

PERTES VAGINALES

« Algorithme problématique »

Dr Saidani Mabrouka

Laboratoire de Microbiologie-Hôpital Charles Nicolle

STPI 2015

Introduction

- La prise en charge syndromique des IST:
 - algorithmes simples, permettant d'identifier les causes d'un syndrome donné
 - traiter rapidement le patient dès 1^{ère} visite
 - offre l'occasion de l'éduquer, faire promotion de l'usage des préservatifs, traiter les partenaires
 - **Mais** ne doit pas empêcher de demander un examen de laboratoire lorsqu'il s'impose, et selon le contexte clinique
- But:** documenter une infection devant la présence de leucorrhées pathologiques → diagnostic bactériologique

Prélèvement vaginal

- **Indications**

- * Signes cliniques atypiques
- * Echec d'un premier traitement ou récurrence
- * Suspicion ou signes d'infection génitale haute associée
- * En cas d'urétrite chez le partenaire ou de contexte évoquant une IST

- **Conditions**

- Avant antibiothérapie (ou délai de 15 jours après arrêt du TTT)
- Sans toilette génitale intime
- Abstinence sexuelle (48h)

- Qualité des prélèvements & renseignements cliniques

→ conditionnent la qualité des résultats et leur interprétation

- de préférence réalisé au laboratoire

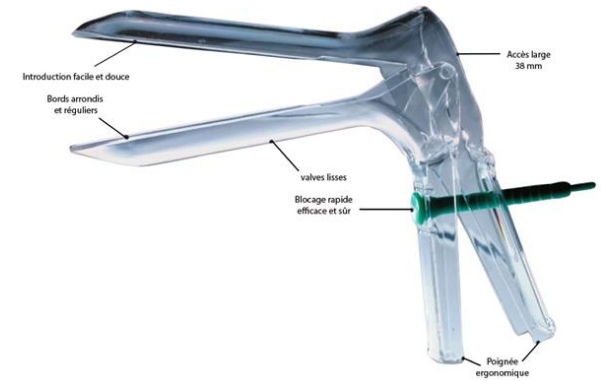
- À défaut: acheminement rapide (dans les 2h, à T° ambiante)

milieu de transport appropriés (gonocoque, Mycoplasmes, *Chlamydia*)

milieu de transport (universal transport medium)



- Bon éclairage
- Examen région périnéale: lésions de grattage, érythème, œdème, vésicules, verrues, condylomes
- Spéculum stérile (taille adaptée) sans lubrifiant
- Gants propre (à changer entre patientes)
- Examen sous spéculum:
 - description des pertes vaginales: couleur, odeur, abondance, consistance (épaisses, fluides, crémeuses, caillebotées, spumeuses)
 - aspect du col: cervicite, aspect de glaire, ulcération, œdème,, vésicules, condylomes



- Prélèvements sont réalisés à 2 niveaux
 - Cul-de sac vaginal postérieur: recherche d'un déséquilibre de la flore vaginale (vaginose bactérienne) ou d'une vaginite (exp:à *T. vaginalis*), mycoses et mycoplasmes (si indiqués)
 - endocol: après nettoyage de la glaire cervicale (*Chlamydia trachomatis* & *Neisseria gonorrhoeae*)

Examen microbiologique

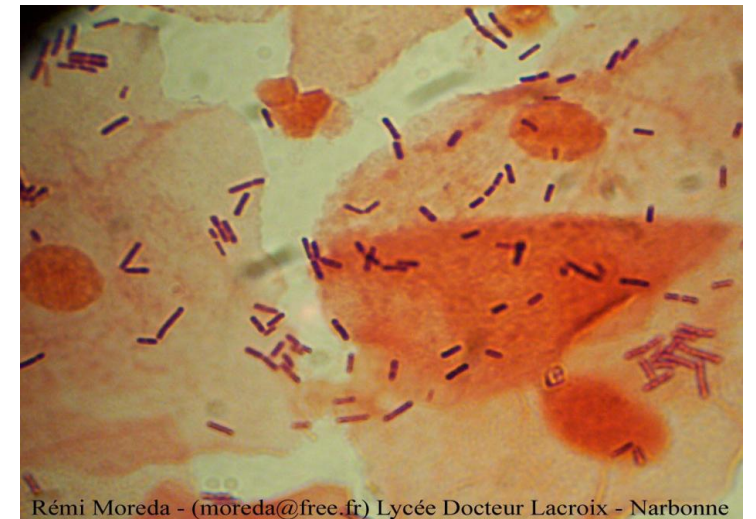
Examen microscopique

Etat frais:

- Cytologie: noter une réaction inflammatoire, desquamation cellules épithéliales
- présence de *T.vaginalis*
- levures, pseudofilaments mycéliens

Frottis coloré au Gram

- évaluation de flore vaginale
- établir Score de Nugent-Krohn-Hillier (vaginose)



Mise en culture: PV standard (Remic 4^{ème} édition, 2010)

Milieux	Germes	Conditions d'incubation	Durée
Gélose au sang cuit+facteurs de croissance avec et sans mélange inhibiteurs (VCN)	<i>N. gonorrhoeae</i>	5 à 10% CO ₂ , 37°C	72h
Gélose au sang de type Columbia avec et sans mélange inhibiteurs (GSN)	Bactéries à Gram + <i>S. agalactiae</i> , <i>S. aureus</i>	5% CO ₂ , 37%	24 à 48 h
Gélose sélective ou non pour BGN	Entérobactéries	37°C	24 à 48 h
Milieux Sabouraud	levures	37°C	24 à 48 h



- Sur prescription explicite ou contexte évocateur

—————> autres recherches mises en œuvre

- *Chlamydia trachomatis*

- Mycoplasmes: *M. hominis*, *Ureaplasma* spp et *M. genitalium*

Flore vaginal normale

A la puberté: Taux d'**oestrogènes +++++**

Sécrétion de **glycogène +++++**
= substrat favori des lactobacillus

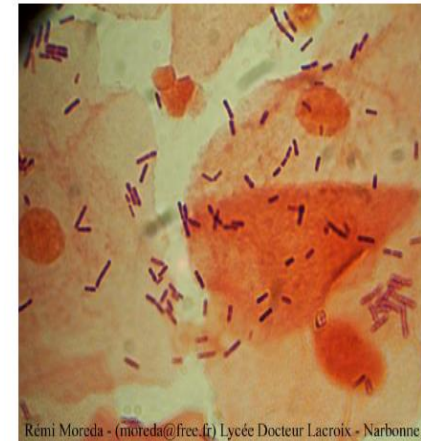
Multiplication +++++des bactéries du complexe **lactobacillus**

Acidification du **pH vaginal** (3,8 à 4,5)
sécrétion de l'eau oxygénée

Inhibition de la prolifération de
G. vaginalis, des BGN, anaérobies et des agents pathogènes

Flore prédominante

Flore de döderlein: Lactobacillus acidophilus



Flore sous-dominante

Infection génitales basses

Implantation de pathogènes spécifique

Urétrite
vaginite
Cervicite

Infection haute

déséquilibre de la flore vaginale endogène

Prolifération anormale d'une partie de
la flore commensale du vagin

Vulvo-vaginite candidosique
Vaginite bactérienne (germes banals)
vaginose

Caractéristiques des pertes vaginales en fonction du germe en cause

	Leucorrhées physiologiques	<i>Candida sp</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Tichomonas vaginalis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
pH	3,8-4,5	<4,5	> 4,5	> 4,5		> 4,5
Leucorrhées	Minimes laiteuses	Blanches, crémeuses,	Grises, épaisses	Verdâtres, mousseuses	Banales parfois jaunâtres	Jaunes-verdâtres purulentes
Odeur	NON	NON	Poisson pourri	nauséabondes	NON	
Autres signes				Col framboise	endocervicite	Urétrite Endocervicite purulente

VAGINITE

Inflammation vulvaire et/ou
vaginale

→ Examen direct: leucocytes +++

Candida albicans
ou trichomonas

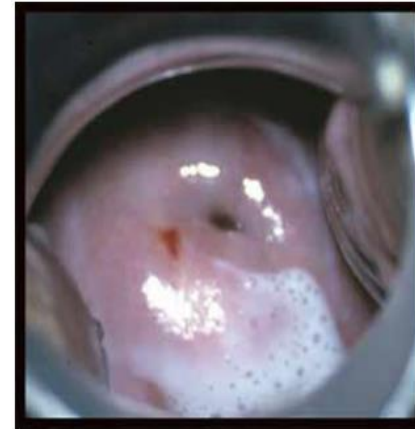
VAGINOSE

Asymptomatique en dehors des
leucorrhées

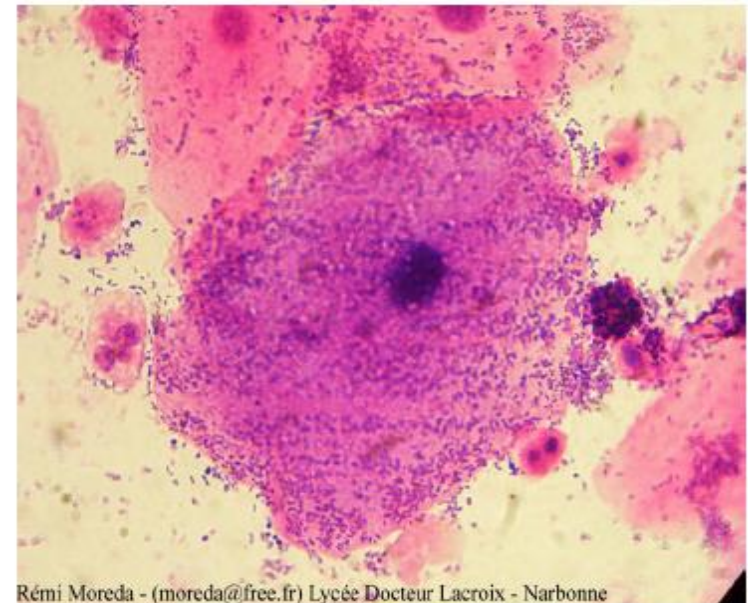
Déséquilibre de la flore vaginale
prolifération +++ des autres
bactéries (*Gardnerella vaginalis*
++, bactéries anaérobies,
Mobiluncus, mycoplasmes
génitaux).

Diagnostic de vaginose bactérienne

- Leucorrhées grisâtres, malodorantes (poisson pourri), adhérentes
- pH vaginal: > 4,5
- Amine-test ou Sniff test ou test à la potasse : positif
- Critères bactériologiques à l'examen direct :
 - Présence de « Clue-cells » ou cellules indicatrices
 - Flore de vaginose : disparition des lactobacilles & prolifération des autres morphotypes (Score de Nugent ≥ 7)
- faible réaction inflammatoire (peu de leucocytes)



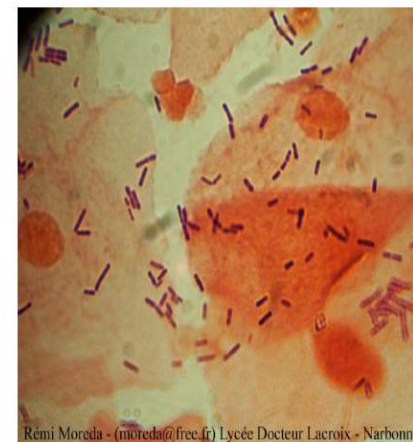
Leucorrhées grisâtres



Score de Nugent-Krohn-Hillier

- doit être établi sur 10 champs microscopiques en faisant une moyenne
- 3 morphotypes entrent dans l'établissement du score:
 - L: morphotype *Lactobacillus*: bacilles à Gram positif, à bord parallèles, le plus souvent droits, longueur et épaisseur variables
 - G: morphotype *Gardnerella* et anaérobies: nombreux petit bacilles ou coccobacilles à Gram positif et ou négatif correspondant à la prolifération polymicrobienne
 - M: morphotype *Mobiluncus*: bacille incurvé (coup d'ongle), à Gram variable

Flore de döderlein: *Lactobacillus acidophilus*



Remi Moreda - (moreda@free.fr) Lycée Docteur Lacroix - Narbonne

Pour chaque morphotype, établir le score de 0 à 4 par le calcul du nombre de bactéries par champ selon le tableau suivant :

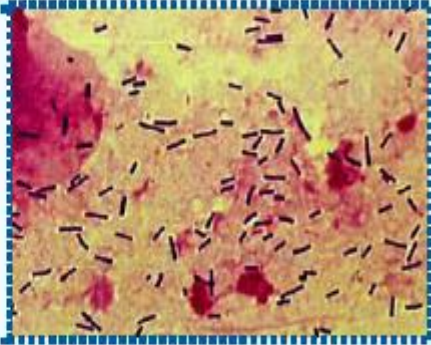
Morphotypes (Immersion objectif 100)	Quantité / Champ				
	> 30	6 à 30	1 à 5	< 1	0
Morphotype lactobacilles (L)	0	1	2	3*	4
Morphotype anaérobies et <u>Gardnerella</u> (G)	4*	3	2	1	0
Morphotype <u>Mobiluncus</u> (M)	2	2	1	1	0*

Addition des 3 scores: correspond au score de Nugent:
exemple score de Nugent 7: L3 G4 M0

Interprétation du score de Nugent

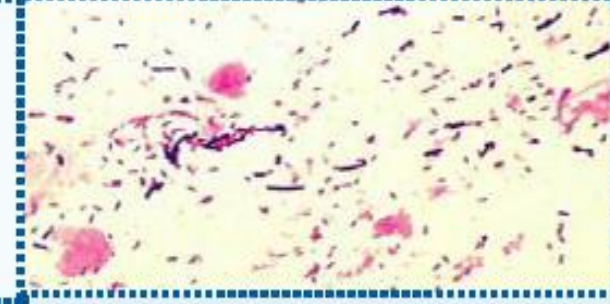
Exemple L0 G0 M0 : Score 0

Score 0 à 3
Flore normale



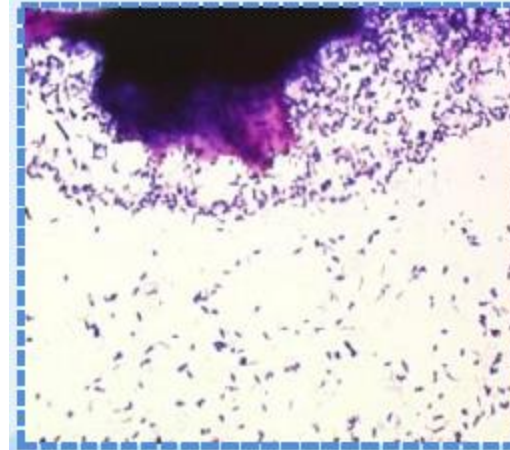
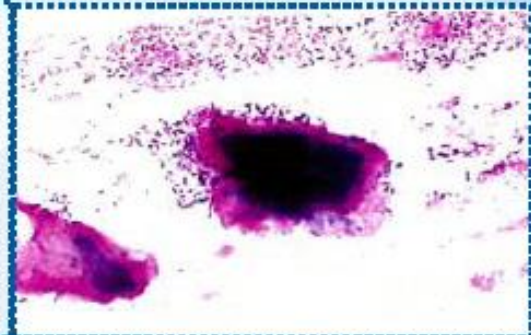
Exemple L1 G4 M0 : Score 5

Score 4 à 6
Flore intermédiaire



Exemple L4 G4 M0 : Score 8

Score 7 à 10
Vaginose bactérienne

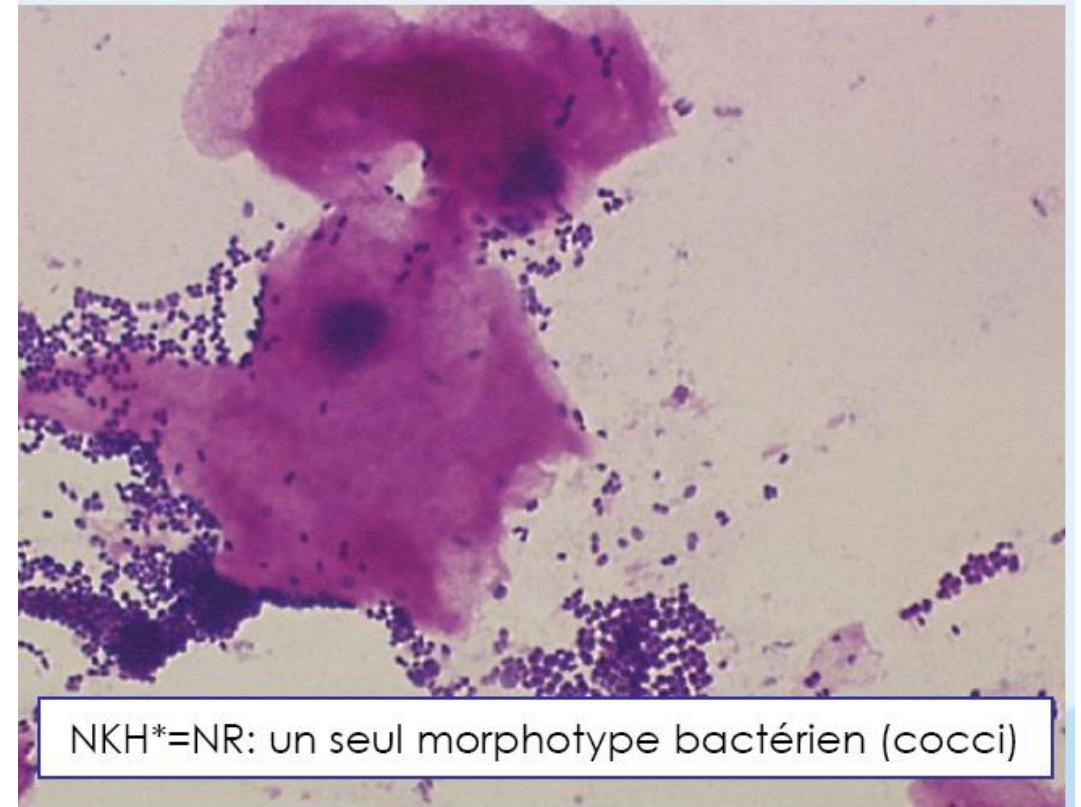


La présence de Clue-cells est à spécifier

En faveur de vaginose

Mais ne sont pas obligatoires dans le cadre de vaginose

- Non réalisable:
 - Densité bactérienne insuffisante
 - Présence d'un morphotype n'entrant pas dans le score ET absence de lactobacille (cocci)

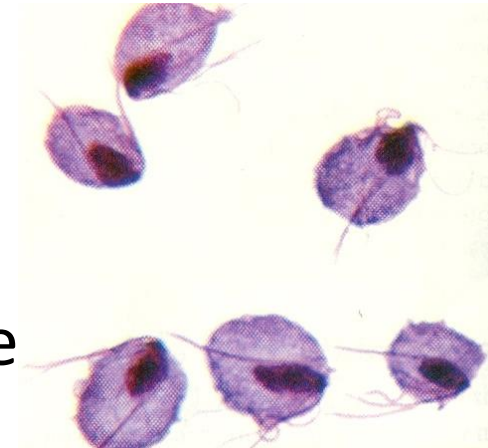


*NKH = Score de Nugent-Krohn-Hillier

Vulvo-vaginite à *Trichomonas vaginalis*

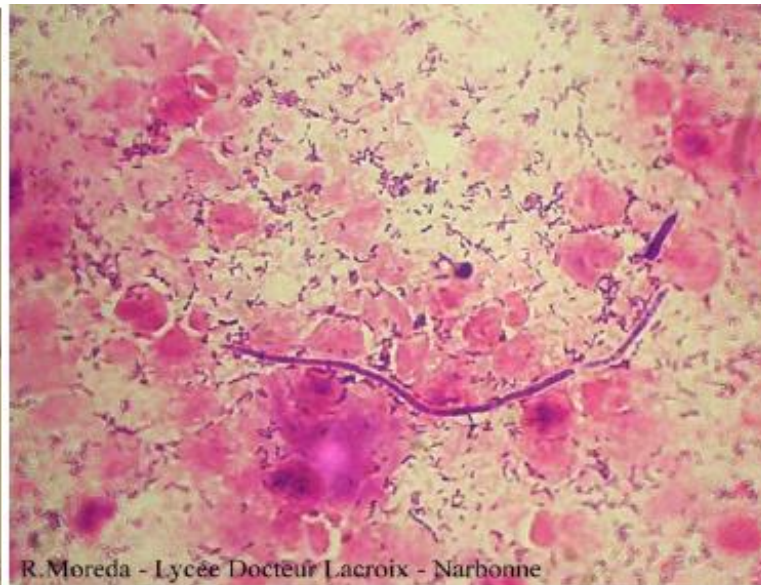
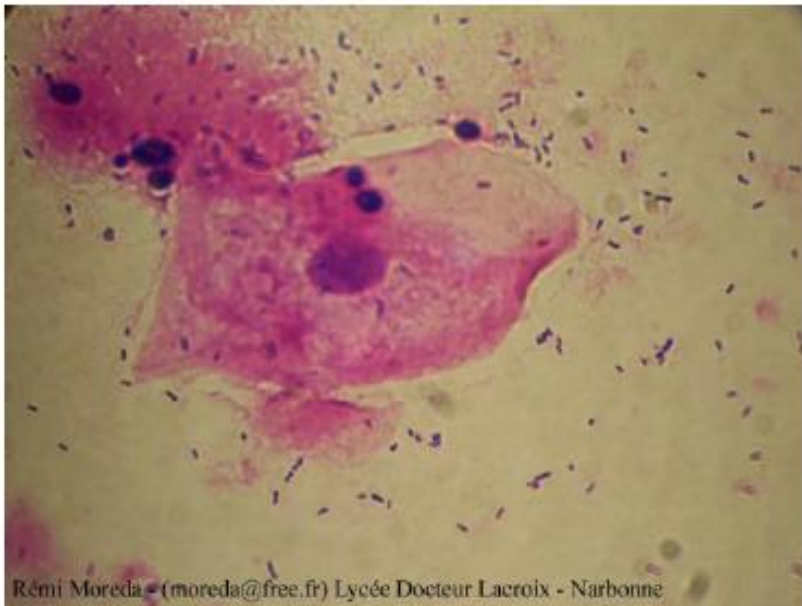
- Protozoaire flagellé
- Réservoir strictement humain
- Parasite n'existant que sous forme végétative, non résistante dans le milieu extérieur → **Acheminement rapide au laboratoire +++**

- → **Prélèvement vaginal :**
- Examen direct +++ 📖 Mise en évidence du parasite
Frottis inflammatoire
- Culture possible (milieu Roiron)



Vulvo-vaginite candidosique

- Pertes crémeuses, caillebotées
- Examen direct: présence de levures bourgeonnantes, pseudofilaments mycéliens
- Frottis non inflammatoire, hyperdesquamation



C. albicans++

Culture sur milieux
Sabouraud

Test de filamentation

Galerie biochimique

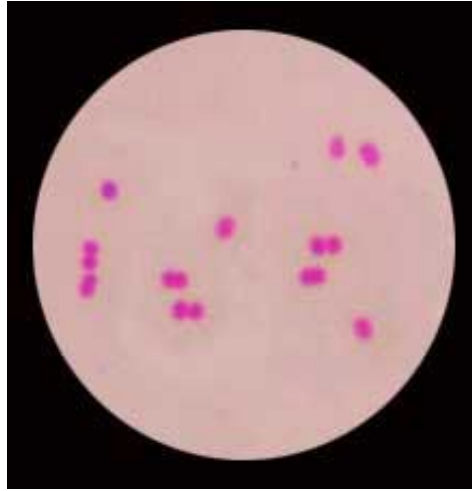
Cervicite ou endocervicite

- Souvent asymptomatique (70%) \Rightarrow complications
- *N. gonorrhoeae*
- *C. trachomatis*
- Association fréquente à chercher systématiquement

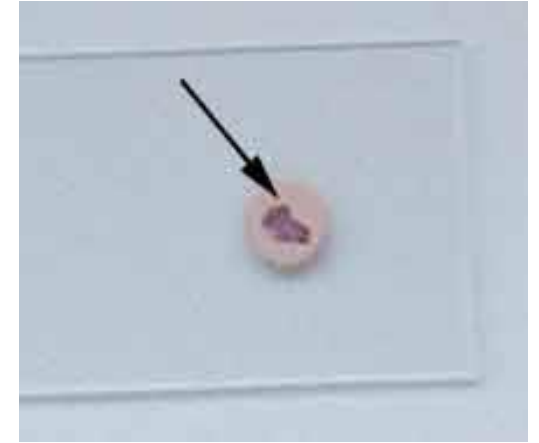


Neisseria gonorrhoeae

Culture sur GC et GC +VCN



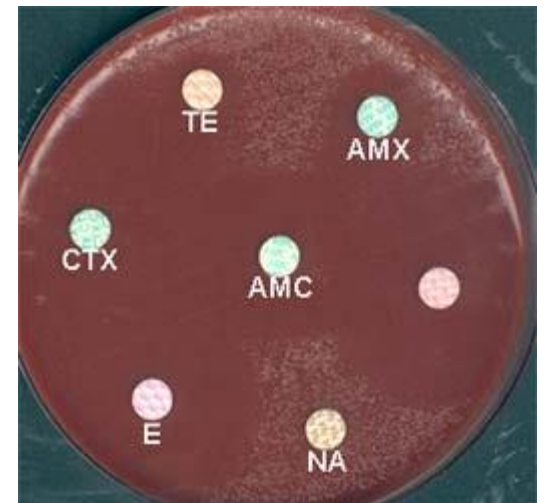
diplocoque à Gram négatif



Test à l'oxydase: +



Identification biochimique: Api NH



Chlamydia trachomatis

Famille: *Chlamydiaceae*.

Genre: *Chlamydia*.

: *Chlamydophila*.

Espèces:

Chlamydia trachomatis.

Chlamydia muridarum.

Chlamydophila pneumoniae..

Chlamydophila psittaci.

Chlamydophila abortus.

Chlamydophila caviae.

Parmi les 19 sérovars connus de *C. trachomatis*, les sérovars D à K ont un tropisme uro-génital marqué.

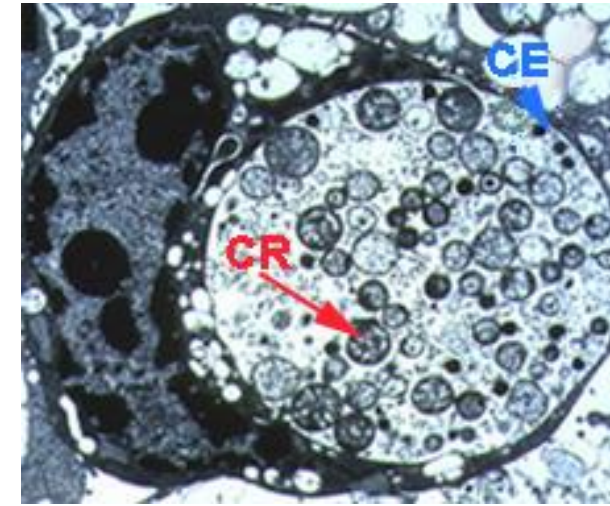
Tableau 1. Biovars et sérovars de *Chlamydia trachomatis*

<i>C. trachomatis</i> Biovar trachoma – Sérovars A, B, Ba, C – Sérovars D, Da, E, F, G, H, I, Ia, J, K	Infections muqueuses superficielles faiblement invasives – Trachome – Infections urogénitales
<i>C. trachomatis</i> Biovar LGV – Sérovars L1, L2, L2a, L3	Infections invasives touchant les ganglions lymphatiques Lymphogranulome vénérien

- **Bactéries intracellulaires obligatoires**

- **corps élémentaires (CE):** forme infectieuse, extra et intracellulaire
- **corps réticulés (CR):** intracellulaire, non infectieux

- La multiplication intracellulaire: événement crucial dans la physiopathologie de l'infection



Microscopie électronique

Le **cycle de développement** comprend plusieurs étapes :

1. Attachement et entrée du CE dans la cellule hôte
2. Différenciation du CE en CR
3. Multiplication du CR dans inclusion cytoplasmique
4. Différenciation des CR en CE
5. Sortie des CE par éclatement de la cellule

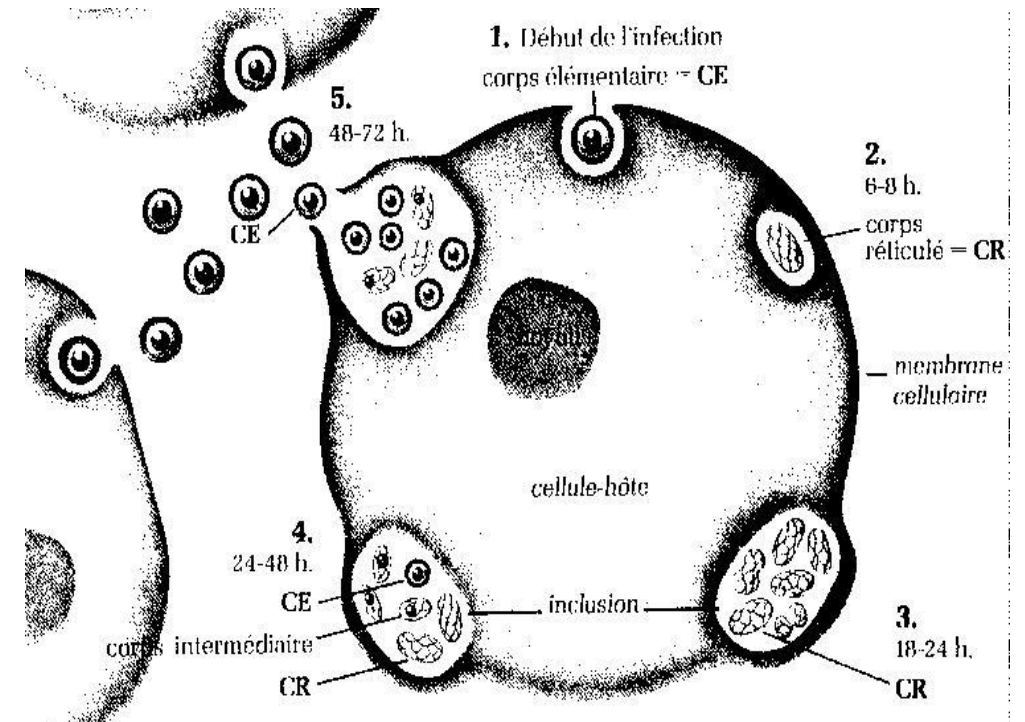


Tableau 2. Signes cliniques de l'infection à Chlamydia trachomatis

Homme

- Asymptomatique (jusqu'à 50%)
- Écoulement urétral et/ou dysurie (environ 50%)
- Epididymites, autres complications locales (environ 2%)

Femme

- Asymptomatique (70-80%)
- Cervicite avec un col friable, écoulement mucopurulent, saignement lors de contacts sexuels
- Complications importantes : bartholinite, annexite, endométrite, salpingite, lésions tubaires, grossesse extra-utérine, douleurs pelviennes aiguës et chroniques (PID), stérilité

Diagnostic microbiologique d'une Infection à *C. trachomatis*

Diagnostic Direct

- **Prélèvements**

caractère intracellulaire → prélèvements doivent contenir des cellules quelle que soit la technique de diagnostic

- **Endocol:** après mise en place de spéculum et élimination de glaire cervicale

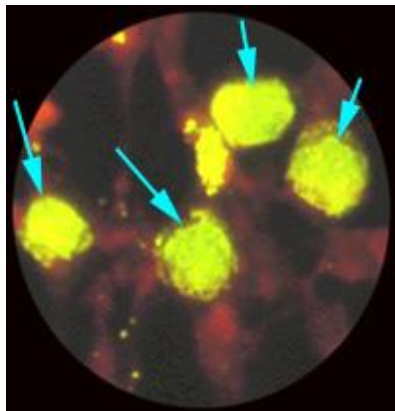
- **Prélèvement urétral associé** (conseillé)

- **Auto-prélèvement vulvo-vaginal:** détection moléculaire, donne d'aussi bons résultats que le pvt endocervical

- **Urines:**

10 à 30 ml des premières urines du matin, ou après continence >2heures permet de récupérer des cellules de desquamation urétrales et cervicales
Le recueil est réalisé dans un pot stérile et surtout sans toilette préalable.

Culture cellulaire



IFD

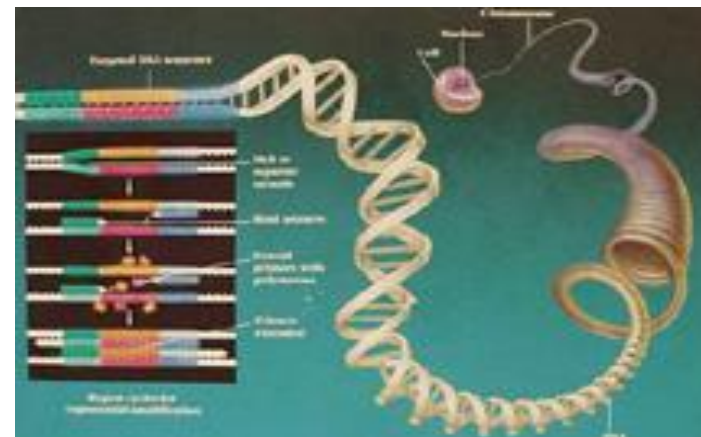
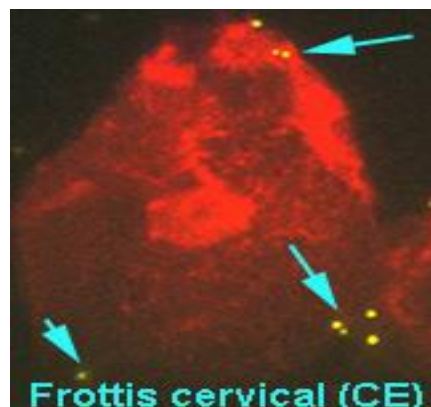


Tableau 3. Méthodes diagnostiques des infections urogénitales à *Chlamydia trachomatis*

Méthodes diagnostiques	Caractéristiques	Informations complémentaires
Culture	Spécifique Sensibilité de 70-85% Frottis urogénitaux nécessaires Chère	Méthode de choix pour les cas médicaux légaux Utilisée surtout en recherche Très spécialisée Fastidieuse, Longue, bactéries viables
Amplification des acides nucléiques	Spécificité et sensibilité élevée (90-98%) Frottis urogénitaux et/ou urines (hommes et femmes)	Utile pour le dépistage systématique (pas d'examen gynécologique nécessaire)
Détection d'Ag par immunofluorescence (sur frottis)	Sensibilité et spécificité (75-80%) (fonction de l'expertise)	
Sérologie	Pas de rôle dans l'infection aiguë	

• Diagnostic sérologique

- Intérêt: infection des voies génitales hautes
- **Titre Ig G ou Ig totales ≥ 64** : significatif d'une infection passée ou en cours
- Séroconversion (très rare) augmentation significative du titre d'Ac (au moins 2 dilutions) entre 2 sérums prélevés à 3 semaines d'intervalle permet le diagnostic d'une infection évolutive
- IgM: intérêt pneumopathies du nouveau-né
- Ig A: détection non standardisée

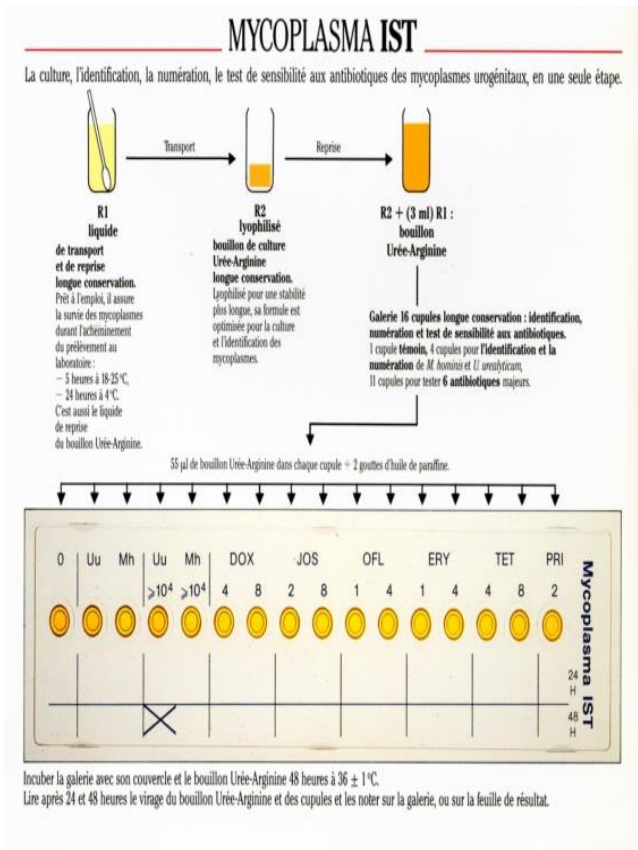
Mycoplasmes génitaux

- Les plus petits et les plus simples procaryotes: taille 0,15 et 0,25 μm
- **Absence de paroi** \Rightarrow résistance naturelle aux β -lactamines
- Relativement fragiles, anaérobies facultatifs, qui ne se multiplient en milieu acellulaire qu'en présence de nombreux facteurs de croissance
- Source d'énergie: métabolisme des sucres ou de l'arginine (*M. hominis*) ou de l'urée (*U. urealyticum*).
- *U. urealyticum* et *M. hominis*:
 - flore commensale homme & femme,
 - mais peuvent être de véritables pathogènes
 - sont les plus fréquents
- *M. genitalium*, *M. fermentans*, *M. penetrans*: plus rares

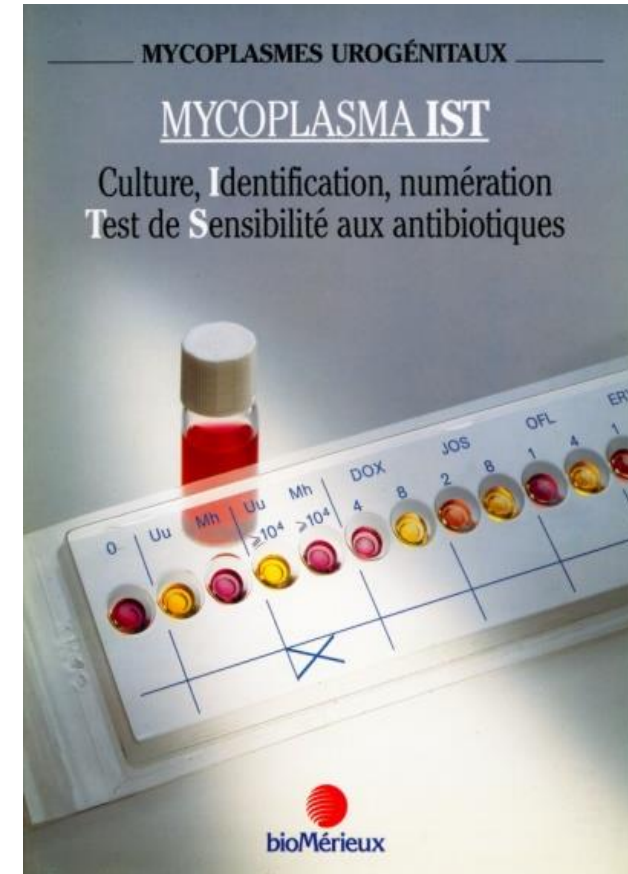
- ***U. urealyticum***: urétrite non gonococcique
- ***U. urealyticum* et *M. hominis***: endométrites, chorioamniotite, fièvre du post-partum, infections néonatales,
- ***M. hominis***: salpingites
- ***M. genitalium***: urétrite non gonococcique, cervcites, endométrites, salpingites

Diagnostic bactériologique

- Prélèvement: milieu de transport+++ 2SP saccharose-phosphate ou UTM
- Mise en culture: sans délai (ou gardés à +4° pdt 48h au plus et au delà < -70°C
- Méthodes: il convient d'utiliser des milieux liquides et des milieux solides



24h et 48h
à 37°C

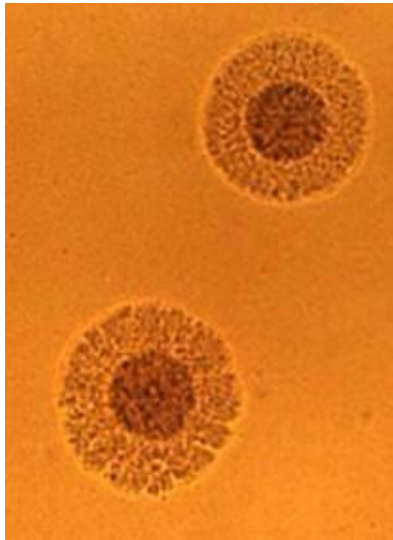


→identification & numération (seuil $\geq 10^4$ ucc/ml) & sensibilité aux ATB

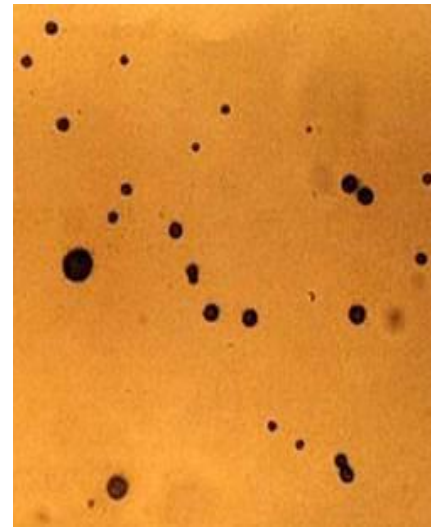
La gélose A7: est un milieu de Shepard modifié

- sérum, peptones, extrait de levure et mélange vitaminique
- Urée et Arginine (énergie)
- Sélectif par l'addition d'antibiotiques et antifongiques
- Sulfate de manganèse coloration noire des colonies d' *U. urealyticum*

→ les colonies sont petites et doivent être recherchées au microscope optique (objectif x10), boîte retournée



Colonies de *M. hominis*: "oeuf sur le plat"



Colonies d'*U. urealyticum* "oursin"

M. genitalium: uniquement PCR

Critères de positivité de la culture chez la femme

Micro-organismes toujours pathogènes	Micro-organismes commensaux à pouvoir pathogène potentiel	Micro-organismes sans pouvoir pathogène
<p><i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> (40%) <i>Trichomonas vaginalis</i> (0.5%)</p>	<p><i>Candida spp</i> (5%) <i>Gardnerella vaginalis</i> (20%) <i>Mycoplasma hominis,</i> <i>Ureaplasma spp</i> ++ (30%) <i>S. aureus,</i> <i>Streptococcus B</i> (8.5%) Enterobactéries et entérocoques (12%)</p>	<p><i>Lactobacillus spp</i> <i>Corynebacterium spp</i> Staphylocoques à coagulase négative</p>

Approches diagnostiques des leucorrhées selon germes présumé

	Prélèvt	microscopie	culture	Amplification génique
Gonocoque	Endocol On peut associer Méat urinaire	Coloration de Gram	Indispensable pour sensibilité aux ATB Mais peu sensible chez femme	Si possible associé à la culture
<i>C.trachomatis</i>	endocol	IFD: à abandonner	Réservé Centre spécialisé	indispensable
<i>M. genitalium</i>	endocol	impossible	Très difficile	indispensable
<i>M. Hominis</i> &<i>Ureaplasma</i>	Culs de sac endocol	impossible	Milieu liquide & solide	possible
<i>T. vaginalis</i>	Cul de sac vaginal	État frais	Possible mais problème de sensibilité des milieux commercialisés	inexistant
Vaginose	Cul de sac vaginal	Coloration de Gram Score Nugent	possible	Sans intérêt

Conclusion

- Diagnostic microbiologique+++ : documenter infection génitale
 - tributaire de la qualité du prélèvement & respect des conditions de transport
 - confrontation des données clinico-biologique (collaboration++)
 - Identification & Étude de la sensibilité aux antibiotiques (gonocoques, germes banals et Mycoplasmes)
 - données épidémiologiques
 - suivre les résistances
 - mise à jour les approches syndromiques