

Secretetia vulvara, secretia vaginala si secretia uretrala

Analize microbiologice	Secretetia vulvara, secretia vaginala si secretia uretrala
Specimen recoltat	produs patologic recoltat de la nivelul zonei de cercetat
Recipient recoltare	tampoane sterile, prevazut cu eticheta autocolanta cu numele pacientului, de unica folosinta.

Informatii generale

Tractul genital la femeie este reprezentat de vulva, vagin, uter si trompe uterine.

Flora vulvara, bogata și variata, dependenta numeric de igiena locala individuala, este reprezentanta de specii microbiene ale tegumentului din vecinatate (regiunea perineala).

Flora vaginala, mai specifica, sufera modificari in raport cu prezența hormonilor ovarieni și instalarea activității sexuale. După 2-3 saptamani de la nastere, o data cu disparitia hormonilor ovariene materni si pana la instalarea ciclului menstrual si, apoi, in perioada post-menopauza sunt prezente in vagin numeroase specii, in special bacterii aerobe si anaerobe intr-un echilibru optim. Aceasta flora normala impiedica, in anumite limite, cresterea excesiva a unor populatii microbiene sau colonizarea vaginului cu specii patogene.

Odata cu instalarea functiei hormonale ovariene, are loc o modificare profunda a ecosistemului vaginal. Secretia de estrogeni determina ingroșarea mucoasei vaginale cu depozit de glicogen în celulele epiteliale. Dintre speciile bacteriene normal prezente, lactobacilii (flora Döderlein) sunt singurii care pot utiliza acest compus ca nutrient si, in consecinta, prolifereaza abundant cu producerea finala de acid lactic. In aceste conditii, scăderea pH-ului vaginal creeaza conditii nefavorabile de multiplicare pentru alte specii bacteriene, inclusiv patogene; numai *Candida albicans* poate să dezvolte in mediu acid. Mai recent efectul inhibitor al unor lactobacili s-a dovedit a se datora, in plus, producerii de bacteriocine și peroxid de hidrogen.

Secretia vulvara/vaginala este prelucrta conform unui algoritm care sa conduca la confirmarea sau infirmarea diagnosticului de vulvita, vaginita sau vaginoza. Se insamanteaza pe medii de cultura specifice care permit izolarea si identificarea bacteriilor implicate in infectiile joase ale tractusului genital feminin.

Prelevarea, transportul si conservarea probelor

Recoltarea produselor patologice se realizeaza in cabinetele de ginecologie de catre medicul specialist.

Pentru examenul citobacterioscopic se efectueaza extemporaneu doua frotiuri prin rularea progresiva a tamponului pe lama si nu in striuri.

Frotiurile ne ofera urmatoarele informatii:

- prezența unei reacții inflamatorii când raportul PMN/celule epiteliale este peste 1. Inflamația este intensă în trichomoniază, mult mai discretă în candidoză și de regulă lipsește în vaginoză.
- depistarea *Trichomonas vaginalis*, flagelat piriform
- evidențierea de celule levurice înmugurite și pseudohife, care apar în candidoză vaginală. Sunt cazuri când acest diagnostic poate fi stabilit numai prin izolare pe medii de cultură, sensibilitatea microscopiei fiind de aproximativ 0,55.
- prezența de "clue cells", celule vaginale superficiale cu contur mascat de o abundență a florii bacteriene prezente pe suprafața lor, care reprezintă 20-30% din celulele epiteliale vaginale, aspect sugestiv pentru diagnosticul de vaginoză.
- la 60-90% din pacienții cu uretrită acută observăm mai mult de 4 PMN/camp microscopic examinat cu imersie.

Frotiul colorat Gram permite o apreciere mai exactă a florei vaginale. În condiții normale aceasta este reprezentată de bacili lungi Gram-pozitivi, dispuși izolat, în diplo sau lanțuri scurte, care constituie flora Döderlein. În vaginoze flora normală este înlocuită cu bacili Gram-variabili (*Gardenerella vaginalis*, *Bacteroides* spp.) și bacili incurbați Gram-negativi (*Mobiluncus*). Colorația Gram permite excluderea unor false "clue cells" cu lactobacili aderenti pe suprafața lor.

În candidoză vaginală apar celule levurice și pseudomicelii Gram-pozitive.

Pe frotiu colorat Giemsa *Trichomonas vaginalis* apare cu citoplasma colorată în albastru pal, iar nucleul în roșu violet; celulele epiteliale se colorează în violet.

În endocervicite, pe frotiul colorat Gram se apreciază reacția inflamatorie; semnificativă este prezența a peste 10 PMN/camp microscopic examinat cu obiectiv de imersie. În aceste condiții este posibilă prezența de diplococi reniformi gram-negativi, intra- și extracelulari, aspect sugestiv pentru infecția gonococică.

În cazul uretritelor, prezența extracelulară a florei mixte, Gram-pozitive și Gram-negative, ocazional a catorva celule levurice, în prelevate din uretra distală este normală. La pacienții simptomatici, citobacterioscopia pune rapid diagnosticul de gonoree când se observă intracelular diplococi Gram-negativi în "boabe de cafea".

Infecții cu transmitere sexuală

Un sir de microorganisme cu transmitere sexuală cauzează infecții responsabile pentru un număr mare de sindroame clinice.

Neisseria gonorrhoeae cauzează un spectru larg de sindroame clinice la bărbați, femei și noi născuți.

Infecția gonococică locală la femei inițial afectează cervixul. Cervicita gonococică este adesea asimptomatică, dar ea poate cauza o creștere a secreției vaginale, prurit sau disurie. Uretra este frecvent implicată la femeile care au histerectomie. Complicația cea mai importantă a infecției gonococice la femei este boala inflamatorie pelvină (PID), care poate da infertilitate. Secreția endocervicală sau uretrală este preferată ca produs.

Trichomoniază este cauzată de un protozoar flagelat, *Trichomonas vaginalis*, este aproape întotdeauna transmisă prin contact sexual. Simptomele prezente includ o creștere a secreției vaginale, prurit și disurie. Cervixul roșu, friabil cu zone punctiforme de exsudat, este patognomonic pentru *Trichomonas vaginalis*. Pe termen lung pot apărea simptome după un an de la contactul infectant inițial.

Infectia cu *Trichomonas vaginalis* in sarcina a fost asociata cu fat cu greutate mica si nastere prematura.

Tehnicile variate, incluzand cultura urmata de microscopie, microscopia directa si metodele de imunodiagnostic pentru detectia *Trichomonas vaginalis* au fost comparate.

Microscopia a fost cel mai practicabil mijloc de diagnostic pentru screeningul de rutina. Preparatul microscopic proaspat este inalt specific si usor de executat, dar poate da gres in detectarea a 30-50% din pacientii cu infectii *Trichomonas vaginalis*, comparata cu cultura care este privita ca si "gold standard".

Ulcerul genital cel mai obisnuit este cauzat de:

- herpes simplex virus (HSV),
- *Chlamydia trachomatis* (lymphogranuloma venereum),
- *Treponema pallidum* (sifilis),
- *Calymmatobacterium granulomatis* (granulom inghinal),
- *Haemophilus ducreyi* (chancroid).

Staphylococcus aureus si *Streptococcus pyogenes* pot cauza de asemenea pustule asemanatoare cu ulcerul genital, limfadenopatie inghinala si inflamatie.

Sancroidul este cauzat de *Haemophilus ducreyi* care intra prin mici fisuri in epiteliu. Sancroidul consta in ulceratii vasculare, durere si granulom bazat pe sangerare usoara. Leziunile sunt in jurul organelor genitale. Ca la un ulcer genital, durerea inghinala, limfadenopatie buboasa se pot dezvolta la 50% din cazuri. Purtatori asimptomatici pot fi rari. Rar, infectia se prezinta ca o uretrita fara ulcer genital.

Sancroidul este comun altor boli cu transmitere sexuala, si poate fi un important co-factor in transmiterea HIV la tropice.

Izolarea *Haemophilus ducreyi* este dificila si necesita mediu agar selectiv, desi a fost raportata ca rata de izolare a crescut la 80%.

Infectia cu ***Calymmatobacterium granulomatis*** desi este rara, a fost gasita in unele zone de la tropice. Se efectueaza un frotiu Giemsa din mici fragmente prelevate de la marginea ulcerului. Este o bacterie gram – negativa incapsulata. Organismele sau "corpui Donovanii" morfologic apar ca niste ciorchini albastri sau negri ca "un ac de siguranta" in interiorul PMN urilor. Leziunea primara incepe ca un nodul indurat care erodeaza si formeaza un granulom care apoi se ulcereaza. Leziunea inveleste scrotul, coapsa, labia si vaginul.

Papilomul genital este o infectie venerica cauzata de papiloma virusul uman (HPV). El se poate manifesta ca un papilom plan care poate progresa la un carcinom in situ sau la o proeminenta papilara deasupra pielii care are un pat capilar bogat. Prezenta organismelor cu transmitere sexuala dupa perioada neonatala este inalt sugestiva pentru abuzul sexual si aceasta posibilitate ar trebui intotdeauna investigata, cu exceptia cazurilor cand acesta nu exista.

Infectii ale tractului genital feminin, altele decat cele cu transmitere sexuala.

Candidoza vaginala apare cand se altereaza flora vaginala normala permitand levurilor sa prolifereze (care in mod normal sunt prezente ca organisme comensale in vagin). Cresterea nivelului de estrogen duc la cresterea lor.

Cresterea levurilor este adesea vazuta in urmatoarele conditii:

- dupa terapie antimicrobiana
- diabet zaharat
- imunosupresie

- obezitate
- sarcina
- folosirea contraceptivelor orale

Deși *Candida albicans* este izolată în 80-90% din cazurile de candidoză vaginală și alte ciuperci sunt implicate în 10-15% din cazuri care includ:

- *Candida krusei*
- *Candida kefyr*
- *Candida tropicalis*
- *Candida glabrata*

Pacientele se prezintă cu prurit, disurie, secreție abundentă, deși uneori pot prezenta doar eritem al mucoasei și inflamație. Infecția cu alte specii decât *albicans* rezultă în lipsa tratamentului și ulterior apare persistența infecției.

Vaginita poate fi cauzată de *Candida* spp. și *Trichomonas Vaginalis*.

La copii infecțiile cauzate de streptococi β-haemolytic și *Staphylococcus aureus* sunt obișnuite.

Streptococcus pyogenes determină vaginită și secreție vaginală purulentă la adulți.

Vaginită atrofică apare în cazuri rare și este frecvent asociată cu bătrânețea.

Majoritatea femeilor cu atrofiie ușoară spre moderată sunt asimptomatice.

Reducerea secreției endogene de estrogen a epitelului, contribuie la scăderea producției de acid lactic și creșterea pH vaginal. Aceasta schimbare duce la creșterea florei mixte și dispariția lactobacililor. Produsul vaginal conține polimorfonucleare (celule inflamatorii) și mici celule epiteliale bazale rotunde.

Vulvovaginita apare în principal la fete prepubertal, dar poate afecta femeia la orice vârstă. Ea poate fi asociată cu igiena precară, iritarea pielii datorată săpunului sau cu purtătorii de streptococi. Simptomele includ iritație, inflamație și secreție abundentă.

Organismele implicate sunt:

- *Streptococcus pyogenes*
- *Staphylococcus aureus*
- *Candida albicans*
- *Haemophilus influenzae*
- *Neisseria gonorrhoeae*.

Infecția parazitara poate predispuce la vulvovaginită.

Vaginozele bacteriene sunt caracterizate de o creștere în anaerobi și o scădere a *Lactobacillus* spp. Vaginoza bacteriană a fost privită în trecut ca inofensivă. Acum este considerată a fi asociată cu o varietate de infecții și complicații a tractului genital, incluzând:

- amniotită
- endometrita postpartum și febră
- naștere prematură și fat mic la naștere
- ruptura prematură de membrane
- sepsis post histerectomie
- infecția tractului urinar

Vaginoza bacteriană poate fi diagnosticată clinic dacă sunt îndeplinite 3 din următoarele 4 criterii:

- secreție gri-albicioasă, cremoasă
- pH secreției vaginale > 4.5

- proba mirosului de amine pozitiv (degajarea mirosului de amine, asemanator mirosului de peste cand secretia vaginala este amestecata cu 5-10% hidroxid de potasiu)
- prezenta celulelor „clue cells” la examinarea microscopica.

O flora vaginala normala este asociata cu prezenta *Lactobacillus* spp. singur sau in asociere cu un numar mic de *Gardnerella vaginalis* .

Modificarea in flora vaginala asociata cu vaginoza bacteriana este caracterizata de o scadere a numarului de lactobacili care sunt inlocuiti de o flora mixta aeroba, anaeroba si specii de microaerofili. Este implicat un grup variat de microorganisme, multe care sunt greu de cultivat.

Microorganismele asociate cu vaginoza bacteriana cuprind:

- *Prevotella* spp.
- *Gardnerella vaginalis*
- *Mobiluncuss* spp.
- *Peptostreptococcus* spp.
- *Mycoplasma hominis*

Examinarea microscopica a secretiei vaginale este mai relevanta pentru diagnosticul vaginoza bacteriana decat izolarea *Gardnerella vaginalis* din aceste probe.

Examinarea cu coloratie Gram este raportata a fi folositoare in diagnosticul vaginozei bacteriene si un criteriu standard pentru morfotipul ce a fost descris. Tipic in secretia pacientilor cu vaginoza bacteriana, celulele „clue cells” sunt acompaniate de flora mixta constand dintr-un foarte mare numar de Gram-negativi (predominant *Prevotella* spp.) si coccobacilli (predominant *Gardnerella vaginalis*) in absenta unui mare numar de Gram-pozitivi (*Lactobacillus* spp). Pot fi de asemenea prezenti Gram-variabili (*Mobiluncus* species)

Celulele „clue cells” sunt celule epiteliale de care Gram-variabilii sunt atasati in numar mare de marginea lor. Sunt raportate ca fiind inalt specifice (aproape 100%), dar nu la fel de sensibile ca alte aspecte din coloratia Gram folosite la detectarea vaginoza bacteriana.

Sindromul de soc toxico-septic (TSS) este o boala acuta multisistemica caracterizata prin febra, hipotensiune, rash eritematos, diaree si descumarea pielii in lambouri. TSS este cauzat de o toxina produsa de *S. aureus*. Izolarea toxinei produse de *Staphylococcus aureus* din membrana mucoasei sustine puternic un diagnostic pozitiv..

TSS poate fi asociat cu:

- folosirea de tampoane intravaginale
- nasterea sau infectarea dupa operatii chirurgicale
- dispozitiv contraceptiv
- colonizarea cervico-vaginala cu *S. aureus*

Streptococ grup B Lancefield in mod normal colonizeaza vaginul la multe femei. In sarcina acest microorganism poate infecta lichidul amniotic care poate duce la sepsis neonatal, pneumonie si meningita.

Listeria monocytogenes poate cauza infectie serioasa la femeile insarcinate, copii nou nascuti, pacienti imunocompromisi. La femeile insarcinate septicemia cauzata de *Listeria Monocytogenes* se prezinta ca o boala acuta febrila care poate afecta fatul. Aceasta poate duce la infectie sistemica (septicemie granulomatoasa la copil), nastere de fat mort si meningita neonatala.

ALTE INFECTII ALE TRACT GENITAL FEMININ

Bartolinita este inflamatia glandelor Bartholin (sunt mici glande ce produc mucus in mai multe zone ala orificiului vaginal la femeile adulte). Exista doua stadii ale infectiei - primul stadiu este infectia acuta a ductelor si glandelor. Al doilea stadiu consta din formarea abcesului in care glandele sunt obstructate. Microorganismele care determina infectia glandelor Bartholin includ: anaerobi, *Neisseria gonorrhoeae*, streptococci, enterobacteriaceae, *Chlamydia trachomatis*, *Haemophilus Influenzae*, *S. aureus*, alte specii de *Neisseria*, *Mycoplasma hominis*.

Cervicita mucopurulenta este inflamatia epiteliului columnar cervical. Organismele implicate includ :

- *Chlamydia trachomatis*
- *Herpes virus simplex*
- *Neisseria gonorrhoeae*.

Cervicita este importanta deoarece furnizeaza o sursa de organisme patogene care pot infecta endometrul si endosalpinxul. Ascensiunea in timpul sarcinii poate determina corioamniotita, ruptura prematura de membrane, infectie puerperala si neonatala.

Coloratia Gram este folosita la evaluarea prezentei leucocitelor. Cervicita mucopurulenta este caracterizata de prezenta exsudatului endocervical ce contine leucocite. Este produsa o secretie galbuie.

Endometrita este inflamatia endometrului, stratul intern al uterului.

Endometrita postpartum – este cauzata de flora vulvovaginala care ascensioneaza in uter. Infectia este adesea polimicrobiana si e cauzata de:

- streptococi β -haemolitici
- *Staphylococcus aureus*
- enterococci
- anaerobi
- *Chlamydia trachomatis*
- *Enterobacteriaceae*
- *Gardnerella Vaginalis*
- *Mycoplasma Hominis*

Factorii de risc includ:

- infectia lichidului amniotic,
- operatia cezariana,
- monitorizarea fatului invaziva,
- ruptura de membrane prelungita,
- examenarile vaginale.

Recoltarea probelor se face din segmentul uterin ingust sau cervix.

Salpingita este inflamatia trompei uterine.

Infectia este uneori polimicrobiana implicand:

- *Chlamydia trachomatis*
- *Neisseria gonorrhoeae*
- flora mixta anaeroba, facultativ anaeroba si bacterii aerobe
- *Mycoplasma hominis*

Secretia endocervicala poate fi folosita dar necesita foarte mare atentie la interpretare. Salpingita acuta poate duce la sechele cum ar fi durerea abdominala cronica si o crestere a riscului de sarcina ectopica.

Boala inflamatorie pelvina (PID) se refera la endometrita, salpingita, peritonita pelvica sau combinatii ale acestora. Simptomele includ dispanunrie, sangerari intermenstruale, crampe abdominale.

Multe femei care dezvoltă PID suferă pe termen lung sechele cum ar fi:

- durere cronică pelvina
- sarcina ectopica
- infertilitate
- piosalpinx (colecție purulentă în tubul falopian)
- abces tubo-ovarian (TOA)

Dispozitivele contraceptive intrauterine (IUCDs) prezenta lor poate fi asociată cu PID. Infecția poate fi polimicrobiana cu izolarea împreună de organisme Gram-pozitive și Gram-negative aeri și anaerobe.

Diagnosticul de laborator al infecțiilor tractului genital masculin

Tractul genital masculin este format din: prostata, canale ejaculatoare, vezicule seminale, canale deferente, epididimul, testiculele (acestea sunt normal sterile).

Infecțiile cu transmitere sexuală

Infecția gonococică locală la bărbați prezintă o uretrită simptomatică cu o secreție uretrală purulentă și disurie. Cea mai comună complicație a acesteia este epididimită acută și în cazuri rare, uretrita gonococică se poate complica cu celulita gonococică, limfangita peniană sau abces periuretral.

Recoltarea probelor corectă garantează un rezultat optimal. Cel mai bun produs este exudatul uretral exprimat. La bărbații asimptomatici este prelevată secreție uretrală.

Infecțiile tractusului genital masculin:

- exogene - la vârsta tânără
- endogene - peste 35 de ani

Infecții ale organelor genitale externe:

1. Leziuni ulcerative:

- *Treponema pallidum*
- *Herpes simplex virus 2*
- în zone tropicale și subtropicale
- *Haemophilus ducreyi*
- *Chlamydia trachomatis* (L1-L3)

2. Leziuni verucoase:

- *Papillomavirus*
- *Treponema pallidum*

3. Uretrite acute:

Gonococice (incubație aproximativ 4 zile) - *Neisseria gonorrhoeae*

Non-gonococice (incubație 7-14 zile):

- *Chlamydia trachomatis*
- *Ureaplasma urealyticum*
- *Mycoplasma Genitalium*

- *Herpes simplex virus*

Post-gonococice: infecție dubla, eșec terapeutic, reinfecție.

4. Prostatite - reprezentanți ai familiei

- *Enterobacteriaceae*
- *Chlamydia trachomatis*
- *Ureaplasma urealyticum*

5. Epididimite, epididimo-orchite:

- la tineri:

Neisseria gonorrhoeae
Chlamydia trachomatis

- peste 35 ani - bacili gram negativi coliformi, pseudomonade, *S. aureus*

6. Orchite - virusul urlian, rar Coxsackie B

Diagnosticul de laborator al uretritelor acute

Se investighează, cu predilecție, uretrita gonococică (diagnosticul de uretrita nongonococică se pune prin excluderea celei gonococice).

Prelevare și transport:

- secreție uretrală dimineata sau la minim 4 ore de la ultima mictiune după toaleta locală
- se recoltează 3 tampoane (realizate din dacron sau vată atoxică)
 - primul tampon: 2 frotiuri realizate extemporaneu
 - al 2-lea tampon: insamantare imediată sau includere în mediu de transport Amies sau Stuart
 - al 3-lea tampon (facultativ): pentru izolarea agenților etiologici nongonococici

Examen microscopic:

- celule epiteliale scuamoase
- ≥ 5 PMN /camp = uretrita acută
- diplococi gram negativi „în boaba de cafea” așezați predominant intracelular - aspect caracteristic pentru uretrita acută gonococică la bărbat (în infecția cronică dispoziția este extracelulară, situație în care nu-i putem diferenția de neisseriile nepretentioase).

Cultivarea se realizează în infecția cronică și în caz de eșec terapeutic

- pe mediul Thayer-Martin sau pe mediu cu extract HYL, neselective și selective prin adaos de antibiotice
- după 24 - 48 ore la 37°C, în atmosferă cu CO₂, se observă colonii de tip S, translucide, mici, strălucitoare, nepigmentate

Diagnosticul prostatitelor

- se recoltează trei probe seriate de urină
- prelevăm primii 5-10 ml urină (proba 1)
- lasăm să se evacueze 100-200 ml urină (pentru „spălarea” uretrei)
- recoltăm alți 5-10 ml (proba 2)
- masăm rectal prostata

- recoltăm următorii 5-10 ml care conțin secreția prostatică (proba 3)
- se apreciază numărul de leucocite:
 - un număr important de leucocite în prima probă, în celelalte numărul fiind mai redus sau absent, este sugestiv pentru diagnosticul de uretrită
 - un număr de leucocite aproximativ egal în cele trei probe este semnificativ pentru o infecție urinară
 - în prostatite, numărul de leucocite în proba 3 este de cel puțin 10 ori mai mare decât în primele două probe
- se apreciază tipul și numărul bacteriilor prezente în proba 2 și 3
 - examen microscopic – frotiu colorat Gram
 - urocultura cantitativă pe geloză sange și MacConkey – în prostatite, numărul de bacterii din proba 3 este de cel puțin 10 ori mai mare față de proba 2
- sunt recomandate în paralel hemoculturi