

Молекулярно-біологічний та культуральний контроль ефективності лікування трихомоніазу

П.М. Клименко, І. Махамад Лукман

Кримський державний медичний університет ім. В.І. Георгієвського, м. Сімферополь

Проведене оцінювання молекулярно-біологічного та культурального контролю ефективності терапії хронічного трихомоніазу. Отримані позитивні результати.

Ключові слова: хронічний трихомоніаз, лікування, молекулярно-біологічний контроль.

Питання діагностики та лікування рецидивного урогенітального трихомоніазу (УГТ) є одним з найактуальніших і дуже складних моментів сучасної урології [1]. Це спричинює порушення фертильності у чоловіків [2,3] та зумовлює соціально-економічне значення проблеми і потребує активного пошуку шляхів її вирішення [4].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В урологічній клініці Кримського державного медуніверситету за період 2009–2012 рр. на лікуванні перебували 149 осіб чоловічої статі з верифікованим УГТ. З них у 127 діагностовано хронічний простатовезикуліт (ХПВ), а у 22 – доброякісну гіперплазію передміхурової залози (ДГПЗ) з наявністю ХПВ. Вік обстежених коливався від 21,3 до 63,7 року. Середній вік осіб із ХПВ складав $28,7 \pm 4,5$ року, а осіб із ДГПЗ – $58,2 \pm 2,3\%$ року.

Анамнез захворювання на трихомонадну інфекцію (ТІ) встановлювали методом аналізу медичної документації та інформації, що надає хворий, у 91 особи (74,5%). В інших випадках УГТ був встановлений інцидентально, за ознаками дебюту основного захворювання чоловічого генітального тракту.

Усіх досліджуваних з ознаками ТІ було поділено на групи, а саме:

I група – 18 (14,7%) хворих із клінічними ознаками гострого простатовезикуліту, що отримували лікування за класичними схемами;

II група – 42 (34,5%) хворих із клінічною картиною загострення ХПВ, що отримували лікування за класичними схемами;

III група – 40 (32,8%) хворих із клінічною картиною ХПВ в стані ремісії, що отримували лікування за класичними методиками із додаванням ректального іонофорезу орнідазолу в поєднанні з ультразвуком;

IV група – 22 (18,0%) хворих із ознаками ДГПЗ з наявністю ХПВ, що отримували лікування за класичними схемами;

V групу (контрольну) склали 27 хворих з верифікованим ХПВ на тлі ознак ТІ, що отримували класичне лікування метронідазолом.

Усі хворі надали добровільну усвідомлену інформовану згоду на участь у клінічному дослідженні і були ознайомлені із можливими ризиками лікування та аспектами стосунків із статевими партнерами.

Методика лікування

Проведення комплексного лікування в основних групах складалося з фармакологічної корекції, фізіотерапії та місцевої терапії.

Фармакотерапія полягала в призначенні антибіотика імідазолу ряду (орнідазол 500 мг per os, двічі на добу

після їди – після обіду та вечері), супутньої корекції мікроценозу статевих шляхів (флуконазол, фторхінолони, макроліди та інш.), заходів імунокорекції (пірогенал), неспецифічної протизапальної терапії (диклофенак, мелоксикам), органотрофіків (сампрост, простатилен, препарати цинку та селену), гепатопротекторів.

I, II, IV, V групи пацієнтів отримували лікування за класичними схемами. III група хворих отримувала лікування за класичними схемами із додавання ректального іонофорезу орнідазолу в поєднанні з ультразвуком.

Фізіотерапія була представлена лікувальною дією на структури простатовезикулярного комплексу, за допомогою впливу фізичних факторів ультразвуку та спрямованого органотропного внутрішньоректального іонофорезу (ВРІФ) препарату імідазолу ряду (орнідазол).

В основі лікувального ефекту спрямованого («внутрішньо-органного») іонофорезу орнідазолу є комбінація феномену електроемісії лікарської субстанції, створення депо препарату, з поєднанням протинабрякового і дренажного ефекту ультразвуку на структури передміхурової залози (ПЗ) і везикул.

Неінвазивне та швидке створення високої концентрації антитрихомонадного засобу в ПЗ (так зване депо), значно прискорює не тільки елімінацію збудника, а й має прямий протизапальний ефект.

Методика полягала у проведенні хворому масажу ПЗ протягом 1 хв, з подальшим переміщенням на гінекологічне крісло. Апарат для ректального іонофорезу «Стержень 2» вмикали контролюючи заземлення. Потім електрод у вигляді стержня, що має шахту для розміщення в ній трубки від крапельниці та джерело ультразвуку, вводили ректально на глибину до 5–8 см. Вмикали стандартний режим 1, через трубку з крапельниці надходила тепла (температура $33-35^{\circ}\text{C}$) суміш розчину орнідазолу (500 мг–100 мл) та диметилсульфоксиду (ДМСО 1:5; 15 мл). Тривалість процедури 10–15 хв. Курс лікування – 10 процедур, 1 раз на добу вранці. Поряд із цим хворий отримував 500 мг орнідазолу вдень і ввечері per os після їди.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати ПЛР-тесту в матеріалі зі статевих та еякуляті після лікування

За умов певних особливостей визначення ДНК-матеріалу протягом лікування, ПЛР-тести на ТІ проводили на 45-ту та 90-ту добу після закінчення лікування. Результати ПЛР-аналізу на 30-ту добу, за умов можливого відходження ДНК (РНК)-фрагментів трихомонад, не вважали остаточними. Інші наведені терміни гарантували менший відсоток хибнопозитивних відповідей.

За даними ПЛР-аналізу встановлено наявність ТІ у сечівнику до лікування в 33,3%, 26,2%, 7,5%, 4,5% та 7,4% відповідно в осіб I–V груп (мал. 1).

Після лікування кількість трихомонад у сечівнику повільно зменшувалося на 45-ту добу (11,1%, 4,7%, 2,5%, 0% та

7,4% позитивних відповідей відповідно, при $p < 0,05$), а на 90-ту добу позитивні дані відносно ТІ відзначали лише у 3,7% осіб з V групи (у інших ДНК-матеріал трихомонад не виявлено).

Через особливо сприятливі фізико-хімічні умови найбільш перспективними до ДНК-тестування вважали секрет ПЗ та еякулят.

Так, до лікування в секреті ПЗ у осіб I–V груп ПЛР-ознаки ТІ відзначали у 22,2%, 33,3%, 22,5%, 9,0% та 18,5% випадків відповідно. Через 45 дів після закінчення лікування ДНК-ознаки ТІ було встановлено в I групі у 5,5%, в II – 2,3%, в III – 7,5%, в IV – 9,0% та в V групі – у 7,4% обстежених осіб (при $p < 0,01$). Результати, що наведені на мал. 2, свідчать про низький відсоток позитивних ПЛР-відповідей на 90-у добу. Так, в перших 3 групах ПЛР-ознаки були відсутніми, а IV та V групах позитивна відповідь була в 1 хворого (4,5% та 3,7% відповідно) (мал. 2).

Порівняльний аналіз ПЛР-верифікації трихомонад в еякуляті свідчив про певні труднощі інтерпретації даних тестів і досить велику залежність його результатів від отримання якісного матеріалу.

За даними, що були отримані до лікування, еякулят хворих містив ДНК-матеріал трихомонад у I групі у 38,8% осіб, в II – у 26,2%, в III – у 20,0%, в IV – в 18,8% та в V групі – у 11,1% випадків (мал. 3). У контрольних тестах, проведених на 45-ту добу в перших групах тест був негативним, а в IV та V групах у 4,5% та 3,7% відповідно був позитивним стосовно трихомонад ($p < 0,01$).

При узагальненні даних ПЛР-тестування на ТІ протягом лікування було відзначено статистично вірогідну тенденцію зменшення кількості позитивних відповідей при ДНК-діагностиці (секрет ПЗ та еякулят) у осіб I, II та III груп, що є особливо показовим у дослідженні, що було проведено на 90-у добу після закінчення лікування (мал. 4).

Стан мікробного пейзажу в секреті ПЗ та еякуляті протягом лікування значно покращувався, що полягало у зменшенні кількості ПЛР-позитивних відповідей при порівнянні із даними до лікування. Утворення мікст-асоціацій трихомонад з іншими представниками мікроценозу чоловічих статевих органів, в контролі на 90-ту добу було вірогідно меншим, що демонструвало позитивну кореляцію з інтенсифікацією етіопатогенетичної терапії ТІ (мал. 5).

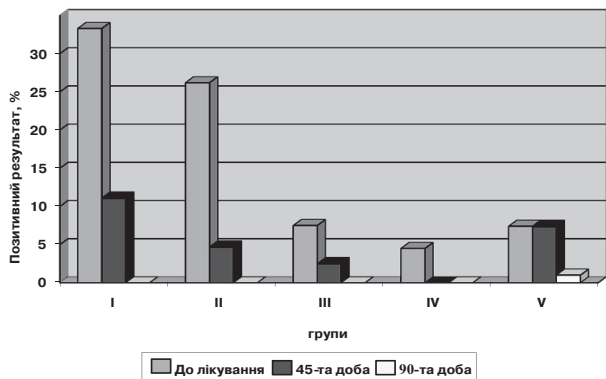
Протягом спостережень, відносно ПЛР-технологій, що використовували для ідентифікації ТІ, на нашу думку, є деякі особливості їхньої інтерпретації, а саме:

- досить низка специфічність методу ПЛР у виявленні трихомонад;
- невисока чутливість методу ПЛР при визначенні ТІ;
- певна залежність виявлення ТІ методом ДНК-гібридизації від стану запального процесу;
- необхідність застосовувати методи штучного медикаментозного загострення запального процесу.

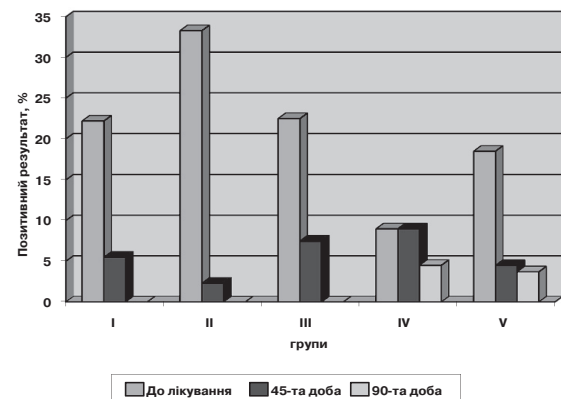
Таким чином, при визначенні наявного результату запропонованого методу лікування ТІ за допомогою ПЛР-тестів було встановлено певну роль даного методу лікування у елімінації трихомонад. Ізольоване використання ПЛР-методу не дає можливості 100% визначення ТІ, тому останній слід поєднувати з іншими діагностичними технологіями.

Результати мікробіологічного дослідження секрету ПЗ та еякуляту після лікування

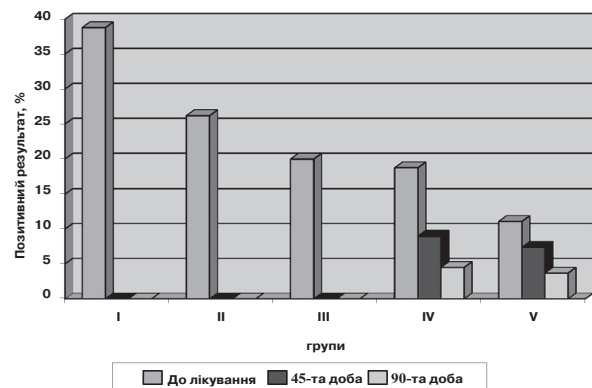
За аналогією із термінами при ПЛР-тестуванні культурально дослідження ТІ після лікування проводили на 45-ту та 90-ту добу після закінчення терапії. Метою лікування, крім клінічного одужання, була також повна елімінація трихомонад, тому в усіх випадках хворим проводили засів матеріалу з секрету ПЗ та еякуляту на класичні середовища Джонсона–Трасселя, за наведеною вище модифікацією.



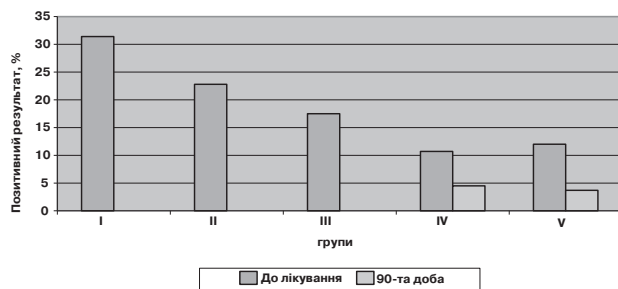
Мал. 1. Порівняльна характеристика даних ПЛР з сечівника протягом дослідження



Мал. 2. Порівняльна характеристика даних ПЛР з секрету ПЗ протягом дослідження



Мал. 3. Порівняльна характеристика даних ПЛР з еякуляту протягом дослідження



Мал. 4. Стан мікробного пейзажу (мікст-асоціації з ТІ) протягом лікування

Контрольні результати культурального дослідження секрету ПЗ було порівняно з даними до лікування (табл. 1), при цьому однією з умов отримання вірогідних даних було 100% проведення піропровокації в термінах 45-ї та 90-ї діб після закінчення лікування.

При співставленні даних культурального та ПЛР-досліджень у зазначені терміни було встановлено, що вони мають дещо різний результат. Так, у деяких випадках із негативним ПЛР-тестом після лікування культуральний метод встановлював наявність ТІ. Рівень хибних ПЛР-негативних випадків склався в I, II та III групах 100-відсотковий показник, в IV – у 77,7%, в V групі – у 87,5% (при $p < 0,01$), що характеризувало метод ДНК-гібридизації (мал. 6), як не зовсім придатний та вірогідний щодо виключення трихомонад.

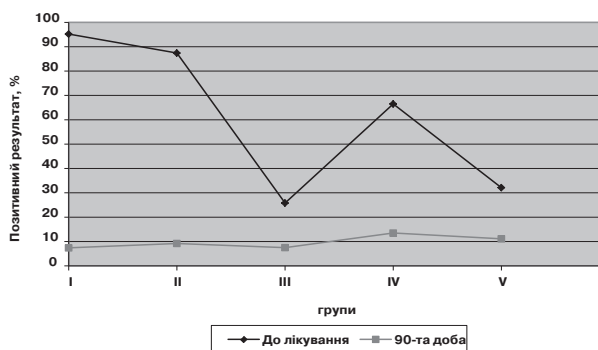
Також було проведено співставлення залежності виділення трихомонад на мікробіологічних середовищах із розвитком класичної пірогенної реакції. Найбільш виражена пірогенна реакція виникала в осіб III ($66,6 \pm 2,3\%$, $p < 0,01$) та IV ($63,6 \pm 2,1\%$, $p < 0,01$) груп, де встановлено позитивну кореляцію між культуральним виділенням ТІ та максимальними цифрами підвищення температури тіла ($p < 0,01$). Найменшою вираженістю характеризувалася температурна реакція в II та V групах, де хронічний процес знаходився у стані загострення ($p < 0,05$).

При порівнянні динаміки розвитку клінічних ефектів та елімінації трихомонад було встановлено, що у осіб I групи, за умов швидкого клінічного одужання усіх хворих, в 1 випадку (5,5%) ТІ ліквідовано не було і вона через відсутність хронізації запалення набула стану носійства.

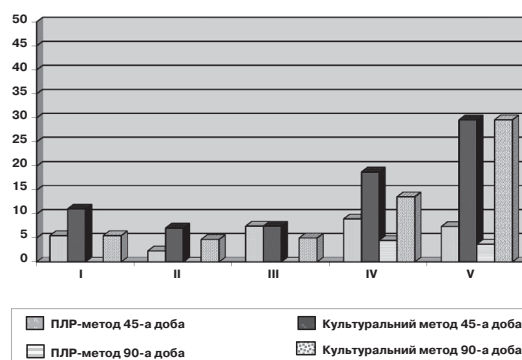
У II групі, за умов отримання колоній ТІ в секреті ПЗ 7,1% та 4,2% у відповідні терміни, наявність інфекції реєстрували за найбільшим показником, а зменшення відсотка культуральних ознак ТІ зумовлювали слабкою реактивністю вегетативних форм трихомонад, неналежним взяттям матеріалу та різними іншими факторами. Аналогічний підхід до результатів в III групі (7,5% та 5,0% у відповідні терміни) також встановлював розбіжності між позитивною клінічною динамікою в усіх осіб та певним відсотком рецидиву ТІ за культуральними даними.

Найбільш суперечливі дані отримано у осіб IV групи, де в секреті ПЗ та в еякуляті встановлено однакові дані в ті самі терміни. Так, на 45-ту добу ознаки ТІ визначено в секреті ПЗ у 4, а в еякуляті – у 3 осіб. При обстеженні на 90-ту добу в секреті ПЗ трихомонади виявлено у 3 (13,6%), а в еякуляті – 4 (18,8%) випадках. Ці дані свідчать про неможливість повної елімінації збудника за умов обструктивного гіперпластичного процесу в ПЗ класичними методами.

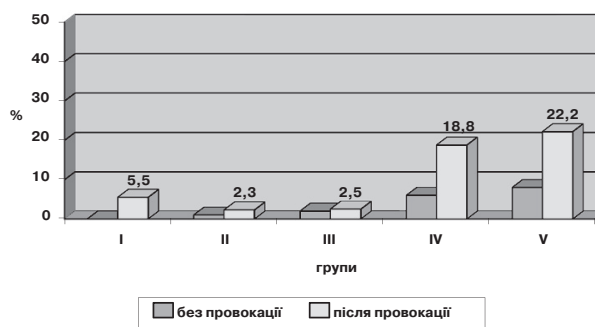
У V групі, де лікування проводили класичними методами, було отримано великий відсоток рецидиву ТІ. У секреті ПЗ на 45-ту та 90-ту добу визначено трихомонади у



Мал. 5. Динаміка зменшення мікст-асоціацій (секрет ПЗ+еякулят) у хворих протягом лікування



Мал. 6. Відсоток позитивних результатів за даними на 90-ту добу після закінчення лікування



Мал. 7. Культуральне дослідження еякуляту на середовищі Джонсона-Трасселя на 90-ту добу (n=149)

Таблиця 1

Результати дослідження секрету ПЗ на середовищі Джонсона-Трасселя після лікування (n=149)

Групи	Наявність росту <i>Trichomonas vaginalis</i> із провокаційними тестами				M±m
	Секрет ПЗ		Еякулят		
	45-та доба	90-та доба	45-та доба	90-та доба	
I (n=18)	11,1% (2)	5,5% (1)	11,1% (2)	5,5% (1)	p<0,05
II (n=42)	7,1% (3)	4,7% (2)	7,1% (3)	2,38% (1)	p<0,05
III (n=40)	7,5% (3)	5,0% (2)	7,5% (3)	2,5% (1)	p<0,05
IV (n=22)	18,8% (4)	13,6% (3)	13,6% (3)	18,8% (4)	p<0,05
V (n=27)	29,6% (8)	29,6% (8)	25,9% (7)	22,2% (6)	p<0,05

Примітка: * – після внутрішньом'язового введення пірогеналу 3–5–7–10–15 мкг послідовно.

Щільність колоній на середовищі Джонсона–Трасселя на 90-ту добу (еякулят, n=149)

Групи	Наявність росту <i>Trichomonas vaginalis</i> без провокаційних тестів	Контроль 1 (щільність на середовищі)	Контроль 2 (титр в КУО/1 мл)	M±m
I (n=18)	5,5% (n=1)	+---	10 ³	p<0,05
II (n=42)	2,38% (n=1)	+---	10 ⁴	p<0,05
III (n=40)	2,5% (n=1)	+---	10 ³	p<0,05
IV (n=22)	18,8% (n=4)	+---	10 ⁴	p<0,01
V (n=27)	22,2% (n=6)	+---	10 ⁴	p<0,01

8 (29,6%) осіб в обох випадках, а в еякуляті – у 7 (25,9%) та 6 (22,2%) відповідно до термінів (p<0,01). Така негативна динаміка була закономірною, бо, за даними різних авторів, сучасна терапія УГТ не є досить потужною, а за відсутності загострення є мало шансів до повної елімінації ТІ.

Як і до лікування, пірогеналова стимуляція надавала значно більших можливостей у верифікації ТІ, що добре видно на мал. 7.

Таким чином, культуральне дослідження ставало вирішальним в діагностиці рецидивів УГТ, при цьому найбільш позитивні зміни відбувалися в осіб із менш ускладненим процесом (II та III групи) або інфікованість УГТ не мала хронічного перебігу (I група). На відміну від них, існування трихомонадного ураження за умов ретенційно-гіперпластичного процесу (IV група) характеризувалося стійким рецидивним характером, без чіткої динаміки до елімінації ТІ за мікробіологічними даними. Аналогічну тенденцію було виявлено в осіб в V групі, де терапію проводили без стимуляції імунної ланки (пірогеналотерпія). Результати культурального дослідження на селективних середовищах у осіб IV та V груп мали позитивну кореляцію із даними інших методів (цитологічного та ПЛР). Разом із цим спостерігалася

позитивна кореляція існування лейкоцитарної реакції в цитологічному матеріалі.

При аналізі титру колоній трихомонад на 90-ту добу найбільша їхня щільність визначалася у осіб IV та V груп (табл. 2). Складності лікування у даному разі окреслювалися поліморфним комплексом причин (стан процесу, вірулентність ТІ, особливості імунітету, умови існування збудника та ін.), визначити які часто не було можливості.

Таким чином, діагностика УГТ культуральним методом ставала заключним етапом контролю виживності, а отримання чистої культури *Trichomonas vaginalis* у наведених випадках свідчило про недостатню ефективність наданого лікування.

ВИСНОВКИ

Використання методики ВРІФ при лікуванні УГТ, поєднаного з хронічним простатовезикулітом, за даними культурального дослідження, характеризувалося ефективністю в елімінації збудника, при порівнянні із даними класичної терапії випадків уrogenітального трихомоніаза за умов хронічного простатовезикуліту та доброякісної гіперплазії передміхурової залози.

Молекулярно-біологічний і культуральний контроль ефективності і лікування трихомоніаза П.М. Клименко, І. Махамад Лукман

Проведена оцінка молекулярно-біологічного і культурального контролю ефективності терапії хронічного трихомоніаза. Отримані позитивні результати.

Ключевые слова: хронічний трихомоніоз, лікування, молекулярно-біологічний контроль.

Molecular-biological and cultural control of the efficiency of treatment trichomoniasis P.M. Klimentko, I. Makhamad Lukman

The assessment of molecular-biological and cultural control of efficiency of therapy of a chronic trichomoniasis is carried out. Positive results are received.

Key words: chronic trichomoniasis, treatment, molecular-biological control.

Сведения об авторах

Клименко Петр Михайлович – Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского, 95006, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7; тел.: (0652) 254-71

Лукман И. Махамад – Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского, 95006, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Тиктинский О.Л., Михайличенко В.В. Андрология. – Спб.: Медиа Пресс, 1999. – 464 с.
2. Копылов В.М., Бокарев Е.Г., Говорун В.М. и соавт. Урогенитальный

- трихомоніаз: актуальні питання діагностики і лікування (посібник для лікарів). – М., 2001. – 40 с.
3. Мавров Г.И., Никитенко И.Н., Чирнов Г.П., Унучко С.В., Кочетова Н.В.

- Современное состояние проблемы урогенитального трихомоніаза// Дерматол. та венерол., 2006. – № 4 (34). – С. 3–9.
4. Girman C.J., Jakobsen S.J.,

- Guess H.A. et al.: Natural history of prostatism: relationship among symptoms, prostate volume and peak urinary flow // J. Urol., 1995. – Vol. 153. – P. 1510–1515.

Статья поступила в редакцию 16.12.2013