

---

# Сравнительная оценка аналитической чувствительности методов микроскопии (нативного и окрашенного препаратов) и амплификации нуклеиновых кислот (ПЦР и НАСБА в реальном времени) при обнаружении *Trichomonas vaginalis*

П.Г. РЫЖИХ, А.Е. ГУШИН<sup>1</sup>, Ю.А. САВОЧКИНА

<sup>1</sup>ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

## Comparative evaluation of analytical sensitivity of microscopic methods (wet mount and fixed) and nucleic acid amplification assays (real time PCR and NASBA) for the detection of *Trichomonas vaginalis*

P.G. RYZHIKH, A.E. GUSHCHIN, YU.A. SAVOCHKINA

Federal state unitary enterprise "Central Research Institute of Epidemiology", Russian Federal Consumer Rights Protection and Human Health Control Service (Rosпотребнадзор)

---

В настоящее время существуют три основных метода для лабораторного выявления *Trichomonas vaginalis*: микроскопия нативного или окрашенного препаратов, культуральное исследование и выявление нуклеиновых кислот *T. vaginalis* с помощью методов амплификации нуклеиновых кислот. Целью исследования явилось прямое сравнение пределов обнаружения *T. vaginalis* с помощью микроскопии нативного и окрашенных препаратов и коммерческих наборов реагентов марки Амплисенс, производства ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора на основе методов ПЦР и НАСБА в реальном времени. Установлено, что значения предела обнаружения методов ПЦР и НАСБА в реальном времени в 100—1000 раз ниже по сравнению с методом микроскопии, что обеспечивает методу амплификации нуклеиновых кислот значительно более высокую аналитическую чувствительность.

*Ключевые слова:* *Trichomonas vaginalis*, ПЦР, НАСБА, микроскопия.

There are three principal methods currently used in our country and worldwide to detect *Trichomonas vaginalis*, viz. microscopic study of native and stained preparations, culturing of microorganisms, and identification of their nucleic acids by the nucleic acid amplification (NAA) techniques. The objective of the present study was to directly compare detection limits for *T. vaginalis* using microscopy of native or stained preparations and Amplisens commercial assay kits (manufactured by the Central Research Institute of Epidemiology) for real time PCR and NASBA. It was shown that detection limits of real time PCR and NASBA are 100—1000 lower than those of the microscopic techniques. It suggests a higher analytical sensitivity of NAA assays.

*Key words:* *T. vaginalis*, PCR, NASBA, microscopy.

---

Лабораторные методы играют важнейшую роль в обследовании пациентов с подозрением на инфекции, передаваемые половым путем (ИППП). Долгое время согласно приказу №1570 от 4 декабря 1986 г. [1] регламентированными методами диагностики трихомониаза считали микроскопию нативного или окрашенного препаратов и культуральное исследование. На основании лабораторного выявления *T. vaginalis* с использованием указанных методов диагноз инфекции можно было считать правомочным. Однако приказом №398 от 23.12.03 [2] приказ №1570 от 4.12.86 был признан недействующим, и в настоя-

щее время нормативно-правовая база диагностики мочевого трихомониаза отсутствует. Разработка новых регламентирующих документов должна базироваться на объективных данных об аналитических и диагностических характеристиках различных лабораторных методов.

В последние годы во всем мире в лабораторной диагностике различных инфекций, в том числе ИППП, все большее распространение стали получать методы амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), направленные на выявление специфических фрагментов ДНК или РНК возбудителей. В на-

шей стране наиболее распространенным МАНК является метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Неоднократно в зарубежных исследованиях [3–5] при сравнении методов диагностики трихомонадной инфекции было показано, что диагностическая чувствительность ПЦР выше не только таковой микроскопии, но и культурального посева у пациентов как с клиническими проявлениями инфекции, так и у бессимптомных лиц. При этом наибольшей эффективностью обладает метод ПЦР в реальном времени. Кроме метода ПЦР, для выявления *T. vaginalis* за рубежом, был предложен метод определения рибосомальной РНК (рРНК) на основе реакции транскрипционной амплификации (Transcription-Mediated Amplification — ТМА). На основе данного метода за рубежом уже на протяжении многих лет применяются коммерческие тесты для диагностики инфекций, вызванных *S. trachomatis* и *N. gonorrhoeae*. Достоинством данного метода является возможность выявлять прежде всего жизнеспособных возбудителей. Кроме того, благодаря высокому содержанию в клетках возбудителей рРНК метод позволяет обнаруживать в клиническом материале очень малые количества микроорганизмов.

В нашей стране в ряде работ [6, 7] была показана более высокая диагностическая чувствительность метода ПЦР по сравнению с традиционными методами диагностики, в первую очередь микроскопией. В настоящее время несколькими отечественными производителями выпускаются коммерческие тесты на основе метода ПЦР для выявления ДНК *T. vaginalis*. Сравнительно недавно в ФГУН ЦНИИ эпидемиологии был разработан тест, который является аналогом зарубежного теста выявления рРНК *T. vaginalis* ТМА (Gen-Probe, США), — Амплисенс *T. vaginalis*-РИБОТЕСТ на основе реакции транскрипционной амплификации НАСБА (Nucleic acid sequence-based amplification — NASBA). Данный тест прошел процедуру государственной регистрации и разрешен к использованию на территории Российской Федерации.

Однако, как было показано в зарубежных работах [8], эффективность метода ПЦР при выявлении *T. vaginalis* во многом зависит от выбранной генетической мишени простейшего, структуры используемых праймеров и гибридизационных зондов и других важных элементов тест-системы. В связи с этим для более объективной оценки разработанных и выпускаемых тестов необходимы объективные результаты сопоставления аналитических характеристик применяемых методов диагностики трихомониаза, среди которых одной из наиболее важных является предел обнаружения возбудителя.

Цель настоящего исследования — прямое сравнение пределов обнаружения *T. vaginalis* с помощью микроскопии нативного и окрашенных препаратов и коммерческих наборов реагентов марки Ампли-

сенс на основе методов ПЦР и НАСБА в реальном времени, выпускаемых ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора — Амплисенс *Trichomonas vaginalis*-Fl и Амплисенс *Trichomonas vaginalis*-РИБОТЕСТ.

## Материал и методы

Из клинического образца была получена свежая культура *T. vaginalis*. После микроскопического подтверждения наличия живых и подвижных трихомонад с типичной морфологией немедленно готовили серию последовательных 10-кратных разведений. Из каждого разведения отбирали аликвоты, которые параллельно исследовали с помощью микроскопии (нативного и окрашенного препаратов) и тестов на основе ПЦР и НАСБА, согласно установленным для каждого метода протоколам. Для объективизации результатов были получены две культуры (культура 1 и культура 2) от разных пациенток. Молекулярно-биологические и микроскопические тесты проводили в повторах. Схема эксперимента представлена на рисунке.

### Процедура получения культур клеток *T. vaginalis*

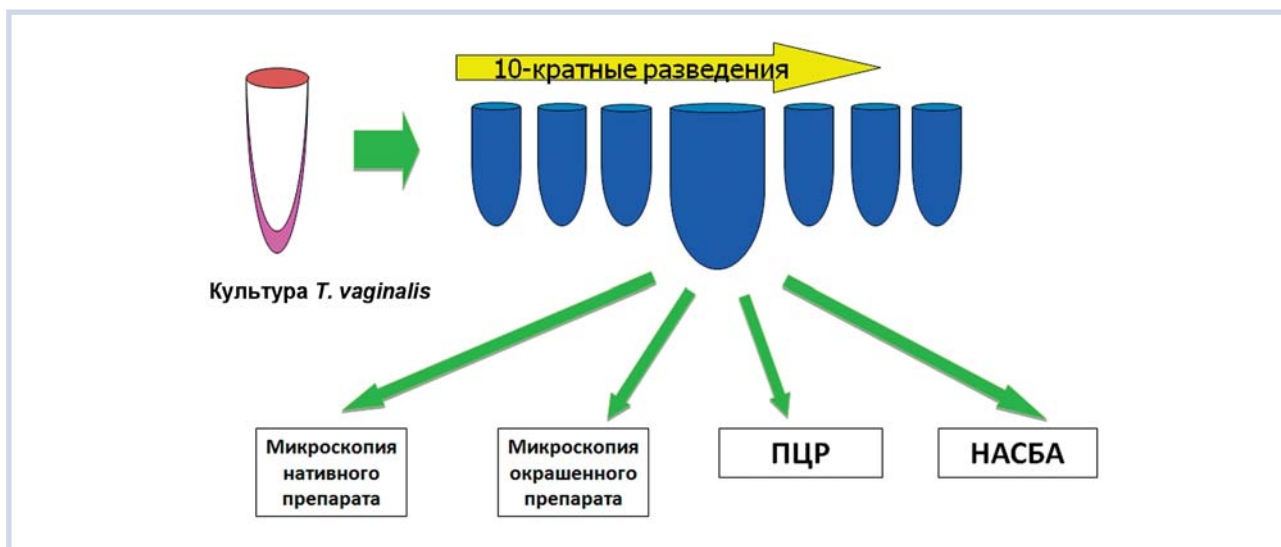
От пациенток, обратившихся в клиничко-диагностическую лабораторию ФГУН ЦНИИЭ, получали мазки из влагалища, материал помещали в жидкую питательную среду Vagicult (производства «Orion Diagnostica», Финляндия) и инкубировали в термостате при 37°C. В случае помутнения среды культивирования отбирали аликвоты и проводили микроскопическое исследование нативного препарата, и при обнаружении трихомонад (подвижные клетки грушевидной формы) полученные образцы использовали в дальнейшей работе.

### Приготовление серии разведений культур клеток *T. vaginalis*

Из полученных культур *T. vaginalis* со дна пробирки отбирали по 50 мкл суспензии простейших и переносили в 450 мкл стерильного физиологического раствора, нагретого до 37°C, после чего готовили серии 10-кратных последовательных разведений от 10<sup>-1</sup> до 10<sup>-8</sup>, отбирая по 50 мкл клеточной суспензии и перенося ее в следующую пробирку с 450 мкл стерильного и также нагретого до 37 °С физиологического раствора. Перед каждым перенесением клеточную суспензию перемешивали для равномерного распределения клеток по всему объему раствора. Из каждого разведения отбирали аликвоты по 10 мкл для нанесения на предметное стекло и по 100 мкл для исследования с использованием наборов реагентов на основе ПЦР и НАСБА.

### Микроскопическое исследование

Микроскопическое исследование *T. vaginalis* проводили двумя наиболее распространенными в



Модельный эксперимент по установлению предела обнаружения методов выявления *T. vaginalis*.

лабораторной практике методами — микроскопией нативного препарата и микроскопией фиксированного препарата, окрашенного по Романовскому—Гимзе. В обоих случаях процедуры выполняли согласно установленным в лабораторной практике протоколам в соответствии с методическими рекомендациями [9]. Из каждого разведения культуры 1 и культуры 2 готовили по два стекла для каждого метода микроскопического исследования.

#### *Микроскопия нативного препарата*

Для приготовления препарата на предметное стекло наносили 10 мкл клеточной суспензии. Каплю накрывали покровным стеклом и исследовали под микроскопом Olympus VX45TF при увеличении объектива 40 и окуляра 10. Исходные препараты просматривали в 5 полях зрения. Для последующих разведений вследствие уменьшения количества трихомонад просматривали 100 полей зрения. Трихомонады обнаруживались в виде образований грушевидной, реже овальной формы, с толчкообразным характером движений. Цитоплазма трихомонад была зернистой и вакуолизированной. Ядра не обнаруживались или были плохо различимы.

#### *Микроскопия окрашенного препарата*

Окраску проводили по Романовскому—Гимзе. Высушенный на воздухе мазок фиксировали смесью Никифорова (абсолютный этиловый спирт и эфир в соотношении 1:1). Раствор краски Романовского (азур-эозин) перед употреблением разводили дистиллированной водой в соотношении 0,3 мл на 10 мл воды и пипеткой наносили на горизонтально расположенные препараты на 30—40 мин. Затем их быстро промывали водой и высушивали. Исследование проводили с помощью микроскопа Olympus

VX45TF при увеличении объектива 90 и окуляра 10. Исходные препараты просматривали в 5 полях зрения. Для последующих разведений вследствие уменьшения количества трихомонад просматривали 100 полей зрения. В окрашенных препаратах трихомонады имели эксцентрично расположенное овальное пурпурно-фиолетовое ядро. Цитоплазма клеток окрашивалась в светло-синий цвет, вакуоли оставались бесцветными, оболочка клеток была четко заметна.

#### *Определение ДНК и РНК *T. vaginalis* методами ПЦР и НАСБА*

Исследование проводили с использованием коммерческих наборов реагентов марки Амплисенс производства ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. Данные наборы реагентов разрешены к использованию в клинической лабораторной практике. Все процедуры проводили в соответствии с инструкциями к указанным наборам реагентов. Образцы разведений культур непосредственно перед началом исследования перемешивали. Из каждой пробирки 3 раза отбирали по 100 мкл образца и переносили в отдельные стерильные пробирки и исследовали материал указанными методами. Согласно инструкциям к наборам реагентов в процессе исследования методом ПЦР из 100 мкл культуры получали 100 мкл очищенного препарата ДНК, из которых 10 мкл использовали в реакции амплификации, а в процессе исследования методом НАСБА из 100 мкл культуры получали 50 мкл очищенного препарата РНК, при этом в реакции амплификации использовали 5 мкл. Таким образом, объем клеточного материала был одинаков как для микроскопических, так и для молекулярных методов, использованных в работе.

### Исследование методом ПЦР в реальном времени

Исследование методом ПЦР включало три процедуры — экстракцию ДНК, проведение реакции амплификации и анализ результатов. Экстракцию ДНК проводили с помощью набора ДНК-Сорб-АМ (№ФСР 2007/00183 от 13.07.09). Для ПЦР-амплификации очищенной ДНК использовали набор реагентов АмплиСенс *T. vaginalis*-FL (№ФС 01262006/5190-06 от 29.12.06). Реакцию амплификации с детекцией в режиме реального времени проводили на приборе Rotor-Gene 6000 («Corbett Research», Австралия). Анализ результатов ПЦР-исследования проводили с учетом результатов контрольных образцов. Для контроля качества экстракции нуклеиновых кислот в каждый образец разведения добавляли внутренний контрольный образец (ВКО) — рекомбинантный препарат ДНК, продукт амплификации которого служил маркером эффективности исследования конкретного образца разведения. Результаты ПЦР-анализа считали положительными при наличии флуоресцентного сигнала, пересекающего пороговую линию.

### Исследование методом НАСБА в реальном времени

Для проведения реакции НАСБА в реальном времени использовали набор реагентов АмплиСенс *T. vaginalis*-РИБОТЕСТ (№ФСР 2010/07305 от 22.04.10), который включал набор для экстракции РНК РИБОТЕСТ-Сорб и набор для амплификации участка 18S рРНК *T. vaginalis* РИБОТЕСТ-НАСБА. Полученные данные анализировали с учетом результатов контрольных образцов. Как и в случае ПЦР-исследования, процедуру НАСБА-исследования проводили в присутствии ВКО, в качестве которого в данном случае использовали рекомбинантный препарат РНК. Результаты реакции НАСБА считали положительными при уровне сигнала флуоресценции, превышающем пороговое значение сигнала отрицательного контрольного образца.

### Установление предела обнаружения

Предел обнаружения при сравнении методов диагностики устанавливался как наибольшее разведение клеточной культуры, в котором трихомонады обнаруживались визуально при микроскопии либо обнаруживались их нуклеиновые кислоты методами ПЦР и НАСБА. При микроскопическом исследовании выявление даже одного простейшего с типичной морфологией *T. vaginalis*, хотя бы на одном из двух стекол рассматривали как положительный результат. При молекулярно-биологическом исследовании положительный результат на ДНК или РНК хотя бы в одном из трех повторов считали положительным.

## Результаты и обсуждение

Сравнения разных методов диагностики трихомониаза неоднократно проводились в нашей стране и за рубежом, но прямых экспериментов, устанавливающих предел обнаружения того или иного метода, ранее не проводилось. Однако именно предел обнаружения или аналитическая чувствительность метода в значительной степени определяют и диагностическую чувствительность. Результаты проведенного нами исследования представлены в таблице.

Чем ниже предел обнаружения, тем выше аналитическая чувствительность, которая обуславливает возможность выявлять возбудитель инфекции у обследованных, даже при его низкой концентрации в клиническом материале. Результаты исследования разведений из культуры 1 и культуры 2 свидетельствуют о том, что исходное количество простейших в культурах значительно отличалось, однако соотношение установленных пределов обнаружения совпадало. В культуре 1 предел обнаружения трихомонад с помощью микроскопии нативного препарата соответствовал разведению  $10^{-2}$ , в то время как в культуре 2 при этом разведении подвижных простейших обнаружено не было. При микроскопии окрашенного препарата предел обнаружения был ниже по сравнению с нативными препаратами для обеих культур и составил  $10^{-3}$  для культуры 1 и  $10^{-2}$  для культуры 2.

Молекулярные методы продемонстрировали еще более низкие значения пределов обнаружения. При разведениях культуры 1 ДНК определялась в одном из трех ПЦР-тестирований разведения  $10^{-5}$ , а РНК — во всех повторах разведения  $10^{-6}$ . В культуре 2 пределы обнаружения для методов ПЦР и НАСБА соответствовали разведениям  $10^{-4}$  и  $10^{-5}$ . Полученные таким образом результаты объективно свидетельствуют о том, что аналитическая чувствительность молекулярно-биологических методов в 100—1000 раз выше таковой микроскопических методов.

В настоящее время во всем мире, в том числе и в нашей стране, существуют три основных метода для лабораторного выявления *T. vaginalis*: микроскопия нативного или окрашенного препаратов, культуральное исследование и выявление нуклеиновых кислот (ДНК или РНК) *T. vaginalis* с помощью МАНК. Проведенное специалистами ФГУ ГНЦД Росмедтехнологий анкетирование лабораторий КВД Российской Федерации показало, что микроскопическое исследование является преобладающим методом при установлении диагноза трихомониаза. В 56% лабораторий применяется культуральное исследование и в 35,1% лабораторий для диагностики трихомониаза используется метод ПЦР [10].

Согласно методическим рекомендациям, по микроскопическому исследованию при диагностике трихомониаза микроскопию следует проводить



Результаты сравнения пределов обнаружения методов выявления *T. vaginalis*\*

Разведения	Культура 1					Культура 2						
	ПЦР**	НАСБА***	микроскопия (нативный препарат)	микроскопия (окрашенный препарат)	ПЦР**	НАСБА***	микроскопия (нативный препарат)	микроскопия (окрашенный препарат)	ПЦР**	НАСБА***	микроскопия (нативный препарат)	микроскопия (окрашенный препарат)
Исходный	—	—	15 в п/з****	28 в п/з****	—	—	3,6 в п/з****	8,4 в п/з****	—	—	—	—
10 <sup>-1</sup>	3 из 3	3 из 3	31	61	3 из 3	3 из 3	7	18	—	—	6,2 в п/з****	11 в п/з****
10 <sup>-2</sup>	3 из 3	3 из 3	4	29	3 из 3	3 из 3	0	0	—	—	0	0
10 <sup>-3</sup>	3 из 3	3 из 3	6	27	3 из 3	3 из 3	0	3	—	—	0	0
10 <sup>-4</sup>	3 из 3	3 из 3	0	2	2 из 3	3 из 3	0	0	—	—	0	0
10 <sup>-5</sup>	1 из 3	3 из 3	0	5	0 из 3	3 из 3	0	0	—	—	0	0
10 <sup>-6</sup>	0 из 3	3 из 3	0	0	0 из 3	0 из 3	0	0	—	—	0	0
10 <sup>-7</sup>	0 из 3	0 из 3	0	0	0 из 3	0 из 3	0	0	—	—	0	0
10 <sup>-8</sup>	0 из 3	0 из 3	0	0	0 из 3	0 из 3	0	0	—	—	0	0

\* Для каждой точки разведения клеточной суспензии при микроскопии просматривали два препарата, ПЦР и НАСБА проводили трижды. В результатах для ПЦР и НАСБА указано количество положительных результатов из трех тестирований.

\*\* АмплиСенс *T. vaginalis*-FL.

\*\*\* АмплиСенс *T. vaginalis*-РИБОТЕСТ».

\*\*\*\* Для исходного препарата приведены средние значения клеток *T. vaginalis* в 1 поле зрения. Для последующих разведений представлено суммарное количество обнаруженных клеток *T. vaginalis* в 100 полях зрения.

сначала при малом увеличении ( $\times 100$ ) и исследовать не менее 10 полей зрения. В своем исследовании при проведении модельного эксперимента мы полностью следовали данным рекомендациям, воспроизводя ситуацию с клиническим материалом. Однако в условиях модельного эксперимента мы были избавлены от наличия в образцах типичного содержимого клинического материала (клетки разных типов эпителия, лейкоциты, грибковая и микробная микрофлора и продукты ее жизнедеятельности), которое может значительно затруднять обнаружение клеток простейших, тем самым снижая чувствительность метода и повышая субъективизм исследования. Еще одним важным допущением явилось то, что при минимальных концентрациях простейших исследование проводилось более детально, чем это может быть в реальной практике врача-лаборанта. В нашем эксперименте мы заранее знали, что в материале могут содержаться трихомонады и несмотря на то что методические рекомендации предписывают исследование 5—10 полей зрения, по мере увеличения разведения культуры мы исследовали до 100 полей зрения. Следует подчеркнуть, что при микроскопическом исследовании учитывались лишь результаты, основанные на визуализации клеток только с типичной морфологией влагалищных трихомонад, а при микроскопии нативного препарата учитывался и характер их движения. Поскольку исследование проводилось в кратчайшие после приготовления разведений сроки, скорость потери подвижности простейшими не выходила за рамки той, которая бывает при рутинном лабораторном исследовании. Исходя из результатов сравнения пределов обнаружения двух видов методов микроскопии, мы сделали заключение о более высокой аналитической чувствительности микроскопии окрашенного препарата. Этому есть вполне объективное объяснение. При микроскопии нативного препарата важным диагностическим критерием является подвижность простейших, по мере потери подвижности трихомонады исключались из учета, несмотря на наличие других морфологических признаков. В данном случае мы строго придерживались как отечественных, так и международных рекомендаций.

Молекулярно-биологическое исследование методами ПЦР и НАСБА мы проводили с использованием коммерческих наборов реагентов марки АмплиСенс производства ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, которые используются в рутинной клинической лабораторной практике Российской Федерации. По результатам настоящей работы, чувствительность метода ПЦР при использовании ПЦР-тест-системы АмплиСенс *T. vaginalis*-FL оказалась существенно выше чувствительности метода микроскопии окрашенного препарата. Одной из причин такой высокой чувствительности является

высокая эффективность экстракции ДНК с помощью набора ДНК-Сорб-АМ, который обеспечивает максимально полное удаление ингибиторов ПЦР при минимальных потерях ДНК. Второй причиной высокой чувствительности ПЦР является использование в указанном наборе праймеров, позволяющих амплифицировать участок ДНК-повторов в геноме *T. vaginalis* (*Trichomonas vaginalis* repeated DNA target for PCR identification, GenBank: L23861.1). Помимо того, что указанные участки генома высокоспецифичны для *T. vaginalis* и отсутствуют у других видов трихомонад, их количество составляет  $10^2$ — $10^3$  на геном [11].

Реакция транскрипционной амплификации НАСБА в данном исследовании использовалась вследствие ее отличительных особенностей, которые дают ей преимущество перед другими методами, включая ПЦР. В первую очередь это использование в качестве мишени для амплификации фрагмента рРНК, что позволяет дополнительно повысить аналитическую чувствительность за счет того, что количество копий рРНК, входящей в состав рибосом, может достигать от нескольких тысяч до нескольких десятков тысяч на клетку. Метод НАСБА как независимый высокочувствительный молекулярно-биологический метод может выступать в роли референсного теста и использоваться в лабораторной практике в спорных случаях, когда результаты других прямых тестов выявления трихомонад не совпадают.

Важно отметить, что в отличие от микроскопического метода, для которого были созданы в некотором смысле идеальные условия, методика и процедура при исследованиях разведений культур методами ПЦР и НАСБА не отличались от таковых при работе с клиническим материалом, на что указывали значения контролей, использованных в молекулярных методах и свидетельствующие о качестве тестирования образцов. Это позволяет считать проведенное исследование адекватной моделью для экстраполяции полученных результатов на ситуацию в рутинном лабораторном исследовании клинического материала.

## Выводы

Полученные данные объективно показывают, что наборы реагентов для ПЦР и НАСБА АмплиСенс *T. vaginalis*-FL и АмплиСенс *T. vaginalis*-РИБОТЕСТ в реальном времени для выявления нуклеиновых кислот *T. vaginalis* имеют значительно более низкий предел обнаружения и, следовательно, более высокую аналитическую чувствительность, показатели которой в 100 и 1000 раз соответственно выше аналитической чувствительности метода микроскопии при исследовании нативного и окрашенного препаратов. Таким образом, результаты лабо-

раторного исследования, проведенного на основе использованных в работе наборов реагентов для ПЦР и НАСБА, более объективно указывают на на-

личие или отсутствие трихомонадной инфекции по сравнению с микроскопическими методами.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Приказ Минздрава СССР от 4 декабря 1986 г. №1570 «Об улучшении выявления больных гонореей и трихомониазом в акушерских и гинекологических отделениях (палатах, кабинетах), женских консультациях и урологических кабинетах поликлиник». М 1986.
2. Приказ Минздрава РФ от 23.12.02 г. №398 «Об утверждении перечня приказов Минздрава СССР, признанных не действующими на территории Российской Федерации, по разделу «Охрана материнства и детства». М 2002.
3. *Ryu J.S., Chung H.L., Min D.Y. et al.* Diagnosis of Trichomoniasis by Polymerase Chain Reaction. *Yonsei Med J* 1999;40:1:56—60.
4. *Schwebke J.R., Lawing L.F.* Improved detection by DNA amplification of *Trichomonas vaginalis* in Males. *J Clin Microbiol* 2002;40:10:3681—3683.
5. *Patel S.R., Wiese W., Patel S.C. et al.* Systematic review of diagnostic tests for vaginal trichomoniasis. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2000;8:5—6:248—257.
6. *Симещенко И.Е., Михайлов Н.В., Лаврентьев И.А.* Результаты обнаружения трихомонад культуральным методом и полимеразной цепной реакции. В кн.: Генодиагностика инфекционных болез-
- ней. Всероссийская научно-практическая конференция, 5-я: Труды. М: Медицина 2004;1:117—118.
7. *Мавзютов А.Р., Мустафина Г.Р., Никоноров Ю.М., Хисматулина З.Р.* Сравнительная оценка информативности методов лабораторной диагностики трихомониаза у мужчин. *Рос журн кожн и вен бол* 2010;5:51—54.
8. *Crucitti T., Van Dyck E., Tehe A. et al.* Comparison of culture and different PCR assays for detection of *Trichomonas vaginalis* in self collected vaginal swab specimens. *Sex Transm Infect* 2003;79:5:393—398.
9. *Соколовский Е.В., Кисина В.И., Савичева А.М. и др.* Клиническая интерпретация результатов микроскопического метода диагностики урогенитальных инфекций: рекомендации для врачей. Ст-Петербург 2010;88.
10. *Фриго Н.В., Ротанов С.В., Лесная И.Н. и др.* Лабораторная диагностика ИППП в Российской Федерации. Результаты национального исследования. *Вестн дерматол и венерол* 2008;5:33—41.
11. *Paces J., Urbánková V., Urbánek P.* Cloning and characterization of a repetitive DNA sequence specific for *Trichomonas vaginalis*. *Mol Biochem Parasitol* 1992;54:2:247—255.