МИКРОСКОПИЯ УРОГЕНИТАЛЬНЫХ МАЗКОВ.

НОРМАТИВНЫЕ ДОКУМЕНТЫ.

АЛГОРИТМ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нижегородский филиал ФГБУ “Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии” Минздрава России.

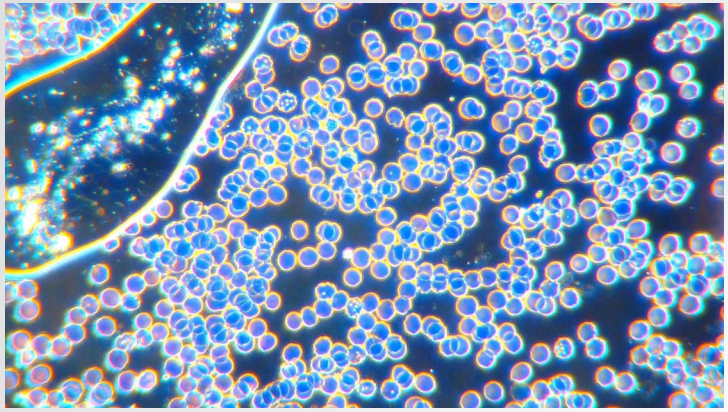
Воронова Н.Ю.

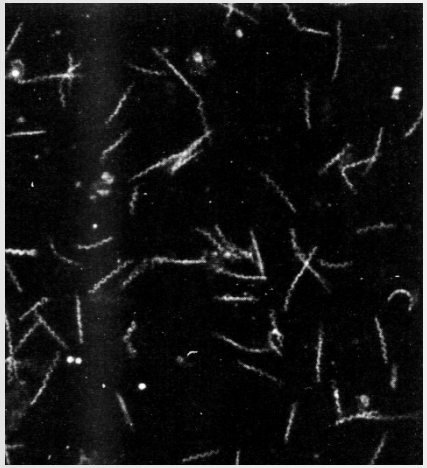


Микроскопический метод исследования
предусматривает наблюдение за живыми и убитыми микробами в окрашенном и неокрашенном состоянии.
(А.С. Лабинская “Микробиология с техникой микробиологических методов исследования”. 1968)



ТЕМНОПОЛЬНАЯ МИКРОСКОПИЯ

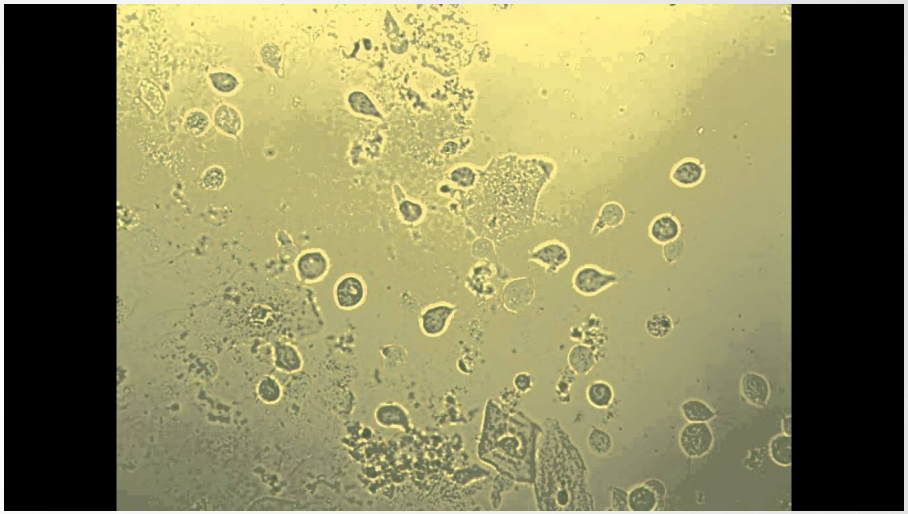




Лейкоциты, эпителиальные клетки, микробы, простейшие ярко светятся отраженным светом на темном фоне препарата.

ФАЗОВО-КОНТРАСНАЯ МИКРОСКОПИЯ

Изучение неокрашенных препаратов и микроорганизмов.

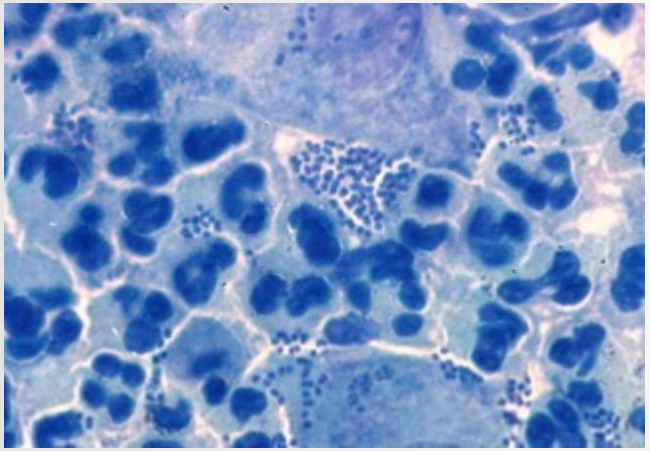


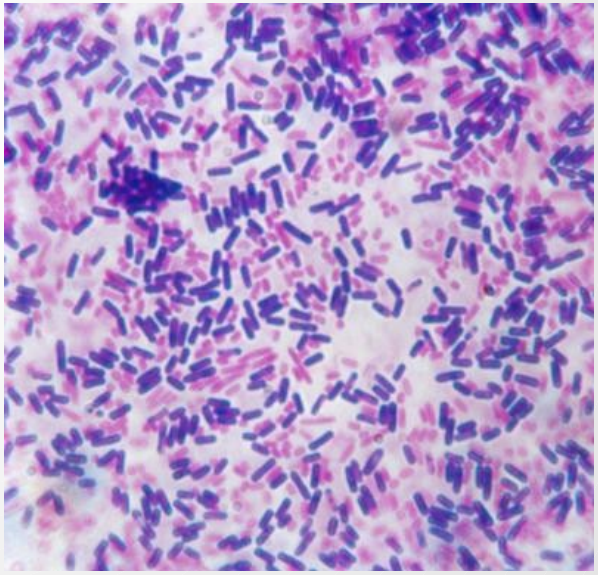
Микроскопия микроорганизмов в окрашенном состоянии.

Простая окраска – применяется одна краска

(н-р: метиленовый синий)

Сложные дифференциальные методы окраски- по методу Грама и др.





Микроскопические методы исследования.

Достоинства:

- простота исполнения,
- доступность,
- быстрое получение результата (15-30минут),
- низкая стоимость исследования

Недостатки:

- требуют тщательного соблюдения правил взятия, транспортировки, окрашивания материала,
- специфичность и чувствительность ограничены,
- требуется высокий уровень подготовки и опыта исследователя,
- зависят от используемого микроскопа

Клинические рекомендации Российского общества дерматовенерологов и косметологов 2017 год.

ФГБУ “Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии” Министерства здравоохранения РФ

cnikvi.ru

ИППП	МИКРОСКОПИЯ			Культуральное исследование	ИФА Ig	ПИФ	ПЦР
	Фазово контрастная	Темнопольная	Окрашенных мазков				
Сифилис		○			○	○	○
Гонорея			○	○	⊘	⊘	○
Трихомониаз	○	○		○	⊘	⊘	○
Хламидиоз					⊘	⊘	○
M.genitalium				⊘	⊘	⊘	○
Ureaplasma M.hominis				○	⊘	⊘	○
HSV I-II					○		○
HPV							○
Кандидоз	○		○	○			○
Бак. вагиноз	○		○	○			○

Микроскопический метод диагностики возбудителей ИППП

ИППП	Нативный препарат	Окрашенный препарат
Гонорея	-	Грамотрицательные диплококки
Трихомониаз	Подвижные трихомонады	Не рекомендован
Кандидоз	Псевдомицелий, дрожжевые клетки	Псевдомицелий, дрожжевые клетки
Бактериальный вагиноз	Ключевые клетки	Ключевые клетки, Микробиом

Этапы микроскопического анализа урогенитальных мазков.

Преаналитический этап:

- взятие клинического материала,
- транспортировка в лабораторию,
- фиксация препарата,
- окраска (1% раствор метиленового синего, по Граму – р-р сафранина)



Аналитический этап:

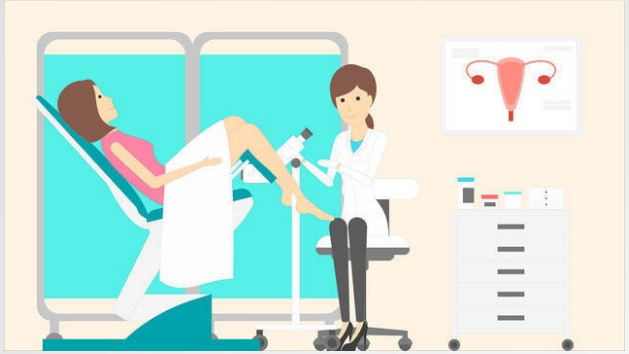
- Микроскопия (объективы х10, х 40, х 100)
- нативные мазки х10 х 40
- окрашенные мазки х10 х 100

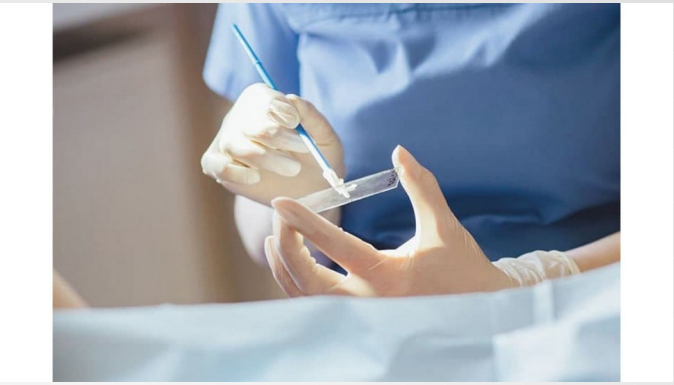


Постаналитический этап:

- выдача заключения







Пациент не использовал местного лечения в течение последних 48-72 часов
У женщин взятие образцов проводить в середине менструального цикла или в дни, когда нет кровянистых выделений
У мужчин взятие образцов из уретры проводить при условии задержки мочеиспускания не менее 3-4 часов
Проведение системной антибиотикотерапии может значительно повлиять на результат микроскопического исследования и снизить его диагностическую ценность
Знание биологии микроорганизма позволяет правильно провести забор материала для анализа

Ошибки при заборе материала

Образец взят из несоответствующего клинической ситуации анатомического места.

Нарушение техники взятия клинического материала.

Неправильное нанесение материала на стекло

Не соблюдение правил транспортировки нативного препарата в лабораторию (высыхание образца)

Лицо, осуществляющее взятие материала, должно гарантировать:

1. Взятие наиболее подходящего материала в зависимости от клинических проявлений и используемого метода диагностики.
2. Качественное взятие материала.

При нарушении техники взятия клинического материла из цервикального канала в мазках определяются клетки плоского эпителия , вагинальная флора, что делает мазок непригодным для дальнейшей оценки.





Окраска мазка

Правильная фиксация препарата.

Окраска по Граму:

Правильные красители:

Гонококк – сафранин, нейтральный красный.

T.vaginalis- Метиленовый синий,

По Граму (фуксин, сафранин), по Романовскому-Гимзе.

Ошибки:

- недостаточная фиксация может привести к удалению материала во время окраски
- переобесцвечивание или недообесцвечивание мазка
- И др.



Оценка данных микроскопического исследования

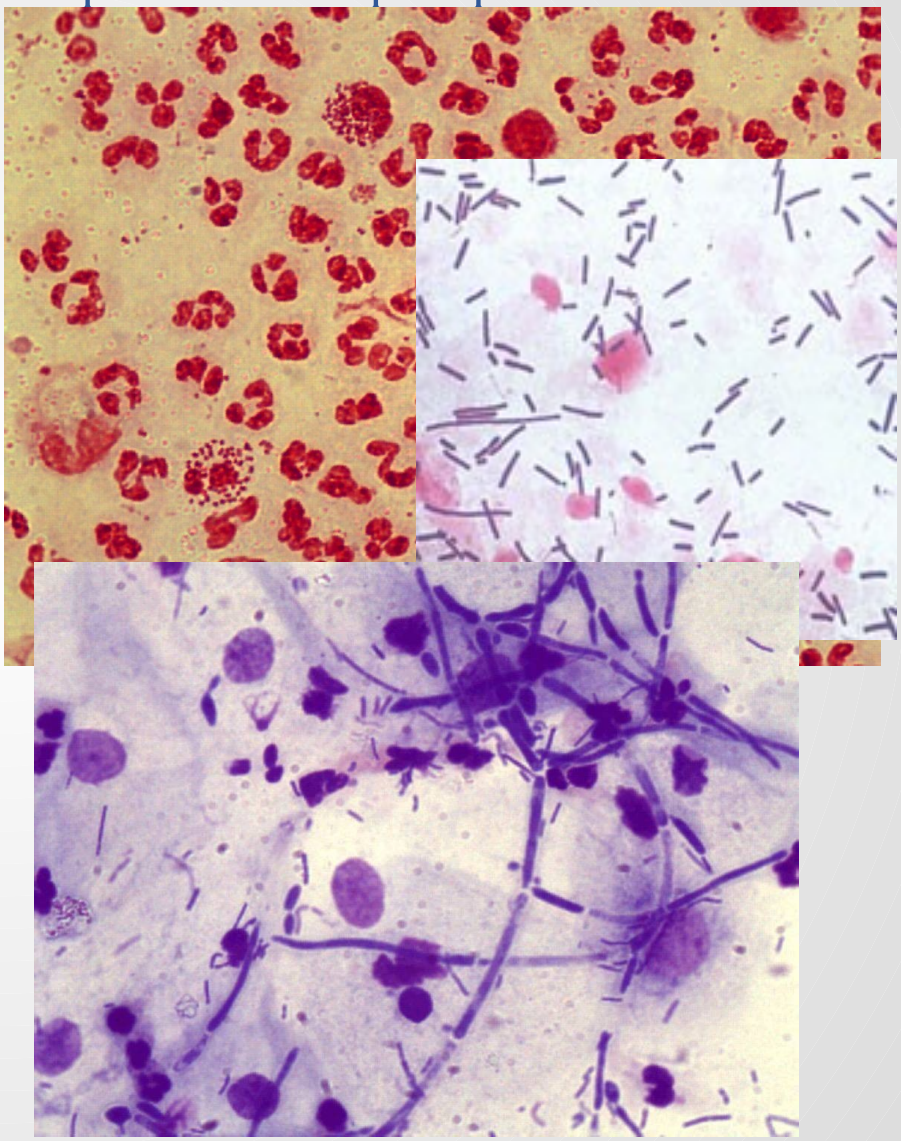
- Эпителиальные клетки:
  - *плоский эпителий - влагалище*
  - *цилиндрический эпителий – уретра, цервикс*
- Сегментоядерные лейкоциты
- T.vaginalis
- Candida spp.
- Сперматозоиды
- Микробиом
- Грамотрицательные диплококки
- Липиды
- Волокна и тп.

Технология исследования окрашенного препарата.

Необходимо оценить:

- Наличие эпителия в препарате
- Количество лейкоцитов
- Количество эритроцитов
- Наличие вне- и внутриклеточныхдиплококков
- Морфотип микробиома

  - *лактобациллы*
  - *кокки*
  - *коккобациллы*



Оценка степени лейкоцитарной реакции.

Уретрит у мужчин:

5 и более полиморфноядерных лейкоцитов в поле зрения при просмотре более 5 полей зрения при увеличении светового микроскопа x1000;

10 и более лейкоцитов в осадке первой порции мочи при увеличении светового микроскопа x400.

Уретрита у женщин:

10 и более полиморфноядерных лейкоцитов в поле зрения в отделяемом уретры при просмотре более 5 полей зрения при увеличении светового микроскопа x1000.

Оценка степени лейкоцитарной реакции.

Наличие цервицита:

10 и более полиморфноядерных лейкоцитов в поле зрения в отделяемом цервикального канала при просмотре более 5 полей зрения при увеличении светового микроскопа х1000 и наличие слизисто-гнойных выделений из цервикального канала.

Результаты оценки окрашенного мазка

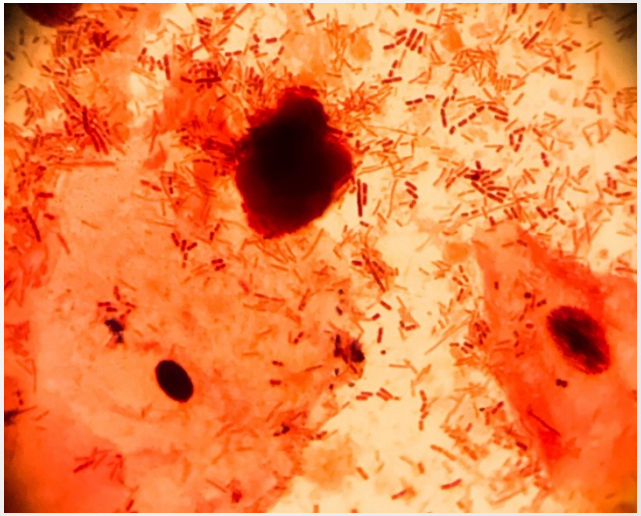
Увеличение	Заключение	Предположения
Объектив х 10	- клинический материал имеется - клинический материал представляет те участки, из которых он взят - наличие загрязнений из других анатомических участков - для дальнейшего изучения выбраны определенные участки - видны эпителиальные клетки цервикального канала и уретры - видна слизь - видны другие (меньше, чем эпителиальные) клетки и их скопления	лейкоциты эритроциты микроорганизмы др. объекты
Объектив х 100	- лейкоциты - эритроциты - микроорганизмы (кокки и палочки) - внутриклеточные гонококки	

Важный этап – поиск и выбор определённого участка для изучения при большом увеличении:

Наилучшими участками, отражающими процесс, происходящий в очаге, являются те, где среди тонкого слоя эпителиальных клеток количество лейкоцитов наибольшее. В материале из цервикального канала слизь располагается тонким слоем, лейкоциты и клетки лежат равномерно друг от друга.

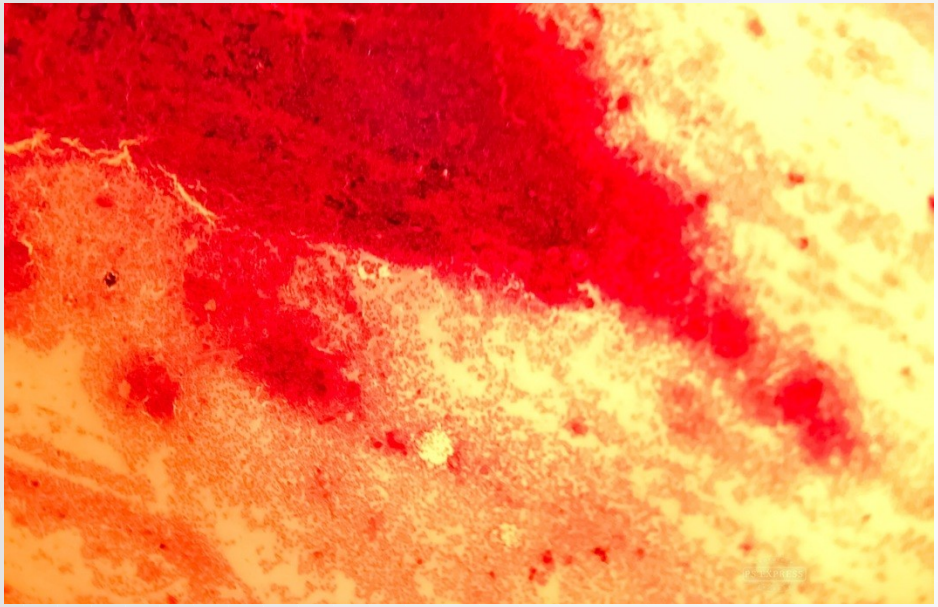
Если ни одного лейкоцита в образце не найдено, это означает, что в этот момент нет воспаления.

Пример: Мазок из влагалища. Клетки плоского эпителия. Лейкоциты не обнаружены. В большом количестве Грам+ палочки.

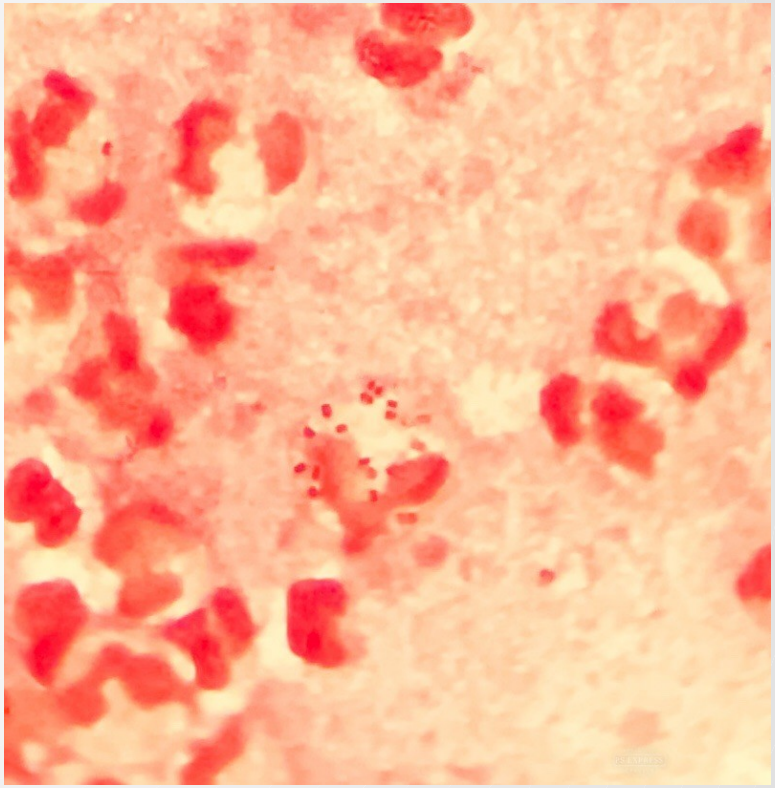


X 100

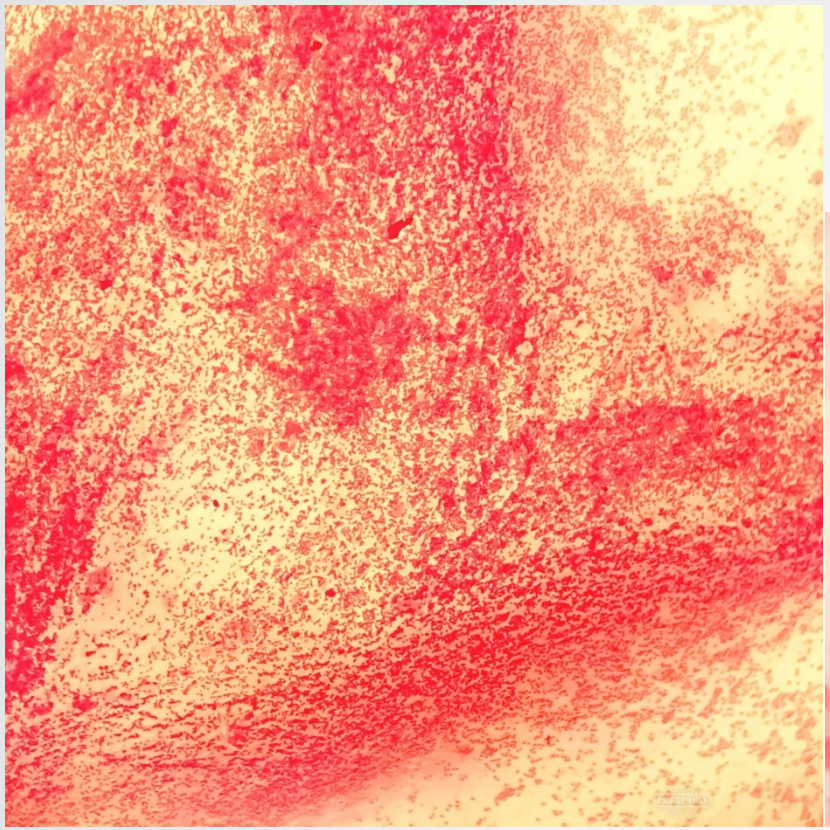
Пример: Пациент. Мазок из уретры.
Выраженный лейкоцитоз.
Обнаружены Грамотрицательные диплококки внутриклеточно.



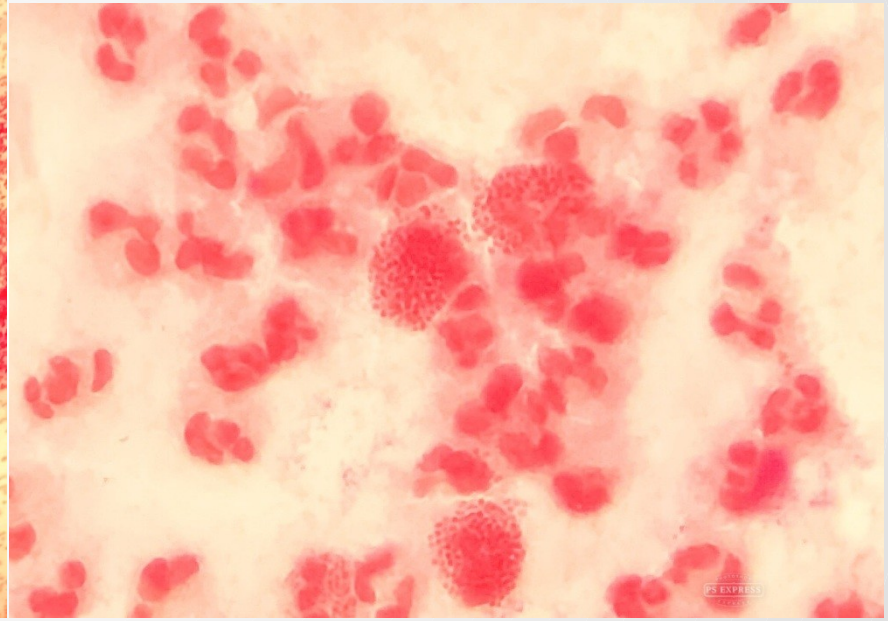
X 10



X 100



X 10



X 100

Заключение по результатам микроскопического исследования

Клинический материал уретры:

- *Количество лейкоцитов (ПМЯЛ).*
- *Эпителий, количество.*
- *Грамотрицательные вне и внутриклеточные диплококки – обнаружены/не обнаружены.*
- *Слизь.*
- *Количественный и качественный состав микробиома.*
- *Наличие выявленных микроорганизмов.*
- *Сперматозоиды (у мужчин)*

Заключение по результатам микроскопического исследования

Клинический материал цервикального канала:

- Клетки цилиндрического эпителия
- Клетки плоского эпителия (влагалища).
- *Количество лейкоцитов (ПМЯЛ).*
- *Грамотрицательные вне и внутриклеточные диплококки – обнаружены/не обнаружены.*
- *Слизь.*
- *Количественный и качественный состав микробиома.*
- *Сперматозоиды.*

Клинический материал влагалища:

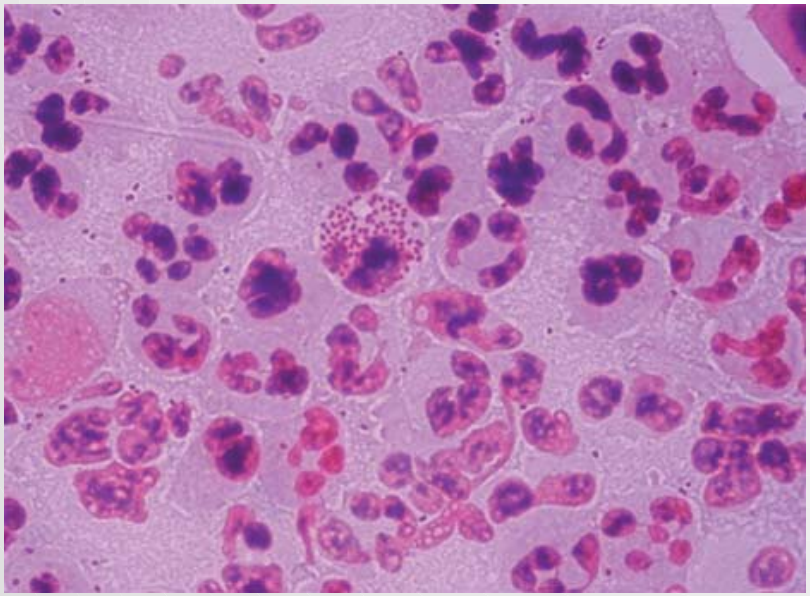
- Клетки плоского эпителия (влагалища).
- *Количество лейкоцитов (ПМЯЛ).*
- *Количественный и качественный состав микробиома.*
- *Наличие Ключевых Клеток.*
- *Лактобациллы, количество.*
- *T.vaginalis.*
- *Candida spp. (дрожжевые клетки, псевдомицелий).*
- *Сперматозоиды.*

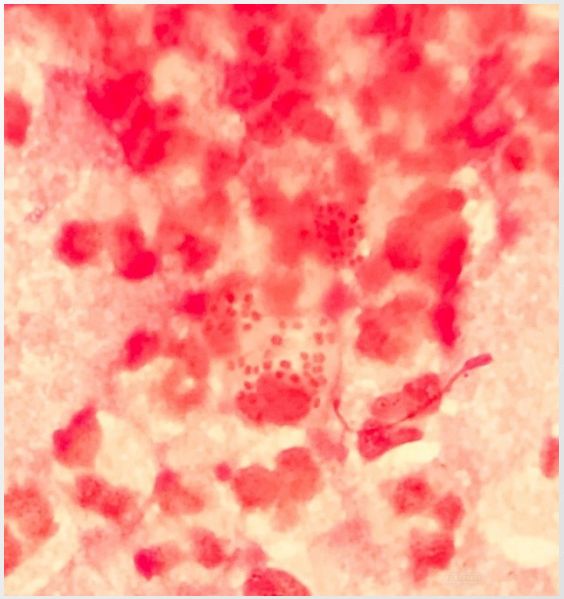
Гонококковая инфекция

КР218

Гонококковая инфекция – инфекционное заболевание человека, вызываемое гонококками.

Гонококки (Neisseria gonorrhoeae) - грамотрицательные диплококки, представляющие собой бобовидной формы, неподвижные, не образующие спор гноеродные бактерии.





У мужчин с манифестными проявлениями гонореи в мазке из уретры

- рекомендована микроскопия окрашенных мазков (1% раствором метиленового синего и по Граму)
- *чувствительность микроскопического исследования при исследовании уретрального отделяемого у мужчин с манифестными проявлениями гонококковой инфекции составляет 90-100%, специфичность – 90-100%.*

Мазки из цервикального канала, прямой кишки, глотки и при безсимптомных формах гонореи

- не рекомендуется проведение микроскопического исследования мазков, окрашенных 1 % р-ром метиленового синего и по Граму.

- *чувствительность и специфичность микроскопического исследования при исследовании цервикальных, фарингеальных и ректальных проб, а также при бессимптомной инфекции составляет 45-64%.*

Рекомендуется верификация диагноза гонококковой инфекции

Молекулярно-биологические методы (обнаружение специфических фрагментов ДНК и/или РНК *N. gonorrhoeae*)

Чувствительность методов составляет 98-100%, специфичность - 100%.

У детей обязательное использование :

Культуральный метод

и/или

Молекулярно-биологические методы



Категорически **не рекомендуется**
использование других методов лабораторных исследований:

Метода прямой иммунофлюоресценции (ПИФ),

Иммуноферментного анализа (ИФА) для обнаружения антител к *N. gonorrhoeae*

ФЦП “Предупреждение и борьба с заболеваниями социального характера”
подпрограмма “О мерах по предупреждению дальнейшего распространения заболеваний передаваемых половым путем”

СОП “Забор клинического материала у пациентов с подозрением на гонококковую инфекцию” № 002/04ГОН.

СОП “по проведению видовой идентификации возбудителя гонореи” № 003/04ГОН

№ 004/04ГОН

№ 005/04ГОН



Методика окраски состоит из нескольких этапов:

• на фиксированный высушенный мазок пипеткой наносят 0,8 мл водного раствора кристаллвиолета на 1 минуту;

• по истечении этого времени препарат промывают водопроводной водой;

• на промытый препарат наносят раствор Люголя, при этом время экспозиции в значительной
мере зависит от толщины препарата; ориентиром для окончания обработки является изменение окраски препарата из фиолетовой на темно-коричневую (около 30 секунд); препарат вновь промывают водопроводной водой;

• приступают к обработке обесцвечивающим раствором, представляющим собой смесь равных объемов этилового спирта с ацетоном, от 30 секунд до 1 минуты. Время обесцвечивания зависит также от толщины препарата: обесцвечивание считается достаточным, когда наиболее тонкие участки препарата остаются окрашенными в серо-голубой цвет;

• препарат вновь промывают водопроводной водой;

• на поверхность стекла наносят 0,8 мл водного раствора сафранина на 1 минуту;

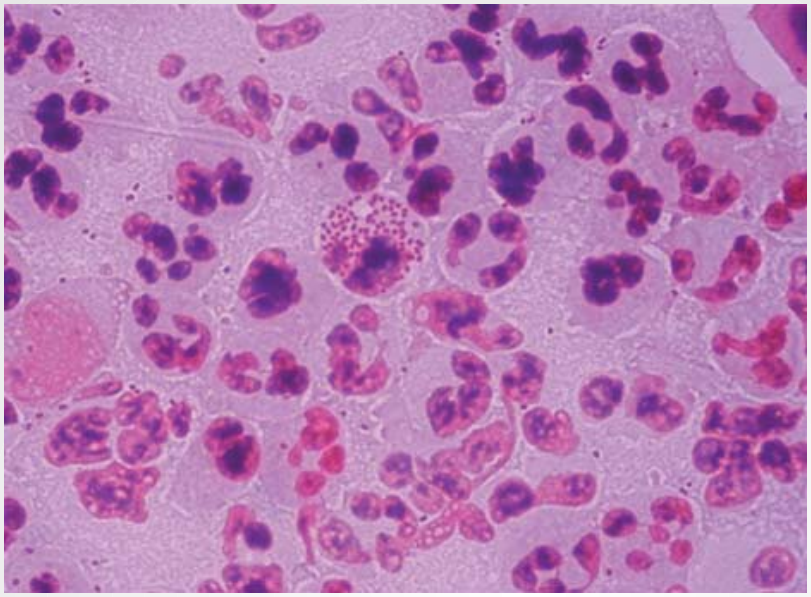
• излишек краски смывают с поверхности препарата водопроводной водой;

• препарат высушивают на воздухе.

Дифференциальным признаком гонококка является отношение к форменным элементам препарата:

- гонококки расположены внутриклеточно по отношению к лейкоцитам и поверхностно по отношению к клеткам плоского эпителия.
- Внутриклеточно каждая пара диплококков по отношению к соседней располагается под углом.
- Учитывают также и характерное расположение гонококков на клетках плоского эпителия: рядами, с расположением диплококков под углом или перпендикулярно друг к другу внутри ряда.

Микроскопия окрашенных препаратов – это этап диагностики гонореи, когда еще не может быть осуществлена точная видовая идентификация возбудителя, поэтому на данном этапе диагностики говорят не о гонококках, а о диплококках, морфологически сходных с *N.gonorrhoeae*.



Учет и предоставление результатов.

При идентификации гонококков учитывают три их основных признака:

- морфологию (форма диплококков),
- характерное расположение (внутри нейтрофила и на эпителиальных клетках)
- тинкториальные свойства (грамотрицательный диплококк).

Положительный ответ выдают при наличии всех вышеуказанных признаков.

Форма результата бактериоскопического исследования

По результатам бактериоскопии формулируется одно из двух заключений:

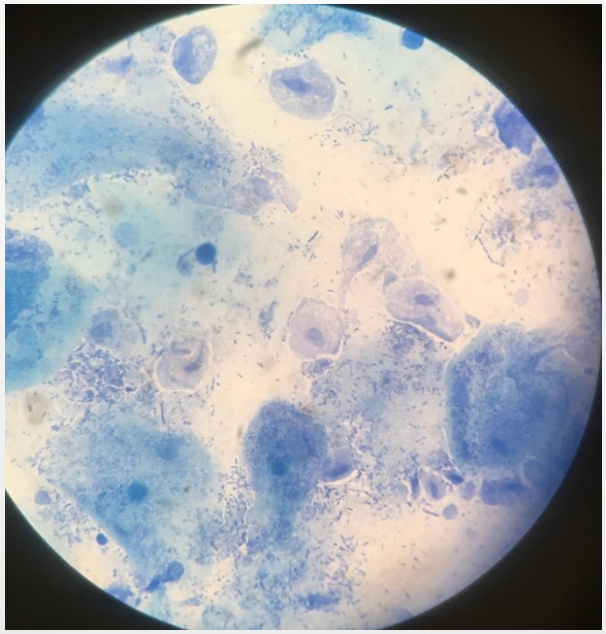
• **обнаружены** грамотрицательные внутриклеточные и/или внеклеточные диплококки, морфологически сходные с гонококком;

• отрицательные внутриклеточные и/или внеклеточные диплококки, морфологически сходные с гонококком, **не обнаружены**.

В случае положительного ответа окрашенные препараты сохраняют для контроля в течение трех месяцев.

Урогенитальный трихомониаз
КР241

Урогенитальный трихомониаз – инфекция, передаваемая половым путём, возбудителем которой является *Trichomonas vaginalis*.
Trichomonas vaginalis – жгутиковый простейший одноклеточный паразит, вызывающий поражение урогенитального тракта человека



Этиология и патогенез

Trichomonas vaginalis – одноклеточный микроорганизм, относится к типу простейших, семейству *Trichomonadidae,* роду *Trichomonas*.

T. vaginalis имеет овальную, округлую или грушевидную форму. Размеры трихомонад могут варьировать от 8 до 40 мкм и более. Простейшее имеет 5 жгутиков, 4 из которых расположены в его передней части, а один – внутри ундулирующей мембраны, обеспечивающей активное движение трихомонады. Ядро *T.vaginalis* локализовано в ее передней части. В ядре берет начало аксостиль – гиалиновый тяж, пересекающий клетку вдоль и заканчивающийся острым концом, способствующим прикреплению простейшего к эпителиальным клеткам урогенитального тракта.

Трихомонады обладают тропизмом к плоскому эпителию.

Рекомендуется верификация диагноза урогенитального трихомониаза:

1. Исследование нативного препарата микроскопическим методом – фазово-контрастная или темнопольная микроскопия

- *необходимым условием микроскопии нативного препарата является проведение исследования немедленно после получения биологического материала.*
- *наиболее высокая чувствительность (до 70%) и специфичность (до 100%) микроскопического исследования нативного препарата установлена при клинически выраженных формах заболевания, в особенности у женщин.*

2. Молекулярно-биологические методы (обнаружение специфических фрагментов ДНК и/или РНК *T.vaginalis)*

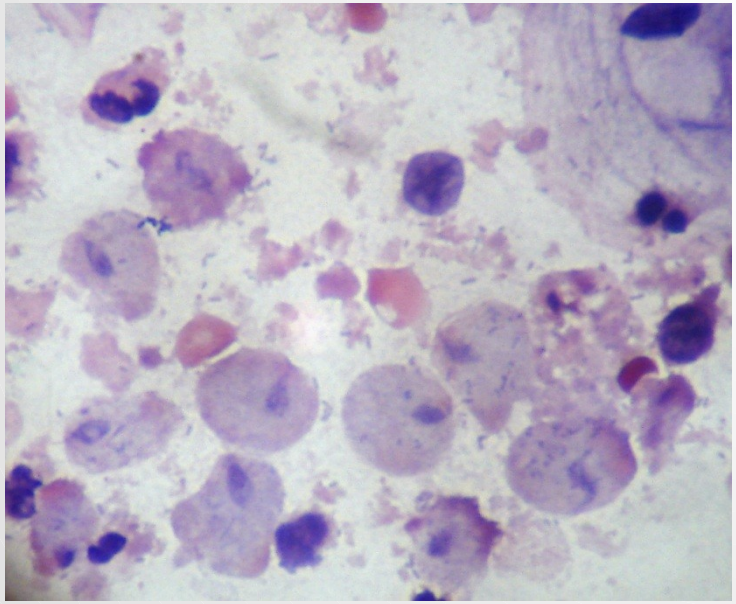
- *Чувствительность молекулярно-биологических методов составляет 88-97%, специфичность – 98-99%.*

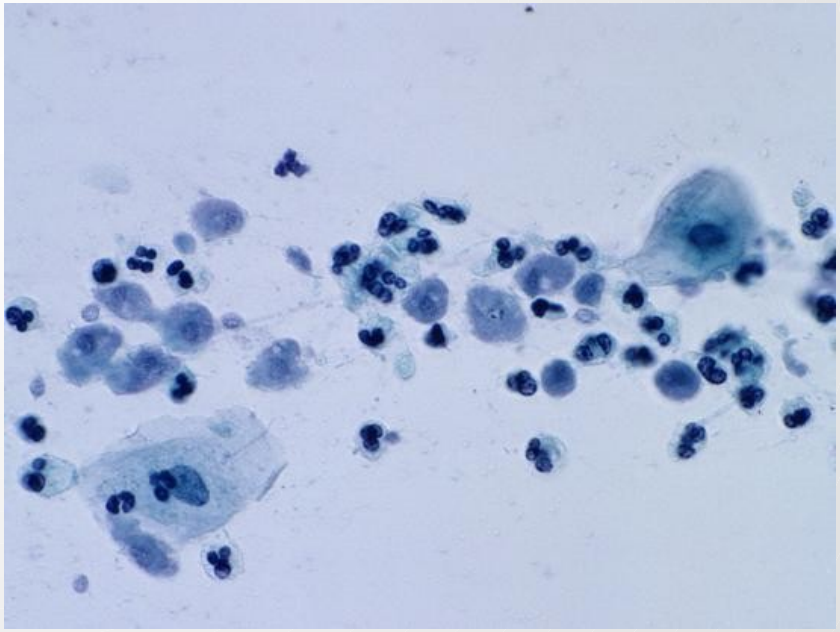
3. Культуральный метод.

Не рекомендуется верификация диагноза урогенитального трихомониаза

- На основании микроскопического исследования окрашенных препаратов

Комментарии: субъективизм оценки результатов





При анализе результатов микроскопии необходимо принимать во внимание наличие только клеток с характерными для T.vaginalis морфологическими признаками.

Попытки поиска и учета так называемых “атипичных” форм трихомонад приводят к большому количеству диагностических ошибок и ложноположительных результатов и, в конечном итоге, постановке необоснованного диагноза.





Категорически **не рекомендуется** использование других методов лабораторных исследований:

- метода прямой иммунофлюоресценции (ПИФ) для идентификации *T.vaginalis*
- иммуноферментного анализа (ИФА) для обнаружения антител к *T.vaginalis*

Урогенитальный кандидоз
КР 219

Урогенитальный кандидоз – заболевание мочеполового тракта воспалительного характера, обусловленное дрожжеподобными грибами рода *Candida*.

Candida spp. – условно-патогенные микроорганизмы, являющиеся факультативными анаэробами и обладающие тропизмом к тканям, богатым гликогеном (в частности, к слизистой оболочке влагалища).

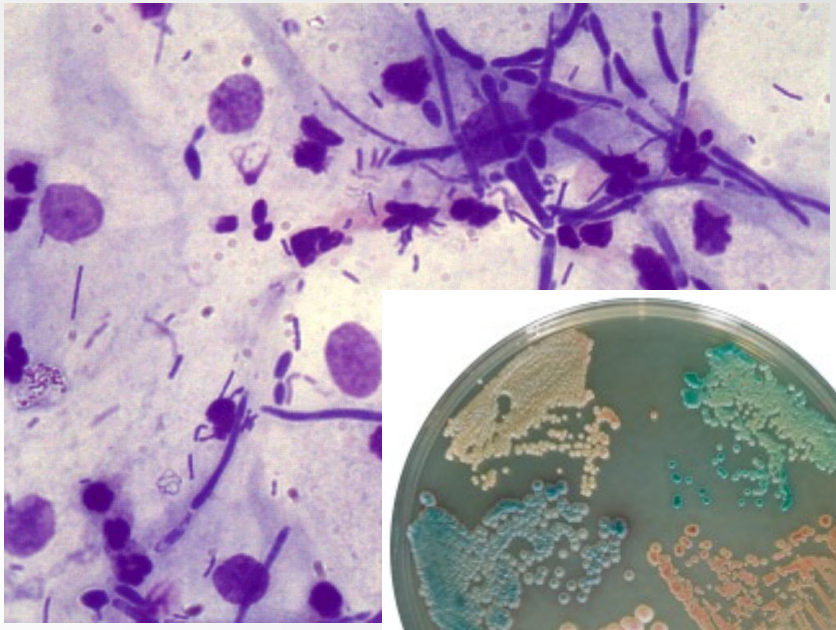
Возбудителем УГК являются дрожжеподобные грибы рода *Candida*. На долю *C. albicans* в этиологической структуре УГК приходится от 80 до 93%, на долю *C. non-albicans* (наиболее часто выявляемые – *C. glabrata, C. krusei, C. tropicalis, C. parapsilosis*, реже – *C. guillermondi ,C. kefyr*) - 10–17%. *C.non-albicans* выявляются при УГК, ассоциированным с рецидивирующим течением, сахарным диабетом, ВИЧ-инфекцией.

Рекомендуется верификация диагноза урогенитального кандидоза

1. Микроскопическим методом:
- (исследование препаратов, окрашенных метиленовым синим, по Граму,
- нативных препаратов

2. Культуральный метод.

3. Молекулярно-биологический метод.





Бактериальный вагиноз
КР206

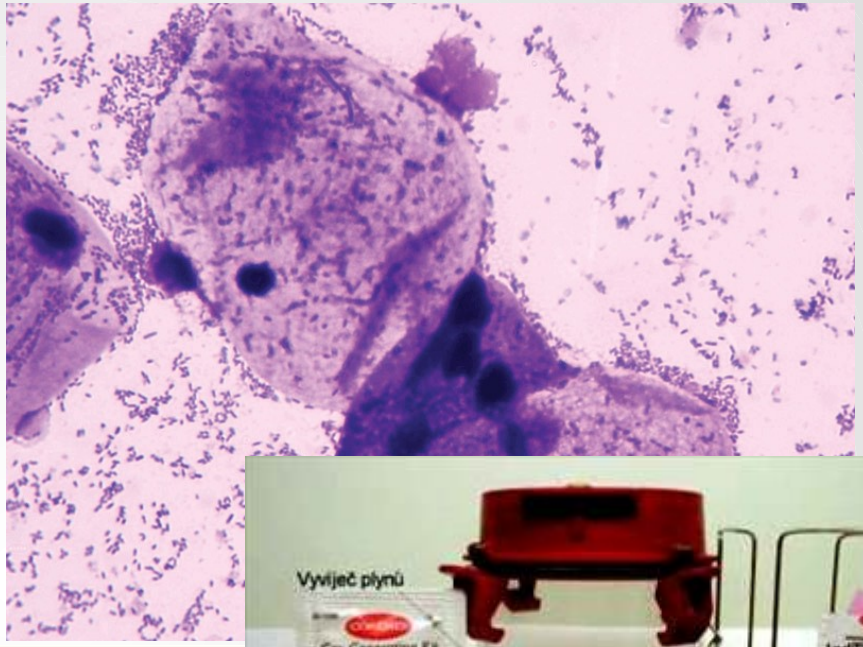
Бактериальный вагиноз (БВ) – это дисбиоз влагалищной микробиоты, выраженный в снижении количества лактобактерий (вплоть до их полного исчезновения) и в увеличении количества облигатных и факультативных анаэробных условно-патогенных микроорганизмов.

БВ – полимикробное дисбиотическое заболевание, при котором резко уменьшается количество *Lactobacillus spp.* и увеличивается количество факультативных и облигатных анаэробов и микроаэрофилов (*Gardnerella vaginalis, Peptostreptococcus, Clostridiales spp., Prevotella spp., Bacteroides, Fusobacterium, Veillonella, Eubacterium, Atopobium vaginae, Mobiluncus spp., Megasphaera, Sneathia, Leptotrichia spp., Sneathia spp., Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum, Streptococcus viridians*).

На современном этапе признается ведущая роль *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae* в этиопатогенезе БВ.

Рекомендуется верификация диагноза бактериального вагиноза.

1. Микроскопическим методом, направленным на выявление «ключевых» клеток.
2. Микробиологическим методом с целью определения видового и количественного состава микробиоты влагалища.
3. Молекулярно-биологическим методом (выявление специфических фрагментов ДНК микроорганизмов, ассоциированных с БВ).

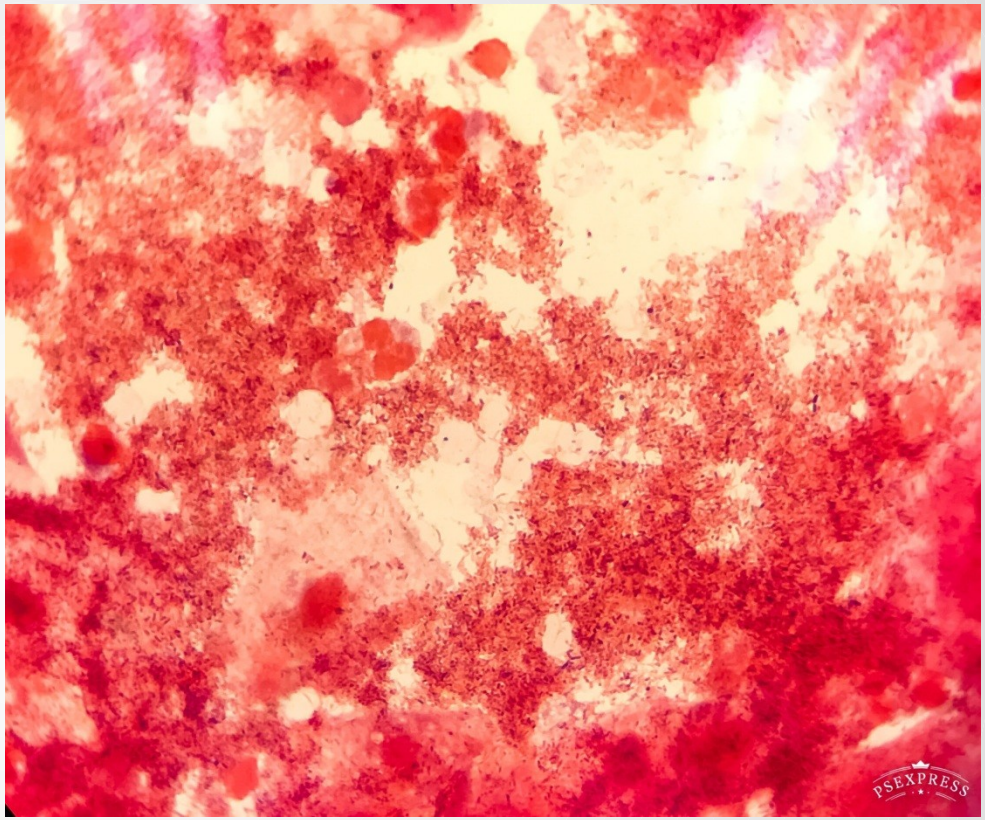




Комментарии:

- *при микроскопическом исследовании необходимо отмечать:*

- *выявление «Ключевых» Клеток,*
- *уменьшение количества или исчезновение лактобацилл;*
- *увеличение количества смешанной микробной (не лактобациллярной) микробиоты;*
- *отсутствие местной лейкоцитарной реакции.*

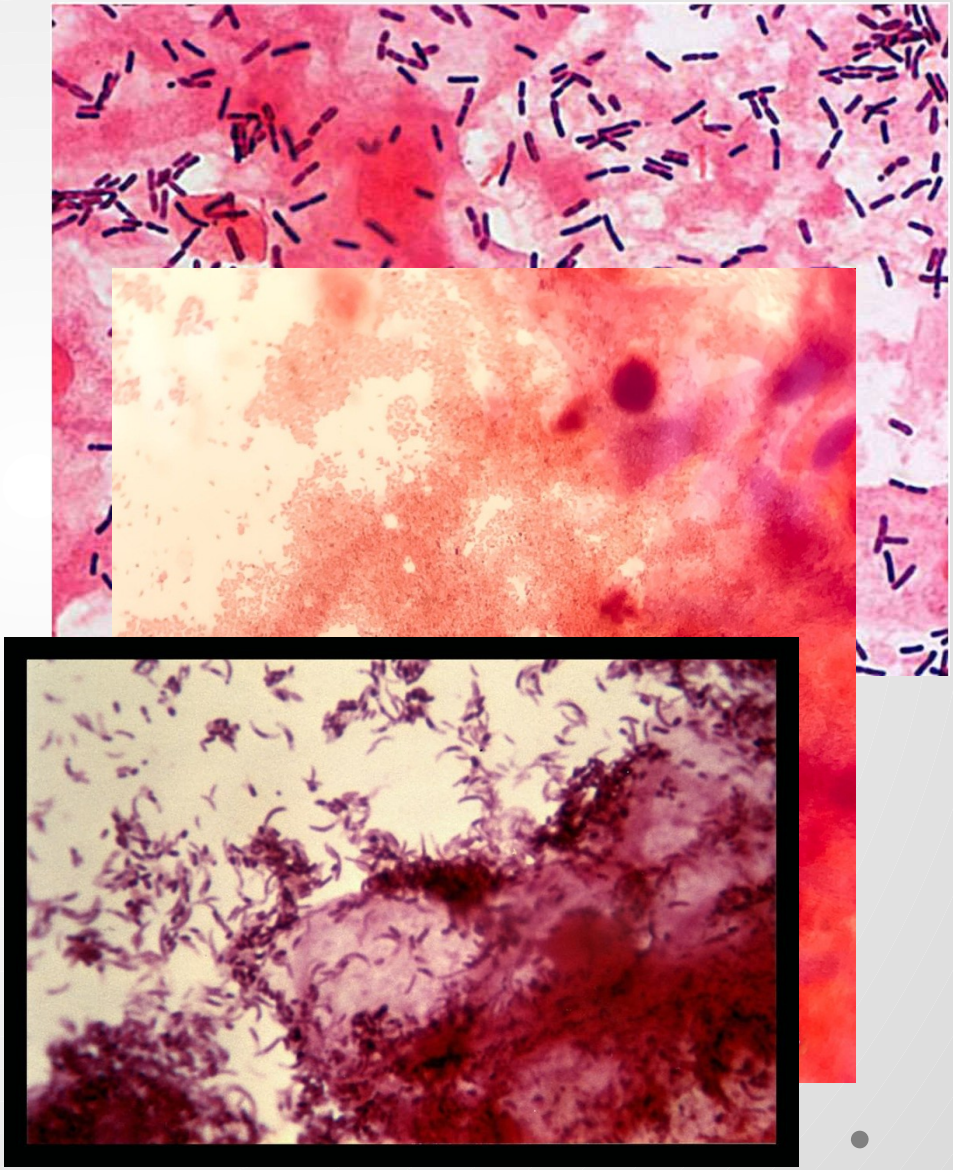


Микроскопическое исследование при бактериальном вагинозе дает возможность:

Оценить соотношение морфотипов лактобактерий и условно- патогенной микробиоты:

Метод Ньюджента (Nugent):

1. *Морфотип* Lactobacillus.
2. *Морфотип* G.vaginalis и др.грамвариабельных бактерий.
3. *Морфотип* Mobiluncus (изогнутые грамотрицательные бактерии)



Количество баллов по Nugent при микроскопическом исследовании мазка из влагалища

Баллы	Морфотип Lactobacilli количество бактерий в п/зрения	Морфотип Gardneralla, Bacteroides количество бактерий в п/зрения	Морфотип Mobiluncus количество бактерий в п/зрения
0	Более 30	нет	Нет морфотипов
1	5-30	1 и менее	1-4
2	1-4	1-4	5-30 и более
3	1 и меньше	5-30	-
4	Нет	Более 30	-

от 0 до 3 - нормальное состояние микробиоты влагалища

4–6 баллов – «промежуточная микрофлора»

свыше 7 - бактериальный вагиноз

Параметр	Результат	Референсные значения
Микроскопия мазка из цервикального канала и влагалища	Готов	
Клетки цилиндрического эпителия (шейка матки)	**Отсутствуют**	Присутствуют
Лейкоциты (шейка матки), в п/зр	Менее 10	Менее 10
Количество слизи (шейка матки)	Умеренно	
Грамотрицательные внутриклеточные диплококки (шейка матки)	Не обнаружены	Не обнаружены
Клетки плоского эпителия (влагалище), в п/зр	Умеренно	
Соотношение лейкоцитов к клеткам плоского эпителия (влагалище)	Менее 1:1	Менее 1:1
Дрожжеподобные грибы (влагалище)	Не обнаружены	Не обнаружены
Трихомонады (влагалище)	Не обнаружены	Не обнаружены
Грамотрицательные внутриклеточные диплококки (влагалище)	Не обнаружены	Не обнаружены
Грамположительные кокки (влагалище), в п/зр	Не обнаружено	Не обнаружено
Ключевые клетки (влагалище)	Не обнаружены	Не обнаружены
Лактобациллы (влагалище), в п/зр (балл по Ньюджменту)	более 30 (0)	
Грамвариабельные коккобациллы (влагалище), в п/зр (балл по Ньюджменту)	Не обнаружены (0)	
Грамвариабельные изогнутые палочки (влагалище), в п/зр (балл по Ньюджменту)	Не обнаружены (0)	
Сумма баллов по шкале Ньюджента	0	

Диагностическая система Ison-Hay (2002 г.)

Уровень 0	**Эпителиальные клетки, бактерии отсутствуют**
Уровень I	Нормальная вагинальная микрофлора (морфологические типы лактобацилл)
Уровень II	Уменьшение количества лактобацилл, смешанная бактериальная микрофлора
Уровень III	Смешанная бактериальная микрофлора , малое количество или полное отсутствие лактобацилл
Уровень IV	Грамположительные кокки

Диагностика бактериального вагиноза (критерии ВОЗ, 2005 г.)

Норма	**Наличие только лактобацилл**
Норма	Лактобациллы и небольшое количество коккобацилл
Бактериальный вагиноз	Ключевые Клетки, смешанная микрофлора (Gardnerella, анаэробные бактерии). Уменьшение количества лактобацилл
Бактериальный вагиноз	Ключевые клетки, смешанная микрофлора (грамвариабельные палочки). Отсутствие лактобацилл

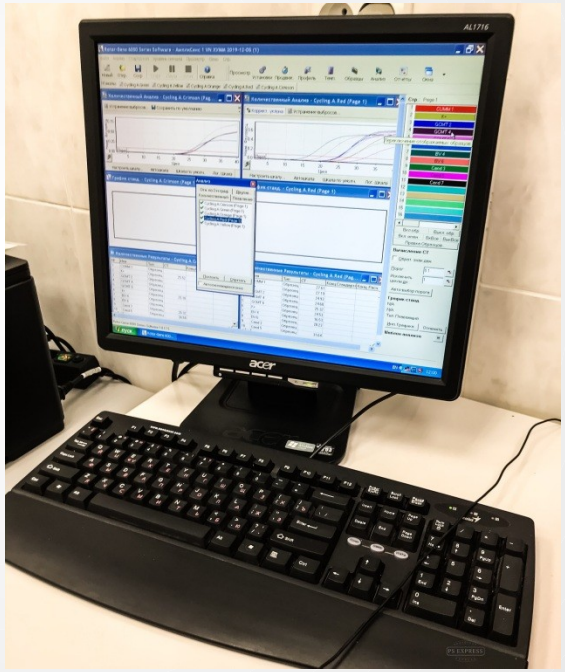
Методы лабораторной диагностики при бактериальном вагинозе

- Микроскопическое исследование:
  - позволяет выявить микроорганизмы,присутствующие в биоматериале в количестве, превышающем 104–5 КОЕ/мл
  - дает приблизительную количественную оценку биоты урогенитального тракта женщин.
- Культуральное исследование:
  - малоинформативно, затратно, трудоемко.
- ПЦР в режиме реального времени
  - комплексная количественная оценка общей бактериальной массы, лактобацилл и комплекса аэробных и анаэробных микроорганизмов.

Комплексная диагностика бактериального вагиноза

Микроскопическое исследование окрашенного по Граму мазка из влагалища + Real-tine PCR





17 пациенток : микроскопия по Граму + Real-time PCR

Ключевые Клетки обнаружены	G.vaginalis ДНК	A.vaginae ДНК	Lactobacillus spp. ДНК	Bacteria ДНК
+	4×10^5	4×10^5	9×10^5	4×10^7
+	4×10^5	4×10^5	9×10^5	4×10^7
+	6×10^5	5×10^5	7×10^3	5×10^6
+	1×10^6	5×10^6	2×10^5	3×10^7
+	1×10^6	5×10^5	5×10^6	2×10^8
+	2×10^6	3×10^5	3×10^6	9×10^6
+	3×10^6	7×10^5	6×10^3	6×10^6
+	3×10^6	2×10^6	7×10^6	3×10^7
+	4×10^6	2×10^6	2×10^5	2×10^7
+	-	5×10^4	1×10^3	5×10^7
+	-	1×10^5	2×10^5	2×10^6
+	-	1×10^5	2×10^5	4×10^6
+	-	2×10^6	2×10^5	3×10^6
+	-	3×10^6	2×10^6	4×10^7
+	-	6×10^6	1×10^6	2×10^7
+	5×10^2	-	7×10^6	1×10^7
+	6×10^6	-	2×10^6	6×10^7

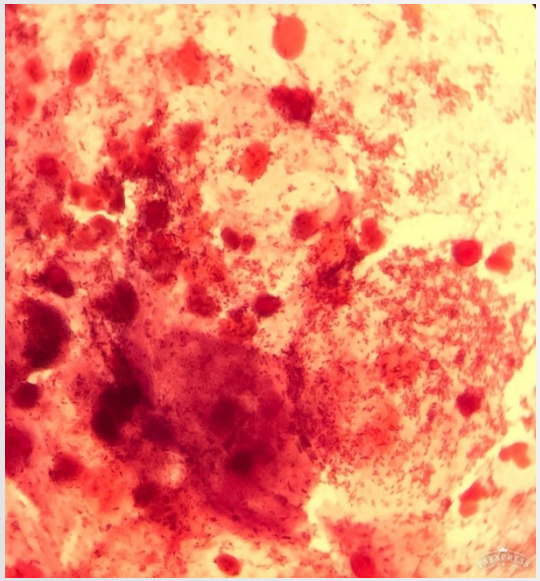
16 пациенток: микроскопия по Граму + Real-time PCR

Ключевые Клетки отсутствуют	G.vaginalis ДНК	A.vaginae ДНК	Lactobacillus spp. ДНК	Bacteria ДНК
-	4×10^{2}	5×10^{4}	4×10^{6}	4×10^{6}
-	4×10^{3}	1×10^{4}	2×10^{7}	3×10^{7}
-	2×10^{5}	7×10^{3}	1×10^{6}	2×10^{6}
-	-	1×10^{3}	2×10^{6}	3×10^{6}
-	-	2×10^{3}	5×10^{6}	4×10^{6}
-	-	6×10^{3}	1×10^{6}	2×10^{6}
-	-	7×10^{3}	6×10^{6}	7×10^{7}
-	-	1×10^{4}	5×10^{6}	6×10^{6}
-	-	2×10^{4}	4×10^{6}	5×10^{6}
-	-	4×10^{4}	2×10^{6}	2×10^{6}
-	-	7×10^{4}	2×10^{6}	5×10^{6}
-		2×10^{5}	6×10^{4}	4×10^{7}
-		5×10^{5}	4×10^{6}	8×10^{6}
-		8×10^{5}	2×10^{4}	4×10^{6}
-	2×10^{3}	-	3×10^{6}	3×10^{6}
-	4×10^{3}	-	2×10^{6}	2×10^{6}

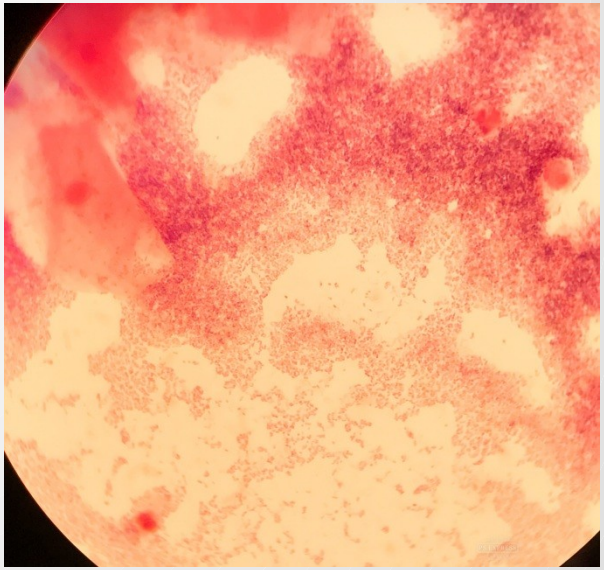
32 пациентки: микроскопия по Граму + Real-time PCR

Ключевые клетки отсутствуют	**G.vaginalis ДНК**	**A.vaginae ДНК**	**Lactobacillus spp. ДНК**	**Bacteria ДНК**
-	-	-	от 2 x10 ^{2} до 2 x 10^{7}	от 7 x 10^{4} до 4 x10 ^{8}

Микрофлора половых органов здоровой женщины представляет собой комплексную, динамически изменяющуюся микроэкосистему.
Состав микрофлоры зависит от фазы менструального цикла, гормональных изменений, сексуальной активности, гигиенических привычек, приема антибиотиков и других факторов.
Морфотипы микробиома при бактериальном вагинозе достаточно различаются.







Хламидийная инфекция
КР194

Урогенитальная хламидийная инфекция – инфекция, передаваемая половым путём, возбудителем которой является *Chlamydia trachomatis*.
Chlamydia trachomatis – грам-отрицательная внутриклеточная бактерия, относящаяся к порядку *Chlamydiales*, семейству *Chlamydiaceae,* роду *Chlamydia.*

Этиология и патогенез

Хламидии представляют собой неподвижные, грамотрицательные бактерии, являющиеся облигатными внутриклеточными паразитами эукариотических клеток. *Chlamydia trachomatis* принадлежит к роду *Chlamydia* семейства *Chlamydiacea.* Серотипы *Chlamydia trachomatis* A, B, Ba, C являются возбудителями трахомы; D-K – урогенитального хламидиоза; L1, L2, L3 – венерической лимфогранулемы.
Хламидии существуют в двух формах, различающихся по морфологическим и биологическим свойствам. Высокоинфекционной, спороподобной, внеклеточной формой является элементарное тельце (ЭТ), а вегетативной, репродуцирующейся, внутриклеточной – ретикулярное тельце (РТ).

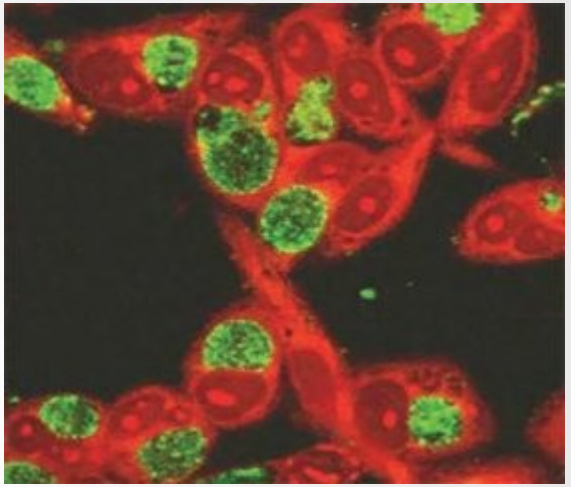
Хламидии обладают тропизмом к цилиндрическому эпителию

1.Поражают слизистую оболочку уретры, цервикального канала, прямой кишки, ротоглотки и конъюнктивы глаз.

2.У взрослых женщин не способны размножаться в неизмененном многослойном плоском эпителии влагалища.

3.У детей и подростков хламидии могут вызывать поражение слизистых оболочек вульвы и влагалища:

(несовершенность физиологических защитных механизмов, небольшое количество слоев поверхностного эпителия, щелочная реакция вагинального отделяемого).



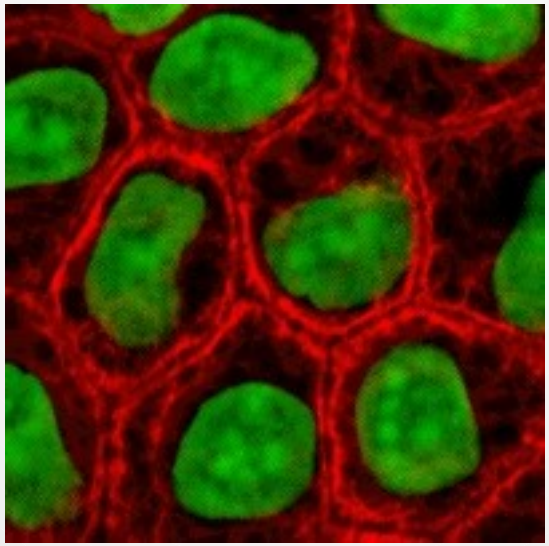
Рекомендуется верификация диагноза хламидийной инфекции:

- Молекулярно-биологическими методами, направленными на обнаружение специфических фрагментов ДНК и/или РНК *C. trachomatis.*

- *Чувствительность методов составляет 98-100%, специфичность - 100%.*



Не рекомендуется применять метод выделения *C. trachomatis* в культуре клеток в рутинных исследованиях и для установления этиологии бесплодия





Категорически **не рекомендуется** использование других методов лабораторных исследований:
прямой иммунофлюоресценции (ПИФ),
иммуноферментного анализа (ИФА) для обнаружения антител к *C. trachomatis,*
микроскопического и морфологического методов для диагностики хламидийной инфекции

Урогенитальная микоплазменная инфекция КР216

Mycoplasma genitalium – патогенный микроорганизм, способный вызывать уретрит у лиц обоего пола, цервицит и воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ) у женщин.

Этиология и патогенез

M. genitalium имеет самую маленькую величину генома (600 т.п.н.) из всех микоплазм и других самореплицирующихся микроорганизмов, что обусловливает значительные сложности в ее изучении, связанные с трудностью культивирования (рост на питательных средах составляет от 1 до 5 месяцев).

M. genitalium обладают тропизмом к цилиндрическому эпителию и способны поражать слизистую оболочку уретры и цервикального канала. Инфицирование *M. genitalium* взрослых лиц происходит половым путем, детей – интранатальным и половым путями. Обсуждается вопрос об этиологической роли *M. genitalium* в развитии эпидидимита и простатита, но убедительных доказательств по данному вопросу на настоящий момент не получено.

Рекомендуется верификация диагноза урогенитальных заболеваний, вызванных *M. genitalium*:

- Молекулярно-биологическими методами (обнаружение специфических фрагментов ДНК и/или РНК)

- Чувствительность методов составляет 98-100%, специфичность - 100%.



Категорически **не рекомендуется** использование других методов лабораторных исследований:

культурального метода,

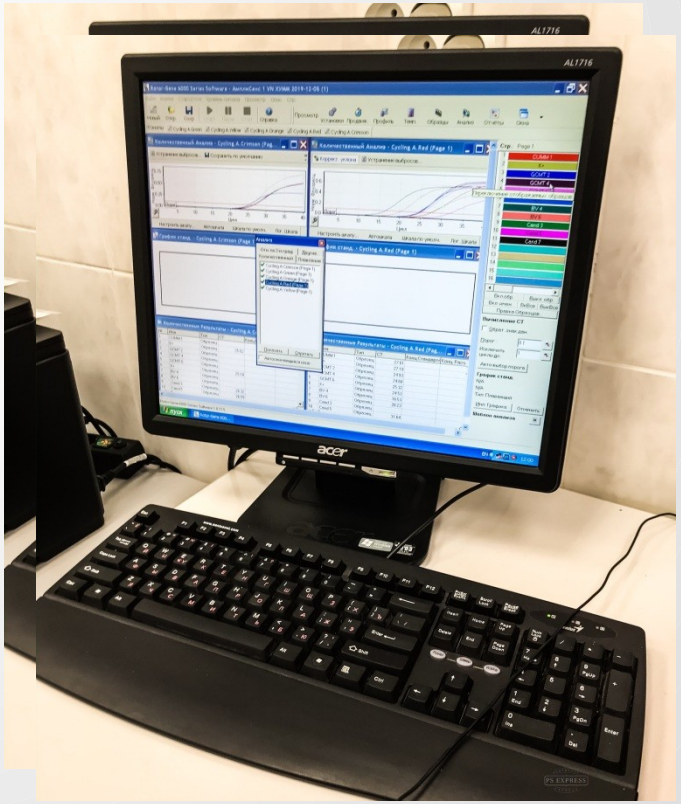
метода прямой иммунофлюоресценции (ПИФ),

иммуноферментного анализа (ИФА) для обнаружения антител к *M. genitalium*.

Урогенитальная уреаплазменная инфекция КР217

Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum, Ureaplasma parvum – условно-патогенные микроорганизмы, которые при реализации своих патогенных свойств способны вызывать уретрит (*Ureaplasma urealyticum*), цервицит, цистит, а также осложнения течения беременности, послеродовые и послеабортные осложнения.





Рекомендуется идентификация *Ureaplasma spp.* и/или *M. hominis:*

1. Молекулярно-биологическими методами.

- *Чувствительность методов составляет 98-100%, специфичность - 100%.*

2. Культурального исследования, позволяющего установить наличие гидролиза мочевины или аргинина.

- *Чувствительность метода составляет 95-98%, специфичность – 90-95%.*

Диагностика, основанная на культивировании микроорганизмов (уреаплазм, микоплазм) на чашках с агаровой средой и последующей микроскопической идентификацией колоний в рутинной клинической практике не рекомендуется.

Целесообразность применения методики количественного определения генитальных микоплазм, как и клиническое значение полученных результатов, убедительно не доказаны.



Категорически **не рекомендуется** использование других методов лабораторных исследований, в том числе :

- метода прямой иммунофлюоресценции (ПИФ),
- иммуноферментного анализа (ИФА) для обнаружения антител к *Ureaplasma spp.* и/или *M. hominis*.

Список литературы:.

1. Клинические рекомендации. *Российское общество дерматовенерологов и косметологов. 2016г.*
2. Диагностика инфекций в акушерско – гинекологической и неонатологической практике. *ФГБУ ≪Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова≫Министерства здравоохранения Российской Федерации Кафедра акушерства и гинекологии, кафедра неонатологии службы научно- организационного обеспечения Российское общество акушеров-гинекологов Российское общество неонатологов.Учебное пособие 2018 г.*
3. *Порядок проведения микроскопического исследования мазков из урогенитального тракта. А.М.Савичева, Е.В.Соколовский, М. Домейка. Санкт-Петербург 2007.*
4. Лабораторная диагностика бактериального вагиноза. *Методические рекомендации. Санкт-Петербург 2011г.*