

Трихомониаз. Выявление *Trichomonas tenax* и *Pentatrichomonas hominis* в мочеполовой системе женщин репродуктивного возраста, больных инфекциями, передающимися преимущественно половым путем

П.В. Федорич¹, С.Б. Зеленый²

¹Украинская военно-медицинская академия, г. Киев

²ООО «ХЕЛИКОН», г. Киев

При исследовании секретов мочеполовой системы больных инфекциями, передающимися преимущественно половым путем, с помощью методов оптической микроскопии и полимеразной цепной реакции (ПЦР) одновременно в ряде случаев было обнаружено присутствие простейших, которые не являются *Trichomonas vaginalis*. Целью исследования было выявление *Trichomonas tenax* и *Pentatrichomonas hominis* в мочеполовой системе женщин репродуктивного возраста, больных инфекциями, передающимися преимущественно половым путем, с помощью ПЦР в реальном времени.

Trichomonas tenax обнаружено у 13 (43,3%), а *Pentatrichomonas hominis* – у 5 (16,7%) из 30 обследованных пациенток. Продемонстрирована возможность существования *Trichomonas tenax* и *Pentatrichomonas hominis* в мочеполовой системе женщин репродуктивного возраста, больных инфекциями, передающимися преимущественно половым путем.

Ключевые слова: *Trichomonas tenax*, *Pentatrichomonas hominis*, полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени, мочеполовая система, женщины репродуктивного возраста.

Конфликт интересов Не декларируется.

Трихомониаз – заболевание мочеполовой системы, которое вызывается простейшим одноклеточным паразитом *Trichomonas vaginalis* (*T. vaginalis*). Заболевание передается половым путем, но в отдельных случаях заражение может происходить через контаминированные поверхности [1]. В современном мире заболевание трихомониазом ежегодно диагностируется приблизительно в 170 млн случаев [9]. Эта болезнь не имеет сезонного характера, способна поражать все слои населения. Заболеваемость трихомониазом мужчин и женщин в Украине приблизительно одинакова и составляет около 4–10% среди взрослого населения [5]. У лиц, обращающихся в специализированные дерматовенерологические заведения по поводу инфекций, передающихся преимущественно половым путем (ИППП), *T. vaginalis* выявляют в 10–40% случаев [11], хотя при этом необходимо учитывать, что в специализированные учреждения обращаются пациенты, у которых действительно возникли проблемы со здоровьем.

T. vaginalis в подавляющем большинстве клинических случаев является причиной специфического воспаления различных отделов мочеполовой системы человека. Однако возможны варианты носительства, в том числе транзитного [11]. Распространение *T. vaginalis* в организме хо-

зяина происходит восходящим путем, а также лимфогенно [10]. Патогенность этого возбудителя для человека не ограничивается только специфическим воспалением, возможны различные ее проявления, в частности, доказана роль *T. vaginalis* в формировании патогенных микробиоценозов, в том числе бактериального вагиноза у женщин, в снижении показателей иммунной системы, развития гиперпластических процессов в органах мочеполовой системы как женщин, так и мужчин [7, 15, 19]. Отдельного внимания, на наш взгляд, заслуживает способность *T. vaginalis* к поглощению и сохранению в себе различных патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в результате их неполного фагоцитоза (резервуарная функция) [2, 21]. Это может предопределять возможность длительной персистенции микробных агентов у больных трихомониазом и позволяет найти объяснение неудачным попыткам элиминации определенных возбудителей ИППП из организма человека-хозяина при применении для этого адекватного специфического лечения [11].

В организме человека могут существовать три вида трихомонад: *Trichomonas tenax* (*elongata*), *Pentatrichomonas hominis* (*abdominalis*), *Trichomonas vaginalis*. В ротовой полости в кариозных зубах существует *Trichomonas tenax* (*T. tenax*) [16]. *Pentatrichomonas hominis* (*T. hominis*) – комменсал толстой кишки [25]. Трихомонадой, способной жить в урогенитальном тракте на современном этапе, названа исключительно *T. vaginalis*. Считается, что *T. tenax* и *T. hominis* не могут существовать в мочеполовой системе, а *T. vaginalis* в свою очередь не может существовать в ротовой полости и прямой кишке человека. Выявление в урогенитальном тракте других трихомонад, способных жить в организме человека (не *T. vaginalis*), в настоящее время принято рассматривать как контаминацию во время забора материала [13]. Поэтому оральный и анальный секс на современном этапе развития медицинской науки не рассматривают как потенциальную возможность инфицирования мочеполовой системы трихомонадами [4].

Несмотря на интенсивность изучения вопроса, до настоящего времени продолжают существовать некоторые трудности относительно диагностики трихомониаза, в частности при использовании метода оптической микроскопии, являющегося наиболее распространенным. Известно, что так называемые атипичные формы *T. vaginalis* имеют определенное внешнее сходство с другими представителями простейших [12], в первую очередь, с *T. tenax* и *T. hominis* (рисунок).

В процессе изучения результатов диагностики трихомониаза мочеполовой системы человека с одновременным использованием для этого разных диагностических методов, нами было установлено наличие достаточно большого количества несоответствий. Так, при одновременном использовании оптической микроскопии и полимеразной цепной реакции (ПЦР) для выявления *T. vaginalis* в работе с биологическим материалом, взятом у одних и тех же пациентов в одно и то же время, у части обследованных результаты диагностики трихомониаза существенно отличались. Причем, вопреки нашим ожиданиям, методика оптической микроскопии оказалась более «результативной», чем ПЦР. Ввиду большей специфичности метода ПЦР по сравнению с методом оптической микроскопии, нами было сделано предположение относительно возможности существования в мочеполовой системе человека других трихомонад.

Предположения относительно возможности существования в мочеполовой системе человека других простейших (не *T. vaginalis*) периодически возникали в последние десятилетия. В настоящее время доказана возможность существования в мочеполовой системе человека *Giardia lamblia* и *Entamoeba histolytica* [10]. В то же время, выявить *T. tenax* или *T. hominis* в урогенитальном тракте не удавалось, кроме единичных случаев, когда позитивный результат расценивался как контаминация [13, 16].

На протяжении нескольких десятилетий произошло существенное изменение стереотипа сексуального поведения современного человека. В частности, увеличилась практика орального и анального секса [10, 17]. Одновременно с этим, как известно, в результате патоморфоза изменилась патогенность некоторых микроорганизмов, способных существовать в мочеполовой системе человека (микоплазмы, гарднереллы) [1]. Некоторые простейшие, по нашему мнению, также могли подвергнуться определенному патоморфозу и приобрести способность существовать в мочеполовой системе человека. На наш взгляд, такую способность могли приобрести *T. tenax* и *T. hominis*. Эти возбудители, как описано в литературе, на современном этапе приобрели способность к существованию в различных отделах респираторной и пищеварительной систем человека соответственно и были выявлены в ряде случаев при их воспалениях [14, 18, 20].

Цель исследования: выявление *Trichomonas tenax* и *Pentatrichomonas hominis* в мочеполовой системе женщин репродуктивного возраста, больных инфекциями, передающимися преимущественно половым путем.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В г. Киеве (Украина) в 2012–2013 гг. было проведено специальное исследование, направленное на выявление *T. tenax* и *T. hominis* в группе женщин репродуктивного возраста, обра-

тившихся для обследования на ИППП. Для чистоты эксперимента в опытную группу мы отобрали только тех пациенток, у которых при помощи классического варианта метода ПЦР была исключена возможность инфицирования *T. vaginalis*.

В опытную группу, составившую 30 человек, были включены пациентки репродуктивного возраста (средний возраст составил $32 \pm 2,5$ года). У всех обследованных пациенток было установлено хроническое течение урогенитальной инфекции. Каждая из них подписала информированное согласие на проведение соответствующего исследования.

Для идентификации *T. tenax* и *T. hominis* в исследуемом биологическом материале использовали методику ПЦР в реальном времени как наиболее специфическую и чувствительную из современных методик определения микроорганизмов [3, 8]. Нами использовался амплификатор ДТ-96 производства НПО «ДНК Технологии» (Российская Федерация). Взятие биологического материала для исследования на наличие урогенитальных инфекций осуществляли в соответствии с действующими в Украине нормативными документами для врачей-дерматовенерологов [8]. У женщин выполняли забор влагалищных выделений, а также соскобы из мочеиспускательного канала и канала шейки матки. Опытные образцы в пробирках «Еппендорф», которые содержали 500 мкл специального реактива для предварительной обработки и хранения биологического материала для проведения ПЦР «Проба Рапид» производства НПО «ДНК Технологии» (Российская Федерация), после регистрации хранили в замороженном виде (температура -16°C) до проведения соответствующего исследования.

Поскольку *T. tenax* и *T. hominis* не являются облигатными патогенами для человека, в массовом использовании отсутствуют диагностикумы для выявления этих микроорганизмов. Поэтому нами использовались экспериментальные авторские диагностикумы, которые были созданы специально для проведения этого исследования. Праймеры для выявления ДНК-последовательностей, специфических для *T. tenax* или *T. hominis*, подбирали при помощи программы «Vector NTI». Использовали последовательности нуклеиновых кислот, которые были получены из базы данных «GenBank» [23]. Минимальная длина праймеров составляла 24 ± 3 остатка нуклеотидов. На 3'-конце праймеры содержали гуаниновый или цитидиновый нуклеотиды. Количество GC-пар в праймерах задавали таким образом, чтобы температура отжига была одинаковой для двух праймеров пары и находилась в пределах от 59° до 64°C . Для проверки уникальности праймеров использовали онлайн программа [24]. Для теоретической проверки продуктов ПЦР с помощью подобранных праймеров использовали соответствующий пакет программ базы данных университета г. Беркли (США) [22].

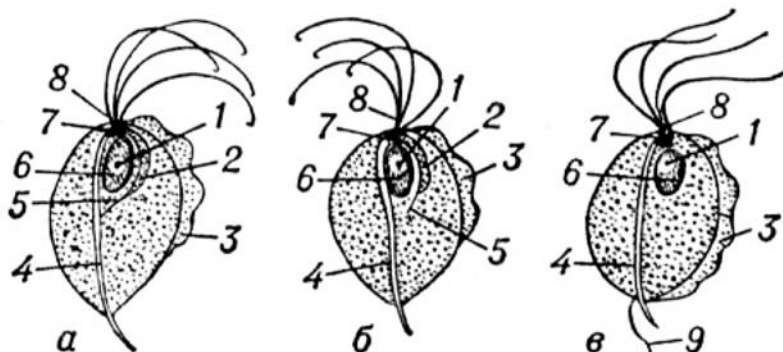


Рис. 1. Трихомонады: а – *T. vaginalis*; б – *T. tenax*; в – *T. hominis*.

1 – ядрышко; 2 – парабазальный аппарат; 3 – ундулирующая мембрана; 4 – аксостиль; 5 – парабазальная нить; 6 – ядро; 7 – блефаропласт; 8 – передние жгутики; 9 – конечный жгутик [6]

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нами были получены следующие результаты: *T. tenax* обнаружено у 13 (43,3%), а *T. hominis* – у 5 (16,7%) из 30 пациенток. Анализируя полученный результат, мы приходим к осознанию того, что более половины женщин репродуктивного возраста, обратившихся для обследования на ИППП, имели в составе микробиоты мочеполовой системы одну из двух трихомонад, способных жить в организме человека, которые до настоящего времени считались не способными к существованию в мочеполовой системе. Таким образом, при помощи метода ПЦР в реальном времени – наиболее специфической и чувствительной из доступных в настоящее время диагностических методик, при исследовании секретов мочеполовой системы установлена возможность существования *T. hominis* и *T. tenax* в мочеполовой системе женщин репродуктивного возраста больных ИППП.

Следует еще раз отметить, что согласно проведенному нами изучению литературы по соответствующему вопросу попытки выявления *T. tenax* и *T. hominis* в мочеполовой системе человека были безрезультатными, или единичными, что давало основание расценивать их как контаминацию [15, 26]. Нами в результате проведенного исследования на достаточно большой группе пациентов (выявлено у 13 и 5 из 30 обследуемых пациенток соответственно) продемонстрирована способность существования *T. tenax* и *T. hominis* в мочеполовой системе женщин репродуктивного возраста. Что касается неудачных попыток выявления этих возбудителей в мочеполовой системе человека при проведении предыдущих – более ранних исследований других специалистов, мы можем предположить, что либо патоморфоз *T. tenax* и *T. hominis*, позволивший данным микроорганизмам приспособиться к жизни в урогенитальном тракте, произошел относительно недавно, либо использовавшиеся ранее способы диагностики или диагностикумы (температурный режим амплификации и используемые праймеры) не были оптимальными.

Высокая частота выявления *T. tenax* и *T. hominis* в мочеполовой системе женщин репродуктивного возраста, больных ИППП (60%), на наш взгляд, свидетельствует о перспективности рассмотрения этих микроорганизмов в качестве факторов возникновения и/или развития ИППП на современном этапе. Кроме того, полученные нами результаты косвенно подтверждают важность практики орального и анального секса (не защищенного барьерными средствами контрацепции) в возникновении и/или развитии ИППП.

Трихомоніаз. Виявлення *Trichomonas tenax* і *Pentatrichomonas hominis* в сечостатевої системі жінок репродуктивного віку, хворих на інфекції, що передаються переважно статевим шляхом
П.В. Федорич, С.В. Зелений

При дослідженні секретів сечостатевої системи хворих на інфекції, що передаються переважно статевим шляхом, за допомогою методів оптичної мікроскопії та полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) одночасно в низці випадків було виявлено присутність найпростіших, які не є *Trichomonas vaginalis*. Метою дослідження було виявлення *Trichomonas tenax* і *Pentatrichomonas hominis* в сечостатевої системі жінок репродуктивного віку, хворих на інфекції, що передаються переважно статевим шляхом, за допомогою ПЛР у реальному часі.

Trichomonas tenax виявлено у 13 (43,3%), а *Pentatrichomonas hominis* виявлено у 5 (16,7%) з 30 обстежених пацієнток. Продемонстровано можливість існування *Trichomonas tenax* і *Pentatrichomonas hominis* в сечостатевої системі жінок репродуктивного віку, хворих на інфекції, що передаються переважно статевим шляхом.

Ключові слова: *Trichomonas tenax*, *Pentatrichomonas hominis*, полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) в реальному часі, сечостатева система, жінки репродуктивного віку.

Представляет интерес, по нашему мнению, и тот факт, что у обследованных пациенток ни разу не были обнаружены *T. tenax* и *T. hominis* одновременно. Причем, отсутствие у них *Trichomonas vaginalis* было одним из условий включения в опытную группу. Опираясь на эти факты, можно сделать предположение, что в мочеполовой системе женщин репродуктивного возраста, больных ИППП, в один и тот же временной период может присутствовать только одна из трех трихомонад, способных находиться в организме человека.

Отвечая на вполне естественный вопрос врачей-клиницистов «в чем именно заключается патогенность *T. tenax* и/или *T. hominis*, для мочеполовой системы человека?», на нынешнем этапе исследования мы можем лишь делать предположения. Мы допускаем существование так называемой резервуарной функции у этих микроорганизмов по аналогии с *T. vaginalis*. Мы также допускаем возможность непосредственного патогенного действия *T. tenax* и *T. hominis* на слизистые оболочки урогенитального тракта человека, а также их участие в формировании патогенных микробиоценозов. Нельзя исключить и то, что *T. tenax* и *T. hominis* являются лишь транзитной микрофлорой в мочеполовой системе, попадающей туда в результате оральных или анальных контактов. Однако более точное определение актуальности выдвинутых нами предположений нуждается в дальнейшем глубоком и всестороннем изучении.

ВЫВОДЫ

При помощи метода полимеразной цепной реакции в реальном времени в биологическом материале, полученном от женщин репродуктивного возраста, больных инфекциями, передающимися преимущественно половым путем, *Trichomonas tenax* обнаружена у 13 (43,3%), а *Pentatrichomonas hominis* – у 5 (16,7%) из 30 пациенток. Сделаны предположения, о том, что существование *Trichomonas tenax* и *Pentatrichomonas hominis* в мочеполовой системе человека возможно за счет патоморфоза, в результате которого была приобретена способность колонизировать урогенитальный тракт, перспективности рассмотрения на современном этапе изучаемых микроорганизмов в качестве факторов возникновения и/или развития инфекций, передающихся преимущественно половым путем, а также, что в мочеполовой системе женщин репродуктивного возраста, больных инфекциями, передающимися половым путем, может присутствовать только одна из трех трихомонад, способных находиться в организме человека.

Trichomoniasis. The phenomenon of presence of *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis* in the genitourinary system of women of genital age, patients by, sexual transmitted infections
P.V. Fedorych, S.B. Zeleniy

At research of secretions of the genitourinary system of man by an optical microscopy and Polymerase chain reaction simultaneously in a number of cases it was found out the presence of the simplest, which are not *Trichomonas vaginalis*. The objectives in this study to identify *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis* in the genitourinary system of women of patients by sexual transmitted infections. Methods – Real time Polymerase Chain Reaction. Of *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis* found out in the genitourinary system at 13 (43,3%) and 5 (16,7%) from women of genital age, patients by, sexual transmitted infections. The phenomenon of existence of *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis* is shown in the genitourinary system of women of genital age, patients by, sexual transmitted infections

Key words: *Trichomonas tenax*, *Pentatrichomonas hominis*, Real time Polymerase Chain Reaction, genitourinary system, women of genital age.

Сведения об авторах

Федорич Павел Владимирович – Украинская военно-медицинская академия, 01023, г. Киев, ул. Мечникова 1/39, корп. № 2. E-mail: PVF9@meta.ua

Зеленый Сергей Борисович – ООО «ХЕЛИКОН», 01032, г. Киев, пер. Чеслава Белинского, 5

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адашевич В.П. Инфекции, передаваемые половым путем / В.П. Адашевич. – М.: Медицинская книга. – 2006. – 425 с.
2. Бакшеев С.Н. Trichomonas urogenitalis. TANK-функция. Асимптомное носительство и проблемы терапии / С.Н. Бакшеев, С.Л. Неймарк. – Вестник Российского государственного университета. – 2001. – № 2. – С. 17.
3. Ворошилина Е.С. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: что есть норма? / Е.С. Ворошилина, Л.В. Тумбинская, А.Е. Донников, Е.Э. Плотно, Л.В. Хаятин. – Акушерство и гинекология. – 2011. – № 1. – С. 57–65.
4. Гуцин А.Е. Молекулярно-генетическое исследование клинического материала с использованием праймеров к различным участкам генома Trichomonas Vaginalis и различным видам царства Protozoa / А.Е. Гуцин, П.Г. Рыжих, Л.А. Березина, Л.Б. Куляшова, Н.С. Махлай. – М.: Молекулярная диагностика. – Том III. Раздел 14. Инфекции органов репродукции, 2010. – С. 204–207.
5. Дерматология, венерология. Учебник / Под редакцией В.И. Степаненко. – К.: КИМ, 2012. – 904 с.
6. Коротяев А.И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: учебник для мед. вузов – 4-е изд., испр. и доп. / А.И. Коротяев, С.А. Бабичев. – СПб.: СпецЛит. – 2008. – 660 с.
7. Липова Е.В. Урогенитальные инфекции, обусловленные условно-патогенной биотой, у женщин репродуктивного возраста (клинико-лабораторная диагностика). Учебное пособие. Утверждено РМАПО. / Е.В. Липова, М.Н. Болдырева, Б.Ю. Трофимов, Ю.Г. Витвицкая. – М., 2009. – 46 с.
8. Мавров І.І. Уніфікація лабораторних методів дослідження в діагностиці захворювань, що передаються статевим шляхом. / І.І. Мавров, О.П. Белозоров, Л.С. Тацька. – Харків: Факт. – 2000. – 120 с.
9. Мавров Г.И. Трихомоноз беременных и новорожденных. Часть 2 / Г.И. Мавров, Т.В. Осинская. – Украинский журнал дерматологии, венерологии, косметологии. – К., 2010. – № 2 (37). – С. 113–120.
10. Рищук С.В. Оральный секс и половые инфекции / С.В. Рищук // Информационно-просветительский журнал МЗ России «Туберкулез, ВИЧ/СПИД, алкоголизм, наркомания», раздел ЗППП. – 2006. – № 15.
11. Степаненко В.І. Урогенітальні інфекції: трихомоніаз, кандидоз, генітальний герпес / В.І. Степаненко, Т.С. Коновалова. – К.: КИМ, 2008. – 288 с.
12. Туркевич О.Ю. Деякі питання етіопатогенетичного обґрунтування комплексного лікування бактеріального вагінозу / О.Ю. Туркевич. – Український журнал дерматології, венерології, косметології. – К., 2010. – № 1 (36). – С. 92–96.
13. Adu-Sarkodie Y. Lack of evidence for the involvement of rectal and oral trichomonads in the aetiology of vaginal trichomoniasis in Ghana / Adu-Sarkodie Y., Opoku B.K., Crucitti T., Weiss H.A., Mabey D. – Sex Transm Infect 2007;83: 130–132.
14. Crystal A. Zalonis, Allan Pillay, William Secor, Burt Humburg, and Robert Aber. Rare Case of Trichomonal Peritonitis. Emerging Infectious Diseases. www.cdc.gov/eid. Vol. 17, No. 7, July 2011. – P. 1312–1313.
15. Juliano C. In vitro phagocytic interaction between Trichomonas vaginalis isolates and bacteria / Juliano C., Cappuccinelli P., Mattana A. – Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 1991. – 10 (6): 497–502.
16. Kurnatowska Anna J., Dudko Anna and Turkowicz Monika // Wiad Parazytol 50 (1): 35–40 (2004) PMID 16892603.
17. Leichliter JS, Chandra A, Liddon N, Fenton KA, Aral SO. Prevalence and correlates of heterosexual anal and oral sex in adolescents and adults in the United States. J Infect Dis. – 2007 Dec 15; 196 (12):1852–9.
18. Parnaud E., Bauer P. Digestive localizations of sexually transmitted diseases in male homosexuals. Presse Med. 1985 Jun 8;14 (23):1282–6. [Article in French].
19. Schwebke J.R. Trichomoniasis / Schwebke J.R., Burgess D. – Clin. Microbiol. Reviews. 2004. 17 (4): 794–803.
20. Stoliarenko AI, Ponomarev AP. Trichomonal right-sided salpingitis and peritonitis simulating acute appendicitis in a 6-year-old girl. Vestn Khir Im I I Grek. 1978;121:79.
21. Szreter H. Phagocytosis of Streptococcus faecalis by Trichomonas vaginalis. Electron microscopy studies / Szreter H., Kassner J., Michalczak J. – Wiad. Parazytol. 1987. 33: 643–647. (In Polish).
22. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.
23. <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>.
24. www.ucsc.edu.
25. <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.ru/2011/04/trichomonas-hominis.html>
26. <http://omop.su/portal/bme/7685-trichomonas.html>

Статья поступила в редакцию 02.04.2014