И.А. ЕВСЕЕНКО

**ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ, ПЕРЕДАВАЕМЫХ ПОЛОВЫМ
ПУТЕМ**

Гомель 2006

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ

«ГОМЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

КАФЕДРА ПОЛИКЛИНИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И ОБЩЕВРАЧЕБНОЙ ПРАКТИКИ С КУРСОМ
ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИИ

И.А. ЕВСЕЕНКО

**ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ,
ПЕРЕДАВАЕМЫХ ПОЛОВЫМ ПУТЕМ**

Учебно-методическое пособие

Гомель 2006

УДК 616.97 - 074
ББК 51.9 + 48
Е 25

Р е з е н з е н т ы: заведующий кафедрой кожных и венерических болезней
Белорусского государственного медицинского университета, доцент, канд. мед. наук
Панкратов В.Г.

Евсеенко И.А.
Е 25 Лабораторная диагностика инфекций, передаваемых половым путем:
Учеб.-метод. пособие / И.А.Евсеенко. – Гомель: ГоГМУ. – 2006. - 23 с.

Рассматриваются вопросы этиологии, патогенеза и клинических проявлений инфекций, передаваемых половым путем, особое внимание уделено современным методам лабораторной диагностики ИППП.

Предназначается для студентов медико-диагностического факультета медицинских вузов, а также для клинических ординаторов, врачей-стажеров, врачей-лаборантов.

Утверждено и рекомендовано к изданию Центральным учебным научно-методическим Советом Учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет» 19.05. 2006. Протокол № 5.

УДК 616.97 – 074
ББК 51.9 + 48
Учреждение образования «Гомельский
государственный медицинский университет», 2006.

Общее время занятия – 6 часов

МОТИВАЦИОННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕМЫ

Инфекции, передаваемые половым путем (ИППП), в настоящее время являются довольно распространенной патологией. По данным экспертов ВОЗ, на земном шаре какой-либо из ИППП страдает каждый 6-й житель. ИППП известны своим отрицательным воздействием на репродуктивную функцию, как женщин, так и мужчин, являются причиной бесплодия, нарушений течения беременности, патологии новорожденных. Следовательно, инфекции, передаваемые половым путем, оказывают существенное негативное влияние на демографические показатели и здоровье нации. Клинические проявления ИППП разнообразны, не носят специфического характера, диагноз любого такого заболевания может быть установлен и подтвержден только на основании данных лабораторного обследования. Лабораторная верификация ИППП важна не только для диагностики, но и для мониторинга эффективности проводимой терапии. Контроль излеченности инфекций, передаваемых половым путем, также базируется на лабораторном подтверждении. Таким образом, необходимо подчеркнуть особую моральную ответственность лабораторных работников при установлении диагноза ИППП.

Цель занятий: обучить студентов знаниям по этиологии, патогенезу, современным методам лабораторной диагностики ИППП.

Задачи занятия – студент должен:

- знать строение и свойства возбудителей инфекций, передаваемых половым путем;
- закрепить знания по клиническим проявлениям ИППП;
- овладеть навыками взятия патологического материала для лабораторной диагностики ИППП;
- знать и освоить современные методы лабораторной диагностики ИППП.

ТРЕБОВАНИЯ К ИСХОДНОМУ УРОВНЮ ЗНАНИЙ

Для полного усвоения материала студент должен повторить из курса микробиологии строение и свойства возбудителей ИППП, способы окраски микропрепаратов по Граму, Романовскому-Гимзе, методики бактериоскопического и бактериологического исследования, из курса анатомии и гистологии – строение гениталий у мужчин, женщин и детей, из курса физиологии – физиологию репродуктивной системы.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПО ТЕМЕ ЗАНЯТИЯ

1. Строение и свойства возбудителя гонореи.
2. Клинические проявления гонореи.
3. Методы лабораторной диагностики гонореи, правила забора материала для исследования на гонорею.
4. Строение и свойства влагалищной трихомонады.
5. Клинические проявления трихомониаза.
6. Методы лабораторной диагностики трихомониаза.
7. Строение и свойства грибов рода Кандида. Факторы, способствующие развитию кандидоза.
8. Клинические проявления урогенитального кандидоза.
9. Методы лабораторной диагностики урогенитального кандидоза.
10. Понятие о бактериальном вагинозе, возбудители.

11. Клинические проявления и диагностические критерии баквагиноза.
12. Строение, жизненный цикл и свойства хламидий.
13. Клинические проявления хламидиоза.
14. Современные методы лабораторной диагностики хламидиоза. Особенности взятия материала для исследования. Критерии излеченности.
15. Урогенитальные микоплазмозы: возбудители, клинические проявления.
16. Методы лабораторной диагностики урогенитальных микоплазмозов.

СОДЕРЖАНИЕ ЗАНЯТИЯ

ГОНОРЕЯ.

Гонорея – это инфекционное заболевание, вызываемое специфическим возбудителем, гонококком, передающееся преимущественно половым путем и характеризующееся, в основном, поражением слизистых оболочек мочеполовых органов.

Возбудителем гонореи является *Neisseria gonorrhoeae* – грамотрицательный диплококк, имеющий форму кофейных зерен, обращенных своей вогнутой поверхностью друг к другу. Форма диплококка обусловлена затянувшимся делением. Длина гонококка 1,6 – 1,8 мкм, ширина 0,6 – 0,8 мкм, во время деления его величина колеблется. Гонококки имеют хорошо выраженные трехслойную наружную стенку и цитоплазматическую мембрану, цитоплазму с рибосомами и ядерной вакуолью. Гонококки обычно располагаются внутриклеточно в протоплазме лейкоцитов, обычно группами, но иногда и внеклеточно. Исследования гонококков в последние годы указывают на изменения их биологических свойств (наличие капсул, фагосом, бета-лактамазы, снижение чувствительности к антибиотикам, появление L-форм). Гонококк вне организма весьма неустойчив к внешним воздействиям: гибнет по мере высыхания. Температура выше 55 градусов Цельсия действует на него губительно. Низкую температуру переносит хорошо, оставаясь жизнеспособным. Гонококки поражают слизистые оболочки, в частности, мочеиспускательного канала, шейки матки, прямой кишки, глотки, миндалин. Процесс может распространяться на предстательную железу, семенные пузырьки, придатки яичек, яичко, семявыводящие протоки, а у женщин – на матку, яичники, маточные трубы. У новорожденных поражаются глаза, развивается конъюнктивит, кератит. Клинические проявления гонореи складываются из двух синдромов – выделений из половых путей слизисто-гнойного характера, а также дизурического – болезненного и учащенного мочеиспускания. При торпидном и хроническом течении процесса гонорея, особенно у женщин, может протекать субъективно и объективно малосимптомно и даже бессимптомно.

Лабораторная диагностика гонорей.

Диагностика гонореи основывается на следующих данных: анамнеза заболевания, клинической картины, обнаружении возбудителя. Так как клиническая картина гонореи не имеет патогномичных признаков, решающее значение отводится лабораторным методам исследования. При подозрении на наличие гонококковой инфекции исследуют отделяемое мочеиспускательного канала, парауретральных ходов, большой железы преддверия влагалища, канала шейки матки, секрет предстательной железы, семенных пузырьков, промывные воды прямой кишки.

В клинической практике для диагностики гонореи применяют бактериоскопический и бактериологический методы. Реже используются иммунофлюоресцентный, серологический, иммуноферментный. Новыми и перспективными для диагностики гонореи являются молекулярно-биологические методы: ПЦР (полимеразно-цепная реакция) и ЛЦР (лигазная цепная реакция).

Бактериоскопическое исследование

Материалом для бактериоскопического исследования является отделяемое уретры, шейки матки, прямой кишки. Кроме того, исследованию подлежат все материалы, подозрительные на наличие гонококков.

У мужчин отделяемое слизистой оболочки берут петлей из глубины уретры, предварительно очистив ее отверстие тампоном, смоченным изотоническим раствором хлорида натрия. При малом количестве выделений до взятия материала проводят массаж уретры в дистальном направлении. Получение материала для лабораторного исследования рекомендуется не ранее, чем через три часа после мочеиспускания.

У женщин патологическое отделяемое из уретры, бартолиновых желез и парауретральных ходов берут ложкой Фолькмана или петлей, из шейки матки – влажными пинцетом или петлей. В свисающей части цервикального содержимого много посторонней флоры и мало гонококков, а в более глубоко расположенном материале в гнойных серовато-белых комочках, выделяющихся среди прозрачной слизи, обнаруживают много гонококков и меньше посторонней флоры. Следует быть очень осторожным при бактериоскопическом исследовании отделяемого у детей и женщин в периоде менопаузы, у которых грамотрицательная флора может быть легко спутана с гонококком. Поэтому у девочек до периода полового созревания и у женщин в периоде менопаузы диагноз гонореи обязательно должен подтверждаться результатами бактериологического (культурального) исследования.

Материал из прямой кишки получают либо путем промывания ее ампулы теплым изотоническим раствором хлорида натрия с помощью катетера с двойным током жидкости, либо соскабливая его со слизистой оболочки анального канала ложкой Фолькмана. Исследование промывных вод предпочтительнее, так как гонорейный проктит носит очаговый характер, и при соскобе возбудитель может не попасть в материал для исследования.

При обследовании на фарингеальную гонорею материал берут из лакун миндалин и с задней стенки глотки выше нижнего края мягкого неба ватным тампоном.

Главными признаками гонококка при бактериоскопической диагностике являются: форма диплококка, грамотрицательная окраска, внутриклеточное расположение. Большое значение имеет правильное взятие материала для исследования на гонококки и приготовление мазков, которые должны быть равномерно нанесены на стекло, не толстыми. Неравномерно приготовленные мазки невозможно хорошо окрасить по Граму.

Отделяемое наносится на два стекла. Мазки на одном стекле окрашивают 1%-ным водным раствором метиленового синего или 0,5%-ным водным раствором бриллиантового зеленого в течение 1 минуты. Окраска анилиновыми красителями не имеет диагностического значения и является ориентировочной. При выявлении в таких мазках диплококков второе стекло окрашивается по Граму. Допустимо производить забор материала на одно стекло, окрашивать его анилиновыми красителями, а при необходимости (обнаружении диплококков) – перекрашивать по Граму. Окраска по Граму имеет диагностическое значение, так как позволяет подтвердить грамотрицательный характер гонококков. При окраске по Граму гонококки ярко-розового цвета (граммотрицательные), остальные кокки фиолетового цвета (грамположительные). При окраске метиленовым синим на бледноокрашенном фоне цитоплазмы лейкоцитов гонококки выглядят темно-синими, ядра лейкоцитов – синими. В мазках, окрашенных метиленовым синим, гонококки лучше выявляются, а в мазках, окрашенных по Граму, они лучше дифференцируются. Окончательное заключение дают только на основании окраски по Граму.

Бактериологическое исследование

Бактериологическое исследование приобретает особую диагностическую ценность при хроническом, торпидном, вялом течении гонорейной инфекции. Методом посевов гонококки обнаруживают в 1,5 – 2 раза чаще, чем бактериоскопически, а по некоторым данным, даже в 4-6 раз чаще. Для результатов этого исследования большое значение имеет своевременное и правильное взятие материала. Перед взятием материала для посева надо исключить применение больным антибактериальных средств в тот период, в течение которого предполагается наличие препарата в крови, нельзя использовать также и местные дезинфицирующие средства. Отделяемое, полученное из очагов инфекции, засевают на среду асцит-агар или используют безасцитные питательные среды, к которым добавлен нативный белок. Культивирование гонококков проводится при температуре 37 градусов Цельсия. Пробирки с засеянным материалом помещают в эксикатор с 10-20% содержанием углекислого газа и повышенной влажностью, полученной путем помещения в эксикатор пропитанной водой ватной прокладки. Эксикатор ставят в термостат с температурой 36,5 -37 градусов Цельсия, так как высокие температуры губительно действуют на гонококки, а низкие задерживают их рост.

Материал с большим количеством посторонней флоры (особенно из прямой кишки) рекомендуется засеивать на мясо-пептонный агар с добавлением антибиотиков: полимиксина М в концентрации 25 ЕД/мл и ристомицина сульфата в концентрации 20 ЕД/мл. Оба антибиотика подавляют рост грамположительных и грамотрицательных микробов, не влияя на рост гонококка.

В тех учреждениях, в которых нет собственной бактериологической лаборатории, можно пользоваться так называемыми транспортными средами, которые применимы для сохранения жизнеспособности гонококка (среда Стюарта).

Гонококк на искусственных питательных средах обычно вырастает через 24 часа, при пересевах с транспортных сред рост гонококков наступает позднее. Практически следует наблюдать за ростом в течение 5 – 7 дней. Через 24 часа образуются прозрачные бесцветные или бледно-желтоватой окраски мелкие колонии, имеющие вид росы. Выросшую колонию идентифицируют по внешнему виду и на основании результатов последующего микроскопического исследования мазков из нее, окрашенных по Граму.

Помимо гонококка, в мочеполовых путях могут встречаться и другие грамотрицательные микробы, чаще менингококк и катаральный микрококк, а при исследовании содержимого из носоглотки и полости рта можно обнаружить почти всех представителей рода *Нейссерия*. Все микроорганизмы отличаются по ферментации углеводов. Гонококк разлагает только глюкозу, менингококк – глюкозу и мальтозу, катаральный микрококк не разлагает ни одного сахара. Таким образом, ферментация углеводов может быть убедительна только для типичных гонококков. Для реакции ферментации применяются специальные среды (среда Коликовой Т.Г. и соавт. (1978).

В случаях роста в культуре обильной посторонней флоры может оказать пользу оксидазная реакция. Для ее выполнения применяют производные фениленаминов. Пастеровской пипеткой наливают реактив на поверхность колоний. Через несколько секунд оксидазоположительные колонии окрашиваются в розовый цвет, переходящий в течение последующих 10-15 минут в красный и черный. Окрашенные колонии снимают петлей, делают мазки на предметном стекле и окрашивают по Граму. При микроскопическом исследовании гонококки сохраняют свои грамотрицательные свойства

Для выявления гонококков, продуцирующих бета-лактамазу, используют чашечный, иодометрический и ацидометрический тесты.

Серологическая диагностика

Единственной серологической реакцией, разработанной для диагностики гонореи, является реакция связывания комплемента (реакция Борде-Жангу). В настоящее время реакция имеет лишь историческое значение, так как она непригодна ни для доказательства наличия в организме гонококковой инфекции, ни для установления излеченности.

Иммунофлюоресцентный метод

При прямой иммунофлюоресценции фиксированные над пламенем спиртовки препараты предварительно окрашивают 1% раствором эозина и метиленового синего, а затем обрабатывают флюоресцирующей антисывороткой. При таком методе можно видеть свечение, позволяющее отличить гонококк от других микроорганизмов.

Иммуноферментный анализ

Используется метод определения антигена с помощью ИФА путем исследования мазков из уретры и цервикального канала и проб мочи. Материал больных исследуют с помощью теста Gonozyme (Гонозайм), коммерческого набора для постановки ИФА. Чувствительность и специфичность теста 95,2% и 100% соответственно. Метод ИФА является быстрым диагностическим методом для обнаружения *Neisseria gonorrhoeae*, особенно при неинвазивном (пробы мочи) обследовании мужчин.

Молекулярно-биологические методы

ПЦР (полимеразная цепная реакция) применяется в качестве метода коамплификации для определения в уретральных и эндоцервикальных образцах и пробах мочи *Neisseria gonorrhoeae* и *Chlamydia trachomatis*. Обработанные образцы амплифицируются в одной реакционной смеси, содержащей праймеры для обоих микроорганизмов. Продукты ПЦР выявляются колориметрически в лунках микропланшета после гибридизации с зондами, специфичными для каждого патогена. Разрешающая чувствительность обнаружения гонококков в уретральных образцах и моче у мужчин составляет 98,6% и 94,2% соответственно. Разрешающая чувствительность обнаружения гонококков в моче и эндоцервикальных образцах женщин методом ПЦР составляет 88,9% и 95,2% соответственно.

ЛЦР (лигазная цепная реакция) также может применяться для одновременного определения в одном образце мочи *Neisseria gonorrhoeae* и *Chlamydia trachomatis*. Чувствительность ЛЦР при определении *Neisseria gonorrhoeae* в образцах, полученных от женщин и мужчин, составляет 97,3% и 98,5% соответственно, а специфичность в обоих случаях превышает 99%.

Эти данные указывают, что двойная ПЦР и ЛЦР могут использоваться как высокочувствительные методы выявления гонококков и хламидий в одном образце мочи или генитальном мазке, обеспечивая удобный и дешевый подход к скринингу на наличие нескольких возбудителей.

ТРИХОМОНИАЗ.

Трихомониаз – наиболее распространенное, передаваемое половым путем, инфекционное заболевание мочеполового тракта, которое вызывается влагалищной трихомонадой (*Trichomonas vaginalis*). Возбудитель трихомониаза относится к простейшим – Protozoa, классу жгутиковых – Flagellata, роду трихомонад – *Trichomonas*. У человека паразитируют три вида трихомонад: *Trichomonas tenax* (в полости рта), *Trichomonas hominis* (в желудочно-кишечном тракте), *Trichomonas vaginalis* (в мочеполовом тракте). Урогенитальные трихомонады бывают трех форм: грушевидной, амебовидной и почкующейся.

Трихомонадная инфекция часто протекает как смешанная с гонореей, хламидиозом, микоплазмозом, кандидозом, генитальным герпесом. Урогенитальные трихомонады при этом являются резервуаром сохранения различных возбудителей воспалительных заболеваний мочеполового тракта человека. Для всех вышеуказанных возбудителей характерен эндоцитобиоз, то есть возможность персистенции их внутри трихомонадной клетки с сохранением жизнеспособности.

Трихомонада - одноклеточный паразит, признаками которого являются: 1) способность повторять рельеф эпителиальной клетки, на которой она паразитирует), проникать между клеткам и в узкие щели и инвагинировать в клетку хозяина 2) способность урогенитальных трихомонад фиксировать на своей поверхности большие количества антитрипсина, что обеспечивает защиту простейших от разрушительного действия организма 3) вирулентность урогенитальных трихомонад, которая находится в прямой пропорциональной зависимости от их гемолитической активности 4) заразительность (развитие заболевания после полового контакта с больным трихомониазом) 5) наличие на поверхности трихомонад протеолитических ферментов (гиалуронидаза, амилаза, каталаза) 6) выраженный хемотаксис полиморфноядерных лейкоцитов (на поверхности трихомонад имеется фибропектин – гликопротеид, способствующий прикреплению паразита к лейкоцитам, эпителиальным клеткам, эритроцитам). Трихомонады выделяют во внешнюю среду гиалуронидазу, питаются эндоосмотически.

Тело трихомонады состоит из оболочки, протоплазмы, блефаропласта, ядра, аксогилия, четырех жгутиков, ундулирующей мембраны, фибрилл). В расширенной передней части тела трихомонады располагается удлиненное ядро с ядрышком. В ядре хорошо просматриваются глыбки хроматина. Обнаружение ядра существенно для трихомонад, так как фрагменты цитоплазмы, кусочки слизи и другие обрывки тканей могут иметь сходную с трихомонадами окраску. При электронно-микроскопическом исследовании установлено, что все тело трихомонады, включая жгутики, покрыто трехслойной осмиофильной мембраной-перипластом; ядро состоит из мелкозернистой кариоплазмы; парабазальный аппарат – из системы нитей, расположенных в один или два ряда, а в цитоплазме находятся большие пищеварительные вакуоли.

Размножается трихомонада путем продольного деления. Трихомонады не образуют цист или других форм устойчивости, обеспечивающих им сохранение вне человеческого организма.

У женщин местом обитания влагалищной трихомонады является влагалище, у мужчин – предстательная железа и семенные пузырьки. Мочеиспускательный канал может поражаться у обоих полов.

Трихомонады быстро теряют жизнеспособность вне человеческого организма. Во внешней среде при высушивании трихомонады погибают а несколько секунд, губительное воздействие на них оказывает температура выше 40 градусов Цельсия, прямые солнечные лучи, медленное замораживание, различные антисептики. Трихомонады хорошо растут в анаэробных условиях, оптимум роста их при рН среды 5,5 – 7,5 и температуре 35 – 37 градусов Цельсия.

Урогенитальные трихомонады проникают в организм постепенно *per continuitatem*, через межклеточные пространства и затем в субэпителиальную соединительную ткань, а также лимфогенно через множественную сеть лимфатических щелей. Попадая в уретру, трихомонады фиксируются на клетках плоского эпителия слизистой оболочки, проникают в железы мочеиспускательного канала и лакуны. Попадая в мочеполовые органы, трихомонады либо обуславливают развитие воспаления, либо не вызывают никаких изменений. Умеренно выраженная воспалительная реакция развивается при наличии большого числа паразитов.

Выделяемая трихомонадами гиалуронидаза приводит к значительному разрыхлению тканей и более свободному проникновению в межклеточные пространства токсических продуктов обмена бактерий сопутствующей флоры. Трихомонадная инфекция не приводит к развитию выраженного иммунитета. Иммунный ответ на паразитирование трихомонад изучен недостаточно. Выявляемые у больных или переболевших трихомониазом сывороточные и секреторные антитела являются лишь «свидетелями» существующей или ранее перенесенной инфекции, но не способны обеспечить иммунитет.

Мочеполовая трихомонада передается при половом контакте. Хотя возбудитель сохраняет жизнеспособность в течение 24 часов в моче, сперме, а также в воде и может выживать в течение нескольких часов во влажном чистом белье, передача инфекции бытовым путем происходит редко.

Инкубационный период при трихомониазе равен в среднем 5-15 дней, но может колебаться от 1-3 дней до 3-4 недель. Основными очагами поражения при урогенитальном трихомониазе являются мочеиспускательный канал у мужчин, влагалище и уретра у женщин. Клиническая картина острого трихомониаза у женщин характеризуется симптомами вагинита, к которому могут присоединиться вульвит, уретрит, эндоцервицит, эндометрит. Пациенток беспокоят обильные, раздражающие кожу выделения, и значительный зуд наружных половых органов. При осмотре обнаруживают гиперемию сводов, стенок влагалища, шейки матки. В заднем своде влагалища имеется скопление жидких, серовато-желтых либо зеленоватых, пенистых выделений, иногда с неприятным запахом. Губки уретры нередко отечны и гиперемированы. При торпидной и хронической форме трихомониаза субъективные ощущения могут полностью отсутствовать. Слизистые оболочки влагалища и наружных половых органов имеют нормальную окраску или слегка гиперемированы, выделения из влагалища молочного цвета в незначительном количестве.

Лабораторная диагностика трихомониаза

Диагноз мочеполового трихомониаза устанавливается на основании клинических признаков заболевания и обнаружения в исследуемом материале трихомонад. Для лабораторной диагностики трихомониаза применяются следующие методы: микроскопия нативного препарата, микроскопия окрашенного препарата, люминесцентная микроскопия, культуральные, иммунологические. Материал для исследования берется из заднего свода влагалища и других возможных очагов инфекции.

В нативных препаратах влагалищная трихомонада определяется по грушевидной или овальной форме тела величиной немного больше лейкоцита, характерным толчкообразным движениям жгутикам, которые особенно хорошо видны при исследовании в фазово-контрастном микроскопе.

Преимуществом исследования трихомонад в окрашенных препаратах является возможность их исследования спустя длительное время после взятия материала. В препаратах, окрашенных метиленовым синим или по Грамму, трихомонады имеют овальную, круглую или грушевидную форму с хорошо выраженными контурами и нежноячеистым строением цитоплазмы, а также эксцентрически расположенным овальным ядром, по форме напоминающим «косточку абрикоса». Для выявления более тонкого строения трихомонад применяют более сложные методики окраски препаратов (по Романовскому-Гимзе, Гейденгайну, Лейшману), которые позволяют рассматривать жгутики, ундулирующую мембрану.

Метод люминесцентной микроскопии основан на свечении объекта в ультрафиолетовых лучах в темном поле. При незначительной собственной люминесценции материала применяют люминофоры: акридиновый оранжевый.

При отрицательных результатах непосредственного исследования патологического материала трихомонады могут быть обнаружены с помощью культивирования отделяемого из влагалища, уретры, секрета простаты или спермы. По консистенции среды для выделения культуры трихомонад могут быть жидкими, полужидкими и плотными. Существует большое количество сред для выращивания трихомонад (например, среда Е.А.Павловой (1937), среда Джонсона-Трассела и ее модификации, среда СКДС, среда В.Н.Бедновой и др.). При культивировании в жидких питательных средах посев производят, помещая исследуемый материал на дно пробирок. Урогенитальные трихомонады дают придонный рост в виде плотного беловатого осадка, из которого пастеровской пипеткой берут материал для исследования в нативном препарате. В поле зрения трихомонады могут быть одиночными или располагаться большими скоплениями, наблюдаются активные движения жгутиков и ундулирующей мембраны. Микроскопическое исследование культур производят на 3-5-й, при отрицательных результатах на 7-9-й или 11-17-й дни после посева, так как длительность цикла развития урогенитальных трихомонад зависит от величины посевной дозы. Жидкие питательные среды имеют недостаток, который состоит в том, что для поддержания урогенитальных трихомонад в жизнеспособном состоянии необходимы частые пересевы – через 3-4 дня. При культивировании на плотных питательных средах пересевы производятся через 10-14 дней. Культуральная диагностика трихомониаза приобретает особую диагностическую ценность при распознавании торпидно протекающих и асимптомных форм заболевания, а также при установлении излеченности. Частота выявления урогенитальных трихомонад среди больных возрастает на 10-40% по сравнению с микроскопическими методами исследования.

Иногда трихомонады обнаруживаются при цитологическом исследовании шейки матки. Чувствительность этого метода составляет примерно 60%, однако доля ложноположительных результатов высока. В таких случаях надежнее подтвердить диагноз анализом вагинального мазка.

В настоящее время ведутся разработки методов молекулярной биологии, которые, возможно, заменят существующие способы диагностики трихомониаза.

УРОГЕНИТАЛЬНЫЙ КАНДИДОЗ.

Урогенитальный кандидоз – грибковое заболевание слизистых оболочек и кожи мочеполовых органов, вызываемое дрожжеподобными грибами рода *Candida*. Поражение мочеполового тракта является одним из наиболее часто встречающихся проявлений кандидоза. Урогенитальный кандидоз широко распространен, протекает хронически и склонен к рецидивам.

Род *Candida* насчитывает более 150 видов. Возбудителем урогенитальных кандидозов наиболее часто является *Candida albicans*. Степень патогенности различных штаммов широко варьирует от безвредных до весьма вирулентных. Для человека патогенны *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.pseudotropicalis*, *C.krusei*, *C.parakrusei*, *C.parapsilosis*, *C.guilermondi*. Из перечисленных дрожжеподобных грибов *C.albicans* является наиболее патогенным.

Грибы рода Кандида относятся к условно патогенным микроорганизмам. Кроме сапрофитирования в окружающей среде на субстратах живой и неживой природы, они довольно часто выделяются с поверхности кожных покровов и слизистых оболочек человека. Дрожжеподобные грибы рода Кандида являются одноклеточными микроорганизмами. Молодые клетки имеют круглую или яйцевидную форму, зрелые – удлинённую или округлую. Диаметр клеток колеблется в пределах от 1,5 до 10 мкм.

Истинного мицелия дрожжеподобные грибы не имеют, а образуют псевдомицелий. Нити его отличаются от истинного мицелия тем, что не имеют общей оболочки и перегородок, а состоят из тонких клеток. В местах сочленения псевдомицелия дрожжеподобные грибы обладают способностью отпочковывать бластоспоры, которые располагаются группами и образуют так называемые мутовки или вертициллы. Установлено наличие у псевдоицелиальной формы гриба перфоративного органа, который способствует выраженной повреждающему воздействию его на клетки хозяина, то есть формой агрессии. Этим подтверждено, что в воде инвазии бластоспоры дрожжеподобных грибов кандиды трансформируются в псевдомицелий. Клетка *C.albicans* имеет мощную шестислойную клеточную стенку, цитоплазматическую мембрану, цитоплазму с розетками гликогена и большим количеством рибосом, центральную и несколько мелких вакуолей, ограниченных мембраной, митохондрии, крупное ядро, ограниченное ядерной мембраной.

Дрожжеподобные грибы являются аэробами. Наиболее благоприятная для роста гриба температура – 21-37 градусов Цельсия, оптимальный рН 5,8 – 6,5. Лучшие среды для роста – картофельный и рисовый агар, отвары кукурузы, моркови, а также пивное сусло. Грибы рода Кандида имеют тропизм к тканям, богатым гликогеном. *Candida albicans* отличается ферментативной активностью, что проявляется способностью продуцировать протеолитические и липолитические ферменты. Кандида стимулирует выработку в организме человека различных антител – комплементсвязывающих и флюоресцирующих агглютининов.

Кандидоз мочеполовых органов составляет до 40% в структуре инфекционной патологии нижнего отдела гениталий. В последнее время регистрируют также стертые и атипичные формы заболевания, а также хронические, резистентные к проводимой терапии случаи урогенитального кандидоза. Грибы попадают в мочеполовые пути при половых контактах вместе с другими возбудителями и половых инфекций. Урогенитальный кандидоз может возникнуть и после антибиотикотерапии по поводу различных заболеваний. Важная роль в патогенезе кандидоза отводится состоянию макроорганизма, его восприимчивости к дрожжеподобным грибам и возможности мобилизации защитно-адаптационных механизмов. Грибковая инфекция чаще поражает женщин с ослабленной иммунной системой в результате заболевания или проводимого лечения, при снижении естественных защитных сил организма, нарушениях нормальной бактериальной флоры и гормонального фона.

Урогенитальный кандидоз встречается чаще у женщин, реже у мужчин. У женщин наиболее часто урогенитальный кандидозный процесс локализуется в области наружных половых органов и влагалища. Клиническими проявлениями кандидозного вульвовагинита являются увеличение количества выделений из влагалища, необычно белый с «молочными» бляшками цвет отделяемого, зуд, чувство жжения или раздражения в области наружных половых органов, усиление вульвовагинального зуда в тепле (во время вна и после ванны), повышенная чувствительность слизистой к воде и моче, усиление зуда и болезненных ощущений после полового акта. Объективно наблюдается гиперемия слизистых оболочек гениталий, белесоватый крошковидный «творожистый» налет. Поражаться могут также влагалищная часть шейки матки, уретра. У мужчин проявления кандидоза гениталий представлены баланопоститом.

Лабораторная диагностика урогенитального кандидоза

Принимая во внимание возможность кандиданосительства, диагноз урогенитального кандидоза устанавливается при наличии клинических проявлений заболевания и микроскопического выявления грибов рода *Candida* с преобладанием вегетирующих форм (почкование, псевдомицелий). Наиболее достоверным методом лабораторного исследования является культуральный с количественным учетом колоний грибов.

Обнаружение грибов при отсутствии симптомов не является показанием к назначению лечения, так как они периодически могут выявляться и у здоровых.

Лабораторная диагностика урогенитального кандидоза включает следующие виды исследований: микроскопия, культуральная диагностика, серологические реакции, иммунологические методы, иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция.

Микроскопические исследования являются наиболее доступными. материалом для микроскопических исследований служат характерные белесоватые пленки и крошковатый налет с различных участков слизистой оболочки и кожи мочеполовых органов, а также чешуйки кожи, обрывки эпителия, соскоб со слизистых, осадок мочи. Микроскопию проводят сначала при малом увеличении (x100), при котором можно увидеть скопления дрожжеподобных грибов и псевдомицелия. Обнаружение псевдомицелия при микроскопии патологического материала является важным подтверждением для лабораторного заключения о дрожжеподобной природе возбудителя. Затем переходят на большое увеличение (x500), позволяющее видеть отдельные клетки дрожжеподобных грибов, их форму, расположение. Дрожжеподобные грибы хорошо окрашиваются анилиновыми красителями. Применяются такие методы, как Романовского-Гимзе, Грамма, Боголепова, Циль-Нильсена. При окраске по Граму грибы темно-фиолетовые или окрашены неравномерно: периферические слои клетки фиолетовые, а в середине – розовые. Окрашенные по Циль-Нильсену грибы имеют синий цвет с розово-желтой зернистостью, включениями липидов. В мазках, окрашенных по Романовскому-Гимзе, видны розовато-фиолетовые клетки дрожжеподобных грибов, красные хроматиновые образования – темно-фиолетовый волютин.

Наряду с обычными методами микроскопии можно использовать люминесцентный метод, позволяющий проводить предварительную идентификацию и количественный учет грибов. Мазки изучают при люминесцентном свечении и степень свечения микроорганизмов оценивают по четырехплюсовой системе. При сопоставлении количества выросших количества выросших колоний со степенью свечения микроорганизмов установлено, что яркое сияющее свечение периферии клетки (++++) отмечается у больных с количеством выделенных колоний от 5 000 до 10 000, умеренное свечение (++) наблюдалось при числе выросших колоний, равном 1000 – 3 000. Отдельные светящиеся клетки обнаружены при наличии 100 - 250 клеток в поле зрения.

Культуральная диагностика имеет решающее значение в постановке диагноза урогенитального кандидоза. Обнаружение гриба в исследуемом материале не всегда имеет абсолютное значение. Необходима оценка по количественным и качественным показателям (степень обсемененности, морфологические, биохимические признаки) с учетом клинической картины заболевания. Для получения культур *Candida* применяют твердые и жидкие питательные среды с углеводами. Идентификация полученных культур дрожжеподобных грибов основывается на изучении морфологических признаков бактериальных клеток и внешнего вида выросших колоний. Характерными для каждого вида грибов являются гигантские колонии.

Для диагностики кандидозной инфекции используются различные серологические реакции: РА - реакция агглютинации, РСК – реакция связывания комплемента, РП - реакция преципитации, РПГА – реакция пассивной гемагглютинации. Из комплекса серологических исследований наиболее существенное значение имеет РСК с дрожжевыми антигенами. У большинства больных РСК с дрожжевыми антигенами бывает положительной с небольшим титром антител (1:10, 1:16). Реакция агглютинации более специфична при использовании аутоштамма – культуры гриба, выделенного от больного. Диагностическим титром РА при кандидозах считается разведение сыворотки более, чем 1:100.

Для исследования состояния клеточного иммунитета при кандидозах применяются реакции с грибковыми антигенами *in vitro*: ППН – показатель повереждаемости нейтрофилов, РБТЛ – реакция бласттрансформации, реакция Иерне-Клемпарской - аутоиммунного локального гемолиза или бляшкообразующих клеток, тест Шелли – модификация теста дегрануляции базофилов.

Методом ИФА определяют IgE –антитела против *Candida albicans* во влагалищных смывах у женщин. Наиболее высоким является титр IgE-антител к серотипу А, который составляет 83% все штаммов *Candida albicans*.

С помощью геномной дактилоскопии ДНК в полимеразной цепной реакции проводится идентификация клинических штаммов *Candida albicans*. Метод ПЦР может применяться для эпидемиологического изучения большого числа патогенных штаммов.

При постановке диагноза урогенитального кандидоза микроскопические, культуральные, серологические, иммунологические, иммуноферментные исследования играют роль только в комплексе с клинической картиной заболевания.

БАКТЕРИАЛЬНЫЙ ВАГИНОЗ.

Бактериальный вагиноз – инфекционное заболевание влагалища, характеризующееся выделениями с неприятным запахом, при отсутствии признаков воспаления слизистой. Бактериальный вагиноз – это наиболее распространенное заболевание среди вагинальных инфекций и самая частая причина аномальных влагалищных выделений. По данным мировой статистики на долю заболевания приходится от 30% до 50% всей патологии нижних отделов мочеполового тракта. Вопрос о значении полового пути передачи бактериального вагиноза на сегодняшний день окончательно не решен.

Микрофлора влагалища при бактериальном вагинозе характеризуется большим количеством и разнообразием. Изменения экосистемы влагалища выражаются в замещении доминирующих в микрофлоре микроорганизмов рода *Lactobacillus* ассоциацией различных бактерий, в том числе микроаэрофильных *Gardnerella vaginalis* и *Mycoplasma hominis*, анаэробов (*Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Peptostreptococcus*, *Mobiluncus*). При бактериальном вагинозе эти микроорганизмы обнаруживаются в количествах, в 100- 1000 раз превышающих норму.

Gardnerella vaginalis некоторое время считали единственным этиологическим агентом, и заболевание называли соответственно - гарднереллез.

Бактерии рода *Mobiluncus* – анаэробные грамвариабельные высокоподвижные палочки – могут служить маркером заболевания. Они обнаруживаются в высоком титре в вагинальном секрете больных женщин, по меньшей мере в 50% случаев, в то время как у здоровых не выявляются вообще. Известно, что янтарная кислота, продуцируемая *Mobiluncus species* и некоторыми видами *Bacteroides*, снижает миграцию нейтрофилов к бактериям, особенно при снижении кислотной среды, что угнетает иммунный ответ. Многими исследователями высказывается гипотеза о подавлении нормальной реакции слизистой на инфекцию ферментами и метаболитами облигатных анаэробов, в колоссальных количествах находящихся во влагалище женщин, страдающих бактериальным вагинозом. Этим объясняется отсутствие воспаления влагалища при бактериальном вагинозе.

Неприятный, напоминающий запах гниющей рыбы, запах влагалищного содержимого объясняется наличием летучих аминов, являющихся продуктами жизнедеятельности неспорообразующих анаэробов: метиламин, изобутиламин, путресцин, кадаверин, гистамин, тирамин, диметиламин и, прежде всего, триметиламин. Характерно, что гарднерелла не продуцирует амины. Предполагают, что при бактериальном вагинозе существуют симбиотические отношения между гарднереллой и анаэробами.

Гарднерелла способствует увеличению роста анаэробов, которые в свою очередь декарбоксилируют аминокислоты, увеличивая тем самым концентрацию аминов во влагалищном содержимом.

Последствием уменьшения или отсутствия физиологических лактобацилл является недостаточное количество молочной кислоты и повышение рН влагалищной среды (сдвиг в сторону щелочной реакции).

Механизмы, вызывающие изменение вагинальной экосистемы и развитие бактериального вагиноза, в настоящее время изучены недостаточно. Существует несколько гипотез, согласно которым придается значение микробному антагонизму, гормональным факторам, иммунологическим нарушениям.

Клинические проявления заболевания характеризуются следующими признаками:

- Обильные однородные кремообразные влагалищные выделения серовато-белого цвета, прилипающие к стенкам влагалища
- Выделения часто имеют неприятный («рыбный») запах, который возникает в результате распада аминов, вырабатываемых анаэробными бактериями
- Половина пациенток жалуются на зуд и жжение в области преддверия влагалища, а также на неприятные ощущения при половом акте (диспареуния).

Почти у 50% пациенток может быть асимптомное течение, при котором жалобы отсутствуют.

Лабораторное подтверждение диагноза бактериального вагиноза осуществляется измерением рН влагалищного отделяемого, постановкой аминотеста, методом микроскопии мазка, окрашенного по Граму, и нативных препаратов с определением ключевых клеток. Критерии для диагностики бактериального вагиноза были предложены R.Amsel и соавт. (1983) и в дальнейшем они получили международное признание (Международный симпозиум, Стокгольм, 1984).

Диагностические критерии бактериального вагиноза:

1. Обнаружение ключевых клеток

Ключевые клетки являются патогномичным признаком бактериального вагиноза. В нативных препаратах обнаруживаются плоские эпителиальные клетки, к поверхности которых прикрепляются гарднереллы, придавая им характерный «приперченный вид». Окрашивание метиленовым синим усиливает контраст. При окраске по Граму гарднереллы характеризуются грамвариабельностью.

Кроме того, в исследуемых мазках отсутствуют лактобациллы и полиморфноядерные лейкоциты, присутствует разнообразная бактериальная флора.

2. Гомогенные кремообразные влагалищные выделения

Влагалищные выделения – наличие гомогенных, светло-серого цвета, кремообразных, имеющих запах рыбы выделений, прилипающих к стенке влагалища, тягучих, иногда слегка пенистых. Слизистая влагалища под ними обычной окраски. При присоединении другой инфекции цвет и консистенция белей могут меняться.

3. Изменение рН влагалища до 4,5 и выше

У женщин, больных бактериальным вагинозом, в результате продукции флорой аминов рН влагалища возрастает до 4,5 и выше. Величина рН может быть легко определена с помощью погружения пинцетом рН бумаги в секрет заднего или бокового свода влагалища. Этот тест обладает высокой чувствительностью (80-98%), но малоспецифичен (50-70%).

4. Аминовый тест

При добавлении одной или двух капель выделений к 1-2 каплям 5-10% гидрооксида калия на предметном стекле, возникает запах гниющей рыбы (аминовый запах).

Как минимум **наличие трех** из вышеперечисленных критериев может служить основанием для установления диагноза бактериального вагиноза. Многие клиницисты при постановке диагноза полагаются только на наличие ключевых клеток, но этот признак не столь специфичен, как оценка всех четырех критериев.

Самым доступным, недорогим и точным лабораторным тестом является окраска влагалищного секрета по Граму. Для интерпретации мазка, окрашенного по Граму, необходимо выполнить два условия: определить наличие «ключевых клеток» и преобладание немолочнокислых бактерий. Мазок рассматривается при 400-кратном увеличении: если количество морфотипов немолочнокислых бактерий превышает количество молочнокислых в большинстве наблюдаемых полей и если «ключевые клетки» наблюдаются не менее чем в 2 из 20 полей, ставится диагноз бактериального вагиноза. Вагинальные эпителиальные клетки, покрытые лактобациллами, «ключевыми клетками» не считаются. Чтобы клетка была отнесена к «ключевым», ее границы должны быть полностью покрыты бактериями (кокками, гарднереллами). Предложено оценивать количество морфотипов микроорганизмов, выделяя 4 категории: 1+ (1 в поле зрения); 2+ (1-5 в поле зрения); 3+ (6-30 в поле зрения); 4+ (более 30 в поле зрения).

При бактериальном вагинозе количество морфотипов лактобацилл в мазке (крупные грамположительные бациллы) снижено (1+ или 2+), а количество других морфотипов (гарднереллы, анаэробы) увеличено (3+ или 4+). Выделение чистой культуры *Gardnerella vaginalis* не рекомендуется, так как от 3% до 58% женщин (по разным данным) без бактериального вагиноза имеют довольно высокий уровень этих микроорганизмов во влагалищном секрете.

Критерием излеченности бактериального вагиноза считается исчезновение всех выявленных симптомов заболевания по окончании курса лечения. Однако неполное восстановление влагалищной экосистемы может способствовать рецидиву бактериального вагиноза в последующем.

МОЧЕПОЛОВОЙ ХЛАМИДИОЗ.

Мочеполовой хламидиоз является, по данным экспертов ВОЗ и ведущих специалистов по ИППП, самым распространенным из негонококковых уретритов. Ежегодно мочеполовым хламидиозом (МХ) заболевают около 90 млн. человек. Хламидийная инфекция мочеполового тракта является в настоящее время главной причиной бесплодия в браке. Мужчины болеют хламидийными уретритами в три раза чаще, чем гонорейными, на долю хламидийных поражений приходится не менее 50% случаев негонококковых уретритов. У 20-25% женщин с воспалительными заболеваниями половых органов выявляется двойная инфицированность гонококками и хламидиями.

Возбудителем мочеполового хламидиоза является *Chlamidia trachomatis*, у отдельных больных дискутируется этиологическая роль *Chlamidia psittaci*, которая может поражать и птиц. Известно 15 серотипов *Chlamidia trachomatis*, патогенных для человека. Серотипы А-С вызывают трахому, серотипы D-К вызывают поражения глаз, синовиальных оболочек, поражения мочеполового тракта у мужчин и женщин, болезнь Рейтера. Серотипы L1, L2, L3 вызывают четвертую венерическую болезнь – венерическую лимфогранулему.

Поскольку хламидии не имеют собственной АТФ, то они вынуждены получать энергию от других клеток, то есть хламидии – это облигатные внутриклеточные паразиты, их еще называют энергетическими паразитами.

По своему строению хламидии обладают клеточной стенкой, ДНК, РНК, рибосомами, ферментами, общим родоспецифическим белком, а рост их тормозится антибиотиками широкого спектра. В настоящее время хламидии относят к бактериям, отряд Chlamidiales, род Chlamidia. Имеют вид мелких грамотрицательных кокков.

Различают 2 основные формы развития хламидий: элементарные и ретикулярные (инициальные) тельца. Элементарные тельца – это высокоинфекционная форма внеклеточного существования микроорганизма, ответственная за процесс прикрепления к клетке-мишени и проникновения в нее. Размеры ее около 0,2 мкм в диаметре. Ретикулярные тельца – это неинфекционная форма внутриклеточного существования микроорганизма, это крупные (0,5 – 1 мкм), метаболически активные формы микроорганизма, синтезирующие ДНК, РНК, белки.

Элементарные тельца имеют ригидную клеточную стенку, отличаются устойчивостью к факторам окружающей среды, выживают после лизиса клетки-хозяина и перехода от клетки к клетке, от хозяина к хозяину, сохраняют патогенность в течение 24-36 часов при температуре тела.

Элементарное тельце после прикрепления к эпителиальной клетке уретры проникает в нее, подвергается морфологическим изменениям, превращаясь в большое ретикулярное тельце. Последние делятся пополам внутри расширяющейся эндосомы, которая принимает вид микроколонии, известной под названием «хламидийных включений». После деления ретикулярные тельца реорганизуются, превращаясь в новое поколение элементарных частиц (200-400 штук). При этом происходит полный лизис клетки-хозяина или экзоцитоз хламидий, позволяющий элементарным тельцам инициировать новый инфекционный цикл, который длится в целом 48-72 часа (это определяется характером штамма, клетки – хозяина и условиями окружающей среды).

Наряду с типичным течением инфекции мочеполовой хламидиоз может протекать как «персистирующая инфекция», когда отсутствуют явный рост и размножение хламидий, они существуют в измененном состоянии и отличаются от типичных внутриклеточных форм и культурально не выявляются.

Хламидии в целом чувствительны к высокой температуре, быстро инактивируются при высушивании, но лучше переносят действие низких температур (при -20 - -70 градусах сохраняются до 10 месяцев). Они быстро погибают от действия обычных дезинфицирующих средств (2% лизола, 0,1% иодата калия, 2% хлорамина и др.)

Впервые хламидии были выделены из очагов воспаления мочеполовой сферы в 1959 году, а причиной воспаления их стали считать после серьезных исследований, выполненных в 1963-1964 годах. Семидесятые годы ознаменовались разработкой высокочувствительных методов диагностики хламидийных поражений мочеполовых органов.

Пути заражения. Хламидиозом мочеполовых органов болеют исключительно люди. Заражаются им почти исключительно половым путем, особенно при случайных добрых и внебрачных половых связях с малознакомыми половыми партнерами. У 50% больных хламидии встречаются в ассоциации с другими патогенными микроорганизмами.

Источники заражения – мужчины и женщины с бессимптомной хламидийной инфекцией, в том числе и со смешанной гонорейно-хламидийной и другими инфекциями. Дети могут заразиться через предметы и даже руки, загрязненные выделениями из глаз или половых органов больного. Возможно внутриутробное инфицирование хламидиями плода, или заражение новорожденных во время родов при продвижении плода через поврежденную хламидиями шейку матки.

Течение заболевания и его проявления. Инкубационный период при хламидиозе длится от 5 до 30 дней, в среднем – 3 недели.

Данная инфекция не имеет патогномичных симптомов, клиническая картина мочевого хламидиоза зависит от времени с момента инфицирования, локализации поражения, выраженности общих и местных реакций макроорганизма.

Обычно первыми очагами инфекции являются слизистая уретры у мужчин и канал шейки матки у женщин.

Различают острое, подострое, хроническое и скрытое или персистирующее течение хламидийной инфекции. Выделяют еще и случаи носительства хламидий.

У больных острым хламидиозом отмечается гиперемия слизистой оболочки уретры или шейки матки, иногда учащаются позывы к мочеиспусканию, появляются слизисто-гнойные выделения из мочеиспускательного канала или влагалища.

При подостром и хронической течении хламидиоза больные могут жаловаться на зуд в области мочеиспускательного канала, умеренные слизистые или слизисто-гнойные выделения, чаще в виде утренней капли, незначительные рези при мочеиспускании.

При скрытом течении больные могут долгое время не знать о своей болезни, и, как правило, выявляются активно при медосмотрах или при обследовании половых контактов больных.

У мужчин хламидийный воспалительный процесс может распространяться на предстательную, парауретральные и куперовы железы, семенные пузырьки, придатки яичек, яички. У женщин, кроме шейки матки, хламидийный процесс может поразить уретру, матку, маточные трубы, яичники, могут возникнуть перитонит, цистит, а нередко и воспаление прямой кишки. Хламидийный проктит у мужчин обычно является следствием гетеросексуальных половых контактов и клинически может протекать бессимптомно, но чаще характеризуется слабыми болями в прямой кишке, тенезмами, слизистыми, иногда слизисто-гнойными выделениями.

У больных смешанной хламидийно-трихомонадной инфекцией хламидии захватываются трихомонадами и остаются жизнеспособными в их телах около 2 суток, иногда бывая причиной рецидивов уретрита после противотрихомонадного лечения.

У отдельных больных развивается особая форма хламидийной инфекции – **болезнь Рейтера**, для которой характерно одновременное поражение мочеиспускательного канала, глаз и суставов (уретро-окуло-синовиальный синдром). Чаще болеют мужчины, особенно носители наследственного антигена гистосовместимости HAV-27 (около 7% населения нашей климатической зоны).

Синдром Рейтера может быть неполным: уретрит + конъюнктивит, уретрит + артрит.

Первые признаки болезни Рейтера у большинства заболевших – явления уретрита, появившиеся через 2-3 недели после случайной половой связи. Уретрит чаще протекает подостро и рано осложняется хламидийным простатитом. Хламидии, паразитируя внутри клеток названных очагов поражения, способствуют развитию аутоиммунных реакций, образованию циркулирующих иммунных комплексов, которые в дальнейшем «оседают» в тканях пораженных суставов, глаз, кожи и предстательной железы.

Если первая стадия болезни Рейтера обусловлена в основном хламидиями (их даже удается обнаружить в пораженных органах на этой стадии болезни), то во второй стадии развитие воспаления обусловлено прежде всего аутоиммунными процессами.

Болезнь Рейтера иногда может заканчиваться самоизлечением спустя 2-3 месяца, но чаще принимает длительное рецидивирующее течение. Суставная атака может длиться 2-6 месяцев, когда явления уретрита и конъюнктивита уже давно и полностью исчезли в процессе лечения.

Применяемые в настоящее время методы лечения не предохраняют большинство больных от повторных атак (рецидивов) спустя 1-2 года после лечения.

Лабораторная диагностика мочевого хламидиоза.

Для обнаружения хламидий необходимо получить соскоб с пораженных воспалением тканей мочеполовых органов, прямой кишки, экссудат суставной жидкости. Больной перед взятием материала из уретры должен задержать мочеиспускание на 1-2 часа, а при обильных гнойных выделениях взятие материала осуществляется через 15-20 минут после мочеиспускания.

Используются следующие методы диагностики:

1. Микроскопический метод, с целью обнаружения цитоплазматических включений хламидий в эпителиальных клетках препаратов, окрашенных по Романовскому-Гимзе. Окраска включений – от розово-красного (мелкие структуры) до сине-фиолетового (крупные ретикулярные тельца). Метод позволяет выявить от 10 до 20% случаев хламидийной инфекции, да и то в руках опытного лаборанта.
2. Метод прямой иммунофлюоресценции (ПИФ или РИФ) с использованием моноклональных антител против основного белка наружной мембраны Chl. Trachomatis. Метод высокоспецифичен, очень чувствителен, прост и быстр в исполнении (ответ через 30-40 минут), вот почему в большинстве стран он стал основным методом диагностики.
3. Метод иммуноферментного анализа- это спектрофотометрический метод, простой в постановке, материал для исследования легко транспортируется, может храниться, определение автоматизировано, одновременно может исследоваться большое количество проб. Метод, однако, менее специфичен и чувствителен, чем ПИФ.
4. Посев инфекционного материала на культуру клеток McCoу. Этот метод называют «золотым стандартом» для диагностики Chl.trachomatis, так как он имеет 100% специфичность. Это единственный метод, пригодный для оценки эффективности лечения. Недостатки – дорог, требует наличия специальной вирусологической лаборатории, трудоемкий (48-72 часа на одно исследование), большая частота ложноотрицательных результатов.
5. Метод ДНК-зондов: его преимущества – быстрота получения результатов, удобен для транспортировки и обработки больших партий препаратов, высокая специфичность – 98-100%, но чувствительность ниже, чем ПИФ -78-97%. Дает ошибки при вялотекущей инфекции.
6. Исключительно чувствительным методом диагностики генитальной хламидийной инфекции является метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), выявляющий инфекцию по нескольким молекулам ДНК. Иногда приводит к гипердиагностике хламидиоза.
7. Лигазная цепная реакция (ЛЦР) – является, как и ПЦР, еще одним методом молекулярно-биологической диагностики. Амплификация ДНК возбудителя ведется с использованием термостабильной ДНК-лигазы, выделенной из бактерий *Thermophilus*. Метод высокоспецифичен и высокочувствителен.
8. Для экспресс-диагностики хламидийной инфекции нередко используется в ряде стран ферментспецифическая реакция. Ее принцип: при наличии в материале от пациента специфической пептидазы хламидий синтетический субстрат расщепляется непосредственно на тампоне, и продукт реакции окрашивается в пурпурный цвет после добавления проявляющего реагента. Метод прост и может использоваться прямо в кабинете врача.

Критерии излеченности урогенитального хламидиоза:

Установление излеченности урогенитального хламидиоза следует проводить с учетом метода диагностики. Культуральное исследование должно проводиться не ранее, чем через 2-3 недели после лечения в связи с возможностью ложноотрицательных результатов, а при использовании РИФ – через 1 месяц после лечения. Прямой иммунофлюоресцентный тест, выполненный ранее 3-4 недель после лечения, может дать ложноположительный результат из-за возможности сохранения нежизнеспособных микроорганизмов. Через месяц проводится повторное исследование. Лабораторные обследования до и после лечения целесообразно проводить в одной и той же лаборатории, используя одни и те же диагностические тесты.

УРОГЕНИТАЛЬНЫЕ МИКОПЛАЗМОЗЫ.

Среди микроорганизмов мочеполового тракта человека существенное место занимают мико- и уреоплазмы, при этом они могут выступать как в качестве комменсалов, так и возбудителей заболеваний урогениталий, то есть являются условно патогенными.

Микоплазмы выделены в отдельный класс микроорганизмов, отличный от бактерий и вирусов.

В отличие от бактерий у микоплазм отсутствует ригидная клеточная стенка, имеющаяся клеточная мембрана сходна с мембраной клеток организма-хозяина, характерен выраженный полиморфизм, микоплазмы способны проходить через бактериальные фильтры ввиду малых размеров клетки и генома (1/10 часть генома *E.coli*). В отличие от вирусов микоплазмы имеют клеточное строение, растут на искусственных питательных средах, чувствительны к антибиотикам.

Микоплазмы существуют за счет синтеза веществ эукариотическими клетками. Патогенность микоплазм связана с их биологическими свойствами, малыми размерами клетки и генома, отсутствием клеточной стенки, сходным строением клеточной мембраны с мембранами клеток организма хозяина. Отсутствие клеточной стенки и малые размеры микоплазм обеспечивают их тесное прилегание или внедрение в мембрану клеток хозяина. Это делает их более защищенными от воздействия гуморальных и клеточных факторов иммунитета: структурное сходство мембран микоплазм и мембран клеток хозяина ведет к «маскировке» антигенов микоплазм и, как следствие, к худшему их распознаванию иммунной системой и к аутоиммунизации. Поскольку реакции антиген-антитело происходят в непосредственной близости к поверхности клеток эпителия, то образующиеся иммунные комплексы и продукты обмена микоплазм (перекиси, нуклеазы и др.) ведут к повреждению и даже разрушению клеток эпителия мочеполового тракта.

В связи с отсутствием клеточной стенки у микоплазм они абсолютно резистентны к антибиотикам пенициллинового ряда и цефалоспорином, антибактериальный эффект которых связан с ингибированием клеточной стенки. Они устойчивы также к сульфаниламидам, рифампицину, триметоприму, налидиксовой кислоте.

Род микоплазм насчитывает около 75 видов, из них 15 видов вегетируют в организме человека, причем достоверно патогенным является один вид – *Mycoplasma pneumoniae*. Три вида – *M.hominis*, *M.genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* (в англоязычной литературе – Т-микоплазма) могут быть патогенными при определенных условиях.

Генитальные микоплазмы являются условно патогенными микроорганизмами. Это подтверждается сравнительно частым обнаружением их у практически здоровых лиц (*M.hominis* – у 12-17%, *Ur.urealyticum* – у 21-26 % мужчин). Факторами риска инфицирования *Ur.urealyticum* являются: молодой возраст, большое количество половых партнеров, низкий социально-экономический статус пациентов. Более частое обнаружение уреоплазм во время беременности может быть связано со стимуляцией их размножения эстрогенами.

Сегодня известно, что в патологии человека могут играть роль 7 серотипов микоплазм и 14 серотипов уреоплазм. Первое сообщение о выделении уреоплазм у мужчин с первичным и рецидивирующим негонекокковым уретритом появилось в 1954 году. С тех пор активно изучается этиологическая роль уреоплазм при НГУ, синдроме Рейтера, простатитах, камнях мочевого пузыря и почек, воспалительных заболеваниях органов малого таза, артритах, бесплодии. Получены бесспорные доказательства повреждающего действия уреоплазм на сперматозоиды. В большинстве случаев бесплодие мужчин при уреоплазмозе обратимое.

Заражение мико- и уреоплазмозом происходит почти исключительно половым путем. Как и при других НГУ мочеполовой микоплазмоз не имеет характерной клинической картины, так как воспалительный процесс при микоплазмозе многолик – от острого до малосимптомного, возможно и микоплазмонительство.

Инкубационный период при микоплазмозе дискутируется – от 3 до 50 дней, но чаще около 7-16 дней.

У мужчин микоплазменная инфекция может поражать мочеиспускательный канал, парауретральные ходы, простату, семенные пузырьки, придатки яичек и мочевого пузыря. Воспаление может протекать остро, подостро и торпидно, течение каждого из этих вариантов напоминает по симптоматике аналогичные фазы гонорейного процесса. У большей части больных микоплазменный уретрит протекает торпидно. Больной отмечает склеивание губок уретры по утрам после ночного сна, наличие слизистых хлопьев в моче, а выделений может и не быть. Уретрит часто переходит в хронический, то есть длящийся более 2 месяцев. Субъективно больной отмечает чувство зуда или щекотания в уретре, воспаление губок уретры может и не выявляться. Выделения из уретры непостоянны, их объем увеличивается после приема алкоголя, половым возбуждений, острой пищи.

Клиника микоплазменных простатитов, везикулитов, орхоэпидидимитов напоминает аналогичные процессы при гонорее.

Диагностика уrogenитального микоплазмоза.

Диагноз уrogenитального микоплазмоза устанавливают только на основании лабораторного обнаружения возбудителя. Самым распространенным методом диагностики является культуральный. Материалом для посева служит отделяемое уретры, сок простаты, семенная жидкость, реже – свежесобранная моча. В качестве питательной среды используют триптический перевар бычьего сердца с добавлением сыворотки крови и дрожжевого экстракта. При культивировании *Ur.urealyticum* в среду добавляется мочевины. Культуральная диагностика осуществляется двухэтапно. Первоначально делают посев на жидкую питательную среду с индикатором (феноловым красным или бромтимоловым синим). В процессе жизнедеятельности *M.hominis* преобразовывает аргинин в орнитин с выделением аммиака и изменяется окраска индикатора на 2-3-и сутки. *Ur.urealyticum* выделяет фермент уреазу, которая расщепляет мочевины с выделением аммиака, который ощелачивает среду и изменяет цвет индикатора с желтого на красный или синий уже к концу первых суток. После этого каплю жидкой цветной среды засевают на чашки Петри с плотной средой. При росте микоплазм спустя 1-3 суток появляются характерные для каждого вида микроколонии, которые выявляются под малым увеличением микроскопа. Колонии 200-300 мкм напоминают яичницу-глазунью. Колонии уреоплазм более мелкие (20-30 мкм), а если в среде имеется сульфат марганца, то колонии приобретают коричнево-черный цвет в отличие от колоний *M.hominis*.

Другие методы диагностики: ПЦР, РИФ, ИФА применяются реже, прежде всего по причине их большей стоимости.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА.

1. Адашкевич В.П. Инфекции, передаваемые половым путем. – Нижний Новгород: Изд-во НГМА, Москва: Медицинская книга, 2001. – 416 с.
2. Адашкевич В.П. Синдром вагинальных выделений (вульвовагинальные инфекции: бактериальный вагиноз, трихомониаз, кандидоз).- Мн.: ООО «Мэджик Бук», 2004. – 56 с.
3. Барановская Е.И., Жаворонок С.В., Захаренкова Т.Н., Шаргаева Н.В. Диагностика различных клинических форм хламидийной генитальной инфекции у женщин // Медицинские новости, 2004 . - № 2. – С. 46 – 51.
4. Брагина Е.Е. , Дмитриев Г.А., Кисина В.И. Структурно-функциональные особенности жизненного цикла хламидий *in vivo* // Вестник дерматологии. – 1995. - № 6.- С.18-21.
5. Венерические болезни / Руководство для врачей / Под ред. О.К.Шапошникова. – М.: Медицина. 1991. – 544 с.
6. Гладкова Н.С., Киселев В.И., Дарижапова Б.Д. и др. Оценка методов лабораторной диагностики урогенитальных микоплазм // Вестник дерматол., 2002. - №2. - С.43-45.
7. Европейские стандарты диагностики и лечения заболеваний, передаваемых половым путем. – М.: Мед. лит., 2003. – 272 с.
8. Ильин И.И. Негонококковые уретриты у мужчин. – М.: Медицина, 1991. – 288 с.
9. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз (клиника, диагностика, лечение): Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. – С.-Петербург, 1995 . – 44 с.
10. Клименко Б.В. Трихомониаз.- Л.: Медицина,1987. – 160 с.
11. Методические материалы по диагностике и лечению наиболее распространенных инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), и ассоциированных с ними заболеваний/ Под ред. Серова В.Н., Кубановой А.А. – М., 2001. – 40 с.
12. Методы микробиологической диагностики и лечения урогенитальных хламидиозов: методические рекомендации.- Минск, 1998. - 34 с .
13. Новиков Д.К., Железняк Н.В., Жаворонок С.В., Генералов И.И. Пособие по иммунологии. - Витебск, 1996 . – 124 с.
14. Овчинников Н.М. Лабораторная диагностика заболеваний, передаваемых половым путем.- М.: Медицина, 1987.
15. Ориэл Дж.Д., Риджуэй Дж.Л. Хламидиоз. – Пер. с англ.- Москва, Медицина, 1987. – 304 с.
16. Сергеев А. Ю., Сергеев Ю. В. Кандидоз: природа инфекции, механизмы агрессии и защиты, диагностика и лечение. М.: Триада-Х. 2000, 440
17. Скрипкин Ю.К., Кубанова А.А., Дмитриев Г.А. и др. Современные подходы к диагностике хламидиоза // Вестн. дерматол. – 1996. - № 4. – С.26-29.
18. Тихомиров А.Л., Олейник Ч.Г. Кандидозный вульвовагинит (патогенез, клиника, диагностика, современные принципы терапии): методическое пособие для врачей акушеров-гинекологов. – М., 2003. – 24 с.
19. Туранова Е.Н., Частикова А.В., Антонова Л.В. Гонорея женщин. – М.: Медицина, 1983. – 144 с.
20. Хилькевич Н.Д., Скороход Г.А. Методы лабораторной диагностики урогенитальных микоплазмозов: методические рекомендации. – Минск, 1999 . – 20 с.
21. Amsel R., Totten P.A., Spiegel C.A. et al. Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiological associations. *Am.J.Med.*1983; 74:14.

22. Fouts A.C., Kraus S.J. *Trichomonas vaginalis*: re-evaluation of its clinical presentation and laboratory diagnosis. *J.Infect.Dis.*1980; 141:137-143.
23. Kreiger J.N., Tam M.R., Stevens C.E. et al. Diagnosis of trichomoniasis: comparison of conventional wet-mount examination with cytological studies, cultures, and monoclonal antibody staining of direct specimens. *JAMA*, 1988; 259; 1223-7.
24. Nugent R.P., Krohn M.A., Hillier S.L. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standartised method of Gram stain interpretation. *J. Clin. Microbiol.* 1991; 29: 297.
25. Sherrard J. National guideline for the management of *Trichomonas vaginalis*. *Sex. Trans. Inf.*, 1999; 75 (suppl.1): S21-S23.

ОГЛАВЛЕНИЕ

	стр.
Мотивационная характеристика темы	3
Требования к исходному уровню знаний	3
Контрольные вопросы по теме занятия	3
Гонорея	4
Лабораторная диагностика гонореи	4
Трихомониаз	7
Лабораторная диагностика трихомониаза	9
Урогенитальный кандидоз	10
Лабораторная диагностика урогенитального кандидоза	11
Бактериальный вагиноз	13
Диагностические критерии бактериального вагиноза	14
Мочеполовой хламидиоз	15
Лабораторная диагностика мочеполового хламидиоза	18
Урогенитальные микоплазмы	19
Диагностика микоплазмозов	20
Рекомендуемая литература	21

Учебное издание

Евсеенко Ирина Анатольевна

**ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ,
ПЕРЕДАВАЕМЫХ ПОЛОВЫМ ПУТЕМ**

Учебно-методическое пособие

Ответственный за выпуск И.А. Евсеенко
Редактор
Компьютерная верстка