

П.В. Федорич¹, С.Б. Зелений², О.А. Садовська³, К.В. Дудікова¹

¹Українська військово-медична академія, Київ

²ТОВ «ХЕЛІКОН», Київ

³Шкірно-венерологічний диспансер № 1, Київ

Порівняння ефективності діагностики трихомоніазу за культуральним методом та методом полімеразної ланцюгової реакції з використанням праймерів для виявлення *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis*

Мета роботи — дослідження та оцінка результатів виявлення трихомонад у сечостатевої системи хворих із запальними процесами сечостатевої системи за допомогою культуральної діагностики, зокрема посівів на спеціальне живильне середовище «СВТ», порівняно з методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (ПЛР РЧ) з використанням праймерів для виявлення *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis*.

Матеріали та методи. За допомогою методів ПЛР РЧ та посівів на спеціальне живильне середовище «СВТ» проведено дослідження біологічного матеріалу, взятого із сечостатевої системи 97 пацієнтів у процесі обстеження на уrogenітальні інфекції в Шкірно-венерологічному диспансері № 1 м. Києва.

Результати та обговорення. За допомогою методу посіву на спеціальне живильне середовище «СВТ» *Trichomonas vaginalis* виявлено у 15 (15,5 %) із 97 пацієнтів. Під час дослідження за методом ПЛР РЧ цей збудник діагностовано лише у 6 (6,2 %) осіб. Разом із тим проведення ПЛР РЧ з використанням праймерів для виявлення *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis* дало змогу діагностувати у 9 (9,3 %) пацієнтів *Trichomonas tenax* та у 12 (12,4 %) — *Pentatrichomonas hominis*.

Висновки. Одночасне використання праймерів для виявлення *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis* дає змогу ефективніше (27,9 %) виявляти трихомонади у сечостатевої системи пацієнтів за допомогою методу ПЛР РЧ, ніж культурального, зокрема посівів на середовище «СВТ» (15,5 %). Під час діагностики трихомоніазу за допомогою культурального методу у багатьох випадках *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis* помилково ідентифікують як *Trichomonas vaginalis*. Достатньо високий рівень діагностування *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis* у сечостатевої системи пацієнтів свідчить про вагоме значення «альтернативних» статевих контактів, зокрема орального та анального сексу, за незахищеності бар'єрними засобами контрацепції, у виникненні та/або перебігу запальних процесів у сечостатевої системі.

Ключові слова

Trichomonas vaginalis, *Trichomonas tenax*, *Pentatrichomonas hominis*, полімеразна ланцюгова реакція, реальний час, посіви, спеціальне живильне середовище «СВТ».

Трихомоніаз — захворювання сечостатевої системи, зумовлене найпростішим одноклітинним паразитом *Trichomonas vaginalis* [13]. Передається статевим шляхом, але в окремих випадках зараження може відбуватися через контаміновані поверхні [10]. У світі щорічно діагностують майже 170 млн випадків захворювання на трихомоніаз [1]. Захворюваність на

трихомоніаз серед чоловіків і жінок в Україні приблизно однакова — до 4 % [4]. *Trichomonas vaginalis* в переважній кількості клінічних випадків є причиною специфічного запалення різних відділів сечостатевої системи людини. Поширюється *Trichomonas vaginalis* в організмі людини висхідним шляхом, а також лімфогенно [8]. Патогенність цього збудника для людини не

обмежується лише специфічним запаленням, можливими є різні її вияви. Зокрема, доведено роль *Trichomonas vaginalis* у формуванні патогенних мікробіоценозів, у тому числі й бактеріального вагінозу. *Trichomonas vaginalis* впливає на зниження показників імунного статусу організму, а також на розвиток гіперпластичних процесів в органах сечостатевої системи як жінок, так і чоловіків [10, 14]. На окрему увагу заслуговує здатність *Trichomonas vaginalis* до поглинання і збереження різних патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів унаслідок їхнього неповного фагоцитозу (резервуарна функція) [2, 16].

Діагноз «трихомоніаз» встановлюють на підставі клінічних ознак хвороби і виявлення трихомонад. Для лабораторної діагностики застосовують мікроскопічні, серологічні, культуральні та молекулярно-біологічні методи дослідження, зокрема полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР). Останні найбільш інформативні й поширені [1,3].

У організмі людини можуть існувати три види трихомонад: *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax (elongata)* і *Pentatrichomonas hominis (Trichomonas abdominalis)*. В уражених карієсом зубах є *Trichomonas tenax*. *Pentatrichomonas hominis* — коменсал товстої кишки. Трихомонадою, здатною інфікувати тканини сечостатевої системи, до останнього часу вважали *Trichomonas vaginalis*. Тобто вилучалася можливість її інфікування *Trichomonas tenax* і *Pentatrichomonas hominis* [5]. У окремих літературних повідомленнях є опис поодиноких випадків виявлення в сечостатевої системі «інших» трихомонад (не *Trichomonas vaginalis*), проте зазвичай це розглядали як контамінацію під час забору матеріалу [3, 15]. У наших попередніх дослідженнях з використанням експериментальних оригінальних праймерів, які ми розробили спеціально для визначення *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis* за допомогою методу ПЛР в реальному часі (ПЛР РЧ), під час обстеження 72 хворих з інфекціями сечостатевої системи, отримано такі результати: у 23 (32 %) діагностовано *Trichomonas tenax*, а у 12 (16,4 %) — *Pentatrichomonas hominis* [11, 12]. При цьому рівень діагностування саме *Trichomonas vaginalis* у хворих з урогенітальними інфекціями становить 4–6 %. Потрібно зазначити, що діагностування *Trichomonas vaginalis* за допомогою методу посівів на спеціальні живильні середовища може перевищувати показники виявлення цього збудника за допомогою методу ПЛР і становить майже 10 % [13].

З урахуванням можливості життєдіяльності в сечостатевої системі людини не тільки *Trichomonas vaginalis*, а й інших видів трихомонад, постало нове завдання, зокрема проведення

порівняння ефективності діагностики трихомоніази сечостатевої системи людини за допомогою методів посівів на спеціальне живильне середовище та ПЛР за умови використання праймерів для виявлення як *Trichomonas vaginalis*, так і *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis*.

Мета роботи — дослідження та оцінка результатів виявлення трихомонад у сечостатевої системі хворих із запальними процесами в сечостатевої системі за допомогою культуральної діагностики, зокрема посівів на спеціальне середовище «СВТ» порівняно з ПЛР РЧ з використанням праймерів для виявлення *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis*.

Матеріали та методи

Для дослідження використовували біологічний матеріал із сечостатевої системи 97 пацієнтів, що звернулися в ШВД № 1 м. Києва у 2015–2016 рр. для обстеження на наявність у них урогенітальних інфекцій. Вік пацієнтів коливався від 18 до 50 років. Жінок було 74, чоловіків — 23.

Для дослідження на виявлення трихомонад за методом культуральної діагностики використовували спеціальне живильне середовище «СВТ» виробництва Інституту Пастера (Санкт-Петербург, РФ). Для ПЛР використовували ампліфікатор ДТ-96 виробництва НВО «ДНК-Технологія» (РФ). Застосовували також праймер для визначення *Trichomonas vaginalis* виробництва компанії «ДНК-Технологія» (РФ). Для виявлення *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis* застосовували оригінальні праймери [6, 7].

Біологічний матеріал із сечостатевої системи пацієнтів для посівів на спеціальне живильне середовище «СВТ» і проведення ПЛР РЧ брали одночасно. У чоловіків для дослідження на наявність трихомонад брали зішкребки із сечовідного каналу одноразовими зондами і секрет передміхурової залози після її пальцевого масажу. У жінок досліджували піхвові виділення, а також зішкребки із сечівника і каналу шийки матки.

Дослідні зразки в пробірках «Еппендорф», що містили 500 мкл спеціального реактиву для попередньої обробки і зберігання біологічного матеріалу для проведення ПЛР «Проба Рапід» виробництва НВО «ДНК-Технологія» (РФ), після реєстрації зберігали в замороженому вигляді ($t = -10\text{ }^{\circ}\text{C}$) до проведення відповідного дослідження.

Результати та обговорення

Trichomonas vaginalis за допомогою методу посіву на живильне середовище «СВТ» виявлено у 15 (15,5 %) із 97 пацієнтів. Разом із тим за допо-

могою методу ПЛР РЧ *Trichomonas vaginalis* виявлено лише у 6 (6,2 %) осіб. *Trichomonas tenax* виявлено відповідно у 9 (9,3 %) осіб, а *Pentatrichomonas hominis* — у 12 (12,4 %).

Таким чином, загалом виявляли трихомонади за допомогою методу ПЛР РЧ у 27,9 % пацієнтів, тобто майже вдвічі частіше, ніж за допомогою методу посіву на середовище «СВТ» (15,5 %).

Порівняння виявлення саме *Trichomonas vaginalis* було таким: у 15 (15,5 %) осіб за допомогою методу посіву на середовище «СВТ» та лише у 6 (6,2 %) — за методом ПЛР РЧ. Це дає підставу вважати, що в частині випадків досліджень за методом посівів на живильне середовище за *Trichomonas vaginalis* помилково сприймають інших представників роду найпростіших, насамперед *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis*.

Виникненню інфікування сечостатевої системи *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis*, на наше глибоке переконання, значною мірою сприяє зміна стереотипів сексуальної поведінки людей. Нині все частіше практикують так звані альтернативні форми сексу, зокрема оральний та анальний. Це не могло не позначитися на перебігу статевих інфекцій, а такожна сприяло виникненню поєднаних генітально-екстрагенітальних уражень.

Найінформативнішим на сьогодні методом виявлення трихомонад у сечостатевої системі хворих на ІПСШ в Україні вважають метод посівів на живильне середовище [9]. Причому в усіх випадках виявлені найпростіші ідентифікують лише як *Trichomonas vaginalis*. Навіть тоді коли під час численних досліджень у цих же пацієнтів та їхніх статевих партнерів за допомогою методу ПЛР (метод має значно вищу чутливість та специфічність) жодного разу не виявляють саме *Trichomonas vaginalis*. Отже, цілком природно вважати, що в частині випадків досліджень за методом посівів на живильне середовище за *Trichomonas vaginalis* помилково приймають інших представників роду найпростіших. Це дає підставу для призначення курсу лікування антипротозойними препаратами пацієнтам, у яких таким чином виявлено найпростіших, та їхнім статевим партнерам. Це, з одного боку, дає змогу в багатьох випадках виліковувати хворих та позбавити їх багаторічних поневірянь по профільних медичних закладах. Однак при цьому часто залишається невідомим, який саме мікроорганізм насправді виявляють за допомогою методу посівів біологічного матеріалу із сечостатевої системи людини на відповідне середовище.

Цілком природним, на нашу думку, є запитання представників практичної дерматовенеро-

логії та лікарів суміжних спеціальностей відносно того, чи важливим є точне визначення виду найпростіших, насамперед трихомонад, у сечостатевої системі людини та чи не досить визначити лише сам факт наявності представників цього роду. Ми вважаємо, що точне визначення виду трихомонад у сечостатевої системі людини є важливим насамперед з точки зору запобігання можливій реінфекції. Адже *Trichomonas tenax* — мікроорганізм, що існує в ротовій порожнині, а *Pentatrichomonas hominis* — в кишечнику людини. Отже, не може бути вилучена можливість реінфекції трихомоніазу в разі «альтернативного сексу» як зі «старими», так і з «новими» партнерами.

Таким чином, за одночасного дослідження біологічного матеріалу із сечостатевої системи пацієнтів, спрямованого на виявлення трихомонад, за допомогою методів засіву на живильне середовище «СВТ» та ПЛР РЧ, у переважній кількості випадків ідентифікують як *Trichomonas vaginalis* інші мікроорганізми, що належать до найпростіших, а саме *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis*.

Високий рівень виявлення *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis*, у сечостатевої системі людини своєю чергою свідчить про важливу роль орального та анального сексу, що не захищений бар'єрними засобами контрацепції, у виникненні та/або перебігу інфекцій сечостатевих органів.

Висновки

1. За допомогою методу посіву на спеціальне живильне середовище «СВТ» *Trichomonas vaginalis* виявлено у 15 (15,5 %) із 97 пацієнтів. За методом ПЛР РЧ цей збудник діагностовано лише у 6 (6,2 %) осіб. Разом із тим проведення ПЛР РЧ з використанням праймерів для виявлення *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis* дало змогу діагностувати у 9 (9,3 %) пацієнтів *Trichomonas tenax* та у 12 (12,4 %) — *Pentatrichomonas hominis*.

2. Одночасне використання праймерів для виявлення *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis* дає змогу виявляти трихомонади в сечостатевої системі за допомогою методу ПЛР РЧ, тобто цей метод ефективніший (27,9 %), ніж культуральний, зокрема посиви на спеціальне живильне середовище «СВТ» (15,5 %).

3. У разі проведення діагностики трихомоніазу за допомогою культурального методу в значній частині випадків *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis* помилково ідентифікують як *Trichomonas vaginalis*.

4. Достатньо високий рівень діагностування *Trichomonas tenax* та *Pentatrichomonas hominis* у сечостатевої системі пацієнтів свідчить про роль «альтернативних» статевих контактів, зокрема

орального та анального сексу за умови незахищеності бар'єрними засобами контрацепції, у виникненні та/або перебігу запальних процесів у сечостатевих органах.

Список літератури

1. Адашкевич В.П. Инфекции, передаваемые половым путем. — М.: Медицинская книга, 2006. — 425 с.
2. Бакшеев С.Н., Неймарк С.Л. *Trichomonas urogenitalis*. TANK — функция. Асимптомное носительство и проблемы терапии // Вестн. рос. гос. ун-та. — 2001. — № 2. — С. 17.
3. Гуцин А.Е., Рыжих П.Г., Березина Л.А. и др. Молекулярно-генетическое исследование клинического материала с использованием праймеров к различным участкам генома *Trichomonas Vaginalis* и различным видам царства Protozoa. — М.: Молекулярная диагностика, 2010. — С. 204–207.
4. Дерматология, венерология: учебник / Под ред. В.И. Степаненко. — К.: КИМ, 2012. — 904 с.
5. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: учебник; 4-е изд., испр. и доп. — СПб: СпецЛит, 2008. — 660 с.
6. Пат. 107910 Україна, МПК С12/Q 1/68 (2006.01), С12/Q 1/04 (2006.01), С12/N 15/11 (2006.01). Спосіб визначення присутності *Trichomonas tenax* у досліджуваному зразку та набір праймерів для його здійснення / Федорич П.В., Зелений С.Б. — заявники та патентовласники. — а201407161; заявл. 25.06.2014; опубл. 25.02.15, Бюл. № 4.
7. Пат. 110759 Україна, МПК С12/Q 1/68 (2006.01), С12/Q 1/04 (2006.01), С12/N 15/11 (2006.01), С12/R 1/90 (2006.01). Спосіб визначення присутності *Pentatrichomonas hominis* у досліджуваному зразку та набір праймерів для його здійснення / Федорич П.В., Зелений С.Б. — заявники та патентовласники. — а201501255; заявл. 16.02.2015; опубл. 10.02.16, Бюл. № 3.
8. Перламутров Ю.Н., Чернова Н.И. Эффективность применения «Макмирора» у больных с рецидивирующим мочеполовым трихомониазом // Укр. журн. дерматол., венерол., косметол. — 2014. — N 1(52). — С. 102–104.
9. Степаненко В.І., Коновалова Т.С. Урогенітальні інфекції: трихомоніаз, кандидоз, генітальний герпес. — К.: КИМ, 2008. — 288 с.
10. Туркевич О.Ю. Деякі питання етіопатогенетичного обґрунтування комплексного лікування бактеріального вагінозу // Укр. журн. дерматол., венерол., косметол. — 2010. — № 1 (36). — С. 92–96.
11. Федорич П.В., Зелений С.Б. Трихомоніаз. Явлення існування *Trichomonas tenax* в мочеполовой системе человека // Уральский мед. журн. — 2014. — № 1 (115). — С. 93–97.
12. Федорич П.В., Зелений С.Б. Трихомоніаз. Явлення існування *Trichomonas hominis* в мочеполовой системе человека // Мед. панорама. — № 1 (145). — 2014. — С. 59–61.
13. Kurnatowska A.J., Dudko A., Turkowicz M. Invasion of *Trichomonas tenax* in patients with periodontal diseases // Wiad Parazytol. — 2004. — Vol. 50 (1). — P. 35–40. PMID. — 16892603.
14. Schwebke J.R., Burgess D. Trichomoniasis // Clin. Microbiol. Reviews. — 2004. — Vol. 17 (4). — P. 794–803.
15. Stoliarenko A.I., Ponomarev A.P. Trichomonal right-sided salpingitis and peritonitis simulating acute appendicitis in a 6-year-old girl // Vestn. Khir. Im. I.I. Grek. — 1978. — Vol. 121. — P. 79.
16. Szreter H., Kassner J., Michalczak J. Phagocytosis of *Streptococcus faecalis* by *Trichomonas vaginalis*. Electron microscopy studies // Wiad. Parazytol. — 1987. — Vol. 33. — P. 643–647.

П.В. Федорич¹, С.Б. Зелений², О.А. Садовская³, К.В. Дудикова¹

¹ Українська військово-медична академія, Київ

² ООО «ХЕЛИКОН», Київ

³ Кожно-венерологический диспансер № 1, Київ

Сравнение эффективности диагностики трихомониаза культуральным методом и методом полимеразной цепной реакции с использованием праймеров для обнаружения *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax* и *Pentatrichomonas hominis*

Цель работы — определение и оценка результатов выявления трихомонад в мочеполовой системе пациентов с воспалительными процессами в мочеполовых органах при помощи культуральной диагностики, в частности посевов на специальную питательную среду «СВТ», по сравнению с методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР РВ) с использованием праймеров для обнаружения *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax* и *Pentatrichomonas hominis*.

Материалы и методы. При помощи методов ПЦР РВ и посевов на специальную питательную среду «СВТ» было проведено исследование биологического материала, взятого из мочеполовых органов 97 пациентов в процессе обследования на урогенитальные инфекции в Кожно-венерологическом диспансере № 1 г. Киева.

Результаты и обсуждение. При помощи посевов на специальную питательную среду «СВТ» *Trichomonas vaginalis* было выявлено у 15 (15,5 %) из 97 пациентов. При исследовании по методу ПЦР РВ этот возбудитель диагностирован только у 6 (6,2 %) пациентов. Однако проведение ПЦР РВ с использованием праймеров для обнаружения *Trichomonas tenax* и *Pentatrichomonas hominis* позволило диагностировать у 9 (9,3 %) пациентов *Trichomonas tenax* и у 12 (12,4 %) — *Pentatrichomonas hominis*.

Выводы. Одновременное использование праймеров для обнаружения *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax* и *Pentatrichomonas hominis* дает возможность более эффективно (27,9 %) выявить трихомонады в мочеполовой систе-

ме пацієнтів при допомозі метода ПЦР РВ, чем культурального, в частности посевов на среду «СВТ» (15,5 %). При діагностуванні трихомоніаза при допомозі культурального метода в більшості випадків *Trichomonas tenax* и *Pentatrichomonas hominis* ошибочно определяються як *Trichomonas vaginalis*. Высокий уровень виявлення *Trichomonas tenax* и *Pentatrichomonas hominis* в мочеполовой системі пацієнтів свідельствує о зросленні значення «альтернативних» сексуальних контактів, в частности орального и анального секса, при відсутності захисти бар'єрними засобами контрацепції, в виникненні и/или теченні воспалительних процесів мочеполовой системі.

Ключевые слова: *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax* и *Pentatrichomonas hominis*, полимеразная цепная реакция, реальное время, посе́вы, специальная питательная среда «СВТ».

P.V. Fedorych¹, S.B. Zeleny², O.A. Sadovska³, K.V. Dudikova¹

¹ Ukrainian Military Medical Academy, Kyiv

² Ltd. «HELICON», Kyiv

³ Dermatovenerologic Dispensary N 1, Kyiv

Comparison of effectiveness of trichomoniasis diagnosis by cultural method and polymerase chain reaction method with the use of primers for the detection of *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis*

Objective – to determine and evaluate the results of detecting *Trichomonas* in the urogenital system of patients with inflammatory processes of the urogenital organs using culture diagnosis (cultivation on special nutritious «SVT» medium) as compared with the method of polymerase chain reaction in real time (PCR RT) with the use of primers for the detection of *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax* и *Pentatrichomonas hominis*.

Materials and methods. Using the methods of polymerase chain reaction in real time and seeding on special nutritious «SVT» medium we investigated the biological material taken from genitals of 97 patients who were examined for urogenital infections at Dermatovenerologic Dispensary N 1, Kyiv.

Results and discussion. Using the method of seeding on the special nutritious «SVT» medium, *Trichomonas vaginalis* was found in 15 (15.5 %) of 97 patients under observation. During the study by PCR RT method this activator was diagnosed only in 6 (6.2 %) persons. However, PCR RT with the use of primers for the detection of *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis* helped to diagnose *Trichomonas tenax* in 9 (9.3 %) patients and *Pentatrichomonas hominis* – in 12 (12.4 %) patients.

Conclusions. The simultaneous use of primers for the detection of *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis* allows making the diagnosing of trichomonad in urogenital system with the use of PCR RT method more effective (27.9 %) than with the use of the culture method – the seeding on special nutritious «SVT» medium (15.5 %). When diagnosing trichomoniasis with the use of culture method, in most cases *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis* are mistakenly identified as *Trichomonas vaginalis*. We established a high level of diagnosing *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis* in urogenital system of patients, which is the evidence of the growing value of the «alternative» sexual contacts, particularly of oral and anal sex unprotected by means of contraception in causing and/or progression of inflammatory processes of the urogenital tract.

Key words: *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax*, *Pentatrichomonas hominis*, method of polymerase chain reaction, real time, seeding, special nutritious «SVT» medium.

Дані про авторів:

Федорич Павло Володимирович, доц. навч. курсу дерматології та венерології, проф. кафедри військової загальної практики – сімейної медицини Української військово-медичної академії

04655, м. Київ, вул. Мельникова, 24

Тел. (067) 220-45-52. У-mail: pvf9@meta.ua

Зелений Сергій Борисович, молекулярний біолог ООО «Хелікон»

Садовська Ольга Адольфівна, зав. бактеріологічної лабораторії Шкірно-венерологічного диспансеру № 1 м. Києва

Дудікова Катерина Володимирівна, магістр курсу дерматології та венерології кафедри військової загальної практики – сімейної медицини Української військово-медичної академії