

7. Glauser M.P., Zanetti G., Baumgartner J.D., Cohen J. Septic shock: pathogenesis. // *Lanset*. – 1992. – Vol. 338. – P. 732-736.
8. Volk H.-D., Reinke P., Krausch D., Zuckermann H., Asadullah K., Muller J.M., Docke W.-D., Kox W.J. Monocyte deactivation – rationale for a new therapeutic strategy in sepsis. // *Intensive Care Med*. – 1996. – Vol. 22. – P. S474-S481.

Е.Г. БОЧКАРЕВ,  
Ю.В. СЕРГЕЕВ,  
В.М. КОПЫЛОВ, Д.В. РЮМИН  
Институт аллергологии  
и клинической иммунологии,  
НИИ физико-химической  
медицины МЗ РФ,  
Москва

УДК 616.91.6-07:618.1

## АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ДИАГНОСТИКИ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРИХОМОНИАЗА

Обобщенные данные по микроскопии, иммунофлюоресценции, иммуноферментному методу, полимеразной цепной реакции (ПЦР) и культуральному методу, применяющимся в диагностике инфицирования *Trichomonas vaginalis*. Методы генодиагностики (ПЦР) являются более эффективными по сравнению с традиционными (изоляция в культуре, иммунофлюоресценция, микроскопия, иммуноферментные методы).

Недостатком ПЦР могут являться ложноположительные результаты вследствие контаминации ДНК. К ложноотрицательным результатам могут приводить наличие ингибиторов ПЦР в клинических образцах.

Для достоверной диагностики трихомониаза необходим комплекс лабораторных методов, позволяющих выявить возбудителя.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** урогенитальный трихомониаз, диагностика.

*Имунопатология, аллергол., инфектол. 2000, 4: 77 стр.*

## PRESSING QUESTIONS OF UROGENITAL TRICHOMONIASIS DIAGNOSTICS

*E.G. BOCHKARYEV, YU.V. SERGEYEV, V.M. KOPYLOV, D.V. RYUMIN*

*Allergology and clinical immunology institute, Moscow, Russia.*

Modern data on microscopy, enzyme immunoassay, polymerase chain reaction (PCR) and culture for the diagnostics of *Trichomonas vaginalis* infections are presented here. Genodiagnosics tests (PCR) more effective than traditional tests (T. vaginalis isolating in culture, microscopy, enzyme immunoassay).

The drawback of PCR are which may lead to false positive results is the possibility of DNA contamination. The false negative results also possible because of presence PCR inhibitors in samples.

The reliable diagnostics of trichomoniasis is needed for the whole set of laboratory tests, allowing to determine the ethitropic agent and the stage of diseases.

**KEY WORDS:** genodiagnosics tests (PCR), *T. vaginalis*, isolating in culture.

*Immunopathol., allergol., infectol. 2000, 4: 77 p.*

Трихомониаз - заболевание мочеполовой системы, вызванное простейшим одноклеточным паразитом *Trichomonas vaginalis*. Основными носителями инфекции являются женщины репродуктивного возраста. Заболевание передаётся половым путём, в крайне редких случаях возможно заражение через контаминированные поверхности и может протекать как в виде бессимптомного носительства, так и клинически выраженного вульвовагинита. *T.vaginalis* инфицирует исключительно сквамозный эпителий уrogenитального тракта. Инкубационный период обычно составляет от 4 до 28 дней у примерно 50% инфицированных лиц, но может сокращаться до 1-3 дней [1,4,5,36].

Клиническая картина острой формы инфекции у женщин представлена диффузным вульвовагинитом вследствие обширной лейкокорреи (выделение из влагалища бело-жёлтой тягучей жидкости со слизью или гноем). Отделяемое обычно пенистое, жёлтого или зелёного цвета, слизисто-гноной консистенции. Примерно у 2% пациенток могут быть обнаружены незначительно выраженные геморрагии на слизистой влагалища, шейки матки и цервикального канала (“клубничное проявление”).

При хроническом течении болезни преобладает слабовыраженная симптоматика: зуд и диспарения (боли во время коитуса) по причине скудного вагинального секрета. Эта форма заболевания особенно важна с эпидемиологической точки зрения, поскольку такие лица являются главными источниками передачи инфекции.

Вплоть до 25-50% инфицированных женщин имеют бессимптомное носительство, при нормальных значениях pH влагалища 3,8-4,2 и относительно нормальной вагинальной флоре. Если у таких женщин констатировано носительство трихомонад, то, как правило, клинические симптомы развиваются только у половины пациенток в течение 6-ти месяцев, последующих за первичным обращением.

Вагиниты - наиболее частое проявление трихомониаза у женщин. Бартолиниевая железа также может являться частым фокусом инфекции.

Вообще многоочаговость поражения при мочеполовом трихомониазе отмечается многими исследователями: аднекситы, пиосальпингиты, кольпиты, эндометриты, эрозии шейки матки, циститы, уретриты и др.[24,30]

Мужской трихомониаз чаще всего протекает бессимптомно, в связи с чем мужчины также могут являться носителями *T.vaginalis*. Наиболее вы-

раженным клиническим проявлением заболевания у них являются уретро- и везикулопростатиты. Значительно реже развиваются орхиты и орхоэпидидимиты, что, как правило, обусловлено смешанной протозойно - бактериальной уrogenитальной инфекцией.

Общие жалобы у мужчин включают скудные, слизисто-гноные выделения, дизурию, слабый зуд или жжение немедленно после коитуса. Осложнения, связанные с трихомониазом, включают негонкокковый уретрит и другие уrogenитальные заболевания: простатит, везикулит, баланопостит, эпидидимит [18,19].

### Лабораторная диагностика трихомонадной инфекции

Диагностика основана на выявлении клинических признаков заболевания и обнаружении в исследуемом материале *T.vaginalis*. однако постановке диагноза не следует опираться исключительно на данные клинической картины по следующим причинам:

- указанные клинические симптомы могут быть проявлениями других инфекций уrogenитального тракта;

- классический и патогномичный для трихомониаза “клубничный” симптом встречается только у 2% пациенток;

- пенистые выделения, которые можно связать с активным ростом трихомонад, наблюдаются примерно у 12% инфицированных женщин.

Другие человеческие трихомонады, наблюдаемые при лабораторной диагностике, в основном, следует рассматривать как контаминацию во время забора материала. Такие ошибки в диагностике трихомониаза чаще случаются при обследовании детей [17]. Однако в связи с изменением стереотипов сексуального поведения в последнее время (промискуитет, увеличение частоты орально-генитальных и анально-генитальных контактов) необходимо учитывать возможность определения в уrogenитальном тракте больных трихомониазом других видов трихомонад - *Trichomonas tenax (elongata)*, *Trichomonas hominis (abdominalis)*. В то же время при электронно-микроскопическом исследовании материала прямой кишки при мочеполовом трихомониазе были обнаружены *T.vaginalis*, что подтверждает возможность смены простейшими привычной среды обитания и колонизации новой экологической ниши [2].

В настоящее время применяют четыре лабораторных метода определения *Trichomonas vaginalis*: микроскопический, культуральный, иммунологический и генодиагностический [30]

**Микроскопический метод** включает две методики. Первая - это определение трихомонад в нативном препарате при фазовом контрастировании. Необходимо найти овальное или грушевидное тело, чуть больше лейкоцита, имеющее жгутики и совершающее характерные толчкообразные поступательные движения. Такое исследование следует делать практически “не отходя от пациента”, иначе в течение нескольких минут влагилищная трихомонада может прекратить свои движения. Вторая методика - это окрашивание препарата метиленовым синим (как вариант: раствором бриллиантовой зелени) или по Граму. Ведётся поиск известной формы трихомонады с правильно очерченным асимметричным ядром на фоне нежно ячеистой структуры цитоплазмы. Для выявления жгутиков и ундулирующей мембраны препарат следует изучать методом окраски по Романовскому-Гимзе.

Этот метод имеет самую низкую чувствительность (от 38% до 82%) относительно других методов лабораторной диагностики. Это может быть обусловлено, в первую очередь, потерей трихомонадами характерной подвижности после того, как простейшее уже извлечено из среды человеческого организма. Особенно большая доля субъективизма проявляется в препаратах с низким титром простейших или в препаратах, содержащих огромное количество клеток эпителия, лейкоцитов и различного деструктивного материала из очага поражения (“гнимый мазок”). В очаге поражения влагилищная трихомонада часто представлена округлыми формами, напоминающими полиморфноядерные лейкоциты, и, естественно, типичные морфологические признаки теряются во время фиксации и окрашивания, создавая трудность для этиологической идентификации.

**Метод выращивания трихомонад** в бульонной культуре - “золотой стандарт” диагностики. Он прост в интерпретации и требует менее, чем 300-500 трихомонад/мл для начала роста в культуре. Тем не менее, для него существуют ограничения, присущие культуральным методам. Для диагностики необходим инкубационный период от 5 до 7 дней, являющийся слишком длительным из-за возможности распространения инфекции инфицированным пациентом. В связи с этим он не получил широкого

применения в клинической практике в качестве прямого диагностического метода.

Для улучшения восприятия культурального метода за рубежом был разработан метод пластикового конверта, с помощью которого можно выполнить как немедленную проверку, так и сохранить культуральный метод в одной самоподдерживающейся системе. Результаты являются сравнимыми с таковыми при исследовании мазка и культур. Аналогично пластиковому конверту, метод системы InPouch – это двухкамерный мешок, позволяющий выполнять быструю проверку культуры путём микроскопии через стенку мешка.

Технология роста патогена на клеточной культуре предусматривает восстановление *T.vaginalis* из клинических образцов. Было продемонстрировано, что этот метод лучше относительно культивирования в бульоне и приготовления влажной камеры, поскольку способен определять *T.vaginalis* в концентрациях менее 3 организмов в 1 мл. Однако культивирование в культуре - это не простой рутинный метод; он дорог и неудобен для быстрой диагностики.

В России культуральный метод - это второй основной метод, используемый в лабораторной диагностике трихомониаза, и первый по своей значимости до середины 90-х годов. Проведенный в 1990 г. анализ качества диагностики трихомониаза в ЦНИКВИ МЗ РФ показал, что подавляющее число больных трихомониазом (72,8%) как среди женщин, так и среди мужчин было выявлено при использовании именно культурального метода. Из отечественных стандартных сред, не уступающих по качеству зарубежной среде Джонсона-Трасселя, можно рекомендовать в практическое здравоохранение среду, изготавливаемую по инструкции ЦНИКВИ МЗ РФ: в 1 литр дистиллированной воды вносится 12,5 г белкового порошка (ТУ 64-3-204-84, получаемый из отхода при производстве лизоцима), хлорид калия 0,1 г, хлорид кальция 0,1 г, двууглекислый натрий 0,1 г, аскорбиновая кислота 0,6 г, лимонная кислота 0,12 г, оротовая кислота 0,075 г, лактат кальция 1,0 г, мальтоза 10,0 г. Смесь стерилизуется при 0,5 атмосферы в течение 30 мин в атмосфере текучего пара. После охлаждения стерильно вносится 220 мл лошадиной сыворотки и антибиотика (из расчёта 1000 Ед/мл пенициллина, 1000 мкг/мл стрептомицина и 40 Ед/мл амфоглюкамина или 4000 Ед/мл линкомицина).

Ограничения культуральных и микроскопических методов для выявления *T.vaginalis* способствовали развитию альтернативных методов, позволяющих выявлять антигены, антитела или нуклеиновые кислоты в уретральном или вагинальном экссудате.

### Определение антитрихомонадных антител

Иммунологические методы не получили, к сожалению, должного распространения в России из-за отсутствия качественных отечественных тест-систем. Существует восемь известных серотипов *T.vaginalis*, в то же время, по данным иммуноблота, возможно более широкое варьирование антигенных маркёров. Используются различные методы определения антитрихомонадных антител: агглютинация, фиксация комплемента, непрямая гемагглютинация, диффузия в геле, флюоресценция антител и фермент-связанный иммуносорбционный анализ. Местный гуморальный ответ на патогенный агент зависит от следующих факторов: характера субстанции антигена или патогена, его живой или убитой форм, концентрации, частоты и длительности стимуляции иммунной системы, поэтому в некоторых случаях гуморальный ответ не наблюдается из-за того, что система либо малочувствительна для выявления низкого уровня специфических антител, либо потому, что не был вызван гуморальный ответ. В связи с тем, что антитрихомонадные антитела могут циркулировать в сыворотке крови в течение длительного времени после проведенного курса лечения, практически невозможно дифференцировать состояние болезни от реконвалесценции.

**Выявление антигенов трихомонад.** Клиническое значение имеет прямое определение специфических белков *T.vaginalis* в биопробах с использованием моноклональных антител в качестве быстрого метода диагностики трихомониаза. Моноклональные антитела для выявления *T.vaginalis* из клинических образцов давали аналогичные результаты с влажными препаратами для микроскопии. Более того, использование моноклональных антител к белкам, таким, как КРФ и цистеиновая протеаза, являющихся иммуногенами всех наблюдавшихся изолятов *T.vaginalis*, могло бы обеспечить альтернативный метод определения влажной трихомонады.

Прямой иммуноферментный и иммунофлюоресцентный анализ мазков вагинального соскоба, например, коммерческий метод фирмы California Integrated Diagnostics, Benicia, Calif., используя

щий пероксидазо- и флюорохром-меченные смеси моноклональных антител к различным структурам *T.vaginalis* был таким же чувствительным и специфическим, как и используемый культуральный метод. К тому же результаты определения возбудителя трихомониаза данным методом достигаются в течение одного часа, что позволяет осуществлять контрольно-диагностическую функцию.

### Генодиагностика трихомониаза

С начала 90-х годов в лабораторную клиническую практику стали внедряться генодиагностические технологии определения специфических областей ДНК-мишени генома вирусов, бактерий и клеток высших организмов. Сначала это была ДНК-гибридизационная технология. Например, в коммерческой тест-системе Affirm VP (Micro Prob Corp, Bothwell, Wash.) используются синтетические зонды для выявления как *Gardnerella vaginalis*, так и *T.vaginalis* из одного вагинального соскоба. Данная методика лучше, чем метод влажной камеры. Тем не менее, встречались ложноотрицательные результаты при её сравнении с культуральным методом (80% чувствительности относительно положительных образцов в культуре).

Одна из гибридных методик - "дот-блот" гибридная, в которой использовался фрагмент ДНК *T.vaginalis* в качестве зонда, позволяющий определять *T.vaginalis* в вагинальном экссудате. Однако нестабильность зонда, выполнение специфических технических приёмов, особенно использование радиоактивной метки являлись большими недостатками этой методики. После того как радиоактивно меченный зонд заменили на флюоресцентно-меченный ДНК-зонд, эта методика сразу нашла своё применение при выявлении бессимптомного носительства *T.vaginalis*.

Новая технология генодиагностики – полимеразная цепная реакция (ПЦР) в последнее время занимает одно из ведущих мест при лабораторной дифференцировке трихомониаза. Одним из самых ответственных этапов является забор материала, осуществляемый в лечебном учреждении. Материал (сквамозный эпителий) рекомендуется брать одноразовой специальной щёткой cervix-brush (vobabrush) или тщательно обработанной (отмытой и стерильной) ложкой Фолькмана из уретры мужчин/женщин или цервикального канала женщин. У женщин рекомендуется брать материал также из заднего свода влагалища. При взятии материала из цер-

викального канала его предварительно очищают ватным тампоном. Щеточка вводится в канал на глубину 1,5-2 см, вращается 15 секунд, ополаскивается в 100 мкл физиологического раствора, находящегося в пробирке (типа Эппендорф) для транспортировки биоматериала и выбрасывается. Ни в коем случае нельзя оставлять щеточку в пробирке - это сильно затрудняет анализ в дальнейшем. Пробирку с материалом хранят при +4-10°C в холодильнике в течение трёх дней или при - 20°C в течение двух недель. Доставку биоматериала на ПЦР-анализ желательно осуществлять в термоконтейнере или термосе со льдом.

Lin P.R. et al. [26] предложили одностадийную нестед-ПЦР методику определения ДНК *T.vaginalis* из отделяемого вагины. Они определяли последовательность мишеней в семействе повторов длиной 650 пар оснований. Перекрёстной реак-

ции не отмечалось с ДНК человека и таких патогенов как *Pentatrichomonas hominis* и *Giardia lamblia*. Диагностический процесс занимал 6 часов. Из 165 клинических образцов, исследованных с помощью ПЦР, культуральным методом и микроскопией влажного препарата, 16 оказались положительными на наличие *T.vaginalis* по данным ПЦР и росту в культуре. Микроскопия выявила только 9 положительных образцов из 16. Ни один из ПЦР-отрицательных образцов не был положительным в других методиках. Интересно, что впоследствии эти авторы дополнили свою методику калориметрической детекцией специфических ампликонов вместо электрофореза, что помогло при исследовании образцов от 113 пациентов с отсутствием клинических симптомов выявить 9 случаев инфицирования *T.vaginalis*, не выявлявшихся другими методами (табл.1).

Таблица 1

**Данные сравнительного исследования 165 образцов вагинального секрета методами микроскопии, культурального посева и ПЦР на наличие *T.vaginalis***

Метод исследования	Количество выявленных носителей <i>T.vaginalis</i>	Количество невыявленных носителей <i>T.vaginalis</i>
Микроскопия	9	156
Культуральный метод	16	149
ПЦР	16	149

Madico S.R. et al. [28] разработали ПЦР - тест, определяющий консервативную часть гена бета-тубулина влажной трихомонады. Эта последовательность мишеней амплифицировалась у всех 15 лабораторных штаммов *T.vaginalis* и не амплифицировалась у *Trichomonas tenax*, *Trichomonas gallinea*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Giardia lamblia*, *Chilomastix sulcatus*, *Dientamoeba fragilitis*, *Entamoeba histolytica*. Из 350 мазков, взятых от женщин с вагинитом, с помощью культурального метода (среда Inpouch TV) оп-

ределили 23 случая трихомониаза. Из них 22 были подтверждены методом ПЦР и только 12 случаев подтвердились при микроскопии влажного препарата. 17 случаев было ПЦР-положительных и культурально-отрицательных, среди них в дальнейшем 10 случаев подтвердилось при обследовании других областей ДНК *T.vaginalis* методом ПЦР. Таким образом, было признано, что данный ПЦР-тест имеет чувствительность 97% и специфичность 98% в сравнении с 70% чувствительности культурального метода и 36% метода микроскопии (табл.2).

Таблица 2

**Данные сравнительного исследования 350 образцов вагинального секрета методами микроскопии, культурального посева и ПЦР на наличие *T.vaginalis***

Метод исследования	Количество выявленных носителей <i>T.vaginalis</i>	Количество невыявленных носителей <i>T.vaginalis</i>
Микроскопия	12	338
Культуральный	23	327
ПЦР (праймеры к консервативной части гена бета-тубулина и других консервативных последовательностей генома <i>T.vaginalis</i> )	32	318

Анализ использования ПЦР-методики идентификации ДНК влагалищной трихомонады с праймерами, определяющими повторяющуюся последовательность TV-E650, в сравнении с клиническими данными и другими лабораторными методами (микроскопия влажного препарата, микроскопия мазка, приготовленного по методу Папаниколау, культуральный) показал, что предложенный метод в 100% случаев чувствителен и специфичен, так как не давал перекрёстной реакции с другими простейшими и *Candida albicans*. Исползованная методика ПЦР в два раза чаще выявляла трихомонаду, чем другие сравниваемые лабораторные методики [28].

Tabrezi S.N. et al. [34] проанализировали сравнительную выявляемость *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* и *T.vaginalis* при взятии образца мочи и с тампона методом ПЦР. Они обнаружили, что ПЦР в случае исследования тампона одинаково часто выявляет хламидии, но в два раза чаще гонококки и трихомонады. Причём в дальнейших исследованиях они подтвердили эти данные, показав, что наиболее распространённая клиническая методика выявления трихомонад - микроскопия препарата, приготовленного по методу Папаниколау и принятая у них в клинической лаборатории, давала 59% положительных ответов относительно ПЦР.

В настоящее время в России отдельные медицинские центры начинают применять в лабораторной практике ПЦР-технологии при диагностике мочевого трихомониаза.

В клиничко-диагностической лаборатории НИИ физико-химической медицины МЗ РФ трихомониаз был выявлен методом ПЦР в 1,7% случаев лабораторных исследований (637 исследований в 1999 г.).

Сухова Л.П. и соавт. [16] исследовали уретральное отделяемое 68 мужчин – половых партнеров женщин, больных трихомонадной инфекцией методами ПЦР, микроскопическим и культурально-микроскопическим (табл.3). Результаты исследования микроскопическим методом не совпали с результатами ПЦР в 25 (36%) случаях – ложноотрицательные ответы, культурально-микроскопического в 15 (22%) случаях – ложноположительные ответы. Данное соотношение разрешающих способностей ПЦР/микроскопия как 2,5-2:1 соответствует данным мировой литературы и демонстрирует преимущество ПЦР при диагностике трихомониаза по сравнению с традиционным обследованием. По мнению авторов, ПЦР-технология как наиболее чувствительная является методом выбора при диагностике хронических и асимптомных форм заболевания.

**Таблица 3**

**Данные сравнительного исследования 68 образцов уретрального отделяемого методами микроскопии, культурально-микроскопическим (“Трихомона Скрин” Биосервис) и ПЦР на наличие *T.vaginalis***

Метод исследования	Количество выявленных носителей <i>T.vaginalis</i>	Количество невыявленных носителей <i>T.vaginalis</i>
Микроскопия	29 (43%)	39 (57%)
Культурально-микроскопический	39 (57%)	29 (43%)
ПЦР	54 (79%)	14 (21%)

### **Роль влагалищной трихомонады в формировании патогенных микробиоценозов**

Сложность и неоднозначность патогенеза урогенитального трихомониаза обусловлены, наряду с состоянием клеточного и гуморального иммунитета, симбионтными и антагонистическими взаимоотношениями различных патогенных микроорганизмов, формирующих индивидуальный микробиоценоз половых путей.

Известно, что трихомонады в уретре или влагалище при помощи жгутиков, колебательных движений тела и ундулирующей мембраны способны к

адгезии на клетках эпителия. За счет присущей им пластичности трихомонады полностью повторяют рельеф эпителиоцитов, на которых они паразитируют. В зоне прикрепления простейших к эпителиальным клеткам наблюдается разрушение плазматических мембран клеток с последующим формированием в кортикальном слое трихомонад пищеварительных вакуолей, содержащих детрит разрушенных трихомонадами эпителиоцитов [ 10 ].

В процессах пищеварения *T.vaginalis*, а также в их возможности проникать глубоко в субэпителиальные слои важная роль принадлежит выделяемому ими комплексу ферментов и, в первую очередь, ги-

луронидазе и нейраминидазе, что приводит к значительному разрыхлению тканей и способствует проникновению в межклеточные пространства различных микроорганизмов, токсических продуктов обмена трихомонад и сопутствующей микрофлоры [4].

В клинической практике урогенитальный трихомониаз в виде моноинфекции, как правило, не встречается и представляет собой большей частью смешанный протозойно - бактериальный процесс, поэтому топография и выраженность поражений органов мочеполовой системы во многом определяются именно смешанной инфекцией [5, 7].

Точка зрения на мочеполовой трихомониаз, как протозойно - бактериальную инфекцию, в настоящее время не вызывает сомнений. Предметом для обсуждения служит лишь вопрос о частоте выявления различных микроорганизмов в ассоциациях с *Trichomonas vaginalis* и патогенезе возникновения такого микробиоценоза.

Худайбердыев Н.А. 1989 [18, 19] выявил урогенитальный трихомониаз как моноинфекцию у 35,9% больных, в то время как смешанная трихомонадно - бактериальная инфекция констатирована им в 64,1% случаев, причем была показана прямая корреляция между частотой микст-инфекции и давностью заболевания. Межевитинова Е.А. и соавт. [8] отмечают, что мочеполовой трихомониаз как моноинфекция встречается только у 10,5% больных трихомониазом, а его смешанные формы в ассоциациях с другими инфекциями, передаваемыми половым путем, наблюдаются у 89,5% пациентов; трихомонады в ассоциации с микоплазмами (47,3%); гонококками (29,1%); гарднереллами (31,4%); уреоплазмами (20,9%); хламидиями (18,2%) и грибами (15,7%).

По данным Делекторского В.В. и соавт.; [6], наиболее частыми членами микробиоценоза с влагалищными трихомонадами являлись микоплазмы (66,3%), среди которых чаще всего выявляются *Ureaplasma urealyticum* (53,9%) и *Mycoplasma hominis* (8,3%) случаев. Микробные ассоциации *Trichomonas vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* были обнаружены авторами у 4,1% больных.

Особого внимания заслуживает отмеченный многими отечественными и зарубежными исследователями [9, 10, 20] общебиологический феномен - способность влагалищных трихомонад к захвату и резервированию различных патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

В таких случаях воспалительный процесс приводит к выраженной реакции тканей, что сопровождается повреждением, деструкцией и дисплазией эпителия. При микст-инфекции, в условиях снижения иммунитета и выраженном процессе, развиваются кровоизлияния, повреждаются слои гладкой мускулатуры, прилегающие непосредственно к пораженной слизистой оболочке, образуются грануляции. Данные патологоанатомические изменения отражают развитие кольпита, эндоцервицита, цистита, проктита, способствующих формированию эктопий шейки матки - фоновым предраковым состоянием, тубовариальным гнойным образованиям, миомам матки. Наличие у трихомонад специфических рецепторов эстрадиола и дигидротестостерона при хронизации инфекции может служить факторами, способствующими развитию гиперпластических процессов в гормонально-зависимых тканях: у женщин - гиперплазия эндометрия и миомы матки; у мужчин - аденомы предстательной железы [5, 22].

Способность урогенитальных трихомонад к фагоцитозу гонококков, хламидий, микоплазм, грибов и вирусов способствует количественному уменьшению последних в половых путях, что может приводить к снижению антигенного и токсикогенного воздействия на организм, уменьшению фагоцитарной реакции и снижению иммунного ответа организма на инфекционный фактор.

Именно резервирующая роль влагалищных трихомонад, которым, на наш взгляд, принадлежит приоритет в формировании патогенных микробиоценозов урогенитального тракта, может обуславливать персистенцию различных патогенов в организме человека [15].

In vitro давно доказана возможность резервирования влагалищными трихомонадами хламидий, которые в течение 24 - 48 часов способны сохранять свою жизнеспособность. Утрата инфекционности хламидиями спустя 1 - 2 суток может отражать как их последовательную инактивацию, так и отсутствие у них продуктивного цикла развития в организме простейшего [20].

Последнее обстоятельство может быть ключевым звеном в цепи логических рассуждений о механизмах персистенции хламидий и других инфекций, передаваемых половым путем (ИППП) в организме человека, во многом объясняющим возможные причины их рецидивов, связанные с незавершенным фагоцитозом микроорганизмов внутри влагалищных трихомонад [15].

В настоящее время, по нашему мнению, многими исследователями недооценивается роль влагалищных трихомонад в патогенезе персистенции и рецидиве ИППП. Следствием чего часто является “слепая” (без должного лабораторного контроля и анализа данных) массивная антибиотикотерапия, приводящая к увеличению в популяции удельного веса такого полиэтиологического синдрома, как бактериальный вагиноз.

Изучая процессы дисбиоза при урогенитальном трихомониазе и рассматривая торпидное течение заболевания как вариант бактерионосительства, необходимо отметить роль условно-патогенной микрофлоры в формировании патогенного микробиоценоза у пациентов с мочеполовым трихомониазом.

Доказано, что при трихомониазе наблюдается выраженная обсемененность половых путей разнообразной условно - патогенной микрофлорой: стрептококками и энтерококками - 47,2%, грибами рода *Candida* - 30,1% и стафилококками (эпидермальный, сапрофитный, золотистый) - 28,1% [21].

Худайбердиев Н.А. [18,19] при культуральном посеве выявил у больных трихомонадным простатитом различные стрептококки (негемолитический, гемолитический, пиогенный, фекальный) - в 24,3% случаев и несколько чаще стафилококки (сапрофитный, эпидермальный, гемолитический, золотистый) - 35,8% случаев.

Обнаружено, что в условиях совместного культивирования при разных формах микробного биоценоза наблюдаются изменения не только количественного и видового состава микроорганизмов, но и их отдельных биологических характеристик, в частности факторов патогенности. Кроме того, различные нарушения состава микрофлоры, в свою очередь, резко увеличивают длительность бактерионосительства. Предполагается, что регуляция микробиоценоза в экологической нише обеспечивается, в основном, явлениями микробного антагонизма, с помощью продуцируемых биологически активных веществ как штаммами аутохтонной микрофлоры (бактериоцины, лизоцим и др), так и внедрившимся патогеном. Кроме того, важная роль во взаимоотношениях микроорганизмов отводится обмену между членами симбиоза генетической информацией, что создает оптимальные условия для быстрого распространения в популяции нужных признаков и селекции клонов с высокой степенью адаптации в экологической нише [ 3 ].

Необходимо отметить, что в содержимом половых путей у больных мочеполовым трихомониазом женщин практически никогда не определяются лактобациллы, служащие биологическим “барьером” для роста и распространения патогенов и условно-патогенной микрофлоры и являющиеся одним из основных критериев нормоценоза.

Помимо общеизвестного механизма бактерицидного действия лактобацилл, который заключается в расщеплении ими гликогена влагалищных эпителиальных клеток с высвобождением молочной кислоты и перекиси водорода, препятствующих размножению анаэробных и других микроорганизмов во влагалище, лактобациллы обладают выраженной лизоцимной активностью, определяющей их антагонистическое действие по отношению к условно-патогенной микрофлоре [3, 14].

Отсутствие или сниженное содержание лактобацилл в урогенитальном тракте у женщин с трихомониазом свидетельствует не только об отсутствии адекватной защиты половых путей от агрессии извне, но и, очевидно, объясняется тем, что трихомонады способны утилизировать лактобациллы даже без образования фаголизосомы, что подтверждается данными электронно-микроскопического исследования [10].

С учётом выше изложенного следует признать приоритетную роль *Trichomonas vaginalis* в формировании патогенных микробиоценозов при смешанной урогенитальной инфекции. При этом в их образовании можно условно выделить несколько этапов:

- колонизация трихомонадами экологической ниши половых путей;
- уничтожение аутохтонной микрофлоры гениталий (лактобациллы, бифидобактерии и др.);
- изменение механизмов неспецифической защиты половых путей;
- интенсивное размножение условно-патогенной микрофлоры, создание оптимальных условий для формирования патогенного микробиоценоза;
- сохранение определенного количества патогенов внутри влагалищных трихомонад (незавершенный фагоцитоз).

Безусловно, исследование патогенеза урогенитального трихомониаза и особенностей иммунологической перестройки организма в условиях многокомпонентной смешанной урогенитальной инфекции не может дать однозначного ответа на все вопросы. Поэтому изучение смешанной инфекции с при-



оритетным рассмотрением резервирующей роли влагалищной трихомонады как одного из основных факторов в формировании патогенных микробиоценозов представляется нам наиболее актуальной и перспективной задачей.

### Заключение

В целом по стране лабораторная диагностика урогенитального трихомониаза часто ограничивается только микроскопией мазка и, в некоторых случаях, культуральным исследованием. Поэтому внедрение современного метода генодиагностики (ПЦР) становится выходом из тупиковой ситуации при постановке диагноза. Рекомендуется дополнительно проводить контроль за излеченностью культуральным методом в связи с тем, что традиционное лечение трихомониаза препаратами нитроимидазольной группы становится всё чаще неэффективным.

Одним из наиболее актуальных вопросов диагностики трихомониаза методом ПЦР является его адекватная трактовка при получении ложноположительных результатов одновременно проводимым микроскопическим исследованием. Это случается при исследовании микроскопией “гнойного” мазка или при нарушении методики его окраски. Возможны случаи ложноположительного ответа после микроскопии, когда в мазок попадают непатогенные трихомонады других видов.

При рассмотрении резервирующей функции влагалищных трихомонад и незавершенного фагоцитоза в *T.vaginalis* возникает вопрос - так ли уж уникальна ее способность в различных микробных сообществах в организме человека?

Аналогичные взаимоотношения простейших с бактериями встречаются и в других природных микробиоценозах. Амебы родов *Acanthamoeba* и *Naegleria* фагоцитируют легионеллы, которые способны размножаться в их эндоплазматических вакуолях, достигая при этом чрезвычайно высоких

концентраций - до 1000 клеток в одной амебе [ 22, 23, 25, 29 ].

Анализ популяционной динамики иерсиний, псевдомонад, листерий, легионелл и ряда других бактерий в ассоциации с инфузориями *Tetrahymena pyriformis*, а также механизмов взаимодействий на клеточном и ультраструктурном уровнях показал, что возникающие вначале отношения по типу “хищник - жертва” (поглощение бактерий инфузориями), в дальнейшем преобразуются в отношения “паразит - хозяин” (гибель инфузорий) благодаря селекции микроорганизмов, устойчивых к фагоцитозу [11, 12, 13 ].

В настоящее время установлены общие закономерности механизма блокирования фагоцитоза макрофагов теплокровных и легионеллами, поглощенными амебами и инфузориями. Считается, что легионеллы эволюционно адаптированы к выживанию именно в амебах, а их попадание в легочные макрофаги и моноциты - не что иное, как “ошибка” легионелл из-за большого сходства иммунокомпетентных клеток с первичными хозяевами легионелл - амебами [31, 32 , 33 ].

Очевидно, что во всех вышеперечисленных примерах межмикробных взаимоотношений действует один и тот же общий биологический закон - поглощение бактерий простейшими с последующей резервацией и фагоцитозом, который при этом может быть незавершенным, что способствует выживанию бактерий в фагосомах простейших и селекции штаммов, резистентных к антибактериальным препаратам и иммунным факторам .

В заключение можно отметить, что проблемы диагностики и лечения трихомонадной инфекции в России в целом схожи с общемировыми, несмотря на особенности, обусловленные социально-экономической ситуацией в нашей стране. Необходимо дальнейшее продолжение открытой дискуссии с целью выработки четких рекомендаций для лабораторных работников и врачей-клиницистов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Адаскевич В.П. Инфекции, передаваемые половым путем. - Нижний Новгород: Издательство НГМА, Москва: Медицинская книга, 1999.-416 с.
2. Беднова В.Н. Выявление влагалищной трихомонады в прямой кишке больных мочеполювым трихомониазом// Вестник дерматологии и венерологии.- 1990.-№ 3.-с.12-15.
3. Бухарин О.В., Усвяцов Б.Я. Бактерионосительство (медико - экологический аспект).- Екатеринбург: УрО РАН, 1996.-206 с.
4. Васильев М.М. Особенности клиники мочеполювого трихомониаза, совершенствование диагностики и лечения (клинико-экспериментальные исследования). Дисс. ... д.м.н. М., 1990.

5. Васильев М.М. Современные проблемы диагностики и лечения гонорейной и трихомонадной инфекции. // Вестник дерматологии и венерологии. -1998.-т.4.-с.39.
6. Делекторский В.В., Яшкова Г.Н., Джалилов Д.Х. Смешанные трихомонадно-микоплазменные инфекции у женщин // Вестн. дерматол. и венерол. - 1985.- №8.- с. 28-32.
7. Кисина В.И., Беднова В.Н., Погорельский Л.В., Васильев М.М., Дмитриев Г.А., Забиров К.И., Наволоцкая Т.И., Трякина И.П. Тактика обследования и терапии больных инфекционными урогенитальными заболеваниями, осложненными дисбактериозом. Пособие для врачей. - М., 1996.- 14 с.
8. Межевитинова Е.А., Михайлова О.И. Трихомонадная инфекция: клиническое течение, диагностика и лечение // РМЖ. - 1998. - №5. - с. 288-294.
9. Мешков А.М. Комплексный метод лечения больных с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта хламидийной и уреоплазменной этиологии : Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - М., 1987. - 12 с.
10. Овчинников Н.М., Делекторский В.В. Ультраструктура возбудителей венерических заболеваний и ее клиническое значение. - М.: Медицина, 1986.- 224 с.
11. Пушкарева В.И., Литвин В.Ю., Константинова Н.Д. и др. Анализ механизмов межпопуляционных взаимодействий иерсиний с инфузориями *Tetrachymena pyriformis* на клеточном и субклеточном уровнях // ЖМЭИ.-1990.-№ 1.-с.3-8.
12. Пушкарева В.И., Литвин В.Ю., Константинова Н.Д. и др. Инфузории как хозяева иерсиний и псевдомонад // Потенциально патогенные бактерии в природе. М., 1991. - с. 50-60.
13. Пушкарева В.И., Литвин В.Ю., Шустрова Н.М. Потенциальные хозяева и пути циркуляции *Yersinia pseudotuberculosis* в водной экосистеме // ЖМЭИ.-1994.-№3.- С.52-57.
14. Реброва Р.Н. Грибы рода *Candida* при заболеваниях негрибковой этиологии. 2-е изд., перераб. и доп. - М.: Медицина, 1989. - 128 с.
15. Рюмин Д.В. Особенности патогенеза, течения и лечения персистирующего урогенитального хламидиоза у супружеских пар. Дисс. ... к.м.н.-М., 1999.-132 с.
16. Сухова Л.П., Машеро В.В., Белянина Р.Г. и др. Диагностика урогенитальной трихомонадной инфекции методом ПЦР. //Сб. трудов 3-ей Всерос. конф. "Генодиагностика в современной медицине". М., 2000 - с.98-99.
17. Хаммершлаг М.Р. Заболевания передаваемые половым путём у детей. // Инфекции, передаваемые половым путем, 1999, т.3, с.4-11.
18. Худайбердиев Н.А. Влияние хронического мочеполювого трихомониаза на репродуктивную функцию у мужчин // Вопросы патогенеза и терапии кожных и венерических заболеваний. - Сб. науч. тр., Ташкент, 1989. - с. 86-88.
19. Худайбердиев Н.А. Копулятивная дисфункция при хроническом простатите трихомонадно-бактериальной этиологии // Врач. дело. - 1989. - №3. - 85-87.
20. Щербакова Н.И., Брагина Е.Е. Моделирование смешанной хламидийно - трихомонадной инфекции "in vitro". // Хламидии (гальпровии) и хламидиозы.- М.,1982, с.19-22.
21. Юнда И.Ф., Имшинецкая Л.П., Добровольская Л.И. // Вестн. дерматол. и венерол. - 1988. - № 1. - с. 71-74.
22. Abonyi A. Examination of nonflagellate and flagellate round forms of *Trichomonas vaginalis* by transmission electron microscopy.// Appl. Parasitol. - 1995.- v.36- p.303-310.
23. Anand C.M., Scinner A.R., Malic A. et al. Interaction of *L. pneumophila* and a free living amoeba (*Acanthamoeba palestinensis*)// J. Hyg.-1983.-v.91, N 2.-p.167-178.
24. Fouts A., Kraus S.J. *Trichomonas vaginalis*: reevaluation of its clinical presentation and laboratory diagnosis.// J.Infect. Dis.- 1980. - v.141 - p.137-143.
25. Holden E.P., Winkler H.H., Wood D.O. et al. Intracellular growth of *Legionella pneumophila* with in *Acanthamoeba castellani* // Infect. Immunol.-1984.-v.45 - p.18-24.
26. Lin P.R., Shaio M.F., Liu J.Y. One-tube, nested-PCR assay for the of *Trichomonas vaginalis* in vaginal discharges.// Ann. Trop.Med.Parasitol.-1997.- v.91, N.1.-p.61-65.
27. Lindmark D.G. Carbohydrate, energy and hydrogenosomal metabolism of *Trichomonas foetus* and *Trichomonas vaginalis*.// J.Protozool. – 1989.- v.36.- p.214-216.
28. Madico G., Quinn T.C., Rompalo A., McKee K.T. Jr., Gaydos C.A. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection by PCR using vaginal swab samples.// J.Clin. Microbiol.-1998.-v.36, N.11.- p.3205-3210.
29. Nagington J., Smith D. Pontiac fever and amoebae // Lancet.-1980.- N6.- p.1241.
30. Petrin D., Delgaty K., Bhatt R., Garber G. Clinical and micribiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. // Clin. Microb. Reviews. - 1998. - v.11., N 2. – p.300-317.
31. Richmond C. Why Legionnaires bacteria are hardy // New.Sci.-1985.-v.108, N 1487.- p.28.

32. Richmond C. Human legionnaires disease a case of mistaken identify // Med. Dig. Asia.-1987.-v.5, N1.- p.19-21.
33. Rowbotham T.J. Preliminary report on the pathogenicity of *Legionella pneumophila* for freshwater and soil amoebae // J. Clin. Pathol.-1980.-N 33. - p.1179-1183.
34. Tabrezi S.N., Paterson B.A., Fairley C.K., Bowden F.G., Garland S.M. Comparison of tampon and urine as self-administered method of specimen collection in the detection of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* and *Trichomonas vaginalis* in women.// Int. J. STD AIDS.-1998.-v.9, N.6.-p.347-349.
35. World Health Organization. An overview of selected curable sexually transmitted diseases, p.2-27, In Global program on AIDS. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1995
36. Wolner-Hansen P.J. Clinical manifestations of vaginal trichomoniasis.// JAMA. -1989.- v.261 - p.571-576.

Поступила 10 сентября 2000 г

Г.Ф. ЖЕЛЕЗНИКОВА,  
Л.И. ВАСЯКИНА,  
Н.Е. МОНАХОВА,  
М.А. ПАВЛЕНКО\*,  
Е.В. НОВОЖИЛОВА,  
Н.А. ПОПОВА,  
О.В. РОДИОНОВА  
НИИ детских инфекций  
МЗ РФ,  
НИИ цитологии РАН\*  
Санкт-Петербург, Россия

УДК 576.8.097.3+616.9/-053.2

## АПОПТОЗ И ИММУННЫЙ ОТВЕТ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ИНФЕКЦИОННЫМ МОНОНУКЛЕОЗОМ

Вирус Эпштейн-Барра оказывает двоякое действие на программированную гибель клеток (апоптоз): повышая выживаемость В-лимфоцитов, он одновременно вызывает транзиторную гибель Т-клеток через Fas(CD95)-опосредованный апоптоз. Иммунологическое обследование 25 детей с острым инфекционным мононуклеозом показало, что большая тяжесть клинических проявлений инфекции ассоциирована с уменьшением числа CD95+ клеток среди лимфоцитов крови и клеток, подвергающихся спонтанному апоптозу в культуре, параллельно с переключением на преимущественно гуморальную форму иммунной защиты.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** апоптоз, иммунные механизмы, инфекционный мононуклеоз, дети

*Иммунопатология, аллергол., инфектол. 2000, 4: 87 стр.*

## APOPTOSIS AND IMMUNE RESPONSE IN CHILDREN WITH ACUTE INFECTIOUS MONONUCLEOSIS

G.F.ZHELEZNIKOVA, L.I.VASJAKINA, N.E.MONACHOVA, M.A.PAVLENKO\*,  
E.V.NOVOZHILOVA, N.A.POPOVA, O.V.RODIONOVA

*Children Infection Research Institute Ministry of Public Health Russia,  
Research Institute of Cytology of Science Academy Russia\*, St.Petersburg, Russia*

Epstein-Barr virus acts as protector against apoptosis of EBV-infected B-lymphocytes as well as inducer of transient apoptosis of T-cells via Fas(CD95)-FasL interaction. Immunologic study of 25 children with acute infectious mononucleosis showed the associations between the severity of clinical signs and diminished CD95+ lymphocytes