

Е.И. ЮНУСОВА

Казанская государственная медицинская академия

Диагностика урогенитального трихомониаза

Юнусова Елена Ивановна

кандидат медицинских наук,

ассистент кафедры дерматовенерологии

420141, г. Казань, ул. Ноксинский спуск, дом 24, кв. 124, тел.: (843) 238-69-16, e-mail: elenaiu@mail.ru

Статья посвящена актуальной проблеме современной медицины — урогенитальному трихомониазу. Подробно освещены вопросы диагностики урогенитального трихомониаза с детальной характеристикой основных лабораторных методов исследования. Выделены основные преимущества и недостатки каждого метода. Сделан акцент на необходимость с целью повышения эффективности диагностики урогенитального трихомониаза использовать сочетание различных методов, многократное повторение анализов, взятие материала из разных очагов инвазии, соблюдать правильную технику забора материала и транспортировки его в лабораторию, а также проведения лабораторного обследования на всех этапах инфекционного процесса (первичное обследование, оценка динамики течения воспалительного процесса, определение эффективности лечения).

Ключевые слова: инфекции, передаваемые половым путем, урогенитальный трихомониаз, диагностика, лабораторные методы исследования.

E.I. UNUSOVA

Diagnostics of urogenital trichomoniasis

Статья посвящена актуальной проблеме современной медицины урогенитальному трихомониазу. Подробно освещены вопросы диагностики урогенитального трихомониаза с детальной характеристикой основных лабораторных методов исследования. Выделены основные преимущества и недостатки каждого метода. Сделан акцент на необходимость с целью повышения эффективности диагностики урогенитального трихомониаза использовать сочетание различных методов, многократное повторение анализов, взятие материала из разных очагов инвазии, соблюдать правильную техника забора материала и транспортировки его в лабораторию, а также проведения лабораторного обследования на всех этапах инфекционного процесса (первичное обследование, оценка динамики течения воспалительного процесса, определения эффективности лечения).

Ключевые слова: инфекции, передаваемые половым путем, урогенитальный трихомониаз, диагностика, лабораторные методы исследования.

В последние годы зарегистрирован рост частоты встречаемости урогенитальных инфекций, в т. ч. передающихся половым путем, имеющих не только медицинскую, но и большую социально-экономическую значимость. Причин роста инфекционных заболеваний урогенитального тракта множество, среди них можно выделить: урбанизацию общества, ухудшение экологической обстановки, раннюю половую жизнь, множество половых партнеров, бесконтрольное применение лекарственных средств (особенно гормональных, антибактериальных), позднюю обращаемость пациентов к врачу, самолечение, недостаточную надежность лабораторных методов

исследования, изменение иммунного и гормонального статуса, изменение микробиоценоза и др.

Урогенитальный трихомониаз (УГТ) — широко распространенное заболевание мочеполовой сферы, возбудителем которого является простейший одноклеточный микроорганизм — *Trichomonas vaginalis*. Ежегодно в мире ВОЗ регистрирует более 333 млн. новых случаев инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), из них на УГТ приходится более 170 млн. человек. Заболеваемость УГТ, по данным официальной статистики в России, в последние годы превышает 300 чело-

век на 100 тыс. населения. Среди всех обращений в кожно-венерологические диспансеры (КВД) на долю трихомониаза приходится до 60% случаев, до 34,8% — среди «негонококковых» уретритов [3,4]. Распространенность трихомониаза среди сексуально активных женщин достигает, по данным различных авторов, 30-50%. [1,2].

Для УГТ характерны клинический полиморфизм, многоочаговость поражения, нередко хроническое течение с рецидивами, возможность транзитного и асимптомного носительства. Малосимптомные, хронические, вялотекущие формы заболевания, а также трихомонадоносительство, которое составляет 10-35% среди женщин и 2-41% среди мужчин, имеют большое значение в эпидемиологическом плане, способствуя распространению возбудителя среди половых партнеров [5]. Вследствие возможного развития осложненных воспалительного характера УГТ представляет серьезную угрозу репродуктивному здоровью человека [6]. Трихомониаз рассматривается фактором риска заражения ИППП, в том числе ВИЧ-инфицирования. Ряд исследователей отмечают, что инфицирование *T. vaginalis*, особенно длительно существующая, персистирующая трихомонадная инфекция, может быть фактором риска развития рака шейки матки [7].

В течение последних десятилетий у больных УГТ все чаще стали определяться атипичные, амастиготные (метаболически малоактивные особи паразита, лишенные органоидов движения — блефаропласта, жгутиков и ундулирующей мембраны) формы влагалищных трихомонад, что значительно усложнило диагностику инфекции, так как морфология и подвижность — основные критерии выявления простейших.

Диагностика УГТ основывается на выявлении клинических признаков заболевания и обнаружении *T. vaginalis* в исследуемом материале.

В «классическом варианте» течения болезни клинические признаки трихомонадной инфекции включают: гиперемии вульвы и влагалища, желто-зеленые пенные выделения, зуд, дизурию, диспареунию, «клубничный» вид шейки матки и вагины (точечные геморрагии). Однако только на основании клинической картины диагноз не может быть выставлен в силу целого ряда причин:

— указанные клинические симптомы могут быть обусловлены другими инфекционными агентами урогенитального тракта;

— пенные выделения наблюдаются только у 12% инфицированных женщин;

— «клубничная шейка матки» встречается только у 2% пациенток;

— атипичное (маскообразное) течение заболевания (патогномоничные клинические симптомы, характерные для другого заболевания);

— бессимптомное течение заболевания (регистрируется в 10 - 50% случаев).

Таким образом, поскольку симптомы трихомониаза, как и большинства других ИППП, непатогномоничны и не являются надежными критериями, в обязательном порядке с целью диагностики трихомонадной инфекции необходимо применение лабораторных методов исследования.

В России с целью лабораторной диагностики мочеполового трихомониаза используют следующие методы: микроскопические, культуральные, серологические, молекулярно-биологические [9].

Микроскопические и культуральные методы известны давно и широко применяются на практике в соответствии с действующими приказами МЗ СССР №936 (1985 г.) и №1570

(1986 г.). Согласно приказам диагноз трихомониаза обязательно подтверждается этими методами.

Для микроскопического исследования производят забор клинического материала из наиболее подозрительных на инфицирование очагов: влагалища, шейки матки, цервикального канала, уретры, предстательной железы, прямой кишки и др. Целесообразно проведение микроскопии комплексной — нативного и окрашенного («синькой», по Граму, Романовскому-Гимзе, Лейшману-Романовскому, другим вариантам) препаратов.

Микроскопия нативного препарата — это определение трихомонад в нативном препарате (метод исследования неокрашенного свежего препарата впервые предложен Донне в 1836 г.), который готовят путем смешивания исследуемого материала с каплей теплого изотонического раствора хлорида натрия (лучше раствора Рингера-Локка), затем накрывают покровным стеклом и микроскопируют при увеличении объектива 40 и окуляра 7 или 10. Для исследования берут: отделяемое уретры, цервикального канала, влагалища, центрифугат мочи, эякулят, секрет предстательной железы и др. Фазово-контрастная микроскопия (с окраской нативного препарата 0,01% раствором сафранина) позволяет более четко видеть движения и структуру трихомонад. При изучении нативного препарата особое внимание обращается на размеры и форму трихомонад, характер их движения, внутреннее содержимое клеток. Необходимо найти овальное или грушевидное тело, чуть больше лейкоцита (размеры в среднем от 13 до 17 мкм), имеющее жгутики и совершающее характерные толчкообразные поступательные движения. Иногда можно заметить движение свободных жгутиков. Цитоплазма трихомонад обычно зернистая, чаще вакуолизирована. Ядра плохо различимы или чаще вообще не обнаруживаются. Проблематичной может быть оценка жизнеспособных, но неподвижных, атипичных форм (без жгутиков, ундулирующей мембраны, атипично делящихся (почкующихся) клеток). Основными дифференциально-диагностическими критериями, отличающими атипичные трихомонады от клеток эпителия и лейкоцитов, служат отсутствие хорошо различимого ядра, а также наличие в цитоплазме этих простейших выраженной зернистости и вакуолей. Они значительно крупнее сегментоядерных нейтрофилов (наиболее часто встречающихся форменных элементов), а моноциты имеют четко выраженное ядро. Ввиду быстрой потери подвижности трихомонад материал необходимо исследовать непосредственно после взятия (практически «не отходя от пациента»). Следует помнить, что до забора материала пациент не должен мочиться 3-4 ч., за 5-7 дней до взятия анализов не должен принимать протистоцидные средства и проводить местные процедуры. Чувствительность этого метода варьируется в широких пределах и зависит прежде всего от формы заболевания, локализации трихомонад, а также от квалификации персонала, проводящего исследование. Необходимо помнить, что при отсутствии типичных форм клеток трихомонад диагноз трихомониаза может считаться лишь предположительным и должен подтверждаться другими методами.

Микроскопия окрашенных препаратов — несколько повышает процент выявления трихомонад по сравнению с нативными препаратами, так как при этом учитываются, помимо подвижных, также неподвижные особи. Кроме того окрашенные препараты можно использовать для оценки воспалительного процесса (на наличие воспалительного процесса косвенно указывают скопление лейкоцитов на клетках плоского эпителия или вокруг них, большое количество слизи в мазках и др.), выявления гонореи, мицелия грибов, микро-

флоры: кокков, палочек и т.д. Методика включает в себя поиск известной формы трихомонады с правильно очерченным, эксцентрично расположенным ядром на фоне нежно-ячеистой структуры цитоплазмы. Для выявления жгутиков и ундулирующей мембраны препарат следует изучать методами окраски по Романовскому-Гимзе, Лейшману.

Необходимо отметить, что эффективность микроскопического метода исследования в целом недостаточная. Относительно других методов лабораторной диагностики, являясь определенно экономически наиболее целесообразным, он имеет низкую чувствительность (от 36% до 82%). Интерпретация результата субъективна и во многом зависит от опыта специалиста, качества мазка и соблюдения условий забора материала. Ошибки при проведении микроскопических исследований прежде всего обусловлены:

- потерей влагалищными трихомонадами характерной подвижности после того, как они извлечены из среды человеческого организма;

- принятием эпителиальных клеток, макрофагов и других клеточных элементов за трихомонады;

- существованием различных форм трихомонад (округлые, безжгутиковые (амастиготные) формы, со сниженной метаболической активностью – разночтения при оценке результатов);

- низкотитражными препаратами или препаратами, содержащими огромное количество клеток эпителия, лейкоцитов и различного деструктивного материала из очага поражения;

- нередкой потерей типичных морфологических признаков во время фиксации и окрашивания, что создает трудности для этиологической идентификации.

Люминесцентная микроскопия — облегчает обнаружение трихомонад, которые в УФ-лучах при обработке высушенного мазка люминофором (акридиновым оранжевым 1-40000 в буферном растворе) дают характерное свечение (зеленоватое ядро, кирпично-красная цитоплазма). В настоящее время метод применяется редко, может быть полезным для выявления неподвижных, атипичных форм возбудителя, но его результаты должны оцениваться по совокупности с иными методами.

Культуральное исследование считается методом «золотого стандарта» в диагностике инфекций, вызванных *T.vaginalis*. Оно предполагает выращивание культур трихомонад на питательных средах с последующей идентификацией возбудителя. Это простой в интерпретации метод, для начала роста в культуре он требует менее чем 300-500 трихомонад в 1 мл инокулята. Однако эффективность культуральной диагностики во многом зависит от состава питательных сред и от условий культивирования трихомонад. Разработано значительное количество сред (Павловой, Джонсона-Трасселя, ССДС, Тераса, 199-СДС, Трихомона-Скин и т.д.), содержащих различные ингредиенты: сыворотку крови человека или животных, солянокислый протеин, гидролизат казеина, печеночный настой, куриный белок, рисовый отвар, дрожжевой экстракт и аутолизат, пептон, витамины, минеральные соли, сахара и др. (в различных концентрациях и пропорциях). Все методики культивирования трихомонад хорошо известны и описаны в многочисленных изданиях. Значимость бактериологического (культурального) метода особенно высока при нетипичной или отсутствующей клинической картине (носителем) заболевания, повторных отрицательных результатах бактериоскопии, оценке эффективности терапии (диагностические сложности чаще бывают у мужчин), выделении от больного методом микроскопии нетипичных по структуре трихомонад,

отдельных ядер (в большинстве клинико-диагностических лабораториях интерпретируются как отрицательный результат, поскольку методические указания Министерства здравоохранения (приложение 2 к приказу МЗ СССР №1570 от 04.12.1986 года) регламентируют подтверждение клинического диагноза «трихомониаз» на основании обнаружения типичных форм влагалищных трихомонад [9]).

Ни один из существующих на сегодняшний день методов не обеспечивает выявления трихомонад во всех случаях заболевания, но культуральные исследования значительно повышают эффективность диагностики. Существенным недостатком культуральной диагностики трихомониаза является только ее длительность: регламентированная процедура предусматривает культивирование до 17 дней с изучением культуры для идентификации простейших на 3-5 день, при отрицательных результатах на 7-9, 11-17 дни после посева (приказ МЗ СССР №936).

Серологические методы — включают в себя реакцию связывания комплемента (РСК), реакцию иммунофлюоресценции (РИФ) (или ускоренную РИФ-40 в модификации В.Н. Бедновой и соавт.), реакцию пассивной гемагглютинации (РПГА), иммуноферментный анализ (ИФА). Принцип методов – выявление различных антител к *T.vaginalis* (например, IgG при постановке ИФА). Основной недостаток — невозможно применять в качестве ведущего диагностического теста, прежде всего в связи с возможностью непостоянных результатов (существование разных серотипов трихомонад, в том числе с низкой антигенностью), ложноположительных (при «анамнестической» инфекции (длительное сохранение положительных серореакций у излечившихся от трихомониаза)) и ложноотрицательных.

Прямой иммуноферментный анализ для выявления антигена в соскобах и в моче представляет значительный интерес, так как проводимые исследования показывают достаточно высокий процент положительных результатов ИФА на антиген (при локализациях трихомонад в уретре, влагалище, цервикальном канале) по сравнению с другими методами диагностики. К тому же результат определения возбудителя трихомониаза данным методом достигается в течение одного часа, что позволяет специалисту проводить быстрый и достаточно точный диагностический поиск. Однако для обоснования диагностики мочевого трихомониаза только с помощью этого метода необходим тщательный сопоставительный анализ с применяемыми регламентированными методами [10].

В настоящее время возрос интерес к использованию для детекции возбудителей ИППП и в частности мочевого трихомониаза таких методов амплификации нуклеиновых кислот, как полимеразная цепная реакция (ПЦР). Преимущество ПЦР заключается в том, что для анализа необходима только ДНК, а жизнеспособность организма значения не имеет. Кроме того, ПЦР способна улавливать очень низкие концентрации искомого агента, вплоть до одного микроорганизма в образце [11]. Чувствительность ПЦР, по мнению зарубежных специалистов, составляет 97%, а специфичность — 98% по сравнению с 70% и 36% для культурального и микроскопического методов исследования соответственно [10]. В России были зарегистрированы несколько тест-систем для ПЦР-анализа урогенитального трихомониаза: ЗАО «ЛА-ГИС» — «Диаген-Трихомонас», «АмплиСенс-Trichomonas vaginalis-250» — ЦНИИЭ МЗ РФ и др.

По мнению ряда ученых, целесообразно применение ПЦР-анализа при обнаружении «атипичных» трихомонад, при сомнительных результатах культурального исследования, а также с целью скрининга, для дополнительного контроля при смешанных инфекциях урогенитального тракта. Однако при-

менение метода ПЦР с целью идентификации возбудителей трихомониаза и гонореи наряду с широким его использованием при диагностике хламидиоза, мико-уреаплазмоза и ряда вирусных ИППП очень ограничено, вероятно, из-за небольшого срока применения его в России (недостаточное число исследований), качества наборов для детекции *T.vaginalis*, высокой стоимости зарубежных наборов, возможности ложноположительных и ложноотрицательных реакций.

ДНК-гибридизация — одна из методик, довольно широко применяемых за рубежом с целью идентификации *T.vaginalis* и других ИППП. Однако в силу высокой стоимости и неоднозначной информированности специалистов ДНК-гибридизацию при диагностике мочеполового трихомониаза в России не применяют.

Следует отметить, что такие методы, как кожно-аллергическая проба и метод определения ферментативной активности («пестрый ряд» — в процессе разложения трихомонадами углеводов с образованием газа и закислением среды), представляют лишь исторический интерес ввиду наличия более современных и эффективных методов.

Используемые на практике лабораторные методы обладают различной диагностической ценностью. На сегодняшний день, к сожалению, ни один из имеющихся диагностических тестов не является в 100% случаев совершенным. Необходимо помнить, что главной задачей современной диагностики любой ИППП, и в частности уrogenитального трихомониаза, с целью раннего и достоверного диагноза является индивидуальный подход к конкретному пациенту с определением роли и места каждого метода и их комплексного применения при выявлении возбудителя. У мужчин трихомонады обнаружить значительно труднее, чем у женщин, что связано прежде всего с тем, что *T.vaginalis* в отделяемом уретры часто находится в малоподвижной форме, имеются в небольшом количестве. Поэтому для более достоверных данных обследования у мужчин нельзя ограничиваться анализом только уретрального отделяемого, надо исследовать также осадок свежесобранной мочи, секрет предстательной железы, сперму; необходимо проведение множественных лабораторных исследований с использованием различных методов и их комбинаций. Однако, как уже указывалось выше, единственным достоверным доказательством трихомонадной инфекции служат результаты микроскопического исследования нативных или окрашенных препаратов или культурального исследования. У девочек (до наступления менархе) проводится микроскопическое и культуральное исследование, но диагноз уrogenитального трихомониаза устанавливается только на основании результатов культурального исследования.

Ранее, для повышения точности лабораторной идентификации возбудителей ИППП, а также при определении критериев излеченности заболевания использовались различные методы провокаций: алиментарный, механический, химический, биологический, термический, физиологический. Лучшими считались комбинированные методы. Материал для исследования забирался после проведения провокации через 24, 48 и 72 часа. Провокации были обязательными к использованию в лечебно-диагностическом маршруте больных и включены сначала в инструкции, а затем в методические рекомендации «Лечение и профилактика гонореи», утвержденные Минздравом СССР (1989) и Минздравом Российской Федерации (1993). В настоящее время провокационные процедуры не являются обязательными, однако следует отметить, что их использование, по мнению ряда исследователей, значительно повышает качество определения этиологического агента воспалительного процесса.

Необходимо отметить, что лабораторные обследования как наиболее объективные, с помощью которых устанавливается достоверный диагноз и назначается адекватная терапия, надо проводить на всех этапах инфекционного процесса (первичное обследование, оценка динамики течения воспалительного процесса, определение эффективности лечения).

Особое внимание необходимо уделить также важному этапу обследования — топической диагностике, которая осуществляется с помощью не только тщательного осмотра, но и с применением инструментальных методов (кольпоскопии, трансвагинального УЗИ у женщин, трансректального УЗИ у мужчин).

В заключение хотелось бы еще раз отметить, что только полноценное обследование больных с расширением спектра диагностических и параклинических технологий позволит повысить качество диагностической помощи и разработать в дальнейшем оптимальные терапевтические алгоритмы.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Ермоленко Д.К., Исаков В.А., Рыбалкин С.Б. и др. Уrogenитальный трихомониаз: Пособие для врачей. СПб. Великий Новгород, 2—7. 96 с.
2. Буданова П. В., Асланов А. Г. Актуальные вопросы диагностики и лечения уrogenитального трихомониаза. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии: научно-практический журнал Российской Ассоциации специалистов перинатальной медицины. М.: 2008; 3: 88-92.
3. Ермоленко Д.К., Исаков В.А., Рыбалкин С.Б. и др. Уrogenитальный трихомониаз: пособие для врачей. СПб. Великий Новгород, 2—7. 96 с.
4. 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. дисс. к.м.н. СПб., 2005. 23 с.
5. Клименко Б.В., Авазов Э.Р., Барановская В.Б., Степанова М.С. Трихомониаз мужчин, женщин и детей. СПб.: «Сюжет», 2001. 192 с.
6. Протокол ведения больных «Уrogenитальный трихомониаз». Пробл. стандарт. в здравоохран. 2005; 2:130-45.
7. Гомберг М.А., Плахова К.И. Инфекции влагалища: взгляд венеролога. Терапия трихомониаза и бактериального вагиноза: проблемы и пути решения. Consilium Medicum 2005; Том 7.; 3: 211-214.
8. Баткаев Э.А., Рюмин Д.В. Эффективность использования вакцины «Солкотриховак» в лечении уrogenитального трихомониаза у женщин и мужчин (клинико-лабораторное исследование) // Русский медицинский журнал 2002; Т.10: 2:69-72
9. Дмитриев Г.А., Глазко И.И. Диагностика инфекций, передаваемых половым путем //М.: «Издательство БИНОМ», 2007.- 320 с., ил.
10. Дмитриев Г.А. Лабораторная диагностика бактериальных уrogenитальных инфекций. Н.Новгород, 2003. 336 с.
11. Swygard H., Sena A.C., Hobbs M.M., Cohen M.S. Trichomoniasis: clinical manifestations, diagnosis and management. Sex Transm Infect.- 2004; 80:91-95.