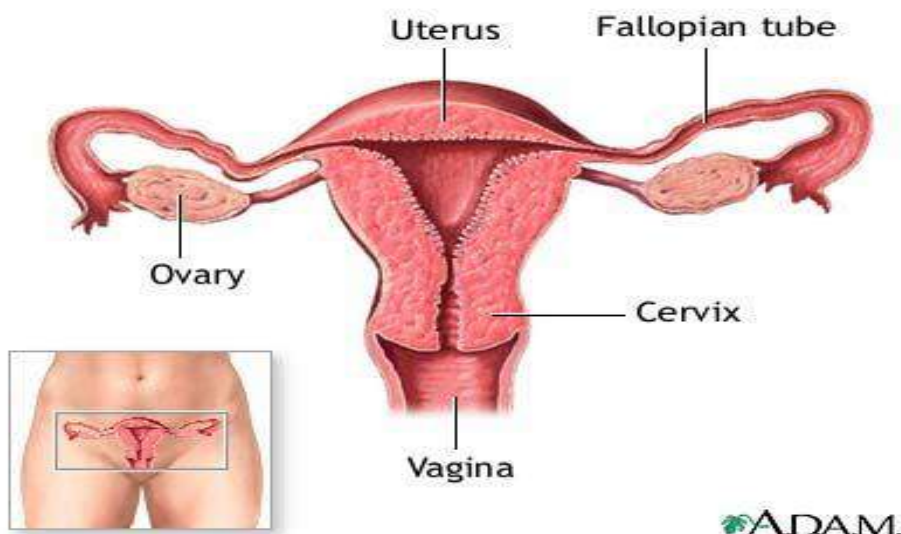


ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΤΟΥ ΓΥΝΑΙΚΕΙΟΥ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΔΙΑΓΝΩΣΗ-ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ-ΣΥΝΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟΝ ΚΛΙΝΙΚΟ

Οι λοιμώξεις του γυναικείου γεννητικού αφορούν το ανώτερο αναπαραγωγικό σύστημα (φαλλοπιανός πόρος, ωθήκες, μήτρα) και το κατώτερο αναπαραγωγικό σύστημα (κόλπος, τράχηλος και αιδοίο), όπως παρατηρούμε στην εικόνα 1.



Εικ.1 Ανώτερο και κατώτερο γεννητικό σύστημα των γυναικών.

Οι λοιμώξεις του αναπαραγωγικού συστήματος (αναπαραγωγική οδός *RTI* reproductive tract infections) των γυναικών αποτελούν σοβαρό παγκόσμιο πρόβλημα με σοβαρές συνέπειες.

Τα αίτια των λοιμώξεων του γεννητικού συστήματος των γυναικών είναι διάφορα βακτήρια, ιοί, μύκητες ή παράσιτα.

Κάθε λοιμογόνος παράγοντας έχει την δική του αιτία και τα δικά του συμπτώματα.

Δυστυχώς τα συμπτώματα και τα σημεία πολλών λοιμώξεων **μπορεί να μην εμφανίζονται** μέχρις ότου είναι πολύ αργά, μέχρι δηλαδή να επέλθει η καταστροφή των αναπαραγωγικών οργάνων.

Υπάρχουν τρεις τύποι λοιμώξεων

Υπάρχουν τρεις τύποι λοιμώξεων, οι ενδογενείς λοιμώξεις, οι ιατρογενείς λοιμώξεις και οι σεξουαλικά μεταδιδόμενες λοιμώξεις, οι οποίες είναι περισσότερο συχνές.

A. Ενδογενείς λοιμώξεις

Οι ενδογενείς λοιμώξεις θεραπεύονται εύκολα εάν όμως δεν θεραπευτούν μπορεί να προκαλέσουν προβλήματα όπως :

Αιδιοκολπίτιδα

με τοπικό ερεθισμό και πόνο στα εξωτερικά γεννητικά όργανα (λιγότερο σοβαρά)

Τραχηλίτιδα

Φλεγμονώδη νόσο της πυέλου (πλέον σοβαρά)

Πολλές γυναίκες πιστεύουν ότι τέτοιες λοιμώξεις είναι φυσιολογικές και μέρος της γυναικείας εμπειρίας .

Από τα κολπικά εκκρίματα δεν μπορεί ούτε ο πλέον πεπειραμένος κλινικός ιατρός να διακρίνει εάν πρόκειται για ενδογενείς λοιμώξεις ή για σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα ,άρα είναι απαραίτητη η εργαστηριακή διάγνωση.

Για τον λόγο αυτό εάν η θεραπεία βασισθεί στα συμπτώματα θα έχει σαν αποτέλεσμα την **υπερχρήση αντιβιοτικών**, ειδικά αυτό παρατηρείται σε γυναίκες που θεραπεύονται με αντιβιοτικά σε ρουτίνα λόγω υποψίας τραχηλίτιδας .

Μικροβιακή χλωρίδα του κόλπου-Αερόβια και Αναερόβια βακτήρια

Ανασταλτικές ή συνεργητικές σχέσεις μεταξύ των βακτηρίων καθορίζουν την μικροβιακή χλωρίδα του κόλπου και κατ' επέκταση τις λοιμώξεις από ενδογενή βακτήρια.

Τα αναερόβια βακτήρια υπάρχουν σε ποσοστό 10 : 1 προς τα αερόβια βακτήρια στο γυναικείο κόλπου . Σε δείγματα από τον τράχηλο και τον κόλπο από ασυμπτωματικές γυναίκες παρατηρείται επικράτηση των αναεροβίων βακτηρίων. Στον Πίνακα I παρατηρούμε την επικράτηση των αναεροβίων βακτηρίων που υπάρχουν στις καλλιέργειες τραχηλικών και κολπικών δειγμάτων από ασυμπτωματικές γυναίκες.

Organism	Percentage of isolates, according to reference				
	[20]	[21]	[22]	[23]	[4]
<i>Bacteroides</i> species					
<i>B. bivius</i> ^a	—	12	—	—	—
<i>B. fragilis</i>	17	4	40	12	16
<i>B. melaninogenicus</i> ^b	—	—	—	33	—
Other	40	—	18	46	—
<i>Bifidobacterium</i> species	10	—	—	2	2
<i>Clostridium</i> species					
<i>C. perfringens</i>	3	4	—	—	—
Other	13	2	—	—	—
Any	—	—	—	4	0
<i>Eubacterium</i> species	3	7	—	31	7
<i>Fusobacterium</i> species	—	7	28	13	—
<i>Gaffkya</i> species ^c	—	—	—	2	—
<i>Lactobacillus</i> species	—	10	—	46	52
<i>Peptococcus</i> species ^d					
<i>P. asaccharolyticus</i>	—	48	—	12	—
<i>P. magnus</i>	—	11	—	17	—
<i>P. prevotii</i>	—	17	—	21	—
Other	—	11	—	33	—
Any	7	—	64	65	8
<i>Peptostreptococcus</i> species					
<i>P. anaerobius</i>	—	34	—	15	—
<i>P. intermedius</i>	—	5	—	10	—
<i>P. micros</i>	—	7	—	8	—
<i>P. productus</i>	—	—	—	6	—
Any	33	—	76	35	15
<i>Propionibacterium</i> species	—	2	—	8	0
<i>Veillonella</i> species	27	11	6	4	0

NOTE. Dashes denote that no specific information is available.

^a *Prevotella bivia*.

^b *Prevotella melaninogenica*.

^c *Aerococcus* species.

^d *Peptostreptococcus* species.

Πίνακας I. . Επικράτηση των αναεροβίων βακτηρίων στις καλλιέργειες τραχηλικών και κολπικών δειγμάτων από ασυμπτωματικές γυναίκες .

Τα **αερόβια βακτήρια** γίνονται πιο άφθονα με το πέρασμα της ηλικίας και την έναρξη της σεξουαλικής δράσης. Στον Πίνακα II παρατηρούμε την επικράτηση των αεροβίων βακτηρίων στον κόλπο ασυμπτωματικών γυναικών.

Aerobic isolate	Prevalence in vaginal flora, %		
	Low	Mean	High
Gram-positive rods			
Diphtheroids	3	40	80
Lactobacilli	18	60	90
Gram-positive cocci			
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	2	25
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5	50	95
<i>Streptococcus</i> species			
α-Hemolytic	8	20	38
β-Hemolytic	3	15	22
Nonhemolytic	0	20	32
Group D	2	28	45
Gram-negative rods			
<i>Escherichia coli</i>	3	18	33
<i>Klebsiella</i> and <i>Enterobacter</i> species	0	10	20
<i>Proteus</i> species	0	5	10
<i>Pseudomonas</i> species	0	0.1	3

NOTE. Design of table is based on [83].

Πίνακας II. Επικράτηση των αεροβίων βακτηρίων στον κόλπο ασυμπτωματικών γυναικών

Επίσης παρατηρείται υπεροχή των μικροαερόφιλων μικροοργανισμών που έχουν απομονωθεί από τον κόλπο ασυμπτωματικών γυναικών

Οι τιμές επικράτησης των διαφόρων ειδών χρησιμοποιούνται σαν ποσοτικά δεδομένα ,εφ όσον **δεν υπάρχουν ειδικές ποσοτικές μετρήσεις**.

Δηλαδή λαμβάνουμε υπ όψιν μας τον αριθμό των αποικιών των βακτηρίων που αναπτύσσονται σε μία καλλιέργεια κολπικού υγρού, εφ όσον οι μικροοργανισμοί οι οποίοι υπάρχουν **σε μεγάλο αριθμό στις καλλιέργειες**

άμεσα γίνονται αντιληπτοί, όπως και αυτοί οι οποίοι υπάρχουν σε μικρότερο βαθμό. Μπορεί βέβαια οι μικροοργανισμοί οι οποίοι υπάρχουν σε ακόμη μικρότερο βαθμό να μη γίνουν αντιληπτοί .

Παραγωγή νόσου

Αυξημένοι αριθμοί βακτηρίων υπάρχουν κατά την διάρκεια νόσου. Αυτό έχει αποδειχθεί από **ποσοτικές μελέτες** των λοιμώξεων του ανώτερου και κατώτερου γεννητικού συστήματος των γυναικών.

Η νόσος μπορεί να είναι από εξωγενή βακτήρια (πχ **Neisseria gonorrhoeae**) ή από ενδογενή βακτήρια (π.χ., **Gardnerella vaginalis**).

Ποιοι παράγοντες καθορίζουν την παθογένεια

Η νόσος είναι το αποτέλεσμα της διάδρασης πολλών παραγόντων.

Στους ιστούς οι οποίοι αποικίζονται όπως είναι η **γεννητική οδός των γυναικών** η παθογένεια εξαρτάται από :

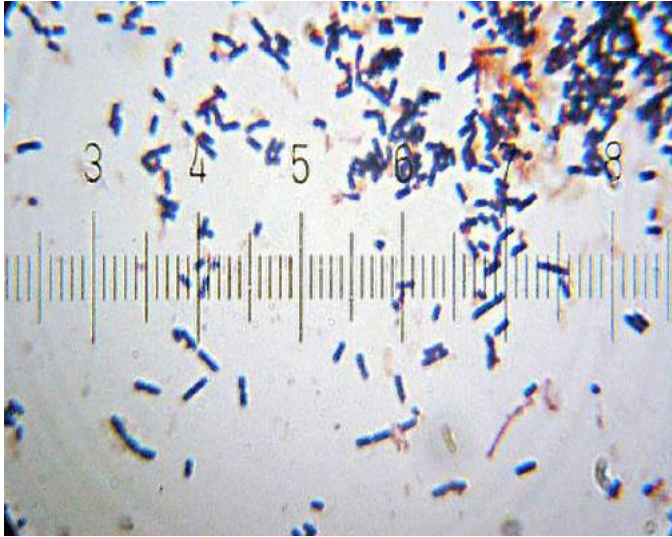
- τον **τύπο** του μικροοργανισμού που προσβάλλει
- την **ενδογενή λοιμογόνο δύναμη** του
- την **πολυπλοκότητα** της φυσιολογικής χλωρίδας
- τη **σχετική επικράτηση σε αριθμούς των διαφόρων βακτηρίων** τα οποία μπορούν να αποκαλυφθούν σε ασυμπτωματικούς ασθενείς και
- τη **φυσική αντίσταση** του οργανισμού

Λακτοβάκιλλοι (*Lactobacillus*) οι ρυθμιστές

Τα είδη *Lactobacillus* είναι οι μεγάλοι ρυθμιστές της *G. vaginalis* και επιλεγμένων αναεροβίων βακτηρίων.

Οι Λακτοβάκιλλοι καλούνται και βάκιλλοι του *Döderlein* (*Döderlein's bacilli*). Πρόκειται για ένα **γένος** Gram (+) δυνητικώς αναεροβίων ή μικροαεροφίλων βακτηρίων, ραβδοειδών, τα οποία δεν παράγουν σπόρους και ανήκουν στην οικογένεια *Lactobacillaceae*.

Είναι γενικά μη κινητά βακτήρια πάχους 0.5-0.8 μm και μήκους 2-9 μm και εμφανίζονται μόνα τους ή σε μικρές αλυσίδες. Στην εικόνα 2 παρατηρούμε τον *Lactobacillus acidophilus*.



Εικ. 2. *Lactobacillus acidophilus*

Στους ανθρώπους οι λακτοβάκιλοι υπάρχουν στον **κόλπο και στην γαστρεντερική οδό** όπου αποτελούν ένα μικρό μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας. Στην εικόνα 3 παρατηρούμε βακτήρια *Lactobacillus* σε ένα επιθηλιακό κύτταρο.



Εικ.3 *Lactobacillus* σε ένα επιθηλιακό κύτταρο.

Πολλά είδη του γένους *Lactobacillus* υπάρχουν σε φυτικό υλικό εν αποσυνθέσει ,στις φυτικές τροφές ζώων και στο γάλα.

Μερικά είδη *Lactobacillus* όπως οι *L. casei* και *L. brevis*, χρησιμοποιούνται στην παραγωγή γιαούρτης, τυριού, πικλών, μύρας, άρτου κτλ. Τα βακτήρια **μεταβολίζουν την γλυκόζη και τα άλλα σάκχαρα σε γαλακτικό οξύ μειώνουν το Ph** και παράγεται η όξινη γεύση.

Στο στόμα του ανθρώπου μπορεί να ενέχονται στην τερηδόνα και στην καταστροφή των οδόντων

Τα είδη *Lactobacillus* συχνά εμφανίζονται σε καλλιέργειες κοιλικών δειγμάτων προερχομένων από **γυναίκες ασυμπτωματικές** ευρισκόμενες στη μετεφηβική ηλικία. Ποσοτικές μελέτες έχουν ανακοινώσει ότι εκπλύματα του κόλπου περιέχουν **107 lactobacilli ανά gram εκκριμάτων** . Ελέγχονται μόνο στο **35% των** γυναικών με μη ειδική βακτηριακή **κολπίτιδα**.

Τα πιο κοινά είδη *Lactobacillus* περιλαμβάνουν τον *L. acidophilus* και τον *L. fermentum*, λιγότερο συχνά είναι τα στελέχη *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. jensenii*, *L. casei*, *L. delbrueckii*, και *L. salivarius*.

Περισσότερα από ένα στελέχη μπορεί να υπάρχουν σε κάθε άτομο . Υπάρχει ποικιλότητα στα είδη και στον συνδυασμό των ειδών με την πάροδο του χρόνου.

Προβιοτικά και βιοθεραπευτικά

Μερικά στελέχη *Lactobacillus* spp και άλλα βακτήρια τα οποία **παράγουν γαλακτικό οξύ** έχουν δυναμικά θεραπευτικές ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένων αντιφλεγμονοδών ιδιοτήτων και αντικαρκινικών ιδιοτήτων.

Παραγωγή γαλακτικού οξέος

Οι λακτοβάκιλοι επαναφέρουν το φυσιολογικό ισοζύγιο **στο κοιλικό οικοσύστημα** . Ο ρόλος τους είναι να προστατεύσουν το επιθήλιο του κόλπου χτίζοντας μία παχιά στιβάδα , διαχωρίζοντας το επιθήλιο από τα

παθογόνα και κρατώντας το ισοζύγιο στο κολπικό οικοσύστημα , διατηρώντας το **pH~4.5 μέσω της παραγωγής γαλακτικού οξέος.**

Παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου-pH

Η παραγωγή **υπεροξειδίου του υδρογόνου** είναι ένας μηχανισμός βακτηριακού ανταγωνισμού των ειδών *Lactobacillus* καθ'όσον δρα κατά των παθογόνων βακτηρίων.

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου παρά το pH, είναι το πρώτο ρυθμιστικό χαρακτηριστικό των λακτοβακίλων.

Σε απουσία λακτοβακίλων που παράγουν υπεροξείδιο του υδρογόνου αυξάνει ο αποικισμός του κόλπου.

Δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ στελεχών λακτοβακίλων τα οποία **παράγουν υπεροξείδιο του υδρογόνου και αυτών που δεν παράγουν**, όσον αφορά την σύγχρονη απομόνωση *enterococci*, **GBS(Group B Streptococci) ή α-hemolytic streptococci, diphtheroids, coagulase (-) staphylococci**, και ειδών *enterobacteriaceae*.

Ο ρόλος των οιστρογόνων

Υπάρχουν μαρτυρίες για τον ρόλο των **οιστρογόνων** στην πυκνότητα του αποικισμού του κόλπου από μικροοργανισμούς της φυσιολογικής χλωρίδας.

Η φυσιολογική ανατομία , η φυσιολογία και η μικροβιακή οικολογία του κόλπου εξαρτώνται από την ηλικία. Στα νεογνά ο κόλπος είναι επηρεασμένος από τα οιστρογόνα της μητέρας και έχει πλακώδες επιθήλιο. Αργότερα μέχρι την ήβη ο κόλπος διαγράφεται από κυβοειδή κύτταρα και το pH είναι περίπου 7.0. Κατά την ήβη τα οιστρογόνα προκαλούν αλλαγές στο πλακώδες επιθήλιο. Οι μικροοργανισμοί οι οποίοι υπερτερούν κατά την περίοδο αυτή είναι οι λακτοβάκιλοι όπως οι *L. crispatus* και *L. jensenii*, οι οποίοι παράγουν γαλακτικό οξύ και το pH πέφτει στο 4.0 - 4.5.

Σε γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση που **δεν λαμβάνουν ορμονική υποκατάσταση** δεν υπάρχει αλλαγή στους δυνητικά αναερόβιους μικροοργανισμούς . Πάντως οι αναερόβιοι μικροοργανισμοί είναι λιγότερο επικρατούντες.

Σε γυναίκες που **λαμβάνουν ορμονική υποκατάσταση** με οιστρογόνα υπερισχύουν οι δυνητικά αναερόβιοι λακτοβάκιλοι.

Παραγωγή νόσου από την φυσιολογική χλωρίδα του κόλπου – αλλαγή στο μικροπεριβάλλον

Η *C. albicans*, ο *group B Streptococcus (GBS)*, η *G. vaginalis*, and *Escherichia coli*, που είναι μικροοργανισμοί οι οποίοι συχνά απομονώνονται από την κατώτερη γεννητική οδό των γυναικών, μπορούν υπό ορισμένες συνθήκες να προκαλέσουν νόσο λόγω αλλαγών στο μικροπεριβάλλον και της υπερίσχυσης εκλεκτικών ενδογενών λοιμογόνων παραγόντων .

Ιατρογενείς λοιμώξεις

Ιατρογενείς λοιμώξεις συμβαίνουν εάν γίνει γυναικολογική εξέταση **όχι υπό στείρες συνθήκες** ή χρησιμοποιηθούν ιατρικές συσκευές που **δεν έχουν κατάλληλα αποστειρωθεί** όπως κολποδιαστολείς ή εάν βακτήρια ενδογενή ή σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων **τα οποία ήδη υπάρχουν στο κατώτερο γεννητικό σύστημα σπρώχνονται μέσω του τραχήλου στην ανώτερη αναπαραγωγική οδό.**

Οι ιατρογενείς λοιμώξεις αφορούν το ανώτερο αναπαραγωγικό σύστημα.

Σεξουαλικά μεταδιδόμενες λοιμώξεις (Sexually transmitted infections (STIs))

Μικροοργανισμοί οι οποίοι προκαλούν σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα είναι *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus* , *Listeria monocytogenes*, and *Trichomonas vaginalis* ,

Οι μικροοργανισμοί αυτοί **δεν** αποτελούν μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του γυναικείου γεννητικού συστήματος.

Θεωρητικά ο **αριθμός των βακτηρίων** που υπάρχουν καθορίζει την ποσότητα του **λοιμογόνου παράγοντα** που είναι διαθέσιμος για την παραγωγή λοίμωξης .

Ο αριθμός των μικροοργανισμών μπορεί να ρυθμίζεται μέσω **ανταγωνιστικών ή συνεργιστικών διαδράσεων** μεταξύ των διαφόρων ειδών που είναι παρόντα.

Όπως ήδη αναφέραμε όταν το **φυσιολογικό ισοζύγιο της μικροβιακής χλωρίδας του κόλπου διαταραχθεί** , μπορεί να παρατηρηθεί μία **υπερανάπτυξη των διαφόρων μικροοργανισμών** με αποτέλεσμα την απώλεια των λακτοβακίλων και την **αλλαγή του pH του κόλπου**.

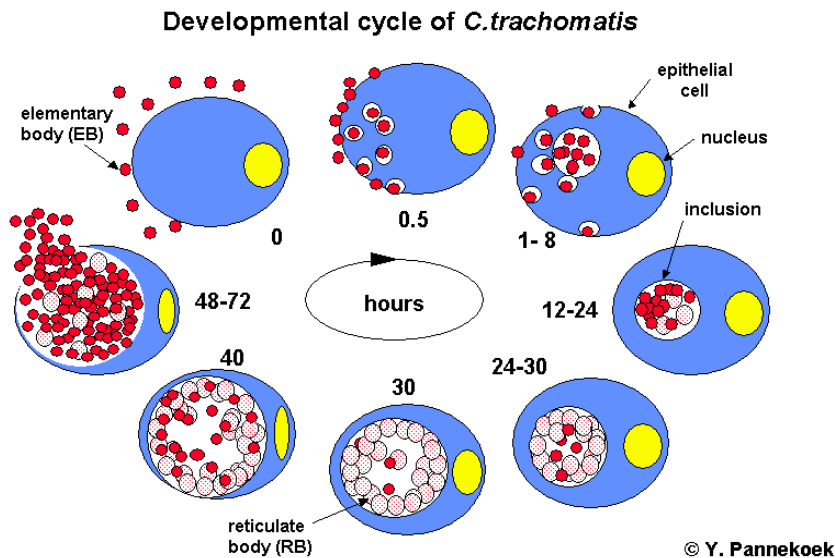
Οι κοινές παθολογικές καταστάσεις που παρατηρούνται στην γυναικεία γεννητική οδό όπως η **κολπική καντιντίαση, η μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα (vaginitis), η λοίμωξη με στρεπτοκόκκους ομάδος B (GBS)** —είναι απόδειξη της ρύθμισης αυτής.

CHLAMYDIA TRACHOMATIS

Τα χλαμύδια είναι **gram-αρνητικά βακτήρια** τα οποία έχουν σχήμα κοκκοειδές ή ραβδοειδές και έχουν προσαρμοσθεί να ζουν ενδοκυτταρίως στα ευκαρυωτικά κύτταρα του ξενιστή. Διακρίνουμε δύο μορφολογικά στοιχεία τα στοιχειώδη σωματίδια (elementary body (EB)) τα οποία είναι μολυσματικά και υπάρχουν σαν μικροί κόκκοι 0.3 μm σε διάμετρο και τα δικτυωτά σωματίδια (reticulate body (RB)) τα οποία δεν είναι λοιμογόνα και είναι μεγαλύτερα από τα στοιχειώδη σωματίδια 1 μm σε διάμετρο.

Η λοίμωξη με χλαμύδια είναι πολύ κοινή σεξουαλικά μεταδιδόμενη νόσος.

Ο αναπτυξιακός κύκλος των χλαμυδίων περιλαμβάνει τα 2 μορφολογικά διακριτά σωματίδια τα στοιχειώδη σωματίδια και τα δικτυωτά σωματίδια που είναι οι αναπαραγωγικές μορφές , όπως παρατηρούμε στην εικόνα 4.



Εικ 4. Αναπτυξιακός κύκλος των *chlamydia trachomatis*-στοιχειώδη σωμάτια (EB)-δικτυωτά σωμάτια (RB).

Τα *Chlamydia trachomatis*, είναι ένα από τα τέσσερα είδη του γένους *Chlamydia* και περιλαμβάνουν τρεις ορότυπους.

1. Ab, B, Ba, ή C –που προκαλούν το τράχωμα στα μάτια.
2. D-K – που προκαλούν ουρηθρίτιδα, πυελική φλεγμονώδη νόσο, έκτοπη κύηση, νεογνική πνευμονία και νεογνική επιπεφυκίτιδα.,
3. L1, L2 και L3 – που προκαλούν το αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα.(lymphogranuloma venereum)

Πολλά αλλά όχι όλα τα στελέχη του *C. trachomatis* έχουν ένα εξωχρωμοσωμικό πλασμίδιο.

Μόλυνση των νεογνών

Επιπεφυκίτιδα μετ' εγκλείστων συμβαίνει στα νεογνά τα οποία γεννώνται μέσω της μολυσμένης γεννητικής οδού της μητέρας

Εμφανίζεται 1-2 εβδομάδες μετά την γέννηση με βλενοπυώδες έκκριμα. Μικροσκοπικά στα κύτταρα του επιπεφυκότα παρατηρούνται **έγκλειστα**.

Πνευμονία των νεογνών

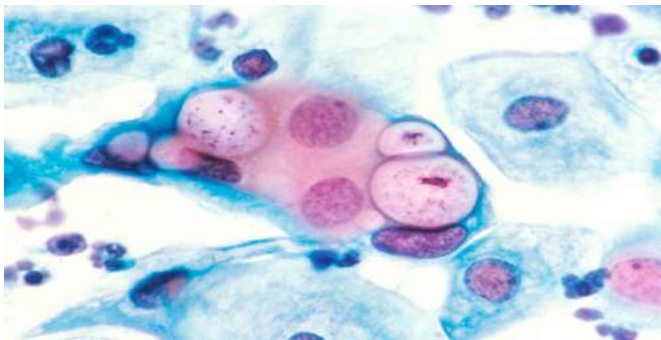
Συμβαίνει σε νεογνά 1-3 μηνών μετά την γέννηση των νεογνών από την μολυσμένη γεννητική οδό των γυναικών.

Λοιμώξεις των ενηλίκων από χλαμύδια περιλαμβάνουν τις παρακάτω:

Ουρηθρίτιδα (μη γονοκοκκική ουρηθρίτιδα), η οποία μπορεί να συμβεί και στους άνδρες και στις γυναίκες . Η ουρηθρίτιδα είναι συχνά ασυμπτωματική αλλά μπορεί να παρουσιάσει δυσουρία, πυουρία, συχνουρία και βλενώδες έκκριμα από την ουρήθρα.

Επιδιδυμίτιδα, η οποία είναι επιπλοκή της μη θεραπευθείσης ουρηθρίτιδας, παρουσιάζει οίδημα του οσχέου από την μία πλευρά, ευαισθησία και καμιά φορά πυρετό.

Τραχηλίτιδα, με βλενοπυώδες τραχηλικό έκκριμα και λευκοκύτταρα στο pap test. Στην εικόνα 5 παρατηρούμε σε επίχρισμα *C.trachomatis* σε κενοτόπια. (500x H&H) .



Εικ. 5. Επίχρισμα στο οποίο παρατηρούμε χλαμύδια *C.trachomatis* σε κενοτόπια (500x H&H)

Πυελική φλεγμονώδης νόσος, η οποία είναι αποτέλεσμα μη θεραπευθείσας εξαπλούμενης λοίμωξης με *C. Trachomatis* στις γυναίκες, η οποία μπορεί να προκαλέσει στέρωση και έκτοπη κύηση.

Fitz-Hugh-Curtis Syndrome, πρόκειται για μετάδοση της λοίμωξης στην κάψα του ήπατος.

Αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα, η νόσος προκαλείται από ειδικούς ορότυπους του *C. trachomatis* L1, L2 και L3

Σύνδρομο Reiter, πρόκειται για αυτοάνοση επιπλοκή της λοίμωξης με *C. trachomatis*.

Λήψη δειγμάτων- μεταφορά

Η λήψη των δειγμάτων γίνεται με κυτταρολογική βούρτσα ή ειδικό στυλεό.

Η λήψη των δειγμάτων πρέπει να γίνει από κατάλληλα σημεία και ειδικά από την **μεταβατική ζώνη ή μέσα από το άνοιγμα του τραχήλου**. Επίσης **μπορεί να γίνει λήψη δειγμάτων από τις σάλπιγγες ή από το ενδομήτριο, την ουρήθρα, τον κόλπο, το αιδοίο ή τα πρώτα ούρα**.

Η μεταφορά των δειγμάτων γίνεται με ειδικό υλικό μεταφοράς το 2SP (0.2 M sucrose-phosphate transport medium)

Εργαστηριακή διάγνωση

Η Εργαστηριακή διάγνωση γίνεται **με τον έλεγχο των ενδοκυτταρίων σωματίων με καλλιέργεια, ή μεθόδους ελέγχου του αντιγόνου**.

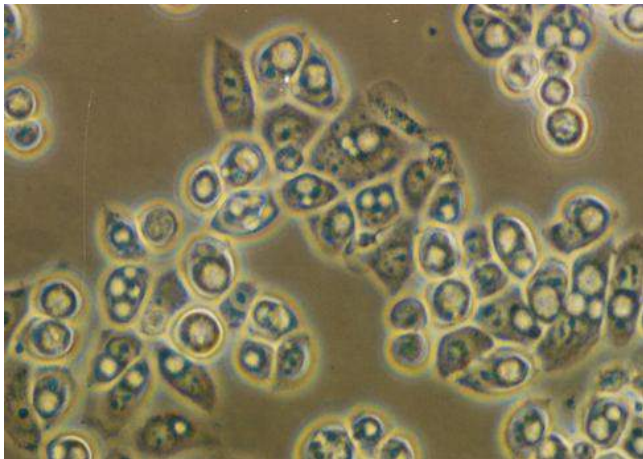
1. Κυτταροκαλλιέργειες

Οι κυτταροκαλλιέργειες ήταν μέθοδος αναφοράς μέχρι το 1980 στις οποίες οι μικροσκοπιστές παρατηρούσαν και μετρούσαν τα έγκλειστα των κυττάρων (επιθηλιακών κυτταρικών σειρών) σε φωτεινό μικροσκόπιο.

Η σχέση των στοιχειωδών σωματιδίων και των εγκλειστων είναι 1:1

Ο τίτλος μολυσματικότητας υπολογιζόταν χρησιμοποιώντας σειριακές αραιώσεις. Η ακρίβεια της μεθόδου εξαρτάτο από τον αριθμό των εγκλείστων ανά πεδίο και τον αριθμό των πεδίων που μετράτο.

Στην εικόνα 6 παρατηρούμε σε φωτεινό μικροσκόπιο κύτταρα HeLa μολυσμένα με Ct 24 ώρες μετά την λοίμωξη .



Εικ. 6. Ψηφιακή φωτογραφία σε φωτεινό μικροσκόπιο. Παρατηρούμε κύτταρα HeLa Cells μολυσμένα με Ct 24 ώρες μετά την λοίμωξη.

2. Enzyme immunoassay (EIA)

Χρησιμοποιείται η ταχεία δοκιμασία EIA για τον έλεγχο των χλαμυδίων (Quick Vue Hardy diagnostics –SM™ SERO-Med). Στην εικόνα 7 παρατηρούμε την ταχεία δοκιμασία EIA για τον έλεγχο των χλαμυδίων.



Εικ.7. Ταχεία δοκιμασία EIA για τον έλεγχο των χλαμυδίων (Quick Vue Hardy diagnostics –SM TM SERO-Med).

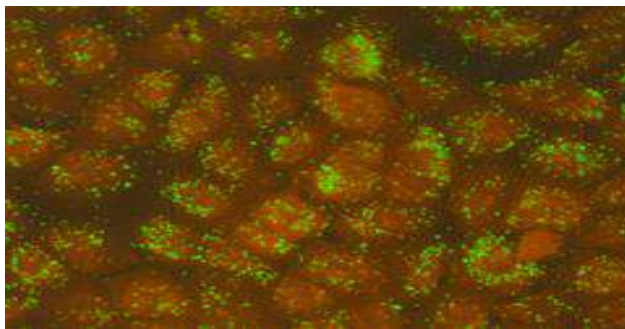
Με την δοκιμασία αυτή έχουμε αποτελέσματα σε 12 λεπτά ή λιγότερο.

Η μέθοδος έχει >92% ευαισθησία και 99% ειδικότητα και είναι μεγάλης ακριβείας σε ασυμπτωματικούς ασθενείς.

Είναι απλή μέθοδος και χρησιμοποιεί **μόνο 2 αντιδραστήρια**. Μετά την εκχύλιση του δείγματος προσθέτουμε το δείγμα στην κασέτα της δοκιμασίας .

- 4 **Άμεση δοκιμασία ανοσοφθορισμού (Direct fluorescein (FITC)-conjugated monoclonal antibodies).**
5. **Έμμεση δοκιμασία ανοσοφθορισμού (Indirect Immunofluorescence test): Anti-Chlamydia MIF (Micro-Immunofluorescence test).**

Στην εικόνα 8 παρατηρούμε την έμμεση δοκιμασία ανοσοφθορισμού, Anti-Chlamydia MIF (Micro-Immunofluorescence test)



Εικ .8. Έμμεση δοκιμασία ανοσοφθορισμού : Anti-Chlamydia MIF (Micro-Immunofluorescence test)

Οι μέθοδοι χρησιμοποιούνται σε ειδικά εξοπλισμένα εργαστήρια που διαθέτουν μικροσκόπιο φθορισμού. Η μέθοδος παρέχει υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα.

6. Microplate ELISA:Anti –Chlamydia trachomatis

Με την μέθοδο αυτή ελέγχονται τα αντισώματα anti-Chlamydia trachomatis IgA,IgG,IgM ως προς την διαμεμβρανική πρωτεΐνη MOMP, η οποία είναι η κυριότερη εξωτερική πρωτεΐνη των στοιχειωδών σωματίων.

Η μέθοδος ενδείκνυται το τράχωμα, την επιπεφυκίτιδα, οθρογεννητικές λοιμώξεις, πνευμονία των νεογνών και το αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα.



7. PCR (Nucleic acid amplification methods (NAATs) nucleic acid hybridization (NAH)

Η διάγνωση του αφροδίσιου λεμφοκοκκιώματος βασίζεται σε in-house NAATs (Nucleic acid amplification methods).

Η μέθοδος εκλογής είναι η **Quadriplex RT-PCR**, η οποία ελέγχει τους ορότυπους (serovars) την *Chlamydia trachomatis* L1-L3 και D-K εφ' όσον η ταυτόχρονη λοίμωξη συχνά υπάρχει .

T. PALLIDUM –ΣΥΦΙΛΗ

To T. pallidum είναι Gram-αρνητική σπειροχαίτη η οποία συνίσταται από μία εσωτερική μεμβράνη και ένα λεπτό κυτταρικό τοίχωμα από

πεπτιδογλυκάνη και από μία εξωτερική μεμβράνη. Έχει πολύ μικρό μέγεθος με μήκος από 6-20 μm και διάμετρο από 18-20 μm.

Πρόκειται για μία κινητή σπειροχαίτη η οποία μεταδίδεται με την στενή σεξουαλική επαφή και εισέρχεται στον ξενιστή μέσω σπασμάτων του πλακώδους ή του κυλινδρικού επιθηλίου. Το *T. pallidum pallidum* έχει ελικοειδή δομή και κινείται σαν εκπάμαστρο, άρα κινείται εύκολα σε ιξώδες υλικό όπως η βλέννα. Στην συνέχεια ο μικροοργανισμός διασπείρεται μέσω της λέμφου και του αίματος.

Ο μικροοργανισμός μεταδίδεται στο έμβryo μέσω του πλακούντος στα όψιμα στάδια της εγκυμοσύνης προκαλώντας την συγγενή σύφιλη.

Τα τρεπονήματα είναι ορατά μόνο σε μικροσκόπιο σκοτεινού πεδίου.

Υπάρχουν τέσσερα γνωστά υποείδη.

T. pallidum pallidum, το οποίο προκαλεί την σύφιλη.

T. pallidum endemicum, το οποίο προκαλεί την ενδημική νόσο bejel .

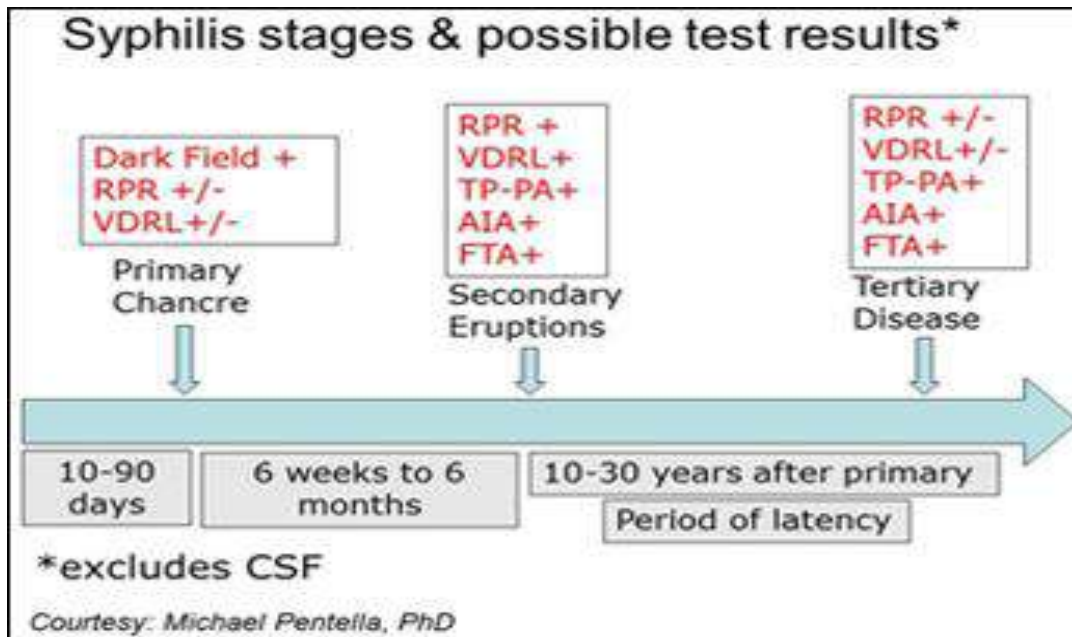
T. pallidum carateum, το οποίο προκαλεί την νόσο pinta .

T. pallidum pertenue, το οποίο προκαλεί την τροπική νόσο yaws .

Τα αναφερθέντα υποείδη μορφολογικά και ορολογικά δεν διαφέρουν από το *T. pallidum pallidum* που προκαλεί την σύφιλη αλλά η μετάδοση τους δεν είναι σεξουαλική και η πορείες των νοσημάτων που προκαλούν διαφέρουν σημαντικά.

Ο άνθρωπος είναι το μοναδικό υποδόχο του υποείδους *pallidum*. (*T. pallidum pallidum*), η σπειροχαίτη αυτή δεν μπορεί να επιζήσει χωρίς ξενιστή πέραν ολίγων ημερών, διότι έχει μικρό γένωμα και δεν μπορεί να επιτελέσει τις μεταβολικές οδούς για να δημιουργήσει τα περισσότερα μακρομόρια τα οποία χρειάζεται. Επίσης έχει αργό χρόνο διπλασιασμού μεγαλύτερο από 30 ώρες.

Κλινικά διακρίνουμε τρία στάδια της σύφιλης, την πρωτογενή, την δευτερογενή και την τριτογενή σύφιλη, επίσης υπάρχει και η λανθάνουσα σύφιλη. Στον πίνακα III παρατηρούμε τα στάδια της σύφιλης και τα πιθανά αποτελέσματα των δοκιμασιών.



Πίνακας III. Τα στάδια της σύφιλης και τα εργαστηριακά αποτελέσματα σε κάθε στάδιο.

Η εργαστηριακή διάγνωση

1. Άμεση εξέταση των βλεννογονοδερματικών βλαβών των γεννητικών οργάνων ή των λεμφαδένων για τον έλεγχο του *T. pallidum*. Στην εικόνα 9 παρατηρούμε το *T. pallidum* σε μικροσκόπιο σκοτεινού πεδίου.



Εικ.9 Άμεση εξέταση *T. pallidum* σε μικροσκόπιο σκοτεινού πεδίου.

Με την άμεση εξέταση σε μικροσκόπιο σκοτεινού πεδίου
είναι αδύνατον να γίνει διαφορική διάγνωση του
T. pallidum από υποείδη της ίδιας οικογένειας όπως του *T. perternue*, *T. endemicum* και *T. carateum*, ή *T. denticola*.

Άμεσος ανοσοφθορισμός Fluorescein isothiocyanate (FITC)-conjugated monoclonal or polyclonal antibodies

Η δοκιμασία του άμεσου ανοσοφθορισμού για το *T. pallidum* (DFA-Tr) χρησιμοποιεί fluorescein isothiocyanate (FITC)-conjugated monoclonal ή polyclonal antibodies .

Η μέθοδος αυτή προτείνεται για στοματικές βλάβες ή βλάβες του ορθού.
Η ευαισθησία της μεθόδου DFA-Tr φτάνει το 100% όταν οι βλάβες είναι πρόσφατες.

2. PCR και RT-PCR(real time PCR)

Η τελευταία τεχνολογία βασίζεται σε κλασική ή σε real-time polymerase chain reaction (PCR and RTPCR) για τον έλεγχο του *T. pallidum* DNA.

Οι μέθοδοι χρησιμοποιούνται μόνο από εργαστήρια αναφοράς.

3. Ορολογικές δοκιμασίες για τον έλεγχο στον ορό και στο ENY αντισωμάτων.

A. Ορολογικές δοκιμασίες. Μη τρεπονηματικές δοκιμασίες

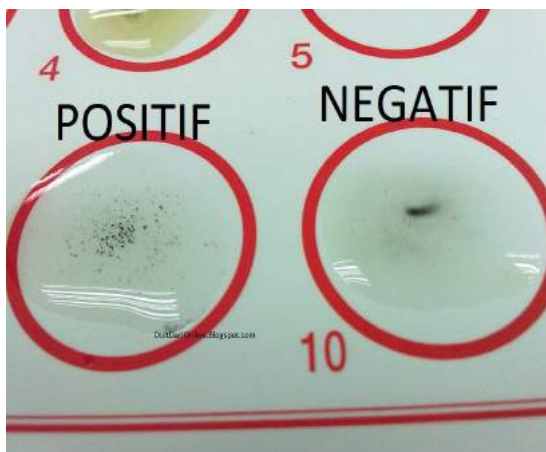
1. VDRL (venereal disease research laboratory)

Η VDRL είναι μία μη τρεπονηματική ορολογική μέθοδος διαλογής (screening) για την σύφιλη, η οποία επίσης χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της απάντησης στην θεραπεία, για τον έλεγχο της εμπλοκής του ΚΝΣ (κεντρικού νευρικού συστήματος) και επίσης βοηθά στην διάγνωση της συγγενούς σύφιλης.

Στην εικόνα 10 παρατηρούμε την διαδικασία της δοκιμασίας VDRL, ενώ στην εικόνα 11 παρατηρούμε δεξιά αρνητικό αποτέλεσμα ενώ αριστερά θετικό αποτέλεσμα.



Εικ.10. VDRL δοκιμασία



Εικ.11. VDRL δοκιμασία (δεξιά αρνητικό αποτέλεσμα, αριστερά θετικό αποτέλεσμα).

2. RPR (rapid plasma reagin)

Στη δοκιμασία RPR (Rapid plasma reagin) χρησιμοποιείται το ίδιο αντιγόνο όπως στην VDRL, αλλά στην δοκιμασία αυτή το αντιγόνο είναι συνδεδεμένο με διάφορα άλλα μόρια που περιλαμβάνουν σωματίδια άνθρακα, ώστε η κροκίδωση να είναι ορατή χωρίς να απαιτείται η χρήση μικροσκοπίου.

3. USR (unheated serum reagin)

4. TRUST (toluidin red unheated serum test).

Η βάση των μη τρεπονηματικών δοκιμασιών είναι ότι αντιγόνο **καρδιολιπίνης** το οποίο παράγεται από ασθενή με σύφιλη παράγει αντισώματα αντί-καρδιολιπίνης, τα οποία αντιδρούν με εκχύλισμα καρδίας βοός (diphosphatidyl glycerol). Με τον τρόπο αυτόν ελέγχονται τα αντισώματα anti-cardiolipin (IgG, IgM or IgA), με την παρατήρηση σε δοκιμαστικό σωληνάριο ή την δημιουργία κροκίδων. Το **αντιγόνο καρδιολιπίνης είναι λιποειδικό αντιγόνο** το οποίο εκκρίνεται από την **καταστροφή των κυττάρων του ατόμου που έχει μολυνθεί και καρδιολιπίνη η οποία εκκρίνεται από το τρεπόννημα.**

Οι μη τρεπονηματικές δοκιμασίες πραγματοποιούνται εύκολα σε **μεγάλο αριθμό δειγμάτων και είναι βασικές για την** εκτίμηση της θεραπείας .

Στην σύφιλη τα αντισώματα καρδιολιπίνης είναι beta-2 glycoprotein μη εξαρτώμενα, ενώ αυτά τα οποία υπάρχουν στο αντιφωσφολιπιδιακό αντισωματικό σύνδρομο (antiphospholipid antibody syndrome- το οποίο συνδέεται με τον λύκο π.χ) είναι beta-2 glycoprotein εξαρτώμενα, αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να διαχωρισθούν με μέθοδο ELISA. Η δοκιμασία έχει πολύ καλή ευαισθησία για την σύφιλη εκτός από το τελικό στάδιο της τριτογενούς σύφιλης.

Οι μη τρεπονηματικές δοκιμασίες **γίνονται θετικές** σε μερικές εβδομάδες μετά την μόλυνση. **Παραμένουν θετικές** χωρίς θεραπεία και επίσης παραμένουν **θετικές** για μήνες μετά από θεραπεία.

Βιολογικά ψευδώς θετικά αποτελέσματα μη τρεπονηματικών δοκιμασιών συμβαίνουν.

Υπάρχουν πολλές καταστάσεις που μπορεί να προκαλέσουν **ψευδώς θετικά αποτελέσματα**, όπως οι ιοί (λοιμώδης μονοπυρήνωση, ηπατίτιδα),

τα φάρμακα, η εγκυμοσύνη, ο ρευματικός πυρετός, αυτοάνοσα νοσήματα όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, ο λύκος, και η λέπρα.

Επίσης ψευδώς θετικά αποτελέσματα μπορεί να παρατηρηθούν σε μεγαλύτερες ηλικίες, σε ενδοφλέβια χρήση ναρκωτικών ουσιών ή σε πρόσφατο εμβολιασμό.

B. Ορολογικές δοκιμασίες- Τρεπονηματικές δοκιμασίες

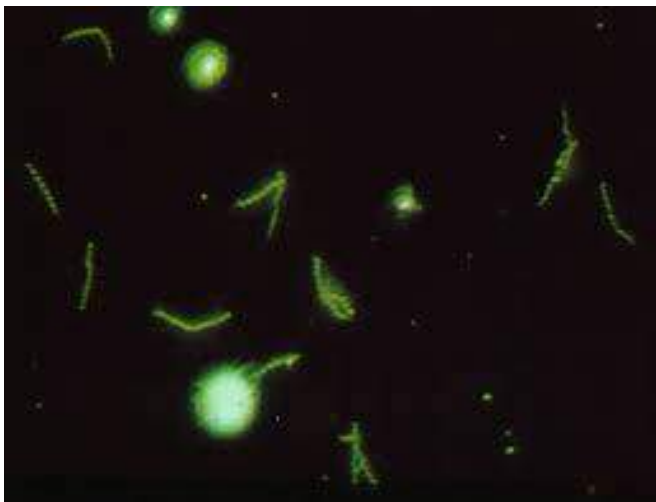
Όλες οι ορολογικές τρεπονηματικές δοκιμασίες επιβεβαιώνουν τα ευρήματα από τις μη τρεπονηματικές μεθόδους και την την διάγνωση πρόσφατης λανθάνουσας σύφιλης.

Οι τρεπονηματικές δοκιμασίες τυπικά ενεργοποιούνται μερικές εβδομάδες μετά την λοίμωξη ενώ καμιά φορά προηγούνται από την δράση των μη τρεπονηματικών δοκιμασιών. Στις περισσότερες περιπτώσεις παραμένουν ενεργείς για όλη την ζωή.

Ανόμοια από τις μη τρεπονηματικές δοκιμασίες, οι τρεπονηματικοί τίτλοι δεν έχουν σχέση με την δράση της νόσου ή την απάντηση στην θεραπεία.

Οι τρεπονηματικές δοκιμασίες είναι οι ακόλουθες

1. FTA-Abs (fluorescent treponemal antibody-absorption) όπως παρατηρούμε στην εικόνα 12.



Εικ. 12. FTA-ABS IgG, Treponema pallidum

2. FTA-Abs-Ds (fluorescent treponemal antibody absorption – double staining)

3. FITC-conjugated anti-human immunoglobulin

4. TPHA (*Treponema pallidum* hemagglutination assay)

Πρόκειται για μία έμμεσο δοκιμασία αιμοσυγκόλλησης για τον ποιοτικό και τον ποσοτικό έλεγχο των αντισωμάτων του *Treponema pallidum*. Η δοκιμασία TPHA ελέγχει τα αντισώματα του *T. pallidum* βασιζόμενη σε μία έμμεση και απλή μέθοδο αιμοσυγκόλλησης.

Ερυθροκύτταρα πτηνών ευαισθητοποιούνται με κλάσματα του *T. pallidum*. Στην παρουσία ειδικών αντισωμάτων anti-*T.pallidum* τα ευαισθητοποιημένα ερυθροκύτταρα συγκολλώνται και παράγουν χαρακτηριστικές δομές σε πλάκες μικροτιτλοδότησης (εμφανίζεται ομοιόμορφο στρώμα στο βάθος των φρεατίων).

Μη ειδικές αντιδράσεις ελέγχονται χρησιμοποιώντας μη ευαισθητοποιημένα ερυθροκύτταρα πτηνών ως control, όπως παρατηρούμε στην εικόνα 13.



Εικ. 13 ΤΡΗΑ (Treponema pallidum hemagglutination assay).

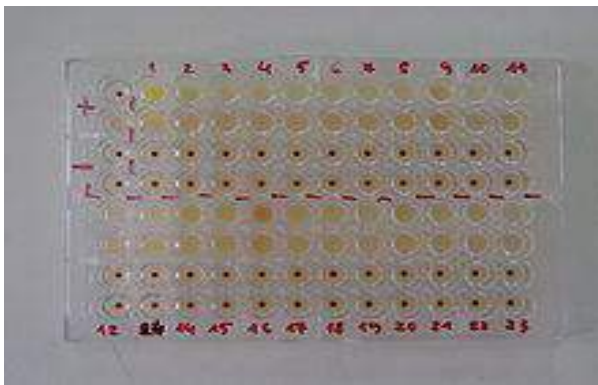
5. ΜΗΑ-Τρ (micro-hemagglutination assay for antibodies to *Treponema pallidum*) (Δοκιμασία τροποποιημένης παθητικής αιμοσυγκόλλησης).

6. ΤΡΡΑ (Treponema pallidum particle agglutination test).

Πρόκειται για μία δοκιμασία έμμεσης αιμοσυγκόλλησης για τον ποιοτικό και ποσοτικό έλεγχο των αντισωμάτων κατά του *Treponema pallidum* subspecies *pallidum*.

Σε αυτή την δοκιμασία σωματίδια ζελατίνης ευαισθητοποιούνται με αντιγόνο *T. pallidum*. Ο ορός των ασθενών αναμιγνύεται με το αντιδραστήριο το οποίο περιέχει ευαισθητοποιημένα σωματίδια ζελατίνης.

Τα σωματίδια συσσωρεύονται όταν ο ορός είναι θετικός για σύφιλη, δηλαδή περιέχει αντισώματα ως προς το αντιγόνο *T. Pallidum*. Την δοκιμασία παρατηρούμε στην εικόνα 14.



Εικ. 14. *Treponema pallidum* particle agglutination assay (TPPA test)

Οι περιγραφείσες δοκιμασίες έχουν υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, χρησιμοποιούνται εύκολα, διαβάζονται εύκολα και δίδουν αποτελέσματα σε λιγότερο από μία ώρα ποιοτικά και ημιποσοτικά.

Όλες οι ορολογικές τρεπονηματικές δοκιμασίες χρησιμοποιούν το **αντιγόνο *Nichol's antigen***. Το αντιγόνο *Nichol's* που περιέχει καρδιολιπίνη έχει εκχυλισθεί από το στέλεχος *Nichols strain* του *Treponema pallidum*. Το γένωμα *Nichols* του *T.pallidum* έχει κατασκευασθεί σε *E.coli K-12RR1*.

7. Enzyme immunoassays (EIA)

Η δοκιμασία enzyme immunoassays (EIA) χρησιμοποιείται για τον έλεγχο των IgG και IgM αντισωμάτων. Στην εικόνα 15 παρατηρούμε το set IgM antibody class capture immunosorbent assay.



Εικ 15. IgM antibody class capture immunosorbent assay

Το set Mercia Syphilis M είναι ένα **IgM antibody** class capture immunosorbent assay για τον έλεγχο των ειδικών *Treponema pallidum*-specific IgM αντισωμάτων σε ορό ανθρώπων.

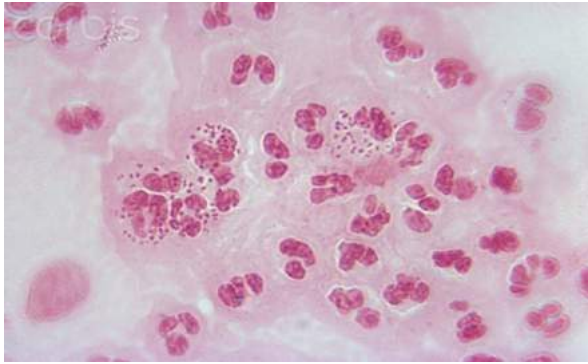
Ο έλεγχος των *T. pallidum* IgM αντισωμάτων μαζί με τον έλεγχο των *T. pallidum* IgG αντισωμάτων χρησιμοποιούνται για την διαφορική διάγνωση μεταξύ παλαιάς και πρόσφατης σύφιλης

NEISSERIA GONORRHOEAE (ΒΛΕΝΝΟΡΡΟΙΑ)

Μετά την νόσο από χλαμύδια η βλεννόρροια θεωρείται η δεύτερη πιο συχνή σεξουαλικά μεταδιδόμενη νόσος η οποία προκαλείται από το βακτήριο *Neisseria gonorrhoea*.

Neisseria gonorrhoeae είναι Gram – αρνητικός κόκκος, **0.6 - 1.0 μm σε διάμετρο**, εμφανίζεται κατά ζεύγη σε σχήμα κόκκων καφέ (ή νεφροειδείς) με πεπλατυσμένες πλευρές.

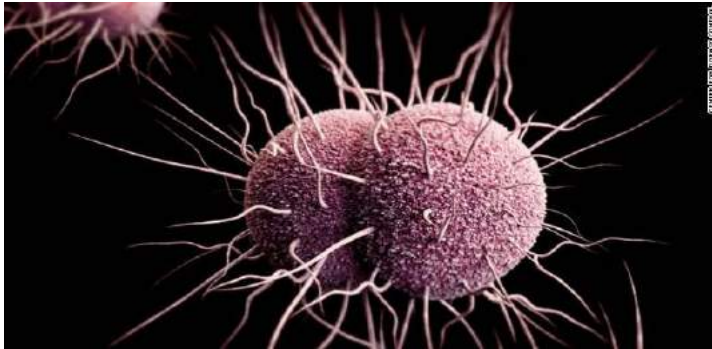
Ο μικροοργανισμός συχνά ευρίσκεται ενδοκυτταρίως (είναι δυναμικά ενδοκυτταρίος μικροοργανισμός) σε πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα όπως παρατηρείται στα επιχρίσματα και φαίνεται στην εικόνα 16.



Εικ 16.Επίχρισμα κολπικού εκκρίματος . Η *Neisseria gonorrhoeae* είναι **Gram-αρνητικός ενδοκυτταρίος** μικροοργανισμός.

Η *N. gonorrhoeae* είναι κινητός μικροοργανισμός με συσπαστική κινητικότητα και επίσης έχει ινίδια τύπου IV με τα οποία προσκολλάται στις επιφάνειες. Τα ινίδια δρουν μηχανικά σαν γάτζοι. Τα ινίδια αφού προσκολληθούν στα κύτταρα συσπώνονται και τραβούν τα κύτταρα.

Τα ινίδια παρατηρούνται στο **ηλεκτρονικό μικροσκόπιο** όπως φαίνονται στην εικόνα 17.



Εικ.17 Η *Neisseria gonorrhoeae* όπως φαίνεται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο

Η εξωτερική μεμβράνη του μικροοργανισμού συνίσταται από πρωτεΐνες, φωσφολιπίδια και λιποπολυσακχαρίτη (lipopolysaccharide -LPS). Αυτά τα βακτήρια αντί να έχουν τον συνηθη λιποπολυσακχαρίτη LPS έχουν ανεξάρτητα αν είναι παθογόνα ή σαπροφυτικά ένα λιποολιγοσακχαρίτη (lipooligosaccharide -LOS)

Από τα 14 είδη της *Neisseria* τα οποία αποικίζουν τον άνθρωπο μόνο δύο είναι παθογόνα η *N. gonorrhoeae* η οποία προκαλεί την βλεννόρροια και η *N. meningitides* η οποία προκαλεί την μηνιγγίτιδα. Τα υπόλοιπα δεν είναι παθογόνα αν και μπορεί υπό ορισμένες συνθήκες να προκαλέσουν νόσο. Τα είδη αυτά είναι οι *N.bacilliformis*,*N.cinerea*,*N.denitrificans*,*N.elongata*,*N.flavescens* *N.lactamica*,*N.macacae*,*N.mucosa*,*N.pharyngis*,*N.polysaccharea*,*N.sicca*,*N.s ubflava*.

Το βακτήριο κατά την ανάπτυξη του **απελευθερώνει κλάσματα της μεμβράνης που ονομάζονται "blebs"**. Αυτά τα κλάσματα **περιέχουν LPS (LOS) και πιθανόν παίζουν ρόλο στην παθογένεση εάν διασπαρούν** κατά την διάρκεια της λοίμωξης.

Η κάψα από **πολυσακχαρίτη** η οποία περιβάλλει την εξωτερική μεμβράνη του βακτηρίου το προστατεύει ως προς διαλυτούς ανοσιακούς παράγοντες, αντιμικροβιακά πεπτίδια που υπάρχουν μέσα στον ορό και θεωρείται ένας βασικός λοιμογόνος παράγοντας του βακτηρίου (δρα σαν ενδοτοξίνη).

Επίσης προσκολλάται στους ασιαλογλυκοπρωτεϊνικούς (asialoglycoprotein receptors) υποδοχείς των ουρηθρικών κυττάρων.

N. gonorrhoeae έχει επιφανειακές **πρωτεΐνες, οι οποίες καλούνται Ora** πρωτεΐνες οι οποίες ενώνονται σε υποδοχείς των ανοσιακών κυττάρων και με τον τρόπο αυτό προστατεύεται από την ανοσιακή απάντηση του ξενιστή.

Ο ξενιστής δεν μπορεί να αναπτύξει ανοσιακή μνήμη κατά της *N. gonorrhoeae* –άρα η επαναμόλυνση είναι δυνατή . Επίσης η *N. Gonorrhoeae* αποφεύγει το ανοσιακό σύστημα μέσω της αντιγονικής ποικιλότητας, κατά την οποία το βακτήριο **αλλάζει τους αντιγονικούς καθοριστές**, δηλαδή τα σημεία που ενώνονται τα αντισώματα όπως είναι οι **πρωτεΐνες Ora και τα ινίδια IV**.

Επίσης η *N. gonorrhoeae* **υφίσταται μετασχηματισμό (transformation) του DNA και μπορεί να συζευχθεί (conjugation)**. Με τον τρόπο αυτόν το DNA της *N. gonorrhoeae* μπορεί να αποκτήσει ή να διαδώσει νέα γονίδια κάτι που μπορεί να οδηγήσει σε ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά.

Κλινικά σημεία

Τα πρώιμα σημεία της βλεννόρροιας είναι συχνά **ελαφρά**. **Πολλές νέες γυναίκες 80%** και **μερικοί νέοι άντρες 10%** δεν εμφανίζουν συμπτώματα και έτσι δεν γνωρίζουν την νόσο τους. Τα συμπτώματα του γεννητικού **εκκρίματος** και το **κάψιμο κατά την ούρηση** πιο συχνά συμβαίνουν στους άνδρες παρά στις γυναίκες.

Η **λοιμώξη των γεννητικών οργάνων** προκαλεί πυώδες έκκριμα με άσχημη μυρωδιά, επίσης συνυπάρχει φλεγμονή, ερυθρότητα, εξοίδηση και δυσουρία.

Η *N. gonorrhoeae* μπορεί επίσης να προκαλέσει **επιπεφυκίτιδα, φαρυγγίτιδα, πρωκτίτιδα, προστατίτιδα και ορχίτιδα**.

Η επιπεφυκίτιδα είναι συχνή στα νεογνά ,γι αυτό όταν γεννώνται τους ενσταλάζουν αντιβιοτικά όπως erythromycin σε μία μόνο δόση. Tetracycline (1%) οφθαλμική αλοιφή ή silver nitrate έχουν χρησιμοποιηθεί κατά το παρελθόν. Εάν η erythromycin δεν είναι διαθέσιμη μπορεί να δοθεί

μία δόση ceftriaxone 25 -50 mg/kg ενδοφλεβίως ή ενδομυϊκά ως προληπτικά μέσα για την βλεννόρροια .

Η επιπεφυκίτιδα των νεογνών μπορεί να οδηγήσει σε δημιουργία ουλών στον σκληρό χιτώνα ή διάτρηση και τύφλωση αυτών.

Επίσης η *N. gonorrhoeae* μπορεί να διασπαρεί και να προκαλέσει **ενδοκαρδίτιδα, μηνιγγίτιδα ή σύνδρομο δερματίτιδας – αρθρίτιδας** (αρθραλγία, τενοντοαρθρίτιδα και δερματίτιδα χωρίς πόνο και κνησμό).

Στις γυναίκες μπορεί να προκληθεί **πυελική φλεγμονώδης νόσος**, εάν η νόσος στα γεννητικά όργανα παραμείνει χωρίς θεραπεία και έχει σαν αποτέλεσμα την **στείρωση** λόγω δημιουργίας ουλώδους ιστού στους φαλλοπιανούς πόρους. Ο κίνδυνος στείρωσης είναι 10-20% στις γυναίκες που έχουν μολυνθεί.

Οι μικροοργανισμοί φτάνουν στην πύελο μέσω του τραχήλου , του ενδομητρίου και των φαλλοπιανών πόρων.

Λήψη δειγμάτων

Τα δείγματα λαμβάνονται από το πρόσθιο μέρος της ουρήθρας στους άνδρες και από τον ενδοτράχηλο στις γυναίκες. Επίσης δείγματα μπορεί να ληφθούν από τον οπίσθιο φάρυγγα, τις αμυγδαλές και το ορθό .

Τα δείγματα πρέπει να συλλεγούν με **Dacron or rayon** στυλεούς, διότι οι στυλεοί από **calcium alginate** μπορεί να είναι τοξικοί για τον **γονόκκοκο**.

Τα λιπαρά οξέα παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των γονοκκόκων , **άρα οι στυλεοί από βαμβάκι παρεμποδίζουν** την ανάπτυξη των γονοκκόκων. Οι στυλεοί πρέπει να **εμβολιασθούν αμέσως στο υλικό ανάπτυξης ή να τοποθετηθούν σε υλικό μεταφοράς**.

Μεταφορά δειγμάτων

Ιδανικά τα δείγματα πρέπει να εμβολιασθούν σε καλλιεργητικά υλικά άμεσα μετά την συλλογή ώστε να διατηρηθεί η βιωσιμότητα τους. Τα τρυβλία εάν πρόκειται να μεταφερθούν σε τοπικό εργαστήριο, μπορούν να μείνουν στην θερμοκρασία δωματίου για όχι περισσότερο από 5 ώρες σε ατμόσφαιρα CO₂. Εάν τα δείγματα πρόκειται να μεταφερθούν σε μεγάλη απόσταση πρέπει να εμβολιασθούν σε ειδικά θρεπτικά υλικά σε ατμόσφαιρα CO₂ για 18-24 ώρες και να έχουν ορατή ανάπτυξη πριν σταλούν.

Μεταφορά καλλιεργειών

1. Καταψυγμένες καλλιέργειες

Κύτταρα από τρυβλίο καλλιέργειας εναιωρούνται σε brain heart infusion broth και τοποθετούνται σε cryovials με βιδωτά πώματα. Τα εναιωρήματα καταψύχονται σε ξηρό πάγο ή σε καταψύκτη -70°C ή σε υγρό άζωτο. Οι καταψυγμένες καλλιέργειες μπορούν πλέον να μεταφερθούν.

2. Μη καταψυχόμενα καλλιεργητικά υλικά

Οι στυλεοί με πολύ εμβολίασμα από καθαρές καλλιέργειες εμβυθίζονται σε διάφορα υλικά μεταφοράς όπως π.χ StarSwab, Starplex Scientific, Ontario; PROBACT Transport Swab System, Med-Ox Diagnostics Inc, Ontario, Copan Transport Swab, Oxoid, Ontario. Τα υλικά αυτά διατηρούν ζωντανούς τους γονοκόκκους για 6-12 ώρες στην θερμοκρασία δωματίου.

Το JEMBEC τρυβλίο περιέχει Martin-Lewis agar με εσωτερικό πηγαδάκι που κρατάει μία ταμπλέτα η οποία παράγει CO₂.

Επίσης χρησιμοποιούνται τρυβλία με υλικό Chocolate agar (GC) στα οποία έχει γίνει προεπώαση ή Chocolate agar slants στα οποία έχει γίνει προεπώαση.

Εργαστηριακή διάγνωση

1. Μικροσκόπηση άμεσου παρασκευάσματος από το έκκριμα.

Παρατηρούνται ενδοκυττάρια κυρίως και εξωκυττάρια gram-αρνητικοί καφεοειδείς (ή νεφροειδείς) διπλόκοκκοι.

Τα εκκρίματα από τα μολυσμένα άτομα περιέχουν πολλά πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα με γονόκοκκους που έχουν πέσει.

Αυτοί οι γονόκοκκοι ερεθίζουν τα πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα να αρχίσουν εσωτερικές οξειδωτικές διαδικασίες για να σκοτώσουν τους γονοκκόκκους. Δυστυχώς ένας σημαντικός αριθμός μπορεί να επιβιώσει και να αναπαράγεται στα φαγοσώματα των λευκοκυττάρων.

Τα ενδοτραχηλικά επιχρίσματα από γυναίκες ή τα επιχρίσματα από το ορθό εξηγούνται πιο δύσκολα γιατί υπάρχουν gram (-) κοκκοβάκλιοι όπως *Moraxella osloensis*, *Moraxella phenylpyruvica*, *Kingella denitrificans* και *Acinetobacter*).

Η ευαισθησία και η ειδικότητα για τα ουρηθρικά επιχρίσματα είναι 90% έως 95%, αντίστοιχα, ενώ από τα τραχηλικά επιχρίσματα είναι 50% έως 70% ευαισθησία και πάνω από 90% ειδικότητα.

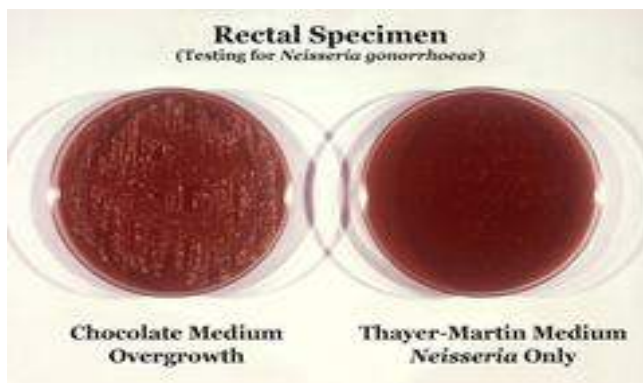
Ένα θετικό μικροσκοπικό αποτέλεσμα θα πρέπει να επιβεβαιωθεί με καλλιεργητική μέθοδο ή με μία μη καλλιεργητική μέθοδο όπως ο έλεγχος του αντιγόνου ή η δοκιμασία nucleic acid amplification.

2. Καλλιέργεια της *N. gonorrhoeae*

Η ανάπτυξη του μικροοργανισμού γίνεται σε υλικό Chocolate medium και σε υλικό Thayer Martin medium. Στο υλικό Thayer Martin αναπτύσσεται μόνο η *Neisseria* ενώ στο chocolate agar αναπτύσσονται διάφορα άλλα βακτήρια.

Τα τρυβλία πρέπει να εμβολιασθούν στους **35° -37°C με 3-7% CO₂ σε υγρή ατμόσφαιρα για 24-48 h.**

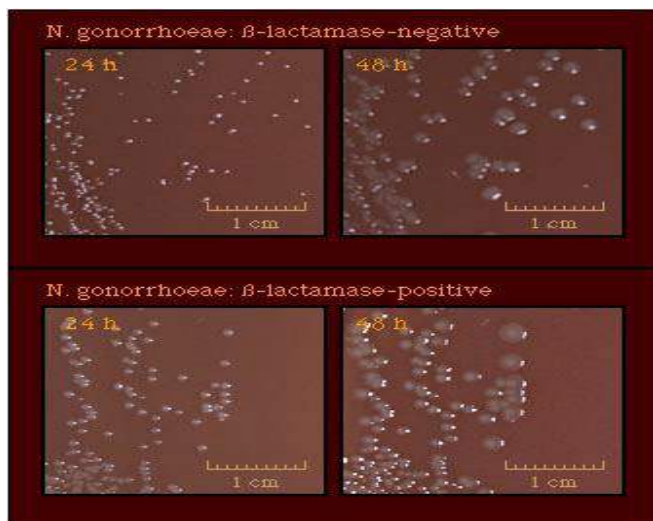
Στην εικόνα 18 παρατηρούμε μία υπερανάπτυξη βακτηρίων στο σοκολατόχρουν άγαρ, ενώ στο υλικό Thayer-Martin αναπτύσσεται μόνο η *Neisseria*.



Εικ.18 . Καλλιέργεια της *N. gonorrhoeae* σε σοκολοτόχρουν άγαρ και σε Thayer-Martin υλικό. Στο σοκολοτόχρουν άγαρ παρατηρούμε μία υπερανάπτυξη διαφόρων βακτηρίων.

Η *Neisseria* συνήθως απομονώνεται σε υλικό Thayer –Martin (ή VPN agar) το οποίο περιέχει αντιβιοτικά (vancomycin, colistin, nystatin και trimethoprim) και θρεπτικά συστατικά ώστε να ευνοείται η ανάπτυξη των ειδών της *Neisseria*, ενώ συγχρόνως να αναστέλλεται η ανάπτυξη άλλων βακτηρίων και μυκήτων.

Οι αποικίες έχουν χρώμα ροζ –καφέ, μετά από 48 ώρες λόγω αυτόλυσης των αποικιών παρατηρείται χρώμα χρυσό-καφέ. Οι αποικίες ποικίλουν όπως παρατηρούμε στην εικόνα 19.



Εικ.19 Οι αποικίες της *N. Gonorrhoeae* ποικίλουν σε εμφάνιση

Η ταυτοποίηση των αποικιών βασίζεται στην δοκιμασία της oxidase (όλα τα κλινικά είδη είναι οξειδάση θετικά), επίσης είναι καταλάση

θετικά και σε μεθόδους **χρησιμοποίησης των υδατανθράκων** όπως maltose, sucrose και glucose με τις οποίες διακρίνουμε τα διάφορα είδη της *Neisseria*. Η *N. Gonorrhoeae* οξειδώνει μόνο την γλυκόζη.

Οι απομονωθείσες αποικίες πρέπει να ελεγχθούν για **ευαισθησία στα αντιβιοτικά**.

3. Ταχεία μέθοδος για τον έλεγχο του αντιγόνου της *N. Gonorrhoeae*.

Η ταχεία μέθοδος για τον έλεγχο της *N. Gonorrhoeae* (εικόνα 20) ελέγχει ορατά το αντιγόνο στα ούρα και στα εκκρίματα από το ουρογεννητικό σύστημα.

Η μέθοδος βασίζεται στην αρχή της ανοσολογικής μεθόδου double sandwich . Η μέθοδος είναι ειδική.



Εικ.20 Ταχεία μέθοδος για τον έλεγχο του αντιγόνου της *N. gonorrhoeae*

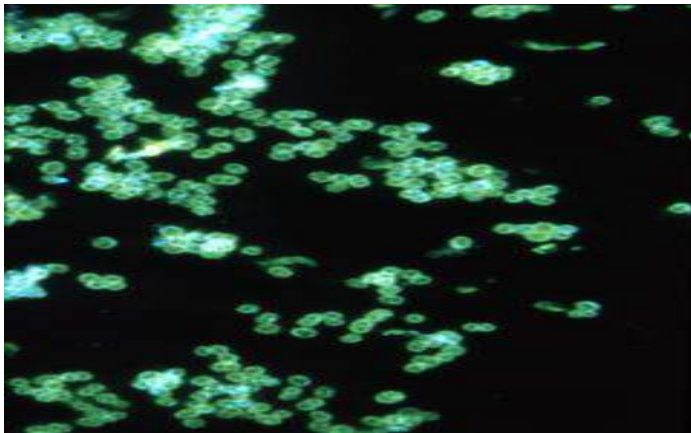
Η μέθοδος χρησιμοποιείται σαν ταχεία screening μέθοδος για τον έλεγχο της βλεννόρροιας αλλά δεν υποκαθιστά τις καλλιεργητικές μεθόδους.

4.Ορολογικές δοκιμασίες

Δεν υπάρχουν ειδικές και ευαίσθητες ορολογικές δοκιμασίες που διατίθενται για τον έλεγχο αντισωμάτων ή αντιγόνων στον ορό των ασθενών.

Monoclonal antibody direct immunofluorescence για την ταυτοποίηση της *Neisseria gonorrhoeae* από εκλεκτικά θρεπτικά υλικά.

Εμπορικά διαθέσιμα αντιδραστήρια διατίθενται με μονοκλωνικά φθορίζοντα αντισώματα για την ταυτοποίηση της *Neisseria gonorrhoeae* από εκλεκτικά θρεπτικά υλικά (Thayer-Martin). Στην εικόνα 21 παρατηρούμε την *N. Gonorrhoeae* κατόπιν χρώσης με μονοκλωνικά φθορίζοντα αντισώματα (άμεσος ανοσοφθορισμός).



Εικ 21. Χρώση *N. Gonorrhoeae* με μονοκλωνικά φθορίζοντα αντισώματα (άμεσος ανοσοφθορισμός).

5. Nucleic acid amplification tests (NAATs)

Οι Nucleic acid amplification δοκιμασίες (NAATs) **ενδυναμώνουν τον έλεγχο της *N. gonorrhoeae*** από κλινικά δείγματα χωρίς να είναι απαραίτητο οι μικροοργανισμοί να είναι ζωντανοί. Πρόκειται για δοκιμασίες αναπαραγωγής των νουκλεϊνικών οξέων (NAATs). Χρησιμοποιούνται επιχρίσματα από τον κόλπο ή από το ορθό. Ανόμοια από τα *C trachomatis*, η μέθοδος για την *N gonorrhoeae* δεν είναι σημαντικά καλύτερη από τα καλλιεργητικά συστήματα και την κατάλληλη μεταφορά.

Οι δοκιμασίες αναπαραγωγής DNA (amplification) δεν είναι κατάλληλες για τον έλεγχο της επιτυχούς θεραπείας, διότι το DNA των γονόκοκκων μπορεί να παραμείνει για εβδομάδες μετά από επιτυχή θεραπεία.

Οι μέθοδοι με νουκλεϊνικά οξέα χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της *N. gonorrhoeae* σε δείγματα τα οποία δεν περιέχουν ορατούς μικροοργανισμούς λόγω της μακράς μεταφοράς ή την έκθεση σε εξαιρετικές συνθήκες θερμοκρασίας

CANDIDA (ΚΑΝΤΙΝΤΙΑΣΗ)

Η *Candida albicans* είναι ένας δίμορφος μύκητας που **αναπτύσσεται σαν ζύμη και σαν νηματοειδής μύκητας.**

Προκαλεί ευκαιριακές λοιμώξεις στο **στόμα και στην γεννητική περιοχή. Συστηματικές λοιμώξεις (μυκηταιμία)** μπορεί να παρουσιασθούν **σε ανοσοκατασταλμένα άτομα** και είναι αιτία θανάτου.

Η *candida albicans* είναι σαπρόφυτο αλλά όταν ο μύκητας υπεραναπτυχθεί προκαλείται νόσος.

Η καντιντίαση (αναφέρεται σαν thrush ή μυκητιασική λοίμωξη) και προκαλείται από τον μύκητα *candida*.

Μερικές γυναίκες φαίνεται ότι είναι πιο επιρρεπείς στο να αναπτύξουν αυτήν την λοίμωξη.

Από τα 81 είδη του γένους *Candida*, λοιμώξεις συνήθως προκαλεί το είδος *Candida albicans* ("ωίδιο το λευκάζον").

Οι παράγοντες που συμβάλλουν στην ανάπτυξη της κολπικής καντιντίασης είναι :

1. Η μικροβιοφορία της candida

Η *C. albicans* μπορεί να υπάρχει χωρίς τυπικά συμπτώματα μυκητησιακής κολπίτιδας και τα είδη της *Candida* μπορεί να υπάρχουν σε σταθερή σχέση με το επιθήλιο. Η πλειονότητα των γυναικών που έχουν κολπικούς μύκητες επίσης φέρουν τους μύκητες στο έντερο.

Η *C. Albicans* είναι μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου και υπάρχει στο 80% του ανθρώπινου πληθυσμού χωρίς να προκαλεί επιβλαβή αποτελέσματα .

Αυτός ο μύκητας ευρίσκεται στην γεννητική οδό στο 20% των εγκυμονούντων γυναικών.

Η τιμή της μικροβιοφορίας ποικίλει μεταξύ των πληθυσμών, αυξάνει κατά την ήβη και αυξάνει και κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης.

2. Η χρήση αντιβιοτικών, η χρήση αντισυλληπτικών από το στόμα τα οποία περιέχουν προγεστερόνη, η παρουσία άλλων καταστάσεων όπως ο διαβήτης, η εγκυμοσύνη, η ανοσοκαταστολή όπως σε περιπτώσεις AIDS αυξάνουν την πιθανότητα στις γυναίκες να αναπτύξουν καντιντίαση.

Για την παραγωγή νόσου σημαντικό ρόλο παίζει η φυσιολογία του ξενιστή.

3. Υπεροξειδίο του υδρογόνου

Η *N. gonorrhoeae* και ο *Streptococcus agalactiae*, τα είδη της *Candida* μπορούν να ανασταλούν με υπεροξειδίο του υδρογόνου.

Το υπεροξειδίο του υδρογόνου παράγεται από τα είδη του *Lactobacillus*. Πιθανότατα αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το υπεροξειδίο του υδρογόνου καταστρέφει τις κυτταρικές μεμβράνες άσχετα με την ενδοκυττάρια παραγωγή καταλάσης.

4. Αντίστροφη σχέση μεταξύ βακτηριακής και μυκητησιακής χλωρίδας

Υπάρχει μία **αντίστροφη σχέση μεταξύ βακτηριακής και μυκητιασικής χλωρίδας** σε σχέση με την επικράτηση και τον αυξημένο αριθμό.

Υπάρχει **κοντρόλ των μυκήτων μέσω ανταγωνιστικής επίδρασης των ειδών του *Lactobacillus*.**

Αντίθετα τα είδη της *Candida* έχουν τα δικά τους ανταγωνιστικά αποτελέσματα στα βακτήρια.

5. Γλοιοξίνη

Τα είδη της *Candida* μπορούν να παράγουν μία ουσία τη γλοιοτοξίνη, η οποία μαζί με άλλους ανασταλτικούς παράγοντες σε κατάλληλες συγκεντρώσεις είναι ανταγωνιστική ως προς διάφορα βακτήρια.

6. RNA-binding πρωτεΐνη Slr1

Η **RNA-binding πρωτεΐνη Slr1** τελευταία ανακαλύφθηκε ότι παίζει ένα ρόλο στον σχηματισμό των υφών και στην λοιμογόνο δύναμη της *C.albicans*.

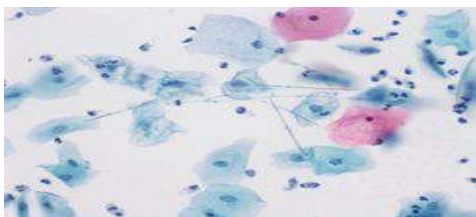
Συμπτώματα της καντιντίασης

Υπάρχει έκκριμα αυξημένο, παχύ και λευκό σαν κομμένο γάλα, κνησμός, ερεθισμός του αιδοίου και της περιοχής του κόλπου και του τραχήλου, πόνος κατά την συνέυρεση.

Το pH συνήθως <4.5 και παρατηρούνται ολίγα λευκοκύτταρα ,επιθηλιακά κύτταρα και ζυμομύκητες.

Η *candida* είναι ζυμομύκητας ο οποίος σχηματίζει **ψευδομυκητίλιο** και **ζυμοκύτταρα** στην επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων.

Σε κυτταρολογικό παρασκεύασμα οι **ψευδουφές και οι σπόροι** χρωματίζονται ελαφρά με την χρώση όπως παρατηρούμε στην εικόνα 22, αλλά η μέθοδος στερείται ευαισθησίας.



Εικ. 22. Η candida σε κυτταρολογικό παρασκεύασμα.

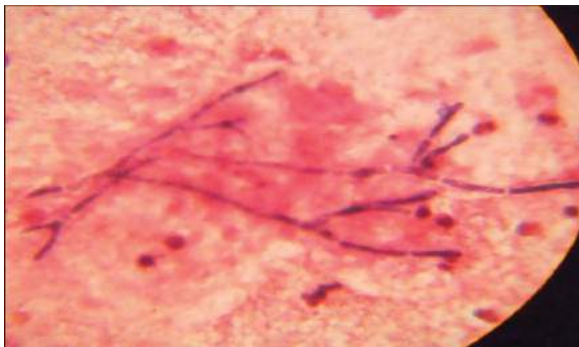
Εργαστηριακή διάγνωση

1. Άμεσο υγρό παρασκεύασμα

Οι μύκητες ελέγχονται σε υγρά παρασκευάσματα με 10% Potassium Hydroxide (KOH). Το pH είναι συνήθως < 4.5

2. Άμεσο παρασκεύασμα χρωσμένο με χρώση gram

Με χρώση Gram παρατηρούνται επιθηλιακά κύτταρα, μύκητες *C. albicans*, και πολλά Gram- ραβδία όπως παρατηρούμε στην εικόνα 23 (1000X λάδι)



Εικ. 23 *Candida albicans* άμεσο παρασκεύασμα χρωσμένο με χρώση gram.

3. Καλλιέργεια

Η καλλιέργεια της *Candida albicans* σε Agar Sabouraud Dextrose δίδει **αποικίες χρώματος λευκού προς μπεζ** ομαλές ,φωτεινές αναδιπλούμενες τελικά ,μεμβρανώδεις. Η οπίσθια επιφάνεια είναι λευκή ή κρεμ. Δεν

παράγει χρώμα που να διηθείται όπως παρατηρούμε στην εικόνα 24.



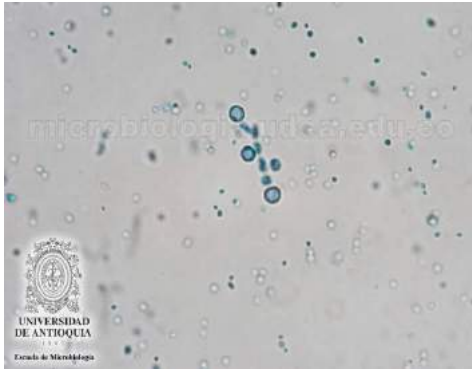
Εικ. 24 *Candida albicans*. Agar Sabouraud Dextrose.

Η *Candida albicans* παράγει χρώμα σε χρωμογόνο άγαρ. Το χρώμα είναι πράσινο ανοικτό είναι συμβατό με την *Candida albicans* σε χρωμογόνο άγαρ όπως παρατηρούμε στην εικόνα 25.



Εικ 25. *Candida albicans*. Το χρώμα των αποικιών είναι πράσινο ανοικτό σε CHROMagar.

5. Παραγωγή γλαυδοκονιδίων (Clamidoconidias) και βλαστικών σωλήνων στην *Candida albicans* σε Corn Meal Agar όπως παρατηρούμε στις εικόνες 26 και 27.



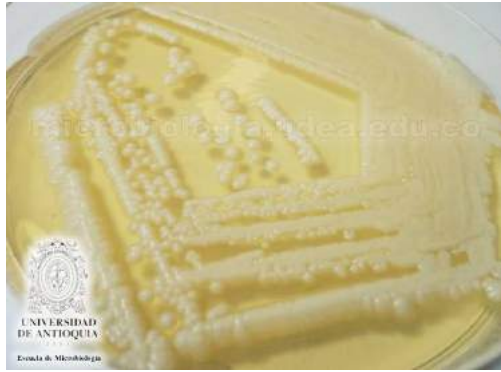
Εικ. 26 *Candida albicans*, γλαμυδοκονίδια τελικά και ανάμεσα στις υφές. Azul de lactofenol, 40x.



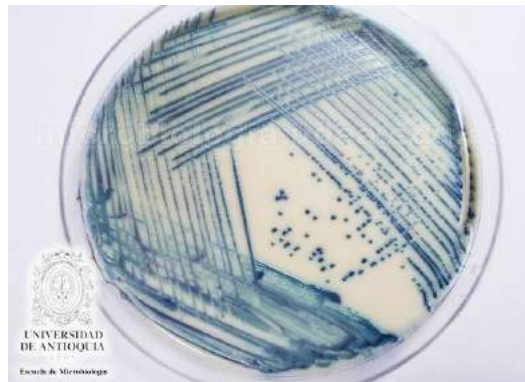
Εικ. 27. *Candida albicans* . Σχηματισμός βλαστικών σωλήνων, 100x

Candida tropicalis

Οι αποικίες της *Candida tropicalis* σε Agar Sabouraud Dextrose είναι χρώματος γάλακτος, κρεμώδεις, φωτεινές με ελαφρά ακανόνιστα άκρα (εικόνα 28)

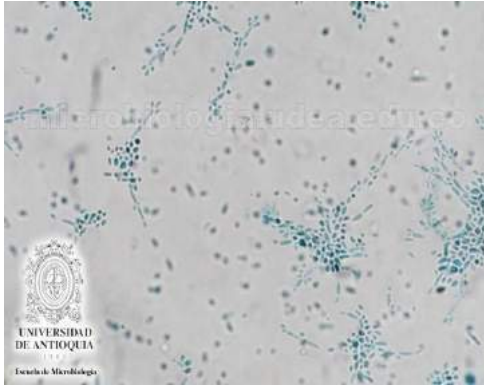


Εικ.28 *Candida tropicalis*. Οι αποικίες σε Agar Sabouraud Dextrose Agar Σε CHROMagar®. το χρώμα της *Candida tropicalis* είναι σκούρο μπλε όπως φαίνεται στην εικόνα 29.

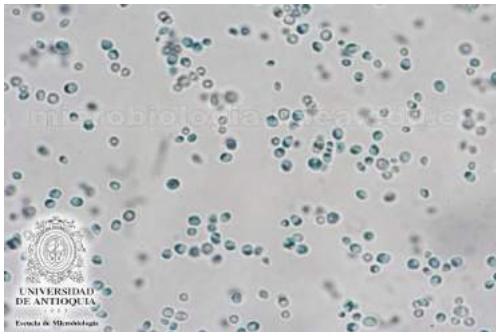


Εικ. 29 *Candida tropicalis*.CHROMagar®.

Με χρώση Azul de lactofenol, η *Candida tropicalis* παρουσιάζει βλαστοκονίδια μόνα και σε σωρούς με άφθονες ψευδοφές ή μόνο βλαστοκονίδια μόνα ή σε συσσωρεύσεις όπως φαίνεται στις εικόνες 30 και 31.



Εικ. 30 *Candida tropicalis* βλαστοκονίδια μόνα ή σε συσσωρεύσεις με ψευδοϋφές. Azul de lactofenol 40x.



Εικ. 31 *Candida tropicalis* βλαστοκονίδια μόνα ή σε συσσωρεύσεις .Azul de lactofenol 40x.

Candida glabrata

Σε χρωμογόνο άγαρ CHROMagar (εικόνα 32) το χρώμα είναι violet έντονο είναι συμβατό με την *Candida glabrata*.



Εικ 32. *Candida glabrata* CHROMagar®. Το χρώμα είναι έντονο violet.

Candida guilliermondii

Παρατηρού με λευκωπές αποικίες σε Sabouraud dextrose agar (εικόνα 33).



Εικ. 33. *Candida guilliermondii*. Agar Sabouraud Dextrose.

Το χρώμα violet ανοικτό είναι συμβατό με την *Candida guilliermondii* σε CHROMagar®όπως φαίνεται στην εικόνα 34.



Εικ 34 *Candida guilliermondii* CHROMagar®.

Candida krusei

Η *Candida krusei* δίδει αποικίες υπόλευκες, αδιαφανείς, λείες ή ακανόνιστες σε Agar Sabouraud Dextrose όπως φαίνεται στην εικόνα 35.



Εικ 35 . *Candida krusei*. Agar Sabouraud Dextrose.

Το χρώμα ανοιχτό violet είναι συμβατό με την *Candida krusei* σε καλλιέργεια σε CHROMagar® όπως φαίνεται στην εικόνα 36.



Εικ 36. *Candida krusei* σε CHROMagar®.

Candida lypholitica

Η *Candida lipolytica* δίδει αποικίες υπόλευκες, αδιαφανείς και σπογγώδεις σε Agar Sabouraud Dextrose όπως φαίνεται στην εικόνα 37.



Εικ 37. *Candida lipolytica* σε Agar Sabouraud Dextrose.

Το χρώμα κιτρινοκρέμ είναι συμβατό με την *Candida lipolytica* σε χρωμογόνο άγαρ όπως φαίνονται στην εικόνα 38.



Εικ 38. *Candida lipolytica* CHROMagar®.

Candida parapsilosis

Οι αποικίες είναι άσπρου χρώματος, κρεμοειδείς, λαμπερές, λείες ή τραχείες σε Sabouraud Dextrose agar όπως φαίνονται στην εικόνα 39.



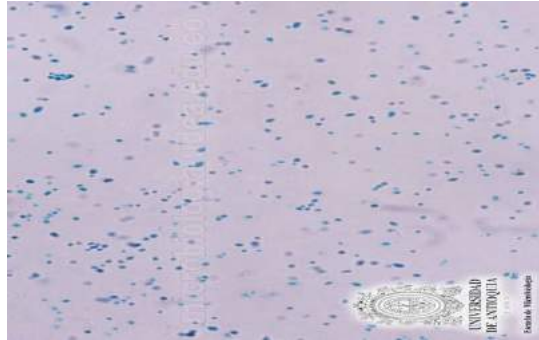
Εικ 39. *Candida parapsilosis*. Agar Sabouraud Dextrose.

Το χρώμα κίτρινο κρεμ είναι συμβατό με την *Candida parapsilosis* σε χρωμογόνο άγαρ όπως παρατηρούμε στην εικόνα 40.



Εικ. 40 *Candida parapsilosis* CHROMagar®.

Στην εικόνα 41 παρατηρούμε παρατηρούμε βλαστοκονίδια της *Candida parapsilosis*.



Εικ 41. *Candida parapsilosis*. Βλαστοκονίδια . Gram, 40x.

Μοριακές μέθοδοι

Οι μοριακές μέθοδοι έχουν χρησιμοποιηθεί για τον καθορισμό της πηγής κάποιας επιδημίας, αλλά και υπόσχονται πολλά για την κλινική διάγνωση. Στο κλινικό εργαστήριο η μοριακή διάγνωση γίνεται όλο και πιο σημαντική καθ' όσον η συχνότητα της καντιντίασης συνεχίζεται να αυξάνει στα δεδομένα των Νοσοκομείων και τείνει να υποκαταστήσει τις κλασσικές μεθόδους. Είναι οι πλέον ταχείες και ακριβείς μέθοδοι.

Οι μοριακές μέθοδοι όταν εφαρμόζονται σε νοσοκομειακές λοιμώξεις από *Candida*, έχουν τυποποιήσει πολλαπλά στελέχη και είδη με μικρές διαφορές στα διάφορα είδη της *candida* και επομένως δημιουργείται και η αβεβαιότητα εάν πραγματικά είναι διαφορετικά στελέχη.

Οι μοριακές μέθοδοι χρησιμοποιούν τον αναδιπλασιασμό (amplification) του στόχου DNA για την διάγνωση και την ταυτοποίηση των ειδών της *candida*.

Μία ποικιλία μεθόδων έχουν χρησιμοποιηθεί για την μοριακή (DNA) τυποποίηση των υποτύπων της *Candida spp*

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται είναι οι:

1. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) ή

2. Restriction enzyme analysis (REA)

αλλά πλέον αναπαραγωγικές μέθοδοι και διακριτικές μπορεί να χρειάζονται όπως οι

3. Southern hybridization και η

4. Pulsed field gel electrophoresis (PFGE) .

MYCOPLASMA-UREAPLASMA

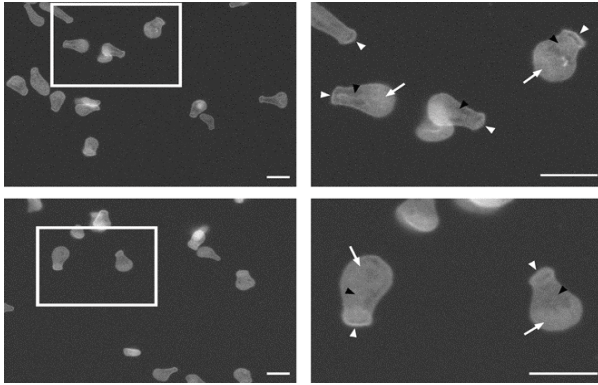
Το *Mycoplasma hominis* και τα είδη *Ureaplasma* , είναι γνωστά σαν **μυκοπλασματικοί οργανισμοί**.

Θεωρούνται γενικά ευκαιριακοί **μικροοργανισμοί** και προκαλούν λοιμώξεις σε ευαίσθητους πληθυσμούς.

Τα *M. hominis*, *M. pneumoniae*, *M. genitalium* και *Ureaplasma urealyticum*, απαντώνται στο **ουρογεννητικό σύστημα** του ανθρώπου και μπορεί να αποτελούν μέρος της φυσιολογικής **μικροχλωρίδας ενός ενήλικα**.

Τα Μυκοπλάσματα έχουν σχήμα φλάσκας και κατά πάσα πιθανότητα προέρχονται από **Gram+ βακτήρια**. Είναι τα μικρότερα ζώντα κύτταρα τα οποία έχουν μέχρι τώρα ανακαλυφθεί, τα οποία ζουν χωρίς οξυγόνο και έχουν διάμετρο 0.1 μm. Το *Mycoplasma genitalium* έχει το **μικρότερο γένωμα** από κάθε μικροοργανισμό, εκτιμάται ότι είναι μόνο 580,070 bp μήκους.

Στην εικόνα 42 παρατηρούμε την μορφολογία των μυκοπλασμάτων όπως φαίνονται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Rapid imaging of mycoplasma in solution using Atmospheric Scanning Electron Microscopy (ASEM).



Εικ. 42 Τα Μυκοπλάσματα όπως φαίνονται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Τα Μυκοπλάσματα λόγω του μικρού τους γενώματος **δεν μπορούν να κάνουν πολλές μεταβολικές λειτουργίες** και εκμεταλλεύονται τα κύτταρα του ξενιστή για να συμπληρώσουν τις απαιτήσεις ενέργειας για την βιοσύνθεση των συστατικών τους.

Λόγω του ότι δεν έχουν κυτταρικό τοίχωμα δεν μπορούν να χρωσθούν κατά Gram και δεν επηρεάζονται από αντιβιοτικά όπως η πενικιλίνη και τα αντιβιοτικά της β-λακτάμης, τα οποία δρουν στο τοίχωμα των βακτηρίων.

Τα μυκοπλάσματα είναι **το μοντέλο των μικρότερων κυττάρων** που εκτελεί τις πλέον βασικές λειτουργίες ενός ζώντος κυττάρου.

Το κύτταρο των μυκοπλασμάτων **χτίζεται από ένα μικρό σετ οργανιδίων** που περιλαμβάνουν **την πλασματική μεμβράνη, τα ριβοσώματα και το χρωμόσωμα** το οποίο φέρει πολλές έλικες.

Λόγω του ότι τα **μυκοπλάσματα συνδέονται με τα κύτταρα του ξενιστή**, έχουν αναπτύξει **ειδικά οξέα οργανίδια** για αυτόν τον σκοπό.

Τα περισσότερα είδη των μυκοπλασμάτων **είναι εξωκυττάρια παθογόνα**. Συνήθως συνδέονται με τις επιφάνειες των βλεννογόνων μένοντας εξωκυτταρίως στις αναπνευστικές και ουρογεννητικές οδούς.

Άλλα μυκοπλάσματα τα οποία συμπεριφέρονται σαν **ενδοκυττάρια παθογόνα**, εισέρχονται στα κύτταρα του ξενιστή χρησιμοποιώντας τα οξέα οργανίδια που διαθέτουν.

Σπανίως εισέρχονται στον **υποβλεννογόνιο** , εκτός από τις περιπτώσεις ανοσοκαταστολής ή εισαγωγής εργαλείων, οπότε μπορεί να εισέλθουν στο αίμα και να **διασπαρούν** στους διάφορους ιστούς του σώματος.

Η απουσία τοιχώματος διευκολύνει την επαφή μεταξύ των μυκοπλασμάτων και των κυττάρων του ξενιστή ,δημιουργώντας την πιθανότητα της σύντηξης μεταξύ των δύο μεμβρανών. Αυτό διευκολύνει την ανταλλαγή μεμβρανών και κυττοπλασματικού υλικού.

Mycoplasma hominis

Το *Mycoplasma hominis* αποτελεί το **συχνότερο παθογόνο αίτιο των λοιμώξεων στις γυναίκες** σε σχέση με τα άλλα είδη μυκοπλάσμάτων. Μπορεί επιπλέον να προκαλέσει λοιμώξεις στα νεογνά.

Τα συχνότερα συμπτώματα της ασθένειας είναι **πόνος ή κάψιμο κατά την ούρηση, έκκριση υγρών από τον κόλπο, φλεγμονή και έκκριση υγρών από το πέος, πόνος κατά τη σεξουαλική επαφή.**

Ureaplasma urealyticum

Το *ureaplasma urealyticum* είναι **μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του γεννητικού συστήματος** στις γυναίκες και στους άνδρες .

Εμφανίζεται στο περίπου 70% των σεξουαλικά ενεργών ανθρώπων. Λόγω της σχετικής **χαμηλής παθογένειας** του μικροοργανισμού, ο ρόλος τους παραμένει αμφιλεγόμενος.

Συνδέεται με ένα αριθμό ασθενειών στους ανθρώπους όπως η ειδική **ουρηθρίτιδα, η στέρωση, η χοριοαμνιονίτιδα, ο πρόωρος τοκετός ή η γέννηση νεκρού εμβρύου.**

Στην περιγεννητική περίοδο μπορεί να προκληθεί πνευμονία, βρογχοπνευμονική δυσπλασία και μηνιγγίτιδα.

Το *U. urealyticum* έχει ενοχοποιηθεί και σε περιπτώσεις **στείρας πτυορίας.**

Υπάρχουν 6 αναγνωρισμένα είδη *Ureaplasma*, με γένωμα μεγέθους 0.76–1.17 Mbp. Η **χοληστερόλη** απαιτείται για την ανάπτυξη τους. Χαρακτηριστικό του γένους είναι ότι **υδρολύουν την ουρία**.

Μερικά στελέχη τα οποία αρχικά χαρακτηρίστηκαν σαν *Ureaplasma urealyticum*, τώρα πρέπει να θεωρηθούν *U. parvum*.

Λήψη δειγμάτων και μεταφορά

Επειδή τα μυκοπλάσματα δεν έχουν κυτταρικό τοίχωμα, είναι πολύ ευαίσθητα σε αντίξοες συνθήκες του περιβάλλοντος ειδικά στην ξηρασία, στις ωσμωτικές αλλαγές και τους τοξικούς μεταβολίτες. Χρησιμοποιούμε μόνο στυλεούς **dacron ή polyester**. Οι στυλεοί από **Calcium alginate ή βαμβάκι** δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται.

Μετά την λήψη του δείγματος μεταφέρουμε το δείγμα σε **υλικό μεταφοράς**. Όταν χρησιμοποιήσουμε υγρό υλικό μεταφοράς εκχυλίζουμε το περισσότερο υλικό από τον στυλεό, πιέζοντας τον στυλεό στα εσωτερικά τοιχώματα του φιαλιδίου και πετάμε τον στυλεό.

Ένας αριθμός εμπορικά διαθέσιμων υλικών είναι διαθέσιμα στα περισσότερα εργαστήρια .

- Trypticase soy broth with 5% v/v bovine serum albumin
- Stuart's medium
- M4, M5, M6 (Thermo-Fisher)
- A3B and arginine broth (Thermo-Fisher)
- UTM (Copan Diagnostics)
- UVT (Becton Dickinson)

Για τον έλεγχο με PCR δεν απαιτούνται υλικά μεταφοράς. Τέτοια

δείγματα μπορεί να καταψυχθούν στους -70 °C αμέσως μετά την συλλογή και να σταλούν σε ξηρό πάγο.

Εργαστηριακή διάγνωση

Το MYCOFAST U.S. (εικόνα 43) έχει σχεδιαστεί για τον έλεγχο , την ταυτοποίηση και την ποσοτική εκτίμηση των *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) και *Mycoplasma hominis* (M.h.) από **ενδοτραχηλικά, ουρηθρικά γαστρικά, σπερματικά** δείγματα και δείγματα από **ούρα**.



Εικ. 43 Mycofast test

Καλλιέργεια

Mycoplasma

Τα δείγματα τοποθετούνται σε ζωμό αργινίνης, επωάζονται στους 35°C, και παρατηρούνται για 2- 5 ημέρες

Η αλλαγή του χρώματος (δείχνει αλκαλικό Ph) στον ζωμό αργινίνης Τότε γίνεται ανακαλλιέργεια 50 μL σε Mycoplasma agar.

Τα τρυβλία επωάζονται αναεροβίως στους 35°C για 2- 5 ημέρες και εξετάζονται μικροσκοπικά σε ανάστροφο φωτεινό μικροσκόπιο για **ανάπτυξη αποικιών οι οποίες μοιάζουν με τηγανητά αυγά.**

Το mycoplasma agar είναι υλικό σε χρώμα ανοικτό amber παρασκευάζεται από **κεκαθαρισμένο άγαρ** με την προσθήκη ζωμού **PPLO (pleuropneumonia-like organism)**. Περιέχει αναστολείς για την αναστολή άλλων μικροοργανισμών οι οποίοι αναπτύσσονται.

Στην εικόνα 44 παρατηρούμε αποικίες *mycoplasma hominis* σε Mycoplasma agar



Εικ 44 Αποικίες *mycoplasma hominis* σε Mycoplasma agar

Ureaplasma

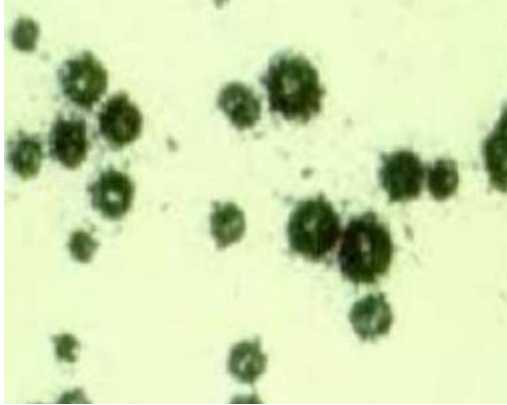
Τα δείγματα τοποθετούνται σε ζωμό U9 (Mycoplasma **U9 Urea Broth**) .

Για την ανάπτυξη του *Ureaplasma* γίνεται επώαση στους 35°C, και παρατηρείται για 5 ημέρες καθημερινά.

Μετά από αλλαγή χρώματος (δείχνει αλκαλικό pH) στον ζωμό γίνεται ανακαλλιέργεια σε 100μL Mycoplasma agar ή A7 . Τα τρυβλία επωάζονται **αναεροβίως στους 35°C για 48 ώρες**

και εξετάζονται σε φωτεινό ανεστραμμένο μικροσκόπιο για μικρές ακανόνιστες αποικίες οι οποίες αναπτύσσονται στην επιφάνεια του άγαρ , με περιβάλλουσα ζώνη .

Στην εικόνα 45 παρατηρούμε αποικίες *ureplasma urealyticum* σε Mycoplasma agar



Εικ 45 Αποικίες *ureplasma urealyticum* σε Mycoplasma agar

EIA Mycoplasma IgM-IgG (*M. pneumoniae*)

Η μέθοδος Enzyme immunoassay χρησιμοποιείται για τον έλεγχο των αντισωμάτων IgM-IgG ως προς *M. pneumoniae* σε ανθρώπινο ορό ή πλάσμα.

ImmunoCard® Mycoplasma Test Kit Χρησιμοποιεί αξιόπιστη EIA τεχνολογία μεμβράνης για τον έλεγχο των IgM αντισωμάτων ως προς το *M. pneumoniae* σε ανθρώπινο ορό. Η διαδικασία παίρνει λιγότερο από 10 λεπτά για να γίνει.

Remel Immunowell Mycoplasma IgM test (*M. Pneumonia*)

Το τεστ αυτό είναι ένα EIA τεστ που χρησιμοποιεί μικροβυθίσματα για τον ποιοτικό έλεγχο των IgM αντισωμάτων ως προς το *M. pneumoniae* στον ορό των ασθενών.

Mycoplasma IgG ELISA test system (*M. Pneumonia*)

Η μέθοδος αυτή ελέγχει ποιοτικά IgG antibodies ως προς το *M.pneumoniae* στον ορό των ασθενών . Το τεστ αυτό βοηθάει στον

καθορισμό της ορολογικής κατάστασης του ασθενούς ή μπορεί να βοηθήσει στην διάγνωση της νόσου που συνδέεται με το *Mycoplasma pneumoniae*

Ταχεία μέθοδος PCR ελέγχου του *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* και *Ureaplasma parvum*

Η ευαισθησία της PCR ως προς την καλλιέργεια είναι **95%** και για τους δύο μικροοργανισμούς, ενώ η ευαισθησία της καλλιέργειας ως προς την PCR είναι **91%** για το *Ureaplasma urealyticum* και **84%** για το *Mycoplasma hominis*.

Περαιτέρω είναι **ταχύτερη** από τις καλλιέργειες ώστε ο χρόνος διάγνωσης ελαττώνεται σε 24 h.

Real-time PCR

Το *U.urealyticum* ήταν το μόνο είδος μέχρι το 2002, όταν περιγράφηκε το *U.parvum*. Τα δύο είδη δεν διακρίνονται βασιζόμενοι στις καλλιέργειες μόνο, ενώ η Real-time PCR ελέγχει αυτούς τους μικροοργανισμούς από κλινικά δείγματα και ελαττώνει τον χρόνο της ταυτοποίησης. Στην εικόνα 46 παρατηρούμε ένα σετ PCR το Universal mycoplasma detection kit



Εικ.46 Universal mycoplasma detection kit

Λιγότερες μέθοδοι real-time PCR έχουν περιγραφεί για το *M. hominis*. που στοχεύουν στο *M. hominis* 16S ribosomal RNA gene.

TRICHOMONAS VAGINALIS

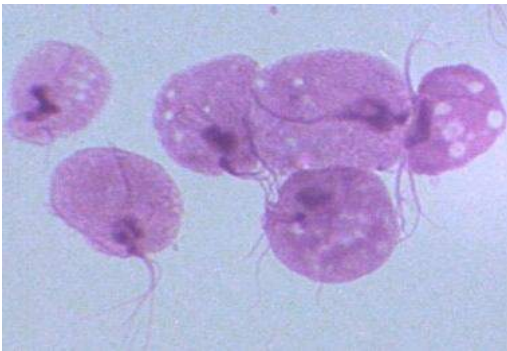
H Trichomonas vaginalis είναι ένα παρασιτικό πρωτόζωο που μολύνει την ουρογεννητική οδό των γυναικών και των ανδρών παγκοσμίως.

Η τριχομονάδωση είναι η πλέον κοινή σεξουαλικά μεταδιδόμενη λοίμωξη σήμερα των βιομηχανοποιημένων χωρών, με ετήσια συχνότητα περισσότερες από 10 εκ. περιπτώσεις τον χρόνο.

Η τιμή λοίμωξης μεταξύ των ανδρών και των γυναικών είναι η ίδια ενώ οι λοιμώξεις στους άνδρες είναι συνήθως ασυμπτωματικές.

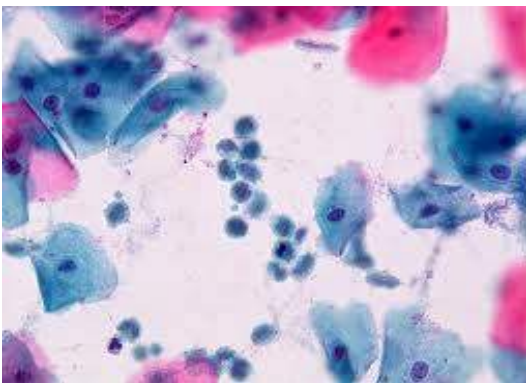
Η *Trichomonas foetus* είναι ένα σεξουαλικά μεταδιδόμενο παθογόνο διαφόρων ζώων όπως είναι οι αγελάδες και οι γάτες οδηγώντας στην αποτυχία της αναπαραγωγής αυτών των ζώων.

H Trichomonas vaginalis είναι ένα πρωτόζωο με μαστίγια και κυματοειδή μεμβράνη, όπως φαίνεται στην εικόνα 47.



Εικ. 47 *Trichomonas vaginalis*

Στην εικόνα 48 παρατηρούμε την *Trichomonas vaginalis* σε επίχρισμα pap.



Εικ.48 *Trichomonas vaginalis* σε επίχρισμα pap.

Συμπτώματα τριχομονάδοσης

Τυπικά μόνο οι γυναίκες έχουν συμπτώματα που συνδέονται με την τριχομονάδοση.

Τα συμπτώματα αφορούν τον **τράχηλο (τραχηλίτιδα), τον κόλπο (κολπίτιδα) ή την ουρήθρα (ουρηθρίτιδα).**

Τα συμπτώματα είναι **κνησμός και αίσθημα καύσου.**

Επίσης **υπάρχει κιτρινοπράσινο έκκριμα ,αφρώδες με οσμή ψαριού.**

Λήψη δειγμάτων

Λαμβάνουμε δείγματα από τον κόλπο και χρησιμοποιούμε ένα **στυλεό από βαμβάκι.**

Εργαστηριακή Διάγνωση

Άμεσο μικροσκοπικό παρασκεύασμα.

Η τριχομονάδοση διαγιγνώσκεται παρατηρώντας τις **τριχομονάδες στο μικροσκόπιο σε άμεσο υγρό παρασκεύασμα. Παρατηρούμε τα κινητά πρωτόζωα.**

Η μέθοδος αυτή έχει φτωχή ευαισθησία και τελευταίως έχουν εισαχθεί οι καλλιέργειες.

Καλλιέργεια

Το μειονέκτημα των καλλιεργειών είναι ότι χρειάζονται μερικές ημέρες για το αποτέλεσμα.

Υπάρχουν υλικά διαθέσιμα εμπορικά για την καλλιέργεια των τριχομονάδων και την κλινική διάγνωση της τριχομονάδοσης . Τα υλικά

αυτά είναι το Kupferberg's STS και το Diamond's medium (τροποποιημένο) και είναι εγκεκριμένα από το FDA (Food and Drug Administration).

Το υλικό Trichomonas Broth Medium (CPLM) with Nystatin βασίζεται στην φόρμουλα του Kupferburg Johnson and Sprince για την εκλεκτική απομόνωση των ειδών τριχομονάδων.

Το υλικό είναι εκλεκτικό και περιέχει Chloramphenicol and Nystatin, για την παρεμπόδιση μεγάλης γκάμας Gram-θετικών και Gram-αρνητικών μικροοργανισμών όπως επίσης ζυμών και μυκήτων.

Επίσης περιέχει methylene blue σαν δείκτη οξειδοαναγωγής για την παρατήρηση κάθε σημαντικής διήθησης οξυγόνου στο υλικό.

Οι καλλιέργειες εξετάζονται μικροσκοπικά μετά από 48 ώρες επώαση αεροβίως στους 37°C για την παρουσία πρωτοζώων μαστιγοφόρων. Εάν έχουμε αρνητικό αποτέλεσμα τότε η καλλιέργεια επωάζεται περαιτέρω για άλλες 72 ώρες.

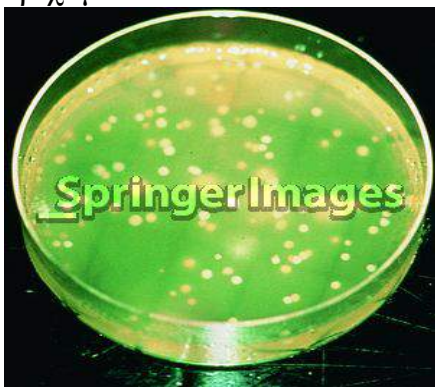
Όπως παρατηρούμε στην εικόνα 49 το χρώμα του υλικού είναι πράσινο και έχει pH 6.0+/- 0.2.

Η μέθοδος δίνει πιο ακριβή αποτελέσματα από την απλή μικροσκόπηση.



Εικ.49 *Trichomonas* spp broth with Nystatin

Τα καλλιεργητικά υλικά για την *Trichomonas vaginalis* είναι συνήθως υγρά, αλλά υπάρχουν και στερεά υλικά σε τρυβλία, όπου το πρωτόζωο μπορεί να ελεγχθεί ποσοτικά. Μετά από 4-5 ημέρες επώασης παρατηρούνται οι αποικίες οι οποίες είναι εμφανείς. Με την ποσοτική μέθοδο έχουν υποθέσει ότι οι γυναίκες στον κόλπο μπορεί να φέρουν 10-100.000 μικροοργανισμούς /ml κολπικού υγρού. Στην εικόνα 50 παρατηρούμε στερεό καλλιεργητικό υλικό με ανάπτυξη αποικιών τριχομονάδων.



Εικ.50 *Trichomonas vaginalis* καλλιέργεια σε στερεό θρεπτικό υλικό.

BioMed Diagnostics' InPouch TV system



Εικ.51 BioMed Diagnostics' InPouch TV system

Το σύστημα όπως φαίνεται στην εικόνα 51 έχει ένα σάκο με δύο θαλάμους. Στον επάνω θάλαμο υπάρχει υγρό υλικό, ενώ στον κάτω θάλαμο γίνεται η καλλιέργεια.

Στην υγρή φάση έχουμε γρήγορα αποτελέσματα ώστε ο ασθενής να μπορεί να αρχίσει άμεσα την θεραπεία, χωρίς να περιμένει μέχρι να έχουμε αποτελέσματα από την πιο ευαίσθητη μέθοδο της καλλιέργειας.

Το InPouch™ TV system έχει μεγάλη ειδικότητα και ευαισθησία. Το υλικό είναι **εκλεκτικό** (εμποδίζει την ανάπτυξη των βακτηρίων, ζυμών και μυκήτων και άλλων σαπροφυτικών μικροοργανισμών της μικροχλωρίδας.) και είναι κατάλληλο για την **μεταφορά, την ανάπτυξη και την παρατήρηση (δεν χρειάζεται παρασκεύασμα) της *Trichomonas vaginalis*.**

Έλεγχος του αντιγόνου της *T.vaginalis* σε κολπικά εκκρίματα

Το **Laboquick Trichomonas Vaginalis Rapid Test** είναι για τον έλεγχο του αντιγόνου της *Trichomonas Vaginalis* σε κολπικά εκκρίματα.

Το τεστ αυτό έχει υψηλή ευαισθησία και μπορεί να ελέγξει το αντιγόνο της *Trichomonas Vaginalis* σε κολπικά εκκρίματα σε λεπτά. Είναι πιο αποτελεσματικό, πιο ευαίσθητο και πιο ειδικό όταν συγκρίνεται με τις παραδοσιακές μεθόδους όπως τα άμεσα παρασκευάσματα και την καλλιέργεια.

OSOM Trichomonas Rapid test (Genzyme Diagnostics)



Εικ. 52 OSOM Trichomonas Rapid test (Genzyme Diagnostics)

Πρόκειται για μία ταχεία δοκιμασία (εικόνα 52) ελέγχου του αντιγόνου στην τριχομονάδωση και είναι **πιο ευαίσθητο από το άμεσο παρασκεύασμα.**

Εμβυθίζουμε τον στυλεό σε δοκιμαστικό σωληνάριο με 0.5 mL ειδικό buffer και αναμιγνύουμε το διάλυμα. Μετακινούμε τον στυλεό, βάζουμε ένα test strip και διαβάζουμε τα αποτελέσματα σε 10 λεπτά.

Η δοκιμασία έχει 95% συμφωνία με την καλλιέργεια και τα υγρά παρασκευάσματα.

Ταυτοποίηση της *T vaginalis* στους άνδρες

Επειδή οι περισσότεροι άνδρες είναι ασυμπτωματικοί φορείς, η διάγνωση της *T. vaginalis* συνήθως δεν γίνεται και οι άνδρες σύντροφοι θεραπεύονται με metronidazole τον ίδιο χρόνο που θεραπεύονται και οι γυναίκες σύντροφοι.

Σε ένα μικρό αριθμό ανδρών που είναι συμπτωματικοί, συλλέγεται το ουρηθρικό έκκριμα με στυλεό πριν από την πρώτη πρωινή ούρηση.

Μέθοδοι που βασίζονται στα αντισώματα

Η *T. vaginalis* έχει εκτιμηθεί ότι έχει 8 οροτύπους και ποικιλία αντιγονικών καθοριστών. Ποικιλία ορολογικών τεχνικών όπως **σύνδεση του συμπληρώματος, αμοσυγκόλληση, διήθηση σε gel ,φθορίζοντα αντισώματα και ELISA**, έχουν χρησιμοποιηθεί για να καθορίσουν την παρουσία των αντισωμάτων, αλλά δεν είναι ειδικά για να διακρίνουν την πρόσφατη από την παλαιά λοίμωξη και επίσης δίδουν διασταυρούμενες αντιδράσεις με μη παθογόνους τριχομονάδες.

Επίσης **μονοκλωνικά αντισώματα** προερχόμενα από τις ειδικές πρωτεΐνες 62 kDa και 65 kDa έχουν χρησιμοποιηθεί για την ταυτοποίηση της *T vaginalis* από κλινικά δείγματα, αλλά και αυτές οι τεχνικές έχουν αντικατασταθεί από την PCR τεχνολογία.

Polymerase chain reaction (PCR),

Τα δείγματα επεξεργάζονται με ένζυμα τα οποία αναπαράγουν τις ειδικές περιοχές DNA της *T. Vaginalis*.

Μετά την διαδικασία αυτή ο αριθμός των κλασμάτων του DNA μετράται ποσοτικά.

Η PCR έχει αποδειχθεί ότι είναι η πλέον ακριβής μέθοδος αλλά χρησιμοποιείται ακόμη στην έρευνα και όχι σε κλινικά δείγματα.

BD's Affirm VPIII Test

Το BD's Affirm VPIII Test είναι μετρίως πολύπλοκη δοκιμασία που χρησιμοποιεί DNA probe . Η δοκιμασία είναι ευαίσθητη για τον έλεγχο της *T. vaginalis* και δίδει αποτελέσματα σε 45 minutes.

ΜΗ ΕΙΔΙΚΗ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗ ΚΟΛΠΙΤΙΔΑ (BACTERIAL VAGINOSIS)

Η μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα είναι το πλέον κοινό σύνδρομο της κατώτερης γεννητικής οδού παγκοσμίως. Πρόκειται για μεταβολή της φυσιολογικής χλωρίδας του κόλπου με αποτέλεσμα την υπερανάπτυξη διαφόρων μικροοργανισμών.

Λόγω της έλλειψης εμφανούς φλεγμονώδους απάντησης και κατά την γυναικολογική εξέταση , έχει υιοθετηθεί ο όρος vaginosis αντί του όρου vaginitis στην Αγγλική ορολογία. Στα ελληνικά δεν υπάρχει δόκιμος όρος και για μεν τον όρο vaginosis χρησιμοποιούμε τον όρο βακτηριακή κολπίτιδα ή μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα ,ενώ για τον όρο vaginitis χρησιμοποιούμε τον όρο απλώς κολπίτιδα.

Ο όρος μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα (vaginosis) συνήθως αναφέρεται σε πολυμικροβιακή βακτηριδιακή κολπίτιδα, διότι διάφορα βακτήρια μπορεί να την προκαλέσουν.

Μικροοργανισμοί οι οποίοι ταυτοποιούνται στην μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα

Πολλές μελέτες έδειξαν την σχέση της μη ειδικής βακτηριακής κολπίτιδας με τα ακόλουθα μικρόβια όπως η *Gardnerella vaginalis*. Το 95% των γυναικών με μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα έχουν *Gardnerella vaginalis*.

Άλλοι μικρότεροι πληθυσμοί που ταυτοποιούνται περιλαμβάνουν την *Prevotella bivia* και αναερόβιους μικροοργανισμούς όπως τα είδη *Mobiluncus s.p.p*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Chloroflexi*, και *Eubacterium*.

Οι μικροοργανισμοί *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Streptococcus viridans*, *Atopobium vaginae*, *Megasphaera*, and *Leptotrichia* έχουν επίσης σχέση με την μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα.

Επίσης Gram-θετικοί κόκκοι και οι *Lactobacilli* έχουν σχέση με την μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα

Επιδημιολογία-Συχνότητα -Επικράτηση- Ηλικία

Η μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα είναι το 40% - 50% όλων των γυναικολογικών καταστάσεων που αντιμετωπίζουν οι ιατροί της πρωτοβάθμιας φροντίδας υγείας.

Η συχνότητα και η επικράτηση της μη ειδικής βακτηριακής κολπίτιδας δεν είναι γνωστές γιατί είναι **συχνά ασυμπτωματικές, αυτοδιαγιγνώσκονται και αυτοϊώνται.**

Η μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα **δεν** θεωρείται σεξουαλικά μεταδιδόμενο νόσημα, αν και η επικράτηση της είναι γενικά υψηλότερη μεταξύ των γυναικών που είναι σεξουαλικά ενεργείς.

Στις ανοσοκατασταλμένες γυναίκες (CD4+ κύτταρα <200 κύτταρα/μL) και αυτές οι οποίες είναι μολυσμένες με τον ιό HIV έχουν μεγαλύτερη επικράτηση και μεγαλύτερη σοβαρότητα και η νόσος περιγράφεται σαν

σοβαρή μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα βασιζόμενη σε κλινικά και εργαστηριακά κριτήρια.

Η επικράτηση της βακτηριακής κολπίτιδας μεταξύ των γυναικών της αναπαραγωγικής ηλικίας κυμαίνεται μεταξύ του 24% - 31.4%

Αιτίες και παράγοντες κινδύνου

Τι προκαλεί την μικροβιακή αλλαγή ακόμη δεν έχει κατανοηθεί πλήρως.

Οι παράγοντες κινδύνου που προδιαθέτουν στην μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα περιλαμβάνουν τα ακόλουθα .

Πρόσφατη θεραπεία με αντιβιοτικά ,ενδομητρικά προθέματα, σεξουαλική δράση η οποία μπορεί να οδηγήσει σε μετάδοση (π.χ, η ύπαρξη ενός νέου σεξουαλικού συντρόφου ή η αύξηση των σεξουαλικών συντρόφων)

Παράγοντες οι οποίοι προκαλούν την διάσπαση της χλωρίδας του κόλπου με **ελάττωση του αριθμού των λακτοβακίλων** μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα την **ελάττωση της παραγωγής υπεροξειδίου του υδρογόνου και γαλακτικού οξέος**, την αύξηση του pH του κόλπου (μέχρι 7.0) και στην υπερανάπτυξη και στην αντικατάσταση τους από αναερόβια συστατικά της χλωρίδας τα οποία συνδέονται με την μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα.

Επίσης **προηγούμενο ιστορικό βακτηριακής κολπίτιδας , συχνά ντους , το κάπνισμα, η χρήση αντιβιοτικών, συνυπάρχουσες λοιμώξεις με σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα και stress, προδιαθέτουν σε ανάπτυξη μη ειδικής βακτηριακής κολπίτιδας** λόγω της ελαττωμένης ανοσιακής απάντησης.

Μερικά αναερόβια βακτήρια παράγουν **ηλεκτικό οξύ(succinic acid)** , το οποίο είναι γνωστό ότι **ελαττώνει την ουδετερόφιλη φαγοκυτταρική δράση** ώστε μπορούν να πολλαπλασιάζονται.

Οι ορμονικές αλλαγές και λήψη ορμονικών σκευασμάτων παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο

Μελέτες που χρησιμοποιούν κολπικά επιχρίσματα έχουν δείξει ότι υπάρχει μία τάση για την δημιουργία ανώμαλης κολπικής χλωρίδας στην ωοθυλακική φάση δηλαδή τις πρώτες 17 ημέρες του κύκλου όταν τα επίπεδα των οιστρογόνων είναι υψηλά.

Σε μερικές γυναίκες χωρίς ωορρηξία, μία κατάσταση χρονίως ανώμαλων επιπέδων οιστρογόνων και προγεστερόνης, οδηγεί σε αυξημένο κίνδυνο μη ειδικής βακτηριακής κολπίτιδας .

Ο ρόλος της σεξουαλικής δραστηριότητας είναι αμφιλεγόμενος ,διότι η κατάσταση ευρίσκεται σε σεξουαλικά ενεργείς γυναίκες και σε μη ενεργείς.

Μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα και εγκυμοσύνη

Κατά την εγκυμοσύνη έχει παρατηρηθεί ότι η μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα αυτόματα εξαφανίζεται στο περίπου 50% των γυναικών, λόγω της αύξησης των επιπέδων της προγεστερόνης.

Παρόλα αυτά η **πρόωρη γέννηση** αυξάνεται τουλάχιστον κατά δύο φορές λόγω της μη ειδικής βακτηριακής κολπίτιδας, όπως επίσης η **αυτόματη αποβολή και η μόλυνση των γυναικών** αυξάνεται σημαντικά σε γυναίκες που προσβάλλονται από μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα .

Τυπικά συμπτώματα της μη ειδικής βακτηριακής κολπίτιδας.

Στο 50% των περιπτώσεων η μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα είναι **ασυμπτωματική** και εκδηλώνεται με λεπτό λευκωπό, ομοιογενές κολπικό έκκριμα με οσμή ψαριού (είναι το πιο συχνό και το πρώτο σύμπτωμα της μη ειδικής βακτηριακής κολπίτιδας και συνήθως αναγνωρίζεται μετά την σεξουαλική επαφή), με απουσία σημείων αιδιοκολπικού ερεθισμού, όπως πόνο, ερεθισμό, , αίσθημα καύσου, ερυθρότητας, κνησμό και δυσπαρέυνια.

Μπορεί όμως να εκδηλωθεί και **με ήπια συμπτώματα** όπως κολπική υπερέκκριση και ελαφρό ερεθισμό στην περιοχή του αιδοίου.

Λιγότερο συχνός είναι ο ερεθισμός του κόλπου , η δυσουρία και ο πόνος κατά την επαφή.

Φυσικά σημεία στην μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα

Φυσικά σημεία στην μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα περιλαμβάνουν τα παρακάτω.

Λευκωπό , λεπτό, και ομοιογενές κολπικό έκκριμα, το οποίο προσκολλάται στον κολπικό βλεννογόνο.

Αυξημένη αντανάκλαση των τοιχωμάτων του κόλπου ,αλλά τυπικά με λίγη ή καθόλου ένδειξη φλεγμονής.

Φυσιολογική εμφάνιση των χειλέων , εισόδου του κόλπου , του τραχήλου και των τραχηλικών εκκριμάτων .

Σε μερικές περιπτώσεις υπάρχει ένδειξη τραχηλίτιδας.

Επιπλοκές της μη ειδικής βακτηριακής κολπίτιδας

Οι επιπλοκές που συνδέονται με την μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα περιλαμβάνουν την πρόωρη γέννηση, πρόωρη ρήξη των υμένων, χοριοαμνιονίτιδα, φλεγμονή της πυέλου μετά την αποβολή και λοιμώξεις που ακολουθούν επεμβατικές γυναικολογικές τεχνικές όπως ουρολοιμώξεις ή η ευαισθησία στον ιό HIV (human immunodeficiency virus).

Τα κριτήρια του Amsel

Πρέπει να υπάρχουν **3 από τα 4 κριτήρια του Amsel** για την διάγνωση της μη ειδικής βακτηριακής κολπίτιδας.

1. Η ύπαρξη κυττάρων clue cells (επιθηλιακά κύτταρα του κόλπου με όρια τα οποία καλύπτονται με μικρά βακτήρια) (το πλέον ειδικό διαγνωστικό κριτήριο).
2. pH μεγαλύτερο από 4.5 (μέχρι το 90% των ασθενών).
3. Χαρακτηριστικό λεπτό, γκρι-λευκωπό ομοιογενές έκκριμα.
4. Θετικό whiff test.

Μικροσκοπική εξέταση

Επιπροσθέτως με το ιστορικό και την κολπική εξέταση, η μικροσκοπική εξέταση είναι ζωτικής σημασίας για την κλινική διάγνωση της μη ειδικής βακτηριακής κολπίτιδας .

Το χαρακτηριστικό της μη ειδικής βακτηριακής κολπίτιδας είναι ότι εμφανίζονται μικροσκοπικά ευρήματα σε κατά τα άλλα φυσιολογική κολπική εξέταση.

Ένα δείγμα κολπικού εκκρίματος αναμιγνύεται με φυσιολογικό ορό σε μία αντικειμενοφόρο πλάκα και παρατηρείται στο μικροσκόπιο είτε σαν νωπό παρασκεύασμα είτε σαν χρωσμένο με χρώση Gram.

Λευκά αιμοσφαίρια-clue cells

Τα παρασκευάσματα ελέγχονται για λευκά αιμοσφαίρια και ασυνήθη κύτταρα τα λεγόμενα clue cells. Εάν υπάρχουν clue cells τότε αυτό σημαίνει ότι υπάρχει μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα εφόσον τα κύτταρα αυτά εμφανίζονται με κάποια συχνότητα σε ασθενείς με μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα.

Whiff test

Έως - 70% των ασθενών εμφανίζουν θετικό το τεστ αυτό.

Προσθέτουμε μερικές σταγόνες KOH 10% (potassium hydroxide) σε ένα δείγμα κολπικού εκκρίματος για να παρατηρήσουμε εάν υπάρχει ισχυρή οσμή ψαριού. Μία οσμή ψαριού με το τεστ αυτό σημαίνει μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα .

Τα μεταβολικά υποπροϊόντα αυτών των βακτηρίων είναι οι αμίνες και τα οργανικά οξέα τα οποία παράγουν την χαρακτηριστική οσμή ψαριού.

Pap test

Η μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα μπορεί να βρεθεί σε ένα Pap test, αλλά δεν συνιστάται το τεστ για την διάγνωση της.

Πως πρέπει να προετοιμασθεί η γυναίκα για την λήψη του κολπικού εκκρίματος

Δεν πρέπει να κάνει ντους, ή να έχει σεξουαλική επαφή ή να χρησιμοποιήσει κολπικά φάρμακα για 24 ώρες πριν από την λήψη του

κολπικού εκκρίματος. Επίσης η εξέταση δεν μπορεί να γίνει κατά τον χρόνο της περιόδου.

Κολπικό pH.

Το φυσιολογικό κολπικό pH είναι 3.8 - 4.5 ενώ στην μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα το pH είναι μεγαλύτερο από το 4.5.

Polymerase chain reaction (PCR)-Ολιγονουκλεοτίδια probes

Αυτό το τεστ ελέγχει το γεννητικό υλικό (DNA) των βακτηρίων .Η μέθοδος είναι ακριβείας.

Κριτήρια του Nugent

Τα κριτήρια Nugent's μπορεί να χρησιμοποιηθούν για την ποσόστωση ή τον βαθμό μέσω της χρώσης Gram των κολπικών δειγμάτων. Αυτά τα κριτήρια αξιολογούν τους 3 τύπους των βακτηρίων και γράφουν βαθμολογία όπως παρακάτω.

Lactobacillus (βαθμολογία, 0-4)

Bacteroides/Gardnerella (βαθμολογία, 0-4)

Mobiluncus (βαθμολογία, 0-2)

Τα ολικά αποτελέσματα υπολογίζονται και εξηγούνται όπως παρακάτω.

0-3: Φυσιολογικός

4-6: Ενδιάμεση βακτηριακή μέτρηση

7-10: Μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα

Θεραπεία - Τι συνιστούν οι οργανισμοί

Ο οργανισμός USPSTF (U.S. Preventive Services Task Force) συνιστά κατά του screening για μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα σε ασυμπτωματικές γυναίκες οι οποίες ευρίσκονται σε χαμηλό κίνδυνο για πρόωρο τοκετό.

Ο οργανισμός USPSTF επίσης συμπεραίνει , ότι τα τρέχοντα ευρήματα είναι ανεπαρκή για την εκτίμηση του ισοζυγίου των ωφελίμων ή επιβλαβών αποτελεσμάτων του screening για την μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα σε ασυμπτωματικές έγκυες γυναίκες οι οποίες ευρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο για πρόωρο τοκετό.

Η Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada συνιστά ότι οι γυναίκες οι οποίες θα φτάσουν στο τέλος της εγκυμοσύνης και **θα υποστούν επεμβατικές γυναικολογικές διαδικασίες** πρέπει να **ελέγχονται και να θεραπεύονται** για μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα, όπως επίσης και για άλλες γυναικολογικές λοιμώξεις ή να τους δίδεται προφυλακτική θεραπεία για να προφυλαχτούν από την σήψη.

Πότε πρέπει να γίνει ο έλεγχος των εγκύων για την μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα

Για τους κλινικούς οι οποίοι έχουν υπ όψιν τους να ελέγξουν τις έγκυες γυναίκες, **δεν υπάρχει κάποιος συνιστώμενος άριστος χρόνος**, μπορεί να γίνει κατά την πρώτη (prenatal) προγεννητική επίσκεψη ή ενωρίς κατά την εγκυμοσύνη για αυτές τις γυναίκες οι οποίες ευρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο για πρόωρο τοκετό.

Θεραπεία της μη ειδικής βακτηριακής κολπίτιδας

Αντιβιοτικά είναι ο κύριος δρόμος της θεραπείας
Τα δεδομένα στην αποτελεσματικότητα στα συμπληρωματικά διατροφής όπως ο *Lactobacillus* (acidophilus) είναι αμφισβητήσιμα.

Ασυμπτωματικές γυναίκες

Η θεραπεία της μη ειδικής βακτηριακής κολπίτιδας σε **ασυμπτωματικές γυναίκες ή σε γυναίκες με χαμηλό ή με μέσου όρου κίνδυνο** δεν είχε κάποιο όφελος.

Έγκυες γυναίκες

Η βακτηριακή κολπίτιδα όταν υπάρχει στις έγκυες γυναίκες πρέπει να θεραπεύεται.

Η αντιβιοτική θεραπεία είναι αποτελεσματική στην εκκρίωση της βακτηριακής κολπίτιδας **κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης** αλλά δεν ελαττώνει σημαντικά τον κίνδυνο της γέννησης **προώρων παιδιών** με χαμηλό βάρος αν και ελαττώνει τον κίνδυνο της **όψιμης αποβολής**.

Η θεραπεία της μη ειδικής βακτηριακής κολπίτιδας πριν τις 20 εβδομάδες κύησης, μπορεί να ελαττώσει τον κίνδυνο του **πρόωρου τοκετού** (πριν από τις 37 εβδομάδες) και της **πρόωρης ρήξης των υμένων** σε γυναίκες με **ιστορικό προώρων γεννήσεων** με χαμηλό βάρος των νεογνών.

Δεν υπάρχει όμως σημαντική ελάττωση στην συχνότητα **νεογνικής σήψης** σε γυναίκες στις οποίες δόθηκε αντιβιοτική θεραπεία για βακτηριακή κολπίτιδα.

Γυναίκες πριν από επεμβάσεις

Θεραπεία επίσης συνιστάται **πριν από την καισαρική τομή, ολική υστερακτομή ή είσοδο συσκευών ενδομητρικών**.

Περιπτώσεις χωρίς επιπλοκές τυπικά **επανέρχονται** μετά την αντιβιοτική θεραπεία.

Η μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα δεν θεραπεύεται μετά **από μία συνεδρία** θεραπείας αλλά μπορεί να θεραπευτεί **μετά από μία δεύτερη συνεδρία** του ίδιου αντιβιοτικού ή μετά την αλλαγή σε άλλο αντιβιοτικό (π.χ από metronidazole σε clindamycin ή από clindamycin σε metronidazole)

Προφύλαξη

Δεν υπάρχουν σαφείς οδηγίες στην προφύλαξη από την μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα, εν τούτοις η γνώση και η αποφυγή των παραγόντων που διασπούν την φυσιολογική χλωρίδα, μπορεί να βοηθήσουν στην προφύλαξη της ανάπτυξης της .

Οι ασθενείς θα πρέπει να εκπαιδευτούν στους παράγοντες οι οποίοι διασπούν την φυσιολογική κολπική χλωρίδα, όπως τα **κολπικά ντους**, η

χρήση ζέλης για ντους ,ή χρήση αντισηπτικών σαπουνιών ή άλλων ειδών υγιεινής του κόλπου .

Οι ασθενείς θα πρέπει να πλένονται με υποαλλεργικά στερεά σαπούνια και να αποφεύγουν τα υγρά σαπούνια και τα αφρόλουτρα.

Αλλα πιθανά προστατευτικά μέσα περιλαμβάνουν **το σκούπισμα από μπροστά προς τα πίσω** και την **αποφυγή της χρήσης εφαρμοστών ρούχων στην γεννητική περιοχή.**

Η κατάλληλη και συστηματική χρήση **προφυλακτικών από latex**, μπορεί να ελαττώσει την πιθανότητα μετάδοσης της βλεννόρροιας, χλαμυδίων και τριχομονάδων, εν τούτοις δεν υπάρχουν δεδομένα στον προστατευτικό ρόλο των προφυλακτικών και της θεραπείας κατά της μη ειδικής βακτηριακής κολπίτιδας .

Ο έλεγχος για άλλες λοιμώξεις (π.χ, *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, ή *herpes simplex virus [HSV]*) μπορεί να είναι απαραίτητος.

Μερικές γυναίκες με υποτροπιάζουσα μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα μπορεί να έχουν ένα κέρδος εάν ο σύντροφος τους ελεγχθεί ή θεραπευτεί για τους αιτιολογικούς μικροοργανισμούς όπως είναι η *G. vaginalis*.

Πρέπει να αναφέρουμε ότι η θεραπεία με metronidazole ή clindamycin μπορεί να αλλάξουν την χλωρίδα του κόλπου και να προδιαθέσουν στην ανάπτυξη μυκητιασικής κολπίτιδας.

GARDNERELLA VAGINALIS

Η *G. vaginalis* είναι κοινό συστατικό της **χλωρίδας του κόλπου** στις γυναίκες . Σε έρευνα που έγινε η *G. vaginalis* βρέθηκε σε **150 από τα 446 δείγματα από γυναίκες οι οποίες δεν είχαν κλινική νόσο.**

H Gardnerella είναι ένα γένος Gram ποικίλων δυναμικά αναεροβίων βακτηρίων, στο οποίο η *G. vaginalis* είναι το μόνο είδος.

Η *Gardnerella vaginalis*, κάποτε είχε ταξινομηθεί σαν *Haemophilus vaginalis* και αργότερα σαν *Corynebacterium vaginalis*. Ο Αμερικανός βακτηριολόγος Hermann L. Gardner (1918 – 2005) ανακάλυψε την *G.vaginalis* το 1955.

Η *G. vaginalis* έχει Gram-θετικό κυτταρικό τοίχωμα, αλλά επειδή το τοίχωμα είναι πολύ λεπτό μπορεί να εμφανίζεται είτε σαν Gram-θετικός ή Gram-αρνητικός μικροοργανισμός στο μικροσκόπιο.

Οι μικροοργανισμοί είναι μικροί διαμέτρου 1-1.5 μm, δεν παράγουν σπόρους, δεν κινούνται και είναι κοκκοβάκιλοι

Η *G. vaginalis* είναι η **κυρίως αιτία της μη ειδικής βακτηριακής κολπίτιδας**, σαν αποτέλεσμα της διαταραχής (διάσπασης) της φυσιολογικής μικροχλωρίδας, αλλά μπορεί επίσης να απομονωθεί από γυναίκες χωρίς σημεία και συμπτώματα λοίμωξης (κολπικό έκκριμα, κολπικό ερεθισμό και οσμή ψαριού).

Η *G. vaginalis* ενώ τυπικά απομονώνεται από καλλιέργειες του κόλπου, μπορεί να ελεγχθεί και σε άλλα δείγματα όπως από το αίμα, τα ούρα και τον φάρυγγα.

Τοξική δράση της *G. vaginalis*

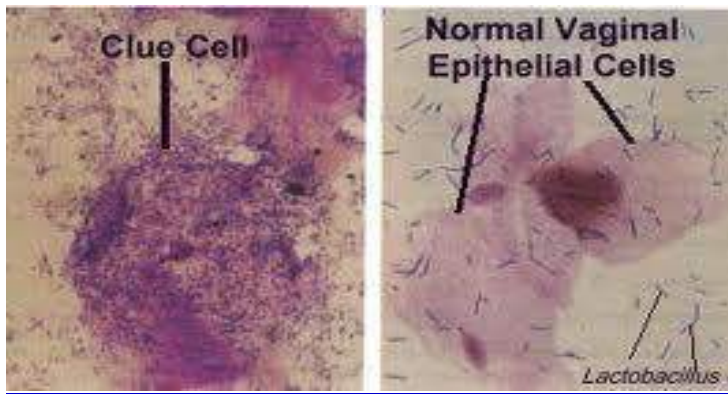
Η *G. vaginalis* παράγει μία **τοξίνη (pore-forming toxin) την vaginolysin**, η οποία επηρεάζει μόνο τα ανθρώπινα κύτταρα. Επίσης δράση ενζύμων όπως **πρωτεάση** και **σιαλιδάση** συνήθως συνοδεύουν την *G. vaginalis*.

Η αυξημένη ανάπτυξη των ειδών της *Gardnerella* αυξάνει την παραγωγή **αιμολυσίνης**, η οποία επιπλέον σταματάει **κάθε φαγοκυτταρική προστασία**, η οποία άλλως συμβαίνει στο περιβάλλον του κόλπου.

Εργαστηριακή διάγνωση

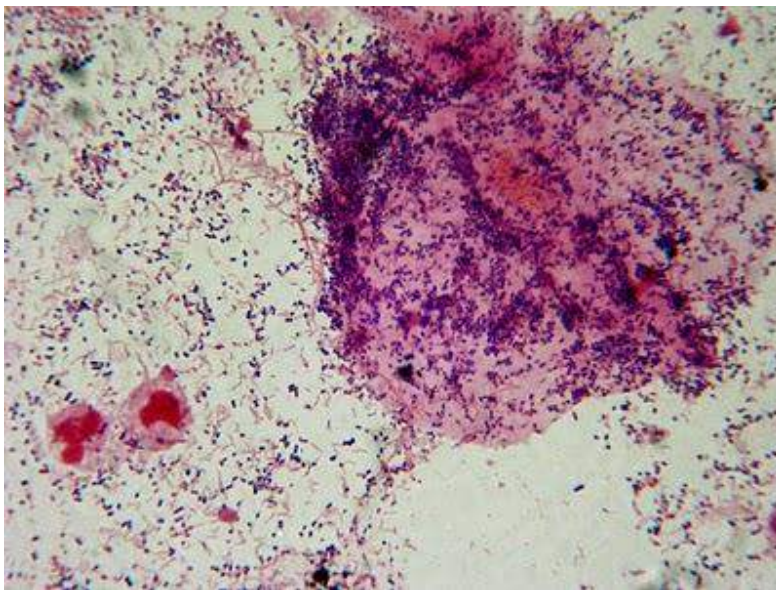
Μικροσκοπική εξέταση κολπικού υγρού

Συνδέεται μικροσκοπικά με τα **clue cells**, τα οποία είναι επιθηλιακά κύτταρα τα οποία καλύπτονται από βακτήρια και τα όρια τους αποκρύβονται. Τα clue cells παρατηρούνται σε ποσοστό 25% περίπου.



Εικ. 53 Κολπικό επίχρισμα . Δεξιά φυσιολογικά επιθηλιακά κύτταρα. Αριστερά clue cells

Στην εικόνα 53 παρατηρούμε αριστερά ένα επιθηλιακό κύτταρο (clue cell) το οποίο είναι καλυμμένο με gram + και gram –ποικίλλοντες βάκιλους (*Gardnerella vaginalis*) και το κύτταρο φαίνεται μωβ. Επίσης παρατηρούμε **την απουσία σημαντικού αριθμού λευκών αιμοσφαιρίων**. Τα δύο επιθηλιακά κύτταρα δεξιά είναι φυσιολογικά και παρατηρούμε gram (θετικούς) λακτοβακίλους (lactobacilli).



Εικ. 54 Χρώση Gram (x1000) η οποία δείχνει επιθηλιακά κύτταρα σκεπασμένα με ποικίλους βακίλους (clue cells).

Στην εικόνα 54 παρατηρούμε gram –ποικίλλοντες βακίλους (*G.vaginalis*), gram-αρνητικούς βακίλους (είδη *Mobiluncus*) και άλλους gram -αρνητικούς βακίλους.

Δοκιμασία amine whiff test

Στην δοκιμασία "amine whiff test προστίθεται 10% KOH στο έκκριμα και παράγεται ένα θετικό αποτέλεσμα (οσμή ψαριού). Η δοκιμασία εμφανίζεται θετική στο 100% των περιπτώσεων.

Διαφοροποίηση μεταξύ της *G. Vaginalis* και *Trichomonas*

Τα συμπτώματα τα οποία προκαλούνται από την *G.vaginalis* ή από τις *Trichomonas* και *Candida albicans*, είναι όμοια αλλά μπορεί να απαιτούν διαφορετική θεραπεία.

Η *Trichomonas vaginalis* και η *Gardnerella vaginalis* έχουν όμοια κλινική παρουσίαση και προκαλούν αφρώδες γρί ή κιτρινοποπράσινο έκκριμα, κνησμό και θετικό "whiff-test.

Η διαφορική διάγνωση γίνεται σε υγρό παρασκεύασμα από στυλεό με κολπικό έκκριμα κάτω από το μικροσκόπιο.

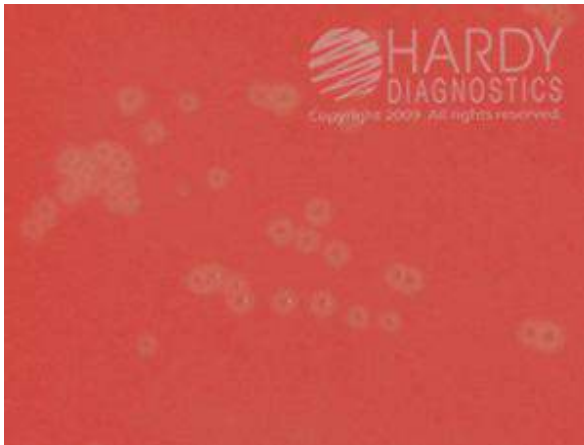
Η *Gardnerella* αποκαλύπτει κλασικά "clue cell" κάτω από το μικροσκόπιο, δεικνύοντας βακτήρια προσκολλημένα στην επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων.

Και οι δύο καταστάσεις θεραπεύονται με metronidazole ή clindamycin

Καλλιέργεια

Η *Gardnerella vaginalis* αναπτύσσεται σαν μικρές ,κυκλικές , κυρτές , γρί, αποικίες σε σοκολατόχρουν άγαρ. Επίσης αναπτύσσεται σε HBT (Human Blood Tween Bilayer Medium) υλικό με 5% αίμα ανθρώπου. Το HBT είναι ένα εκλεκτικό διαφοροδιαγνωστικό υλικό που χρησιμοποιείται για την πρωτογενή απομόνωση και την πιθανή ταυτοποίηση της *Gardnerella vaginalis* από κλινικά δείγματα.

Στην εικόνα 55 παρατηρούμε αποικίες της *Gardnerella vaginalis* (ATCC® 14018) οι οποίες αναπτύσσονται σε V Agar. Στην φωτογραφία αυτή παρατηρούμε μικρές αποικίες με τις ζώνες αιμόλυσης . Η επώαση έχει γίνει σε ατμόσφαιρα CO₂ για 48 ώρες στους 35 degr. C.



Εικ 55 Αποικίες της *Gardnerella vaginalis* (ATCC® 14018) οι οποίες αναπτύσσονται σε V Agar (Cat. no. A80 Hardy diagnostics).

Το V Agar έχει βάσει Columbia Agar Base και ανθρώπινο αίμα, διότι η *G. vaginalis* δίδει β- αιμόλυση σε ανθρώπινο αίμα και όχι σε αίμα προβάτου.

Το V Agar περιέχει πεπτόνες ,εκχύλισμα βοός και εκχύλισμα ζύμης ,το οποίο προμηθεύει τα θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη της *G. vaginalis*. Οι πεπτόνες και το εκχύλισμα βοός είναι πηγές αζωτούχων ουσιών, άνθρακα, θείου και ιχνοστοιχείων . Το εκχύλισμα ζύμης και το άμυλο καλαμποκιού συνεισφέρουν σαν πηγές ενέργειας. Το εκχύλισμα ζύμης είναι πηγή βιταμινών του συμπλέγματος B.

Το V Agar with CNA περιέχει επιπροσθέτως colistin και nalidixic acid για την εκλεκτική απομόμωση gram-θετικών κόκκων και της *G. vaginalis*.

Επίσης η *G. vaginalis* αναπτύσσεται σε εμπλουτιστικά υλικά όπως Peptone –starch dextrose blood agar, proteose peptone, cooked meat, Brain Heart infusion broth+ 5% ανθρώπινο ορό, Brain heart infusion starch agar + 5% ανθρώπινο αίμα .

Οι καλλιέργειες της *Gardnerella vaginalis* δεικνύουν ορισμένες θετικές αντιδράσεις όπως

1. υδρόλυση του άγαρ,
2. ευαισθησία στην **bacitracin** (σχήμα 56)



Εικ 56 *Gardnerella vaginalis* – ευαισθησία στην bacitracin

3. ευαισθησία στην **trimethoprim- metronidazole** 50 microg και **β-αιμόλυση σε αιματούχο άγαρ ανθρώπου.**

4. Ζώνη αναστολής σε δίσκους SPS

Η εμφάνιση ζώνης αναστολής σε δίσκους SPS (Sodium Polyanethol Sulfonate) HardyDisk™ χρησιμοποιείται. Κατόπιν επώασης σε ατμόσφαιρα CO₂ επί 48 ώρες στους 35 deg. C, παρατηρούμε για ζώνη αναστολής (εικόνα 57). Με τους δίσκους HardyDisk™ SPS (Sodium Polyanethol Sulfonate) Identification Disks εκτιμούμε την ικανότητα ενός μικροοργανισμού να αναπτυχθεί παρουσία Sodium Polyanethol Sulfonate.

Οι HardyDisk™ SPS Identification Disks μπορεί να χρησιμοποιηθούν για την πιθανή ταυτοποίηση μικροοργανισμών όπως *Peptostreptococcus anaerobius*, *Gardnerella vaginalis*, and *Haemophilus ducreyi*.



Εικ 57 *Gardnerella vaginalis* (ATCC® 14018) η οποία αναπτύσσει ζώνη αναστολής γύρω από ένα HardyDisk™ SPS Identification Disks.

Επίσης η *Gardnerella vaginalis* δίδει ορισμένες βιοχημικές αντιδράσεις όπως:

1. παραγωγή γαλακτικού οξέος από την γλυκόζη
2. ζύμωση σακχάρων (100% για άμυλο και μαλτόζη, 0% για mannitol και glycerol). Οι δοκιμασίες ζύμωσης των σακχάρων είναι μικρής διαφοροδιαγνωστικής αξίας.

Από τις παραπάνω δοκιμασίες η **β- αιμόλυση σε ανθρώπινο αιματούχο άγαρ** και η ευαισθησία στην **trimethoprim- metronidazole** δίδουν την πλέον ταχεία και ακριβή ταυτοποίηση και την διαφοροδιάγνωση από τα κορυνοβακτηρίδια (διφθεροειδή) και τους λακτοβακίλους.

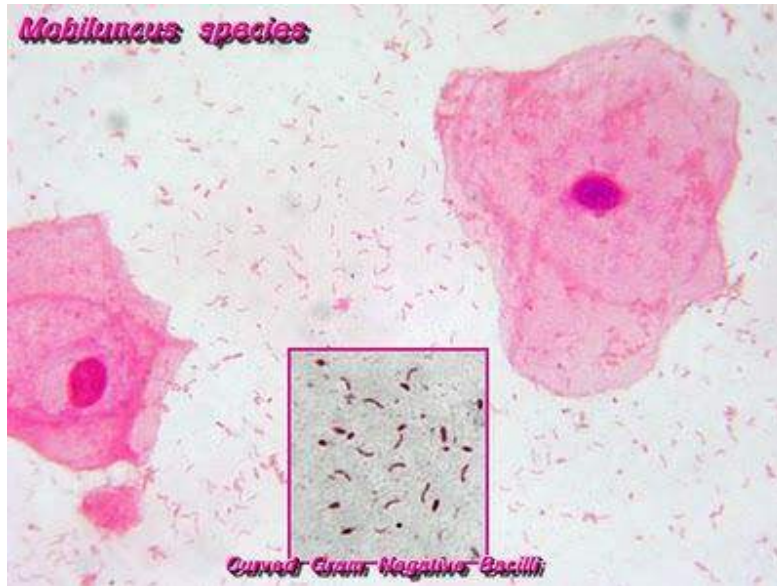
MOBILUNCUS

Αυτοί οι μικροοργανισμοί ευρίσκονται στον ανθρώπινο κόλπο, ειδικά μαζί με την *Gardnerella vaginalis* σε περιπτώσεις μη ειδικής βακτηριακής κολπίτιδας.

Τα είδη *Mobiluncus* συμβάλλουν στην μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα.

Το γένος *Mobiluncus* είναι ένα γένος gram –ποικίλων, αναεροβίων βακτηρίων τα οποία έχουν σχήμα ραβδοειδές ή είναι κεκαμμένα σε σχήμα παρένθεσης .

Στην εικόνα 58 παρατηρούμε σε κολπικό έκκριμα κεκαμμένους gram (-) ή gram-ποικίλλοντες βακίλους ειδών *Mobiluncus*



Εικ. 58 Gram χρώση (x1000)ειδών *Mobiluncus*.

Το κυτταρικό τοίχωμα των βακτηρίων αυτών έχει δομική ομοιότητα με την δομή του τοιχώματος άλλων gram-θετικών κυτταρικών τοιχωμάτων.

Ενώ αυτά τα είδη των βακτηρίων έχουν κυτταρικό τοίχωμα με δομή όμοια με το τοίχωμα άλλων gram (+) βακτηρίων, κατά την χρώση μπορεί να βαφτούν άλλα gram (+) και άλλα gram (-) ή gram ποικίλα.

ΒΑΚΤΗΡΙΟΕΙΔΗ (BACTEROIDES)

Τα βακτηριοειδή είναι ένα γένος gram (-) βακίλων . Οι βάκιλοι χρωματίζονται αχνά, είναι πολύμορφοι και υποχρεωτικώς αναερόβιοι. Τα είδη των βακτηριοειδών δεν παράγουν ενδοσπόρους.

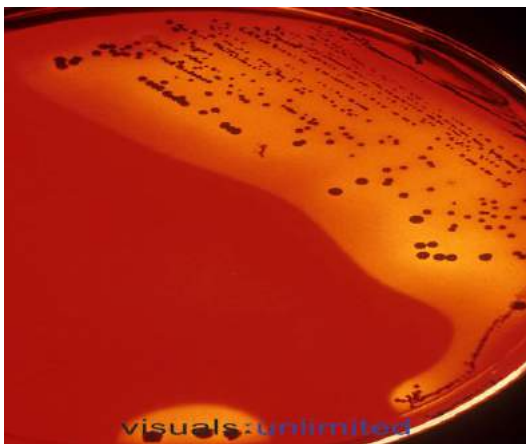
Οι μεμβράνες των βακτηρίων περιέχουν σφινγγολιπίδια (sphingolipids).

Μερικά είδη (*B. polypragmatus*, *B. xylanolyticus*) είναι κινητά μέσω περίτριχων μαστιγίων, ενώ άλλα δεν είναι κινητά.

Τα είδη *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Odoribacter* είναι γενικά ανθεκτικά στην χολή και διακρίνονται από τα είδη τα οποία είναι ευαίσθητα στην χολή.

Πολλές καλλιέργειες στελεχών *Bacteroides* έχουν καφέ ή μαύρη χρωστική σε υλικό αιματούχο, η οποία οφείλεται στην υδρόλυση της **esculin**, η οποία περιέχεται στο θρεπτικό υλικό στο οποίο εμβολιάζονται τα δείγματα.

Ένα από τα πλέον σημαντικά είδη είναι το *Bacteroides fragilis*. Το *Bacteroides melaninogenicus* τελευταία έχει αναταξινομηθεί και περιέχει δύο είδη τα *Prevotella melaninogenicus* και *Prevotella intermedia*. Στην εικόνα 59 παρατηρούμε μαύρες αποικίες της *Prevotella melaninogenica* (πρώην *Bacteroides melaninogenicus*)



Εικ. 59 Καλλιέργεια της *Prevotella melaninogenica* (πρώην *Bacteroides melaninogenicus*)

Παγκοσμίως τα είδη *Bacteroides* ή τα σχετιζόμενα γένη είναι μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας της γαστρεντερικής , της αναπνευστικής οδού, του στόματος και των γυναικείων γεννητικών οργάνων.

Αν και το *Bacteroides fragilis* αποτελεί το 1-2% της φυσιολογικής χλωρίδας του σώματος μας, είναι υπεύθυνο για το 80% των αναεροβίων λοιμώξεων.

Τα βακτηριοειδή αποτελούν το πλέον σημαντικό τμήμα της γαστρεντερικής χλωρίδας των θηλαστικών (ανθρώπων και ζώων όπως σκύλοι ,γάτες και άλλα ζώα) και έχουν ένα υψηλό βαθμό ειδικότητας στον ξενιστή, που αντανακλά τις διαφορές στο πεπτικό σύστημα των ζώων ξενιστών.

Τα βακτηριοειδή (*Bacteroides species*) ευνοούν τον ξενιστή τους αποκλείοντας δυνητικά παθογόνα μικρόβια από τον αποικισμό του εντέρου.

Πρόκειται για ισχυρούς αποδομητές στο έντερο. Μπορούν να χρησιμοποιήσουν απλά σάκχαρα όταν είναι διαθέσιμα. Εν τούτοις οι κύριες πηγές ενέργειας για είδη βακτηριοειδών στο έντερο είναι οι πολύπλοκες γλυκάνες που προέρχονται από τον ξενιστή ή οι φυτικές γλυκάνες.

Οι μελέτες δείχνουν ότι η μακροχρόνια δίαιτα συνδέεται με την σύνθεση της χλωρίδας του εντέρου. Αυτοί οι οποίοι **καταναλίσκουν πρωτεΐνες και ζωϊκά λίπη έχουν κυρίως βακτηριοειδή βακτήρια**, ενώ αυτοί οι οποίοι καταναλίσκουν **περισσότερους υδατάνθρακες επικρατούν τα είδη *Prevotella*.**

Έχουν μικρή δυνατότητα να αναπτύσσονται στο περιβάλλον. Η θερμοκρασία παίζει ένα μεγάλο ρόλο στον χρόνο που τα βακτήρια θα επιβιώσουν στο περιβάλλον, ο χρόνος επιβίωσης αυξάνει σε πιο κρύες θερμοκρασίες (0-4°C).

Παθογένεια των βακτηριοειδών (*bacteroides*)

Οι λοιμώξεις είναι φυσιολογικά ενδογενείς, δηλαδή αρχίζουν από την φυσιολογική χλωρίδα των ιδίων των ασθενών.

Οι λοιμώξεις προκαλούνται από την **μετατόπιση των ειδών *Bacteroides* ή στενά συνδεδεμένων γενών από την φυσιολογική τους θέση στον βλεννογόνο.**

Επίσης οι λοιμώξεις από *Bacteroides* προέρχονται σαν αποτέλεσμα **τραύματος όπως δαγκώματα από ζώα ή από ανθρώπους, καψίματα, ή διείσδυση ξένων αντικειμένων, συμπεριλαμβανομένων και των χειρουργικών εργαλείων .**

Μερικά είδη *B. fragilis*, π.χ είναι **ευκαιριακά παθογόνα μικρόβια**, τα οποία προκαλούν λοιμώξεις της περιτοναϊκής κοιλότητας, σε **γαστρεντερικές χειρουργικές επεμβάσεις και σε σκωληκοειδίτιδα** μέσω της δημιουργίας αποστημάτων, της αναστολή της φαγοκύττωσης και της αδρανοποίησης των αντιβιοτικών της β-λακτάμης.

Είδη τα οποία έχουν σχέση με σήψη, αποστήματα ή χειρουργικές λοιμώξεις περιλαμβάνουν τα *B. caccae*, *B. coagulans*, *B. coprocola*, *B. eggerthii*, *B. fragilis*, *B. massiliensis*, *B. nordii*, *B. ovatus*, *B. plebeius*, *B. pyogenes*, *B. salyersiae*, *B. stercoris*, *B. tectus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. uniformis*, *B. vulgatus* .

Σε συνδυασμό με άλλα δυνητικά ή αυστηρώς αναερόβια βακτήρια τα βακτηριοειδή (*Bacteroides*) είναι υπεύθυνα για την πλειονότητα **εντοπισμένων αποστημάτων δια της εξάπλωσης μέσω του αίματος, στο κρανίο** προκαλώντας χρόνια μέση ωτίτιδα και χρόνια ιγμορίτιδα, **στον θώρακα, στο περιτόναιο, στο ήπαρ, και στην γυναικεία γεννητικό οδό και στην κοιλιά** προκαλώντας **ενδοκοιλιακά αποστήματα** τα οποία συνδέονται με πυρετό, πόνο στην κοιλιά και ευαισθησία κάτω από το διάφραγμα.

Τα φυσιολογικά ευρισκόμενα **στοματοφαρυγγικά *Bacteroides*** μπορεί να προκαλέσουν **στοματικά αποστήματα, οδοντικά αποστήματα και γαγγραινώδη στοματίτιδα** , επίσης μπορεί να προκαλέσουν **πνευμονικά αποστήματα** όταν εισπνευστούν στους πνεύμονες.

***Bacteroides* και μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα**

Το **Bacteroides fragilis** είναι ένα αναερόβιο βακτήριο το οποίο εμπλέκεται στις **γυναικολογικές λοιμώξεις**. Η συχνότητα της κολπικής μικροβιοφορίας δεν είναι γνωστή αλλά υπολογίζεται στο 6.6%.

Τα συμπτώματα είναι όπως περιγράφησαν στην μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα. Το πιο κοινό σύμπτωμα είναι **λευκα-γρι κολπικά εκκρίματα**, τα οποία επίσης μπορεί να έχουν **οσμή ψαριού**.

Εάν οι γυναίκες αποκτήσουν μη ειδική βακτηριακή κολπίτιδα κατά την εγκυμοσύνη τους μπορεί να **αποβάλλουν ή να έχουν πρόωρο τοκετό**. Επίσης οι γυναίκες μπορεί να αποκτήσουν **λοίμωξη μετά τον τοκετό**.

Για τον λόγο αυτό πρέπει οι έγκυες γυναίκες να ελέγχονται εάν υποπτεύονται ή έχουν συμπτώματα.

Λήψη δειγμάτων

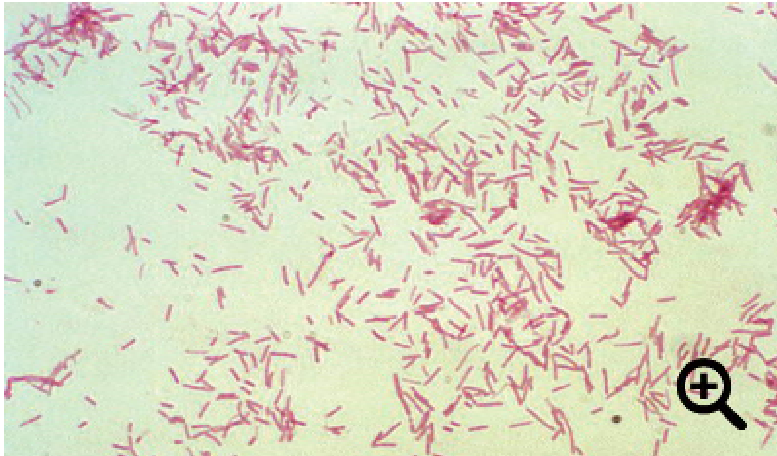
Η λήψη δειγμάτων γίνεται με στυλεό από τον κόλπο . Εάν πρόκειται για αποστήματα οι προτιμότερες μέθοδοι είναι η εισρόφηση του πυώδους υλικού με στείρα σύριγγα μετά από απολύμανση του δέρματος. Τα δείγματα πρέπει να μεταφέρονται από το σημείο συλλογής υπό αναερόβιες συνθήκες.

Εργαστηριακή διάγνωση

Μικροσκοπική εξέταση

Η εμφάνιση πυωδών νεκρωτικών ιστών και η **χαρακτηριστική οσμή** ενός δείγματος , δίδει το κλειδί για την παρουσία αναερόβιας λοίμωξης που προκαλείται από τα *Bacteroides* spp.

Η **Gram χρώση** είναι η πλέον ταχεία και απλή μέθοδος για τον έλεγχο αυτών των μικροοργανισμών. Παρατηρούμε gram (-) πολύμορφα βακτήρια όπως φαίνεται στην εικόνα 60.



Εικ. 60 *Bacteroides fragilis subsp.fragilis*

Καλλιέργεια

Τα *Bacteroides* αναπτύσσονται σε στερεά θρεπτικά υλικά και σε υγρά. Τα βακτήρια αυτά είναι σακχαρολυτικά, ένα χαρακτηριστικό της φυσιολογίας τους που έχει σχέση με την μεθοδολογία του πολλαπλασιασμού τους.

Το βασικό υλικό συνίσταται από **Tryptic Soy Agar (TSA)** και εμπλουτίζεται με τα παρακάτω: 20% χολή (oxgall) για να ερεθίσει την ανάπτυξη της ομάδος *B. fragilis* ενώ συγχρόνως να αναστείλει άλλα αναερόβια, **esculin** και **ferric ammonium citrate** για τον έλεγχο της υδρόλυσης της **esculin**, **hemin** η οποία δρα σα αναπτυξιακός παράγοντας και **gentamicin** η οποία παρεμποδίζει τα περισσότερα δυνητικά αναερόβια βακτήρια.

Τα είδη *Bacteroides* αναπτύσσονται επίσης σε **Brain Heart Infusion broth** εμπλουτισμένο με yeast extract, **hemin** και **menadione**

CDC Anaerobic Blood Agar (CDC or CABA)

Το CDC Anaerobic Blood Agar (CDC ή CABA) είναι ένα εμπλουτισμένο υλικό για την ανάπτυξη και την μερική ταυτοποίηση των υποχρεωτικώς αναεροβίων μικροβίων. Επίσης υποστηρίζει την

καλή ανάπτυξη των αεροβίων, δυνητικώς αναεροβίων και μικροαεροφίλων μικροοργανισμών.

Το CDC Anaerobic Blood Agar έχει σαν βάση tryptic soy agar εμπλουτισμένο με βιταμίνη K1 και hemin για την ταυτοποίηση των πλέον απαιτητικών μικροοργανισμών όπως είναι η *Prevotella*, *Porphyromonas*, και τα *Bacteroides fragilis* και να διευκολύνει την παραγωγή χρωστικής από την *Prevotella melaninogenica*.

Η προσθήκη του αίματος προβάτου διευκολύνει την παρατήρηση της β-αιμόλυσης.

Το υλικό παρασκευάζεται, διανέμεται και πακετάρεται υπό αναερόβιους συνθήκες.

Διάφορες τεχνικές έχουν περιγραφεί για την καλλιέργεια των αναεροβίων χρησιμοποιώντας το αναερόβιο glove box και τις αναερόβιες γιάρες .

Εάν καλού μεγέθους αποικίες παρατηρηθούν μέσα σε 24-48 ώρες από την αρχική καλλιέργεια σε υλικό **BBE (bacteroides bile esculin)** agar, τα απομονωθέντα βακτήρια μπορεί πιθανόν να ταυτοποιηθούν σαν ανήκοντα στην ομάδα των *Bacteroides fragilis*. Επίσης παρατηρείται ευαισθησία στην **metronidazole** όπως φαίνεται στην εικόνα 61. Δεν παρατηρείται ευαισθησία (ζώνη αναστολής) σε δίσκους SPS (Sodium Polyanethol Sulfonate) όπως δίδει η *Gardnerella vaginalis*.



Εικ. 61 *Bacteroides fragilis* αποικίες που έχουν απομονωθεί από αιμοκαλλιέργεια ασθενούς με κοιλιακό απόστημα. Παρατηρούμε την ευαισθησία στην metronidazole.

Μοριακές μέθοδοι -PCR

Οι μοριακές μέθοδοι γίνονται όλο και πιο κοινές σαν διαγνωστικά εργαλεία. Για λοιμώξεις των πλεγών η ταυτοποίηση απαιτεί προσεκτική συλλογή του δείγματος προς αποφυγήν επιμόλυνσης με μικρόβια της φυσιολογικής χλωρίδας .

Έχει χρησιμοποιηθεί η **real-time polymerase chain reaction (PCR)** για τον έλεγχο της παρουσίας των βακτηριοειδών, μέσω της αναπαραγωγής ειδικών DNA αλληλουχιών.

Επίσης έχει μετρηθεί το ποσό των *Bacteroides* χρησιμοποιώντας **qPCR quantitative polymerase chain reaction (qPCR)**, για την ποσοτική μέτρηση του ειδικού για τον ξενιστή **16S rRNA** γενετικού δείκτη.

STREPTOCOCCUS AGALACTIAE (STREPTOCOCCUS GROUP B (GBS))-ΣΤΡΕΠΤΟΚΟΚΚΟΣ ΟΜΑΔΟΣ Β

Streptococcus agalactiae είναι ένας Gram-θετικός κόκκος ,β-αιμολυτικός ο οποίος αναπτύσσεται σε ζεύγη ή μικρές αλυσίδες.

Streptococcus agalactiae (επίσης γνωστός σαν **Group B streptococcus** ή **GBS**) είναι μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του γαστρεντερικού συστήματος και αποικίζει την γεννητική οδό των γυναικών της αναπαραγωγικής ηλικίας. Ο αποικισμός του κόλπου προέρχεται από τη γαστρεντερική οδό.

Εξαρτωμένου από την χρήση ειδικών υλικών και του αριθμού των ανατομικών σημείων που λαμβάνονται τα δείγματα το **14%–25%** των γυναικών έχουν τον **στρεπτόκοκκο ομάδος B (GBS)** σαν συστατικό της **κολπικής τους χλωρίδας**.

Στις αγελάδες, τα άλογα, τους σκύλους, τα κουνέλια, τα ινδικά χοιρίδια και τα ποντίκια, οι **στρεπτόκοκκοι ομάδος B (GBS)** είναι μέρος της **γαστρεντερικής τους οδού και του κόλπου**.

Οι στρεπτόκοκκοι ομάδος B (GBS) συχνά απομονώνονται μαζί με τους *lactobacilli*, *G. vaginalis*, coagulase-αρνητικούς σταφυλοκόκκους και τους εντεροκόκκους. Οι μικροοργανισμοί αυτοί αναστέλλουν την ανάπτυξη των στρεπτοκόκκων. Αντιθέτως η ικανότητα των στρεπτοκόκκων της ομάδας B (GBS) να αναστέλλει την ανάπτυξη των άλλων βακτηρίων απαιτεί υψηλή παρουσία στρεπτοκόκκων GBS η οποία δεν παρουσιάζεται συχνά *in vivo*.

Παραγωγή νόσου

Οι στρεπτόκοκκοι της ομάδας B (GBS) είναι η κυρίως **αιτία της λοίμωξης της περιγεννητικής περιόδου** (5 μήνες πριν και ένα μήνα μετά την γέννηση) και της **μητρικής σηψαιμίας μετά τον τοκετό** (πυρετός της μητέρας μετά τον τοκετό).

Η όλη συχνότητα της νόσου είναι **1.2–3 περιπτώσεις ανά 1000 τοκετούς με ζωντανά έμβρυα**. Πρόκειται για **κάθετη μετάδοση στα νεογνά από τις μητέρες πριν ή κατά την διάρκεια του τοκετού**.

Στα νεογέννητα προκαλεί **σήψη, πνευμονία και μηνιγγίτιδα** κυρίως την πρώτη εβδομάδα της ζωής μέχρι και λίγους μήνες μετά την γέννηση.

Στοιχεία τα οποία συντελούν στην παραγωγή της νόσου

Στοιχεία τα οποία συντελούν στην παραγωγή νόσου είναι εκτός της **μικροβιοφορίας του μικροοργανισμού στον κόλπο της μητέρας** και η παρουσία **ασυμπτωματικής στρεπτοκοκκικής B (GBS) βακτηριουρίας στην μητέρα**.

Ενήλικες με σοβαρές λοιμώξεις που δεν έχουν σχέση με την εγκυμοσύνη, είναι συνήθως μεγαλύτερα άτομα που έχουν υποκείμενη νόσο όπως διαβήτης, κάμψη του ήπατος, κακοήθεια, AIDS ή νεφρική ανεπάρκεια. Στα άτομα αυτά παρατηρείται λοίμωξη του δέρματος και των ιστών, βακτηριαιμία, λοίμωξη της ουρογεννητικής οδού και πνευμονία.

Γενετική προϋπόθεση των στρεπτοκόκκων της ομάδας B για την παραγωγή νόσου.

Σε έρευνα η οποία έγινε **στελέχη τα οποία απομονώθηκαν** από νεογνήτα με στρεπτοκοκκική GBS σηψαιμία, έδειξαν ότι οι GBS στρεπτόκοκκοι **είχαν μεγαλύτερη ικανότητα να προσκολλώνται στα επιθηλιακά κύτταρα** παρά τα στελέχη τα οποία προήρχοντο από νεογνήτα χωρίς σηψαιμία.

Άλλη γενετική προϋπόθεση για την παραγωγή νόσου είναι η **υψηλή ικανότητα των στρεπτοκόκκων της ομάδος B να πολλαπλασιάζονται.**

Λοιμογόνος δράση

Η λοιμογόνος δράση και η παθογένεια του *S.agalactiae* οφείλεται σε μεγάλους λοιμογόνους παράγοντες όπως **δύο τοξίνες η β-αιμολυσίνη –κυτοσίνη β-H/C ένας αντιφαγοκυτταρικός καψιδιακός πολυσακχαρίτης και ο παράγοντας CAMP**

Με τους παράγοντες **β-H/C** εισβάλλει στα επιθηλιακά και στα ενδοθηλιακά κύτταρα των πνευμόνων και στον φραγμό του αίματος-εγκεφάλου. Επίσης ο παράγοντας αυτός προσβάλλει την καρδιακή λειτουργία, προάγει την ηπατική ανεπάρκεια και προκαλεί νευρολογικά επακόλουθα .

Ο παράγων CAMP είναι μία κυττολυτική πρωτεΐνη η οποία συνδέεται με τα Fc κλάσματα των ανοσοσφαιρινών IgG.

Προφύλαξη

Ο μόνος τρόπος για την **προφύλαξη της πρώιμης έναρξης της νόσου** από τον στρεπτόκοκκο GBS στα νεογνά από μητέρες φορείς είναι παραδοσιακά μία **καλλιέργεια κολπικού υγρού και της ορθοπρωκτικής περιοχής** την 35-37^η εβδομάδα της εγκυμοσύνης.

Με την αναγνώριση του στρεπτοκόκκου GBS και την θεραπεία έχουμε πτώση της τιμής της θνησιμότητας.

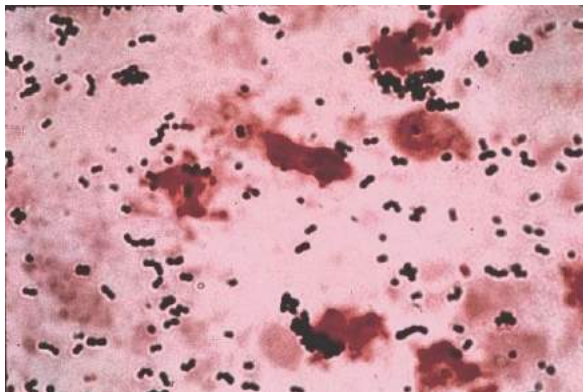
Λήψη δειγμάτων

Η λήψη των δειγμάτων για την απομόνωση του στρεπτοκόκκου GBS γίνεται από τον κόλπο και την ορθοπρωκτική περιοχή με βαμβακοφόρο στυλεό.

Επίσης δείγματα μπορεί να ληφθούν από αίμα ,ούρα ή ENY .

Άμεσο παρασκεύασμα

Παρατηρούμε gram (θετικούς) κόκκους, μη κινητούς, μη σπορογόνους, σφαιροειδείς ή ωοειδείς, διαμέτρου λιγότερο από 2 μm, με διάταξη σε ζεύγη ή σε μικρές αλυσίδες όπως φαίνεται στην εικόνα 62.

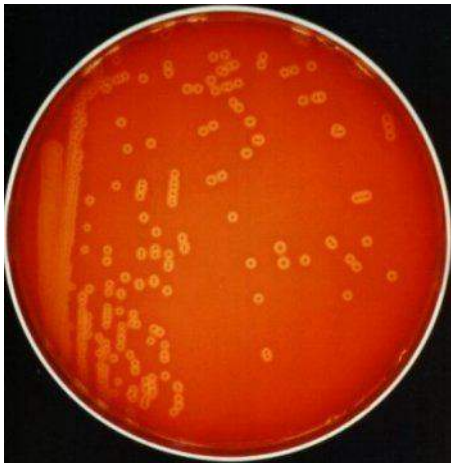


Εικ. 62 *Streptococcus agalactiae*

Καλλιέργεια

Η καλλιέργεια γίνεται σε εμπλουτισμένο ζωμό και ακολουθεί ανακαλλιέργεια σε Blood agar ή άλλα κατάλληλα υλικά.

Μετά από εμβολιασμό σε αιματούχο άγαρ με **αίμα προβάτου ή σε Columbia Horse Blood Agar** παρατηρούμε β-αιμολυτικές αποικίες. Οι αποικίες του *Streptococcus agalactiae* είναι γκρι ή λευκωπές -γκρι αποικίες όταν αναπτύσσονται σε αιματούχο άγαρ με αίμα προβάτου. Οι αποικίες είναι β-αιμολυτικές προκαλώντας λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων όπως παρατηρούμε στην εικόνα 63.



Εικ. 63 *Streptococcus agalactiae* (Group B *Streptococcus*) σε Columbia-Blood agar. Οι αποικίες περιβάλλονται από στενή ζώνη αιμόλυσης.

Χρωμογόνα άγαρ

Ελαττώνουμε την ανάγκη εμπλουτιστικών υλικών ή επανακαλλιέργειας χρησιμοποιώντας χρωμογόνα άγαρ. Απλώς εμβολιάζουμε το δείγμα στο χρωμογόνο τρυβλίο και διαβάζουμε το αποτέλεσμα σε 24 ώρες.

Το χρωμογόνο άγαρ Thermo Scientific™ Brilliance™ GBS Agar είναι ειδικό για τον GBS στρεπτόκοκκο στο οποίο οι αποικίες εμφανίζονται σε 24 ώρες και έχουν χρώμα μωβέ, όπως παρατηρούμε στην εικόνα 64. Δεν

απαιτούνται επιπλέον βήματα για την ταυτοποίηση .



Εικ. 64 *Streptococcus agalactiae* (Group B Streptococcus) σε **Thermo Scientific™ Brilliance™ GBS Agar**

Σε χρωμογόνο άγαρ **ChromID CPS Agar** οι αποικίες έχουν χρώμα πρασινογαλάζιο όπως φαίνεται στην εικόνα 65. Πρόκειται για απομονωθέν στέλεχος από δείγμα ούρων από έγκυο γυναίκα 39 εβδομάδων.



Εικ. 65 *Streptococcus agalactiae* (Group B Streptococcus) σε **ChromID CPS chromogenic**

Εμπλουτισμένος ζωμός Strep B Carrot Broth™ με ενσωματωμένες **χρωστικές** αναγνωρίζεται τώρα από το CDC (center for disease control) για την προστασία από την περιγεννητική νόσο που προκαλείται από τον στρεπτόκοκκο GBS.

Ο ζωμός Strep B Carrot Broth™ έχει αυξημένη ευαισθησία και ειδικότητα και ελαττώνει τον χρόνο επώασης και την χρησιμοποίηση περισσότερων τρυβλίων. Η παραγωγή χρωστικής **πορτοκαλί, κόκκινη ή καφεοειδή** είναι χαρακτηριστική του αιμολυτικού στρεπτοκόκκου GBS και οφείλεται στην αντίδραση με το υπόστρωμα όπως είναι το άμυλο, η πεπτόνη, ο ορός και οι αναστολείς της οδού του φυλλικού οξέος.

Για τον έλεγχο των μη αιμολυτικών στελεχών των στρεπτοκόκκων GBS τα οποία είναι το 0.5-4.7 % χρησιμοποιείται ένα συνοδευτικό υλικό το GBS Detect™ για την ανακαλλιέργεια του αρνητικού Strep B Carrot Broth™. Το υλικό αυτό περιέχει εκλεκτικά υλικά και παράγοντες που επιταχύνουν την αιμόλυση, ώστε να κάνουν τα μη αιμολυτικά στελέχη να εμφανίσουν αιμόλυση.

Τυποποίηση με την μέθοδο ομαδοποίησης κατά Lancefield (ομάδες A,B,C,D,F,G)

Οι αποικίες τυποποιούνται ορολογικά κατά **Lancefield**. Στην εικόνα 66 παρατηρούμε ένα σετ τυποποίησης των στρεπτοκόκκων PL030HD, StrepPRO™ Streptococcal Grouping Kit. Πρόκειται για ταχεία συγκόλληση latex για τις ομάδες του *Streptococcus* κατά Lancefield A,B,C,D,F,G. Το σετ περιλαμβάνει και τα αντίστοιχα controls.



Εικ.66 Το set και η διαδικασία τυποποίησης των στρεπτοκόκκων κατά Lancefield.

Εάν στο εργαστήριο δεν διατίθενται χρωμογόνα άγαρ ή εάν δεν είναι δυνατή η τυποποίηση της Ομάδας Β του στρεπτοκόκκου με την **μέθοδο ομαδοποίησης κατά Lancefield**, τότε χρησιμοποιούμε την **δοκιμασία CAMP (Christie, Atkinson, Munch, Peterson)**. Η δοκιμασία αυτή βασίζεται στην ικανότητα των GBS στρεπτοκόκκων να παράγουν τον παράγοντα CAMP, ενώ οι περισσότεροι άλλοι στρεπτόκοκκοι δεν παράγουν τον παράγοντα CAMP.

Με την δοκιμασία CAMP διακρίνουμε τα είδη των αιμολυτικών στρεπτοκόκκων π.χ ο *streptococcus pyogenes* ή *A Streptococcus (GAS)* είναι CAMP αρνητικός όπως και άλλοι αιμολυτικοί στρεπτόκοκκοι.

Η εικόνα 67 δείχνει το CAMP test ενός *B streptococcus (GBS)* (αριστερά), και *A streptococcus (GAS)* (δεξιά).

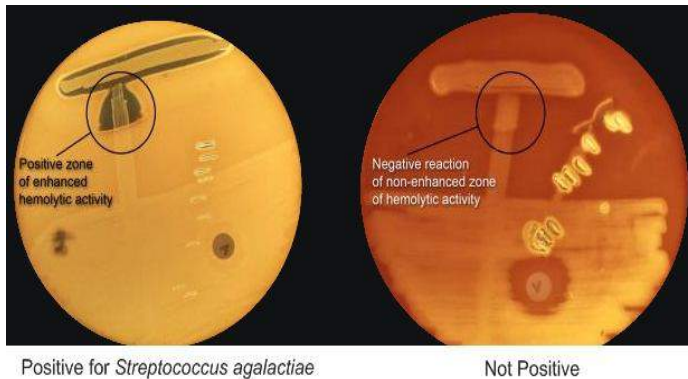
Στο επάνω μέρος του τρυβλίου (αιματούχο άγαρ προβάτου) έχει εμβολιασθεί σε οριζόντια γραμμή ένα στέλεχος *Staphylococcus*. Στην συνέχεια εμβολιάσθηκε ο GBS (αριστερά) και ένας GAS (δεξιά) κάθετα ως προς την γραμμή του σταφυλοκόκκου, με προσοχή ώστε οι δύο γραμμές των κόκκων να μη έλθουν σε επαφή.

Ο *Staphylococcus* χρησιμοποιείται γιατί παράγει μία λυσίνη, η οποία μόνο μερικώς λύει τα ερυθρά κύτταρα (β-λυσίνη).

Ο παράγοντας CAMP αντιδρά με τα μερικώς λυθέντα κύτταρα και επιταχύνει την αιμολυτική δράση.

Παρατηρούμε στην περιοχή μέσα στον κύκλο την επιτάχυνση της αιμολυτικής δράσης από τον GBS (αριστερά) κοντά στην γραμμή του *Staphylococcus* .

Επίσης στην ίδια εικόνα παρατηρούμε ένα θετικό τεστ bacitracin (ζώνη αναστολής) χαρακτηριστική του GAS .



Εικ. 67 CAMP τεστ (Christie-Atkins-Munch-Petersen) για την ταυτοποίηση του *Streptococcus agalactiae* (Group B).

Μοριακές μέθοδοι

Τελευταίες εξελίξεις στην **Real-time PCR** και στις τεχνολογίες **σήμανσης με φθορίζουσες ουσίες GBS PNA FISH (peptide nucleic acid fluorescence in situ hybridization)** δίδουν νέα ώθηση στην ταυτοποίηση των μικροοργανισμών.

Οι ειδικές **GBS- PCR μέθοδοι** που χρησιμοποιούν νέες τεχνολογίες υπόσχονται ευαίσθητο και ειδικό έλεγχο του στρεπτοκόκκου GBS κατ' ευθείαν από τα κλινικά δείγματα. **Η εφαρμογή αυτή θα απλοποιήσει την πρακτική προστασίας των εγκύων.**

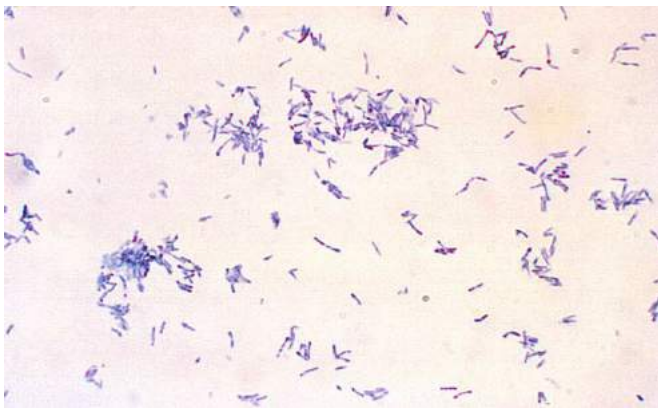
KORYNEBACTERIUM (DIPHTHEROIDS) –ΔΙΦΘΕΡΟΕΙΔΗ

Τα κορυνοβακτηρίδια είναι ένα γένος gram (+) καταλάση (+), μη σπορογόνων, μη κινητών ραβδίων, ευθέων ή ελαφρώς κεκαμμένων, πλειομόρφων ή ελλειπτικών όπως φαίνονται στην εικόνα 68.

Το μέγεθος τους είναι συνήθως 2-6 μm σε μήκος και 0.5 μm σε διάμετρο. Τα βακτήρια ομαδοποιούνται σε σχηματισμούς "V" ή κινέζικα γράμματα. Κυρίως υπάρχει πάχυνση στο ένα άκρο, τούτου εξαρτωμένου από τις

συνθήκες του περιβάλλοντος. Τα μεταχρωματικά κοκκία συνήθως αντιπροσωπεύουν περιοχές αποθηκευμένων φωσφορικών.

Πρόκειται για **αερόβια ή δυνητικά αναερόβια βακτήρια**. Τα κύρια χαρακτηριστικά του γένους *Corynebacterium* έχουν περιγραφεί από τους Collins και Cummins το 1986.



Εικ. 68 Γένος *Corynebacterium* (ραβδία ευθέα ή ελαφρώς κεκαμμένα, πλειομόρφα ή ελλειπτικά).

Ποία βακτήρια ονομάζονται διφθεροειδή

Κάθε βακτήριο του γένους *Corynebacterium*, το οποίο ομοιάζει με τον βάκιλο της διφθερίτιδας αλλά δεν παράγει την διφθεριτική τοξίνη ονομάζεται διφθεροειδές. **Ο όρος διφθεροειδή χρησιμοποιείται για να αντιπροσωπεύσει τα κορνοβακτηρίδια τα οποία δεν είναι φαινομενικά παθογόνα.**

Διανέμονται ευρέως στην φύση (χώμα, φυτά και προϊόντα τροφών) και είναι συνήθως αβλαβή. Μερικά είδη χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία όπως το *C. glutamicum* το οποίον χρησιμοποιείται για την παραγωγή γλουταμινικού οξέος (glutamic acid) υπό αερόβιες συνθήκες για την παρασκευή της σάλτσας σόγιας και του γιαουρτιού.

Τα διφθεροειδή είναι συνήθως **σαπρόφυτα του δέρματος και των βλεννογόνων των ανθρώπων και των ζώων** και θεωρούνται μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας .

Τα διφθεροειδή κοινώς απομονώνονται σε καλλιέργειες στο εργαστήριο αλλά κυρίως θεωρούνται σαν επιμολύνσεις . **Εν τούτοις υπάρχει μαρτυρία ότι αυτοί οι μικροοργανισμοί μπορεί να προκαλέσουν μία ευρεία γκάμα λοιμώξεων** ειδικά σε ανοσοκατασταλαμένους ασθενείς όπως διαβητικοί, λαμβάνοντες μοσχεύματα, μολυσμένοι με τον ιό HIV, καρκινοπαθείς, γέροντες κ.τ.λ.

Άρα πρέπει να είμαστε ενήμεροι για την δυνατότητα τους να προκαλέσουν νόσο και επίσης σαν νοσοκομειακά παθογόνα. Αναφέρεται περίπτωση γυναικός η οποία έπασχε από διαβήτη και είχε δυτερογενή μόλυνση ερπητικών ελκών στα **γεννητικά όργανα** από *Corynebacterium amycolatum*. Η **οξεία ενδομητρίτιδα** σημαντικά συνδέεται με διφθεροειδή βακτήρια όπως παρατηρούμε στον πίνακα IV.

Microorganism	Percentage of women
<i>Chlamydia trachomatis</i>	9.9
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	13.4
<i>Mycoplasma hominis</i>	6.8
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	6.8
H ₂ O ₂ -producing <i>Lactobacillus</i> species	7.6
Non-H ₂ O ₂ -producing <i>Lactobacillus</i> H ₂ O ₂ species	8.6
Diphtheroids	11.2
<i>Gardnerella vaginalis</i>	30.9
Group B <i>S treptococcus</i> species	8.3
<i>Enterococcus</i> species	3.6
Viridans streptococci	12.9
Coagulase-negative <i>Staphylococcus</i> species	6.8
<i>Escherichia coli</i>	2.5
Any anaerobic gram-negative rod ^a	21.9
Black-pigmented gram-negative rod	10.8
Nonpigmented gram-negative rod	15.1
<i>Bacteroides fragilis</i> ^b	0.7
<i>Fusobacterium</i> species ^c	0.7
Any anaerobic gram-positive cocci ^d	15.8
Anaerobic <i>S treptococcus</i> species	4.7
Bacterial vaginosis ^e	53.5

^a Selected gram-negative anaerobes include *Prevotella bivia*, *Prevotella disiens*, *Prevotella oralis/veroralis*, *Prevotella oulora/veroralis*, *Prevotella buccalis/oralis*, *Prevotella oris/buccae*, *Prevotella species*, *Bacteroides ureolyticus*, anaerobic nonpigmented gram-negative rods, black anaerobic negative rod, *Prevotella intermedia*, *Prevotella corporis*, *Prevotella denticola/loeschii*, *Prevotella denticola/melaninogenica*, *Porphyromonas asaccharolytica*, *Porphyromonas endodontalis/asaccharolytica*, *Bacteroides levii*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides distasonis*, *Bacteroides ovatus*, *Bacteroides caccae*, *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides merdae*, *Bacteroides species*, *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium species*, and *Veillonella species*.

^b Selected anaerobes include *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. distasonis*, *B. ovatus*, *B. caccae*, *B. uniformis*, *B. vulgatus*, *B. merdae*, and *Bacteroides species*.

^c Selected anaerobes include *F. nucleatum*, *Fusobacterium species*, and *Veillonella species*.

^d Selected anaerobic gram-positive cocci include: *Peptostreptococcus anaerobius*, *Peptostreptococcus asaccharolyticus*, *Peptostreptococcus magnus/micros*, *Peptostreptococcus prevotii*, *Peptostreptococcus tetradius*, *Peptococcus niger*, *Peptostreptococcus species*, and unspiciated anaerobic gram-positive cocci.

^e Bacterial vaginosis was determined using vaginal Gram stain.

Πίνακας IV. Συχνότητα μικροοργανισμών που απομονώνονται από το ενδομήτριο γυναικών με κλινικά διαγνωσμένη φλεγμονώδη νόσο.

Το *C. Diphtheriae* προκαλεί την διφθερίτιδα στον άνθρωπο, μόνο εάν αντιδράσει με ένα βακτηριοφάγο και το βακτήριο μετασχηματισθεί από ένα γονίδιο από τον β-προφάγο.

Η λοιμώδης ενδοκαρδίτιδα η οποία προκαλείται από τα *Corynebacterium* spp. ήδη έχει αναγνωρισθεί από το 1932 και προκαλείται συνήθως εάν υπάρχουν ενδοκαρδιακές συσκευές .

Το *C. tenuis* πιστεύεται ότι προκαλεί τριχομυκητίαση στις παλάμες και στις μασχάλες, το *C. striatum* μπορεί να προκαλέσει κακοσμία στις μασχάλες και το *C. minutissimum* προκαλεί το ερύθρασμα .

Άλλα παθογόνα είδη στους ανθρώπους είναι τα: *C. amicolatum*, *C. striatum*, *C. jeikeium*, *C. urealyticum*, and *C. xerosis* τα οποία είναι παθογόνα σε ανοσοκατασταλαμένους ασθενείς.

Παθογόνα είδη στα ζώα είναι τα *C. bovis* and *C. renale*

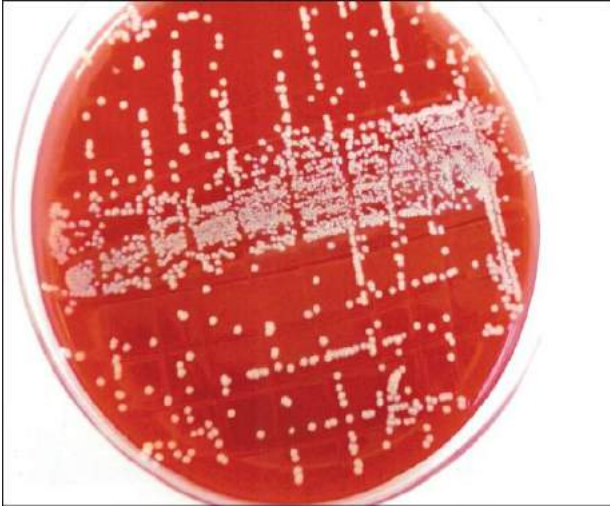
.Εργαστηριακή διάγνωση

Άμεσο παρασκεύασμα κατά gram

Παρατηρούμε gram- (θετικούς) μικροοργανισμούς όπως ήδη περιεγράφησαν.

Καλλιέργεια

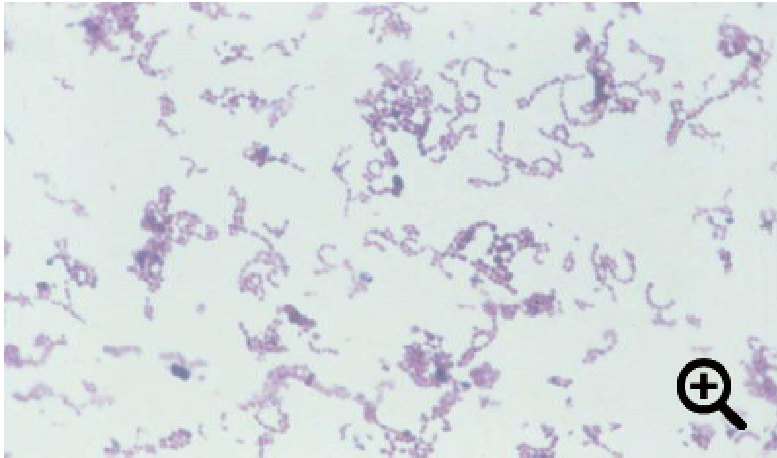
Η καλλιέργεια γίνεται σε αιματούχο θρεπτικό υλικό όπως φαίνεται στην εικόνα 69- . Οι αποικίες είναι λευκές, κηρώδεις με πλήρη άκρα.



Εικ. 69 Καλλιέργεια άκρης καθετήρα σε Blood agar που δείχνει την καθαρή ανάπτυξη Diphtheroids.

PEPTOSTREPTOCOCCUS

Το γένος *Peptostreptococcus* είναι κοκκοβάκιλοι διαμέτρου 0.5-0.7 μm, πλεόμορφα, υποχρεωτικώς αναερόβια gram (θετικοί) μικροοργανισμοί, μη σπορογόνοι, καταλάση αρνητικοί και οξειδάση αρνητικοί. Οι μικροοργανισμοί υπάρχουν σε μικρές αλυσίδες ή σε ζευγάρια ή μόνα όπως παρατηρούμε στην εικόνα 70. Παλαιότερα τα είδη του *Peptostreptococcus* ανήκαν στο γένος *Peptococcus*.



Εικ. 70 *Peptostreptococcus* spp.

Οι πεπτοστρεπτόκοκκοι είναι το δεύτερο πιο συχνό απομονούμενο αναερόβιο βακτήριο και υπεύθυνο για το 26% των αναεροβίων απομονούμενων βακτηρίων.

Πρόκειται για βακτήρια τα οποία αναπτύσσονται αργά και παρουσιάζουν αυξημένη αντοχή στα αντιβιοτικά αλλά είναι ευαίσθητα στα αντιβιοτικά της β-λακτάμης.

Οι πεπτοστρεπτόκοκκοι είναι σαπροφυτικοί οργανισμοί στους ανθρώπους που ζουν κυρίως στο στόμα, στο δέρμα, στην γαστρεντερική οδό, στον **κόλπο και στην ουροφόρο οδό**.

Προκαλούν αποστήματα του εγκεφάλου, του ήπατος καθώς και γενικευμένες νεκρωτικές λοιμώξεις των ιστών. Το γένος *Peptostreptococcus* είναι το μόνο γένος ανάμεσα στους αναερόβιους gram (θετικούς) κόκκους που ενέχεται σε κλινικές λοιμώξεις. Επίσης οι μικροαερόφιλοι στρεπτόκοκκοι είναι κλινικής σημασίας.

Τα πιο συχνά είδη του γένους *Peptostreptococcus* τα οποία ευρίσκονται στις λοιμώξεις είναι *P. magnus* (18% όλων των αναεροβίων gram (θετικών) κόκκων και των μικροαεροφίλων στρεπτοκόκκων), *P. asaccharolyticus* (17%), *P. anaerobius* (16%), *P. prevotii* (13%), *P. micros* (4%), *Peptostreptococcus saccharolyticus* (3%), και *Peptostreptococcus intermedius* (2%).

Οι *P. asaccharolyticus* και *P. anaerobius* απομονώνονται σε γυναικολογικές και μαιευτικές λοιμώξεις, όπως επίσης από την αναπνευστική οδό και τις πληγές. Οι *P. micros*, *P. vaginalis*, *P. tetradius* επίσης απομονώνονται από την ουρογεννητική οδό των γυναικών.

Συνήθως λαμβάνουν μέρος σε λοιμώξεις οι οποίες προκαλούνται από πολλαπλά βακτήρια τα οποία είναι αερόβια ή αναερόβια. Αυτό καθιστά την απομόνωση τους δύσκολη από τα κλινικά δείγματα. Οι μικτές λοιμώξεις από αερόβια και αναερόβια βακτήρια προέρχονται από την χλωρίδα των βλεννογόνων οι οποίοι είναι κοντά στα σημεία της λοίμωξης. Η δράση αυτή των βακτηρίων είναι συνεργητική.

Βάσει της ομολογίας του DNA και του πολυπεπτιδικού προτύπου των κυττάρων πολλά είδη βακτηρίων έχουν επανανομαστεί και επαναταξινομηθεί. Οι μικροοργανισμοί *Gaffkya anaerobia* έχουν μετονομαστεί σε *Peptostreptococcus tetradius*. Οι *Peptococcus* ή *Peptostreptococcus parvulus* και *morbilorum* έχουν μετονομαστεί σε *Streptococcus parvulus* και *Streptococcus morbillorum*.

Λοιμώξεις από *Peptostreptococcus*

Οι λοιμώξεις από *Peptostreptococcus* παρατηρούνται κυρίως σαν χρόνιες λοιμώξεις. Οι περιοχές οι οποίες παρουσιάζουν την μεγαλύτερη αφθονία απομονούμενων πεπτοστρεπτοκόκκων είναι **οι γυναικολογικές και μαιευτικές περιοχές (35%)**, τα οστά (39%), οι κύστες (40%) και τα αυτιά (53%), αλλά μπορεί να απομονωθούν από την κοιλιά, τους λεμφαδένες και τα μάτια. Προκαλούνται επίσης λοιμώξεις του ΚΝΣ, άνω αναπνευστικής οδού, οδοντικές λοιμώξεις, βακτηριαμία, ενδοκαρδίτιδα, πλευροπνευμονικές λοιμώξεις, λοιμώξεις της κοιλιάς, **πυελικές λοιμώξεις στις γυναίκες.**

Πυελικές λοιμώξεις στις γυναίκες

Οι αναερόβιοι gram (+) κόκκοι και οι μικροαερόφιλοι στρεπτόκοκκοι απομονώνονται στο 25-50% των ασθενών με **ενδομητρίτιδα, πυόδερμα, πυελικά αποστήματα, αποστήματα βαρθολινίων αδένων, μετεγχειρητικές πυελικές λοιμώξεις ή πυελικές φλεγμονώδεις νόσους.**

Οι μικροοργανισμοί προέρχονται από την κολπική χλωρίδα ή την χλωρίδα του τραχήλου.

Οι αναερόβιοι gram (+) κόκκοι γενικά ευρίσκονται μαζί με τους μικροοργανισμούς *Prevotella bivia* και *Prevotella disiens*.

Πρόκληση λοίμωξης

Οι λοιμώξεις κυρίως προκαλούνται σε ανοσοκατασταλμένα άτομα όπως τα λαμβάνοντα στεροειδή, άτομα με αγγειακά νοσήματα, με κακοήθεια, διαβήτη, δρεπανοκυτταρική αναιμία, άτομα μετά από χειρουργικές επεμβάσεις επιμόλυνση τραυμάτων. Τα παιδιά είναι περισσότερα ευαίσθητα.

Η βραδεία ανάπτυξη των πεπτοστρεπτοκόκκων μαζί με την αυξημένη αντοχή στα αντιβιοτικά και η πολυμικροβιακή φύση της λοίμωξης **περιπλέκουν την θεραπεία**. Όταν πεπτοστρεπτόκοκκοι και άλλα αναερόβια βακτήρια απομονώνονται τότε απαιτείται **επιθετική θεραπεία**, ώστε να προληφθεί η χρόνια λοίμωξη.

Λήψη δειγμάτων

Οι πεπτοστρεπτόκοκκοι και οι μικροαερόφιλοι στρεπτόκοκκοι είναι δύσκολο να απομονωθούν και πολλές φορές παραβλέπονται. Επίσης επειδή είναι μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του δέρματος μπορεί εύκολα να επιμολυνθούν τα δείγματα.

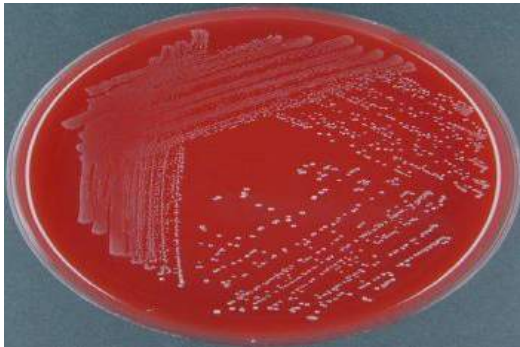
Η απομόνωση τους απαιτεί κατάλληλες μεθόδους **συλλογής των δειγμάτων, μεταφοράς και επώασης**.

Εργαστηριακή διάγνωση

Καλλιέργεια

Σε αιματούχο άγαρ υπό αναερόβιες συνθήκες αναπτύσσονται αποικίες μετρίου μεγέθους διαμέτρου (0.5-2mm), γκρι χρώματος με γυαλίζουσες επιφάνειες. Τα άκρα τους είναι πλήρη κυκλικά και είναι ελαφρώς κυρτές και υπερυψωμένες, όπως παρατηρούμε στην εικόνα 71. Οι αποικίες

αναπτύσσονται σε 24 ώρες και αποδίδουν μία γλυκιά οσμή λόγω της παραγωγής ισοκαπροϊκού οξέος.



Εικ. 71 Αποικίες *Peptostreptococcus indolicus*.

Οι πεπτοστρεπτόκοκκοι παρουσιάζουν ευαισθησία σε δίσκους Sodium Polyanethol Sulfonate (SPS). Η διάμετρος ευαισθησίας είναι 12 mm.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Araki H, Kuriyama T, Nakagawa K, Karasawa T. The microbial synergy of *Peptostreptococcus micros* and *Prevotella intermedia* in a urine abscess model. *Oral Microbiol Immunol*. Jun 2004;19(3):177-81.

"Bacteroides Infection: Overview - eMedicine". Archived from the original on 22 December 2008. Retrieved 2008-12-11.

Borhart J - *Emerg Med Clin North Am* - August, 2011; 29(3); 587-603

Canganella F, Paganini S, Ovidi M, et al. *A microbiology investigation on probiotic pharmaceutical products used for human health*. *Microbiol Res* 1997;152:171-9.

Brook I. *Anaerobic Infections*. In: *Diagnosis and Management*. 4th Edition. New York: Informa Healthcare USA inc; 2007.

Bryan Larsen, Gilles R.G. Monif. Understanding the Bacterial Flora of the Female Genital Tract *Clin Infect Dis.* (2001) 32 (4): e69-e77.

Canganella F, Paganini S, Ovidi M, et al
A microbiology investigation on probiotic pharmaceutical products used for human health. *Microbiol Res* 1997;152:171-9.

Catherine L. Haggerty, Sharon L. Hillier, Debra C. Bass, Roberta B. Ness, and PID Evaluation and Clinical Health (PEACH) Study Investigators
Bacterial Vaginosis and Anaerobic Bacteria Are Associated with Endometritis *Clin Infect Dis.* (2004) 39 (7): 990-995.

CDC, *Trends in Reportable Sexually Transmitted Diseases in the United States, 2007.* Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 13 January 2009. Retrieved 2 August 2011.

CDC, Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2009). "Trends in perinatal group B streptococcal disease - United States, 2000-2006". *MMWR. Morbidity and mortality weekly report* **58** (5): 109–12.

CDC, *STD Trends in the United States: 2010 National Data for Gonorrhea, Chlamydia, and Syphilis.* Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 22 November 2010. Retrieved 20 November 2011, *DS* **19** (3): 145–51.

CDC, *STD Trends in the United States: 2010 National Data for Gonorrhea, Chlamydia, and Syphilis.* Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 22 November 2010. Retrieved 20 November 2011

CDC, Centers for Disease Control and Prevention. Updated recommended treatment regimens for gonococcal infections and associated conditions - United States, April 2007.

Coffin, LS; Newberry, A, Hagan, H, Cleland, CM, Des Jarlais, DC, Perlman, DC (January 2010). "Syphilis in Drug Users in Low and Middle Income Countries". *The International journal on drug policy* **21** (1): 20–7.

Colbourn, Tim; Gilbert, Ruth (2007). "An overview of the natural history of early onset group B streptococcal disease in the UK". *Early Human Development* **83** (3): 149–56.

Eccleston, K; Collins, L, Higgins, SP (March 2008). "Primary syphilis". *International journal of STD & AI* "Trends in Reportable Sexually Transmitted Diseases in the United States, 2007". Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 13 January 2009. Retrieved 2 August 2011.

Euzéby, J.P.. "Chlamydia". *List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature*. Retrieved 2008-09-11.

Gelber, S. E.; Aguilar, J. L.; Lewis, K. L. T.; Ratner, A. J. (2008). "Functional and Phylogenetic Characterization of Vaginolysin, the Human-Specific Cytolysin from *Gardnerella vaginalis*". *Journal of Bacteriology* **190** (11): 3896–3903

Harwich, M. D., Jr., J. M. Alves, G. A. Buck, J. F. Strauss, 3rd, J. L. Patterson, A. T. Oki, P. H. Girerd, and K. K. Jefferson. 2010. Drawing the line between commensal and pathogenic *Gardnerella vaginalis* through genome analysis and virulence studies. *BMC Genomics* 11:375.

Helmig R, Halaburt JT, Uldbjert M, et al. *Increased cell adherence of group B streptococci from preterm infants with neonatal sepsis*. *Obstet Gynecol* 1990;76:825-7.

Hicks, P.; Diaz-Perez, M. J. (2009). "Patient Self-Collection of Group B Streptococcal Specimens During Pregnancy". *The Journal of the American Board of Family Medicine* **22** (2): 136.

Higaki S, Kitagawa T, Kagoura M, Morohashi M, Yamagishi T (2000). "Characterization of Peptostreptococcus species in skin infections". *J Int Med Res* **28** (3): 143–7.

Hillier SL, Krohn MA, Klebanoff ST, Eschenbach DA. *The relationship of hydrogen peroxide producing lactobacilli to bacterial vaginosis and genital microflora in pregnant women*. *Obstet Gynecol* 1992;79:369-73.

Hillier SL. *Diagnostic microbiology of bacterial vaginosis*. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:455-9.

Xu, J. Gordon, I. . (Sep 2003). "Inaugural Article: Honor thy symbionts". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **100** (18): 10452–10459.

Jawetz Melnick&Adelbergs Medical Microbiology 26/E. Geo. Brooks, Karen C. Carroll, [Janet Butel](#) and Stephen Morse (Nov 27, 2012)

J.P. Euzéby. "Chlamydia". *List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature*. Retrieved 2008-09-11.

Kent ME, Romanelli F (February 2008). "Reexamining syphilis: an update on epidemiology, clinical manifestations, and management". *Annals of Pharmacotherapy*

Kenyon College - Dept. of Biology (2006-08-15). "[Chlamydia](#)". *MicrobeWiki*. Retrieved 2008-10-27.

Lin, F; Brenner, RA; Johnson, YR; Azimi, PH; Philips Jb, 3rd; Regan, JA; Clark, P; Weisman, LE et al. (2001). "The effectiveness of risk-based intrapartum chemoprophylaxis for the prevention of early-onset neonatal group B streptococcal disease". *American Journal of Obstetrics and Gynecology* **184** (6): 1204–10.

Lugo-Miro VI, Green M, Masur L. *Comparison of different metronidazole therapeutic regimens for bacterial vaginosis: a meta-analysis*. *JAMA* 1992;268:92.

Madigan M, Martinko J, ed. (2005). *Brock Biology of Microorganisms* (11th ed.). Prentice Hall. ISBN 0-131-44329-1.

Makarova, K.; Slesarev, A.; Wolf, Y.; Sorokin, A.; Mirkin, B.; Koonin, E.; Pavlov, A.; Pavlova, N. et al. (Oct 2006). "Comparative genomics of the lactic acid bacteria". *Proc Natl Acad Sci U S A* **103** (42): 15611–6.

[Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases: Expert Consult Premium Edition](#) by [Gerald L. Mandell](#) (Oct 2, 2009)

Pastorck J, editor. *Microbiology of the female genital tract*. In: Pastorck J, editor. *Obstetric and gynecologic infectious disease*. New York: Raven Press; 1994. p. 11-25.

Patrick R. Murray PhD, Ken S. Rosenthal PhD and Michael A. Pfaller MD
Medical Microbiology (Nov 28, 2012)

Ryan KJ, Ray CG (editors) (2004). *Sherris Medical Microbiology* (4th ed.). McGraw Hill. pp. 463–70. ISBN 0-8385-8529-9.

Salyers AA, Gupta A, Wang Y (2004). "Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes". *Trends Microbiol* **12** (9): 412–416.

Schuchat A, Wenger JD. *Epidemiology of group B streptococcal disease: risk factors, prevention strategies and vaccine development*. *Epidemiol Rev* 1994;16:374-402.

Schwebke, Jane R. (2000). "Asymptomatic bacterial vaginosis". *American Journal of Obstetrics & Gynecology* **183** (6): 1434–1439.

Shah D, Larsen B. *Identity of a Candida albicans toxin and its production in vaginal secretions*. *Medical Science Research* 1992;20:353-5.

Simons MP, Nauseef WM, Apicella MA (2005). Interactions of Neisseria gonorrhoeae with adherent polymorphonuclear leukocytes. *Infect Immun* 73(4):1971-1977.

Sobel, J.D.: Nontrichomonal Purulent Vaginitis: Clinical Approach. *Curr Infect Dis Rep*;2:501-505, 2000.

Steer, P.J.; Plumb, J. (2011). "Myth: Group B streptococcal infection in pregnancy: Comprehended and conquered". *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* **16** (5): 254–8.

Verani, JR; McGee, L; Schrag, SJ; Division Of Bacterial Diseases, National Center for Immunization Respiratory Diseases (2010). "Prevention of perinatal group B streptococcal disease--revised guidelines from CDC, 2010". *MMWR. Recommendations and reports* **59** (RR–10): 1–36

Woodgate, Paul G; Flenady, Vicki; Steer, Peter A (2004). "Intramuscular penicillin for the prevention of early onset group B streptococcal infection in newborn infants". In Woodgate, Paul G. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.

Xu, J., Gordon, I. . (Sep 2003). "Inaugural Article: Honor thy symbionts" (Free full text). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **100** (18): 10452–10459.

Αντωνιάδης Α.Φ.,Καρτάλη Σ., Λεγάκης Νικόλαος Ι.,Μανιάτης Αντώνιος Ν.,Τσελέντης Ιωάννης .Ιατρική μικροβιολογία -1η έκδ. - Αθήνα :Ιατρικές εκδόσεις Πασχαλίδης, 2005. ISBN 960-399-333-6, ISBN-13 978-960-399-333-9

Δουμπόγιας Ιωάννης ,Αθανάσιος Τσακρής. Κλινική Μικροβιολογία. Εκδότης: Ιατρικές εκδόσεις Πασχαλίδης. 2010 . Κωδικός ISBN: 9604890174

Τσακρής Αθανάσιος Ιατρική μικροβιολογία Εκδότης: Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ.Πασχαλίδης. 2010 . Κωδικός ISBN: 9604890174

Χαρβάλου Αικατερίνη. Πρωτόκολλα κλινικής μικροβιολογίας. Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδης .2007.ISBN 960=399-542-8

Χριστάκης Γ.Β.,Ν.Ι Λεγάκης - Αθήνα : Εκδότης Παρισιάνου ΑΕ,Κλινική Μικροβιολογία και λοιμώξεις / 2002. ISBN 960-394-125-5, ISBN-13 978-960-394-125-5.

<http://www.cbm.com.pl/krazkigv>

http://textbookofbacteriology.net/Impact_2.html

http://www.sero-med.de/KLINIK_Line/Clamydia/clamydia.html

<http://www2.wmin.ac.uk/~redwayk/lectures/Medically%20important%20bacteria.htm>

<http://www.ivdpretest.com/Gonorrhea-NGH-Rapid-Tests.html>

<http://www.osomtests.com/products/osom-trichomonas-rapid-test>

<http://www.rudyard.org/bacterial-vaginosis-clue-cells/>

<http://thunderhouse4-yuri.blogspot.gr/2010/11/bacterial-vaginosis.html>

<http://www.hellotrader.com/pro-lab/streptococcal-grouping-latex-kits-new-blue.html>

<http://www.ppdictionary.com/bacteria/gpbac/diphtheriae.htm>

