

Mikrobiální obrazy poševní

V. Holec

Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

vladislav.holec@zu.cz

Čepický P. a kol.: Doporučení k diagnostice a terapii vulvovaginitidy, Čes.Gynek.70, 2005, 465-468

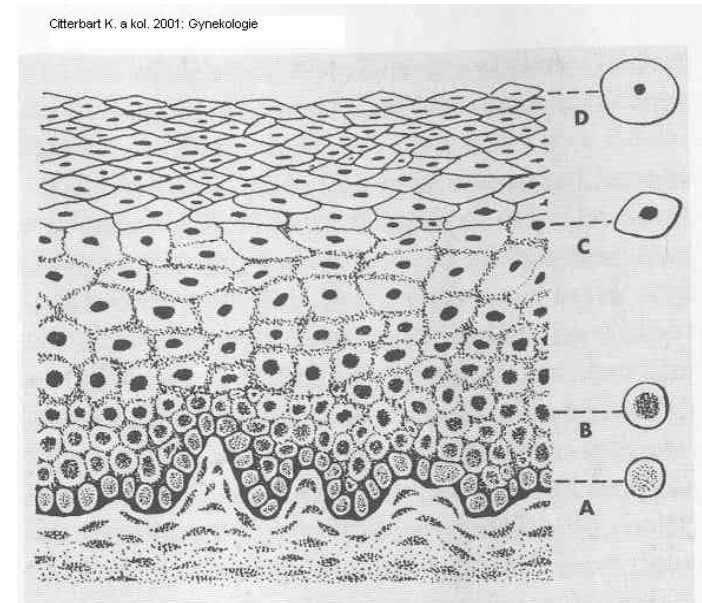
„Klasické hodnocení MOP podle Jírovce, Petera a Málka je obsolentní a neodpovídá současným požadavkům. Kultivační vyšetření nemá význam a je indikováno jen výjimečně ve zcela speciálních případech.“

obsolentní = neaktuální, bez reálného uplatnění, zastaralý, neúčinný, sešlý, stárnoucí

Poševní sliznice (tunica mucosa) – mnohovrstevný dlaždicový epitel

(nerohovatí, nemá adnexa x kůže)

- **pohlavní zralost** – vrchol estrogenizace – viz obr. (1 v. bazálních, 5-8 v. parabazálních, v. intermediární, v. superficiální)
- **klidové (bezhormonální) období** – parabazální buňky
- **po menopauze** – bazální a parabazální buňky
- **děložní hrdlo** – 2 druhy epitelu:
endocervix (cylindrické hlenotvorné b.) – kanál hrdla
ektocervix (vrstevnatý dlaždicový) – část obrácená k pochvě



Obr. 1.5. Schéma histologického řezu poševní stěnou při plné estrogenizaci. A – vrstva bazální a vzhled bazální buňky, B – vrstva parabazální a vzhled parabazální buňky, C – vrstva intermediární a vzhled intermediární buňky, D – vrstva superficiální a vzhled superficiální buňky

Poševní mikroflóra – fyziologický stav

> 10⁴ CFU/ml sekretu:

laktobacily (> 10⁷)

koagulázo-negativní stafylokoky

viridující streptokoky

korynebakteria

bifidobakteria

peptostreptokoky

G- anaerobní tyčky

< 10⁴ CFU/ml sekretu:

G- aerobní F a NF tyčky

S.agalactiae

enterokoky

G.vaginalis

další anaeroby

mykoplasmata

sapr. mykobakteria

kvasinky

Ochranné faktory vaginálních laktobacilů

Lactobacillus acidophilus komplex (hl. *L.iners*, *L.crispatus*, *L.gasseri*, *L.jensenii*)



- produkce organických kyselin (mléčná, octová aj.)
- produkce peroxidu vodíku
- tvorba bakteriocinů s různým antibakteriálním spektrem účinku
- tvorba biofilmu
- tvorba biosurfaktantů (snižují adherenci patogenů)

- tvorba nízkého pH závisí i na růstové rychlosti kmene laktobacila
- nízké pH zvyšuje aktivitu bakteriocinů a stabilitu H₂O₂
- nízké pH inhibuje gardnerely a anaeroby
- některé kmeny gardnerel jsou na bakteriociny laktobacilů rezistentní

Faktory ovlivňující poševní mikroflóru

hladina estrogenů (glykogen)

 gravidita, porod, poporodní stavy

 antikoncepce

IUD

imunosuprese

antimikrobiální terapie

nádory a jejich terapie

lékařské zákroky

sexuální praktiky

 rozšíření spektra BV mikroflóry

 zvýšení počtu bakterií

 průnik orálních bakterií

 alkalita spermatu

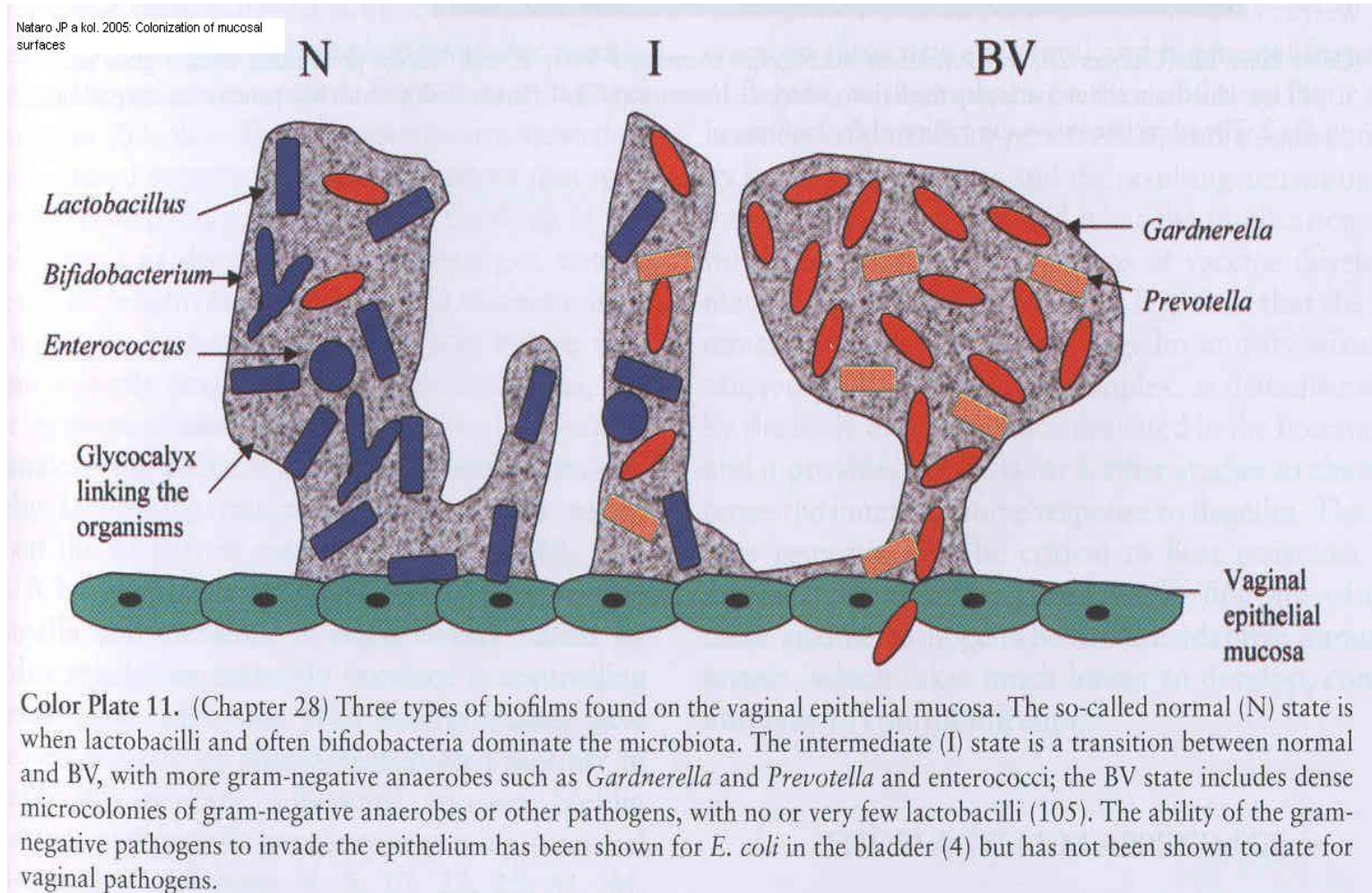
mikroorganismy z prostředí (bazény)

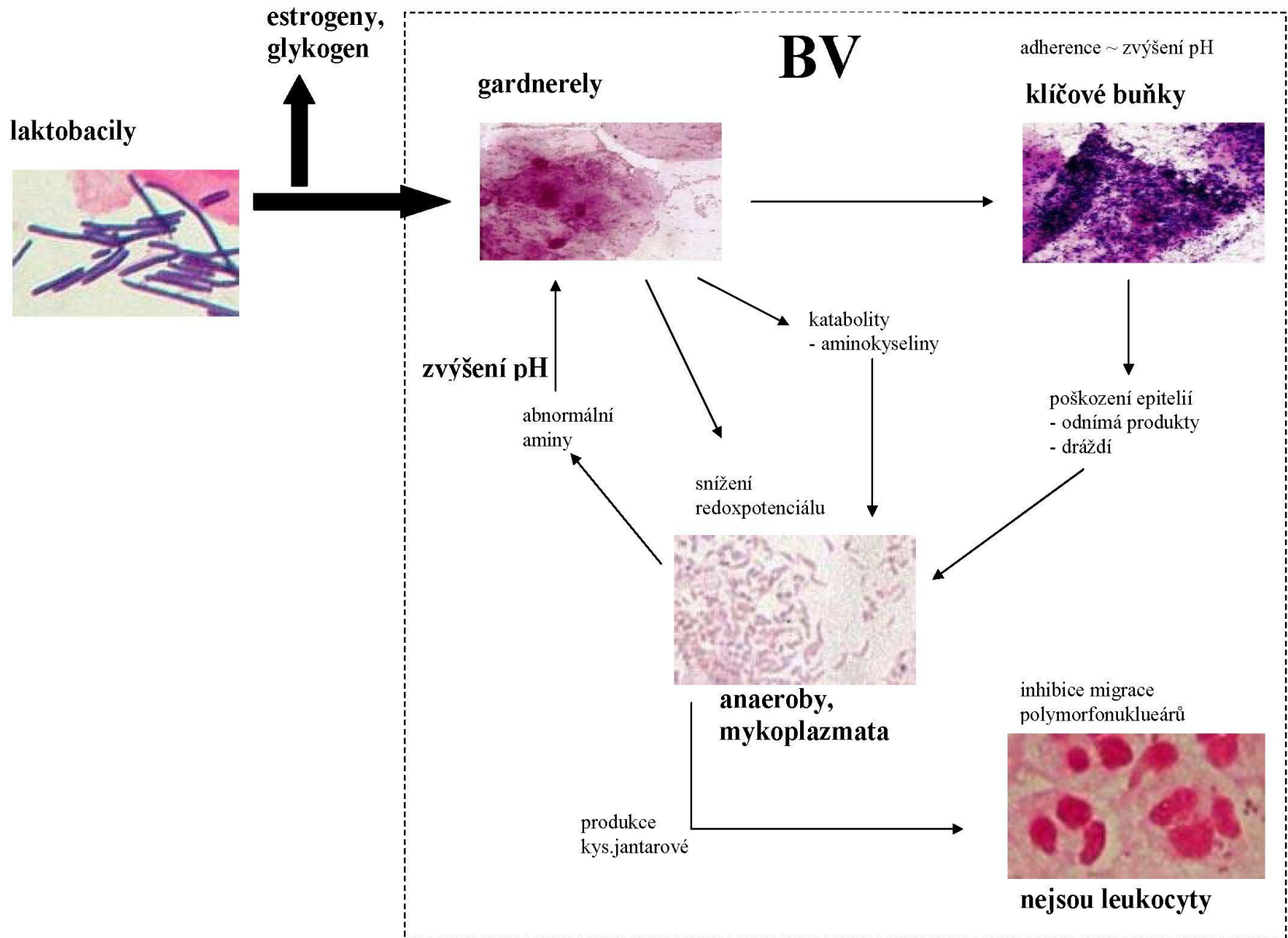
vliv diety

toxické látky z prostředí (persistentní organické sloučeniny POP)

stres

3 typy vaginálního biofilmu

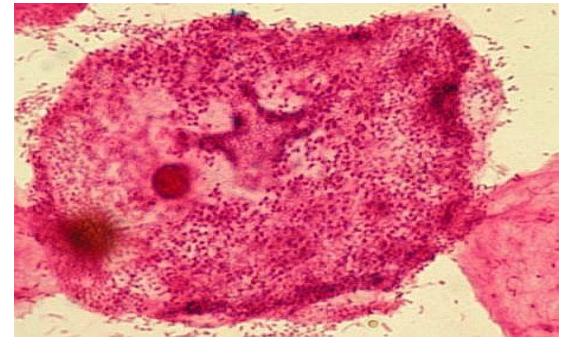




Amselova klinická kritéria (1983)

- řídký ulpívající šedobílý výtok
- pH > 4,5
- rybí zápach po přidání 10% KOH
- klíčové buňky

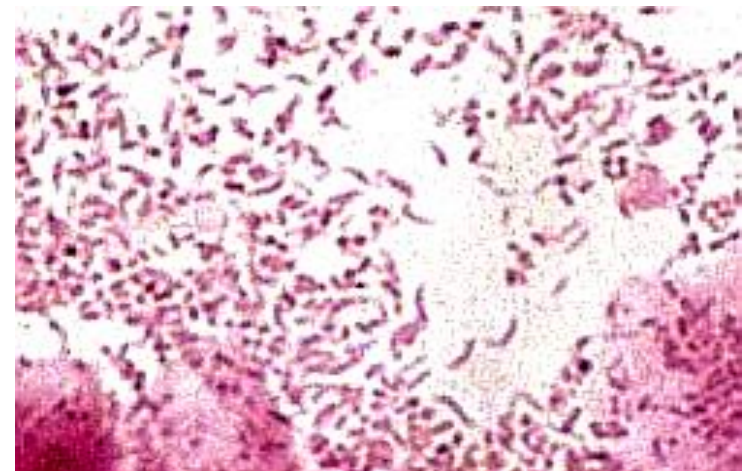
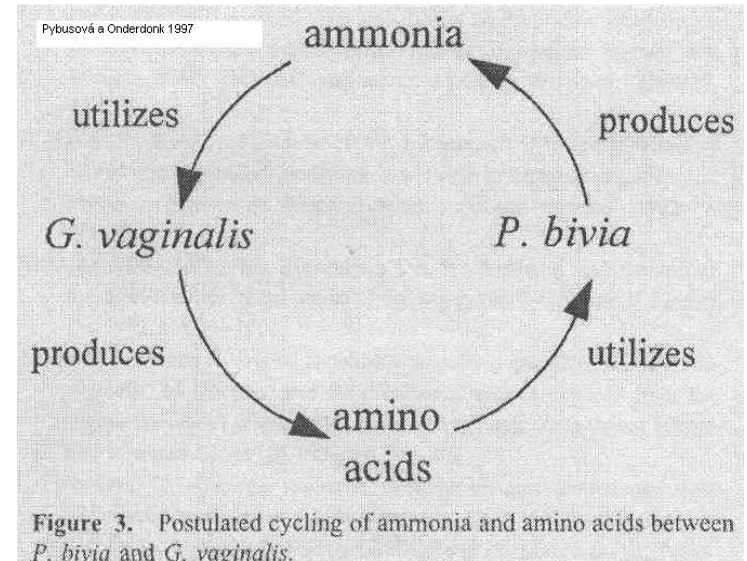
musí být přítomny 3 ze 4



- 4 x zvýšená hladina sialidázy
(BVBlue test, 2003)

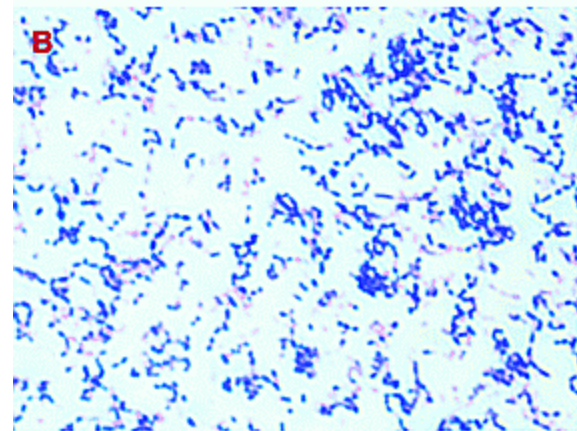
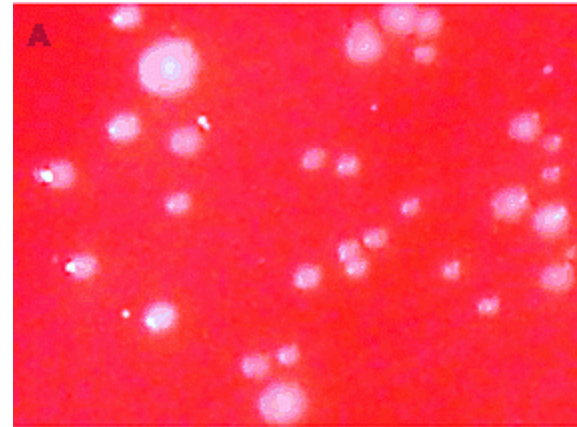
Mikroflóra bakteriální vaginózy

> 10^7 CFU/ml sekretu
Gardnerella vaginalis
prevotely (*P.bivia*, *P.disiens*)
Mobiluncus curtisii
Mycoplasma hominis
bakteroidy (*B.ureolyticus*)
fusobakteria (*F.nucleatum*)
Porphyromonas sp.
peptostreptokoky
viridující streptokoky



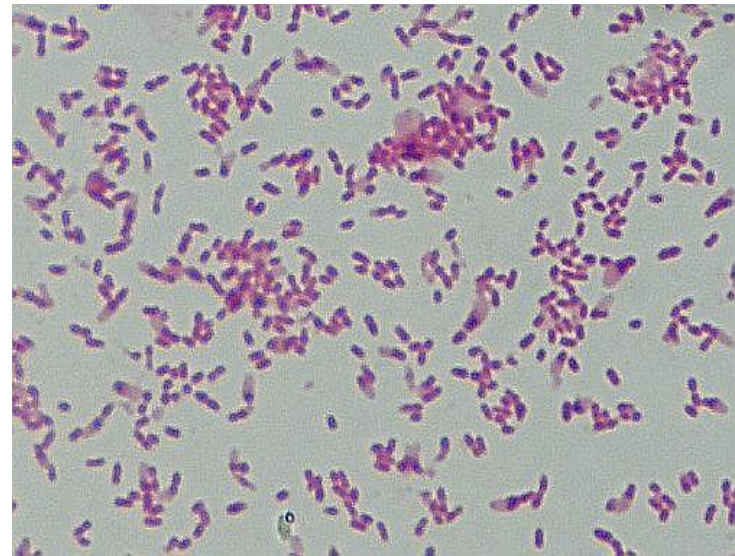
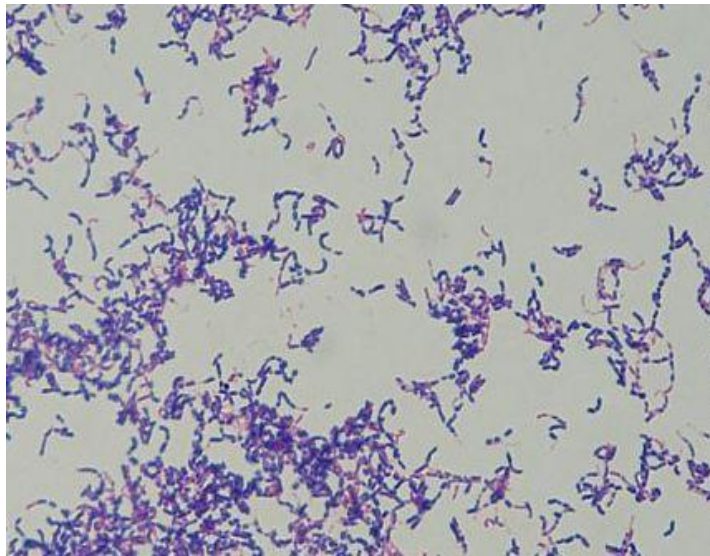
Atopobium vaginae (Jovita MR a kol. 1999)

- izolováno z BV
- z tuboovariálního abscesu
(po transvaginálním přenosu oocytů)
- anaerobní G⁺ kokotyčky produkující laktát
- metronidazol – rezistentní (relaps BV)
- růst 48 hod. při 37°C
- chybně dg. API ID32A (BMX) jako *Gemella morbillorum*
- za poklesu glykogenu štěpí bílkoviny jako zdroj energie za produkce amoniaku



Actinomyces turicensis „*G.vaginalis*-like“ org.

(van Esbroeck a kol. 1996)



- ACTU: MET(50 μ g) C, SUL(1mg) C, xylóza +
- GAVA: MET C, SUL R, xylóza -

Nekultivační mol.biol. metody

- geny pro 16S r RNA, *chaperonin-60*
- PCR, DGGE (gradient po denaturaci)
- genové knihovny, sekvenace
- markery BV (kvantita qPCR):

Megasphaera sp.

BVAB 1-3 (o.*Clostridiales*)

Leptotrichia / Sneathia

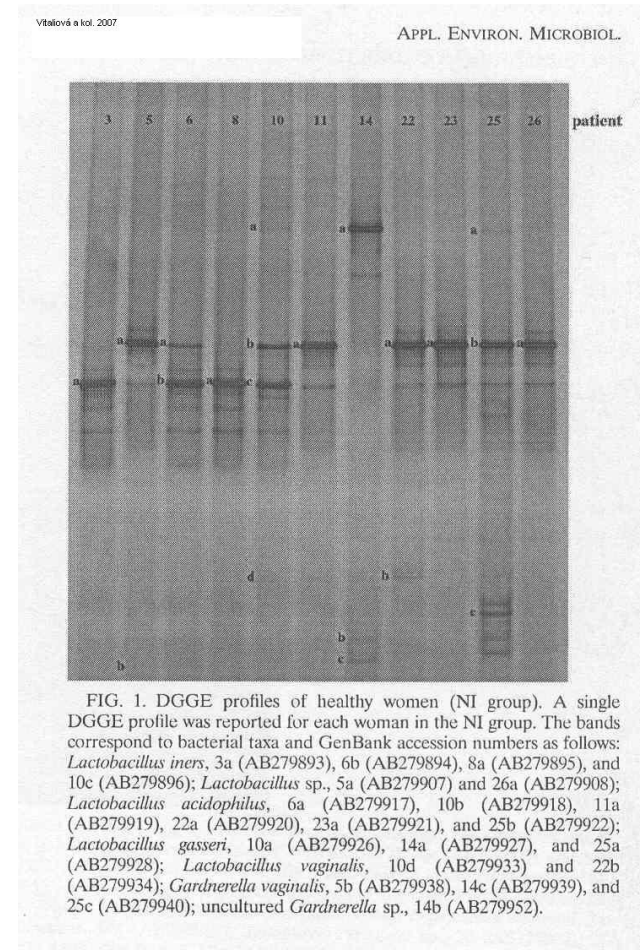
Atopobium vaginae

G.vaginalis

Eggerthella-like bacterium

rozdílné biotypy gardnerel (N x BV)

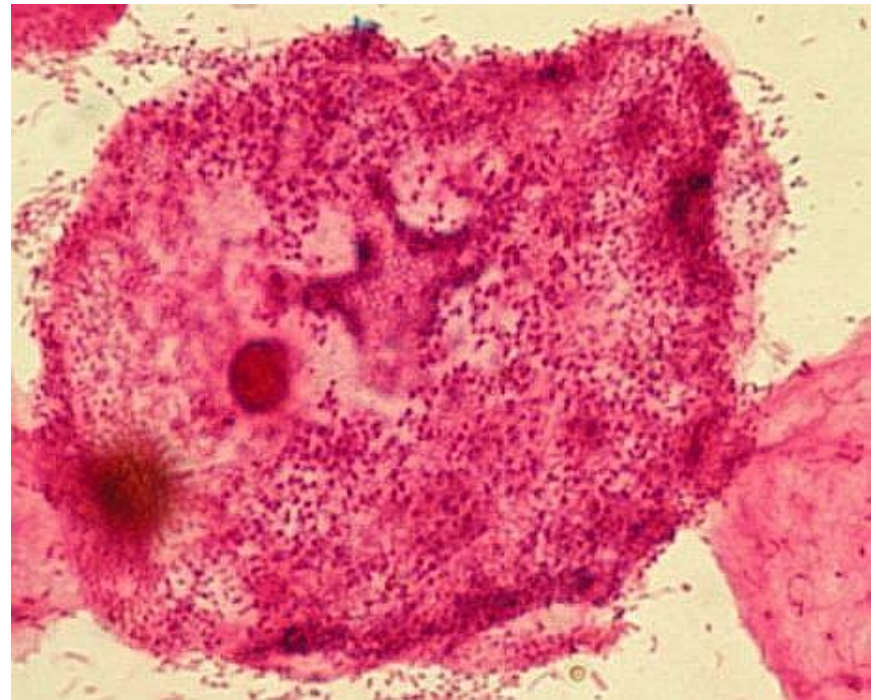
sekvence *C.psittaci* – like *cpn60* (N)



Prevalence BV

venerologie 30%
gynekologie 12-25 %
gravidní 10-26 %
populace 10-15 %

(D.A Eschenbach, 1994)



USA 20 milionů symptomatických případů/rok
(G.Reid, 2005)

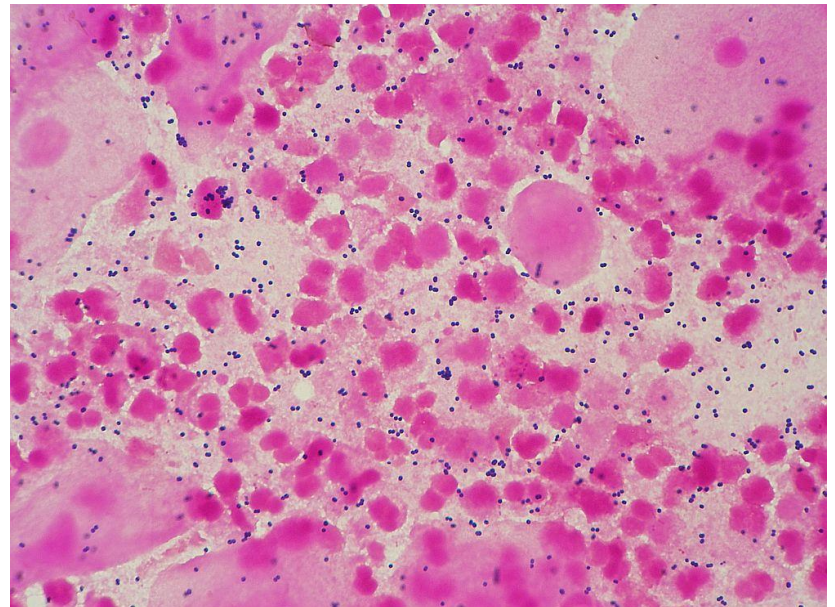
Důsledky BV

- **poporodní endometritis**
- **infekce rány po císařském řezu**
- **pánevní záněť PID po potratu**
- **celulitida po hysterektomii**
- **předčasný porod**
- **amnionitis**
- **chorioamnionitis**
- **nízká porodní váha**
- **poporodní a postabortální sepse**

- **zvýšení rizika infekce HIV, gonokoky, chlamydiemi a HSV**

MOP – mikrobiální obraz poševní

- **Mikrobiální** – kultivace MA, AN, KV, TV
- **Obraz** – mikroskopie dle Grama 1500x
- **Poševní** – poševní sekret



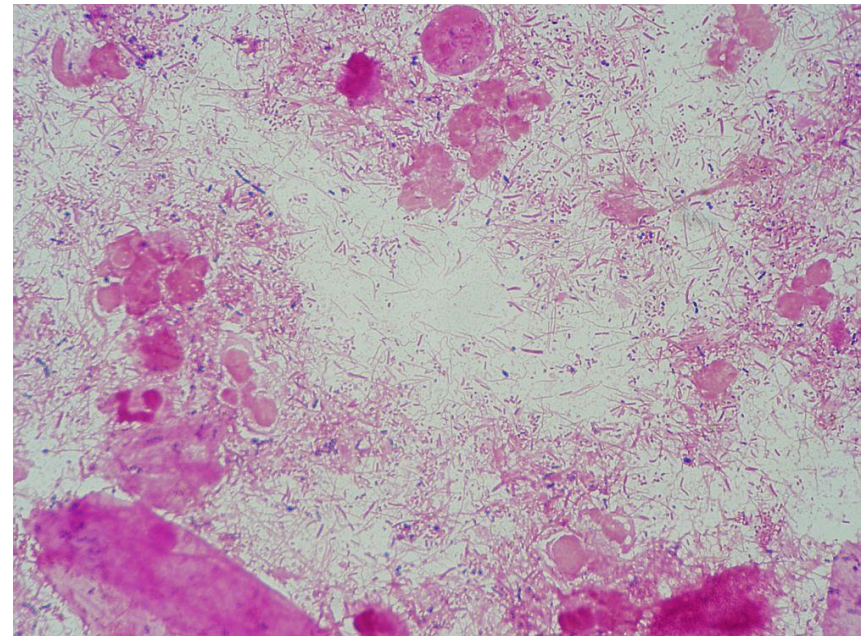
Kultivace A

- transportní půda s AC
- **GCA** mikroaerofilní
5%CO₂ 35°C, BAC H,
STAU (2dny)
- **ABMG** GO selekt.(3dny)
- **H** β-hem.strK selekt.(2)
- **S** kvasinky (1+1 den)
- **TV** trichomonády (3dny)
- **GB** pomnožení (1den)



Kultivace AN

- transportní půda s AC + mikroskopie
- mikroskopie → anaerobní kultivace
- **vaginitis (ne BV) - zánět**
- **imunodeficity**
- **šíření poševní infekce**
- na FLU vybrané dg:
 - HIV (B20-24)
 - novotvary (C,D)
 - diabetes (E10)
 - apendicitida (K35-37)
 - záněty kůže, acne (L01-08, 70)
 - cystitis (N30)
 - záněty prsu (N64)
 - zánětlivá onemocnění gynekologická (N70,80,94)
 - komplikace těhotenství a porodu (O)
 - břišní a pánevní bolest (R10)
 - dg. urologické (R30-39)
 - vyšetření po I. novotvarů (Z08)
 - antikoncepce, IUD (Z30)
 - materiál z radioterapie a gyn. oddělení



Obraz - mikroskopie

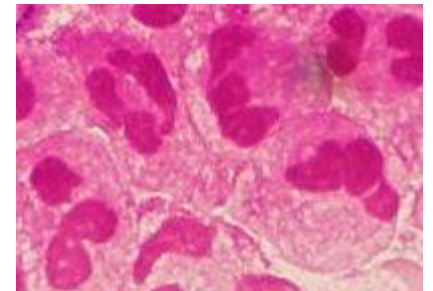
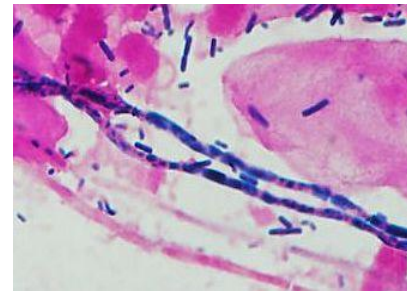
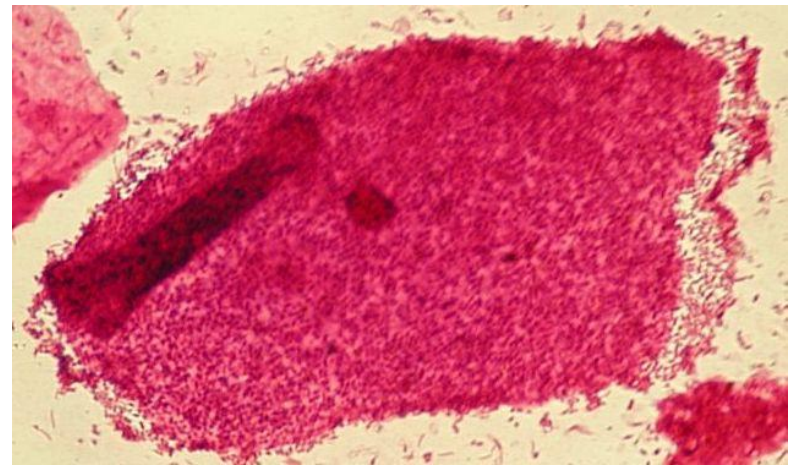
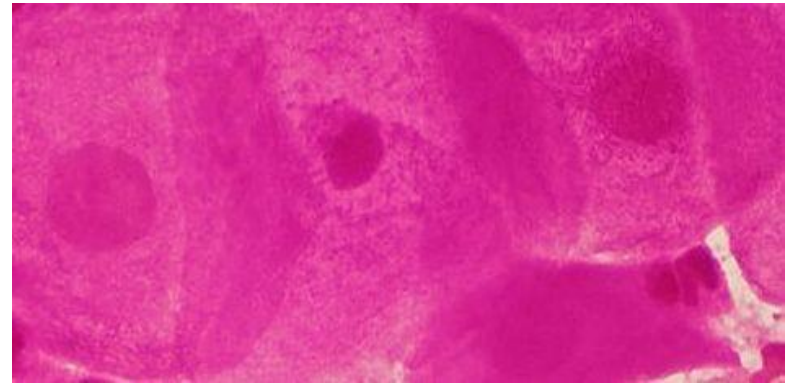
- **dostatečný nátěr**
- **postup barvení**
 1. fixace 3x plamenem
 2. krystalvioleť 20s
 3. šikmo spláchnout lugolem
 4. zalít lugolem 30s
 5. oplach vodou
 6. aceton vodorovně a sklopit (do odtékání barvy)
 7. oplach vodou
 8. karbolfuchsin 1:10 60s
 9. oplach vodou
- **postup mikroskopie**

po konečném odečtení GCA, H, S, TV
menší zvětšení 60x
imerze 1500x



MOP - odečítání

- epitelie E
- klíčové buňky
- leukocyty L, PMN
- poměr, +-+++
- pseudomycélie KV
- morfortypy bakterií
- fagocytóza
- blastospory KV



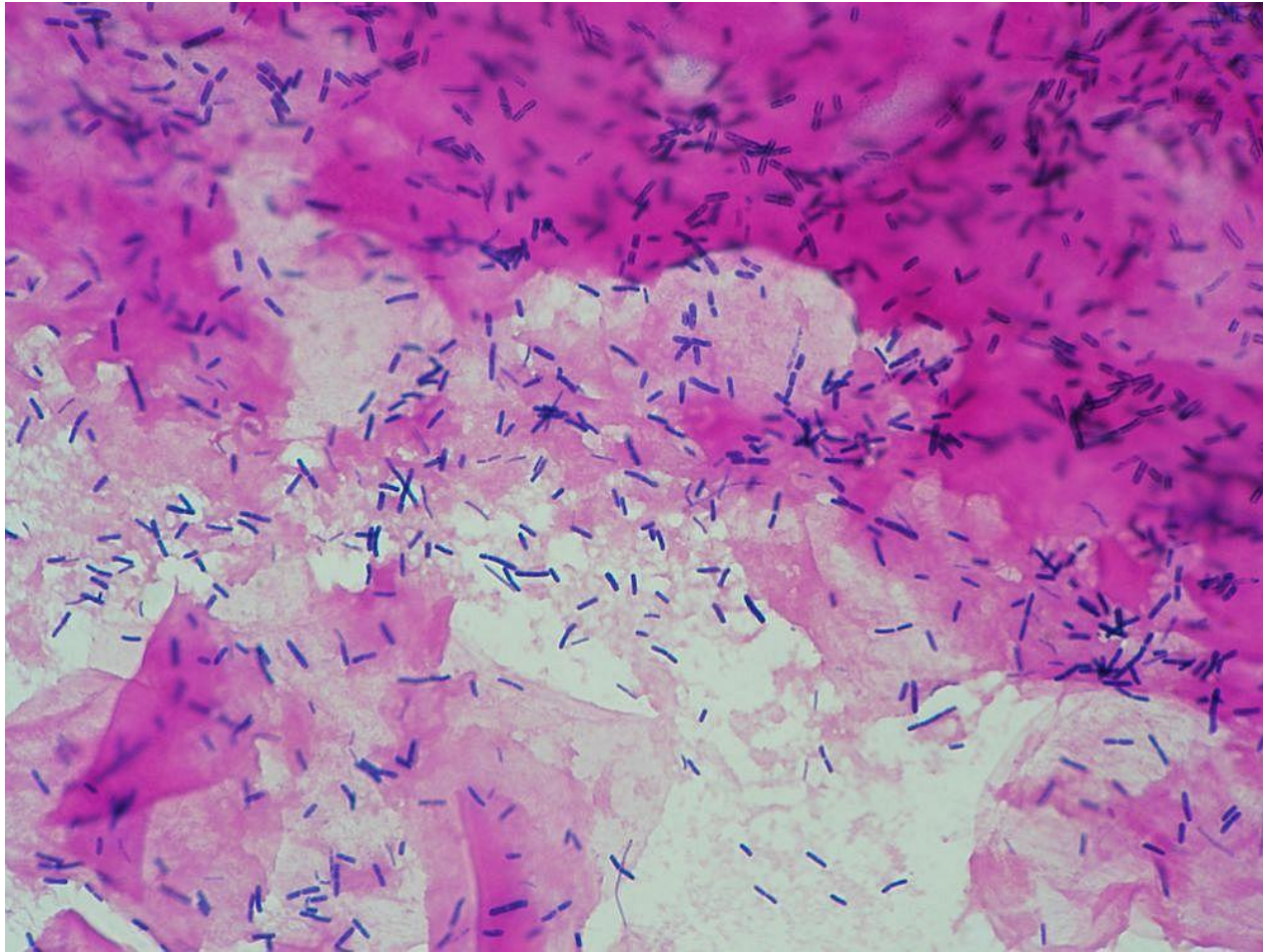
MOP - hodnocení

- výsledky kultivace
- věk (estrogenizace)
- klidové období 0, 0-II, 0-III, 0-VI
- estrogenizace I, II, III, IV, V, VI
- podstupně IIa, IIb, IIIa-d, VIa,b
- sloučené IIIc,d IVaV
- přechodné I-II, I-III, II-III

MOP – základní pravidla

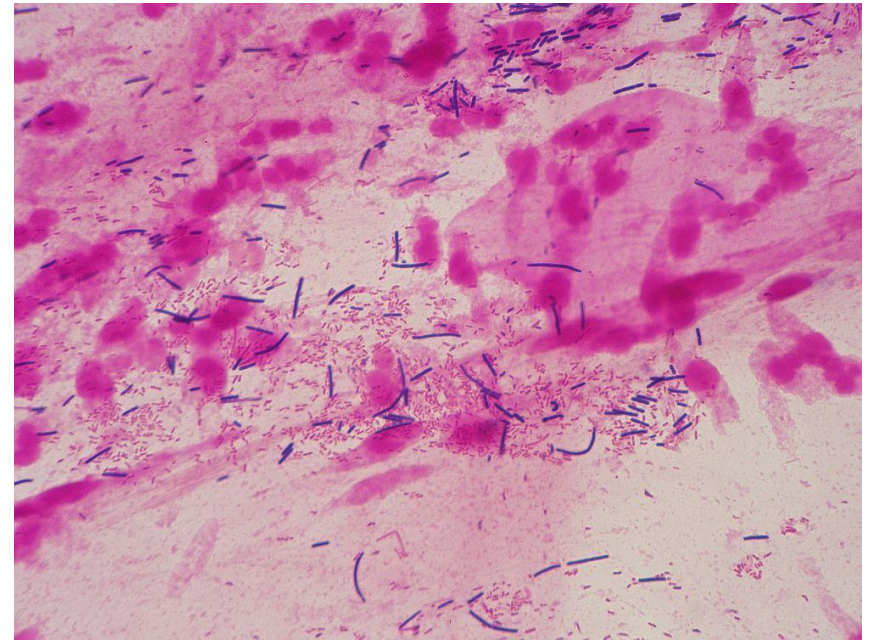
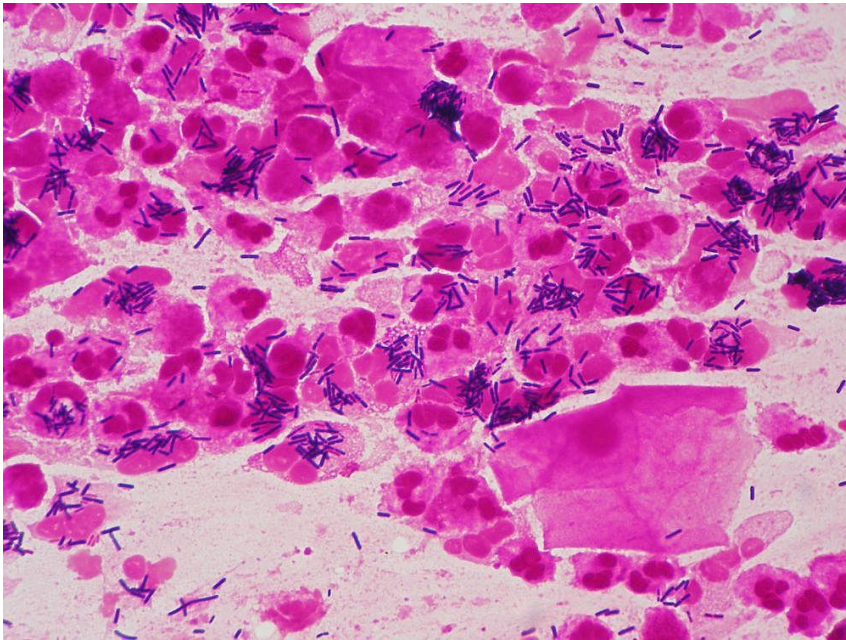
- E>L nehnisavé: I, II, VIa
- E<L hnisavé: I-III, II-III, III, (IV,V), VIb
- klíčové buňky: II, II-III
- laktobacily vždy: I, I-II, I-III
- laktobacily nikdy: 0, III
- když přítomny laktobacily, tak estrogenizace bez ohledu na věk (HST)
- MOP nelze hodnotit (mimo schéma)

MOP I E>L, lakto +-+++



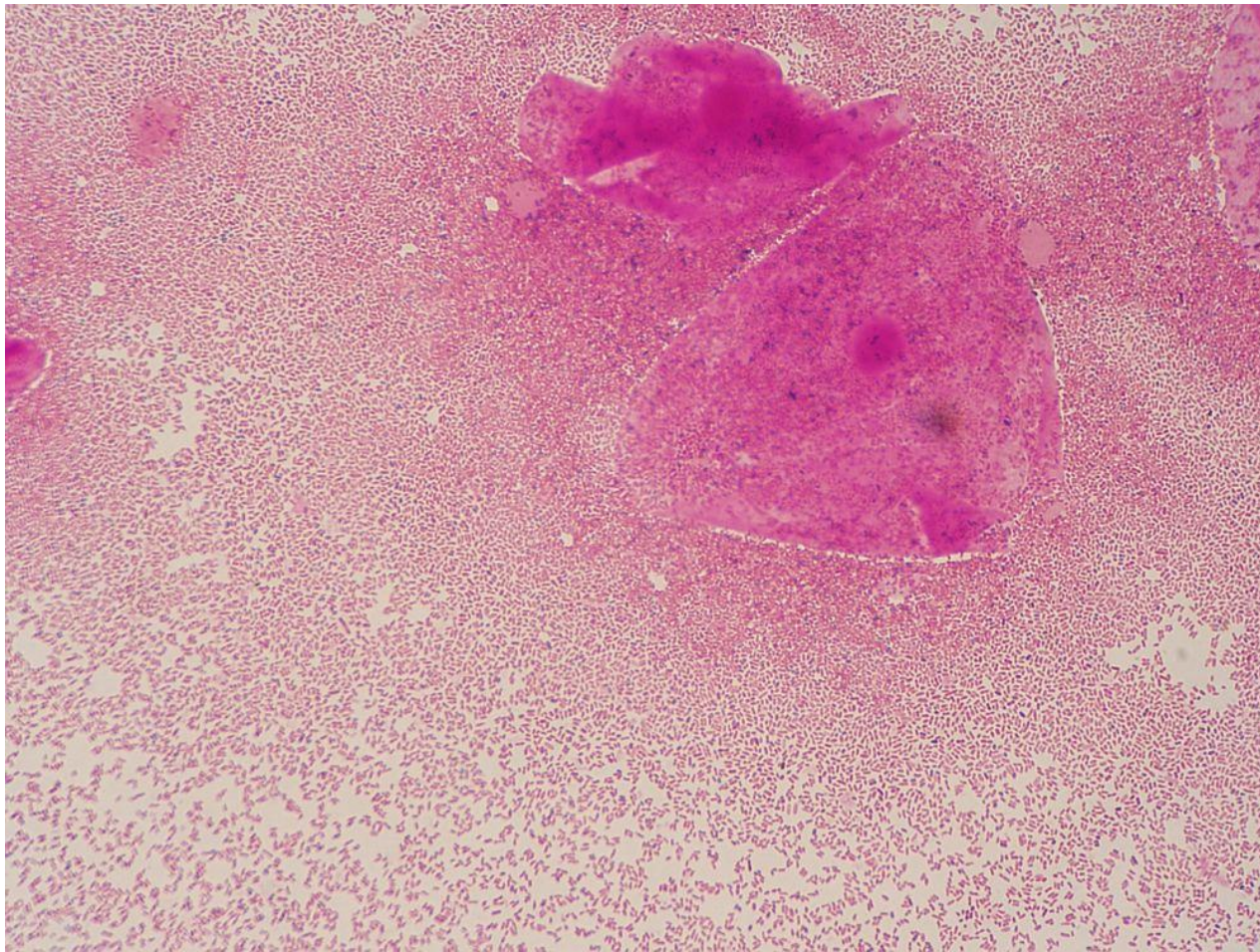
MOP I-II E>L, lakto+++--++++, -T,+K+

MOP I-III E<L, lakto+-++++

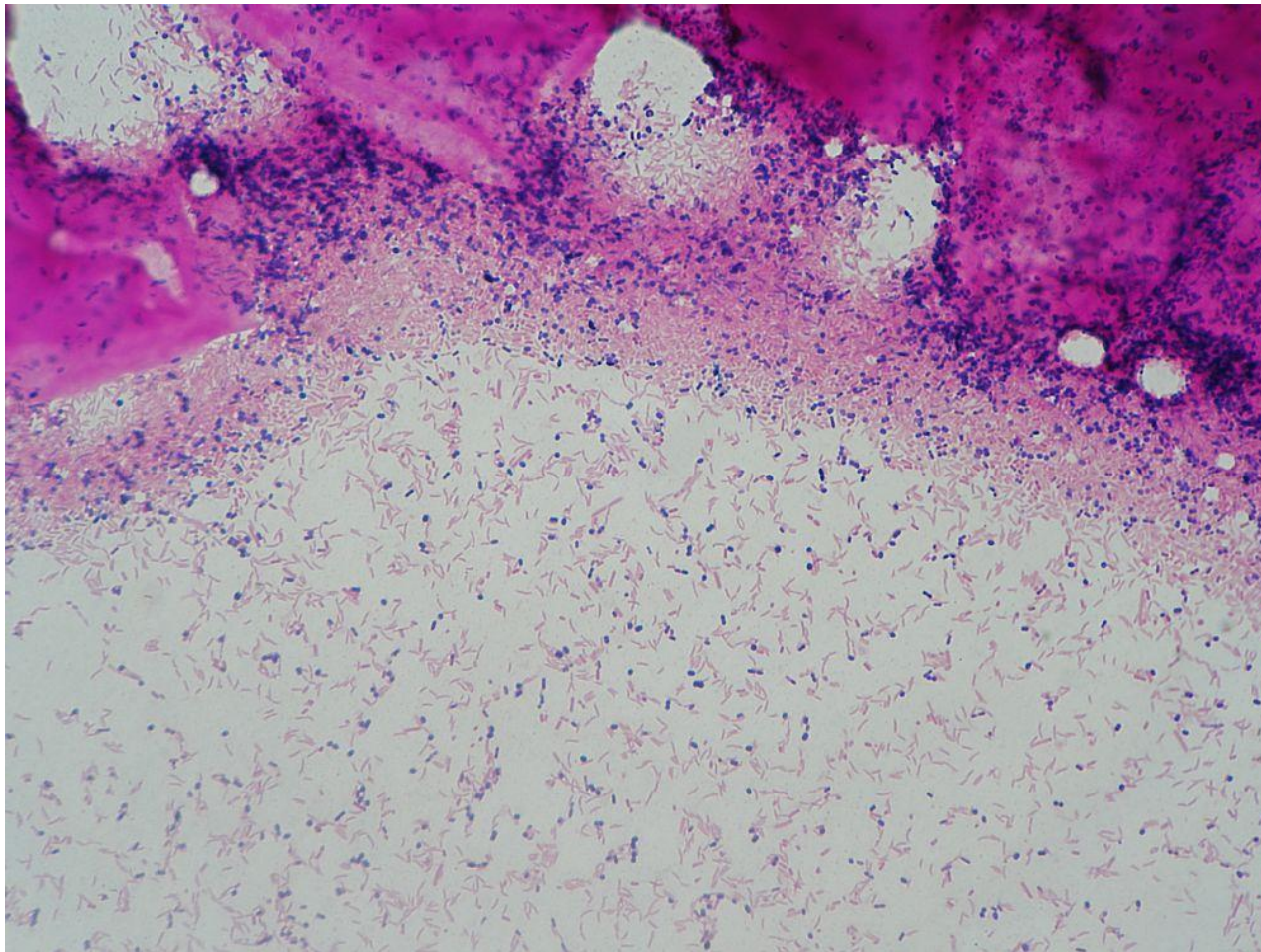


MOP IIa

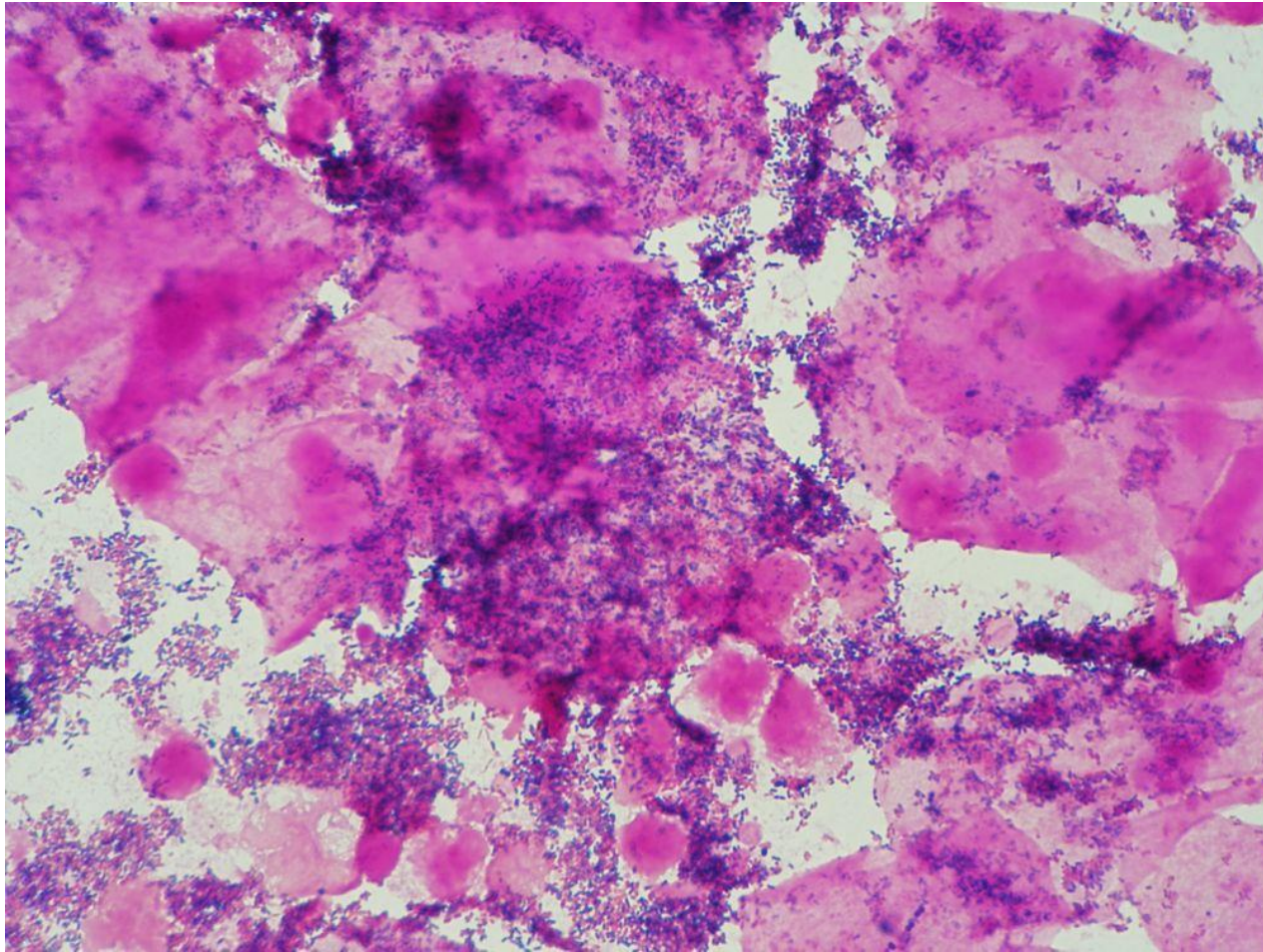
E>L,KB, MBV++-+++ , není *Mobiluncus*, (lakto +)



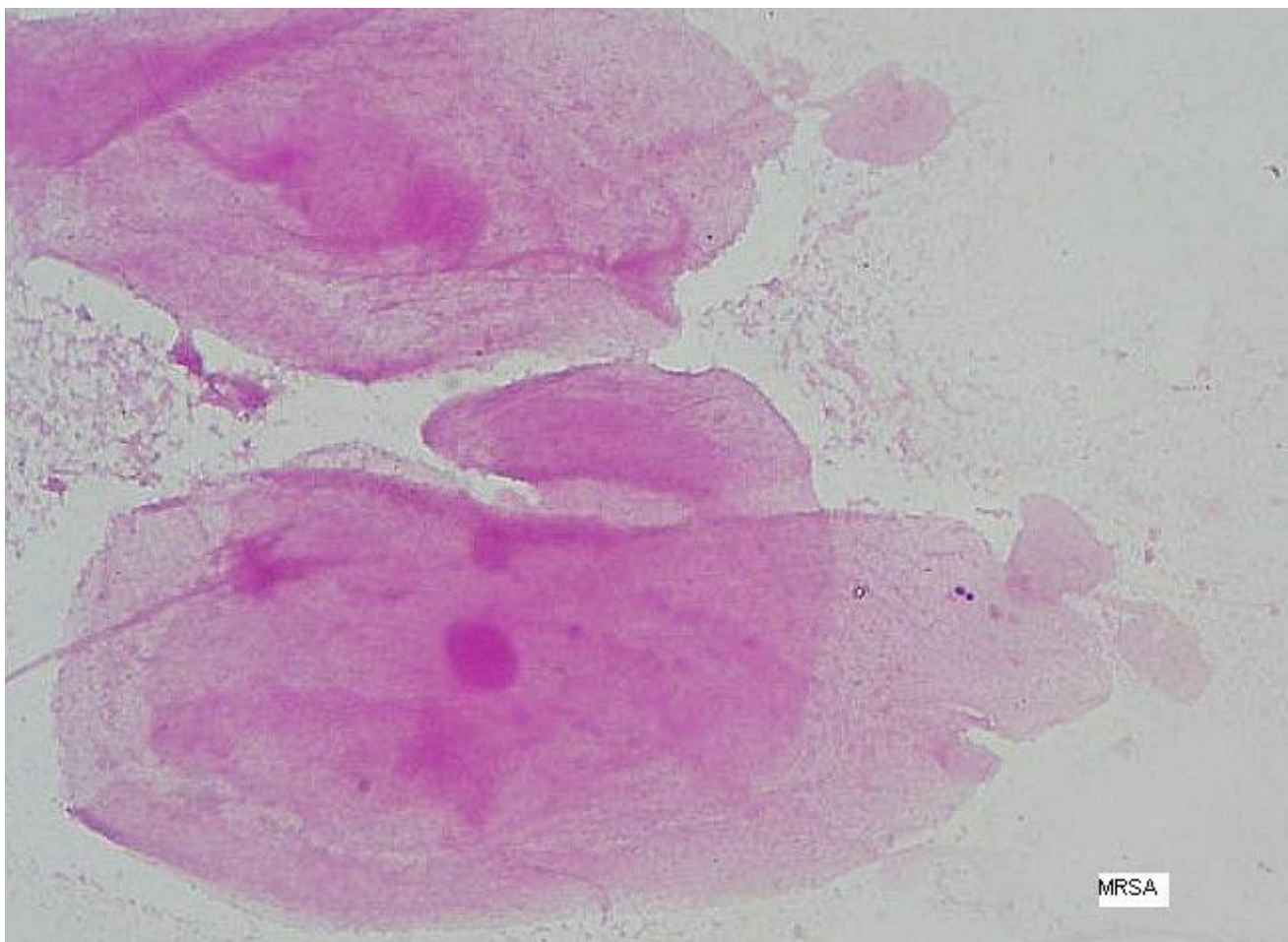
MOP IIb E>L,KB, MBV+*Mobiluncus*



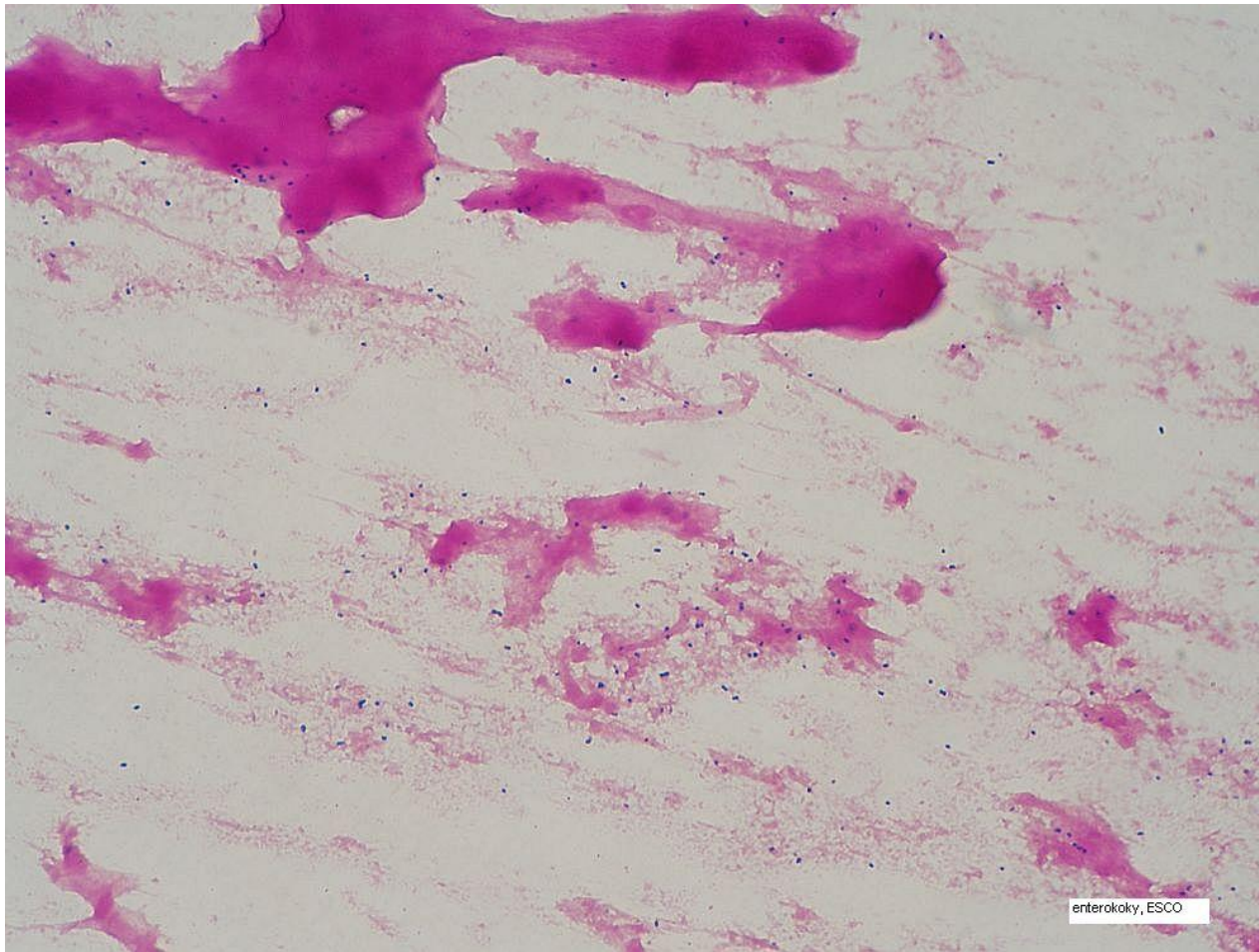
MOP II-III E<L,KB,MBV++++,
není lakto



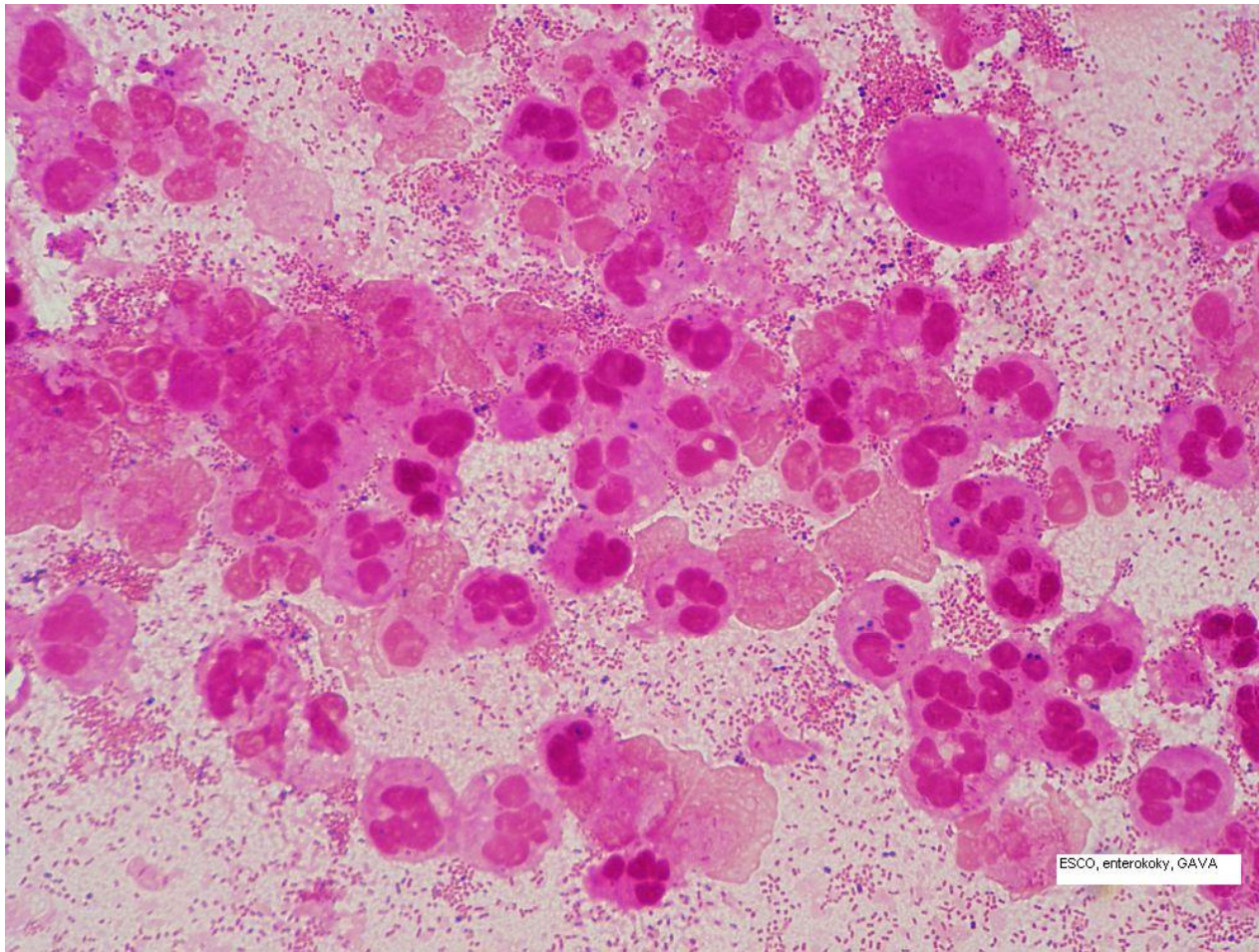
MOP 0-II E>L, není lakto, bakt +-++



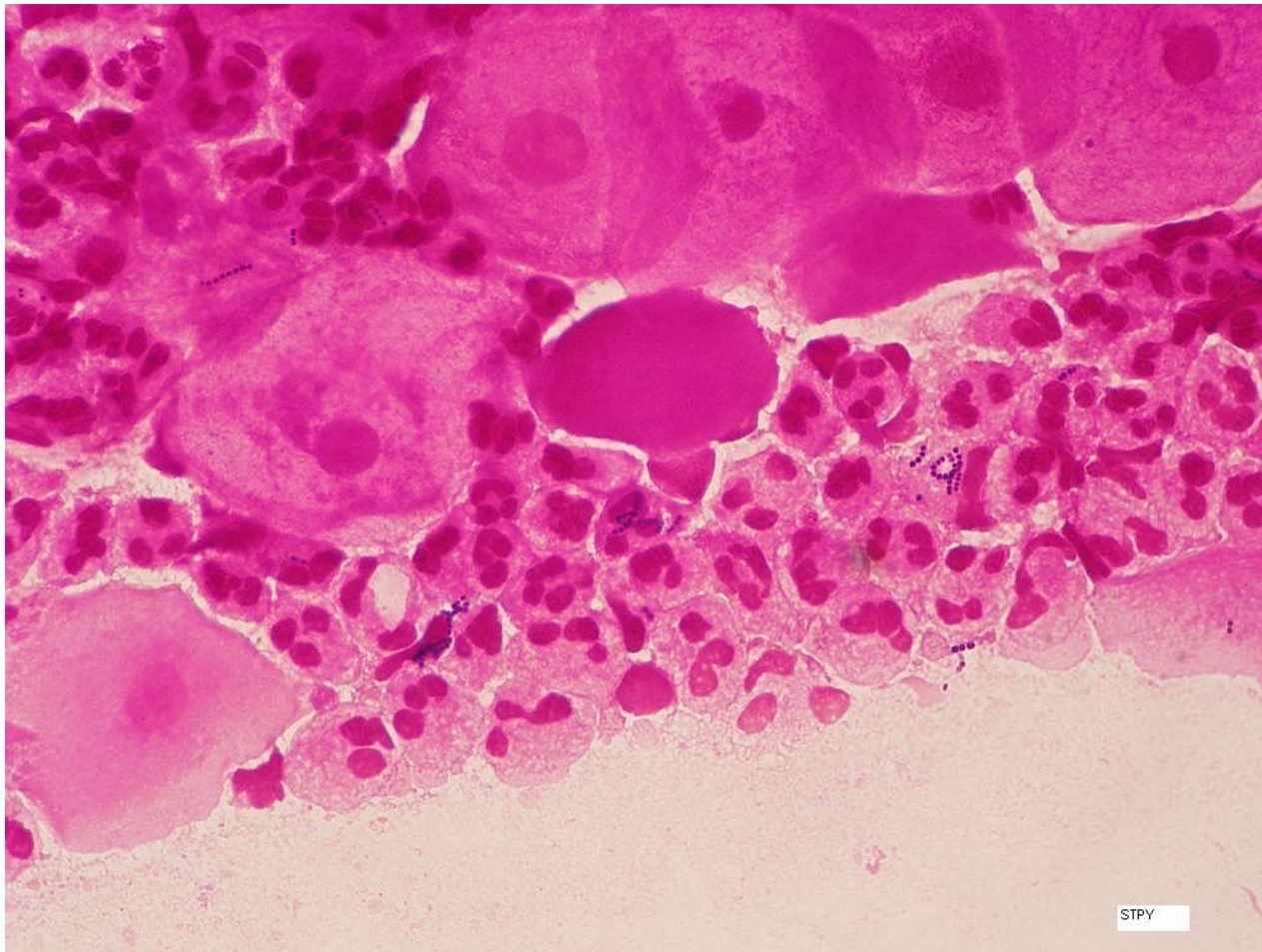
MOP 0-II E>L, není lakto, bakt +-++



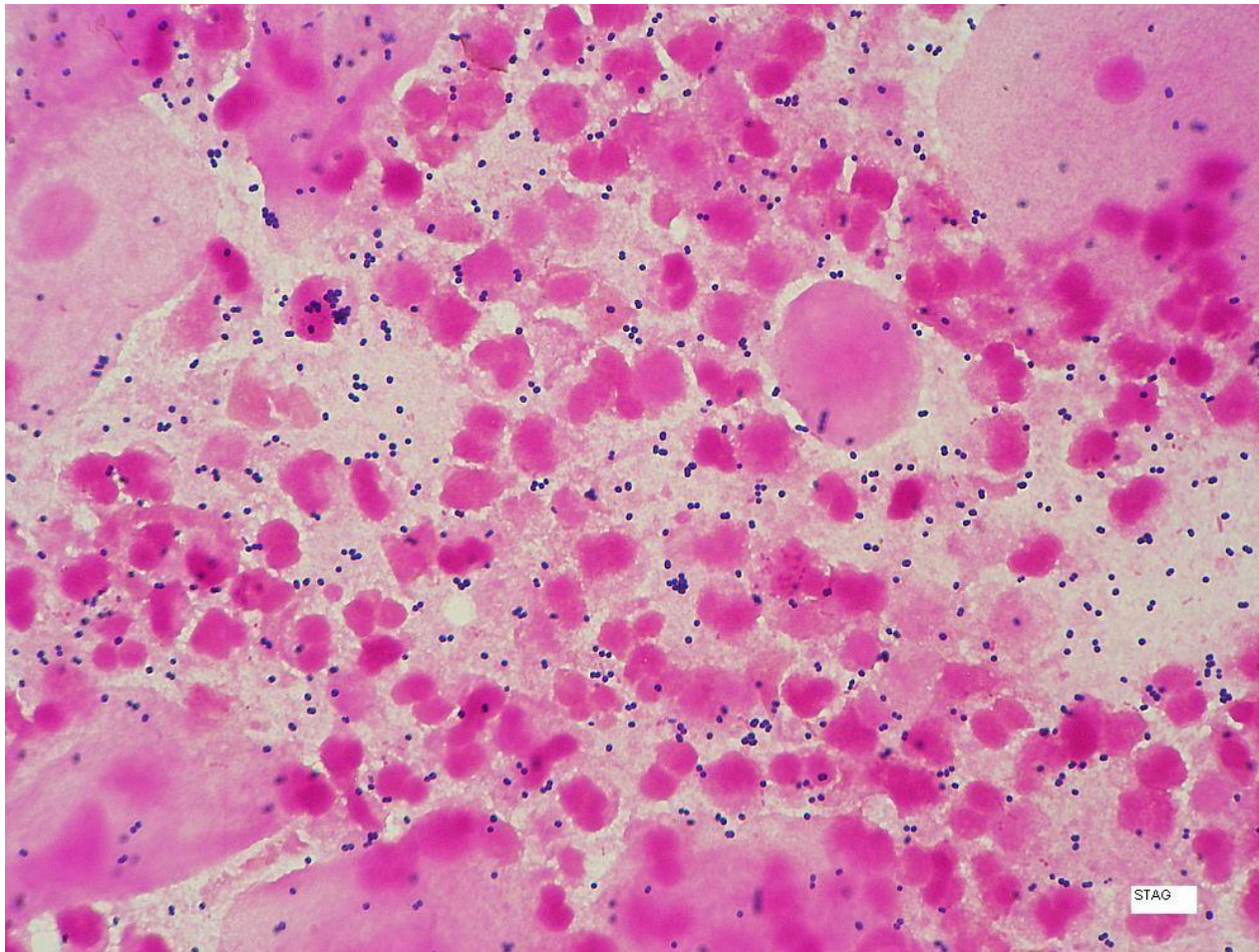
MOP IIIa E<L, bakt +-+++ , není
lakto, nejsou KB



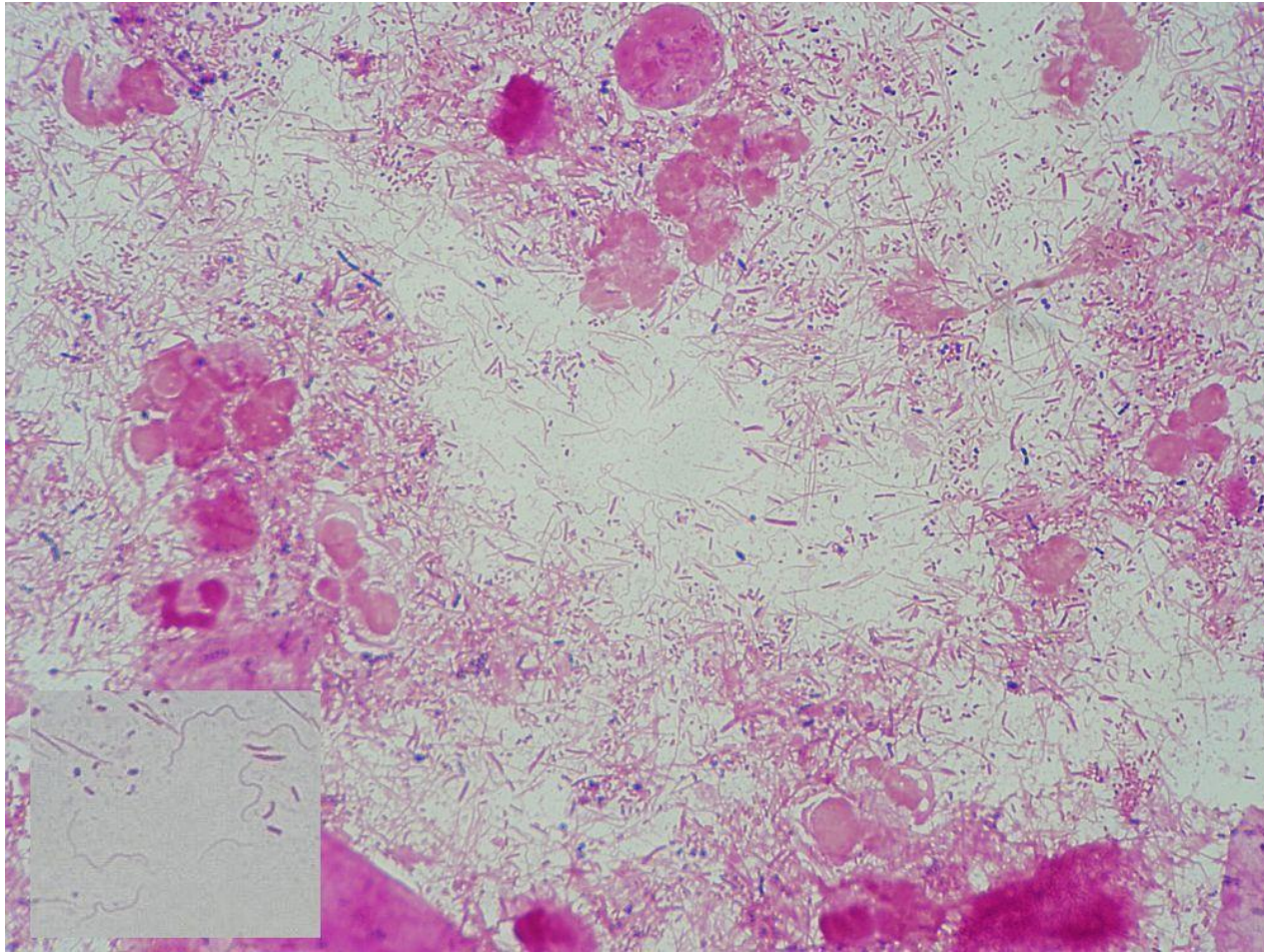
MOP IIIb E<L, +K+-++++ (βhem),
není lakto, nejsou KB



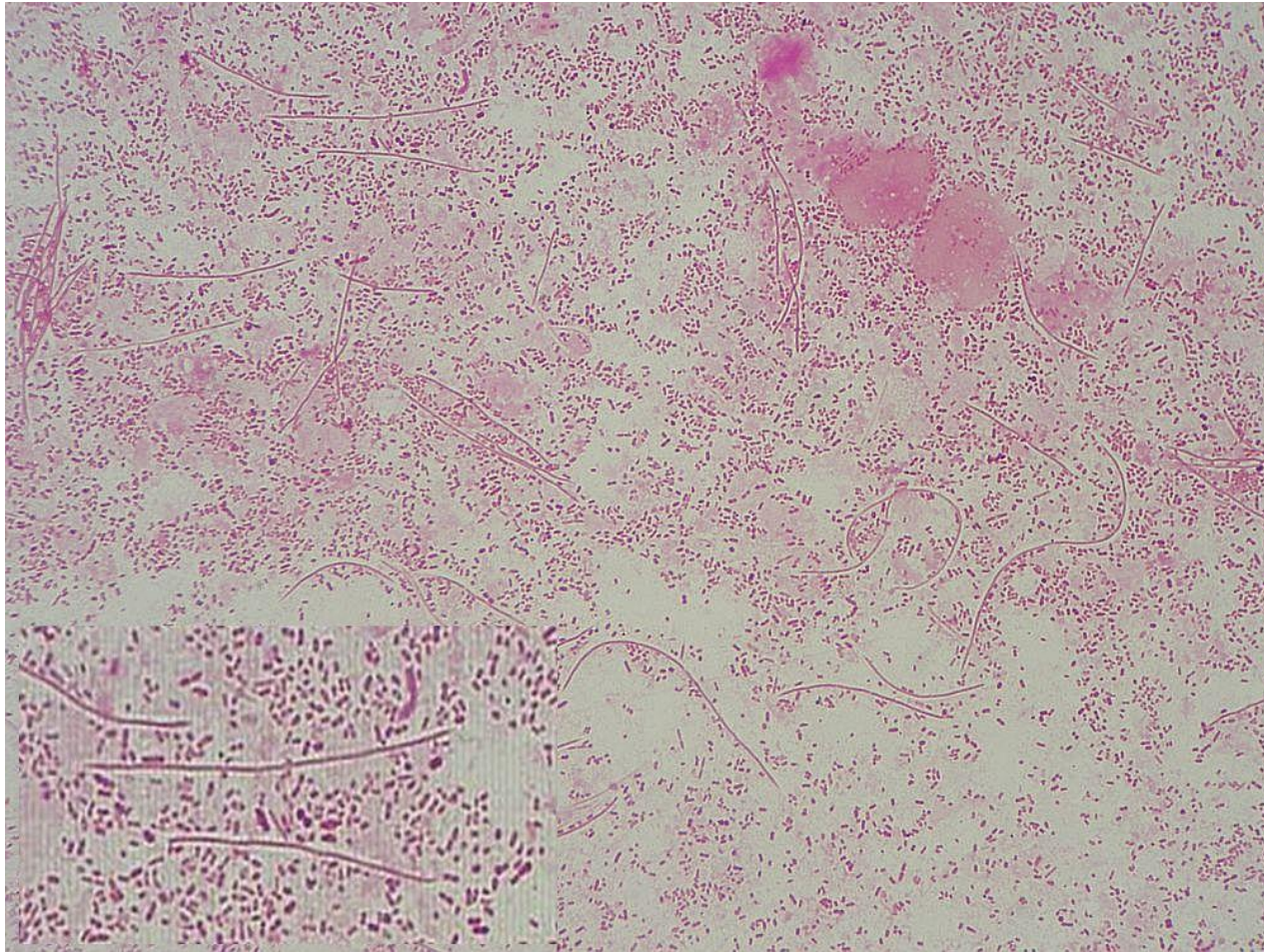
MOP IIIb E<L, +K+-++++ (βhem),
není lakto, nejsou KB



IIIc E<L, spirální a fusiformní T,
není lakto, nejsou KB



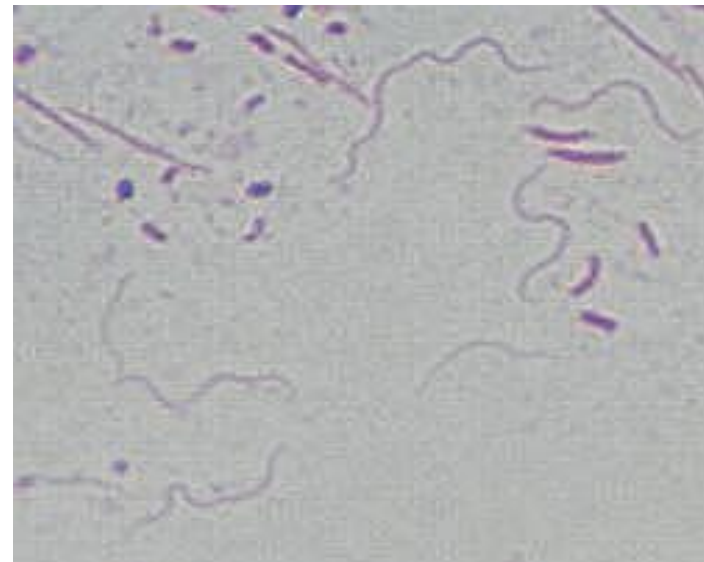
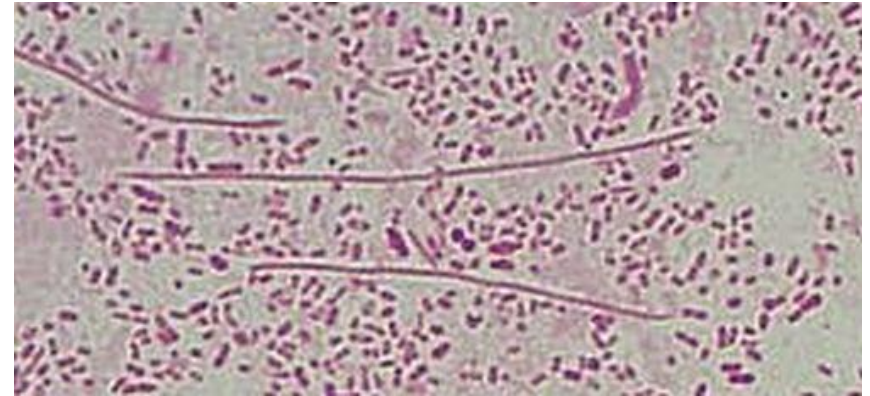
III d E < L, leptotrichie, není lakto,
nejsou KB



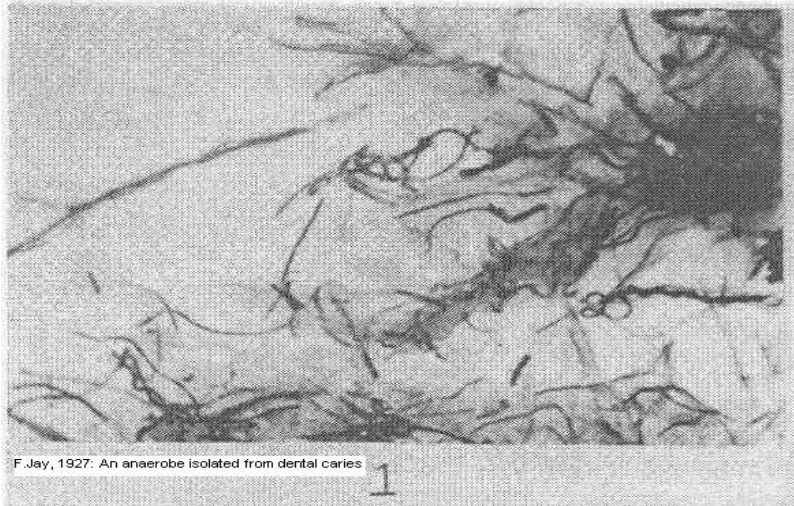
Leptotrichia amnionii (Shukla SJ a kol. 2002)

(L.)Sneathia sanguinegens (Hanff PA a kol. 1995, Collins MD a kol. 2001)

- peri(post)partální bakterémie
- chorioamnionitídy, potraty
- renální absces
- 16S rRNA při BV
- striktní anaerob



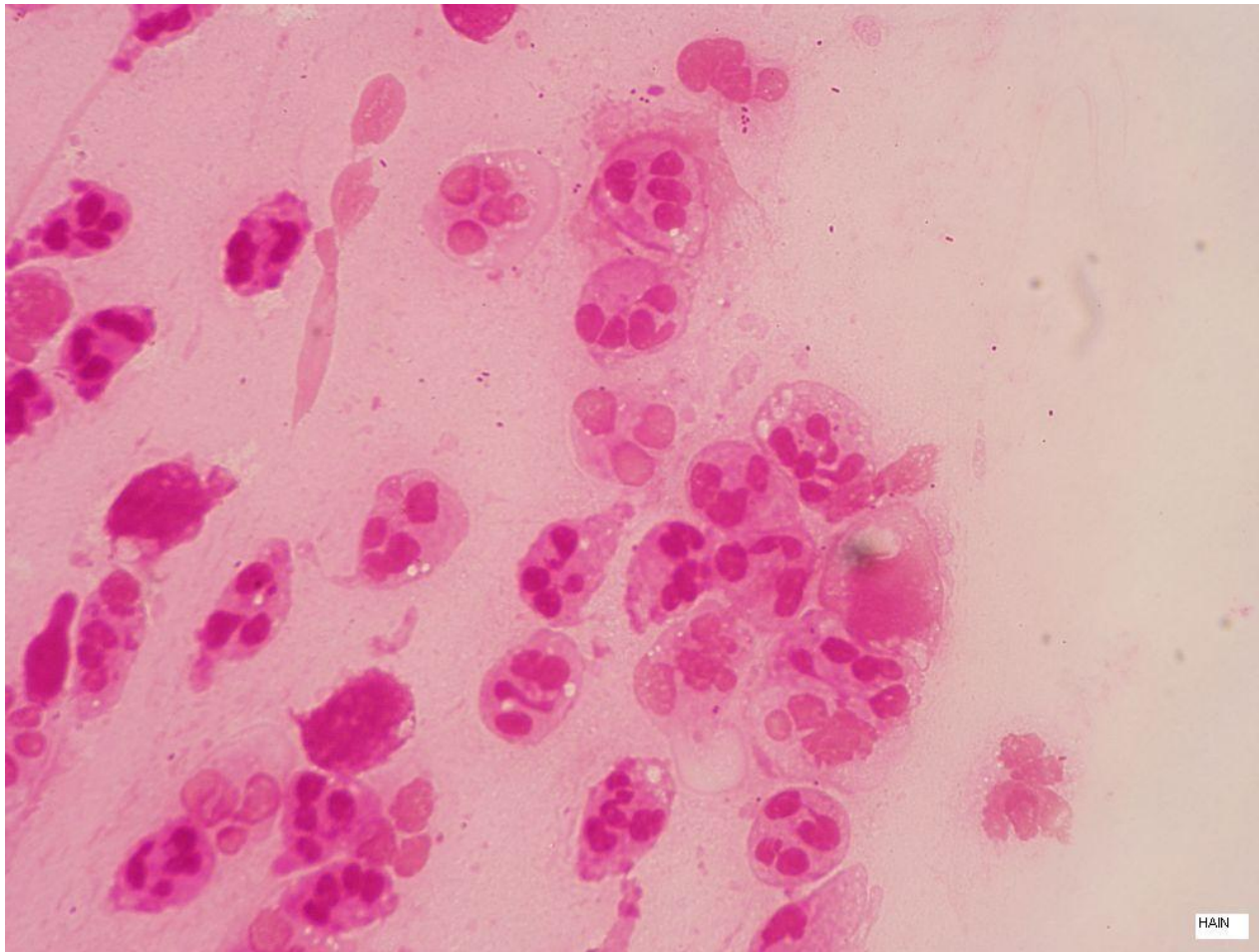
JOURNAL OF BACTERIOLOGY, VOL. XIV



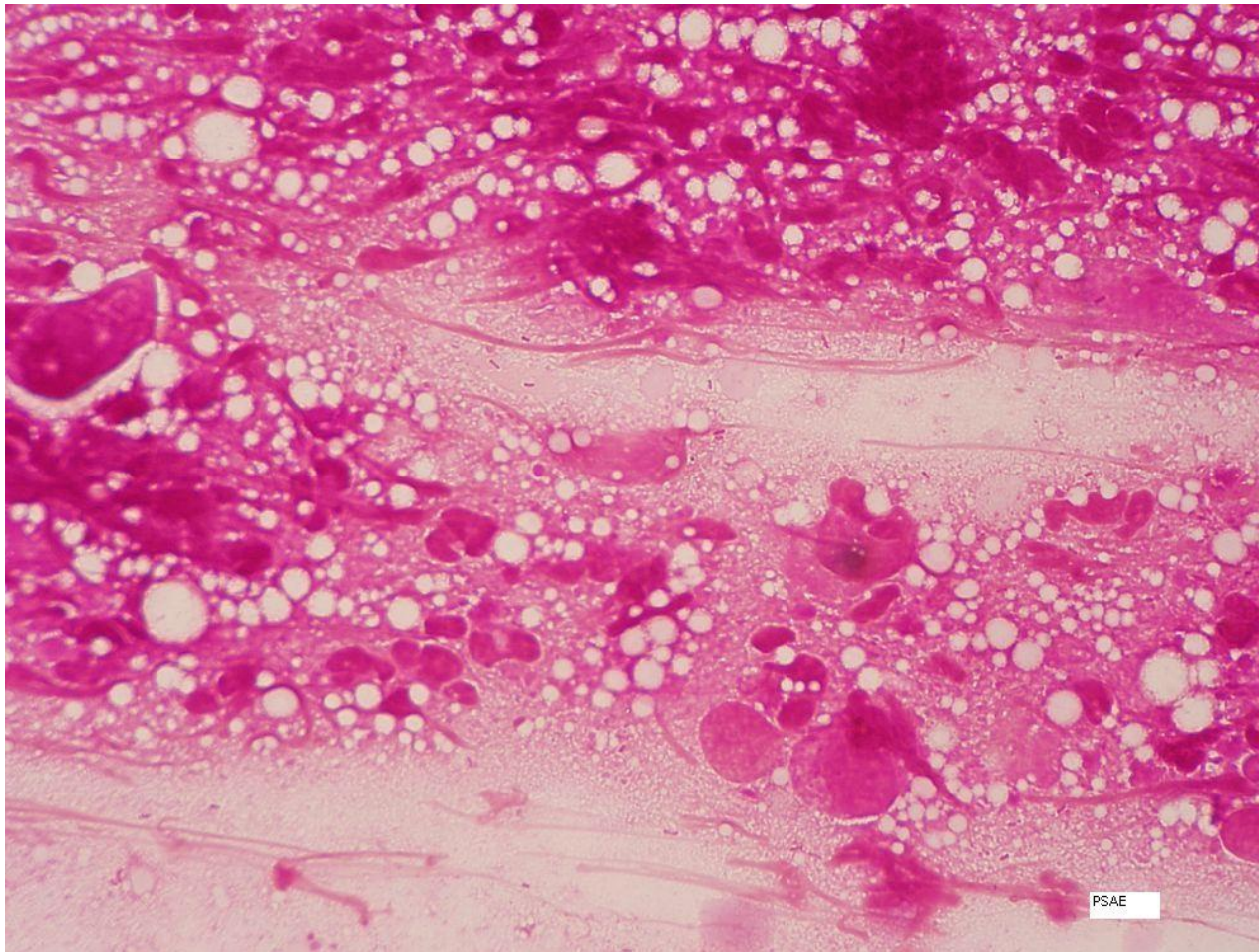
F. Jay, 1927: An anaerobe isolated from dental caries

1

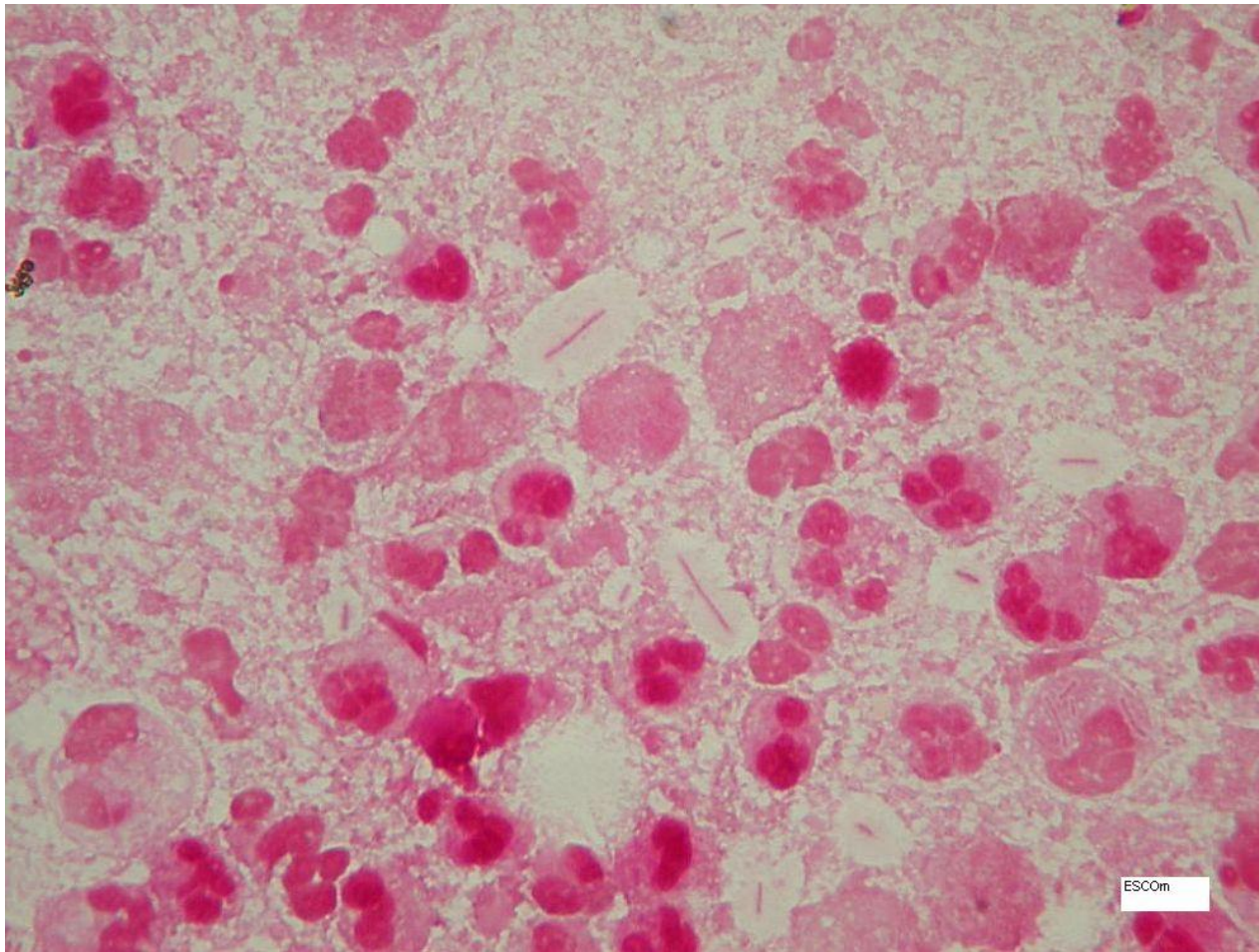
MOP 0-III E<L, bakt+--++ , není
lakto, nejsou KB



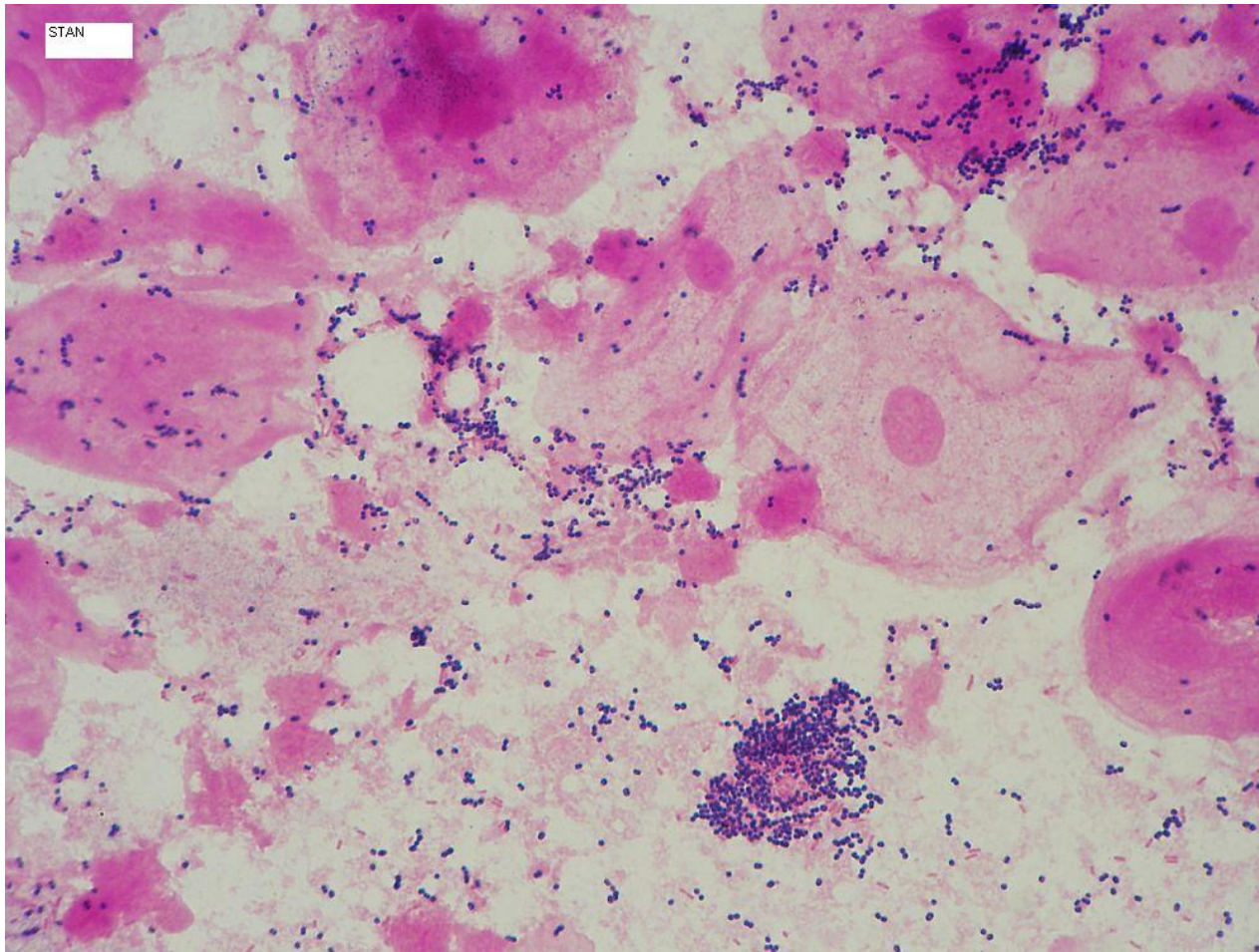
MOP 0-III E<L, bakt+-++ , není
lakto, nejsou KB



MOP 0-III E<L, bakt+--++ , není
lakto, nejsou KB



MOP 0-III E<L, bakt+--++ , není
lakto, nejsou KB



kultivace FLU

- *Streptococcus anginosus* (ferm.manitol, VS,NHS,F→BV,plod)
- *Streptococcus pseudoporcinus* (CAMP+,hip- →plod)
- *H.influenzae* biotyp IV (→plod)
- NFT z PS (2500 kmenů, 30% *A.lwofii*)
- NFT iatrogenně

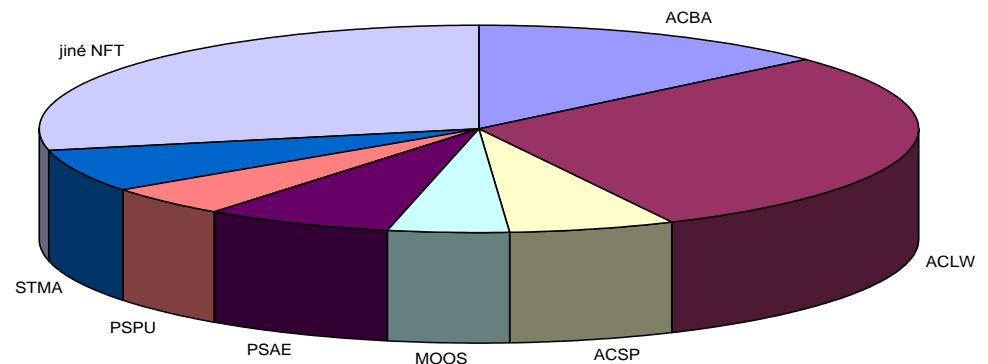
B.cepacia k.

A.baumannii k.

R.pickettii

S.maltophilia

Graf č.1: Nejčastěji se vyskytující NFT v poševních sekretech 99-10/05



Streptococcus pseudoporcinus

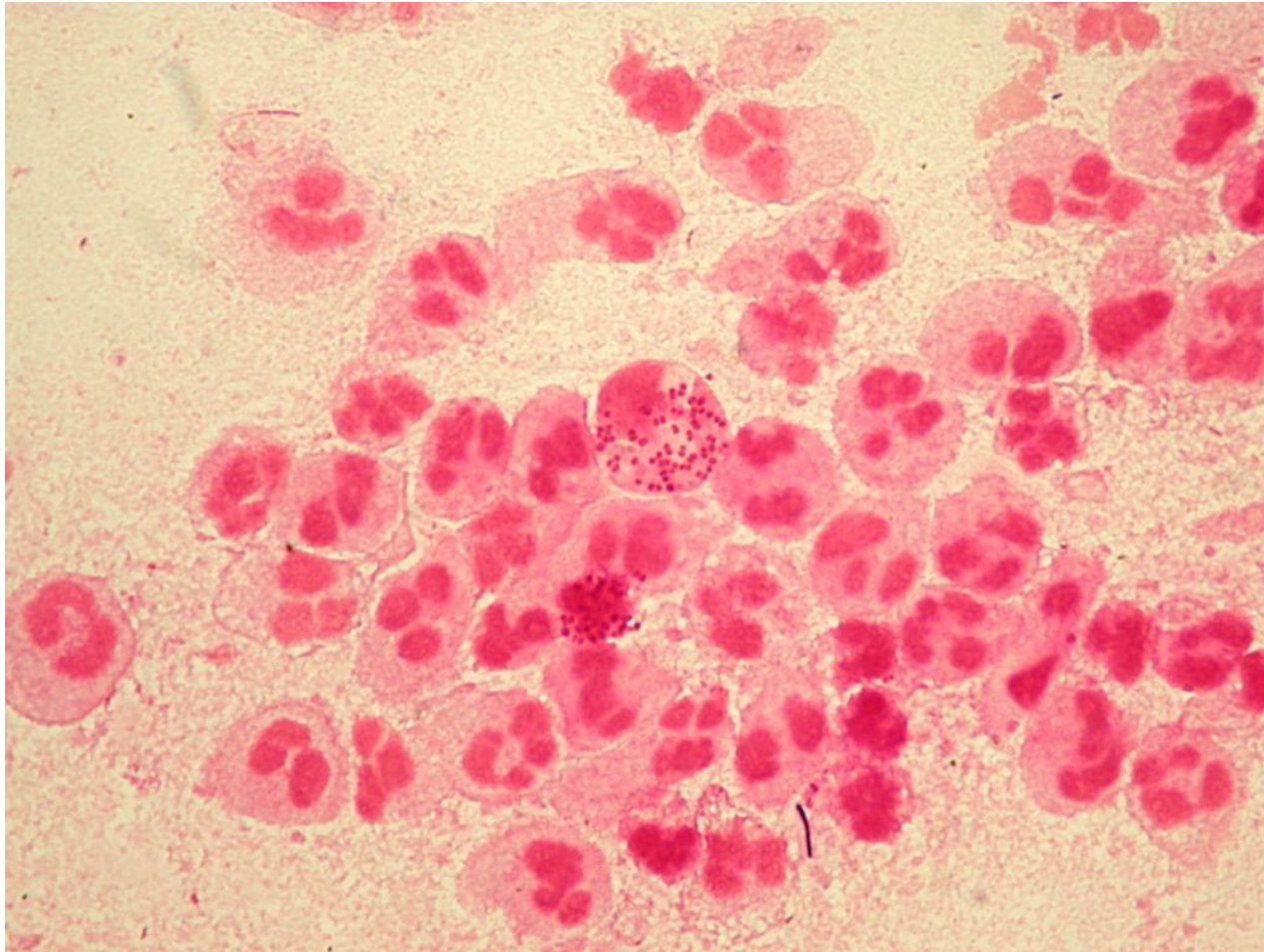
(Bekal a kol. 2006)

Table 2: Biochemical Characteristics of *Streptococcus pseudoporcinus*, *Streptococcus porcinus*, and *Streptococcus agalactiae* (Please refer to references 1, 2, and 3).

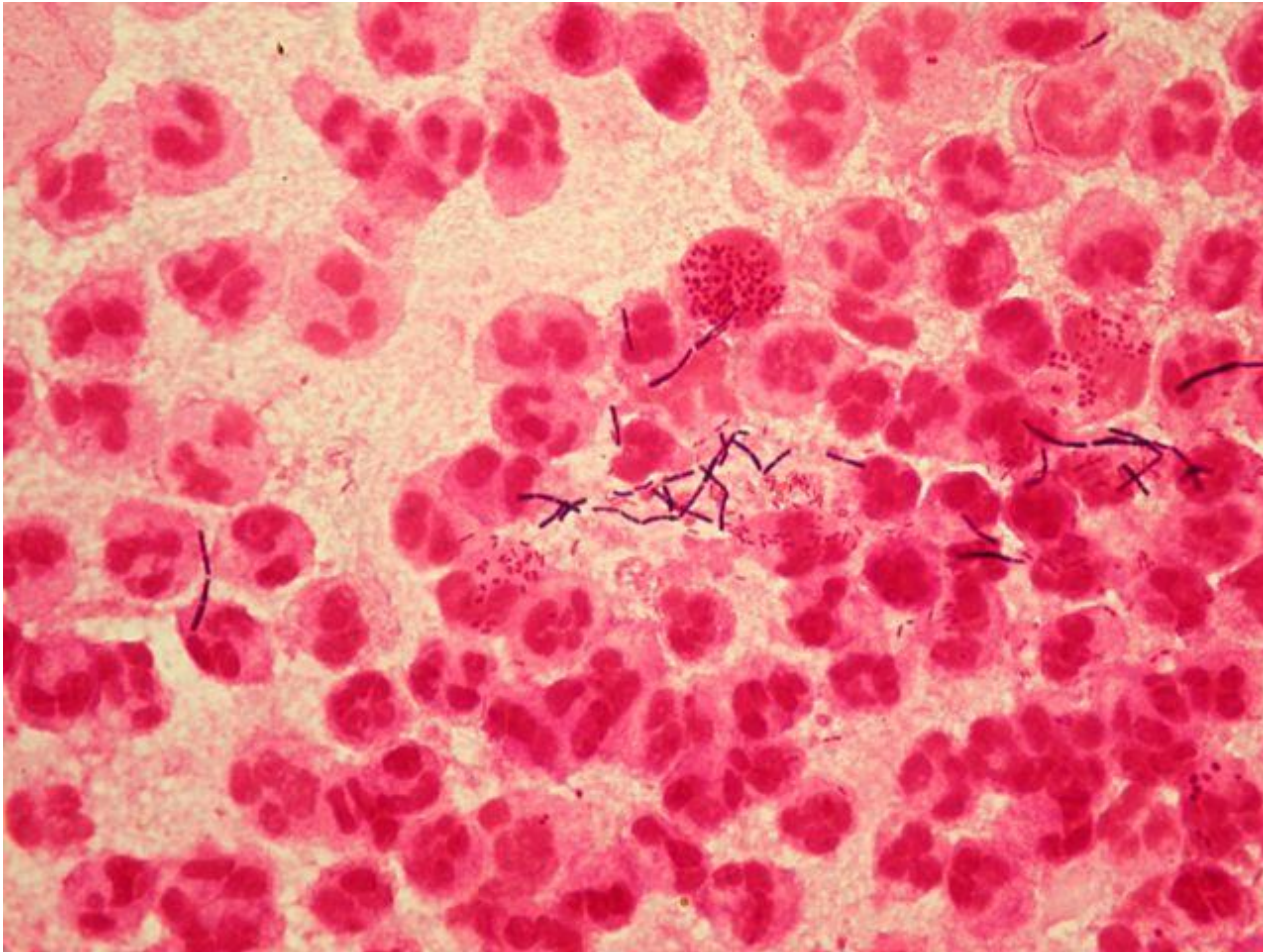
Test	<i>S. agalactiae</i> (*)	<i>S. pseudoporcinus</i> (+)	<i>S. porcines</i>
Hippurate	100%	0%	0% (+)
Bile Esculin	No (**)	Mostly negative	0% (++)
Arginine	100%	Mostly positive	100% (++)
Mannitol	0%	100%	100% (++)
Sorbitol	0%	100%	100% (++)
VP	50%	56%	100% (++)
PYR	0%	30%	57% (+)
CAMP	Yes	Yes (**)	87.5% (*)



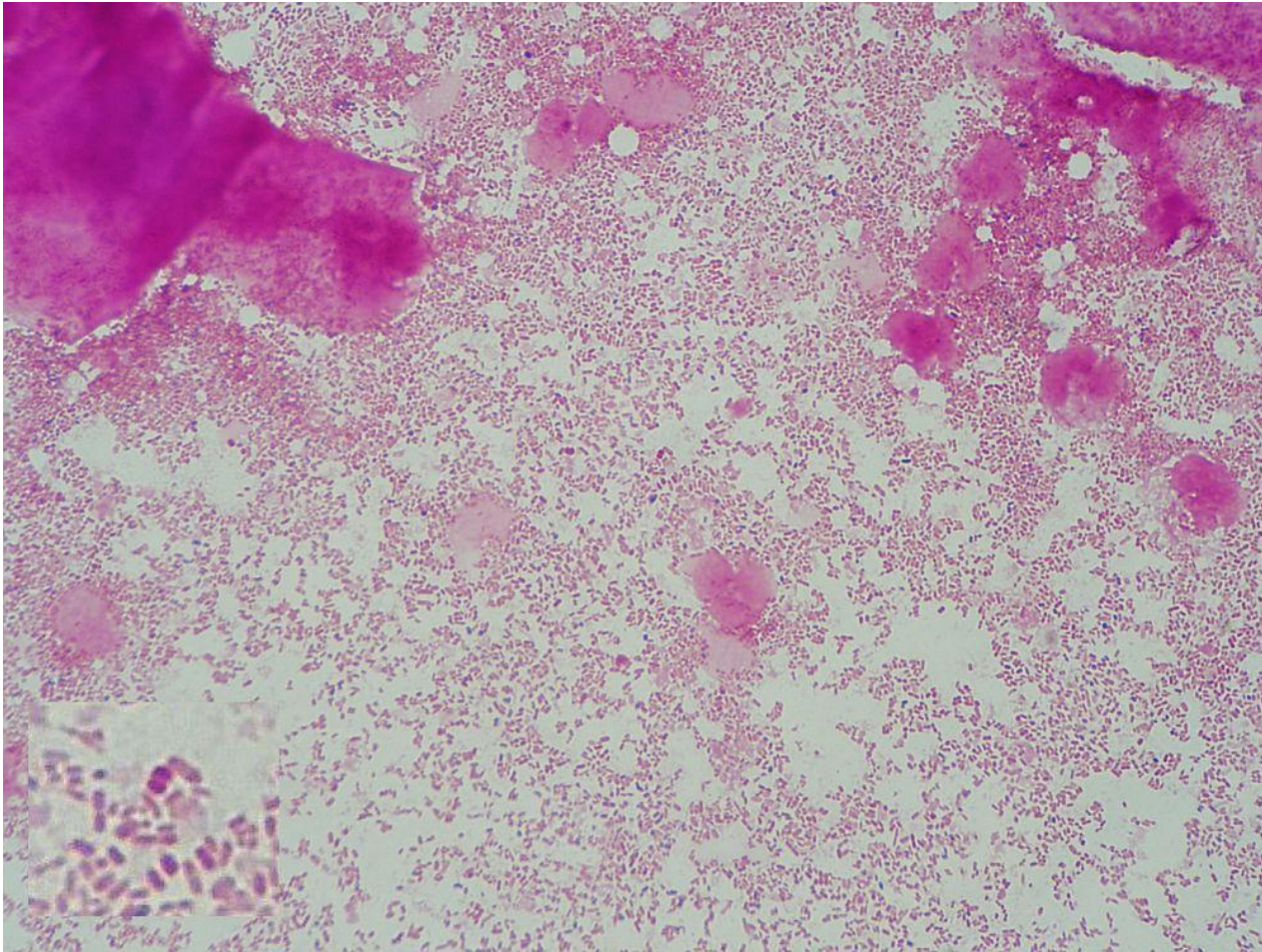
MOP IV GO pozitivní



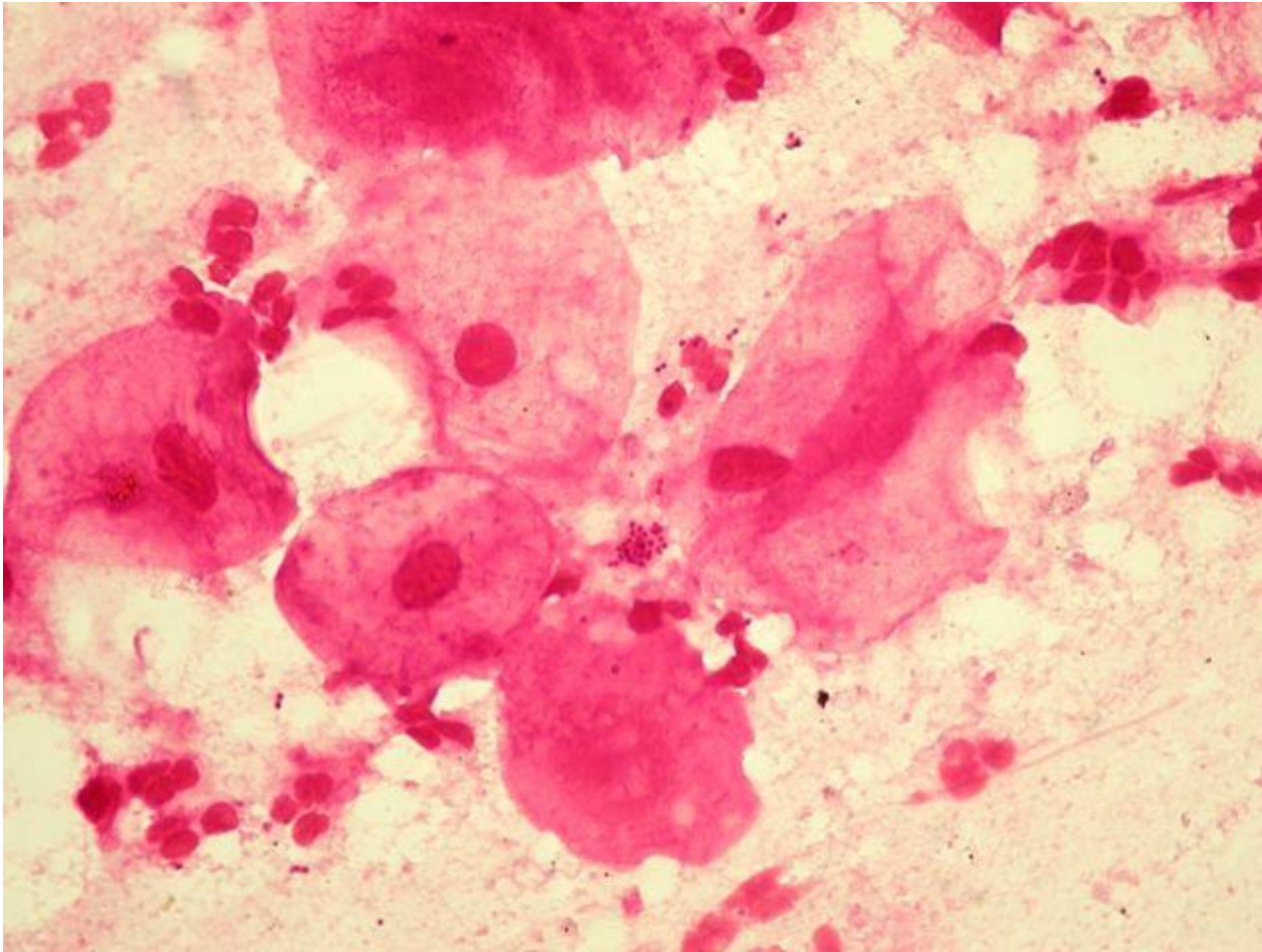
MOP IV GO pozitivní



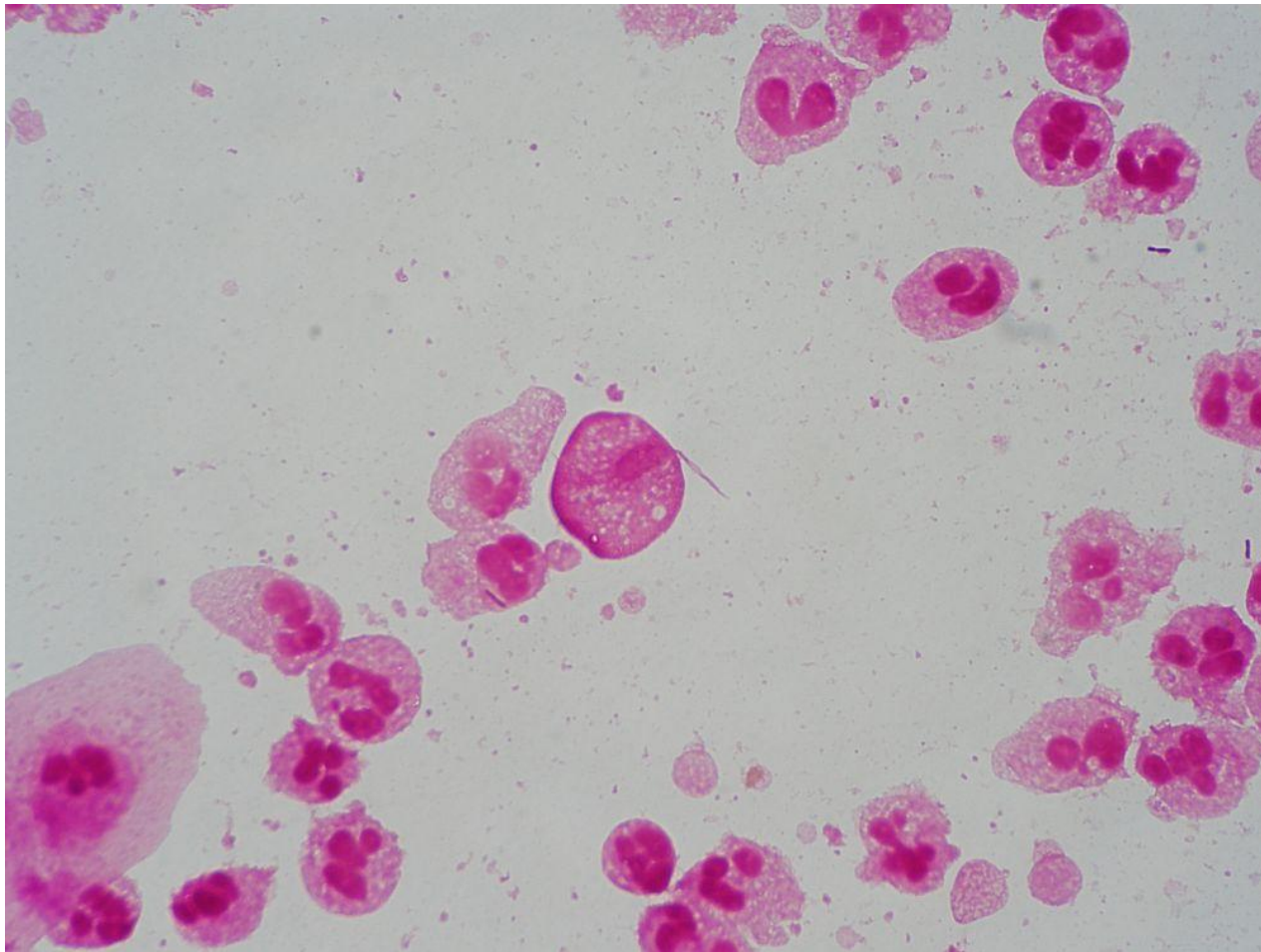
MOP IV GO pozitivní



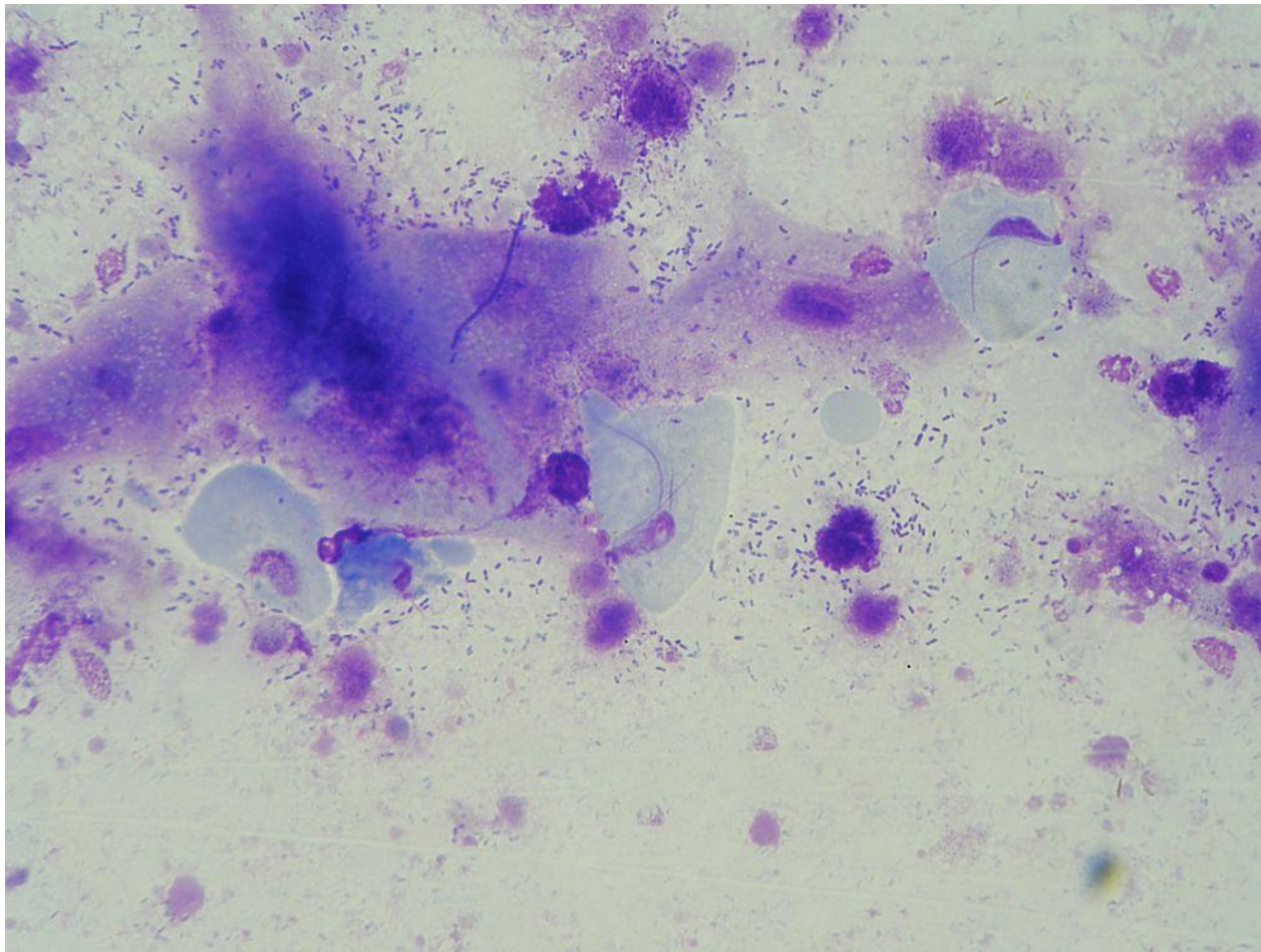
Pozor – *S. agalactiae* (IIIb)



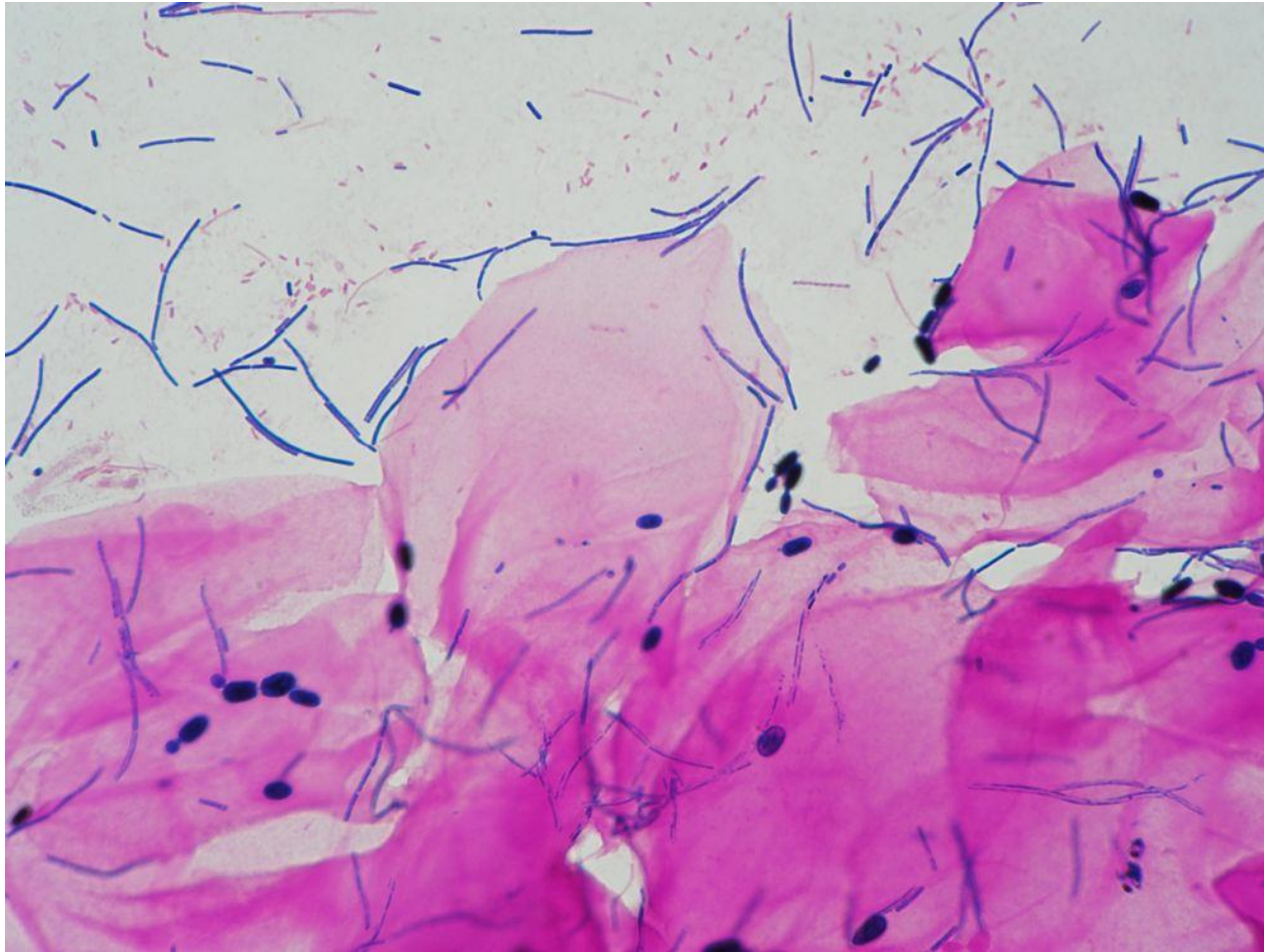
MOP V *T.vaginalis* pozitivní



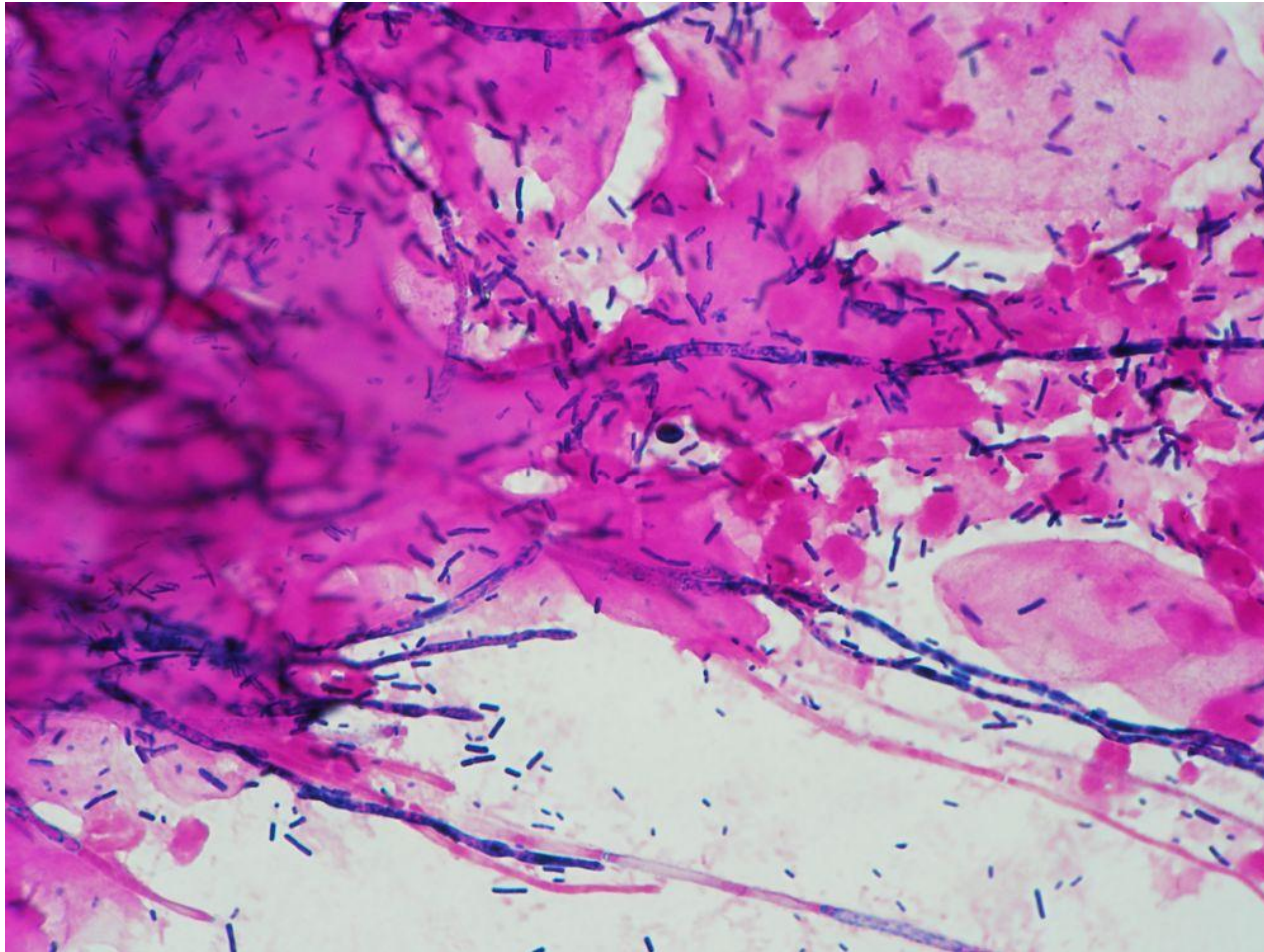
MOP V *T.vaginalis* pozitivní



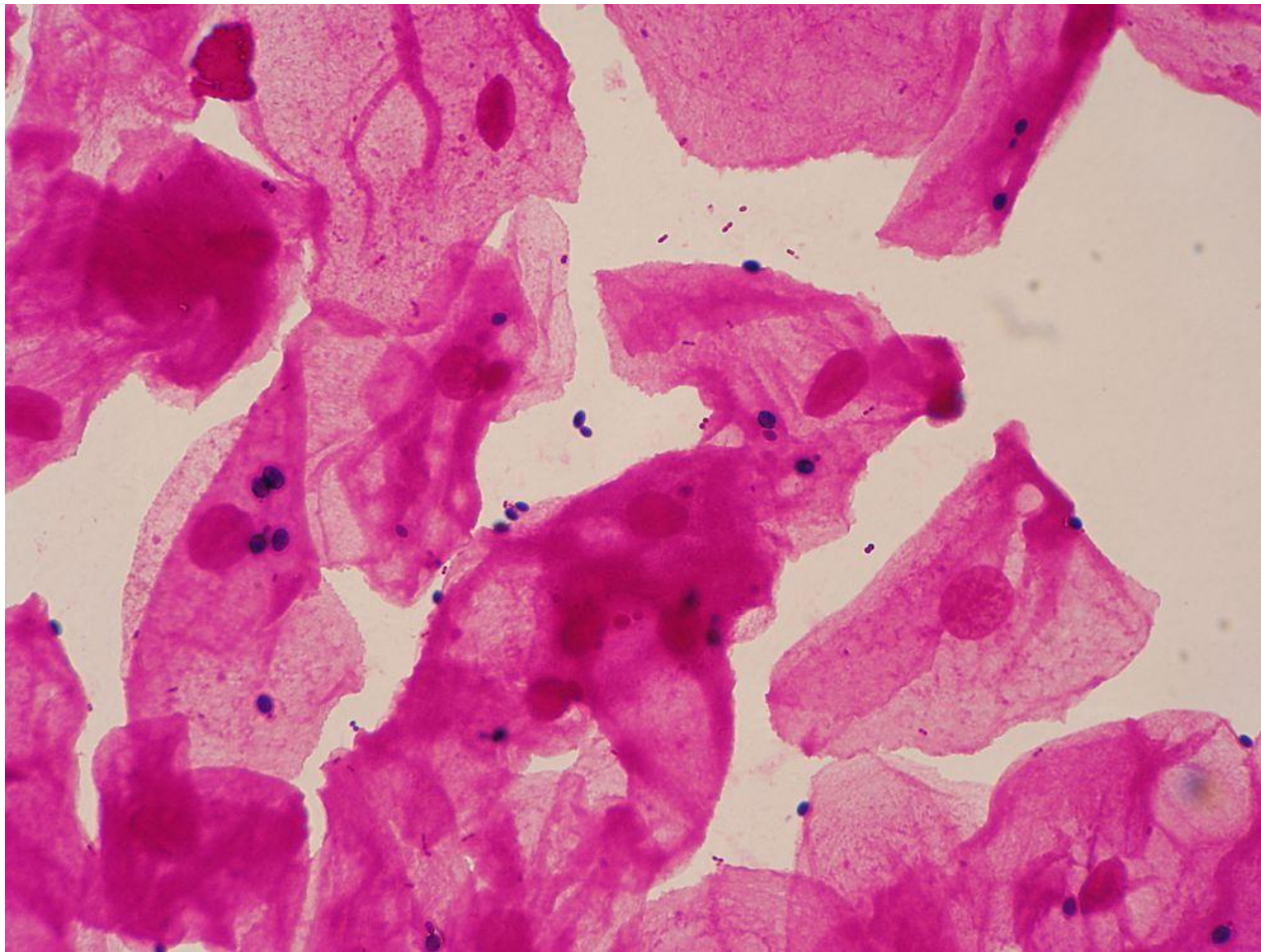
MOP VIa E>L, kvasinky (blastospory, pseudomycelia)



MOP VIb E<L, kvasinky (blastospory, pseudomycelia)

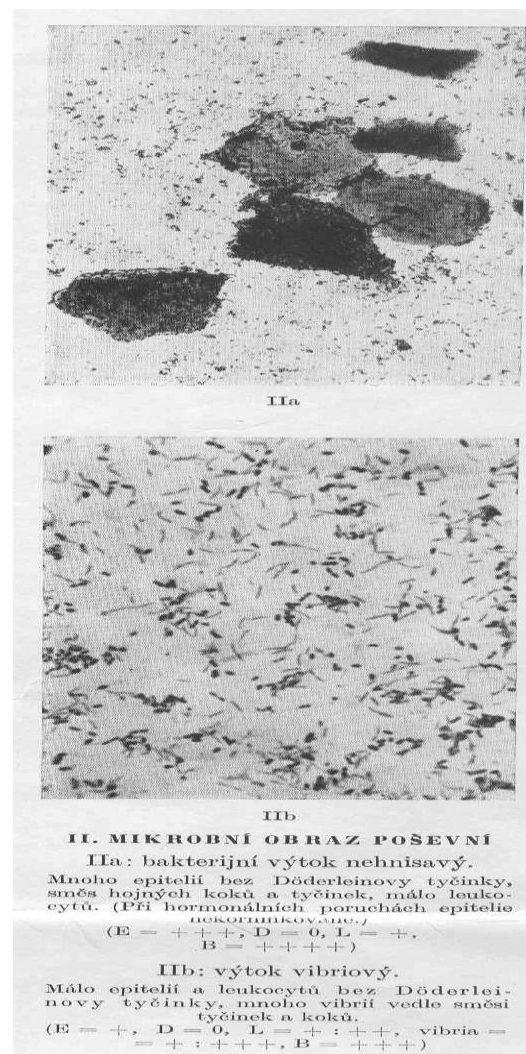
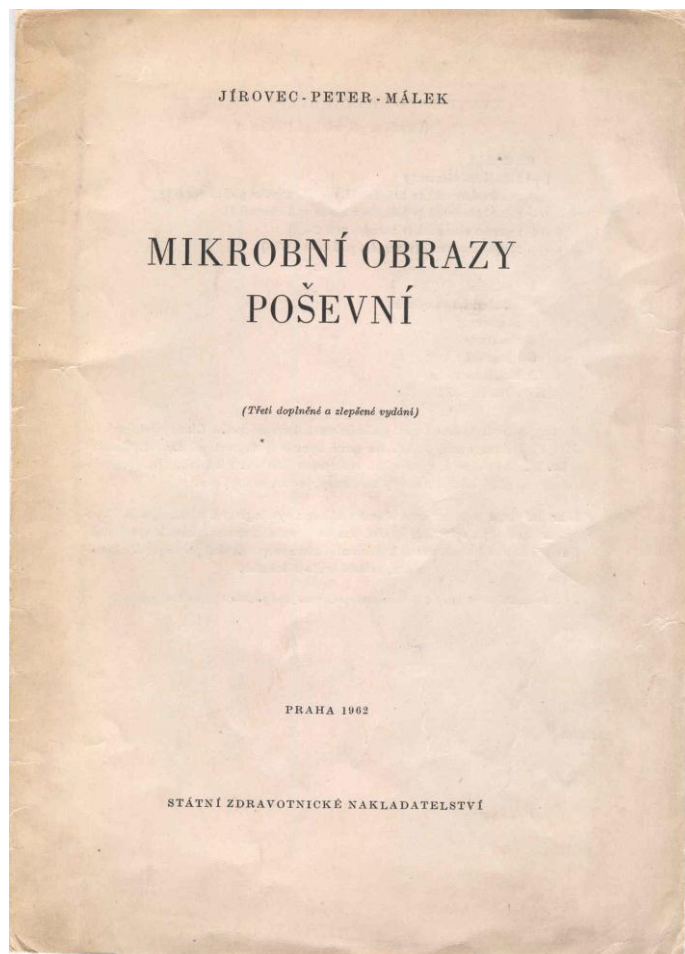


MOP 0-VI kvasinky, není lakto



Mikrobní obrazy poševní

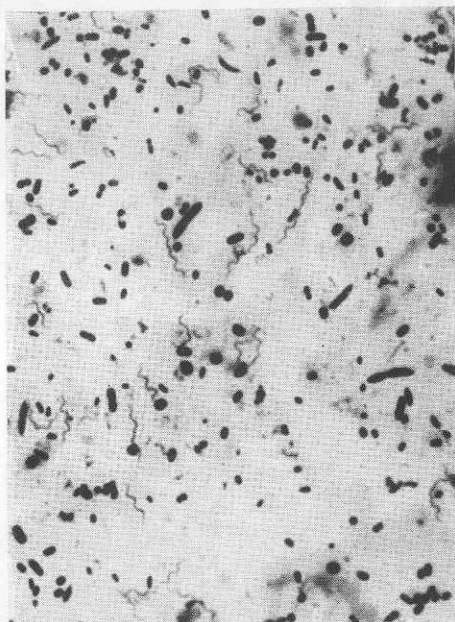
(Jírovec-Peter-Málek, třetí doplněné a zlepšené vydání, 1962)



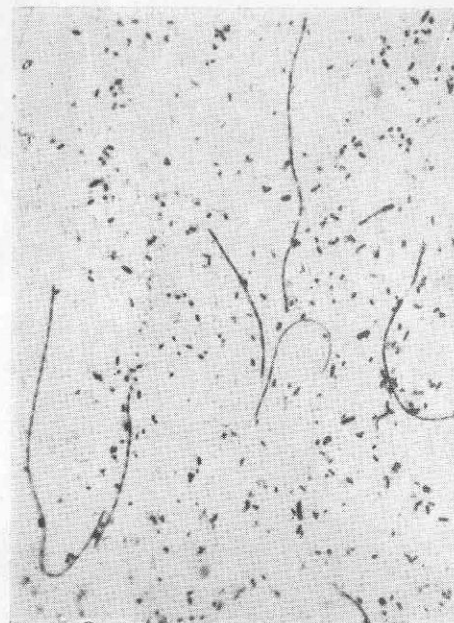
Mikrobní obrazy poševní

(Jírovec-Peter-Málek, třetí doplněné a zlepšené vydání, 1962)

PŘECHODNÉ MIKROBNÍ OBRAZY POŠEVNÍ
(I.—II.—III.)



S příměsí *Spirochaeta vaginalis* a bac.
Fusiformis. (II.—III.)

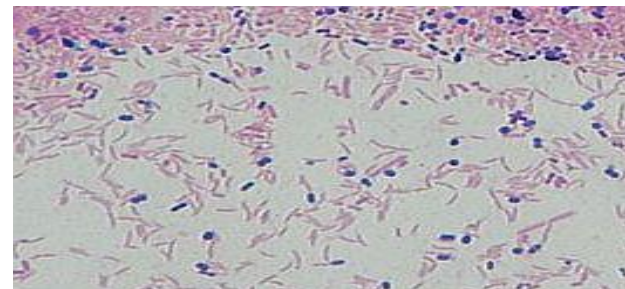
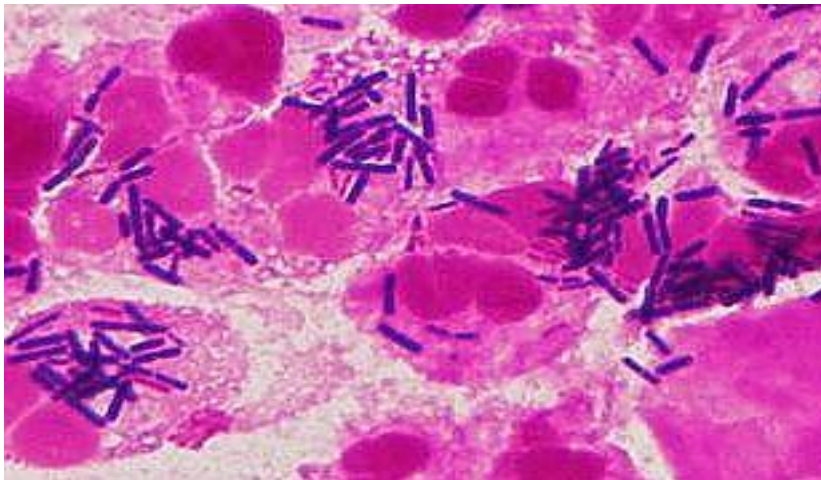
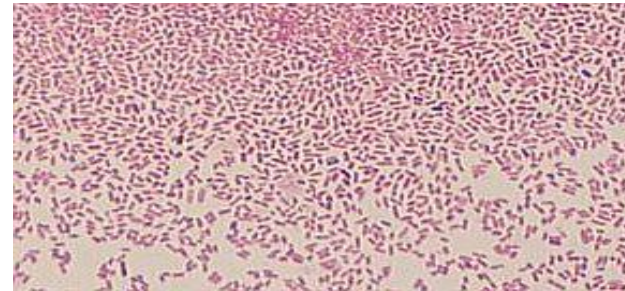
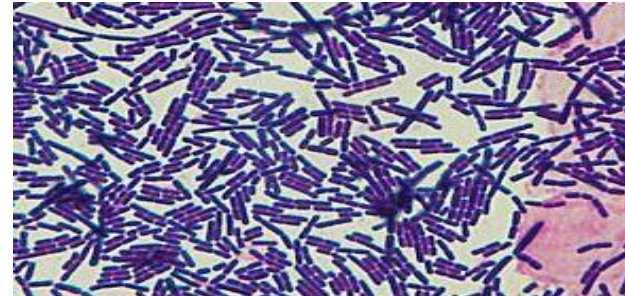


S příměsí *Leptotrichia vaginalis*.
(II.—III.)

Nugent score (NS)

(C.A.Spiegelová a kol. 1983, R.P.Nugent a kol. 1991, H. Verstraelen a kol. 2007)

- morfotyp *Lactobacillus*
- morfotyp *Gardnerella* a *Bacteroides (Prevotella)*
- morfotyp *Mobiluncus*
- morfotyp purulentní (PMN + laktobacily) (2007)



Nugent score (NS)

(C.A.Spiegelová a kol. 1983, R.P.Nugent a kol. 1991, H. Verstraelen a kol. 2007)

Nugent RP a kol.1991: Reliability of diagnosing BV is improved by a standardized method of gram stain interpretation

J. CLIN. MICROBIOL.

TABLE 1. Scoring system (0 to 10) for Gram-stained vaginal smears^a

Score ^b	Lactobacillus morphotypes	<i>Gardnerella</i> and <i>Bacteroides</i> spp. morphotypes	Curved gram-variable rods
0	4+	0	0
1	3+	1+	1+ or 2+
2	2+	2+	3+ or 4+
3	1+	3+	
4	0	4+	

^a Morphotypes are scored as the average number seen per oil immersion field. Note that less weight is given to curved gram-variable rods. Total score = lactobacilli + *G. vaginalis* and *Bacteroides* spp. + curved rods.

^b 0, No morphotypes present; 1, <1 morphotype present; 2, 1 to 4 morphotypes present; 3, 5 to 30 morphotypes present; 4, 30 or more morphotypes present.

- interpretace: **CS 0-3 normální (I)**, **4-6 přechodný (II)**, **≥7 BV (III)**
- **lakto 0 (skóre 4)**, **ga+bak 4+ (skóre 4)**, **mob 4+ (skóre 2)**
- **NS = 4 + 4 + 2 = 10 → bakteriální vaginóza**
- **lakto+nejsou klíčové buňky, I PMN (>5 na 1 pole) purulentní stupeň (2007)**

Zjednodušená klasifikace PS (CA Ison a PE Hay, 2002)

Stupeň:

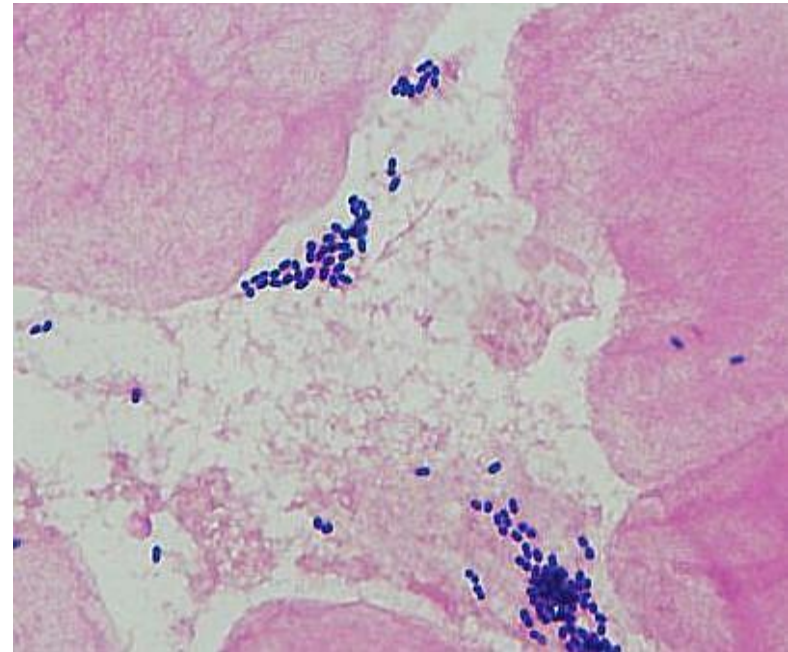
0 epitelie, bakterie 0 (atb, vag.gely)

1 normální

2 přechodný

3 bakteriální vaginóza

4 epitelie, G+ koky →



Vulvovaginitida – zánět zevních rodidel a/nebo pochvy (P.Čepický a kol. 2005)

- **Hlavní nozologické jednotky:**
- Trichomoniáza
- Mykóza
- Laktobacilóza (vláknité formy laktobacilů ?)
- Anaerobní vaginóza (dysmikrobie, zvýšení anaerobů)
- Aerobní vaginitída (dysmikrobie, zvýšení aerobů a leuko)
- Atrofická vaginitída (infekce atrofického epitelu neestrog.)
- Smíšená vulvovaginitída (dg.kritéria 2-3 nozolog.jedn.)

Vulvovaginitida – záněť zevních rodidel a/nebo pochvy (P.Čepický a kol. 2005)

- Hlavní nozologické jednotky:
- Trichomoniáza **MOP V** ← min.GO,CTsonda
- Mykóza **MOP VI** ← kult. min. rekurentní VVC
- Laktobacilóza (laktobacily x anaerobní leptotrichie?) **MOP I-III x IIIc,d** ← Gram, event. kult.
- Anaerobní vaginóza **MOP IIa,b**
- Aerobní vaginitída **MOP IIIa,b** ← kult.
- Atrofická vaginitída **MOP 0-III** ← kult.
- Smíšená vulvovaginitída **MOP ?** ← kult.

Vzácné vulvovaginitídy (napodobující infekce)

- **Cytolytická vaginóza** (jako mykóza bez kandid, pouze masívně laktobacily, výplachy bikarbonátem sodným)
- **Iritační vulvovaginitída** (iritace bezprostřední – deodoranty, kosmetika, Benzydamin hydrochlorid)
- **Alergická vulvovaginitída** (několikadenní latence od expozice alergenu, kortikosteroidy)
- **Vestibulitis** (erytém neznámé etiologie, lubrikancia)

Stavy napodobující vulvovaginitis

- **Esenciální vulvodynie** (antidepresiva)
- **Psychosomatická vulvovaginitída** (bez nálezu, terapie není)
- **Vaginální kolonizace *S.agalactiae*** (terapie neindikována)

Förstl M. a kol. 2005 (FN a LF UK v Hradci Králové)

Fredericks D.N. a kol. 2007 (Washington Univ., Seattle)

- **kontrola kvality poševního prostředí**
- **jednoduchá a levná metoda**
s nenahraditelnou výpovědní hodnotou
- **nenahrazuje kultivaci**
- **Gramovo barvení poševního sekretu je zlatý standard v dg. bakteriální vaginózy**

K diskuzi:

- nativ v ambulanci, preparát **dle Grama** v laboratoři
- preparát **pomáhá interpretovat** kultivační nálezy (transportní soupravy)
- **popis** preparátu je dg.významnější než zařazení do klasického systému MOP I-VI
- **diskrepance u nových dg. jednotek VV:**
 - barvit dle Grama a kultivovat
 - MOP je flexibilní systém: přidat další kritéria a revidovat či rozšířit

Děkuji za pozornost

