



Лабораторная диагностика урогенитального трихомониаза

План лекции

- Морфология трихомонады.
- Факторы патогенности влагалищной и уретральной трихомонады.
- Взятие материала для лабораторных исследований.
- Лабораторная диагностика.
- Оценка результатов исследований

Трихомониаз. Определение.

- Урогенитальный трихомониаз (трихомониаз, трихомоноз) —
заболевание мочеполовой системы, вызываемое простейшим одноклеточным паразитом *Trichomonas vaginalis*.
- Заболевание передается преимущественно половым путем, не имеет сезонного характера и поражает все слои населения.
- Урогенитальный трихомониаз протекает с минимальными клиническими проявлениями, поэтому часто трихомонады выявляются при профилактических осмотрах или при активном привлечении к обследованию половых партнеров больных трихомониазом.
- Трихомонадное носительство встречается у 40-50% больных со смешанной урогенитальной инфекцией.

Trichomonas vaginalis

- T. vaginalis - одноклеточный простейший организм длиной 10 мкм и шириной 7 мкм,
- T. vaginalis имеет пять жгутиков, четыре из которых расположены в передней части клетки, отходят одним пучком у основания и затем разделяются, а пятый возвратный жгутик находится внутри ундулирующей мембраны.
- Трихомонады могут иметь грушевидную, амебоидную или шаровидную форму.
- Внешний вид клетки меняется в зависимости от роста и физико-химических условий среды.
- Неблагоприятные условия для роста T. vaginalis способствуют трансформации амебоидной в овальную, так называемую безжгутиковую (амастиготную) форму, несколько напоминающую псевдоцисты.

Показания к обследованию на трихомониаз (1)

- * Все больные мужчины с диагнозом уретрит, парауретрит, баланопостит, простатит, везикулит, орхоэпидидимит, эпидидимит,
- * Женщины с диагнозом уретрит, цистит, кольпит, бартолинит, цервицит, эндоцервицит и проктит должны быть обследованы на наличие возбудителей.
- * Женщины, обращающихся с различными воспалительными заболеваниями мочеполовой сферы, с жалобами на появившиеся субъективные расстройства в области половых органов (зуд, жжение при мочеиспускании, боли внизу живота, усиление белей, кровянистые выделения и пр.),

Показания к обследованию на трихомониаз (2)

- * Женщины с эрозиями шейки матки; страдающих бесплодием, привычными выкидышами, с преждевременными родами в анамнезе; обращающихся для установления беременности с целью дальнейшего продолжения ее; направляемых на прерывание беременности.
- * Необходимо обследовать на гонорею и трихомониаз девочек с вульвовагинитами, а также бывших в контакте с больными гонореей.
- * Лица, у которых диагностирован трихомониаз, после лечения последнего также обследуются на гонорею

Диагностика трихомониаза

- Основывается на выявлении клинических признаков заболевания и обнаружении *T. vaginalis* в исследуемом материале.
- В связи с тем что клинические симптомы трихомонадной инфекции часто не отражают реальной картины заболевания, в обязательном порядке необходимо применение лабораторных методов диагностики.

Лабораторные методы диагностики трихомониаза

- В настоящее время в России и за рубежом применяют четыре лабораторных^[SEP] метода определения *T. vaginalis*:
 - Микроскопический
 - Культуральный
 - Иммунологический
 - Генодиагностический
- Приказами регламентированы микроскопический и^[SEP] культуральный методы (приказ МЗиСР РФ № 173 от 28 февраля 2005).

Забор материала на трихомонады у мужчин

- * У мужчин из мочеиспускательного канала материал для исследования на трихомонады берут после 4-5 часовой задержки мочи.
- * В свободно стекающей капле из уретры трихомонады удается обнаружить сравнительно редко
- * Поэтому, необходимо исследовать:
 - * Отделяемое после удаления свободно стекающей капли
 - * Центрифугат свежевыпущенной первой порции мочи.
- * Лучшие результаты получают при исследовании материала, взятого при соскобе со слизистой уретры с помощью ложки Фолькмана, тупой ушной ложки или желобоватого зонда.

Забор материала на трихомонады у женщин

- * У женщин материал для исследования берут путем соскоба со стенок влагалища в области заднего свода, а также из уретры с помощью легкого поскабливания переднебоковых стенок ложкой Фолькмана, тупой ушной ложкой или желобоватым зондом, предварительно смоченных изотоническим раствором натрия хлорида.
- * У девочек патологический материал берут из глубины влагалища также с помощью ложки, введенной через отверстие в девственной плеве.

Отказ от приема лекарственных препаратов перед забором

- * Для повышения качества лабораторной диагностики трихомониаза необходимым условием является прекращение применения противотрихомонадных средств за 7-10 дней до взятия материала.
- * Даже однократное спринцевание или введение противотрихомонадных препаратов может обусловить отрицательные результаты исследования.

Микроскопический метод диагностики трихомониаза

- Включает две методики:
- 1 - Определение трихомонад в нативном препарате при фазовом контрастировании.
- 2 – Определение трихомонад в окрашенных препаратах

Провокационные тесты в диагностике трихомониаза

- * Повышают выявляемость трихомонад повторные анализы, в частности, с использованием провокации
- * При обследовании на трихомониаз применяют только алиментарный (острая, соленая пища) и механический (массаж на буже, металлический колпачок на шейку матки) способы провокации;
- * Инстилляции и смазывания препаратами серебра и раствором Люголя не проводят, так как последние губительно действуют на влагалищную трихомонаду и затрудняют ее обнаружение.

Микроскопический метод обладает низкой чувствительностью (1)

- Чувствительность микроскопии варьирует от 38 до 82%, что существенно ниже^[SEP]по сравнению с другими методами лабораторной диагностики.
- Порог чувствительности приблизительно соответствует 10^4 трихомонад на 1 мл
- **Причины низкой чувствительности метода:**
 - 1- Влагалищные трихомонады^[SEP] утрачивают характерную подвижность после извлечения из среды обитания.^[SEP]
 - 2 - Существует высокая вероятность неправильной оценки микроскопии в случае низкотитражных препаратов или содержащих большое^[SEP] количество клеток эпителия, лейкоцитов и различного деструктивного материала^[SEP] из очага поражения.

Микроскопический метод обладает низкой чувствительностью (2)

- 3 - В очаге поражения влагалищная трихомонада часто представлена **округлыми безжгутиковыми (амастиготными) формами** со ^[L]SE^[P]сниженной метаболической активностью, что при микроскопии **может быть принято за полиморфноядерные лейкоциты или эпителиоциты** и, таким образом, ^[L]SE^[P]послужить причиной ошибки, и, наконец, даже **типичные морфологические признаки нередко теряются во время фиксации и окрашивания**, создавая трудность ^[L]SE^[P]для этиологической идентификации.

Ложноположительные результаты при микроскопическом исследовании на трихомонады

- Чаще связан с принятием за трихомонады эпителиальных клеток или других клеточных элементов.
- Связан с целым рядом не только медицинских, но и этических проблем, и ценой диагностической ошибки могут стать недоверие и ухудшение взаимоотношений в супружеской паре, развод, суицидальные последствия и т. п

Отечественные питательные среды для диагностики трихомониаза

- Питательная среда для выявления влагалищных трихомонад (ООО "Диагност-Мед", г. Омск)
- Основа питательной среды для культивирования трихомонад (НПО "Микроген", г. Махачкала)
- Питательная среда СВТ для визуальной диагностики трихомониаза (НИИЭМ имени Пастера, г. Санкт-Петербург).

Серологическая диагностика трихомониаза (1)

- * Методы используются как вспомогательные,
- * Низкая иммуногенность и наличие различных серотипов урогенитальных трихомонад затрудняют получение достоверных результатов в диагностике.
- * Серологические реакции иногда бывают отрицательными даже в случаях, когда выявлен возбудитель.
- * Достоинством серологического метода является то, что серологические реакции остаются положительными в течение 1 года после излечения трихомониаза, что очень важно для ретроспективной диагностики.
- * Результаты серологических реакций зависят от степени соответствия антигенной структуры штамма, вызвавшего заболевание, и штамма, использованного для приготовления диагностической сыворотки.

Серологическая диагностика трихомониаза (2)

- * Используются реакции агглютинации, РСК, непрямой иммунофлюоресценции, ИФА и ускоренная реакция иммунофлюоресценции (РИФ-40).
- * В РИФ-40 в качестве антигена используют урогенитальные трихомонады из 20-30 штаммов, выращенных на жидкой питательной среде в течение 2-3 сут. После промываний готовый антиген наносится на предметные стекла, куда добавляется инактивированная испытываемая сыворотка крови, разведенная в 40 раз бессолевым мясопептонным бульоном (рН 7), приготовленным из говяжьего мяса с повышенным содержанием (1,5 %) пептона.
- * РИФ-40 успешно применяется при диагностике бессимптомного трихомониаза, трихомонадоносительства и для определения этиологии неспецифических воспалительных заболеваний мочеполовых органов.

Чувствительность серологических тестов зависит от используемого антигена

- * При использовании в качестве "подложки" цельноклеточного антигена чувствительность составила всего 80,4 %
- * Позднее были предприняты попытки использовать в качестве антигена цистеиновые протеиназы *T.vaginalis*, поскольку предполагается, что они вовлечены в патогенез. Специфичность в этом случае составила 100 %, однако чувствительность не превысила 90 %.
- * Есть данные о том, что наибольшую чувствительность обеспечивают моноклональные антитела к антигенам с Mr 62 и 65 кДа

ПЦР диагностика трихомониаза

- Применяется с 1992 года
- При использовании электрофоретического способа регистрации результатов помогает выявлять от 10 до 100 трихомонад в исследуемом материале.
- Чувствительность и специфичность во многом обусловлена правильным выбором мишеней для амплификации
- Основные мишени - гены рибосомальных РНК, отличающиеся мультикопийностью (254 копии 18S рРНК/на клетку *T.vaginalis*).
- Также используется ген бета-тубулина *T.vaginalis*.
Использование праймеров из этого гена обеспечивало чувствительность равную 98 % в сравнении с культуральным методом системы InPouch.
- Имеется препятствие - генетически обусловленная внутривидовая вариабельность *T.vaginalis*.

Критерии излеченности при трихомониазе (1)

- Необходимо различать этиологическое и клиническое выздоровление.
- Под этиологическим выздоровлением подразумевается стойкое исчезновение *T. vaginalis* из мочеполовых путей пациента после проведенного лечения, которое подтверждается при микроскопическом исследовании, а также культуральным методом и ПЦР.
- **Мужчинам на 7-10-й день после окончания лечения** проводят пальпаторное исследование предстательной железы и семенных пузырьков, микроскопию их секрета. Если отсутствуют симптомы уретрита (простатита), а в отделяемом секрете или соскобе со слизистой уретры и в первой порции свежесобранной мочи трихомонады не обнаружены, больному рекомендуются повторное микроскопическое исследование, уретроскопия через 1 мес.

Критерии излеченности при трихомониазе (2)

- Женщинам первые контрольные исследования проводят через 7-8 дней после ^[LSEP]окончания антитрихомонадного лечения и в течение трех последующих менструальных циклов.
- Лабораторный контроль осуществляется непосредственно перед ^[LSEP]менструацией или через 1-2 дня после ее окончания.
- Материал для исследования ^[LSEP]следует брать из всех возможных очагов поражения.

Критерии излеченности при трихомониазе (3)

- Больные считаются этиологически излеченными, когда при неоднократных повторных обследованиях после окончания комплексного лечения не удастся обнаружить трихомонады в течение 1-2 мес у мужчин и 2-3 мес у женщин.
- У некоторых мужчин, несмотря на стойкое этиологическое выздоровление после применения противотрихомонадных средств, клинического излечения не наступает - у больных сохраняются воспалительные явления: скудные выделения из уретры, патологические изменения в моче.
- Чаще всего посттрихомонадные воспалительные процессы наблюдаются у мужчин с осложненными хроническими формами трихомониаза.
- Это часто говорит о наличии других ИППП или об активизации условно-патогенной флоры урогенитального тракта, ассоциированной с трихомонадами



Вопросы?