Критерии оценки состояния вагинального микроценоза (исследование влагалищного содержимого на степень чистоты):

1.исключение ИППП

2.микроскопия вагинального мазка, окрашенного по Граму

3.посев вагинального отделяемого на факультативно – аэробную группу микроорганизмов и микроаэрофилы.

Окрашивание гинекологических мазков по модифицированному способу Грама (в соответствии с приказом №936 от 12.07.85 МЗ СССР).

Принцип: при обесцвечивании грамотрицательных микроорганизмов определенное время в этиловом спирте, отдают основной фиолетовый краситель и докрашиваются дополнительным оранжево – красным.

Реактивы:

1. 1% водный раствор кристаллвиолета: 1 г кристаллвиолета растворить в 100 мл кипящей дистиллированной воды, раствор фильтровать в горячем виде через бумажный фильтр.

2. водный раствор Люголя: 2 г йодистого калия растворить в 300 мл дистиллированной воды, в полученном растворе растворить 1 г чистого йода, фильтровать через бумажный фильтр

3. 96% этанол

4. 1% водный раствор нейтрального красного: 1 г нейтрального красного растворить в 100 млдистиллированной воды и фильтровать через бумажный фильтр.

Оборудование:

1.микроскоп

2.часы

3.штатив

Ход окраски:

1.фиксируют препарат 96% этанолом до высыхания

1.препарат покрыть полоской фильтровальной бумаги и заливают 1% водным раствором кристаллвиолета на1мин

2.через минуту снять фильтровашку, промыть препарат водопроводной водой и залить раствором Люголя на 10 сек до почернения мазка

3.смытьостаток люголевского раствора

4.обесцветитьпрепарат в 96% этаноле под контролем глаза поочередно погружая и вынимая препарат из спирта, находящегося в стаканчике. Обесцвечивают до прекращения стекания фиолетовых струек с тонких участков препарата.

5.промыть водопроводной водой

6.докрасить 1% раствором нейтрального красного в течение 3 минут

7.тщательно промыть под водопроводной водой, высушить и микроскопировать.

При правильной окраске препарат оранжево – красного цвета на тонких участках и лилово – фиолетового на толстых.Ядра клеток должны частично удерживать фиолетовую окраску, по периферии – оранжево – красный.

Преимущества метода:

1.быстрота установления диагноза (гонорея)

2.относительная простата установки

3.дешивизна

Недостатки метода:

1.субъективизм (опыт и квалификация лаборанта)

2.критичность взятия материала и приготовления мазков.

При микроскопии вагинального мазка, окрашенного по Граму оценивают:

1.состояние вагинального эпителия

2.лейкоцитарную реакцию

3.состав микрофлоры

При количественной характеристике микрофлоры используют критерии R.P. Nugent et al. Оценка общей микробной обсемененности вагинального отделяемого проводится по четырех балльной системе – по числу микробных клеток, обнаруживаемых в одном поле зрения при микроскопии с иммерсией:

+ до 10 микробных клеток в поле зрения, незначительное их количество (скудный рост)

++ от 11 до 100 – умеренное их количество

+++ от100 до 1000 – большое их количество

++++ более 1000 – массивное их количество

качественная оценка микрофлоры включает дифференциацию всех морфотипов по их тинкториальным и морфологическим признакам. Различают морфотипы лактобацилл, фузобактерий, бактероидов, мобилинкусов, лептотрихий, гарднереллы, также грамположительных кокков, дрожжеподобных грибов. В мазке могут быть обнаружены трихомонады и другие паразиты.

Микробиологические критерии оценки состояния микроценоза влагалища у женщин репродуктивного возраста (микроскопия мазков, окрашенных по Граму).

Нормоценоз:

1.вагинальный эпителий представлен клетками поверхностных слоев, реже встречаются клетки промежуточного слоя; «ключевых» клеток нет, иногда встречаются «ложноключевые» клетки

2.лейкоцетарная реакция отсутствует или слабо выражена- единичные лейкоциты в п/зр

3.общее количество микроорганизмов- умеренное или большое

4.доминирующий морфотип – лактобациллы, другие морфотипы отсутствуют, либо их количество исчисляется единичными микробными клетками в редких п/зр

Бактериальный вагиноз:

1.вагинальный эпителий представлен клетками поверхностных слоев, редко встречаются промежуточные клетки, часто – «ключевые» клетки

2.лейкоцитарная реакция как правило отсутствует

3.общееколичество микроорганизмов массивное, реже – большое

4.преобладают морфотипы строгих анаэробов и гарднереллы, лактоморфотипы отсутствуют или определяются как единичные не во всех п/зр

Вагинальный кандидоз: в зависимости от концентрации грибов в отделяемом влагалища и сопутствующей микрофлоры вагинального биотопа выделяют 3 формы инфекции влагалища грибами рода Candida

1.кандидозный вагинит:

1.вагинальный эпителий преимущественно поверхностных слоев, но может быть много промежуточных и даже парабазальных клеток (пропорционально тяжести течения клинического воспалительного процесса)2.лейкоцитарная реакция от умеренной (10 – 15 лейкоцитов в п/зр) до резко выраженной (30 – 50 и более)

3.общее количество микроорганизмов – умеренное или большое

4.доминирует морфотип лактобацилл, присутствуют дрожжевые клетки, фрагменты псевдомицелия с бластоспорами

2.сочетание бактериального вагиноза и кандидозного вагинита:

1.вагинальный эпителий преимущественно поверхностных слоев, могут встречаться промежуточные и парабазальные клетки; присутствуют «ключевые» клетки

2.умеренная или выраженная лейкоцитарная реакция

3.общее количество микроорганизмов – массивное, реже – большое

4.доминируют морфотипы строгих анаэробов и гарднереллы, присутствуют дрожжевые клетки и/или фрагменты псевдомицелия гриба

5.лактобациллы отсутствуют или выявляются единичные лактоморфотипы в п/зр

3.бессимптомное носительство грибов:

1.вагинальный эпителий представлен преимущественно клетками поверхностных слоев

2.лейкоцитарная реакция не выражена, единичные лейкоциты в п/зр

3.общее количество микроорганизмов – умеренное или большое

4.доминируют морфотипы лактобацилл, элементы дрожжеподобного гриба чаще всего не выявляются или обнаруживаются единичные дрожжевые клетки в редких полях зрения

Неспецифический вагинит:

1.вагинальный эпителий представлен клетками поверхностного и промежуточного слоев, при выраженном воспалительном процессе встречаются клетки парабазального слоя

2.лейкацетарная реакция – более 10 лейкоцитов в п/зр

3.общее количество микроорганизмов умеренное

4.лактобацилл нет или их количество резко снижено - до единичных в п/зр

5.преобладают морфотипы УПМ – колиформные палочки или грамположительные кокки

Цитолитический вагиноз:

1.эпителиальные клетки в подавляющем большинстве подвергнуты цитолизу, в мазке преобладают элементы деструкции клеток- детрит, обнаженные ядра промежуточных и поверхностных эпителиальных клеток

2.лейкоцитов нет или до 10 в п/зр

3.микрофлора вбольшом количестве, представлена морфотипом типичных лактобацилл

Промежуточный вариант микроценоза:

1.вагинальный эпителий представлен поверхностными клетками, могут встречаться единичные «ключевые» клетки или отмечена склонность к их формированию

2.лейкоцитов не более 10 в п/зр

3.общее количество микроорганизмов – умеренное или большое

4.доминируют морфотипы строгих анаэробов и гарднереллы в сочетании со сниженным титром морфотипов лактобацилл

Вагинальная атрофия:

1.в зависимости от степени атрофии слизистой влагалища эпителий представлен различным соотношением числа промежуточных и парабазальных клеток, по мере нарастания атрофии увеличивается число парабазальных и базальных клеток

2.лейкоцитовне более 10 в п/зр

3.микрофлора скудная, практически нет, могут встречаться единичные лактоморфотипы или морфотипы УПМ в редких п/зр.

Слэнг микроскопистов.

Ознакомьтесь с кратким словарем слэнга профессионалов от микроскопии. Этот «кулинарный» язык используется для обучения начинающих микроскопистов. Эти словосочетания как мостики связывают макро – и микромиры.

1.кофейные зерна – гонококки относятся к парным коккам, по форме сходны с кофейными зернами

2.семечка или миндаль – трихомонада, ее ядро похоже на семечку подсолнуха или косточку миндаля

3.булочка с изюмом – гонорея. Булочка – лейкоцит, изюм – гонококк.

4.шашлык – грибы. Клетки плоского эпителия могут слипаться пластами, столбиками, а псевдомицелий гриба Candida cловно «прошивает» их, как шашлык.

5.ягода (голубика) – грибы. Споры организовываются в кучку, словно рассыпалась горсть ягод

6.крылья чайки – мобилинкус имеет форму тонких, изогнутых палочек с заостренными концами, располагается одиночно или парами («крылья чайки»)

7.бактериальный песок – при бактериальном вагинозе флора может располагаться по периметру эпителия словно песок.

8.месяц – бациллы мобилинкус слабоокрашенные грамотрицательные изогнутые палочки с заостренными в форме полумесяца краями

9.пчелиный рой – гонорея, диплококк часто ложиться на эпителиальные клетки плотными кучками.

10.тутовая ягода – вирус простого герпеса. В мазках содержимого везикул (пузырей) обнаруживаются многоядерные гигантские клетки с измененными ядрами по типу «тутовой ягоды».

11.спагетти – лептотрикс.

12.помидоры в банке –герпетическая инфекция. Плотное соседство ядер в многоядерной клетке при герпетической инфекции, как консервированные помидоры плотно расположенные в банке.

13. Сливовая косточка – ядро трихомонады.

Инфекции передаваемые половым путем (ИППП) Гонорея.

Возбудитель гонореи – диплококк Neisseria gonorrhoeae , был открыт в 1879 г французским ученым Альбертом Нейссером. Термин гонорея впервые употребил Голен во 2 вн э, который ошибочно принял выделения из уретры у мужчин за семятечение ( от греческого гонос – семя и рея – истечение). Чаще гонорея проявляется воспаление слизистых оболочек, сопровождающихся гнойными или слизисто – гнойными выделениями из уретры у мужчин и из уретры и шейки матки у женщин. У женщин гонококковая инфекция протекает мало – или бессимптомно, выявляется при профосмотрах.

В соответствии с международной классификацией (МКБ – 10) различают следующие формы гонореи:

1.нижних отделов мочеиспускательного тракта без осложнений

2.нижних отделов мочеиспускательного тракта с осложнениями

3.верхнихотделовмочеиспускательного тракта и органов малого таза

4.других органов.

У женщин материал берут одновременно из шейки матки (С), влагалища (V) и уретры (U). Иногда берут выделения из прямой кишки. У мужчин берут отделяемое из уретры, секрет простаты, полученный после массажа железы или мочу, выделенную после массажа. У девочек отделяемое берут из уретры, влагалища и прямой кишки (промывные воды). Из полученного материала готовят тонкие мазки, если материалом для иследования служит моча, то препараты готовят из осадка после центрифугирования.

При исследовании мазков от больных гонореей в основном наблюдается бактериоскопическая картина трех видов:

1.лейкоциты покрывают все поле зрения, гонококки расположены внутриклеточно. Имеются также гонококки лежащие свободно.

2.клеточная картина та же самая, но гонококков нет. Посторонняя флора отсутствует. Такая картина характерна для хронической гонореи.3.небольшое количество дегенерированных лейкоцитов и обильная посторонняя флора, появление которой говорит об улучшении течения процесса.

При окраске метиленовым синим: видны диплококки, расположенные внутриклеточно: в полиморфно – ядерных лейкоцитах. Гонококки темно – синего цвета, четко очерчены, бобовидной формы, парные, располагаются внутриклеточно, в слизи и на эпителиальных клетках. Бактериальная флора окрашена в синий цвет разной интенсивности.При такой окраске мазки можно использовать для изучения морфологии и расположения диплококков, а окончательный лабораторный диагноз ставится на основании мазков, окрашенных по Граму.

При окраске по Граму: гонококк – парный кокк, имеющий форму кофейного зерна, кокки обращены друг к другу своей вогнутой стороной. Размножаясь делением в разных плоскостях, гонококки не образуют цепочек. Внутри лейкоцитов они располагаются парами или группами так, что одни диплококки лежат по отношению к другим под различными углами. Внеклеточное расположение гонококков имеет свои характерные особенности: гонококки лежат на клетках плоского эпителия в большом количестве рядами с расположение диплококков под углом или перпендикулярно друг к другу внутри ряда. Частота внутри – и внеклеточного расположения диплококков зависит от периода заболевания и от методики взятия материала. Основным дифференциальным признаком гонококка является отношение к окраске по Граму: они грамотрицательные.

Трихомоноз (трихомониаз).

Вызывает его Trichomonas vaginalis. Как влагалищный паразит впервые выделена Донне в 1837г. Для заболевания характерны поражения различных участков мочеполовой системы. У женщин местом обитания трихомонад является влагалище, у мужчин - простата и семенные пузырьки. Уретра может поражаться у обоих полов. Человек – единственный ее природный хозяин. Инкубационный период 3 – 28 дней. Попадая в мочеполовую систему, трихомонада обуславливает развитие воспаления, либо не вызывает никаких изменений. Заболевание может протекать асимптомно или с пенисто – гнойными выделениями, сопровождаться зудом. Клинические проявления ярче протекают у женщин. Чаще обнаруживается в гинекологических мазках, чем в урологических.

Классификация по МКБ – 10:

А 59.Трихомоноз

А 59.0 Урогенитальный трихомоноз (Бели вагинальные, Простатит)

А 59.8.Трихомоноз других локализаций

А 59.9. Трихомоноз неуточненный.

При окраске метиленовым синим: наблюдаются трихомонады различной формы, контуры клетки хорошо выражены, ядро, расположенное, как правило, эксцентрично, - овальное или вытянутое, окрашено интенсивнее, чем «нежная» сетчатая (ячеистая) цитоплазма. Трихомонады фиксируются на клетках плоского эпителия слизистой, вызывая цитотоксический эффект. Трихомонады часто сочетаются с другой флорой (кокками, лептотрикс, гарднереллой) и другими инфекциями. Трихомонады быстро теряют жизнеспособность вне человеческого организма, обязательным условиям для их существования является наличие влаги. Широкое применение данного метода обусловлено тем, что можно детектировать наличие гонококка, а также кокко – бациллярной и другой флоры.

Ошибки при изучении окрашенных синькой трихомонад относятся: принятие за трихомонады эпителиальных клеток и макрофагов. Эпителиальная клетка с несколько эксцентричным ядром и нежной ячеистой цитоплазмой, сходной по размеру и форме, ошибочно может быть принята за трихомонаду.

При окраске по Граму: ядра трихомонад сохраняют фиолетовую окраску, а цитоплазма окрашивается в розовый цвет. Микрофлора: грамположительные кокки, грамположительные и грамотрицательные палочки.

Бактериальный вагиноз (анаэробный вагиноз, неспецифический бактериальный вагинит, гарднереллезный вагинит).

В 1955 г Гарднер впервые описал поражение влагалища при котором резко было снижено количество лактобацилл и обнаружены «ключевые» клетки.

Заболевание вызывает Gardnerella vaginalis. В 1984 г ВОЗ выделила БВ в самостоятельную клиническую назологию.

Диагностическая триада БВ (предложена в 1983 г Амселем):

1.рН среды – более 4,5

2.рыбный запах патологических выделений серовато – белого цвета, гомогенные, пенистые.

3.наличие в мазках «ключевых» клеток - эпителиоцитов с адгезированнымина них мелкими грамвариабельными палочками и /или коккобациллами, покрывающие всю клетку. Считается, что ели «ключевые» клетки наблюдаются не менее чем в 2 из 20 полей зрения при микроскопии мазков, то это является основанием для лабораторного диагноза БВ.

Кроме этого основанием для подтверждения диагноза является положительный аминный тест – появление или усиление запаха гнилой рыбы при смешивании патологического материала с равным количеством 10% раствора гидроксида калия. Запах свидетельствует о наличии в выделениях летучих аминов: путресцин, кадаверин, триметиламин.

В настоящее время БВ рассматривается как дисбиоз влагалища, в основе которого - нарушение микробиоценоза.

При окраске метиленовым синим и по Граму: обнаруживаются «ключевые» клетки – клетки плоского эпителия с расположенными на их поверхности скоплениями мелких палочек, морфологически идентичных гарднерелле вагиналис, лактобациллы отсутствуют, лейкоциты – единичные.

Лептотрикс (Leptotrix).

Это группа микроорганизмов различной величины и формы типа лактобацилл или актиномицетов. Бактерии могут располагаться цепочками, которые могут образовывать обильные скопления в виде войлока. Нити могут быть тонкими, толстыми, сегментированными. Лептотрикс может сочетаться с лактобациллами, трихомонадами, грибами, кокко – бациллярной флорой.

Мобилинкус (Mobilincus).

Это бациллы – тонкие, слабоокрашенные грамотрицательные изогнутые палочки с заостренными краями, в форме «полумесяца». Часто присутствуют вмазках при бактериальном вагинозе.

Грибы (дрожжи, молочница, грибок, кандиды).

В мазках чаще встречается Candida albicans или Candida glabrata. Дрожжеподобные грибы кандида – одноклеточные микроорганизмы. При благоприятных условиях существования из спор образуют почкующийся псевдомицелий. Его нити отличаются от истинного мицелия тем, что не имеют общих оболочек, перегородок, а состоят из цепочки тонких клеток. У женщин при кандидозе влагалища наблюдаются обильные белого цвета выделения с хлопьями, похожими на творог, характерен зуд. При кандидозе влагалища происходит нарушение баланса микрофлоры.

Библиография

1.Елесеев Ю. Ю. «Анализы. Полный справочник по клинической лабораторной диагностике»,М.: «Эксмо», 2006. – 768с. 2.Дмитриев Г. А. «Лабораторная диагностика бактериальных урогенитальных инфекций», М.: «Медицинская книга», 2007. – 332с.

3.Шабалова И. П. «Цитологический атлас. Цитологическая диагностика шейки матки», М. – Тверь.: «Триада», 2006. – 162с.

4.Долгов В. В. «Лабораторная диагностика мужского бесплодия», М. – Тверь.: «Триада», 2006. – 145с.

5.Екимцева М. А. – персональный сайт «Микромир крупным планом», 2009г.

6.Анкирская С. А. «Опыт микробиологической диагностики оппортунистических инфекций влагалища», научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН, Москва, Россия, 2001г.

7.Коровина Н. А. «Вульвовагиниты в детском и подростковом возрасте», М.,2007г.