

Использование метода прямой микроскопии урогенитальных мазков на амбулаторном приёме с целью оптимизации диагностики урогенитальных инфекций

А.М. Савичева¹, Н.Е. Воробьева¹, А. Вагорас²,
Е. Соколовский³, А. Галлен⁴, М. Домейка⁵

¹ГУ НИИАГ им. Д.О. Отта РАМН,
Санкт-Петербург;

²Институт экспериментальной медицины,
Вильнюс;

³Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург;

⁴Клиника дерматовенерологии и

⁵Клинической микробиологии, Институт
медицинских наук, Уппсальский университет,
Уппсала

Введение

Последствиями уrogenитальных инфекций и частично инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), особенно у женщин, могут быть развитие бесплодия, длительные тазовые боли и образование спаек в области малого таза, иногда требующих оперативного вмешательства [1]. Лечение бесплодия является дорогостоящим процессом, связанным с потерей рабочего времени и снижением работоспособности.

Клинические проявления уrogenитальных инфекций неспецифичны. Только на основании анамнеза и проведенного клинического обследования трудно дифференцировать как сами инфекции, так и возможность наличия неинфекционного процесса. Необходимым условием для проведения адекватного лечения и консультирования является специфическая лабораторная диагностика.

Система здравоохранения может внести очень важный вклад в контроль инфекций уrogenитального тракта, сократив время, в течение которого пациент является носителем возбудителя, передающегося половым путем, и, таким образом, снизив возможность заражения половых партнеров и дальнейшего распространения инфекции.

Взятие уrogenитального мазка является частью клинического исследования в работе многих практических врачей. Однако, по устоявшейся традиции, в большинстве случаев оценка мазков прово-

дится лабораториями. Это приводит к необходимости повторного визита пациента к врачу и к ожиданию результатов из лаборатории. При этом теряется время врача и пациента и связь между информацией, полученной при клиническом осмотре, и оценкой мазка; увеличивается промежуток времени между первым посещением врача и началом лечения.

Целью этой статьи является попытка оценить преимущества использования метода микроскопии уrogenитальных мазков, проведенного в кабинете лечащим врачом.

Материалы и методы

Исследование вагинальных мазков. Исследуют влажный мазок. Материал получают одноразовой пластиковой петлей объемом 10 мкл. Микроскопия проводится при увеличении светового микроскопа $\times 40$ (если имеется) или $\times 100$ и $\times 400$.

Исследование цервикальных и уретральных мазков. Из цервикального канала материал берут ватным тампоном, при этом тщательно удаляют слизь из эктоцервикса. Из уретры как женщины, так и мужчин материал берется одноразовой пластиковой петлей объемом 1 мкл. Мазки наносятся на предметное стекло, высушиваются на воздухе и окрашиваются спиртовым раствором метиленового синего по Леффлеру [2]. После этого мазки ополаскиваются проточной водопроводной водой и высушиваются салфеткой или струей горячего воздуха (феном). Микроскопия проводится при увеличении светового микроскопа $\times 100$ и $\times 1000$.

Результаты

Затраты времени для приготовления мазков и их микроскопии представлены в таблице 1.

Время, потраченное на одного пациента, в огромной степени зависит от состояния пациента и опыта врача, который проводит микроскопическое исследование. После приобретения во время обучения и самообразования практических навыков врач просматривает материал, взятый от пациента, в течение 3–4 минут. В случае отсутствия каких-либо изменений в мазках затраты времени еще меньше. Опытный врач, обученный проведению метода микроскопии мазков и проводящий это исследование в рутинной практике, выполняет это исследование в течение времени, пока пациент(ка) одевается и сразу может начать беседу и назначить лечение.

Заклучения, которые могут быть сделаны врачом, при проведении микроскопии уrogenитальных мазков в присутствии пациента, представлены в таблице 2.

Таблица 1. Затраты времени для приготовления и микроскопии вагинальных, цервикальных и уретральных мазков у женщин и уретральных мазков у мужчин		
Действие	Затраты времени, мин.	
	мазок, полученный у женщин	мазок, полученный у мужчин
Микроскопия влажного (нативного) мазка при увеличении $\times 40$ (если имеется) или $\times 100$ и $\times 400$	1	-
Высушивание на воздухе	0,5	0,5
Окраска мазка спиртовым раствором метиленового синего по Леффлеру, промывание проточной водой, высушивание с использованием салфетки или струи горячего воздуха	1	1
Микроскопия окрашенного мазка при увеличении $\times 100$ и $\times 1000$	1–2	0,5–1
Итого	3,5–4,5	2,0–3,0

Таблица 2. Выводы, которые могут быть сделаны врачом при проведении микроскопии урогенитальных мазков [3]				
Пол	Место взятия материала	Микроорганизмы и «ключевые» клетки	Лейкоциты в поле зрения микроскопа	Вывод
Мужчина	Уретра	Не обнаружены	< 4	Здоров
		<i>N. gonorrhoeae</i>	> 4	Гонококковый уретрит
		Другие микроорганизмы	> 4	Негонококковый уретрит
Женщина	Влагалище	Лактобациллы	Кол-во зависит от фазы менстр. цикла	Здорова
		«Ключевые» клетки	Норма	Бактериальный вагиноз
		<i>Candida</i> spp.	Увеличено	Кандидозный вагинит
		<i>T. vaginalis</i>	Увеличено	Трихомонадный вагинит
		Другие микроорганизмы	Увеличено	Неспецифический вагинит
	Цервикальный канал	Не обнаружены	<20	Здорова
		<i>N. gonorrhoeae</i>	>10-20	Гонококковый цервицит
		Другие микроорганизмы	>10-20	Негонококковый цервицит
	Уретра	Не обнаружены	<5	Здорова
		<i>N. gonorrhoeae</i>	>5	Гонококковый уретрит
		Другие микроорганизмы	>5	Негонококковый уретрит

Как видно из данных, приведённых в таблице 2, врач сразу на приёме может сделать несколько заключений:

- **Пациент здоров.** Все клинические и микроскопические параметры в норме.
- **Бактериальный вагиноз (БВ).** Является наиболее часто встречающейся причиной вагинальных выделений у женщин фертильного возраста [6]. Постановка диагноза основывается на критериях Амсея [15, 16], хотя показано что для диагностики БВ достаточно обнаружения «ключевых» клеток (более 20 в препарате) и отсутствия лактобацилл в мазках, полученных из влагалища [17].
- **Кандидозный вульвовагинит.** *Candida* spp. является наиболее частой причиной развития вульвовагинитов. Течение заболевания и количество обнаруженных дрожжеподобных грибов не всегда связаны друг с другом. В начале воспаления blastospores гриба встречаются в большом количестве, а при прогрессирующей инфекции чаще всего выявляется псевдомицелий. Микроскопия мазков обнаруживает примерно шесть из десяти положительных случаев. Однако выделение дрожжеподобных грибов рода *Candida* в рутинной практике не рекомендуется, так как их можно найти примерно у 20–40 % здоровых женщин [6].
- **Трихомоноз.** *Trichomonas vaginalis* также является частой причиной вагинального воспаления. Микроскопический метод исследования нативного (влажного) мазка считается весьма достоверным в диагностике этой инфекции и позво-

ляет выявить 5–8 из 10 случаев заболевания [7]. Большинство авторов подтверждают, что применение разных способов окраски мазков с целью выявления трихомонад значительно снижает чувствительность микроскопического метода [8–10] и затрудняет постановку диагноза. Важно помнить, что диагноз трихомоноза основывается на обнаружении подвижных простейших – трихомонад. Трихомонады крайне чувствительны к воздействию факторов окружающей среды, особенно к изменению температуры, и поэтому перенос материала даже в лабораторию, находящуюся поблизости, в течение 5–50 минут может послужить поводом для получения ложноотрицательного результата. Кроме того, установление диагноза на основании обнаружения «атипичных», «бесхвостых» или «неподвижных» форм трихомонад недопустимо, так как это является лишь результатом наблюдения артефактов, не имеющих прецедента в международной практике. Постановка диагноза трихомоноза на основании таких «находок» свидетельствует о недостаточной квалификации персонала, проводящего исследование.

- **Гонорея.** Диагноз гонореи, установленный при микроскопическом исследовании, является достоверным в случае наличия уретрита у мужчины. Этим методом выявляют 95–100 % случаев гонококкового уретрита у мужчин [5]. В случае гонококковой инфекции у женщин, микроскопия выявляет лишь 50 % инфицированных женщин, хотя специфичность этого метода остаётся очень высокой (поэтому для об-

Информация о препарате	
ФАРМГРУППА Антибиотики – макролиды и азалиды.	ВИЛЬПРАФЕН, ВИЛЬПРАФЕН СОЛЮТАБ (Astellas Pharma Europe B.V.) Джозамицин Таблетки п. о. 500 мг, таблетки диспергируемые 1000 мг
ПОКАЗАНИЯ Инфекционно-воспалительные заболевания дыхательных путей и ЛОР-органов (ангина, фарингит, ларингит, синусит, средний отит, паратонзиллит, бронхит, пневмония (в т. ч. вызванная атипичными возбудителями) коклюш, пситтакоз); стоматологические инфекции (гингивит, пародонтит); инфекции кожных покровов и мягких тканей (угри, пиодермия, фурункулёз, сибирская язва, рожистое воспаление, лимфангит, лимфаденит, венерическая лимфогранулема); инфекции мочеполовой системы (простатит, уретрит, гонорея, сифилис (при повышенной чувствительности к пенициллину), хламидийные, микоплазменные (в т. ч. уреаплазменные) и смешанные инфекции); инфекции в офтальмологии (дакриоцистит, блефарит).	возрасте старше 14 лет составляет от 1 до 2 г джозамицина в 2–3 приёма. Суточная дозировка для детей 40–50 мг/кг веса в день, разделённая на 2–3 приёма. Покрытые оболочкой таблетки Вильпрафен следует проглатывать целиком, запивая небольшим количеством воды. Диспергируемые таблетки Вильпрафен Солютаб можно принимать двумя путями – их можно проглотить целиком, запивая водой, или предварительно растворить в воде (минимум 20 мл).
СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ И ДОЗЫ Рекомендуемая суточная дозировка для взрослых и подростков в	БЕРЕМЕННОСТЬ И ЛАКТАЦИЯ Разрешено применение при беременности и в период грудного вскармливания по показаниям. Европейское отделение ВОЗ рекомендует джозамицин в качестве препарата выбора при лечении хламидийной инфекции у беременных женщин. Разделы: Противопоказания, Ограничения к применению, Побочные действия, Взаимодействие, Передозировка, Меры предосторожности, Особые указания – см. в инструкции по применению препарата.

следования женщин обязательно применение бактериологического метода исследования). При проведении прямой микроскопии мазков врачом на приёме может быть заподозрена гонорея – при наличии в мазках, взятых из уретры у мужчин и цервикального канала и уретры у женщин, большого количества лейкоцитов и наличия диплококков, расположенных внутри- и внеклеточно. Окончательное заключение по исследованию на наличие *Neisseria gonorrhoeae* делает лаборатория, в которой проводится окраска мазков по Граму или проводится культуральное исследование.

- **Уретрит/цервицит.** Диагноз уретрита устанавливается исключительно микроскопическим методом. Наличие жалоб пациента на выделения из уретры без микроскопического подтверждения (увеличение количества полиморфноядерных лейкоцитов) не является основанием для установления диагноза уретрита. И, наоборот, обнаружение при микроскопическом исследовании большого количества лейкоцитов, даже при отсутствии жалоб на выделения – доказанное свидетельство наличия уретрита [11–13]. При этом количество лейкоцитов более 4 в поле зрения при увеличении светового микроскопа в 1000 раз при просмотре не менее 5 полей зрения достаточно для постановки диагноза уретрита у мужчин, более – 5 лейкоцитов в поле зрения – у женщин. В то же время диагноз цервицита устанавливается исключительно при обнаружении слизистогнойных выделений из цервикального канала в сочетании с увеличением количества лейкоцитов (больше 10 или 20 в поле зрения микроскопа при увеличении $\times 1000$ при просмотре не менее 5 полей зрения) [12, 14]. Выявление только выделений из цервикального канала или только большого количества лейкоцитов в мазках из цервикального канала не является основанием для постановки диагноза цервицита. Необходимо исключительно сочетание двух признаков.

Контроль качества взятия материала

Врач, который проводит микроскопическое исследование, может контролировать качество взятия мазка. Это очень важно и для исследований, проводимых в лабораториях. Опыт показывает, что около 2/3 врачей, пришедших на обучение методу микроскопии, не находят материал, который они взяли сами и поместили на стекло. Это особенно относится к мазкам, взятым из уретры у женщин. Кроме того, самой распространённой ошибкой является то, что неправильно берётся материал из цервикального канала. При взятии материала не обрабатывается шейка матки и экзоцервикс, не удаляется слизь, в результате на предметное стекло помещается не материал из цервикального канала, а материал из влагалища. При проведении микроскопического исследования вместо цилиндрического эпителия и лейкоцитов из цервикального канала можно обнаружить большое количество лейкоцитов вагинального происхождения и клетки многослойного плоского эпителия. А это при получении ответа из лаборатории зачастую ложно оценивается врачом как один из признаков цервицита.

Значение лаборатории

Применение метода микроскопии врачом на приёме не подменяет и совсем не снижает роль лабораторной службы. Наоборот, врач, использующий метод микроскопии, предъявляет повышенные требования к лаборатории, тем самым, создавая возможности к повышению качества совместной диагностической работы. При установлении



Когда другие макролиды бессильны...

Вильпрафен®
джозамицин

- **Доказанная эффективность в отношении хламидийных, микоплазменных и смешанных инфекций урогенитального тракта**
- **Благоприятный профиль безопасности: отсутствие патологического влияния на моторику и микрофлору кишечника, минимальный риск лекарственных взаимодействий**
- **Препарат выбора для лечения хламидийной и микоплазменной инфекции у беременных**
- **Заслуженное доверие ведущих российских экспертов в области диагностики и лечения урогенитальных инфекций**

 **astellas**
Свет, ведущий к жизни

ЗАО Астеллас Фарма

Московское Представительство, Россия, 109147
Москва, ул. Марксистская, д. 16;
Телефон: (095) 737 07 55; факс (095) 737 07 57

диагноза уретрита или цервицита врач обязан обследовать пациента на хламидии. При обнаружении диплококков в материалах из уретры или цервикального канала – обязательно направление на бактериологическое исследование на гонококки с определением антибиотикочувствительности выделенных гонококков. Таким образом, повышаются требования к качеству лабораторных исследований. Иными словами, лабораторные исследования переходят на более высокий уровень, тем более, если врач более качественно берет клинический материал.

Заключение

Микроскопическое исследование генитальных мазков, проводимое врачом на приёме, является частью клинического исследования, позволяющее определить причину жалоб пациента уже во время первого посещения. При наличии определённых навыков врач может провести исследование достаточно быстро, пока пациент одевается. В большинстве случаев уже во время первого посещения может быть установлен этиологический диагноз и назначено адекватное лечение. Специфичность метода микроскопии в руках опытного врача достигает 100 %. Следует отметить экономический эффект метода прямой микроскопии. Метод мало затратный, недорогой, позволяет сэкономить время как врача, так и пациента. То, что врач проводит сам микроскопическое исследование, позволяет более целенаправленно использовать лабораторные ресурсы для проведения качественных исследований. Врач, выполняющий микроскопическое исследование сам, овладевает инструментом контроля качества по взятию мазков и в случае неудачи, всегда может повторно взять материал. Как показал опыт, врачи, применяющие метод микроскопии, пользуются большим авторитетом у своих пациентов.

Послесловие

Материалы, изложенные в данной статье, основаны на опыте осуществления Российско-Шведского проекта «Совершенствование качества диагностики и терапии инфекций, передаваемых половым путем (ИППП)» в Санкт-Петербурге (2002–2007 гг.) и Ленинградской области (1998–2007 гг.). За это время микроскопическим методом исследования урогенитальных мазков обучено большое количество дерматовенерологов и акушеров-гинекологов. В Санкт-Петербурге этот метод успешно используют в молодежных центрах. Во Всеволожском и Выборгском районах Ленинградской области обучены все специалисты, занимающиеся ведением пациентов с ИППП. В Институте акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН создан учебно-методический центр, в котором с целью повышения квалификации в течение 144 часов методам микроскопии генитальных мазков обучаются врачи из самых разных регионов России.

Во время работы проекта написан целый ряд методических пособий и протоколов:

- Вагорас А., Савичева А., Гален А., Домейка М. Основы микроскопии мазков мочеполювого тракта. «Kata studio», Lithuania, Kaunas, 2001; 42.
- Вагорас А., Гален А., Домейка М., Бутилкина Р. Азбука микроскопии урогенитальных мазков. «Kata studio», Lithuania, Kaunas, 2001; 2.
- Savicheva A, Sokolovsky E, Frigo N, Pripitnevich T, Brilene T, Deák J, Ballard R, Ison C, Hallén A, Domeika M, Unemo M. Guidelines for laboratory diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae* in East-European countries. Part 1: gonorrhoea, sampling, and microscopy for diagnosis // Acta Medica Lituanica. 2007; 4: 1: 65–74 (http://images.katalogas.lt/maleidykla/Act71/ActaMed14_065-074.pdf).

• Savicheva A, Sokolovsky E, Frigo N, Pripitnevich T, Brilene T, Deák J, Ballard R, Ison C, Hallén A, Domeika M, Unemo M. Guidelines for laboratory diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae* in East-European countries. Part 2: culture, non-culture methods, determination of antibiotic resistance, and quality assurance // Acta Medica Lituanica. 2007; 4: 2 (in press).

• Савичева А.М., Соколовский Е.В., Домейка М., Смирнова Т.С., Павлова Н.Г., Беляева Т.В., Аравийская Е.Р., Антонов М.М. Методические материалы по диагностике, лечению и профилактике наиболее распространенных инфекций, передаваемых половым путем. Методическое пособие. СПб, Издательство Н-Л, 2002; 112.

• Савичева А., Соколовский Е., Домейка М. Краткое руководство по микроскопической диагностике инфекций передаваемых половым путем. «Фолиант», 2004; 128.

• Соколовский Е., Савичева А., Домейка М., Айламазян Э., Беляева Т. Инфекции передаваемые половым путем. Руководство для врачей. МЕДпресс-информ, 2006; 256.

• Савичева А.М., Соколовский Е.В., Домейка М. Порядок проведения микроскопического исследования мазков из урогенитального тракта. Методические рекомендации для лечащих врачей. СПб, Издательство Н-Л, 2007; 72.

• Савичева А.М., Соколовский Е.В., Домейка М. Порядок проведения микроскопического исследования мазков из урогенитального тракта. Методические рекомендации для специалистов лабораторной диагностики. СПб, Издательство Н-Л, 2007; 80.

Литература

1. Gerbase, A.C., Rowley, J.T., Heymann, D.H., Berkley, S.F., Piot, P. Global prevalence and incidence estimates of selected curable STDs // Sex Transm.Infect. 1998; 74: Supp. 1: S12–S16.
2. Вагорас А., Савичева А., Галлен А., Домейка М. Основы микроскопии мазков мочеполювого тракта, «Kata studio», Каунас, Литва, 2001; 42.
3. Vagoras A., Domeika M., Hallen A., Butylkina R. ABC for direct microscopy for «Bed side» testing of genital samples [Instruction chart; In Russian] «Kata studio», Lithuania, Kaunas, 2001; 2.
4. Holmes, K.K., Mardh, P.A., Sparling, P.F., Lemon, S.M., Stamm, W.E., Piot, R., Wasserheit, J.N. Sexually transmitted diseases. 1999; 39.
5. Murray, P.R., Rosenthal, K.S., Kobayashi, G.S., Pfaller, M.A. *Neisseria* // Medical microbiology. 2000; 222–231.
6. UK national guidelines on sexually transmitted infections and closely related conditions. Introduction // Sex Transm.Infect. 1999. 75: Supp. 1; S2–S3.
7. Krieger, J.N., Tam, M.R., Stevens, C.E., Nielsen, I.O., Hale, J., Kiviát, N.B., Holmes, K.K. Diagnosis of trichomoniasis. Comparison of conventional wet-mount examination with cytologic studies, cultures, and monoclonal antibody staining of direct specimens // JAMA. 1988; 259: 8: 1223–1227.
8. Thomason, J.L., Gelbart, S.M., Sobun, J.F., Schulien, M.B., Hamilton, P.R. Comparison of four methods to detect *Trichomonas vaginalis* // J.Clin.Microbiol. 1988; 26: 9: 1869–1870.
9. Bickley, L.S., Krisher, K.K., Punsalang, A., Jr., Trupeí, M.A., Reichman, R.C., Menegus, M.A. Comparison of direct fluorescent antibody, acridine orange, wet mount, and culture for detection of *Trichomonas vaginalis* in women attending a public sexually transmitted diseases clinic // Sex Transm Dis. 1989; 16: 3: 127–131.
10. Spence, M.R., Hollander, D.H., Smit, J., McCaig, L., Sewell, D., Brockman, M. The clinical and laboratory diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection // Sex Transm Dis. 1980; 7: 4: 168–171.
11. Sexually Transmitted Disease Treatment Guidelines 2002 // MMWR. 2002; 51: RR-6: 1–77.
12. Соколовский Е.В., Савичева А.М., Домейка М., Айламазян Э.К., Беляева Т.В. Инфекции, передаваемые половым путем. Руководство для врачей, МЕДпресс-информ, Москва, 2006; 256.
13. Radcliffe, K.W. Introduction. European STD guidelines // Int.J.STD AIDS. 2001; 12: Supp. 3: 2–3.
14. Holmes, K.K., Mardh, P.A., Sparling, P.F., Lemon, S.M., Stamm, W.E., Piot, R., Wasserheit, J.N. Sexually transmitted diseases. 1999; 724.
15. Eschenbach, D.A., Hillier, S., Critchlow, C., Stevens, C., DeRouen, T., Holmes, K.K. Diagnosis and clinical manifestations of bacterial vaginosis // Am. J. Obstet. Gynecol. 1988; 158: 4: 819–828.
16. Thomason, J.L., Gelbart, S.M., Anderson, R.J., Walt, A.K., Osypowski, P.J., Broekhuizen, F.F. Statistical evaluation of diagnostic criteria for bacterial vaginosis // Am. J. Obstet. Gynecol. 1990; 162: 1: 155–160.
17. Hallén, A., Pahlson, C., Forsum, U. Bacterial vaginosis in women attending STD clinic: diagnostic criteria and prevalence of *Mobiluncus* spp. // Genitourin. Med. 1987; 63: 6: 386–389.