

Καλλιέργειες κολποτραχηλικών εκκρινμάτων σε σχέση με το Pap-Test

**Βασίλης Ανδριώτης¹,
Αγγελική Παπαδάτου-Καλού²,
Αννα Μωραϊτή³,
Νόπη Αλεξανδροπούλου⁴,
Γιώργος Κουρής⁴.**

¹ Βιοπαθολογικό Εργαστήριο- Γ.Ν. Ληξουρίου,
ου,

² Μαιευτικό Τμήμα-Γ.Ν Ληξουρίου,

⁴ Παθολογική Κλινική - Γ.Ν. Ληξουρίου.

³ Κυτταρολογικό Εργαστήριο - Γ.Ν. Λευκάδος

Υπεύθυνος εργασίας:

Ανδριώτης Βασίλειος,

Επιμελητής Β, Ιατρός Βιοπαθολόγος

Τηλέφωνο: 2661036443, 6977941793

E-mail: vasandriotis@gmail.com.

Λέξεις κλειδιά:

ΠΑΠ-τεστ, φλεγμονή, απομονωθέν μικροοργανισμοί.

Περίληψη: Σκοπός της εργασίας είναι η καταγραφή αποτελεσμάτων κυτταρολογικών εξετάσεων επιχρίσματος ΠΑΠ καθώς και η μελέτη καλλιιεργειών κολποτραχηλικών εκκρινμάτων, τα οποία παρουσίασαν στοιχεία φλεγμονής κατά την αξιολόγηση του τεστ Παπανικολάου. Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 117 κολποτραχηλικά επιχρίσματα, τα οποία εστάλησαν για κυτταρολογική εξέταση και 52 κολποτραχηλικά εκκρίματα, τα οποία ελήφθησαν μετά από αξιολόγηση των ευρημάτων του τεστ Παπανικολάου (όπου ανευρέθησαν στοιχεία φλεγμονής).

Τα αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν :

1. Υψηλό ποσοστό φλεγμονωδών αλλοιώσεων επιχρίσματος ΠΑΠ (44.4%).

2. Συχνότητα θετικών καλλιιεργειών κυτταρολογικών επιχρισμάτων, που παρουσίασαν στοιχεία φλεγμονής κατά την αξιολόγηση του τεστ ΠΑΠ στο 57.7%.

3. Συχνότερο απομονωθέν μικροοργανισμό την *Candida spp* (30,3%) με προεξάρχοντα την *Candida albicans*. και

4. Μείωση της τριχομοναδικής και της ειδικής κολπίτιδας (*Bacterial vaginosis*), σε σχέση με την μυκητιασική κολπίτιδα.

Η Προληπτική Ιατρική αποτελεί τον τομέα εκείνο της Ιατρικής που έχει σαν σκοπό την πρωτογενή πρόληψη των ασθενειών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο μαζικός προληπτικός έλεγχος πληθυσμού για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, που εφαρμόζεται ευρέως με την κυτταρολογική εξέταση κολποτραχηλικών επιχρισμάτων, γνωστό ως τεστ Παπανικολάου. Η αξία του τεστ βασίζεται στο γεγονός ότι τα κύτταρα των κακοηθειών του γεννητικού σωλήνα του θήλεος αποφολιδούνται με ευκολία.^{1,2}

Το τεστ Παπανικολάου χρησιμοποιείται κύρια για την διάγνωση προκαρκινωματωδών και καρκινωματωδών καταστάσεων του γεννητικού σωλήνα, που περιλαμβάνει τον κόλπο, τον τράχηλο και το ενδομήτριο. Το τεστ επίσης χρησιμοποιείται για ορμονικό προσδιορισμό και για τη διάγνωση φλεγμονωδών νόσων (κολπίτιδα, τραχηλίτιδα, κολποτραχηλίτιδα). Λόγω του ότι το τεστ Παπανικολάου είναι εξαιρετικής σημασίας στην πρόωρη ανίχνευση του καρκίνου του τραχήλου, συστήνεται σε όλες τις γυναίκες πάνω από 20 ετών τουλάχιστον μία φορά το χρόνο. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η μικροβιολογική εξέταση των κυτταρολογικών δειγμάτων δεν είναι τόσο ακριβής όσο η μικροβιολογική καλλιέργεια, αλλά μπορεί να παρέχει χρήσιμες πληροφορίες.^{1,2}

Η ιδιόμορφη κατασκευή και λειτουργία του γεννητικού συστήματος της γυναίκας σε συνδυασμό με την τοπογραφική του σχέση, ευνοεί όχι μόνο την ανάπτυξη φλεγμονωδών νόσων, αλλά και τις συχνές υποτροπές αυτών. Προδιαθεσικοί παράγοντες για την ανάπτυξή τους αποτελούν : η έναρξη σεξουαλικών σχέσεων σε μικρή ηλικία, οι συχνές κολπικές επεμβάσεις ή εξετάσεις, η εφαρμογή κολπικών πλύσεων με αντισηπτικά, τα διαφράγματα αντισύλληψης, η μείωση των επιπέδων των οιστρογόνων, νοσήματα, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης. Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας αποτελεί η συχνή χρήση αντιβιοτικών, χωρίς πραγματική ένδειξη, με αποτέλεσμα τη διαταραχή της ισορροπίας της φυσιολογικής χλωρίδας του ουρογεννητικού συστήματος και την εμφάνιση ανθεκτικών μορφών μικροβίων.³

Σκοπός της εργασίας είναι: α) η καταγραφή αποτελεσμάτων κυτταρολογικών εξετάσεων επιχρίσματος ΠΑΠ και β) η μελέτη καλλιέργειών κολποτραχηλικών εκκρίμάτων, τα οποία παρουσίασαν στοιχεία φλεγμονής κατά την αξιολόγηση του τεστ Παπανικολάου.

Υλικό και Μέθοδοι

Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 117 κολποτραχηλικά επιχρίσματα, τα οποία εστάλησαν για κυτταρολογική εξέταση, και 52 κολποτραχηλικά εκκρίματα, τα οποία εστάλησαν για μικροβιολογικό έλεγχο, μετά από την αξιολόγηση των ευρημάτων του τεστ Παπανικολάου (όπου ανευρέθησαν στοιχεία φλεγμονής).

Τα δείγματα για την κυτταρολογική εξέταση του γεννητικού σωλήνα λαμβάνονταν με τη βοήθεια μητροσκοπίου, από τον τράχηλο, τον ενδοτράχηλο και τον οπίσθιο θόλο του τραχήλου. Το υλικό εν συνεχεία τοποθετούνταν σε αντικειμενοφόρες πλάκες και μονιμοποιούνταν πριν ξεραθεί στον αέρα. Τα επιχρίσματα για ορμονική εκτίμηση λαμβάνονταν από το πλάγιο τοίχωμα ή το θόλο του κόλπου. Ο χρόνος λήψης επιχρίσματος ΠΑΠ ήταν δύο εβδομάδες μετά την πρώτη ημέρα από την τελευταία έμμηνο ρύση.^{1,2}

Σε όλα τα επιχρίσματα που εστάλησαν για μικροβιολογικό έλεγχο έγινε:

α) μικροσκοπική εξέταση νωπού παρασκευάσματος με φακό 40x απλού μικροσκοπίου, αφού προηγουμένως ο βαμβακοφόρος στειλεός με το υπό εξέταση έκκριμα εμβαπτίζεται σε 1ml NaCl 0.9%,

β) χρώση Gram και γ) καλλιέργεια σε κατάλληλα θρεπτικά υλικά (Αιματούχο άγαρ, Mac Conkey agar, Sabouraud agar).

Η ταυτοποίηση των κοινών βακτηρίων γινόταν με τις συνήθεις κλασικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται στο Εργαστήριο (μορφολογικοί χαρακτήρες των αποικιών, χρώση Gram και το σύστημα API). Για τον έλεγχο ευαισθησίας στα αντιβιοτικά χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Kirby-Bauer σε Muller-Hinton agar με εναιώρημα 0.5 McFarland και επώαση 24 ώρες σε 37°C.

Η διάγνωση της μη ειδικής κολπίτιδας έγινε με βάση τα κριτήρια του Amsel :

1. Αυξημένη έκκριση υγρού από τον κόλπο. (Το υγρό είναι λεπτόρρευστο, ομοιογενές, αφρώδες και δύσσομο, λόγω συνυπάρξεως αναερόβιων βακτηρίων που συμμετέχουν στη νόσο).
2. Το pH της έκκρισης όξινο ^{4,5}
3. Παρουσία των Clue cells σε ποσοστό περίπου 20% του συνόλου των κυττάρων (πλακώδη επιθήλια τα οποία καλύπτονται από ένα πυκνό στρώμα βακτηρίων), απουσία των Gram-θετικών γαλακτοβάκιλλων της φυσιολογικής χλωρίδας και των ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων στο νωπό παρασκεύασμα και τη χρώση Gram.
4. Θετικό το τεστ αμινών : η προσθήκη διαλύματος 10% KOH σε κολπικό έκκριμα απελευθερώνει έντονη οσμή ψαριού.^{4,5,6}

Για την ταυτοποίηση των μυκοπλασμάτων χρησιμοποιήθηκε το Myko-test (επώαση στους 35-37°C για 24-48 ώρες σε αερόβιες συνθήκες). Επί αμφιβόλου αποτελέσματος γινόταν επανάληψη της εξέτασης, αλλά μαζί με το Myko-test κάναμε καλλιέργεια σε τρυβλίο Mykoplasma agar A7 και παρατήρηση της επιφάνειας του τρυβλίου στο μικροσκόπιο (10x αντικειμενικός) μετά από επώαση στους 35-37°C σε αερόβιες ή μικροαερόφιλες συνθήκες (5-10% CO₂) για 36-48 ώρες.^{7,8}

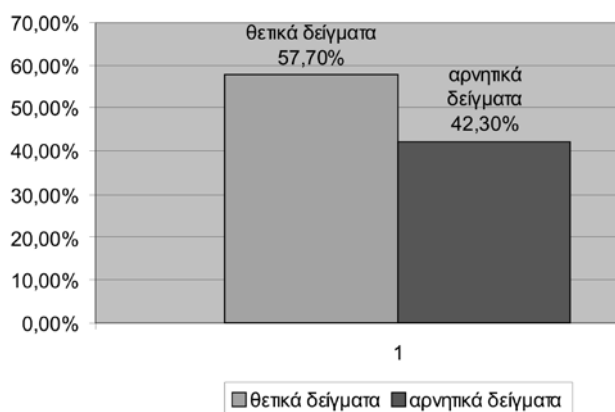
Αποτελέσματα

Για κυτταρολογική εξέταση εστάλησαν 117 κολποτραχηλικά επιχρίσματα. Τα δείγματα ελήφθησαν από γυναίκες ηλικίας άνω των 20 ετών, οι οποίες προσήλθαν στην πλειοψηφία τους για ετήσιο έλεγχο τεστ Παπανικολάου.

Από τα 117 κυτταρολογικά επιχρίσματα τα 30 (25.5 %) ήταν αρνητικά, σε 13 (11 %) βρέθηκαν επίπεδα ορμονών μη συμβατά με την ηλικία (χαμηλή οιστρογονική ορμονολογική εικόνα), σε 51 (43,5 %) φλεγμονή, σε 14 (12%) ατροφία, σε 1 (0.9 %) ατροφία και φλεγμονή, σε 4 (3,5 %) υπερκεράτωση τραχηλικού επιθηλίου, σε 3 (2.6 %) κυτταρόλυση και σε 1 (0.9 %) χαμηλού-μέσου βαθμού ενδοεπιθηλιακή βλάβη, που εμπεριείχε : ήπια και μέσου βαθμού HPV δυσπλασία, CIN 1 και CIN 2.

Τα 52 κυτταρολογικά επιχρίσματα που παρουσίασαν στοιχεία φλεγμονής κατά την αξιολόγηση του τεστ Παπανικολάου εστάλησαν για μικροβιολογικό έλεγχο και καλλιέργεια. Από αυτά τα 30 (ποσοστό 57,7%) ήταν θετικά για την ανάπτυξη μικροβίων και τα 22 (ποσοστό 42,3%) αρνητικά.

Στο σχήμα 1 καταγράφονται τα ποσοστά (%) των θετικών και αρνητικών καλλιεργειών.



Σχήμα 1.

Ευρήματα καλλιεργειών κολποτραχηλικών επιχρισμάτων, τα οποία εστάλησαν για μικροβιολογικό έλεγχο, μετά την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων του τεστ Παπανικολάου.

Οι μικροοργανισμοί που απομονώθηκαν κατά σειρά συχνότητας ήταν :

Candida spp 10/33 (30,3%), *Gardnerella vaginalis* 6/33 (18,1%), *Ureaplasma urealyticum* 5/33 (15,1%), *Μycoplasma hominis* 5/33 (15,1%), *Trichomonas vaginalis* 1/33 (3,1%). Διαταραχή της φυσιολογικής χλωρίδας με αποικισμό Gram-αρνητικών βακτηρίων (με προεξάρχοντα την *E.coli*) αφορούσαν 4/33 (12,1%), *Staphylococcus aureus* 1/33 (3,1%) και *Enterococcus spp* 1/33 (3,1%).

Οι περιπτώσεις πολυμικροβιακής απομόνωσης αφορούσαν 3 από τα 30 περιστατικά κολπίτιδας-τραχηλίτιδας : *G. vaginalis* + *M. hominis* 2/30 (6,6%) και *G. vaginalis* + *U. urealyticum* 1/30 (3,3%).

Στον πίνακα 1 καταγράφονται το είδος των μικροοργανισμών που απομονώθηκαν κατά σειρά συχνότητας.

Μικροοργανισμοί	Αριθμός Μικροβίων	Ποσοστό (%)
<i>Candida spp</i>	10	30.3
<i>Gardnerella vaginalis</i>	6	18.1
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	5	15.1
<i>Μycoplasma hominis</i>	5	15.1
<i>Trichomonas vaginalis</i>	1	3.1
Gram-αρνητικά βακτήρια	4	12.1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	3.1
<i>Enterococcus spp</i>	1	3.1

Πίνακας 1.

Είδος και συχνότητα μικροοργανισμών που απομονώθηκαν από καλλιέργειες κολποτραχηλικών επιχρισμάτων, τα οποία παρουσίασαν στοιχεία φλεγμονής κατά την αξιολόγηση του τεστ Παπανικολάου.

Συζήτηση

Λόγω της δυνατότητας που παρέχει το τεστ Παπανικολάου, όχι μόνο στην πρόωρη ανίχνευση του καρκίνου του τραχήλου, αλλά και στην διάγνωση ασυμπτωματικών φλεγμονωδών νόσων, συστήνεται σε όλες τις γυναίκες ηλικίας άνω των 20 ετών τουλάχιστον μία φορά το χρόνο. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η μικροβιολογική εξέταση των κυτταρολογικών δειγμάτων δεν είναι τόσο ακριβής όσο η μικροβιολογική καλλιέργεια, αλλά μπορεί να παρέχει χρήσιμες πληροφορίες.^{1,2}

Συχνότερος απομονωθέν μικροοργανισμός από τις καλλιέργειες κολποτραχηλικών επιχρισμάτων παραμένει η *Candida spp* και ειδικότερα η *Candida albicans*. Η *Candida spp* αποικίζει παροδικά όλους τους βλεννογόνους και τις ανοικτές κοιλότητες του ανθρώπινου σώματος, όπως τον εντερικό βλεννογόνο, τον κόλπο, τον στοματοφάρυγγα, χωρίς να προκαλεί νόσο. Είναι όμως μικρόβιο παθογόνο σε ευπαθείς και μειωμένης αντιστάσεως οργανισμούς, σε περιπτώσεις καταστροφής της οικολογικής ισορροπίας της φυσιολογικής μικροβιολογικής χλωρίδας σε τοπικές βλάβες ιστών και χυμών. Οι κολπίτιδες που οφείλονται στην *Candida spp* εμφανίζονται τελευταίως με αυξανόμενη συχνότητα στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας και μάλιστα είναι συχνές οι επαναμολύνσεις, καθώς και οι περιπτώσεις των υγιών φορέων του μύκητα (5-50%).^{9,10}

Υπάρχει δυσκολία για τον ακριβή καθορισμό του όρου «μυκητιασική κολπίτιδα» και το διαχωρισμό του από τον αποικισμό του κόλπου από *Candida spp*. Η ευρύτερη αποδεκτή σήμερα άποψη για το διπλό αυτό ρόλο των *Candida spp* είναι να θεωρείται παθογόνος όταν συνυπάρχουν συμπτώματα και κλινικά σημεία αιδοιοκολπίτιδας, εργαστηριακά ευρήματα (π.χ. πυοσφαίρια), θετική μικροσκοπική εξέταση ή καλλιέργεια του κολπικού δείγματος για *Candida spp* και απλός αποικισμός, όταν έχουμε θετική καλλιέργεια του δείγματος χωρίς συμπτώματα ή κλινικές εκδηλώσεις αιδοιοκολπίτιδας.^{9,10}

Η *Trichomonas vaginalis* προκαλεί στην γυναίκα κολπίτιδα, που εκδηλώνεται στην οξεία φάση με έκκριση πυωδών υγρών, κνησμό, αίσθημα καύσου στο αιδοίο, δυσπαρευνία. Εκ περιτροπής εμφανίζονται λευκόρροια και δυσουρία. Σε τυχαίο δείγμα γυναικών ο επιπολασμός έχει εκτιμηθεί μεταξύ 5-20%. Θεωρείται η πιο συχνή σεξουαλικά μεταδιδόμενη πρωτοζωική νόσος.^{11,12}

Η *Gardnerella vaginalis* είναι μικρόβιο του κόλπου του ανθρώπου. Βρέθηκε στο κολπικό έκκριμα 10-40% γυναικών υγιών χωρίς κολπίτιδα. Η συχνότητα αυτή αποικισμού αυξάνει κατά την εγκυμοσύνη. Η *G. vaginalis* είναι μικρόβιο παθογόνο. Είναι το αίτιο και συμπράκτης στο σύνδρομο της βακτηριακής μη ειδικής κολπίτιδας γνωστής σαν Bacterial vaginosis.¹³

Τα γεννητικά μυκοπλάσματα αποικίζουν τους βλεννογόνους του γεννητικού συστήματος της γυναίκας, το αιδοίο, τον κόλπο, τον τράχηλο. Επίσης αποικίζουν τις πέριξ περιοχές και το ορθό. Η συχνότητα του αποικισμού κυμαίνεται κατά ηλικία, σεξουαλική δραστηριότητα, αριθμό σεξουαλικών συντρόφων και ορμονικό status.

Η συχνότητα απομόνωσης του *M. hominis* από υγιείς πληθυσμούς έχει εκτιμηθεί μεταξύ 5-45%, ενώ από ασθενείς γυναικολογικών-ουρολογικών ιατρείων φθάνει μέχρι το 90%. Συχνότερος είναι ο αποικισμός από το *U. urealyticum*. Απομονώνεται από το 20-80% γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας με ή χωρίς συμπτωματολογία. Τα μυκοπλάσματα του γεννητικού συστήματος είναι δυνητικά ή απόλυτα παθογόνα και αποτελούν τα πιο συχνά απομονούμενα Mollicutes από λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος. Κλινικές διαστάσεις αυτών των λοιμώξεων είναι υψίστης σημασίας για την ανθρώπινη υγεία.^{14,15}

Συμπέρασμα

1. Το ποσοστό φλεγμονωδών αλλοιώσεων κυτταρολογικών εξετάσεων κολποτραχηλικών επιχρισμάτων ήταν υψηλό (44.4%).
2. Η συχνότητα θετικών καλλιέργειών κυτταρολογικών επιχρισμάτων, που παρουσίασαν στοιχεία φλεγμονής κατά την αξιολόγηση του τεστ Παπανικολάου, κυμάνθηκε στο 57.7%.
3. Συχνότερος απομονωθέν μικροοργανισμός παραμένει η *Candida spp* με προεξάρχοντα την *Candida albicans*, η οποία αποτελεί το 94% των δειγμάτων με *Candida spp*.
4. Τέλος παρατηρείται μείωση της τριχομοναδικής και της ειδικής κολπίτιδας (*Bacterial vaginosis*), σε σχέση με την μυκητιασική κολπίτιδα.

Cultivation of vaginal and uterus neck excretions in relation to Pap Test

V. Andriotis¹, A. Papadatou-Kalou², A. Moraiti³, N. Alexandropoulou⁴, G. Kouris⁴.

¹Biopathologic Laboratory, ²Obstetric Department, ⁴Pathology Clinic (Lixouri General Hospital), ³Cytologic Laboratory (Lefkada General Hospital).

The aim of this paper is to mark in detail the results of cytologic tests of PAP veneer as well as to study the vaginal-uterus neck excretions that showed elements of inflammation during the evaluation of the PAP test. The material of the paper comprised of 117 vaginal-uterus neck excretions which were sent for cytologic testing and of 52 vaginal-uterus were taken after the evaluation of the PAP test findings (were elements of inflammation have been found).

The results of this study showed : 1. High percentage of inflammatory vitiations of PAP veneer (44.4%). 2. Frequency of positive cultivations of cytological veneers that had inflammatory elements during the evaluation of the PAP test (57.7%). 3. Most frequent microorganism found in both groups of women was *Candida spp* (30.3%) and 4. A reduction of trichomonadic and Bacterial vaginosis, compared to mycosic vaginosis.

Βιβλιογραφία

1. Frances Talaska Fischbach : A Manual of Laboratory e Diagnostic Tests. Κεφ 11 Σελ 824-832. Κυτταρολογικές και Γενετικές Εξετάσεις.
2. Mc Cauly KM, Oi RH : Evalnating the Papanicolaou smear : Four possible colposcopie Findings and corresponding management strategies, Part 2. consultan, 29(1) : 36-42, January 1989.
3. Harrison:Εσωτερική Παθολογία. Κεφ 32 Σελ 132-133, Κεφ 50 Σελ 201-205 *Candida spp*.
4. Α. Αρσένη : Γενικές εξετάσεις και Καλλιέργειες των Υγρών του Σώματος. Κεφ 10 Σελ 326-336 *Gardnerella vaginalis*.
5. Ι.Παπαπαναγιώτου : Ιατρική Μικροβιολογία και Ανοσολογία. Κεφ 3 Σελ 72 *Gardnerella vaginalis*.
6. Greenwood JP 1981, *Gardnerella vaginalis*. Clinical Microbiology Newsletter 3 No 4), 23-25.
7. Γ. Χριστάκης, Ν. Λεγάκης : Γυναικολογικές και Μαιευτικές Λοιμώξεις. Κεφ 9 Σελ 173 Μυκοπλάσματα.
8. Α. Αντωνιάδης, Γ. Αντωνιάδης, Ν. Λεγάκης, Ι. Τσελέντης : Ιατρική Μικροβιολογία. Σελ 177 Μυκοπλάσματα.
9. Α. Αρσένη : Κλινική Μικροβιολογία. Κεφ35 Σελ 953-967 *Candida spp*.
10. Α. Αρσένη : Γενικές εξετάσεις και Καλλιέργειες των Υγρών του Σώματος. Κεφ 10 Σελ 326-336 *Candida spp*.
11. Ν. Βακάλης : Ιατρική Παρασιτολογία. Σελ 47-49 *Trichomonas vaginalis*.
12. P. Heine, Mc Gregor JA: *Trichomonas vaginalis* A reemerging pathogen Clin Obstet Gynecol 1993, 36 : 137-144.
13. Α. Αρσένη : Μικροβιολογία Λοιμώξεων. Κεφ 21 Σελ 598-601 *Gardnerella vaginalis*.
14. David Greenwood, Richard Slack, John Peutherer : 42 Mycoplasmas.
15. Α. Αρσένη : Κλινική Μικροβιολογία. Κεφ 27 Σελ 722-740 Μυκοπλάσματα.