

по сравнению с контролем. При возрастании концентрации хлористого калия в инкубационной среде интенсивность этого процесса постепенно снижается и при 70 мкМ полностью ингибируется. Очевидно, КСl в низких концентрациях стимулирует активность ПСКР. По данным литературы [7], ионы хлора, по-видимому, присоединяются к положительно заряженной группе молекулы фермента вблизи от активного центра, повышая, таким образом, значение рК группы, играющей важную роль в катализе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А. Х., Дагтян М. А. Биол. ж. Армении, 27, 5, 1974.
2. Агаджанян А. Х., Дагтян М. А. Биол. ж. Армении, 28, 10, 1975.
3. Агаджанян А. Х., Арутюнян Л. М., Гукасян Дж. Г. Биол. ж. Армении, 33, 6, 1980.
4. Браунштейн А. Е., Аларт Р. М., Могилевская З. Г. Укр. биохим. ж., 27, 259, 1955.
5. Гаспарян Х. Г. Канд. дисс., Ереван, 1983.
6. Кротович В. Л., Бундель А. А., Фрошери М. Р., Боровикова Н. В. Журн. общ. биол., 19, 414, 1958.
7. Мосс Д. В., Баттерворт П. Дж. Энциклопедия и медицина, М., 1974.
8. Hill D. Z., Chambers P. Biochem. Biophys. Acta, 148, 415, 1967.
9. Matsuzawa T., Biochem. Biophys. Acta, 717, 215, 1982.
10. Matsuzawa T., Katsunuma T., Katayama N. Biochem. Biophys. Res. Commun. 32, 2, 1968.
11. Miller P. M., Stewart C. P. Phytochemistry, 15, 1455, 1976.
12. Misono H., Toyama S., Sada K. J. Bacter., 148, 43, 1981.
13. Naguchi M., Kizawa A., Tanaka E. Ag. Biol. Chem., 39, 453, 1966.
14. Pant R., Kumar S. Biochem. J., 174, 341, 1978.
15. Reddy S. H. R., Campbell J. W. Comp. Biochem. Physiol., 25, 513, 1969.
16. Price G. M. Biochem. J., 89, 420, 1951.
17. Sactor B., Childress C. Arch. Biochem. Biophys., 129, 533, 1967.
18. Smith M. E., Greenberg D. M. J. Biol. Chem., 236, 317, 1967.
19. Vecchio D. A., Kalman S. M. Arch. Biochem. Biophys., 127, 376, 1968.
20. Yoshinaga F., Wadano A., Miura K. Insect Biochem., 7, 51, 1977.

Поступило 5.1 1986 г.

Биол. ж. Армении т. 40, № 4, 294–298, 1987

УДК 616.973+616.993+616.843-002/616.697+618.177

РЕАКЦИЯ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ ПРИ МОЧЕПОЛОВОМ ТРИХОМОНИАЗЕ У БЕСПЛОДНЫХ СУПРУЖЕСКИХ ПАР

М. Г. ОГАНЕСЯН, Л. Т. МНАСАРЯН, В. И. БЕДНОВА,
Т. Е. ВАХИНИА, И. С. ОГАНЕСЯН

Республиканский центр семьи, брака и сексопатологии
МЗ Армянской ССР

Аннотация — Показана высокая чувствительность РИФ-40 абс при выявлении больных мочеполовым трихомониозом, превышающая чувствительность бактериоскопического и бактериологического методов, что позволяет реко-

использовать этот тест в качестве отборочного при обследовании пациентов, страдающих бесплодием.

Անոտագիտ — Միզանոտական օրգանների տրիխոմոնազի ախտորոշման համար, ամ-
յությամբ տառապող ամուսնական զույգերի մոտ, օգտագործվել է իմունոֆլյուորես-
ցենտային ունակցիան (ՌՌՖ-40արս), որը զերազանցում է հետազոտման մանրէա-
բանական և ցանրի մեթոդներին բարձր զգայնությամբ և ղեպրերի հայտնաբեր-
ման հաճախակիությամբ, ինչն էլ թույլ է տալիս ՌՌՖ-40արս-ը օգտագործել որ-
պես ընտրողական տեստ տրիխոմոնազով հիվանդների հայտնաբերման նպատակով:

Abstract — The high sensitivity of RIF-40 abc has been shown during
revelation of patients ill with urinesexual trichomoniasis, exceeding the
sensitivity of bacterioscopic and bacteriological method, what allows to
recommend this test as selective while studying patients, suffering from
sterility.

Ключевые слова трихомонады, бесплодие супружеских пар, бактериоскопия, бак-
териология, РИФ-40 абс.

Наиболее часто применяемое бактериоскопическое обследование на трихомонады недостаточно чувствительно, а бактериологическое — трудо-
емко, длительно и не экономично, в связи с чем заслуживают внима-
ния серологические методы исследования, с помощью которых легче об-
следовать большие группы пациентов.

В 1965 г. Крамар и Куцера дополнили данные о возможности обнару-
жения специфических противотрихомонадных антител в крови боль-
ных трихомониазом методом иммунофлюоресценции. Дальнейшие ис-
следования других авторов [1, 2, 5—7] установили высокую чувстви-
тельность реакции иммунофлюоресценции (РИФ) с антигеном из вла-
галищных трихомонад. Выяснено также, что РИФ-40 абс является цен-
ным диагностическим тестом при трихомониазе у мужчин [6, 7].

Цель данной работы заключалась в следующем: с помощью обще-
принятых лабораторных методов и РИФ-40 абс обследовать на мочеполо-
вой трихомониаз супружеские пары с нарушением репродуктивной
функции, изучить чувствительность и специфичность этой реакции, вы-
яснить возможность рекомендации ее для применения в качестве отбо-
рочного теста при установлении причины бесплодия.

Материал и методика. Принцип РИФ-40 абс заключается в соединении ком-
плекса антиген—антитело с антицеллюлярной иммунной сывороткой, меченой флюорохро-
мом, что выявляется с помощью люминесцентного микроскопа. Использованная нами
методика постановки РИФ-40 абс заключалась в следующем: для получения сыворо-
тки крови брали кровь из локтевой вены, исследовали неинaktivированную сыворотку
крови. Антиген готовили из 20—30 штаммов влагалищных трихомонад, выращенных
на жидкой среде Джонсона-Трасселя. 2—3-суточную культуру трихомонад дважды
отмывали от питательной среды изотоническим раствором натрия хлорида (рН 7,2),
с применением центрифугирования. Осадок, состоящий из трихомонад, обрабатывали
10%-ным раствором нейтрального формалина в течение 20 мин при комнатной темпе-
ратуре, после чего трихомонады вновь отмывали изотоническим раствором и далее
сохраняли в холодильнике при 4°. Для изготовления препаратов использовали взвесь,
при анализе которой в каждом поле зрения определяли 5—10 трихомонад. В качестве
сорбента применяли бессолевой мясонефтонный бульон (МНБ) из свежего говяжьего
мяса с повышенным (1,5%) содержанием пептона (рН 7,0), который стерилизовали ав-
токлавированием при 1 атм. 20 минут.

Люминесцирующую сыворотку против глобулинов человека (НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР) предварительно титровали на эвасоме положительных и отрицательных сыворотках крови.

Для снятия неспецифического свечения тела трихомонад использовали раствор сыворотки Эванса в разведении 1:20 000, (рН 7,2).

Для промывания препаратов применяли фосфатный буфер (рН 7,2), в качестве люминесцирующего масла—диметилфталат.

Результаты исследования оценивали в люминесцентном микроскопе с ртутно-кварцевой лампой ДРШ-250, объективом 90, 1X или 5X.

При постановке реакции трихомонадный антиген наносили на чистые предметные стекла, препараты высушивали и термостате при 37° в течение 10 мин, вводили в реакцию нефиксированными. Сыворотки крови перед постановкой реакции разбавляли три раза дистиллированной водой, после чего ее выдерживали в термостате при 37° 30 мин для абсорбции неспецифических антител. Препараты с трихомонадным антигеном помещали во влажную камеру и наносили на них по 1 капле разведенной 1:40 сыворотки крови. Влажную камеру помещали в термостат при 37° на 30 мин (I фаза реакции). При наличии в испытуемой сыворотке крови противотрихомонадных антител на стекле образуется комплекс антиген—антитело, который выявляется в следующей фазе реакции после промывки препаратов в двух порциях фосфатного буфера. Затем на препараты наносили люминесцирующую сыворотку против глобулинов человека, разведенную по титру, помещали их во влажную камеру и выдерживали в термостате при 37° 30 мин (II фаза).

Образование комплекса антиген—антитело во II фазе реакции свидетельствовало о положительном результате, однако в силу того, что трихомонады являются крупными микроорганизмами и трудно отмываются от флюорохрома; их обрабатывали раствором сыворотки Эванса при комнатной температуре в течение 20 мин (III фаза).

Уже результатов применения РИФ-40 abc заключался в определении периферической части тела трихомонад (ободка), которое зависит от образования комплекса антиген—антитело. В связи с тем, что антитела против глобулинов человека в люминесцирующих сыворотках помечены изотопом флюоресцеина, свечение ободки имеет зеленый цвет, и то время как тела трихомонад окрашиваются синькой Эванса в красный цвет. При наличии в сыворотке крови большого количества антител свечением охвачены не только ободки, но и тела трихомонад. В зависимости от количества противотрихомонадных антител степень свечения бывает разной.

Положительный результат реакции оценивали как 4+, 3+, 2+, +, при отрицательном результате наблюдали не свечение, а окраску ободка или его отсутствие.

4+: яркое изумрудно-зеленое свечение ободка; 3+: несколько менее яркое, недостаточно сильное свечение ободка; 2+: слабое свечение ободка; —: окраска ободка в желтовато-зеленый цвет без свечения.

Комплексному клинико-лабораторному обследованию было подвергнуто 240 человек (120 супружеских пар) с нарушенным репродуктивной функцией от 2 до 12 лет. Из них 106 женщин и 114 мужчин страдали воспалительными заболеваниями мочеполовых органов. Все пациенты были обследованы бактериоскопически и бактериологически на гонококк, трихомонады, уреаплазму, уреаплазмику и хламидии.

У мужчин исследовали отделяемое слизистой оболочки уретры, секреты предстательной и добавочных половых желез, осадок 1 порции мочи, у женщин—отделяемое слизистой оболочки влагалища и цервикального канала. Мазки из патологического материала для бактериоскопического исследования окрашивали 1%-ным водным раствором метиленового синего и по Граму.

При бактериоскопическом исследовании из трихомонады использовали также нативные препараты. Посев на гонококки производили на безазотистую питательную среду, на трихомонады—на среду из ферментализата микробного происхождения.

Результаты и обсуждение. При положительном результате реакции свечение может наблюдаться не у всех трихомонад, в некоторых случаях лишь у единичных. Это обусловлено наличием нескольких серотипов влагалищных трихомонад, в связи с чем антитела, находящиеся в не-

пытуемых сыворотках крови, могут не соответствовать трихомонадам всех штаммов, из которых приготовлен антиген.

В табл. 1 приведены данные о чувствительности различных методов исследования на трихомоноз. Видно, что при бактериоскопическом обследовании из 120 мужчин трихомонады выявлены в 3,3%, при бак-

Таблица 1. Результаты бактериоскопического, бактериологического и серологического (РИФ-40 абс) обследования супружеских пар

Методы исследования	Число и % положительных результатов			
	мужчины		женщины	
	число	%	число	%
Бактериоскопический	4	3,3	30	25
Бактериологический	14	11,6	49	33,3
РИФ-40 абс	14	11,6	40	33,3

териологическом — в 11,6% случаев, из женщин — в 25 и 33,3% случаев соответственно. Полученные данные подтверждают более высокую чувствительность бактериологического метода исследования и большее его значение при лабораторной диагностике трихомоноза у женщин.

Применение РИФ-40 абс дало положительные результаты у тех женщин, у которых в мочеполовых органах обнаружены трихомонады либо бактериоскопическим, либо бактериологическим методом (11,6—33,3% соответственно).

В табл. 2 представлены данные, указывающие на концентрацию противотрихомонадных антител в сыворотке крови больных трихомонозом.

Таблица 2. Степень позитивности РИФ-40 абс при исследовании сыворотки больных трихомонозом

Больные трихомонозом	Число больных	Число положительных результатов со степенью позитивности		
		при РИФ-40 абс	4+, 4,3+	3-, 3,2+
Мужчины	14	14	12	2
Женщины	40	40	32	8
Всего	число %	54 100	44 81,9	10 18,3

Видно, что у 81,9% больных наблюдалась высокая позитивность реакции, причем большое количество антител определялось и у мужчин, у которых выявление возбудителя общепринятыми методами затруднено из-за меньшего числа трихомонад в отделяемом по сравнению с женщинами. Из 120 обследованных мужчин и 120 женщин общепринятыми лабораторными методами трихомонады обнаружены у 54 больных, в то время как при РИФ-40 абс получено 79 положительных результатов. В 25 случаях, когда положительным был только РИФ-40 абс, кон-

центрация противотрихомонадных антител в сыворотке крови была значительной как у мужчин, так и у женщины (табл. 3).

Таблица 3. Положительные результаты РИФ-40 абс у пациентов с отрицательным результатом однократного бактериоскопического и бактериологического обследования на трихомоназ

Пациенты	Число пациентов	при РИФ-40 абс	число положительных результатов со степенью позитивности	
			4+, 4/4+	3+, 3/4+
Мужчины	106	12	9	3
Женщины	80	13	8	5
Всего	186	25	17	8

В связи с тем, что у 25 пациентов была положительной только РИФ-40 абс, они были повторно обследованы на трихомоназ. В результате 2—4-кратного бактериоскопического обследования у 20 пациентов были обнаружены трихомонады, в то время как у 5 (3 мужчины, 2 женщины) их определить не удалось. У жены одного из этих мужчин был диагностирован трихомоназ. Остальные представляли собой супружеские пары.

Для определения специфичности РИФ-40 абс были обследованы сыворотки у 45 детей, лечившихся в соматическом отделении детской больницы. Во всех случаях получены отрицательные результаты.

Обобщая полученные результаты, можно сказать, что воспалительный процесс в мочеполовых органах обнаружен у 91,5% мужчин и женщин с нарушенной репродуктивной функцией. У 21,6% мужчин и женщин с воспалительным процессом мочеполовых органов выделены влагалищные трихомонады.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беднова В. И., Нафтольска Ю. О. Тез. докл. 6 Всесоюз. съезда дерматовенерологов. Харьков, 154—155, 1973.
2. Беднова В. И., Нафтольска Ю. О. Акушерство и гинекология, 12, 52—53, 1977.
3. Зильман С. Л. Канд. дисс., М., 1980.
4. Крамар Ж., Куцера К. Ж. Гигиена и эпидемиология, 10, 76, 1965.
5. Петров П. П. Мат-лы научн. конф. мл. уч. мед.-биол. фак-а ЦО.ПНУВ, 38—40, М., 1968.
6. Петров П. П. Канд. дисс., М., 1976.
7. Ганрыбердыеви М. И. Канд. дисс., М., 1976.

Поступило 4.1.1987 г.