginalis* происходит только на среде Матевосяна и достигает максимума на 2—3 день. На кислой среде Линча наблюдалось только простое переживание

простейших и, как правило, трихомонады в этой среде гибли спустя 48 часов после посева. Заметных различий в росте между отдельными штаммами трихомонад, при культивировании их на этих средах не наблюдалось.

Таблица 1

T. vaginalis	Номер пробирки	Среда Матевосяна				Кислая среда Линча		
		Рост простейших по дням						
		1	2	3	4	1	2	3
Штамм 16	1	+	++	++	+	+	+	—
	2	+	++	+	+	+	—	—
	3	+	+	++	+	—	+	—
Штамм 17	4	+	+	++	++	+	—	—
	5	+	+	++	+	+	+	—
	6	+	++	+	+	+	+	—
Штамм 18	7	+	+	+	+	+	—	—
	8	+	++	+	+	+	+	—
	9	+	+	++	+	+	+	—

Жизнь простейших на среде Матевосяна в среднем длилась 11—13 дней. При частых пересевах нам удавалось культивировать трихомонады до 1,5—2 месяцев. Более продолжительное культивирование *T. vaginalis* на этой среде не удавалось, вероятно, из-за интенсивного роста сопутствующих бактерий, подавляющих рост простейших.

*Культивирование T. vaginalis на среде NNN.* В дальнейшем мы выращивали влагалищную трихомонаду на среде NNN, которая применяется для культивирования возбудителя лейшманиоза — *L. Donovanі* [1,4].

Среда NNN нами была несколько модифицирована: перед посевом в каждую пробирку добавлялось по 4 мл либо физиологического раствора, либо раствора Локка или Рингера. Пересевы делались через каждые 3 дня. Трихомонады культивировались при 37° С. Результаты культивирования *T. vaginalis* на среде NNN с физиологическим раствором, а также с раствором Локка и Рингера суммированы в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, заметных отличий в росте трихомонад на среде NNN с различными жидкостями не наблюдалось. Продолжительность жизни трихомонад на этих средах в среднем длится 10—11 дней.

На этой среде трихомонады культивировались и при температуре 24°, при которой обычно выращивается культура *L. Donovanі*. Рост трихомонад в этих условиях был слабым и простейшие жили не более 7—8 дней (в двух пробирках из 12).

*Культивирование T. vaginalis на сывороточном бульоне.* Испытуемая среда (сывороточный бульон), предложенная для вы-

Таблица 2

<i>T. vaginalis</i>	Рост трихомонад на среде NNN с различными жидкостями			Продолжительность жизни трихомонад
	физиологич. раствор	раствор Локка	раствор Рингера	
Штамм 19	+	++	+	10 дней
Штамм 20	++	+	+	11 дней

ращивания влагалищной трихомонады, состоит из обычного мясопептонного бульона, 1,0 г мальтозы и сыворотки человека. рН среды равнялся 7—7,2. Пересевы можно делать через каждые 3—4 дня. Результаты культивирования на сывороточном бульоне приведены в таблице 3.

Таблица 3

<i>T. vaginalis</i>	Рост простейших по дням					
	2	3	4	5	7	8
Штамм 25	+	++	++	+	—	—
Штамм 26	+	+	++	++	+	—

Приведенные данные показывают, что испытываемая среда не пригодна для продолжительного культивирования трихомонад. Трихомонады в среде могут жить без пересева не более одной недели. Следует отметить, что наряду с умеренным ростом флягеллят в среде происходит рост большого количества бактерий, которые мешают росту простейших.

*Культивирование T. vaginalis на среде Е. П. Павловой* Пригодной для культивирования *T. vaginalis* оказалась и среда Е. П. Павловой [3], предложенная автором для культивирования *Ent. histolytica*.

Для приготовления среды Павловой мы брали:

- физиологического раствора (0,9%) . . . . . 1000,0 мл
- двуметаллического фосфорно-кислого натрия ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )—0,3564 г
- однометаллического фосфорно-кислого калия ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )—0,6354 г.

Перед посевом в каждую пробирку вносилось по 0,5 мл цельной лошадиной сыворотки и 1—2 петли рисового крахмала. рН среды равнялся 6.

Данные по культивированию 5 штаммов трихомонад на среде Павловой приведены в таблице 4.

Как видно из данных таблицы, хороший рост флягеллят на среде Павловой наблюдался в равной мере в течение первых двух недель культивирования у первых четырех штаммов трихомонад, в дальнейшем же начиналось снижение роста. Максимум роста наблюдался на 4—7 день пересева, исключение составлял только штамм 31, кото-

Т. vaginalis	Рост трихомонад по дням											
	2	3	4	5	7	9	11	14	21	28	45	60
Штамм 21	+	+	+++	++++	++++	++++	++++	++	+	+	+	—
Штамм 22	+	++	+++	++++	+++	++	++	+	+	—	+	—
Штамм 23	+	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—
Штамм 24	+	+	++	++++	++++	++++	++++	++	+	+	+	—
Штамм 31	+	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—

рый из-за бурного развития бактерий рос довольно слабо и на 7 день пересева погиб. Дольше всех на этой среде жили штаммы 21 и 24.

Для текущей работы пересевы культуры трихомонад делались через каждые 3—5 дней. Опыты показали, что чем чаще проводятся пересевы, тем больше усиливается рост трихомонад, нередко число активных трихомонад (взятых со дна пробирки) может достигать 50-ти и более в поле зрения микроскопа (увеличение 600х), число бактерий уменьшается, трихомонады становятся более подвижными и устойчивыми к воздействию внешней среды.

Для хранения культуры *T. vaginalis* на среде Павловой в течение продолжительного времени (музейные штаммы) пересевы делались через 8 и не позже чем через 14 дней. Нередко культуру простейших обрабатывали антибиотиками. В среду вводилось по 250 единиц пенициллина и стрептомицина на мл среды. В результате этого число сопутствующих бактерий в значительной мере подавлялось и заметно улучшался рост флягеллят.

На среде Павловой трихомонады по своим морфологическим признакам мало чем отличаются от трихомонад, находящихся в нативной среде. Они имеют круглую или чаще веретенообразную форму и различные размеры тела. В окрашенных по Романовскому—Гимза препаратах хорошо видны перидних жгутика, аксостил, ядро, зернистость протоплазмы и ундулирующая мембрана (рис. 1).

На среде Павловой нам удалось культивировать несколько штаммов *T. vaginalis* в течение 2—3 лет.

Если сопоставить рост трихомонад и сопутствующих бактерий на среде Павловой с ростом на среде Матевосяна и в особенности на среде NNN и сывороточном бульоне, то ясно видно преимущество среды Павловой.

Среда Павловой выгодно отличается еще и тем, что она доступна, легко готовится и имеет сравнительно простой состав. Учитывая положительные свойства среды Павловой, мы в дальнейших наших исследованиях культивирование *T. vaginalis* вместе с сопутствующей бактериальной флорой проводили на этой среде.

Наши наблюдения показывают, что для успешного культивирования *T. vaginalis* вместе с бактериальной флорой необходимо, чтобы в состав питательной среды входили сыворотка и рисовый крахмал

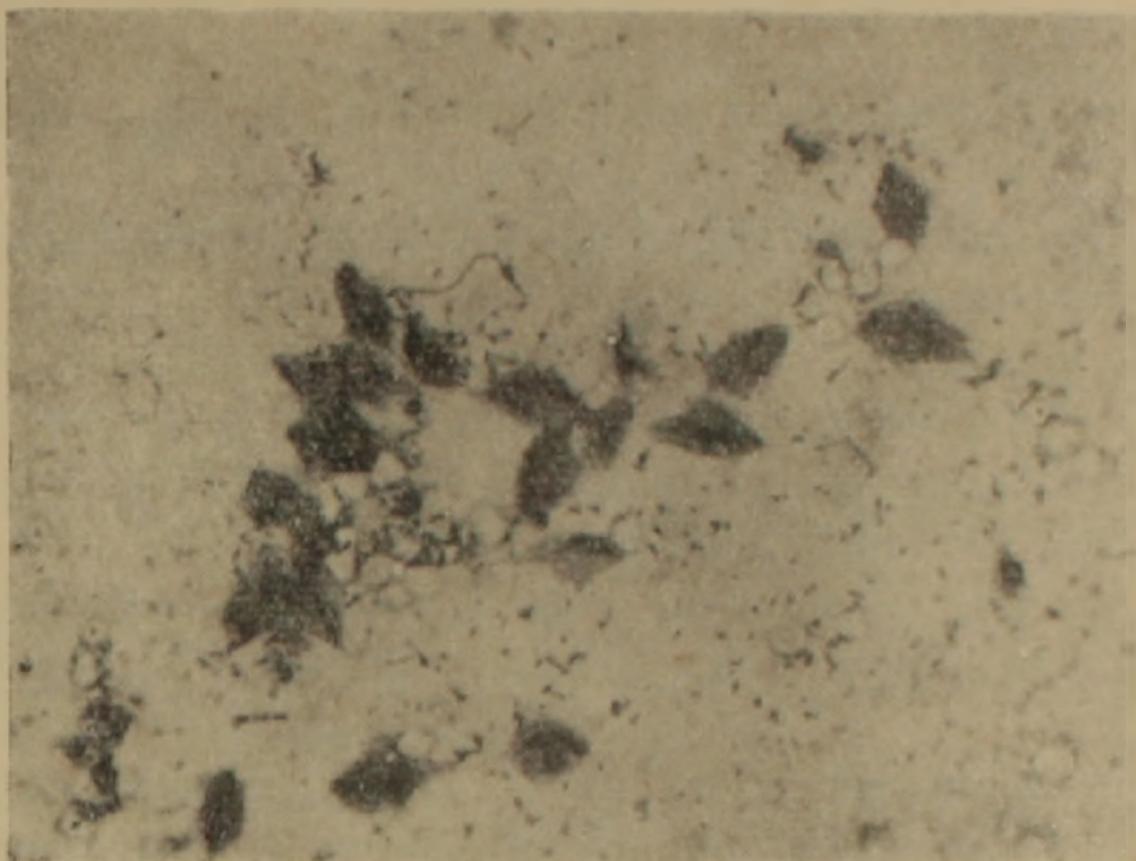


Рис. 1. Культура *T. vaginalis* (штамм 24) на среде Павловой вместе с сопутствующей бактериальной флорой.  
Увеличение 450х.

Так, в тех случаях, когда в состав среды входит только один из названных ингредиентов (среда Матевосяна, среда NNN, сывороточный бульон), рост трихомонад сравнительно невелик, а в тех случаях, когда в среде присутствуют оба ингредиента (среда Павловой) трихомонады растут более интенсивно, при отсутствии же в средах обоих ингредиентов (кислая среда Линча) рост трихомонад не происходит.

Нами также изучался вопрос замены рисового крахмала в среде Павловой другими углеводами. Были испытаны молодой рис, пшеничная мука и глюкоза.

Опыты показали, что ни один из испытанных углеводов не может в полной мере заменить рисовый крахмал, но, тем не менее, в случае необходимости его можно заменить молотым рисом или даже пшеничной мукой. Непригодными для этой цели оказались глюкоза и картофельный крахмал.

Нами изучался также вопрос замены лошадиной сыворотки, входящей в состав среды Павловой, сывороткой барана или человека. Для этой цели в опыт бралась среда Павловой с различными сыворотками. Через определенные промежутки времени проверялся рост простейших в пробирках. Было найдено, что трихомонады в равной мере хорошо растут при замене сыворотки лошади сывороткой барана или человека. Однако, при использовании сыворотки человека, в росте трихомонад наблюдается небольшая разница. В этом случае быстрый рост наступает с первых же дней пересева и достигает максимума на 3—5 день, в то время как в остальных двух случаях рост трихомонад происходит медленно и достигает максимума на 5—7 день пересева.

## В ы в о д ы

Результаты исследования дают возможность сделать следующие выводы:

1. Среда Матевосяна, среда NNN и сыворогочный бульон, пригодны для культивирования *Trichomonas vaginalis* вместе с сопутствующей бактериальной флорой.

2. Среда Павловой оказалась лучшей из испытанных нами сред для продолжительного культивирования *Trichomonas vaginalis* совместно с сопутствующей бактериальной флорой.

3. Молотый рис и пшеничную муку можно использовать взамен рисового крахмала в различных средах для культивирования *Trichomonas vaginalis*.

4. Сыворотка человека, барана и лошади в равной мере пригодны для культивирования влагалищной трихомонады в различных средах.

Институт тонкой органической химии Академии наук Армянской ССР

Поступило 11 XII 1954 г.

Գ. Մ. ՊԱՐՈՆԻԿՅԱՆ

## TRICHOMONAS VAGINALIS-ի ԲԱԶՄԱՅՈՒՄԸ

Ա մ փ ո փ ու լ մ

Ուսումնասիրվել է դանազան հեղինակների կողմից առաջարկված 5 միջավայր, ինչպես մի քանի ախտածին (պաթոգեն) նախակենդանիների, այնպես էլ, առանձնապես, *Trichomonas vaginalis*-ի բազմացման համար:

Փորձարկման արդյունքները հիմք են առելու անելու հետևյալ եզրակացությունները:

1. Մաթեմատիկայի միջավայրը, NNN միջավայրը և սիճուկային մսաջուրը պիտանի են *T. vaginalis*-ի և նրան ուղեկցող բակտերիալ ֆլորայի բազմացման համար:

2. Պավլովայի միջավայրը մեր փորձարկած միջավայրերից լավագույնը հանդիսացավ *T. vaginalis*-ի և նրան ուղեկցող բակտերիալ ֆլորայի բազմացման համար:

3. Ազանցած բրինձը և ցորենի ալյուրը կարելի է բրնձի օսրայի փոխարեն օգտագործել դանազան միջավայրերում *T. vaginalis*-ի բազմացման համար:

4. Մարդու, խոյի և ձիու արյան սիճուկը նույնպես պիտանի են *T. vaginalis*-ը դանազան միջավայրում բազմացնելու համար:

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Козлов Ю. А. Питательные среды в медицинской микробиологии. Москва, 1950.
2. Матевосян Ш. М. Журнал микробиологии и иммунологии 9, 2, 1933.  
Павлова Е. П. Мед. паразитология и паразитарные заболевания, 7, 2, 1938.
4. Эпштейн Г. В. Практикум по паразитическим простейшим и спирохетам, 1940.
5. Якимов В. Л. Патогенные простейшие (Protozoa). Ленинград, 1924.