

Λοιμώξεις γεννητικού συστήματος

Σταυρούλα Μπάκα

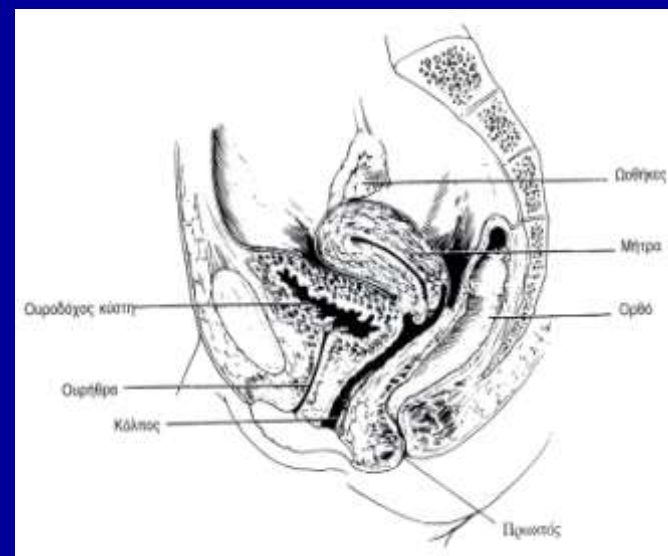
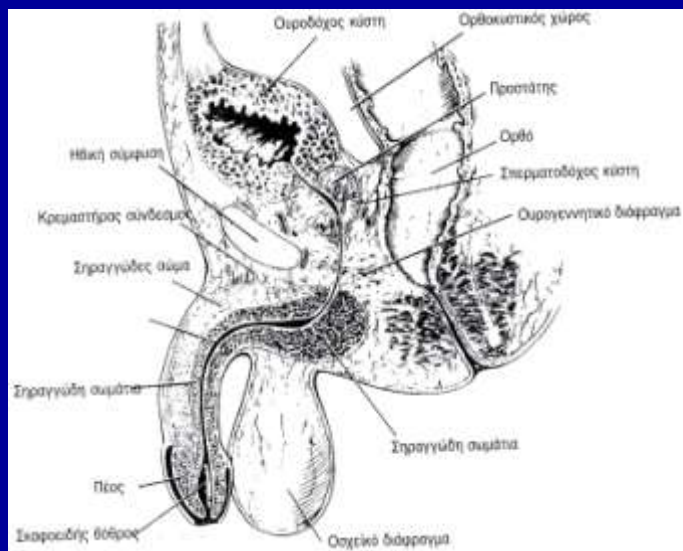
Επ. Καθηγήτρια

12 - 2 - 2013

- Οι λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω της συχνότητάς τους αλλά και των σοβαρών προβλημάτων που δημιουργούν.
- Οι λοιμώξεις αυτές προκαλούνται από μια πληθώρα μικροοργανισμών.

Λοιμώσεις γεννητικού συστήματος

1. Σεξουαλικά μεταδιδόμενες νόσοι
2. Κολπίτιδες (εκτός των σεξουαλικά μεταδιδόμενων)
3. Άλλες λοιμώσεις του γεννητικού συστήματος της γυναίκας
4. Λοιμώσεις του γεννητικού συστήματος του άνδρα (εκτός των σεξουαλικά μεταδιδόμενων)



Ουρογεννητικό σύστημα του άνδρα και της γυναίκας

(Από Πάνος Ν. Ζηρογιάννης, Κλινική Νεφρολογία, Ιατρικές Εκδόσεις Τεχνόγραμμα, 2005)

Φ.Χ. ΤΟΥ ΚΟΛΠΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΗΛΙΚΙΑ (σε φθίνουσα σειρά συχνότητας)

- Γαλακτοβάκιλλοι
- *S. epidermidis*
- *G. vaginalis*
- Διφθεροειδή
- Πεπτοστρεπτόκοκκοι
- *Bacteroides* spp
- Αερόβιοι στρεπτόκοκκοι (εκτός ομάδας A)
- *E. coli*
- *Veillonella* spp
- *Fusobacterium* spp
- *Clostridium* spp
- *Candida* spp
- Άλλα Gram-αρνητικά βακτηρίδια
- *S. aureus*
- *S. agalactiae*

(Reese RE & Betts RF: A practical approach to infectious diseases, 1991)

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.2 Συχνότητα απομόνωσης (%) των αερόβιων μικροβίων της χλωρίδας του κόλπου στις διάφορες ηλικίες

ΜΙΚΡΟΒΙΑ	ΗΛΙΚΙΕΣ ¹			
	α	β	γ	δ
Gram-θετικοί κόκκοι				
Κοαγκουλάση-αρνητικοί σταφυλόκοκκοι	84	41-60	40	36
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	1-5	3	6
Στρεπτόκοκκοι ομάδας D	8	15-27	24	
Στρεπτόκοκκος ομάδας B	12	5-20	13	44
Στρεπτόκοκκοι άλλων ομάδων	40	25-54	3-37	
Gram-θετικά βακτηρίδια				
<i>Lactobacillus</i> spp	40	45-90	97	52
<i>Corynebacterium</i> spp	80	31-60	26	12
<i>Gardnerella vaginalis</i>	12	20-58		4
Gram-αρνητικά βακτηρίδια				
<i>Escherichia coli</i>	16	9-24	3	28
<i>Klebsiella</i> spp	8		3	2
<i>Pseudomonas</i> spp	8			
Μύκητες	28	12	16	8

1: α: κορίτσια, β: γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας, γ: έγκυες, δ: μετά την εμμηνόπαυση. Όπου δεν αναφέρονται ποσοστά δεν υπάρχουν στοιχεία.

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.3 Συχνότητα απομόνωσης (%) των αναερόβιων μικροβίων της χλωρίδας του κόλπου στις διάφορες ηλικίες¹

ΜΙΚΡΟΒΙΑ	ΗΛΙΚΙΕΣ ¹			
	α	β	γ	δ
Gram-θετικοί κόκκοι				
<i>Peptostreptococcus prevotii</i>	60	25-27	36	
<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i>	24	10-29	42	
<i>Peptostreptococcus magnus</i>	4	23	42	
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	56	14-32	16	
<i>Peptostreptococcus productus</i>	8	8		
<i>Peptostreptococcus micros</i>		4-10	3	
Gram-θετικά βακτηρίδια				
<i>Eubacterium spp</i>	32	4-36	5	4
<i>Propionibacterium spp</i>	4	5-14	13	
<i>Bifidobacterium spp</i>	8	5-15	0	0
<i>Clostridium spp</i>	48	5-18	0	6
<i>Lactobacillus spp</i>	4	43-60	10	12
Gram-αρνητικά βακτηρίδια				
<i>Prevotella melaninogenica</i>	20	15-36	8	
<i>Prevotella oralis</i>	8	18	0	
<i>Prevotella bivia</i>		34-40		
<i>Prevotella disiens</i>		15-16		38
<i>Bacteroides ureolyticus</i>			21	
<i>Bacteroides fragilis</i>	24	5-13	3	
<i>Bacteroides capillosus</i>		4-5		
Άλλα είδη <i>Bacteroides</i>	44		16	
<i>Fusobacterium spp</i>	4	10-23	0	10
Gram-αρνητικοί κόκκοι				
<i>Veillonella spp</i>		9-22		16

1: Όπως το 1 στον Πίνακα 9.2.

Διακυμάνσεις στη Φ.Χ. του γεννητικού συστήματος της γυναίκας

	↑ ↑	↓ ↓
Προεφηβεία	Εντεροβακτηριακά	Γαλακτοβάκιλλοι
Αναπαραγωγική ηλικία: - 1 ^ο μισό του κύκλου - 2 ^ο μισό του κύκλου	Αναερόβια, Εντεροβακτηριακά, Στρεπ. ομάδας Β Γαλακτοβάκιλλοι, Gram (+) αερόβια	
Εγκυμοσύνη	Γαλακτοβάκιλλοι, <i>Candida</i> spp	Αναερόβια
Εμμηνόπαυση	Αερόβια Gram (-) βακτ (κυρίως <i>E. coli</i>)	Γαλακτοβάκιλλοι
Χρήση αντισυλληπτικών - διάφραγμα - ενδομητρικά σπειράματα - per os	<i>E. coli</i> Αναερόβια, Στρεπτόκοκκοι ομάδας Β Γαλακτοβάκιλλοι, <i>Candida</i>	
Χρήση αντιβιοτικών	Εντεροβακτηριακά, Μύκητες	Γαλακτοβάκιλλοι
Χειρ/κή γυναικολογική επέμβαση	Εντεροβακτηριακά, <i>Bacteroides</i>	Γαλακτοβάκιλλοι

(Reese RE & Betts RF: A practical approach to infectious diseases, 1991)

Παραπεμπτικό

- Ονοματεπώνυμο
- Θάλαμος
- ΑΜ
- Ηλικία
- Εγκυμοσύνη
- ΤΕΡ
- Πιθανή διάγνωση ή κλινικά συμπτώματα
- Δείγμα που αποστέλλεται
- Πιθανά παθογόνα που αναζητούνται

Κολπίτιδες (αναπαραγωγική ηλικία)

Αίτια

- **Μη ειδική:** *G. vaginalis*, **αναερόβια** (*Prevotella*, *Bacteroides*, *Mobiluncus*, *Peptostreptococcus*), *M. hominis*
- **Μυκητιασική:** *C. albicans* + non albicans είδη
- **Τριχομοναδική:** *T. vaginalis*

- *S. pyogenes*
- *S. aureus*
- Εντεροβακτηριακά
- *H. influenzae*
- *N. gonorrhoeae*

- *S. agalactiae*
- *L. monocytogenes*

Αιδιοκολπίτιδες - προεφηβική ηλικία

Αίτια

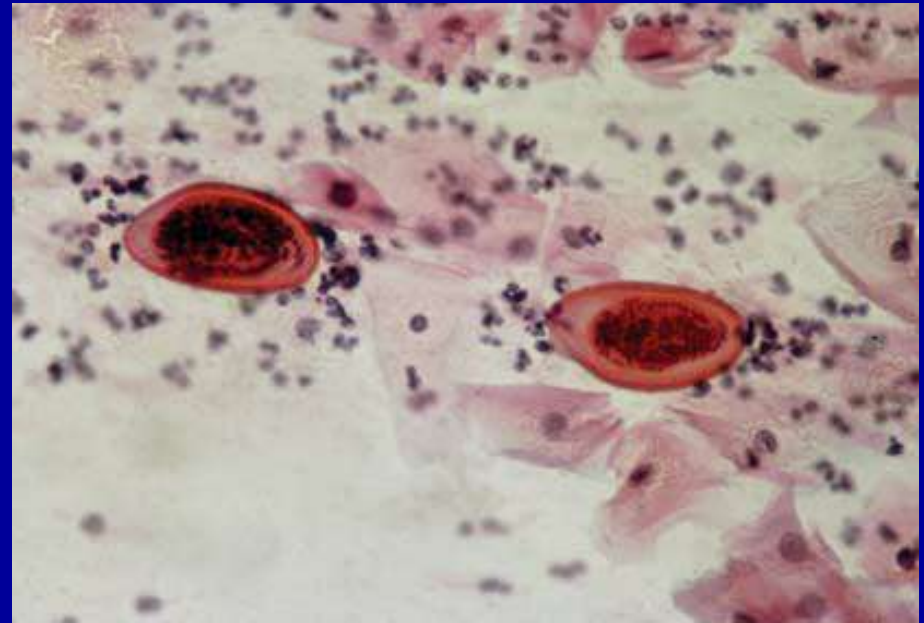
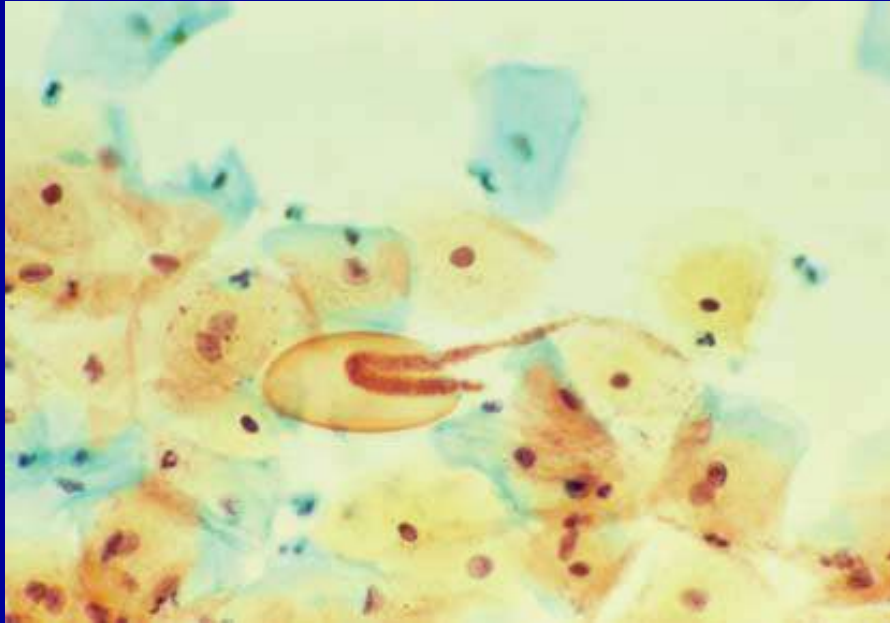


- *S. pyogenes*
- *S. aureus*
- *H. influenzae*
- *Enterococcus*
- *Shigella*
- *Salmonella*
- *Enterobius vermicularis*

- *Candida*
- *G. vaginalis*, αναερόβια, *M. hominis*
- Άλλα μυκοπλάσματα

- *N. gonorrhoeae*
- *C. trachomatis*
- *T. vaginalis*

πιθανή
σεξουαλική
κακοποίηση



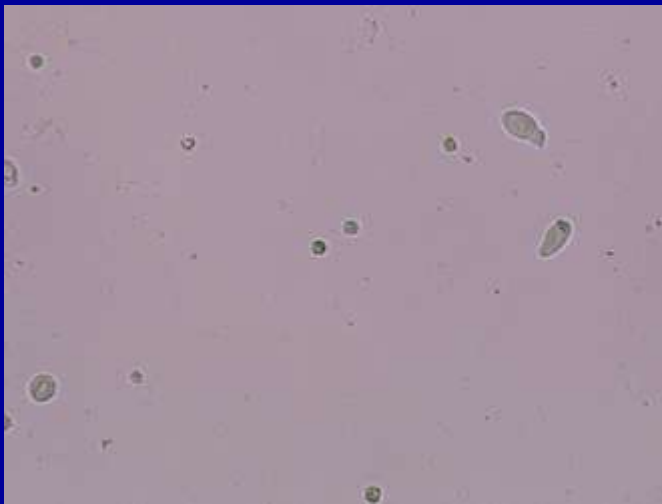
Enterobius vermicularis (Joishy et al, *BMJ*, 2005)

Κολπίτιδες (μετεμμηνοπαυσιακή ηλικία)

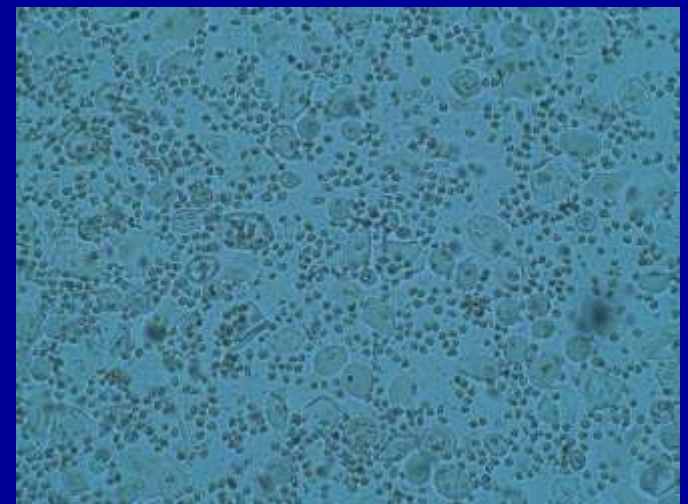
Αίτια

- Μυκητιασική: *C. albicans* + non albicans είδη
- Μη ειδική: *G. vaginalis*, ανασερόβια, *M. hominis*
- *C. trachomatis*
- *E. coli*
- *Klebsiella*
- *Proteus*
- *Enterococcus*

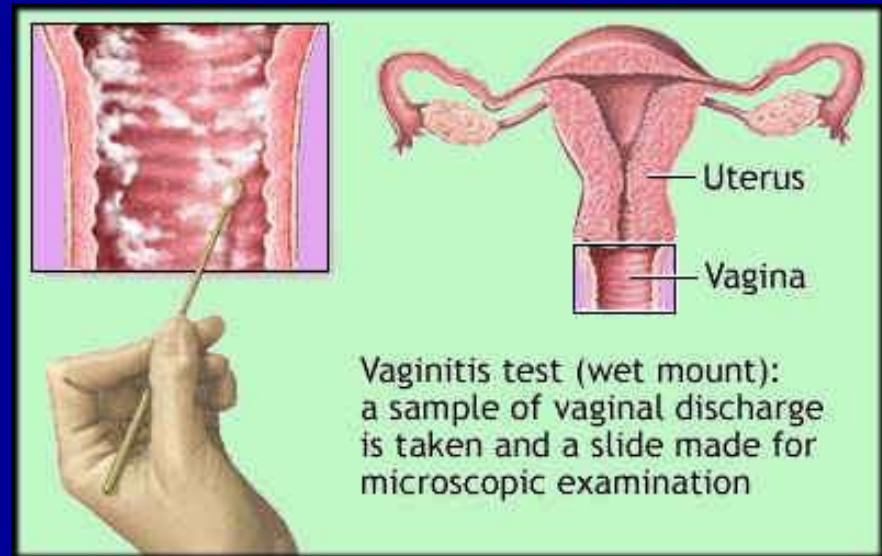
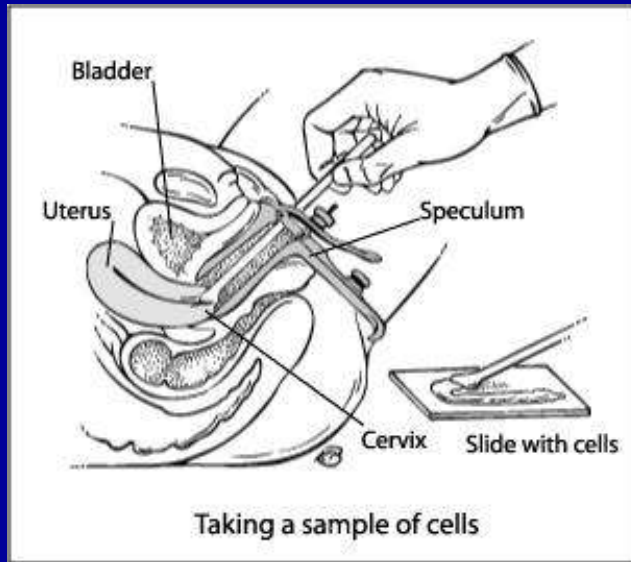
(Burton & Reid, 2002 / Devillard et al, 2004 / Health Protection Agency, 2005)



(Stika C, 2010)

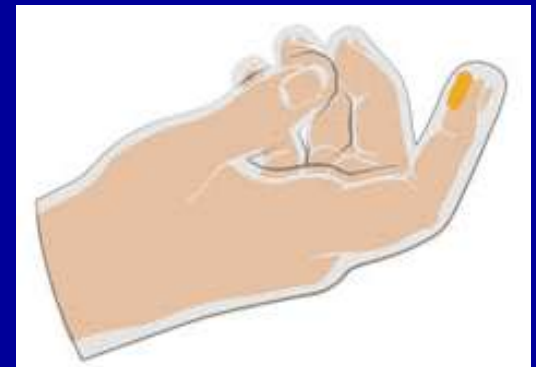


Κολπικό δείγμα Λήψη



(EME, 2001)

ρΗ ΤΟΥ ΚΌΛΠΟΥ



ΚΟΛΠΙΚΟ

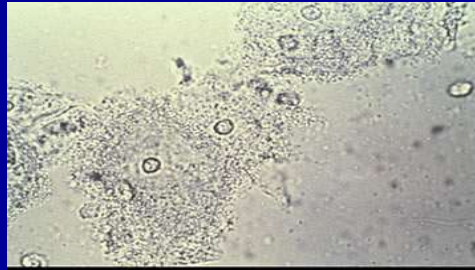
Άμεσο νωπό: φ.ο.



ΚΟΛΠΙΚΟ

Άμεσο νωπό: φ.ο. (<30'), ΚΟΗ 10% (>2')

- Πυοσφαίρια



- Clue cells



- *Trichomonas vaginalis*: κίνηση



- Μύκητες



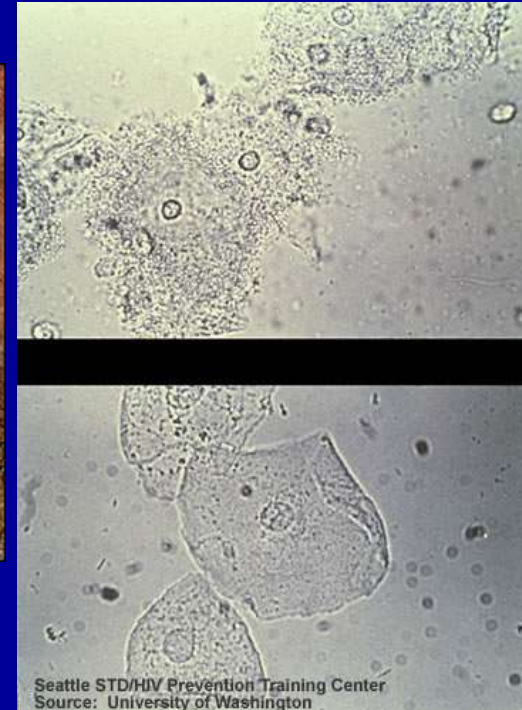
Μη ειδική κολπίτιδα

Κριτήρια Amsel (Amsel et al: Am J Med, 1983)

Δεν χρειάζεται κ/α !

Χρειάζονται 3 από τα ακόλουθα 4:

- λεπτό, γκριζόασπρο έκκριμα
- pH του κόλπου > 4,5
- οσμή «ψαρίλας» στο κολπικό έκκριμα μετά από προσθήκη ΚΟΗ 10% → παραγωγή πτητικών αμινών (**Whiff test**)
- «clue cells» σε **νωπό παρασκεύασμα**

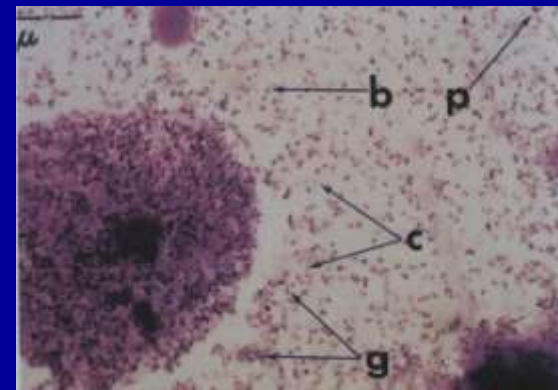


Μη ειδική κολπίτιδα

Κριτήρια Hay/Ison

(Hay & Ison, Sex Transm Infect, 2002), Gram χρώση x1000

- **Grade I: φυσιολογικό** (επικράτηση των γαλακτοβακίλλων)
- **Grade II: ενδιάμεσο**
(μικτή ανάπτυξη γαλακτοβακίλλων με άλλα είδη μικροβίων → αξιολόγηση με κλινικά στοιχεία ή/και επανάληψη)
- **Grade III: παθολογικό ⇔ BV**
(απουσία ή ελάχιστοι γαλακτοβάκιλλοι + ↑ αριθμό *G. vaginalis* και άλλων ειδών μικροβίων)



Μη ειδική κολπίτιδα

Κριτήρια Nugent (Nugent et al, J Clin Microbiol, 1991),
Gram χρώση x1000

Αριθμός γαλακτοβακίλλων	Βαθμός	Αριθμός Gardnerella + Prevotella	Βαθμός	Αριθμός Mobiluncus	Βαθμός
>30	0	>30	4	>30	4
5-30	1	5-30	3	5-30	3
2-4	2	2-4	2	2-4	2
1-2	3	1-2	1	1-2	1
0	4	0	0	0	0

Αξιολόγηση:

- **0-3: φυσιολογικό**
- **4-6: ενδιάμεσο:** πιθανή μη-ειδική κολπίτιδα (BV) → να αξιολογηθεί με κλινικά στοιχεία
- **> 6: παθολογικό:** μη-ειδική κολπίτιδα

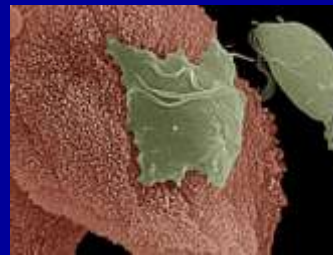


Table 8.1. Differentiating features of vaginal secretions in vaginitis syndromes

Syndrome	Etiologic agent	pH	Appearance	Odour	Direct microscopy
Bacterial Vaginosis	<i>G. vaginalis</i> , <i>M. hominis</i> , and mixed anaerobes in large numbers	>4.5, often 5.5–6.0	Milky white and uniform	Fishy (+ Whiff test)	Clue cells on Gram's stain
Trichomoniasis	<i>T. vaginalis</i>	5–5.5, sometimes higher	Yellow-green and frothy	Foul, fishy but does not enhance on Whiff test	Tumbling flagellates on wet prep
Candidiasis	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> in 3–5% of cases	<4.5	Thick, white, and pasty	Fermentative	Yeast and pseudohyphae on KOH

Τεστ για ταχεία ανίχνευση



Test Methodology: Colorimetric
Units in which test result is reported: Positive or Negative
Time to result: 2 minutes

Τριχομοναδική κολπίτιδα

- $\text{pH} \geq 5$



- Νωπό παρασκεύασμα (<30')



- Καλλιέργεια ("gold standard"):
 - υγρό θρεπτικό υλικό Diamond, 37° C, αεροβίως, 4 μέρες
 - Έτοιμα συστήματα κ/ας



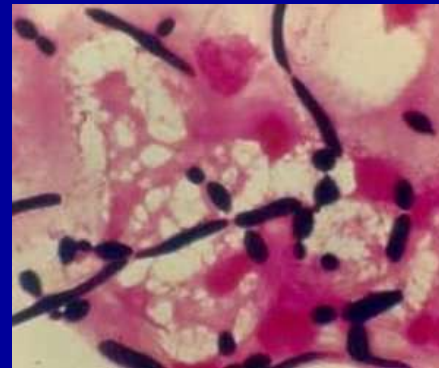
Μυκητιασική κολπίτιδα

- pH < 4,5

- Νωπό παρασκεύασμα ΚΟΗ 10% (>2')



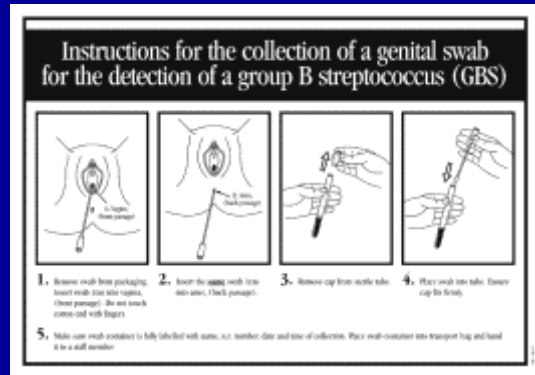
- Gram χρώση



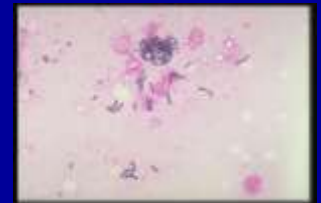
- Καλλιέργεια



Κολπικό δείγμα Εγκυμοσύνη

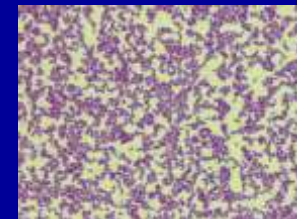


- *S. agalactiae* ⇒ κύηση: μετάδοση στο νεογνό:
φορεία (κόλπο και ορθό): 35 - 37 εβδ κύηση
 - Gram χρώση: Gram (+) κόκκοι σε στρεπτούς
 - Καλλιέργεια: αιματούχο άγαρ, 35°C, 24-48h
 - Μοριακές τεχνικές: NAAT

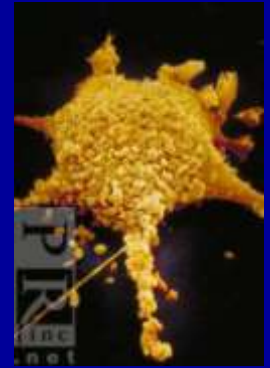


- *Listeria monocytogenes*

- Gram χρώση: Gram (+) βακτηρίδιο
- Καλλιέργεια: αιματούχο άγαρ, 35°C, 24-48h



Μυκοπλάσματα



- πολύ μικρά βακτηρίδια (0,3 x 0,7μm)
- πρόγονοι των Gram - θετικών αναεροβίων, προερχόμενα από τα κλωστηρίδια μετά από αλλαγή κάποιων γονιδίων
- διαθέτουν κυτταρική μεμβράνη, δεν έχουν κυτταρικό τοίχωμα → «Gram - μηδέν»
- *Ureaplasma urealyticum*: μη - γονοκοκκική ουρηθρίτιδα, επιδιδυμίτιδα, ορχίτιδα, πυελική φλεγμονώδη νόσο
- *Mycoplasma hominis*: μη-ειδική κολπίτιδα, πυελική φλεγμονώδη νόσο
- *M. genitalium*: μη - γονοκοκκική ουρηθρίτιδα στους άνδρες
- *M. fermentans*
- *M. spermatophilum*: ανιχνεύθηκε στα σπέρματα ανδρών με υπογονιμότητα επηρεάζοντας την κινητικότητα και την μορφολογία των σπερματοζωαρίων.

Μετάδοση

- είναι μέλη της ΦΧ της γυναίκας
- με σεξουαλική επαφή
- κάθετα από τη μητέρα, τόσο ενδομήτρια, όσο και στη γέννα
- έχουν συνδυαστεί με την HIV λοίμωξη

Κολπικό δείγμα

Μυκοπλάσματα

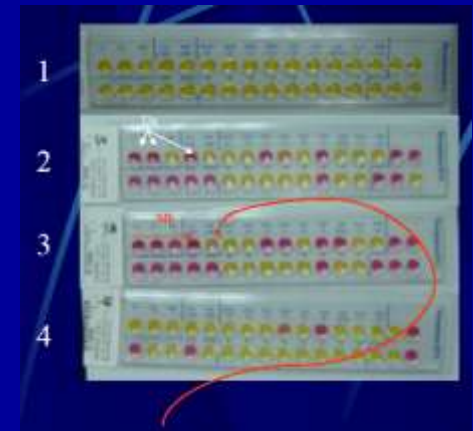
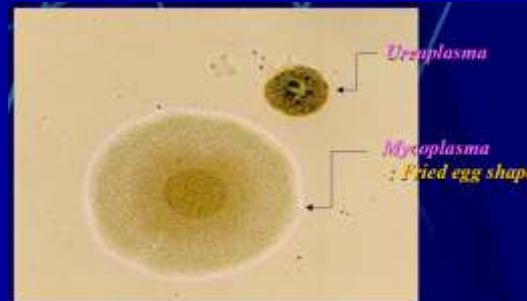
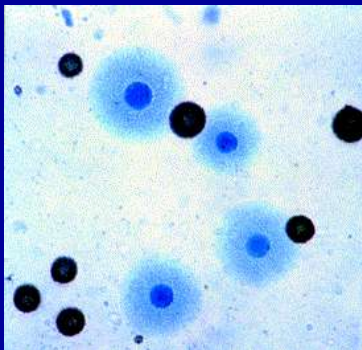
U. urealyticum, *M. hominis*, *M. genitalium*, *M. fermentans*

- Λήψη: **πλαστικό στυλεό**, τοποθέτηση σε υλικό μεταφοράς και συντήρησης (1 ml Hank's) **αφήνοντας το στυλεό μέσα στο σωληνάριο** ⇒ συντήρηση: 48 h, 2-8°C

- **Καλλιέργεια:**

- ζυμός ουρίας (Uu), αεροβίως, 24-48 h, 37°C.
- DNA-PPLO άγαρ (Mh) ή A7 (Mh και Uu), 37°C, 5-10% CO₂, 48h

Αποικίες: Uu = μικρές και μαύρες, Mh «σαν αυγά μάτια»



- Έτοιμα συστήματα ταυτοποίησης
- Μοριακές τεχνικές: **NAAT** (τεχνική ενίσχυσης νουκλεϊκού οξέος)

Τραχηλίτιδα

Κύρια αίτια

- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Chlamydia trachomatis*
- Μυκοπλάσματα (*U. urealyticum*, *M. hominis*)

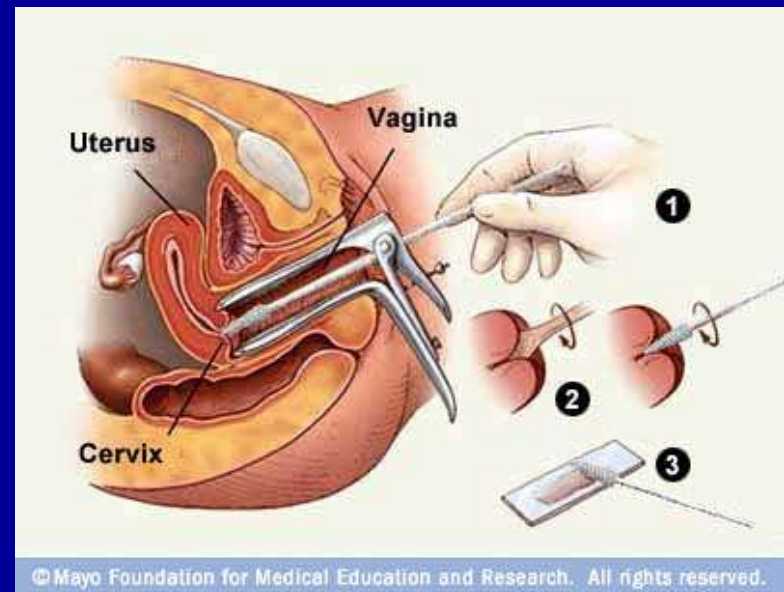
(Isenberg H, 2004 / Health Protection Agency, 2005)

Τραχηλικό δείγμα

Λήψη

- έκκριμα και κύτταρα από τον ενδοτράχηλο με κυτταρολογική βούρτσα ή στυλεό (από dacron, rayon ή αλγινικό ασβέστιο με πλαστικές ή μη αλουμινένιες συρμάτινες λαβές), με περιστροφικές κινήσεις για 3-5", αποφεύγοντας την επαφή με τα τοιχώματα του κόλπου.

(EME, 2001)



Τραχηλίτιδα

Neisseria gonorrhoeae

- Μεταφορά: υλικό τύπου Stuart, διατηρείται για 6-12 h
- Εναλλακτικά: άμεση κ/α + επώαση 24 h πριν τη μεταφορά
- άμεση μικροσκοπική εξέταση μετά από Gram χρώση:
Θετική σε $\approx 50\%$: ενδοκυττάριοι Gram (-) διπλόκοκκοι
Μια αρνητική Gram χρώση δεν αποκλείει τη λοίμωξη!



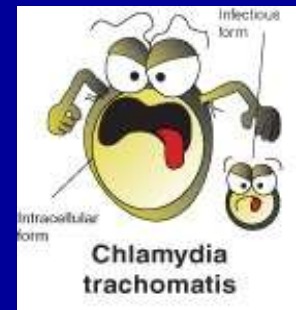
- Καλλιέργεια: Thayer-Martin, 35-37° C για 72 ώρες σε 5-7% CO₂
- Ανοσοενζυμική μέθοδος: μονοκλωνικά Ab για ανίχνευση Ng Ag
- Μοριακές τεχνικές: DNA probe και NAAT

Χλαμύδια



- 🔔 υποχρεωτικώς ενδοκυττάρια βακτήρια \Rightarrow χρησιμοποιούν ως πηγή ενέργειας το ATP του κυττάρου - ξενιστή (= «ενεργειακά παράσιτα»)
- 🔔 περιέχουν DNA και RNA
- 🔔 είναι ευαίσθητα σε συγκεκριμένα AB
- 🔔 διαθέτουν κυτταρικό τοίχωμα \approx Gram (-) β
- 🔔 πολλαπλασιάζονται με διχοτόμηση

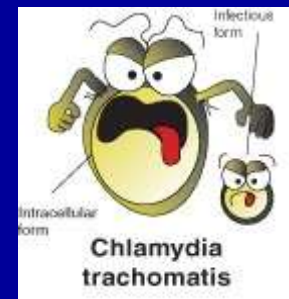
Χλαμύδια



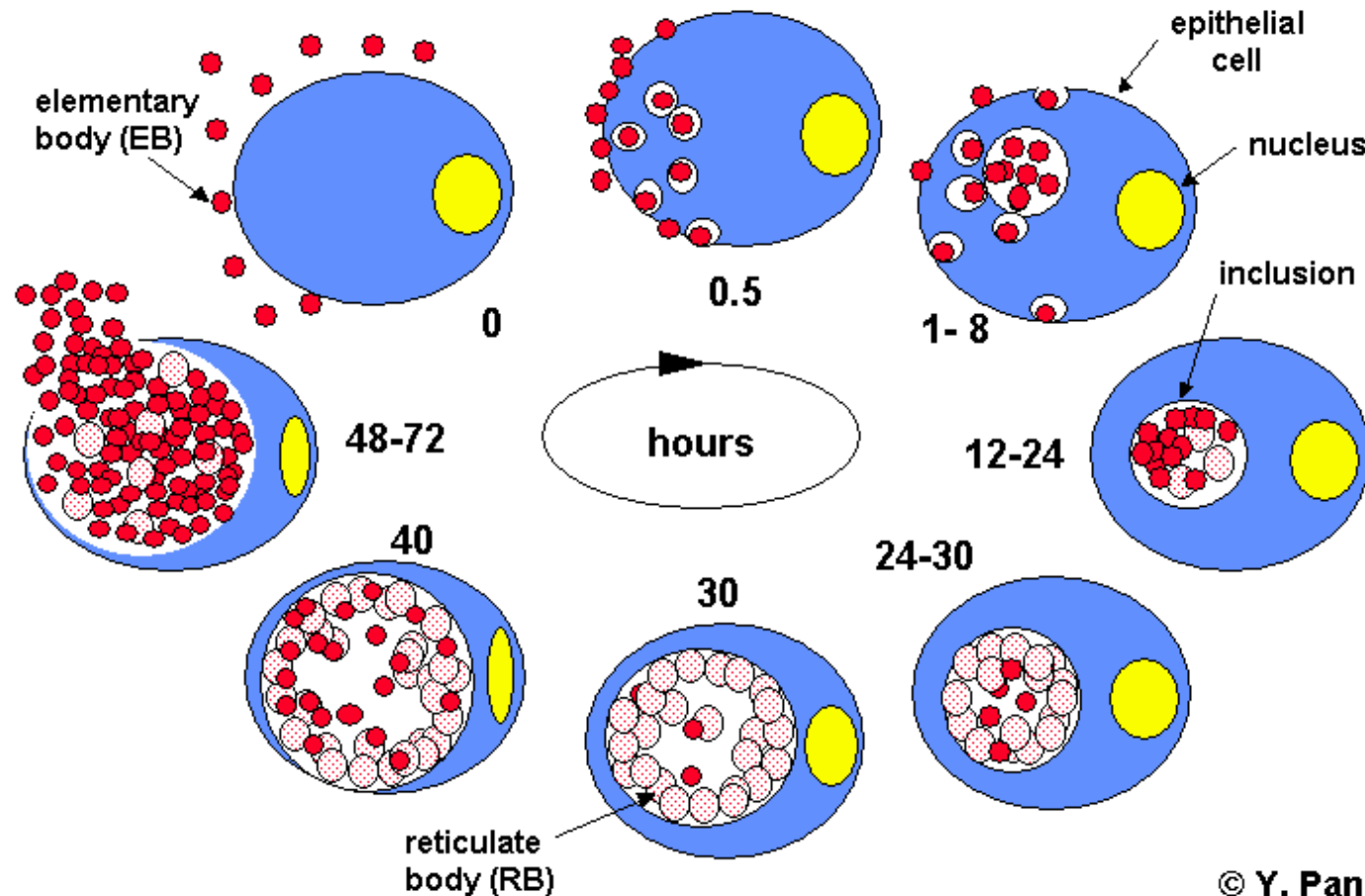
Είδος	Ορότυποι	Λοιμώξη
<i>Chlamydophila psittaci</i>	Πολλοί	Ψιττάκωση
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	TWAR (Taiwan acute respiratory)	Λοιμώξεις ανώτερου και κατώτερου αναπνευστικού συστήματος
<i>Chlamydia trachomatis</i> *	A, B, Ba, C D, E, F, G, H, I, J, K L1, L2, L3	Τράχωμα Επιπεφυκίτιδα και λοιμώξεις γεννητικού συστήματος Αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα

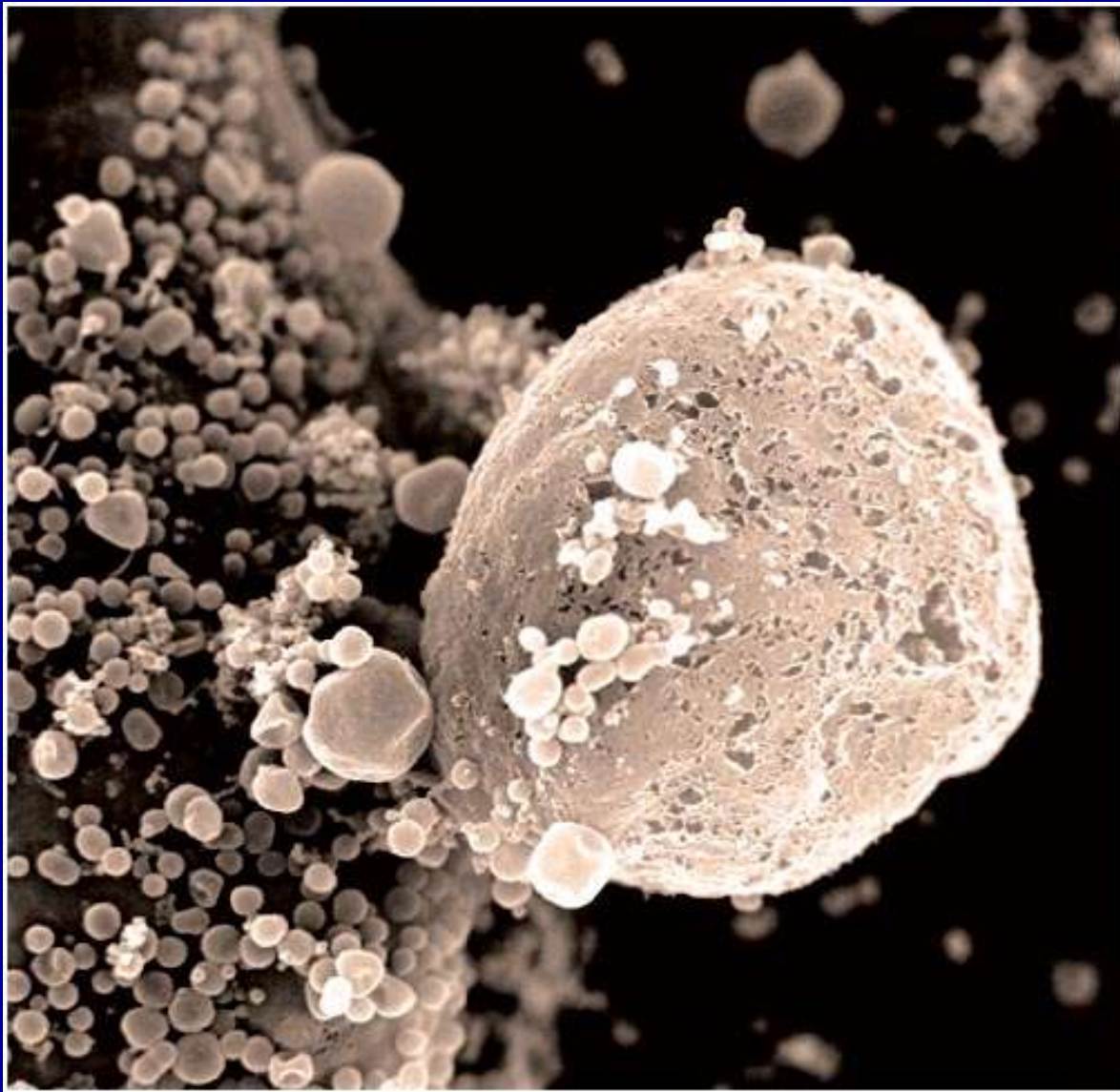
* βάσει των πρωτεϊνών της εξωτερικής μεμβράνης διαχωρίζονται σε 15 ορότυπους

Κύκλος ανάπτυξης



Developmental cycle of *C. trachomatis*





Scanning electron micrograph that depicts the extrusion-based exit of *Chlamydia trachomatis* from a host cell. The bacteria-containing extrusion is shown pinching out of the cell.

(Kevin Hybiske and Richard Stephens, University of California, Berkeley, USA)

Κλινικές εκδηλώσεις των λοιμώξεων από *C. trachomatis*

Άνδρες	Γυναίκες	Παιδιά
<p>Ουρηθρίτιδα</p> <p>Μετα-γονοκοκκική ουρηθρίτιδα</p> <p>Επιδιδυμίτιδα</p> <p>Προστατίτιδα</p> <p>Πρωκτίτιδα</p> <p>Επιπεφυκίτιδα</p> <p>Φαρυγγίτιδα</p> <p>Αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα</p> <p>Σύνδρομο Reiter</p> <p>Αρθρίτιδα</p>	<p>Βλεννοπυώδη τραχηλίτιδα</p> <p>Ενδομητρίτιδα</p> <p>Σαλπινγίτιδα</p> <p>Πυελική φλεγμονώδη νόσο</p> <p>Περιηπατίτιδα (Σ. Fitz-Hugh-Curtis)</p> <p>Ουρηθρίτιδα</p> <p>Οξύ ουρηθρικό σύνδρομο</p> <p>Βαρθολινίτιδα</p> <p>Αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα</p> <p>Επιπεφυκίτιδα</p> <p>Φαρυγγίτιδα</p> <p>Υπογονιμότητα</p> <p>Έκτοπη κύηση</p> <p>Πρόωρος τοκετός</p> <p>Πρόωρη ρήξη των υμένων</p> <p>Αρθρίτιδα</p>	<p>Επιπεφυκίτιδα</p> <p>Πνευμονία</p> <p>Ασυμπτωματική φορεία (φάρυγγας)</p> <p>Ασυμπτωματική φορεία (γαστρεντερικό)</p> <p>Μέση ωτίτιδα</p> <p>Τράχωμα</p>

Κλινική εικόνα

Γυναίκες (70% ασυμπτωματικές) → λανθάνουσα δεξαμενή της λοίμωξης
→ διασπείρεται στην κοινότητα

- οιδηματώδης τράχηλος
- βλεννοπυώδες τραχηλικό έκκριμα
- δυσουρία
- κοιλιακός άλγος
- αιμορραγία κατά την επαφή
- πυρετός → σε πυελική φλεγμονώδη νόσο



Άνδρες (50% ασυμπτωματικοί) → λανθάνουσα δεξαμενή της λοίμωξης
→ διασπείρεται στην κοινότητα

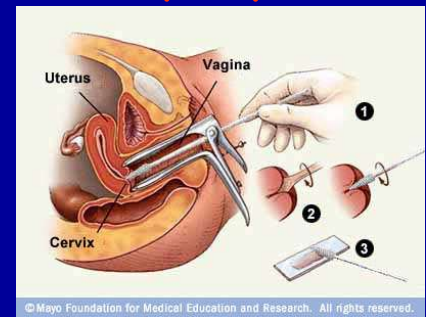
- ουρηθρικό έκκριμα
- συχνουρία
- δυσουρία
- πόνος στους όρχεις
- ευαισθησία στο περίνεο (επί προστατίτιδας)



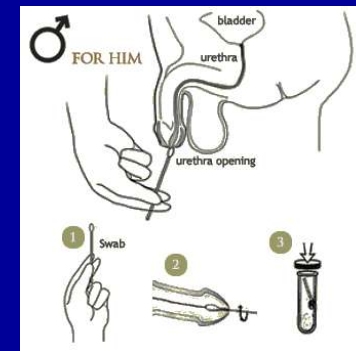
- **Περίοδος επώασης: συνήθως 6-14 ημέρες**

Δείγματα

- **Γυναίκα:** μετά από την απομάκρυνση κολπικών εκκρίσεων και βλέννης (πιθανός αναστολέας της PCR) → κύτταρα από τον **ενδοτράχηλο** με **κυτταρολογική βούρτσα** ή στυλεό (από dacron ή rayon με πλαστικές ή μη αλουμιένιες συρμάτινες λαβές), με περιστροφικές κινήσεις για 3-5", αποφεύγοντας την επαφή με τα τοιχώματα του κόλπου ή **ουρηθρικό επίχρισμα** ή **ούρα** από πρώτη πρωινή ούρηση.



- **Άνδρας:** **ούρα** πρώτης πρωινής ούρησης ή **ουρηθρικό επίχρισμα** με στυλεό 3 - 4εκ. μέσα στην ουρήθρα ή **σπέρμα**?



- **Αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα:** χρησιμοποιούμε υλικό από βλάβες γεννητικών οργάνων και λεμφαδένες

Τραχηλίτιδα

Chlamydia trachomatis



Δείγματα για κυτταροκαλλιέργεια

- σε υλικό μεταφοράς: sucrose-phosphate, γενταμικίνη, βανκομικίνη, νυστατίνη
- μεταφέρονται σε πάγο
- εμβολιασμός μέσα σε 24h ⇒ εναλλακτικά: -70°C μέχρι τον εμβολιασμό

Δείγματα για μοριακές τεχνικές ⇒ οδηγίες της εταιρείας

- στυλεός σε 1 ml υλικό μεταφοράς (STM) ⇒ μετά από έντονη περιστροφή για 20" και πίεση στα τοιχώματα του σωληναρίου, **απορρίπτεται**
- συντήρηση: 10 μέρες, $18-25^{\circ}\text{C}$

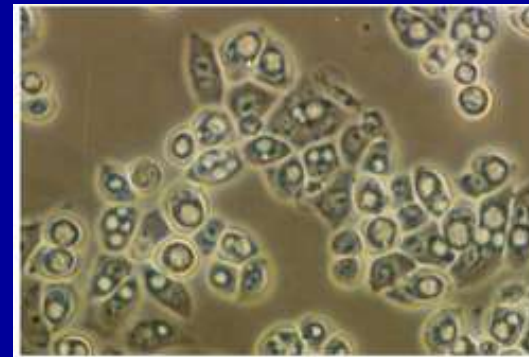
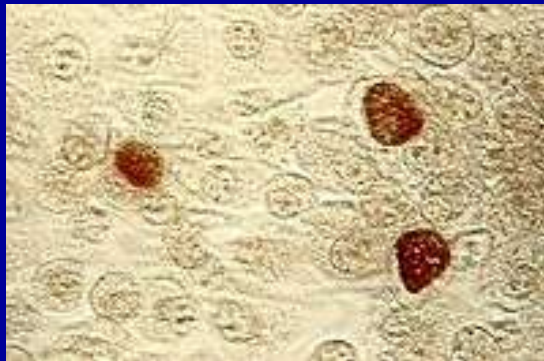
Τραχηλίτιδα

Chlamydia trachomatis

- **Χρώση Giemsa:** έγκλειστα μπλε-ροζ ⇔ δεν χρησιμοποιείται, χαμηλή ευαισθησία και ειδικότητα



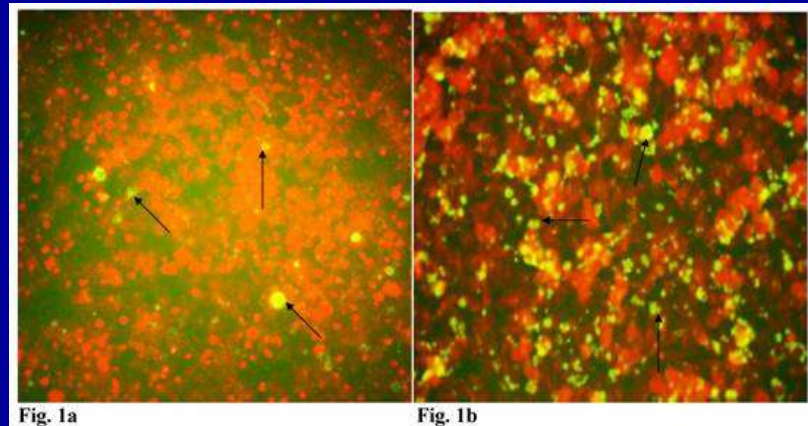
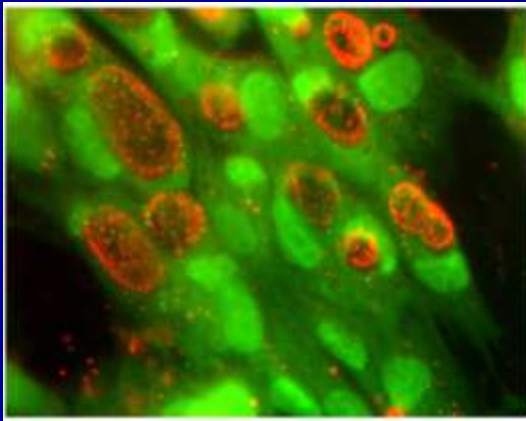
- **Κυτταροκαλλιέργεια:** κύτταρα Mc Coy ή HeLa: δαπανηρή και επίπονη



Τραχηλίτιδα

Chlamydia trachomatis

- **Άμεσος ανοσοφθορισμός:** 98-99% ειδικότητα, 75-85% ευαισθησία, γρήγορη μέθοδο, μονοκλωνικά Ab



- **Ανοσοενζυμική μέθοδος:** μονοκλωνικά ή πολυκλωνικά Ab για την ανίχνευση του **χλαμυδιακού LPS**

Τραχηλίτιδα

Chlamydia trachomatis

Μοριακές μέθοδοι

- **DNA probe:** υβριδισμός των νουκλεϊκών οξέων: 98-99% ειδικότητα, 85% ευαισθησία ⇒ PACE 2 (Gen-Probe, San Diego, CA) ελέγχει *N. gonorrhoeae* και *C. trachomatis*
- **NAAT:** τεχνική ενίσχυσης νουκλεϊκού οξέος:
 - PCR Amplicor (Roche Molecular Systems, USA)
 - Transcription-mediated amplification AMP-CT (Gen-Probe, USA)
 - Transcription-mediated amplification APTIMA Combo2 (Gen-Probe, USA)
 - Strand displacement amplification ProbeTec (BD Diagnostic Systems, USA)

HPV (Human Papillomavirus)

- Είναι DNA ιοί με εικοσάεδρη συμμετρία και διάμετρο 45 - 55 nm.
- Αποτελούν μία οικογένεια με πάνω από 100 γονότυπους οι οποίοι μολύνουν τα επιθηλιακά κύτταρα. Πάνω από 35 τύποι μολύνουν τα γεννητικά όργανα.
- > 90% των HPV λοιμώξεων προκαλούνται από τους γονότυπους 6 και 11, χαμηλού κινδύνου, μη - καρκινογόνους (προκαλούν το 90% των οξυτενών κονδυλωμάτων) + 40, 42, 54, 55, 61, 62, 64, 71, 72, 81, 83, 84, IS39 and CP6108
- γονότυποι υψηλού κινδύνου (99,7% καρκίνο τραχήλου της μήτρας): 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 69, 70, 73, 82.
- το HPV 16 = 50% των λοιμώξεων που εξελίσσονται σε CA
- μπορούν να συνυπάρχουν περισσότεροι γονότυποι στον ίδιο ασθενή.

HPV (Human Papillomavirus)

- **Εργαστηριακή διάγνωση:** με μοριακές τεχνικές καθώς δεν καλλιεργούνται εύκολα και οι ορολογικές τεχνικές δεν είναι αξιόπιστες
 - **PCR** (σε ενδοτραχηλικά κύτταρα που φυλλάσσονται σε διάλυμα PreservCyt - φιαλίδιο ThinPrep® liquid Pap → ο στυλεός ή η κυτταρολογική βούρτσα απορρίπτονται, δεν παραμένουν στο διάλυμα). Τα δείγματα φυλλάσσονται σε 4°C δωματίου για 3 εβδομάδες ή 2-8°C για 12 εβδομάδες.



Ουρηθρίτιδα

Κύρια αίτια

- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Chlamydia trachomatis*
- **Μυκοπλάσματα** (*U. urealyticum*, *M. hominis*, *M. genitalium*)

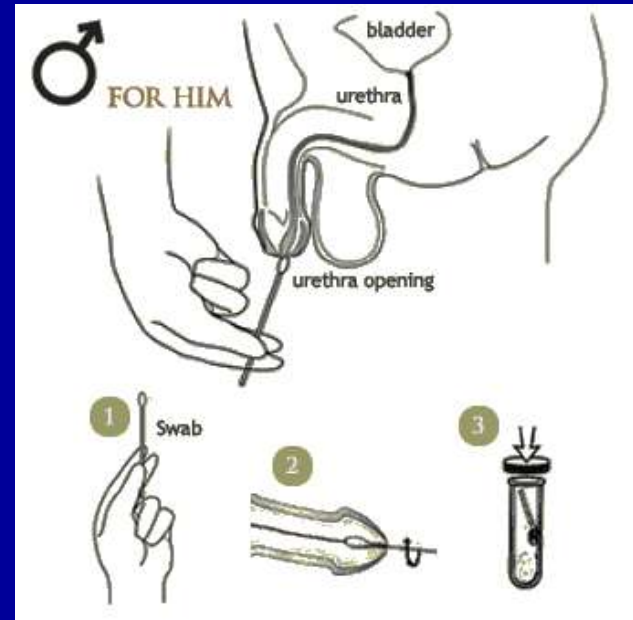
(Isenberg H, 2004 / Health Protection Agency, 2005)

Ουρηθρικό δείγμα

- **Ουρηθρικό έκκριμα:** με προσοχή, καθαρισμό με αποστειρωμένο φ. ο., με στυλεό (όχι βαμβακοφόρος ⇒ dacron, rayon ή αλγινικό ασβέστιο με πλαστικές ή μη αλουμιένιες συρμάτινες λαβές)
- **Ουρηθρικό επίχρισμα:** λεπτό στυλεό, βάθος **2-3 εκ** στην ουρήθρα με περιστροφικές κινήσεις για την συλλογή επιθηλιακών κυττάρων, **2 ώρες μετά την ούρηση**

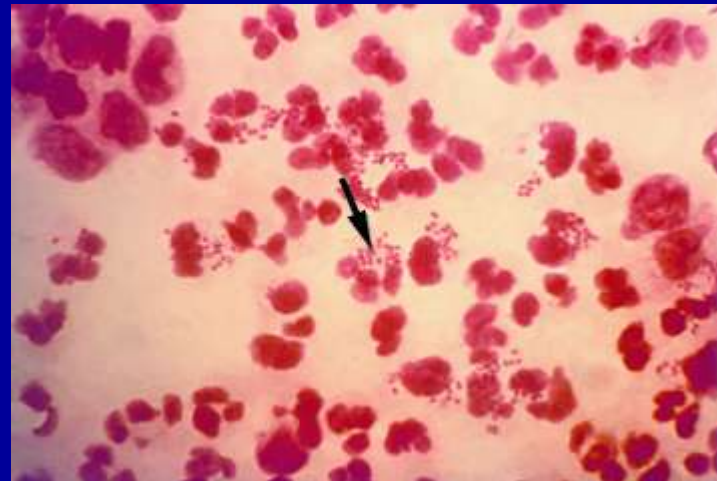


(EME, 2001)



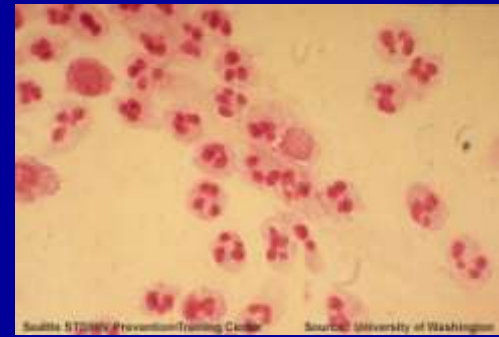
Ουρηθρικό δείγμα

- **Gram χρώση:** dg στο 95% των ΓΟ (συμπτωματικούς ασθενείς) πολυμορφοπύρηννα με Gram (-) διπλόκοκκοι
⇔ Μια αρνητική Gram χρώση δεν αποκλείει τη λοίμωξη.



- **N. gonorrhoeae:** ουρηθρικό επιθήλιο προστατευτικό ⇒ δεν ανιχνεύεται για ≈ 40 ώρες, μέχρι που αρχίζει το έκκριμα
⇒ Thayer-Martin, 35-37° C, 72h, 5-7% CO₂

Ουρηθρίτιδα



☞ Μετά από θεραπεία η κλινική εικόνα των ασθενών με ΓΟ βελτιώνεται αλλά μετά από 1 - 2 εβδομάδες πιθανόν να επανέρθουν τόσο το έκκριμα και η δυσουρία ⇒ **μετα - γονοκοκκική ουρηθρίτιδα** ⇒ δικαιολογείται από την συνύπαρξη από την αρχή και άλλου παθογόνου μαζί με το γονόκοκκο.

Συνήθως ευθύνονται:

☞ **Chlamydia trachomatis** και

☞ **Μυκοπλάσματα** (*U. urealyticum*, *M. hominis*, *M. genitalium*)

Ενδομητρικά σπειράματα

- άσηπτη φλεγμονώδη αντίδραση στο ενδομήτριο
- στην τοποθέτηση και μετά: μικρόβια φτάνουν στο ενδομήτριο

- Αίτια: πολυμικροβιακές λοιμώξεις

- Gram (+) κόκκοι

- Gram (-) βακτήρια

- αναερόβια: *Bacteroides*, *Prevotella*, πεπτοστρεπτόκοκκοι, ***Actinomyces israelii***

- Καλλιεργούνται μόνο όταν υπάρχουν κλινικές ενδείξεις οξείας πυελικής φλεγμονώδους νόσου !



Προστατίτιδα

Κύρια αίτια

Σημαντικά παθογόνα	Εντεροβακτηριακά (κυρίως <i>E. coli</i>) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> (σε HIV+)
Δυνητικά παθογόνα	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Μυκοπλάσματα Αναερόβια <i>Candida</i> Κοαγκουλάση (-) σταφυλόκοκκοι

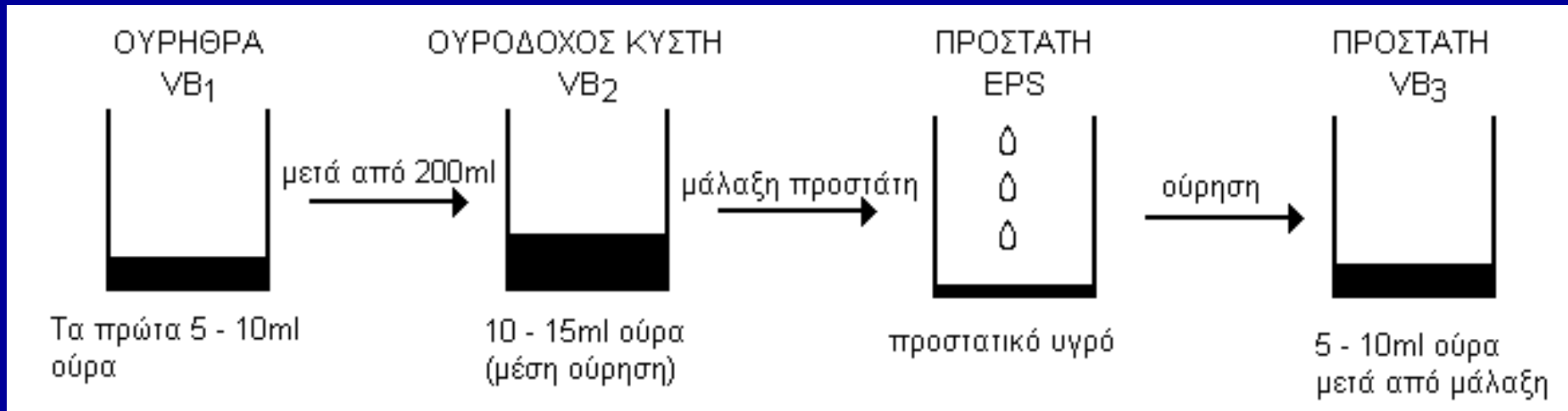
Προστατικό υγρό

Τεχνική Meares-Stamey (1968)

- όχι αντιβιοτικά ένα μήνα πριν την εξέταση
- όχι εκσπερμάτιση για 2-5 μέρες
- όχι μάλαξη προστάτη σε υποψία ουρηθρίτιδας, ουρολοίμωξης ή οξείας βακτηριακής προστατίτιδας.
- να μην ουρήσει για 3 ώρες: ουροδόχος κύστη να είναι γεμάτη
- μισή ώρα πριν την εξέταση πίνει 2 ποτήρια νερό
- πλύσιμο χεριών και βαλάνου με σαπούνι
- αφαιρούνται τα καπάκια των 4 δοχείων: VB1, VB2, EPS, VB3
- η εξέταση αρχίζει όταν εμφανίζεται επείξη προς ούρηση

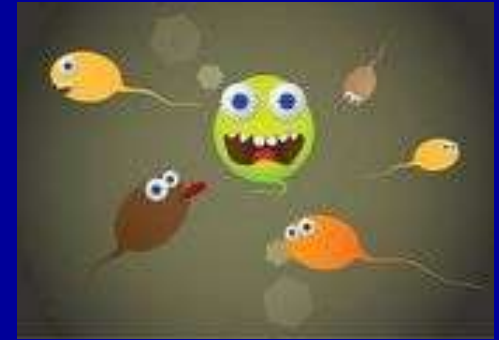
Προστατικό υγρό

Τεχνική Meares-Stamey (1968)



- Άμεση μικροσκοπική εξέταση: WBC
- Ποσοτική καλλιέργεια

Σπέρμα



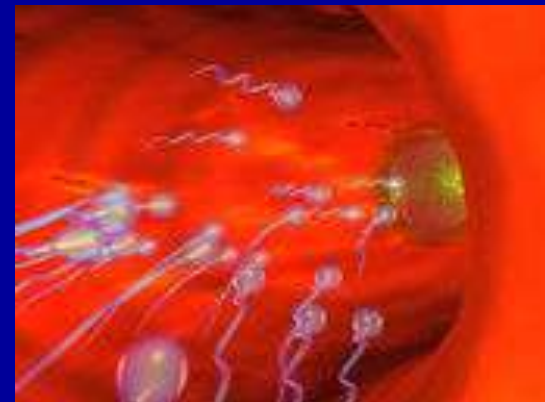
- Αποτελείται από τα εκκρίματα διαφόρων αδένων ⇒ δύσκολη η αξιολόγηση της καλλιέργειας
- Πιθανή λοίμωξη στο γεννητικό σύστημα
- Η εξέταση του σπέρματος (μικροσκοπική και κ/α) ενδείκνυται σε **επιδιδυμίτιδα** και **ορχίτιδα**, λοιμώξεις που συνήθως συνδέονται με **χρόνια βακτηριακή προστατίτιδα**
- Πυοσφαίρια στο σπερμοδιάγραμμα (WHO, 2010)

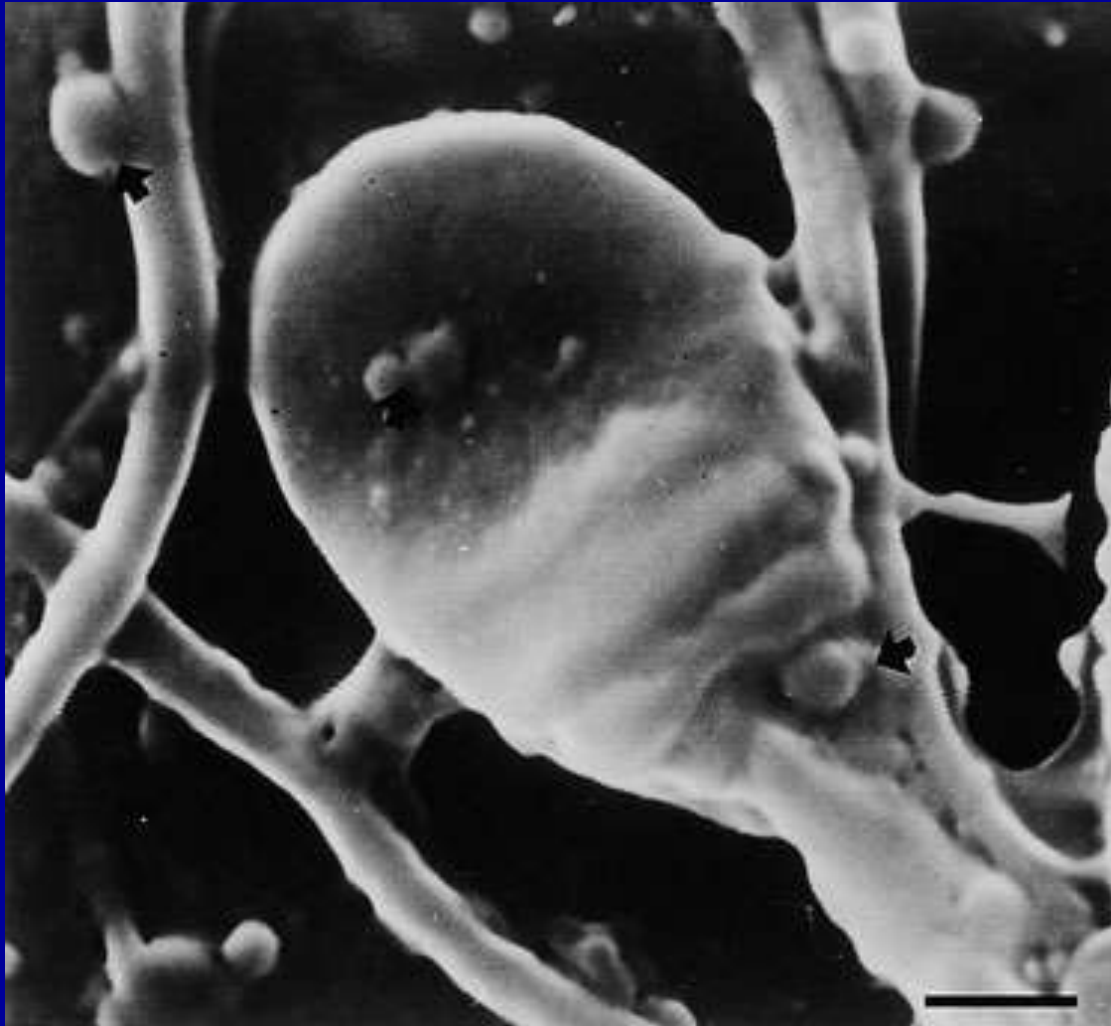
Σπέρμα

Σημαντικά παθογόνα

- Αερόβια
- Αναερόβια
- Μυκοπλάσματα (Uu, Mh, Mg) ⇒ *M. spermophilum* σε υπογόνιμους άνδρες: επηρεάζει κινητικότητα και μορφολογία των σπερματοζωαρίων
- *C. trachomatis*

(Gdoura et al, 2007)





Chlamydia trachomatis EB (arrows) on a spermatozoon.

(Vigil et al: *Chlamydia trachomatis* infection in male partners of infertile couples: incidence and sperm function, *Andrologia*, 2002)

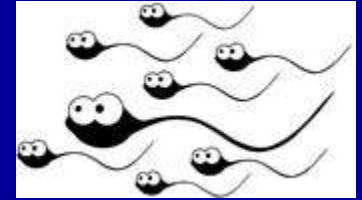
Λήψη του σπέρματος

- πριν τη συλλογή ο ασθενής πρέπει να ουρήσει
- καθαρισμό της πόσθης και των χεριών
- αυνανισμό
- αποστειρωμένο δοχείο, ευρύ στόμιο, βιδωτό πώμα.



(EME, 2001, WHO, 2010)

Σπέρμα



- Gram χρώση
- Καλλιέργεια: αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες
Υψηλότερη ευαισθησία από τις καλλιέργειες των EPS και VB3 για τη διάγνωση της χρόνιας βακτηριακής προστατίτιδας (Kermes et al, 2003/Budia et al, 2006)

Έλκη γεννητικών οργάνων

Τα γεννητικά έλκη αποτελούν μια ομάδα σεξουαλικά μεταδιδόμενων νόσων που εμφανίζουν κοινά χαρακτηριστικά:

- τρόπος μετάδοσης
 - παράγοντες κινδύνου
 - κλινική εικόνα: πρώτο σύμπτωμα \Rightarrow έλκη
- Ερπητικό έλκος: HSV-2 (+ HSV-1)



Έλκη γεννητικών οργάνων

- Ερπητικό έλκος: HSV-2 (+ HSV-1)
- Αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα: *Chlamydia trachomatis* L1-L3



Έλκη γεννητικών οργάνων

- Ερπητικό έλκος: HSV-2 (+ HSV-1)
- Αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα: *Chlamydia trachomatis* L1-L3
- Σύφιλη πρώτου και δεύτερου (30%) σταδίου: *Treponema pallidum*



Έλκη γεννητικών οργάνων

- Ερπητικό έλκος: HSV-2 (+ HSV-1)
- Αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα: *Chlamydia trachomatis* L1-L3
- Σύφιλη πρώτου και δεύτερου (30%) σταδίου: *Treponema pallidum*
- Βουβωνικό κοκκίωμα: *Klebsiella granulomatis*



Έλκη γεννητικών οργάνων

- Ερπητικό έλκος: HSV-2 (+ HSV-1)
- Αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα: *Chlamydia trachomatis* L1-L3
- Σύφιλη πρώτου και δεύτερου (30%) σταδίου: *Treponema pallidum*
- Βουβωνικό κοκκίωμα: *Klebsiella granulomatis*
- Μαλακό έλκος: *Haemophilus ducreyi*



Έλκη γεννητικών οργάνων

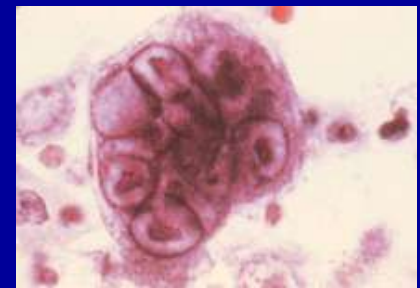
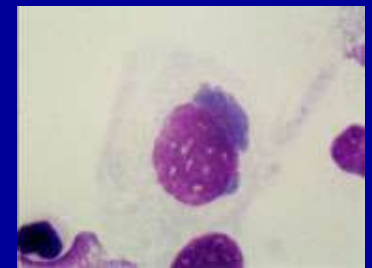
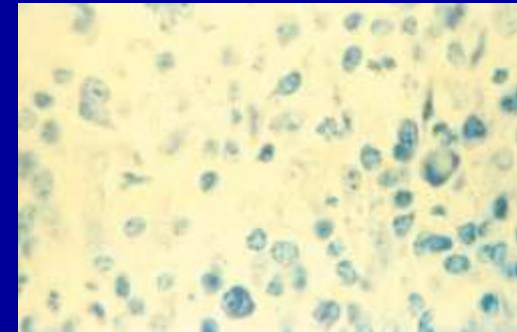
- **Δείγμα:** έκκριμα ή ξέσματα από τον πυθμένα του έλκους, υγρό από φυσαλίδες και υλικό από λεμφαδένες
- **Άμεση μικροσκοπική εξέταση:** σύφιλη (σε 20' από την λήψη του δείγματος): *σε σκοτεινό πεδίο*
 - από το έλκος, μετά από πίεση αναβλύζει ένα **ορώδες έκκριμα που περιέχει μεγάλο αριθμό τρεπονημάτων** → πιέζουμε ελαφρά μια αντικειμενοφόρο πλάκα στην ελκωτική βλάβη, τοποθετούμε αμέσως καλυπτρίδα και μεταφέρουμε το δείγμα σε υγρή ατμόσφαιρα (σε τρυβλίο πάνω από μία βρεγμένη γάζα): παρατηρούμε μορφολογία και κίνηση → πυκνή διάταξη των σπειρών και περιστροφική κίνηση



Έλκη γεννητικών οργάνων

Χρώσεις

- **T. pallidum** → δεν χρωματίζεται με τις συνήθεις χρωστικές.
- **Gram: H. ducreyi** ⇒ πλειόμορφα Gram (-) κοκκοβακτηρίδια, μονήρη ή σε μικρές αλυσίδες → «school of fish»
- **Giemsa: K. granulomatis**: μπλε ή μαύρα κοκκοβακτηρίδια (σωμάτια Donovan) στο κυτταρόπλασμα των πολυμορφοπυρήνων και ιστοκυττάρων.
- **Giemsa: C. trachomatis**: έγκλειστα μπλε-ροζ ⇔ δεν χρησιμοποιείται, χαμηλή ευαισθησία και ειδικότητα
- **Wright ή Papanicolaou: HSV**: «κύτταρα Tzanck» (επιθηλιακά κύτταρα με πολλαπλούς πυρήνες και χαρακτηριστικά ενδοπυρηνικά έγκλειστα): ευαισθησία 40-50% σε σχέση με την καλλιέργεια.



Έλκη γεννητικών οργάνων

Καλλιέργεια

- **H. ducreyi**: σε heart infusion άγαρ ή σε GC άγαρ, 30-33°C, 5% CO₂, για 2-5 μέρες.
- **K. granulomatis**: όχι σε τεχνητά θρεπτικά υλικά ⇒ μόνο σε εμβρυοφόρα αυγά κότας
- **T. pallidum**: όχι κ/α in vitro ⇒ ενοφθαλμισμός σε κουνέλι → ελέγχουμε τις προκαλούμενες βλάβες και επιβεβαιώνουμε τις θετικές ορολογικές δοκιμασίες στα πειραματόζωα: μέθοδος ευαίσθητη αλλά δαπανηρή και χρονοβόρα (3-6 μήνες).
- **C. trachomatis**: κύτταρα Mc Coy ή HeLa → μετά από 48 - 72h άμεσο ανοσοφθορισμό με μονοκλωνικά Abs (100% ειδικότητα, 80% ευαισθησία): δαπανηρή και επίπονη
- **HSV**: κύτταρα νεφρών κουνελιού: υλικό από πρόσφατα έλκη ⇒ σε υλικό μεταφοράς με αντιβιοτικά και αν δεν καλλιεργηθεί αμέσως πρέπει να παραμείνει στο ψυγείο. Σε 4-7 μέρες τα κύτταρα γίνονται σφαιρικά και γυαλιστερά.

Έλκη γεννητικών οργάνων

- **Άμεσος ανοσοφθορισμός:** *T. pallidum*, *C. trachomatis*, HSV: χαμηλή ευαισθησία περίπου 31 - 80% σε σχέση με την κυτταροκαλλιέργεια.
- **Ανοσοενζυμικές δοκιμασίες** για την ανίχνευση ιϊκών αντιγόνων: HSV: χρησιμοποιούνται ευρέως
- **Μοριακές τεχνικές:** PCR και κυρίως ή **Multiplex PCR** για ταυτόχρονη διάγνωση HSV 1 και 2, *T. pallidum* και *H. ducreyi* → εξαιρετική ειδικότητα και ευαισθησία (> 95%), όχι έγκριση FDA
PCR: και για *C. trachomatis*

Μη αποδεκτά δείγματα γεννητικού συστήματος

- Κανένα δείγμα δεν απορρίπτεται πριν να ειδοποιηθεί ο κλινικός!
- Όχι κ/α «για έλεγχο» σε ♀ αναπαραγωγικής ηλικίας ⇒ αποδεκτό μόνο για προεφηβικά κορίτσια και μετεμμηνόπαυσιακές ♀
- Απορρίπτουμε δείγματα που αποστέλλονται χωρίς να έχουν τοποθετηθεί σε υλικό μεταφοράς

Αξιολόγηση και απαντητικό σημείωμα

- Αναφέρουμε μόνο τα κλινικά σημαντικά παθογόνα
- Χειρουργικά δείγματα από περιοχές στείρες μικροβίων: αναφέρουμε όλα τα παθογόνα που απομονώθηκαν
- Δεν απομονώθηκαν παθογόνα, υπάρχει ΦΧ: «Ανεπτύχθη ΦΧ του γεννητικού συστήματος»
- Απουσία ανάπτυξης: «Ουδεμία ανάπτυξη»

Αξιολόγηση και απαντητικό σημείωμα

- Αναφέρουμε απουσία συγκεκριμένου παθογόνου που ζητήθηκε, π.χ. γονόκοκκο:
«Δεν απομονώθηκε *N. gonorrhoeae*»
- Ενημερώνουμε άμεσα για την παρουσία *N. gonorrhoeae*, *L. monocytogenes*, *S. agalactiae*
- *N. gonorrhoeae*, *S. pyogenes*, *Shigella*:
θεωρούνται πάντα σημαντικά παθογόνα σε όλα τα δείγματα

Αξιολόγηση πάντα με κλινικά στοιχεία !

Βιβλιογραφία

- Ελληνική Μικροβιολογική Εταιρεία: Οδηγός λήψης και μεταφοράς κλινικών δειγμάτων στην εργαστηριακή διάγνωση των λοιμώξεων, 2001
- Χριστάκης ΓΒ, Λεγάκης ΝΙ: Κλινική μικροβιολογία & λοιμώξεις, 2002
- Gilbert DN, et al: The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy, 2010
- MMWR Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, vol. 55, RR-11, 2006
- Murray PR, et al: Manual of Clinical Microbiology, 2003
- Sweet RL, Gibbs RS: Infectious diseases of the female genital tract, 2009
- Winn W, et al: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 2006

