

Симонова Е.В.¹, Землянская Ю.М.², Неронова Н.А.³©

¹Профессор, доктор биологических наук; ²аспирант,
^{1,2}кафедра микробиологии, ГОБУ ВПО Иркутский государственный медицинский
университет; ³докторант института педиатрии ВСЦ РАМ РФ

ВЛИЯНИЕ *TRICHOMONAS VAGINALIS* НА НОРМАЛЬНУЮ МИКРОФЛОРУ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА МУЖЧИН ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ТРИХОМОНИАЗЕ

Аннотация

В статье изучены основные качественные и количественные характеристики нормальной микрофлоры уретры мужчин, длительное время инфицированных *Trichomonas vaginalis*, в отличие от микробиоценоза здоровых мужчин.

Ключевые слова: урогенитальный трихомониаз, нормальная микрофлора, дисбактериоз.

Keywords: urogenital trichomoniasis, normal microflora, dysbiosis.

У здорового человека экологическая система «макроорганизм - микрофлора» находится в сбалансированном состоянии [1, 4; 6, 619; 15, 15; 16, 464]. Многочисленные факторы внешней среды могут нарушать это гомеостатическое равновесие [4, 185; 13, 23; 17, 1254]. Среди факторов, влияющих на характер взаимоотношений между коактантами в нормальном микробиоценозе, особого внимания заслуживают возбудители инфекционных заболеваний [2, 92; 8, 105]. Реакция нормальной микрофлоры на их действие определяется силой и длительностью влияния патогенов на компенсаторные возможности биотопа и организма человека в целом. Структурные изменения в микробном сообществе нарушают характер взаимоотношений в экологической системе «макроорганизм - микрофлора», что становится причиной развития дисбиоза, обуславливающего в отдельных случаях возникновение оппортунистических инфекций [3, 16; 10, 17]. Как правило, появление сопутствующих инфекций существенно утяжеляет течение основного заболевания. В связи с этим, целью исследований, результаты которых представлены и обсуждаются в данной статье, является изучение характера микрoэкологических нарушений в биотопе урогенитального тракта, сопутствующих хроническому трихомониазу у мужчин.

Материалы и методы исследования

Обследовано 306 мужчин в возрасте $30,4 \pm 6,3$ лет, обратившихся за консультативной помощью в медицинский центр г. Иркутска с жалобами, указывающими на поражение урогенитального тракта. На этапе скрининга комплексное обследование пациентов включало: серологическую диагностику сифилиса, хламидиоза, ВИЧ-инфекции; молекулярно-биологическую диагностику микоплазменной и ВПЧ-инфекций (высокой и низкой степени онкогенности); а также на основе микроскопического и культурального методов исследования обнаружение *Neisseria gonorrhoeae* и *Trichomonas vaginalis* [11, 114; 12, 9].

Среди пациентов, обследованных на наличие инфекций, передающихся преимущественно половым путем, была сформирована основная группа наблюдения. В нее вошли лица мужского пола с верифицированным диагнозом хронического урогенитального трихомониаза ($n = 143$ пациента). Контрольную группу составили 26 мужчин в возрасте $31,3 \pm 8,3$ лет, обратившихся в медицинский центр с профилактической целью. Для исключения вероятности развития дисбиотических нарушений в результате ранее проводимого лечения, в группы отбирались лица, не принимавшие antimicrobные препараты в течение 6 месяцев до начала исследования.

Благополучие обследованных мужчин при выполнении научно-исследовательской работы опасности не подвергалось в соответствии с требованиями биомедицинской этики, утвержденными Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации в 2000 году.

Материалом для исследования служили соскобы из уретры [7, 325; 14, 35]. Из клинического материала обследованных пациентов было выделено 328 культур, от здоровых мужчин – 43 культуры, отнесенных к нормальной микрофлоре биотопа. Идентификация выделенных микроорганизмов проводилась в соответствии с Приказом МЗ СССР № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» от 22.04.85 г. и методическими рекомендациями «Бактериологические исследования на условно-патогенные микроорганизмы» от 19.12.91 г. Микробиологические исследования выполнены на лабораторной базе ИГМУ, с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил по безопасности работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней (СП 1.3.2322-08 от 01.05.08).

Для статистической обработки данных использовались компьютерные программы StatSoft - Statistica 6.0 и MS Excel 7.0.

Результаты исследований

В ходе проведенных исследований было установлено, что уровень микробной обсемененности соскобов из уретры мужчины контрольной группы составляет $5,3 \pm 1,0$ lg КОЕ/мл. Микрофлора, выделенная из клинического материала здоровых мужчин, была представлена преимущественно прокариотами ($93,0 \pm 2,7$ %, $\chi^2 = 172,4$, $p < 0,001$), значительно реже их встречались эукариоты ($7,0 \pm 2,7$ %). Среди прокариотических микроорганизмов, как показано в таблице 1, лидировали кокковидные бактерии, которые обнаруживались в уретре всех обследованных мужчин. В общей структуре микробиоценоза они занимали $61,0 \pm 4,8$ %. Среди грамположительных кокков превалировали бактерии из родов *Staphylococcus* и *Streptococcus* (рисунок 1/а). Важной составляющей биотопа переднего отдела уретры здоровых мужчин были грамотрицательные диплококки, отнесенные к непатогенным *Neisseria spp.* Кроме того, нечасто можно было дифференцировать *Micrococcus spp.* и *Tetracoccus spp.*

Таблица 1

Морфология микроорганизмов выделенных из соскобов уретры здоровых мужчин

Морфологические формы:	Доля в микробиоценозе, $P \pm m$ (%)	p
прокариоты		
кокковидная	$61,0 \pm 4,8$	0,003 - 0,010
палочковидная	$31,0 \pm 4,5$	0,003 - 0,200
эукариоты		
грибы	$7,0 \pm 2,3$	0,003 - 0,200

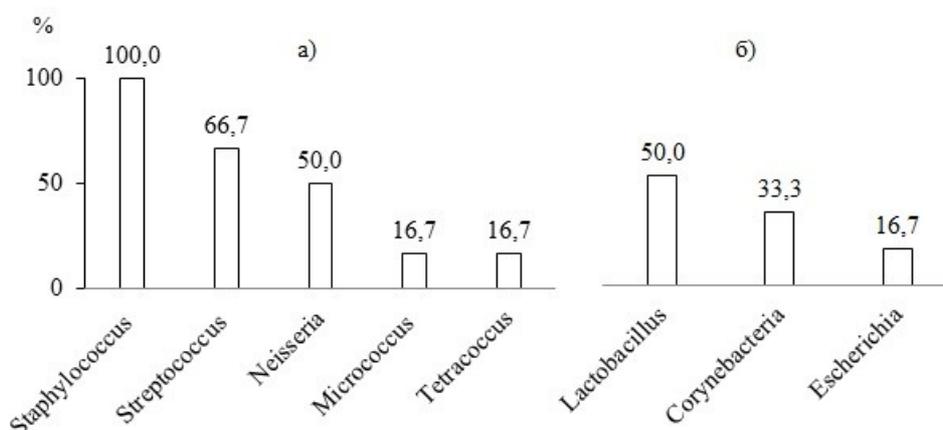


Рис. 1. Частота встречаемости кокковидной и палочковидной микрофлоры в соскобах из уретры здоровых мужчин

У 83,3 % здоровых мужчин в соскобах из уретры помимо кокков идентифицировались палочковидные бактерии. В структуре микробиоценоза они занимали $31,0 \pm 4,5$ %. С помощью культурального метода исследования было выявлено, что каждая вторая палочковидная бактерия относилась к *Lactobacillus spp.*, а каждая третья являлась представителем рода *Corynebacteria* (рисунок 1/б). У 16,7 % мужчин в клиническом материале контрольной группы дифференцировались грамотрицательные палочковидные бактерии из семейства *Enterobacteriaceae*, рода *Escherichia*.

Культуры, отнесенные к эукариотическим видам, были представлены исключительно дрожжеподобными грибами и обнаруживались в соскобах из уретры мужчин контрольной группы в 50,0 % случаев. Их доля в структуре микробиоценоза не превышала $7,0 \pm 2,3$ %.

Сопоставляя полученные данные, было установлено, что общая микробная обсемененность исследуемого материала здоровых мужчин находится в пределах значимо не отличающегося уровня установленного другими исследователями для аналогичного клинического материала [5, 23; 9, 36]. Поскольку все исследования выполнялись по общепринятой и утвержденной методике, то их можно валидизировать, и считать состоянием физиологической нормы. Вследствие этого, уровень КОЕ, лежащий выше или ниже установленных пределов статистической значимости оказывается диагностически значимым.

Кроме того, микробиоценоз уретры здоровых мужчин включал представителей разных систематических групп - прокариот и эукариот. Было установлено, что микробный пейзаж уретры в состоянии физиологической нормы различается по уровню обсемененности представителями разных таксонов. Существенные различия были получены в отношении *Staphylococcus spp.*, показатель lg КОЕ/мл которых в соскобах из уретры в контроле превалировал над другими видами микробиоты. Концентрация *Streptococcus spp.* и *Lactobacillus spp.* была на один, а *Corynebacteria spp.* на два порядка ниже. Содержание *Candida spp.* и *Neisseria spp.* находилось примерно на одном уровне, и соответствовало 1,7 и 1,3 lg КОЕ/мл. Концентрация *Escherichia spp.*, *Micrococcus spp.* и *Tetracoccus spp.* при физиологической норме была незначительной и не превышала 0,5 - 0,7 lg КОЕ/мл.

У пациентов основной группы наблюдения, то есть у мужчин, страдающих урогенитальным трихомонозом, уровень микробной обсемененности соскобов из уретры составлял $7,1 \pm 0,76$ lg КОЕ/мл. Среди многочисленной микрофлоры превалировали прокариоты ($86,5 \pm 1,3$ %, $\chi^2 = 39,2$, $p < 0,001$). Ее основу составляли кокковидные бактерии, на которые в структуре микробиоценоза приходилось $61,5 \pm 1,6$ % (таблица 2). Они были представлены исключительно грампозитивными видами микроорганизмов, среди которых лидировали представители родов *Micrococcus*, *Staphylococcus* и *Streptococcus* (рисунок 2/а). У 27,5 % мужчин с трихомонадной инфекцией в соскобах из уретры определялись *Tetracoccus spp.* В 15,0 % случаев в клиническом материале пациентов идентифицировались грампозитивные кокки рода *Enterococcus*.

Таблица 2

Морфология микроорганизмов выделенных из соскобов уретры мужчин с трихомонадной инфекцией

Морфологические формы:	Доля в микробиоценозе, $P \pm m$ (%)	p
прокариоты		
кокковидная	$61,5 \pm 1,6$	$< 0,001$
палочковидная	$25,0 \pm 1,4$	$< 0,001$
эукариоты		
грибы	$13,5 \pm 1,3$	$< 0,001$

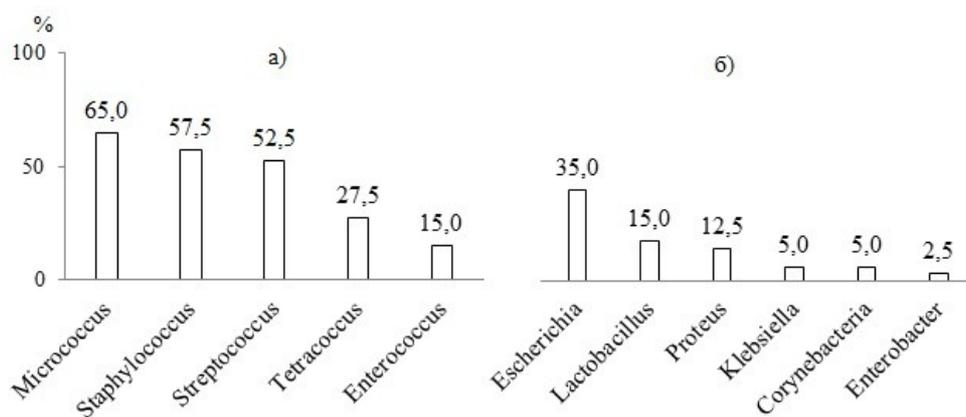


Рис. 2. Частота встречаемости кокковидной и палочковидной микрофлоры в соскобах из уретры мужчин с трихомонадной инфекцией

У 55,0 % больных в биоматериале из переднего отдела уретры обнаруживались палочковидные бактерии, которые в структуре выделенной микрофлоры составляли $24,5 \pm 1,4$ % (рисунок 2/б). Среди них встречались грамотрицательные бактерии из семейства *Enterobacteriaceae*, диагностированные у 52,5 % обследованных пациентов. В 35,0 % случаев были зарегистрированы *Escherichia spp.*, в 2,8 раза реже их встречались *Proteus spp.*, представители рода *Klebsiella* диагностировались у 5,0 % больных мужчин. Нечасто грамотрицательная палочковидная флора была представлена *Enterobacter spp.* Грампозитивные палочковидные бактерии в клиническом материале больных включали представителей родов *Lactobacillus* и *Corynebacteria*, которые обнаруживались у 15,0 % и 5,0 % пациентов соответственно.

Грибы *Candida spp.* встречались у 82,5 % больных трихомониазом мужчин. Их доля среди выделенной микрофлоры составляла $13,5 \pm 1,3$ %.

Среди выделенных культур наибольшая концентрация отмечалась у *Micrococcus spp.* и соответствовала 4,2 lg КОЕ/мл. Содержание *Staphylococcus spp.* было на порядок их ниже, и составляло 3,3 lg КОЕ/мл, незначительно реже в исследуемом материале пациентов регистрировались *Streptococcus spp.* и *Candida spp.* Содержание *Tetracoccus spp.* не превышало 1,5 lg КОЕ/мл. Следует отметить, что уретра больных с трихомонадной инфекцией являлась благоприятной средой обитания и для микроорганизмов рода *Escherichia*. Обсемененность материала этими грамотрицательными бактериями составляла 2,9 lg КОЕ/мл. Кроме них в клиническом материале больных мужчин регистрировались и другие виды палочковидных бактерий. Среди них были представители родов *Proteus*, *Klebsiella*. Грамположительные бактерии *Lactobacillus spp.* и *Corynebacteria spp.* в исследуемом материале пациентов встречались нечасто. Их lg КОЕ/мл соответствовало 0,8 и 0,2.

Сравнительный анализ данных, полученных в группах наблюдения, показал, что общая обсемененность уретры мужчин с хронической трихомонадной инфекции возрастает по сравнению с контрольной группой. Увеличение данного показателя на два порядка в основной группе наблюдения оказывается статистически значимым (таблица 3).

Таблица 3

Микробная обсемененность соскобов из уретры обследуемых пациентов

Уровень обсемененности клинического материала, lg КОЕ/мл	M-U test: p	
	здоровых пациентов	больных
$5,3 \pm 1,0$	$7,1 \pm 0,76$	0,005

Кроме количественных показателей микробиоценоз урогенитального тракта больных

мужчин отличался по качественным характеристикам (таблица 4).

Таблица 4

**Характеристика микрофлоры, выделенной из соскобов уретры
обследуемых пациентов**

Микробные ассоцианты	Показатель соотношения разных систематических групп микроорганизмов в клиническом материале:	
	здоровых пациентов	больных
прокариоты : эукариоты	13:1	6:1
кокковидные : палочковидные	61:33	123:49
грамположительные : грамотрицательные (общий показатель)	4:1	3:1
грамположительные : грамотрицательные кокковидные	6:1	513:0
грамположительные : грамотрицательные палочковидные	1:1	1:4

Прежде всего, обращает на себя внимание показатель соотношения прокариот и эукариот, который указывает на увеличение в группе пациентов с трихомонозом содержания дрожжеподобных грибов ($p = 0,014$). Кроме того, в структуре микробиоценоза больных мужчин, среди прокариотических микроорганизмов было отмечено изменение соотношения их грамположительных и грамотрицательных видов. При этом в переднем отделе уретры у обследованных пациентов среди кокков встречались исключительно грамположительные формы, а среди палочковидных бактерий показатель соотношения, наоборот, смещался в сторону увеличения грамотрицательной флоры.

Анализ видового состава микрофлоры в группах наблюдения выявил то, что в биоматериале больных мужчин значительно чаще обнаруживались грамположительные кокки *Micrococcus spp.* и *Tetracoccus spp.* (таблица 5).

Таблица 5

Сравнительная характеристика микрофлоры, выделенной из соскобов уретры обследуемых пациентов

Родовая принадлежность, выделенных микроорганизмов	Уровень обсемененности клинического материала, lg КОЕ/мл		p	
	Здоровые	Больные		
<i>Staphylococcus</i>	4,2	3,3		-
<i>Streptococcus</i>	3,3	2,7		-
<i>Lactobacillus</i>	3,1	0,8		0,034
<i>Corynebacteria</i>	2,0	0,2		0,005
<i>Neisseria</i>	1,7	-		0,048
<i>Candida</i>	1,3	2,7		-
<i>Micrococcus</i>	0,7	4,2		0,041
<i>Escherichia</i>	0,7	2,9		0,040
<i>Tetracoccus</i>	0,5	1,5		-
<i>Enterococcus</i>	-	1,0		-

<i>Proteus</i>	-	0,8	-
<i>Klebsiella</i>	-	0,3	-

Частота обнаружения и концентрация *Staphylococcus spp.* и *Streptococcus spp.* у больных, наоборот, снижались, а представители грамотригативных диплококков рода *Neisseria* по сравнению с контролем вовсе исчезали. Кроме того, было установлено, что в биоматериале каждого второго обследованного пациента в отличие от здоровых мужчин регистрировались представители кишечной микрофлоры (ТМФ: $p = 0,038$). При этом в соскобах из уретры больных существенно возрастало содержание *Escherichia spp.*, впервые были зарегистрированы палочки родов *Proteus* и *Klebsiella*, а также кокки *Enterococcus spp.* В отличие от представителей кишечной микрофлоры в биотопе мужчин с трихомонадной инфекцией значительно реже, чем в контроле обнаруживались грампозитивные бактерии *Lactobacillus spp.* и *Corynebacteria spp.*

Проведенное исследование показало, наличие ассоциативной связи между возбудителем трихомонадной инфекции и отдельными видами собственной микрофлоры урогенитального тракта и указывает на формирование паразитоценоза ($r = 0,95$; $p = 0,020$). Нарушение равновесия в биотопе между характеристическими и стабилизирующими видами микроорганизмов, несомненно, откладывает свой отпечаток на течение трихомонадной инфекции, утяжеляя его. Выполненный комплекс экспериментальных исследований дополняет картину патогенетических механизмов воздействия *T. vaginalis* на организм человека в целом.

На основании выше изложенного следует, что инфекционные агенты, к числу которых относится *T. vaginalis*, оказывают влияние на организм человека, на которое он отвечает изменением параметров гомеостаза. На агрессию инфекционного агента отвечает нормальная микрофлора. В экстремальных условиях нарушается ее выживание и функционирование. Вследствие этого компенсаторные механизмы экосистемы «макроорганизм – микрофлора» нарушаются, что и ведет к индукции микроразбиологических нарушений. При этом создаются условия для развития патологических процессов, оказывающих влияние на состояние здоровья человека. Полученные результаты исследования указывают на то, что под влиянием инфекционного агента снижаются защитные микроорганизмы, а их место занимают факультативно-патогенные.

Литература

1. Бухарин О.В. Структурно-функциональная характеристика микросимбиоза человека / О.В. Бухарин, Б.Я. Усвяцов, Ю.А. Хлопко // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2009. – № 4. – С. 4 – 8.
2. Воронина Л.Г. Характеристика ассоциативной микрофлоры эякулята мужчин с гонококковой инфекцией / Л.Г. Воронина // Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии. – 2006. – № 4. – С. 89 – 92.
3. Гриценко В.А. Микроразбиологические аспекты инфекций мочевыделительной системы. Экология микроорганизмов человека. / В.А. Гриценко ; УрО РАН, Екатеринбург, 2006. – 34 с.
4. Диагностика инфекций, передаваемых половым путем / Г.А. Дмитриев, И.И. Глазко. – М. : «БИНОМ». – 2007. – 320 с.
5. Емельянова И.В. Микробиология хронических инфекционных простатитов: автореф. дис ... канд. мед. наук: 03.00.07 / И.В. Емельянова ; ВГМУ. – Владивосток, 1999. – 24 с.
6. Изменчивость в микрофлоре человека в норме и патологии / Е.В. Симонова // Материалы 12-го Рос.-японс. медицинского симпозиума по обмену опытом: программа и рефераты – Krasnoyarsk. – 2005. – С. 616 – 620.
7. Ильин И.И. Не гонококковые уретриты у мужчин / И.И. Ильин. – 3-е изд. доп. и перераб. – М. : Медицинская книга, 2005. – 228 с.
8. Лашенкова Н.Н. Клинико-лабораторная диагностика трихомоноза в клинике внутренних болезней / Н.Н. Лашенкова, Д.В. Рюмин, И.И. Сюч // Клиническая медицина. – 2010. – № 3. – С. 62 – 67.
9. Лебедев К.А. Роль белков теплового шока в формировании конфликта организма человека с его микрофлорой / К.А. Лебедев, И.Д. Повякина // Физиология человека. – 2007. – Т. 33, № 3. – С. 100–107.

10. Микроэкология репродуктивного тракта у мужчин при трихомониазе и хламидиозе / В.В. Андрейчев [и др.] // Тезисы XI Съезда дерматовенерологов и косметологов. – Екатеринбург, 2010. – С. 35 – 37.
11. Набер К.Г. Микробиологические аспекты диагностики хронического простатита / К.Г. Набер, М.В. Сухорукова // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2006. – Т. 8, № 1. – С. 4 – 17.
12. Никитин А.Ф. Частота встречаемости урогенитальных микст инфекций с участием *Trichomonas vaginalis* у больных острыми воспалительными заболеваниями урогенитального тракта / А.Ф. Никитин // Тез. докл. конф. «Современные технологии диагностик и терапии инфекционных болезней». – СПб. : ВМедА, 1999. – 210 с.
13. Симонова Е.В. Роль нормальной микрофлоры в поддержании здоровья человека / Е.В. Симонова, О.А. Пономарева // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – Т. 83, № 8. – С. 20 – 25.
14. Стародубов В.И. Об утверждении стандарта медицинской помощи больным трихомонозом Приказ № 173 от 28 февраля 2005 г. / В.И. Стародубов // Венеролог. – 2007. – № 5. – С. 34 – 36.
15. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология: некоторые итоги и перспективы исследований / Б.А. Шендеров // ВРАМН. – 2005. – № 12. – С. 13 – 17.
16. Shahmanesh M. European guideline on the management of male non-gonococcal urethritis / M. Shahmanesh, H. Moi, E. Lassau, M. Janier // Int. J. STD AIDS. – 2009. – Vol. 20. – P. 458 – 464.
17. Wasiela M. Association between abnormal microbiological flora of the lower genital tract in early pregnancy and socio-economic, demographic and environmental risk factors. Department of Medical Microbiology, Medical University of Łódź, Poland / M. Wasiela [et. al.] // Med Sci Monit. – 2001. – № 7 (6). – P. 1250 – 1255.