



Analyses de laboratoire pour le diagnostic d'infections vaginales

Analyses de laboratoire pour le diagnostic d'infections vaginales

Guide de pratique pour les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS

Institut national de santé publique du Québec Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec

Février 2016

AUTEURE

Marie Gourdeau, médecin microbiologiste-infectiologue

AVEC LA COLLABORATION DU GROUPE DE TRAVAIL « PROTOCOLES DE L'AMMIQ » DU COMITÉ SUR LES ANALYSES DE LABORATOIRE EN LIEN AVEC LES ITSS (CALI) :

Annie-Claude Labbé, médecin microbiologiste-infectiologue et présidente du CALI Annick Trudelle, conseillère scientifique et coordonnatrice du CALI Pierre Lebel, médecin microbiologiste-infectiologue et responsable du groupe de travail François Coutlée, médecin microbiologiste-infectiologue Claude Fortin, médecin microbiologiste-infectiologue Julie Bestman-Smith, médecin microbiologiste-infectiologue Isabelle Tétrault, médecin microbiologiste-infectiologue

ET AVEC LA COLLABORATION DES AUTRES MEMBRES DU COMITÉ SUR LES ANALYSES DE LABORATOIRE EN LIEN AVEC LES INFECTIONS TRANSMISSIBLES SEXUELLEMENT ET PAR LE SANG (CALI)

Le Comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS (CALI) est un comité permanent d'experts formé avec l'accord du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) et de l'Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec (AMMIQ). Il relève de l'Unité sur les ITSS de la Direction des risques biologiques et de la santé au travail de l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ). Il est rattaché au directeur du Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) pour les aspects de laboratoire ainsi qu'au directeur de la Direction des risques biologiques et de la santé au travail (DRBST) pour les aspects de santé publique. Le CALI a le mandat de fournir une expertise scientifique et de formuler des recommandations et avis visant les activités de laboratoire à des fins de dépistage, de diagnostic, de suivi et de contrôle des ITSS. La liste des membres pour 2015-2016 est présentée à la page suivante.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Marc Steben, médecin-conseil, et Sylvie Bouvet, gynécologue-obstétricienne, pour leur contribution dans la révision de ce guide de pratique.

MISE EN PAGES

Virginie Boué, Direction des risques biologiques et de la santé du travail, Institut national de santé publique du Québec

Liste des membres du CALI

(en date de février 2016)

Isabelle Alarie, médecin microbiologiste-infectiologue, CHUS Hôpital Fleurimont

Louise Charest, médecin clinicienne, Clinique médicale l'Actuel

Marc Dionne (membre d'office), directeur scientifique, Institut national de santé publique du Québec

Patrick Dolcé, médecin microbiologiste-infectiologue, Hôpital régional de Rimouski

Claude Fortin, médecin microbiologiste-infectiologue, CHUM Hôpital Notre-Dame

Eric Frost, microbiologiste, Université de Sherbrooke

Lise Guérard (membre d'office), chef de service, Service de lutte contre les ITSS, ministère de la Santé et des Services sociaux

Annie-Claude Labbé, médecin microbiologiste-infectiologue et présidente du CALI, Hôpital Maisonneuve-Rosemont

Diane Lambert, médecin-conseil, Direction de santé publique des Laurentides

Gilles Lambert, médecin-conseil, Institut national de santé publique du Québec

Pierre Lebel, médecin microbiologiste-infectiologue, Hôpital général de Montréal

Brigitte Lefebvre, microbiologiste, Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

Jean Longtin, médecin-chef, Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

France Morin, médecin clinicienne, CLSC la Pommeraie

Donald Murphy, microbiologiste, Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

Raymond Parent (membre d'office), chef d'unité scientifique, Institut national de santé publique du Québec

Marc Steben, médecin-conseil, Institut national de santé publique du Québec

Isabelle Tétrault, médecin microbiologiste-infectiologue, CHA Hôpital Enfant-Jésus

Annick Trudelle, conseillère scientifique et coordonnatrice du CALI, Institut national de santé publique du Québec

Sylvie Venne, médecin-conseil, Service de lutte contre les ITSS, ministère de la Santé et des Services sociaux

Karl Weiss (membre d'office), médecin microbiologiste-infectiologue, président de l'AMMIQ

HISTORIQUE DU DOCUMENT

Version No: 1

Date: Février 2016

Description des modifications (si applicable)	Réviseur (signature)	Date (AAAA-MM-JJ)
(or approauto)	(oignataro)	(Full at time 55)

Table des matières

List	e des	tableau	IX	VI
List	e des	abrévia	itions	IX
Fait	s saill	ants		1
1	Cont	exte		3
2	But			3
3	Obje	ctifs		3
4	Utilis	ations.		3
	4.1	Princip	ales étiologies infectieuses de la vaginite	3
		4.1.1	Vaginose bactérienne	4
		4.1.2	Candidose vulvo-vaginale	5
		4.1.3	Trichomonase	5
	4.2	Autres	étiologies infectieuses (situations particulières) de la vaginite	6
		4.2.1	Fille prépubère (de moins de 10 ans)	
		4.2.2	Syndrome de choc toxique	6
		4.2.3	Cervicite	6
	4.3	Étiolog	ies non-infectieuses - Vaginite inflammatoire desquamative	
		4.3.1	Vaginite inflammatoire desquamative	
		4.3.2	Diagnostic différentiel	7
5	Princ	ipes		8
	5.1	Exame	n direct	
		5.1.1	État frais dans NaCl 0,9 %	
		5.1.2	État frais dans KOH 10 %	
		5.1.3	Frottis coloré au Gram	
	5.2		9S	
		5.2.1	Culture bactérienne	
		5.2.2	Culture de levures	
		5.2.3	Trichomonas vaginalis	
	5.3		apides de détection de la vaginose bactérienne	
		5.3.1	OSOM™ BVBlue™	
		5.3.2	BD Affirm™VPIII	
	5.4		élèvement de sécrétions vaginales	
6		-	nt de service	
7			ministré pour la mesure du pH	
8		•	s)	
	8.1	Prélève	ements	
		8.1.1	Chez la femme adulte	
		8.1.2	Chez l'enfant	
	8.2	•	port	
	8.3	•	te	
	8.4		s de rejet	
0	Sácu	ritá		15

10	Équip	pement et matériel	15
11	Cont	rôle de qualité	15
	11.1	Coloration de Gram	15
	11.2	Milieux de culture	16
	11.3	Préparation de frottis servant d'échantillon standard dans l'évaluation des critères	
		de Nugent	
12	Proc	édure	
	12.1		
		12.1.1 État frais	16
		12.1.2 Test au KOH	
		12.1.3 Coloration de Gram	17
	12.2	Culture	
		12.2.1 Ensemencement et incubation	18
		12.2.2 Identification	
	12.3	Épreuves de sensibilité	20
		12.3.1 Antibiogramme	20
		12.3.2 Antifongigramme	20
	12.4	Déclaration	20
	12.5	Envoi au LSPQ	21
13	Inter	férences	21
14	Rapp	ort	
	14.1	Rapport préliminaire	21
	14.2	Rapport final	21
		14.2.1 Examen direct (État frais, KOH et Gram)	21
		14.2.2 Culture(s)	22
		14.2.3 Épreuves de sensibilité	22
		14.2.4 Critères de rejet	22
	14.3	Valeurs critiques	22
Réf	érenc	es	23
Anr	exe 1	Tableau comparatif des caractéristiques diagnostiques cliniques et de laborat	oire
		aginites les plus fréquentes	
Anr	exe 2	Procédures pour la réalisation des tests au point de service	35
Anr	exe 3	Images - Examen direct	39

Liste des tableaux

Tableau 1	Décompte microbien/champ à 100X1
Tableau 2	Score de Nugent18

Liste des abréviations

ADN Acide désoxyribonucléique

AMMIQ Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec

BVAB Bacterial vaginosis-associated bacteria

CALI Comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS

CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute

CDC Centers for Disease Control and Prevention

FDA Food and Drug Administration

INSPQ Institut national de santé publique du Québec

ITSS Infections transmissibles sexuellement et par le sang

KOH Hydroxyde de potassium

LSPQ Laboratoire de santé publique du Québec

MALDI-TOF Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time Of Flight

PCR Amplification en chaîne par polymérase (Polymerase Chain Reaction)

TAAN Test d'amplification des acides nucléiques

T-RFLP Polymorphisme de longueur des fragments de restriction terminaux (terminal restriction

fragment length polymorphism)

VIH Virus de l'immunodéficience humaine

Faits saillants

Les diagnostics infectieux les plus souvent évoqués en présence de pertes vaginales, odeurs, prurit, brûlure et irritation à la région vulvo-vaginale sont la vaginose bactérienne, la candidose et la trichomonase. Ces signes et symptômes ne sont cependant pas spécifiques et d'autres diagnostics tels la cervicite à *Chlamydia trachomatis* ou à *Neisseria gonorrhoeae* ainsi que des étiologies de nature non-infectieuse doivent être considérés. Une histoire détaillée, incluant la recherche de facteurs de risque d'infections transmissibles sexuellement et par le sang (ITSS), un examen physique et des analyses de laboratoire sont justifiés pour évaluer les patientes qui présentent des pertes vaginales ou autres signes ou symptômes potentiellement associés à une infection vaginale. Ce guide porte uniquement sur le diagnostic de laboratoire des vaginites associées à la vaginose bactérienne et à la candidose. Le diagnostic de l'infection au *Trichomonas vaginalis* fait l'objet d'un guide séparé. Les infections bactériennes autres que la chlamydiase et la gonorrhée sont à rechercher dans des situations particulières incluant les écoulements purulents chez la fillette prépubère (et parfois chez les femmes ne répondant pas aux traitements habituels des vaginites et vaginoses) et en cas de syndrome de choc toxique.

Il existe plusieurs tests qui peuvent être réalisés au point de service par un professionnel de la santé et qui permettraient d'appuyer un diagnostic spécifique de vaginite. Une formation préalable à la réalisation de ces tests (à l'exception de la mesure du pH et le test d'amine par le KOH (hydroxyde de potassium)) est nécessaire ainsi que la participation à un programme de contrôle de la qualité.

L'examen direct, même si réalisé au point de service, manque de sensibilité pour exclure le diagnostic d'infection fongique ou d'infection par le *T. vaginalis*. Si une recherche spécifique de *T. vaginalis* est indiquée, une méthode de laboratoire doit être utilisée (consulter le guide de pratique sur les tests diagnostiques de l'infection génitale au *T. vaginalis*).

Le diagnostic de candidose vulvo-vaginale peut être réalisé par l'observation de levures à l'examen direct. Lorsque l'examen direct est négatif et en l'absence d'une autre étiologie, une mise en culture peut être indiquée dans les cas de vaginites persistantes ou récidivantes, en présence d'un pH vaginal normal (pH < 4,5 chez la femme d'âge pubère non ménopausée ni menstruée). Le clinicien doit alors spécifier sur la requête qu'il désire une recherche de levures par culture.

Le diagnostic de laboratoire de la vaginose bactérienne est établi à l'examen direct du frottis coloré au Gram selon les critères d'interprétation de Nugent. La recherche de *Gardnerella vaginalis* par culture (ou autre méthode) n'est pas recommandée.

Le recours à l'autoprélèvement et aux tests à domicile pour le diagnostic des infections vaginales sont encore à l'étude et nécessitent des instructions précises pour être bien exécutées. Leur place reste encore à définir.

Lorsque les tests de laboratoires sont négatifs, la présence de signes et de symptômes vulvo-vaginaux doit inciter le professionnel de la santé à penser aux causes non infectieuses de problèmes vulvo-vaginaux telles que dermatologiques (lichen scléreux, lichen simplex, lichen plan, dermatite de contact, vaginite inflammatoire desquamative), urologiques (fuites urinaires), hormonales (en lien ou non avec la contraception) neurologiques (vulvodynie, syndrome du nerf honteux), allergiques (œdème angio-neurotique), néoplasiques ou prénéoplasiques, psychiatriques (troubles obsessifs compulsifs, troubles d'anxiété généralisée, hypochondrie). Dans une telle situation, il est recommandé de consulter un collègue expérimenté.

1 Contexte

Ce document est une nouvelle édition d'un document de l'Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec (AMMIQ) datant de 2007 et anciennement intitulé

- « Protocole des ITSS: Vaginites ». Les nouvelles éditions de cette série de documents, intitulées
- « Guide de pratique pour les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS » sont produites par un groupe de travail du comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les infections transmissibles sexuellement et par le sang (CALI) de l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ).

Un guide de laboratoire sur les infections vaginales est d'autant plus pertinent puisque les signes et symptômes de ce syndrome ne sont pas assez sensibles ni spécifiques pour reconnaître précisément un agent étiologique. Ce guide n'aborde pas le diagnostic des infections à *Chlamydia trachomatis* ou à *Neisseria gonorrhoeae*^A, ni le dépistage du streptocoque de groupe B chez les femmes enceintes.

Ce document pourra servir de guide pour aider à la rédaction et à la révision de la procédure opérationnelle normalisée par les responsables de laboratoire. Nous espérons aussi que certaines informations qui y sont présentées pourront être utiles aux cliniciens ainsi qu'aux professionnels de santé publique qui le consulteront.

2 But

Cette procédure vise à optimiser le diagnostic de laboratoire des infections vaginales, mais n'inclut pas la recherche spécifique de *Trichomonas vaginalis* (qui fait l'objet d'un document distinct)^B.

3 Objectifs

- Décrire les modes de prélèvement pour obtenir des échantillons vaginaux de qualité.
- Décrire les méthodes de laboratoire afin de détecter la présence d'une infection vaginale.

4 Utilisations

La présence de symptômes vulvo-vaginaux (pertes vaginales, odeurs, prurit, brûlure et irritation à la région vulvo-vaginale) est une raison de consultation clinique très fréquente chez la femme adulte(1,2).

4.1 Principales étiologies infectieuses de la vaginite

Un tableau comparatif des plus fréquentes caractéristiques diagnostiques cliniques et de laboratoire des vaginites est inclus à l'annexe 1. Plusieurs tests peuvent être réalisés au point de service par un professionnel de la santé. La mesure du pH, l'examen direct au microscope et le test au KOH qui

A Pour plus d'informations sur les infections *C. trachomatis* et à *N. gonorrhoeae*, consulter les fiches cliniques du GQDITSS (http://publications.msss.gouv.qc.ca/msss/document-000090/) et les guides de l'INESSS (https://www.inesss.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/Outils/Guides_ITSS/Guide_ITSS-Chlamydia_gonorrhoeae_majdec2015_.pdf).

B Consulter le document « Guide de pratique sur les tests diagnostiques de l'infection génitale au T. vaginalis ».

sont des tests faciles à réaliser peuvent aider à établir un diagnostic plus précis(1,2). Les procédures pour la réalisation de ces tests au point de service sont décrites à l'annexe 2.

4.1.1 VAGINOSE BACTÉRIENNE

La vaginose bactérienne est la cause la plus fréquente de pertes vaginales. Bien que cette pathologie ne soit pas considérée comme une infection transmissible sexuellement et par le sang (ITSS), elle survient surtout chez les femmes sexuellement actives et est associée aux partenaires multiples, aux nouveaux partenaires, à l'absence d'utilisation du condom lors de relations sexuelles et aux douches vaginales(3-6). Elle n'est pas associée à un seul pathogène, mais se caractérise par un débalancement de la flore normale (diminution des lactobacilles qui se présentent sous forme de longs bacilles Gram positif au profit d'un microbiote où prédominent les courts bâtonnets Gram négatif tels Gardnerella vaginalis, Mobiluncus spp., Prevotella spp. et Mycoplasma hominis, ainsi que d'autres bactéries non cultivables telles Atopobium vaginae, Eggerthella, Megasphaera type 1 et BVAB-2 (bacterial vaginosis-associated bacteria). L'absence de leucocytes est notable et aide à différencier la vaginose de la vaginite inflammatoire desquamative(7). Plusieurs auteurs ont étudié la composition du microbiote vaginal et de grandes variations sont notées selon les populations étudiées. L'influence de certains facteurs est encore à l'étude, notamment les variations hormonales lors du cycle menstruel, l'effet des contraceptifs oraux et certaines pratiques d'hygiène locale. Il n'est donc pas encore possible d'offrir un test de laboratoire diagnostique sur une base moléculaire généralisable. De plus, ces analyses devraient intégrer des seuils de détection cliniquement significatifs selon le type de bactéries recherchées(8-16). Par ailleurs, il n'est pas recommandé d'effectuer la culture pour rechercher le G. vaginalis(17-19).

Le débalancement du microbiote noté dans la vaginose bactérienne entraîne :

- La production d'amines à l'origine de l'odeur désagréable notée par les patientes ou lorsque les sécrétions vaginales sont mises en contact avec une solution d'hydroxyde de potassium (KOH);
- Une augmentation du pH facilitant l'adhérence de G. vaginalis aux cellules épithéliales qui peuvent subséquemment desquamer et produire les cellules témoins observées au microscope (communément appelées « clue-cells » dans la littérature anglophone);
- Une production accrue de sialidases qui s'attaquent aux sialoglycoprotéines du mucus vaginal(20-24).

La vaginose bactérienne est associée à de nombreuses complications obstétricales et gynécologiques(25-31) telles que :

- La rupture prématurée des membranes;
- Le travail avant-terme et la naissance prématurée;
- La chorioamnionite et l'endométrite postpartum;
- Les infections post-chirurgicales y compris la césarienne;
- La survenue d'une atteinte inflammatoire pelvienne.

La présence d'une vaginose bactérienne est aussi associée à un risque accru d'acquisition et de transmission du virus de l'immunodéficience humaine (VIH)(32-39) et d'autres ITSS(4,18,40-43). La récidive de symptômes après le traitement est très fréquente(44).

Le diagnostic **clinique** repose sur une combinaison de critères proposés par Amsel et coll.(45), incluant certains critères de laboratoire pouvant être réalisés au point de service (*point of care*). La présence d'au moins 3 critères sur 4 augmente la spécificité:

- Présence de plus de 20 % de cellules témoins (cellules épithéliales recouvertes de coccobacilles) à l'examen direct (état frais);
- Écoulement vaginal homogène, blanc ou gris;
- pH > 4.5;
- Test au KOH positif (dégagement d'une odeur d'amine).

Le diagnostic **de laboratoire** est établi par un frottis coloré au Gram selon des critères établis par Nugent et coll.(46), critères qui sont présentés au tableau 2 à la section sur l'examen direct. Il existe une bonne corrélation entre cet examen et les critères cliniques d'Amsel(47,48).

4.1.2 CANDIDOSE VULVO-VAGINALE

La candidose vulvo-vaginale est également très fréquente et certaines patientes présentent des récidives fréquentes et rapprochées. Pour être qualifiée de récurrente, la candidose vulvo-vaginale doit donner lieu à quatre épisodes ou plus par année(49). La majorité des cas ne présentent aucun facteur de risque connu. Parmi les facteurs de risque évoqués, on retrouve la grossesse, la prise d'oestrogènes, l'activité sexuelle, l'immunosuppression attribuable à des situations tels un mauvais contrôle du diabète ou de l'infection à VIH et la prise d'antibiotiques. Des facteurs écologiques vaginaux indépendants des patientes peuvent aussi être en cause(50).

Lors d'un premier épisode chez une femme sans facteur de risque, il est souhaitable de confirmer le diagnostic au laboratoire par un examen direct. Le *Candida albicans* est l'espèce de *Candida* retrouvée dans la majorité des cas. Comme il peut faire partie de la flore normale (chez 3-6 % des femmes prépubères, 10-20 % des femmes en âge de procréer et 6-7 % des femmes ménopausées), sa présence en culture doit être interprétée à la lumière du tableau clinique(17,18,51,52). Certains laboratoires n'offrent pas la culture et se limitent à rechercher la présence de levures à l'examen direct, laquelle est un bon indicateur d'infection vaginale. En effet, on observe une bonne corrélation entre une charge mycologique élevée et la présence de symptômes(53,54). La sensibilité de l'examen direct est accrue lorsqu'on remplace la solution saline par une solution de KOH 10 %. La culture est recommandée uniquement en cas de symptômes persistants ou récurrents définis par la survenue de quatre épisodes d'infections ou plus en un an, et dont l'examen direct est négatif (absence de levures, de *Trichomonas* ou de cellules témoins)(19,55,56). L'identification à l'espèce du *Candida* est recommandée dans les cas réfractaires à la prophylaxie(56). L'antifongigramme dirigé sur le fluconazole est indiqué dans les cas où la culture demeure positive sous prophylaxie au fluconazole.

4.1.3 TRICHOMONASE

La vaginite à *T. vaginalis* est une ITSS qui, dans certaines régions du monde, survient plus fréquemment que les infections à *C. trachomatis* et à *N. gonorrhoeae* combinées(57). L'infection vaginale à *T. vaginalis* est asymptomatique dans une proportion élevée de cas, ce qui contribue à sa transmission soutenue. La vaginite à *T. vaginalis* est également associée à des complications lors de la grossesse (rupture prématurée des membranes, naissance prématurée et bébé de faible poids à la naissance), à l'atteinte inflammatoire pelvienne et à un risque accru d'acquisition (2-5 fois) et de transmission du VIH. La sensibilité de détection du *T. vaginalis* à l'état frais est de 50-65 %(58,59) et

décroît rapidement après le prélèvement(60,61). L'utilisation d'un test spécifique et plus sensible que l'état frais est recommandée pour le diagnostic en laboratoire de la trichomonase(17,18).

Les tests de laboratoire pour détecter le T. vaginalis font l'objet d'un guide de pratique distinct(62).

4.2 Autres étiologies infectieuses (situations particulières) de la vaginite

4.2.1 FILLE PRÉPUBÈRE (DE MOINS DE 10 ANS)

Chez la fille prépubère, les vulvo-vaginites sont majoritairement d'étiologie non infectieuse (corps étranger, dermite de contact, lichen plan et scléreux). Les bactéries les plus souvent responsables des vulvo-vaginites infectieuses chez les filles prépubères font partie de la flore respiratoire (Streptococcus pyogenes, Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae) ou entérique telles que les entérobactéries (incluant Shigella spp.). S. pyogenes est la bactérie la plus souvent rencontrée (environ 20 % cas). Le Candida spp. est rarement en cause. On le retrouve en présence de facteurs prédisposant tels le diabète, la prise récente d'antibiotiques, les états d'immunosuppression ou le port de couche. G. vaginalis n'est généralement pas associé aux pertes vaginales chez la fille prépubère et la vaginose bactérienne est une exception(63-67).

Il est recommandé de faire une culture bactérienne chez la fille prépubère si l'écoulement est purulent ou s'il persiste. Parmi les causes infectieuses, le diagnostic d'oxyurose causée par *Enterobius vermicularis* doit également être considéré en présence de prurit vulvaire ou péri-anal particulièrement si les symptômes sont nocturnes et récidivants(64,65,68). À l'exception du *T. vaginalis*, qu'on peut parfois retrouver chez le nouveau-né, les agents pathogènes tels *C. trachomatis* ou *N. gonorrhoeae*, associés aux ITSS, peuvent être retrouvés en cas d'abus sexuel(69) et ne sont pas traités dans ce document.

4.2.2 SYNDROME DE CHOC TOXIQUE

La présence de *S. pyogenes* ou de *S. aureus* au niveau de la flore vaginale peut également être associée au syndrome de choc toxique(70,71). L'identification de ces bactéries est requise s'il y a mention de choc toxique ou de recherche de ces pathogènes sur la requête. Des éclosions d'infections post-partum à *S. pyogenes* sont également décrites(72-74). Cependant, les spécimens prélevés dans les cas d'endométrite ou des sites d'épisiotomie doivent être traités au laboratoire comme des pus superficiels.

4.2.3 CERVICITE

Les pertes vaginales peuvent parfois survenir en cas de cervicite causée par *C. trachomatis* ou *N. gonorrhoeae*.

Chez les femmes ayant des facteurs de risque pour ces infections et qui présentent des pertes vaginales, il est pertinent de procéder à un examen gynécologique à l'aide d'un spéculum^c, si possible, afin d'exclure une cervicite.

La recherche de *N. gonorrhoeae* par culture à partir de sécrétions vaginales est effectuée uniquement chez les patientes hystérectomisées et les filles prépubères (se référer au guide pratique sur la

C Des travaux sont nécessaires afin de préciser les critères justifiant l'examen au spéculum chez les femmes présentant des pertes vaginales.

« Détection de *N. gonorrhoeae* par culture »(75)). Chez une femme symptomatique, la recherche de *N. gonorrhoeae* par culture au niveau du col demeure un test de choix, en plus de faire un prélèvement pour la recherche de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* par TAAN à partir des sécrétions cervicales ou vaginales(76). Dans la déclaration supplémentaire de l'agence de la santé publique du Canada (ASPC), concernant les recommandations liées au diagnostic, à la prise en charge et au suivi des pertes vaginales publiée en mars 2014, l'ASPC précise que la cervicite causée par *N. gonorrhoeae* ou *C. trachomatis* s'accompagne parfois de pertes vaginales et que l'examen des patientes devrait comprendre ce qui suit :

- Un examen génital externe à la recherche d'un œdème, d'un érythème ou d'excoriations de la vulve;
- Un examen à l'aide d'un spéculum afin de visualiser le col et les parois vaginales;
- Un examen bimanuel afin d'exclure une douleur abdominale basse ou une sensibilité du col aux mouvements.

Si des signes cliniques de cervicite sont présents, il est recommandé de demander une recherche de *N. gonorrhoeae* et de *C. trachomatis* et, selon la situation clinique, un prélèvement d'échantillons pour une recherche de *N. gonorrhoeae* par culture et test d'amplification des acides nucléiques (TAAN) devrait être envisagé(77).

4.3 Étiologies non-infectieuses - Vaginite inflammatoire desquamative

4.3.1 VAGINITE INFLAMMATOIRE DESQUAMATIVE

La vaginite inflammatoire desquamative est une inflammation vaginale chronique dont l'étiologie est inconnue et qui survient le plus souvent en péri-ménopause(78,79). Les signes et symptômes de la vaginite inflammatoire desquamative sont les pertes vaginales purulentes intraitables d'une durée de plusieurs années accompagnées de douleur (brûlure, dyspareunie), prurit et la présence d'inflammation vaginale diffuse et de pertes vaginales jaunes à verdâtres à l'examen. La vaginite inflammatoire desquamative ne peut être détectée par un test d'identification microbiologique. Les critères diagnostiques sont : un écoulement vaginal purulent, un pH vaginal supérieur à 4,5, une augmentation des polynucléaires, la présence de cellules parabasales^D et une réduction ou absence de lactobacilles à l'examen microscopique(79). On doit exclure la vaginose bactérienne, la trichomonase et l'infection à *C. trachomatis* ou à *N. gonorrhoeae* ou toute autre forme de vaginite bactérienne^E qui survient parfois chez les femmes adultes (comme chez la fillette prépubère).

4.3.2 DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL

Lorsque les tests de laboratoire sont négatifs, la présence de signes et de symptômes vulvovaginaux doit inciter le professionnel de la santé à penser aux causes non infectieuses de problèmes vulvo-vaginaux telles que dermatologiques (lichen scléreux, lichen simplex, dermatite de contact, vaginite inflammatoire desquamative), urologiques (fuites urinaires), hormonales (en lien ou non avec la contraception), neurologiques (vulvodynie, syndrome du nerf honteux), allergiques (ædème angioneurotique), néoplasiques ou prénéoplasiques, psychiatriques (troubles obsessifs compulsifs,

D Cependant, celles-ci ne sont rapportées par aucun laboratoire au Québec.

E Dans les rares cas où on recherche une vaginite bactérienne (causée par exemple par *S. aureus* ou *S. pyogenes*) chez l'adulte, le clinicien doit porter une attention particulière à la nature du spécimen indiquée sur la requête : plutôt que d'inscrire « sécrétions vaginales », il est alors préférable que le clinicien indique « pus superficiel vagin » et demande une culture aérobie.

troubles d'anxiété généralisée, hypochondrie). Dans une telle situation, il est recommandé de consulter un collègue expérimenté.

5 Principes

5.1 Examen direct

L'identification des infections vaginales les plus fréquentes nécessite un examen direct de l'échantillon clinique. L'examen direct d'un spécimen de sécrétions vaginales peut être réalisé à l'état frais dans une goutte de solution de NaCl 0,9 %, et également examiné avec une goutte de solution KOH 10 % et sur un frottis coloré au Gram. La lecture de l'état frais est facilitée par l'utilisation du contraste de phase(17). Il n'est cependant pas nécessaire de se procurer un microscope à immersion ni à contraste de phase pour effectuer les examens directs au point de service. Des exemples d'observations possibles au microscope d'infections vaginales sont présentés à l'annexe 3.

5.1.1 ÉTAT FRAIS DANS NACL 0,9 %

L'état frais permet d'observer les cellules témoins, les levures ainsi que la présence et la mobilité du *T. vaginalis*. La mobilité du *T. vaginalis* décroît rapidement après le prélèvement et lorsqu'immobile, sa détection à l'examen direct est beaucoup plus difficile, car il peut être confondu avec des lymphocytes(60). La mobilité du *T. vaginalis* est préservée la première heure, si le spécimen est entreposé dans une solution saline plutôt que déposé sur une lame(61). L'état frais dans la vaginite inflammatoire desquamative peut ressembler à une trichomonase et un médecin peu expérimenté pourrait confondre le mouvement brownien des leucocytes avec celui des *Trichomonas*.

5.1.2 ÉTAT FRAIS DANS KOH 10 %

Le clinicien peut également faire un test au KOH au point de service, sur les sécrétions vaginales. Ce test permet de mettre en évidence l'odeur caractéristique immédiatement dégagée par les amines en présence d'une vaginose bactérienne. La lame peut ensuite être examinée au microscope. L'ajout d'une goutte de solution KOH 10 % détruit les débris cellulaires et permet de déceler plus clairement les levures et les hyphes. Par contre, le KOH détruit les cellules épithéliales et lyse le *T. vaginalis*. L'état frais avec la solution de NaCl est donc nécessaire pour la visualisation du *T. vaginalis* si le diagnostic de la trichomonase repose uniquement sur l'examen direct.

Même si l'examen direct peut permettre d'établir un diagnostic de vaginite à *Candida* ou à *Trichomonas*, cet examen manque de sensibilité et ne permet pas d'exclure le diagnostic lorsque négatif. Ceci est particulièrement vrai dans les situations cliniques où le diagnostic de trichomonase est considéré.

5.1.3 FROTTIS COLORÉ AU GRAM

Le diagnostic définitif de la vaginose bactérienne est établi à l'examen direct du frottis coloré au Gram. Quoique cet examen soit plus spécifique que les tests basés uniquement sur la détection de *G. vaginalis* et soit équivalent ou légèrement supérieur aux critères cliniques d'Amsel(47,48,80), il demeure toutefois imparfait. Il est important de noter que la modification de la coloration de Gram selon Kopeloff est recommandée afin de diminuer le risque de décoloration excessive des bactéries Gram positif anaérobies recherchées dans la vaginose bactérienne. La lecture du Gram avec ce système de notation nécessite une bonne formation et l'utilisation de lames de contrôle de qualité pour harmoniser la lecture inter-observateur.

Le frottis coloré au Gram peut également se substituer à l'état frais pour l'observation de levures à l'examen direct. Ainsi, le frottis des sécrétions vaginales coloré au Gram peut être le seul examen direct effectué au laboratoire de microbiologie, si la détection du *T. vaginalis* au laboratoire ne repose pas uniquement sur l'examen direct à l'état frais.

5.2 Cultures

5.2.1 CULTURE BACTÉRIENNE

Chez une clientèle adulte, une culture des sécrétions vaginales n'est pas nécessaire dans tous les cas. Elle est effectuée selon les renseignements cliniques et/ou sur demande spécifique du clinicien (ex. : chez les femmes ne répondant pas aux traitements habituels des vaginites et vaginoses^F). Elle est indiquée dans les situations suivantes, en fonction du microorganisme recherché :

- S. aureus et S. pyogenes : chez les enfants de moins de 10 ans ou en présence d'un syndrome de choc toxique.
- Entérobactéries : chez les enfants de moins de 10 ans.

La recherche de *S. aureus* et *S. pyogenes* nécessite l'ensemencement sur une gélose sang. L'ajout d'une gélose MacConkey peut être considéré en pédiatrie pour identifier la présence d'entérobactéries, tout particulièrement le *Shigella* spp. Les cultures bactériennes pour la recherche de *G. vaginalis*, de bâtonnets Gram négatif anaérobes ou de *Mycoplasma hominis* ne sont pas recommandées, car on ne peut pas attribuer la vaginose bactérienne à un seul pathogène(18,55,81). De plus, ces microorganismes font partie de la flore normale. Par ailleurs, ces cultures sont très laborieuses et ne fournissent pas un résultat en temps réel.

5.2.2 CULTURE DE LEVURES

Étant donné que le *Candida* spp. peut faire partie de la flore normale, il est recommandé de ne rechercher les levures qu'à l'examen direct. Si aucune levure n'est observée à l'examen direct, il est recommandé d'effectuer une culture dans les situations suivantes :

- Vaginite récidivante (4 épisodes par année et plus);
- Persistance des signes et symptômes réfractaires à la prophylaxie contre les infections à levures pour déterminer la présence d'autres levures que C. albicans ou de résistance du C. albicans au fluconazole(1,17,18,55,56,80,81).

La culture est plus sensible que l'examen direct pour la détection de levures. On observe une corrélation directe entre le pourcentage de positivité à l'examen direct et la quantité de levures en croissance^G. Sur 3 020 analyses où la culture a été réalisée (du 9/5/2015 au 25/1/16), 762 cultures ont été trouvées positives pour levures; 67 % rapportaient la présence de levures au Gram (16,5 % si croissance 1+; 24,1 % si 2+; 74,8 % si 3+ et 98,2 % si 4+)^G. Plusieurs milieux de culture peuvent être utilisés, dont la gélose sang, la gélose Sabouraud dextrose ou une gélose sélective chromogénique.

La croissance d'une levure sur gélose sang nécessite des tests supplémentaires pour permettre son identification. La gélose Sabouraud dextrose est le milieu sélectif le plus couramment utilisé dans les

F Dans les rares cas où on recherche une vaginite bactérienne chez l'adulte, il faut porter attention à la nature du spécimen indiquée sur la requête. Plutôt que d'indiquer « sécrétions vaginales », il est alors préférable d'indiquer « pus superficiel vagin » et de demander une culture aérobie.

G Source: Marie Gourdeau, données non publiées.

laboratoires. Les géloses chromogéniques seraient plus sensibles que la gélose sang pour permettre la détection de *Candida* spp. Elles permettent d'établir une identification présomptive de plusieurs espèces de *Candida*, dont le *C. albicans*, ainsi que de repérer les cultures mixtes. L'identification de l'espèce est donc plus rapide qu'à partir de la gélose Sabouraud, mais à coût plus élevé(82). Il existe plusieurs géloses chromogéniques sur le marché pour l'isolement et l'identification présomptive des *Candida* spp., par exemple : Candi*Select*™4 (Bio-Rad), BBL™ CHROMagar™ Candida (BD) et chromID™ Candida (Biomérieux). Ces géloses offrent généralement une performance équivalente. Il est cependant très important de respecter la température et le temps d'incubation recommandés par le manufacturier pour interpréter les résultats. Cette liste n'est pas exhaustive et certaines fournitures sont susceptibles de ne pas (ou ne plus) être disponibles au Québec, ceci restant à être validé avec le fournisseur et le service des achats du laboratoire.

5.2.3 TRICHOMONAS VAGINALIS

À cause de la faible sensibilité de la microscopie directe (40-80 %) pour la recherche de *T. vaginalis*, il est recommandé d'effectuer une recherche par culture ou une autre technique basée sur la détection d'antigènes ou d'amplification des acides nucléiques (consulter le guide de pratique sur les tests diagnostiques de l'infection génitale au *T. vaginalis*)(62).

5.3 Tests rapides de détection de la vaginose bactérienne

Des tests rapides ont été mis sur le marché pour le diagnostic rapide de la vaginose bactérienne. Ces tests peuvent mesurer un ou plusieurs éléments dont :

- Le pH;
- La présence d'amines (Quick Vue Advance, Quidel, San Diego, CA);
- La présence de sialidases produites en grande quantité (OSOM™ BVBlue™ test, Genzyme diagnostics);
- La présence de G. vaginalis (Quick Vue Advance Gardnerella assay Quidel, San Diego, CA ou BD Affirm™VPIII qui dépiste aussi les espèces de Candida et le T. vaginalis).

Les tests de la compagnie Quidel ont été retirés du marché. Le test OSOM™ BVBlue™ test n'est disponible qu'aux États-Unis et le test BD Affirm™VPIII est quant à lui disponible au Canada. Ils seront présentés brièvement.

5.3.1 OSOM™ BVBLUE™

Ce test mesure l'activité des sialidases dans les sécrétions vaginales à l'aide d'un substrat chromogénique. L'analyse est facile à réaliser au point de service. La réalisation du test prend 10 minutes. On prélève un échantillon de sécrétions vaginales à l'aide d'un écouvillon au niveau du tiers inférieur de la paroi vaginale (éviter la région du col). Si le test ne peut pas être réalisé immédiatement, il est possible de conserver l'écouvillon dans un tube de verre ou de plastique sans milieu de transport pendant 48 heures à la température de la pièce ou réfrigéré pour une période maximale de 7 jours(83). Les résultats peuvent être influencés par l'utilisation de lubrifiants, de spermicides, de traitements topiques ou de douches vaginales dans les 72 heures précédant le prélèvement. Deux critères de contrôle de qualité sont nécessaires pour valider le résultat :

- L'aspect incolore du liquide avant l'introduction de la tige à prélèvement dans le tube;
- L'apparition, à la lecture, d'une couleur uniforme jaune (test négatif) ou bleue/verte (test positif).

Les contrôles externes de qualité doivent être achetés séparément.

La performance du test par rapport aux critères de Nugent varie selon les études. Ainsi, la sensibilité peut varier de 38 %(84) à 88-100 %(85-87) tout en conservant une spécificité supérieure à 90 %. Une étude a démontré une excellente corrélation du test avec la présence de cellules témoins ou le test au KOH (p < 0,0001)(84). L'auteur attribue la faible sensibilité du test au microbiote possiblement différent dans la population à l'étude. L'étude a été réalisée dans une clinique axée sur la reproduction, sur 323 femmes non enceintes, sexuellement actives, avec un pH vaginal supérieur à 4,5, parmi lesquelles 149 femmes (46 %) avaient un score de Nugent compatible avec une vaginose bactérienne(84).

5.3.2 BD AFFIRM™VPIII

Ce test est homologué par Santé Canada et est approuvé par la Food and Drug Administration (FDA). Il utilise des sondes d'acide désoxyribonucléiques (ADN) pour détecter et identifier les acides nucléiques des espèces de *Candida* les plus souvent isolées, de *G. vaginalis* et de *T. vaginalis* dans les échantillons de sécrétions vaginales de patientes symptomatiques. Le test utilise deux sondes différentes d'acides nucléiques monocaténaires pour chaque microorganisme, une sonde de capture et une sonde de coloration. La viabilité des microorganismes n'est pas indispensable et l'échantillon soumis peut être conservé à température de la pièce ou réfrigéré pendant 3 jours. La procédure nécessite l'acquisition de matériel nécessaire au prélèvement, d'un système de transport à température de la pièce, d'un processeur et d'un bloc de lyse BD MicroProbe.

Dans une évaluation publiée en 1992, Sheiness avait rapporté une excellente sensibilité et spécificité du test lorsque combiné à un pH supérieur à 4,5, comparativement au diagnostic par critères cliniques(88). Des études ultérieures utilisant le frottis coloré au Gram comme comparateur ont donné des résultats variables(89). Récemment, ce test a été comparé à un test multiplexe « maison » d'amplification en chaîne par polymérase (*Polymerase Chain Amplification*, PCR) et démontre une excellente spécificité, mais une sensibilité moindre pour diagnostiquer une candidose vulvovaginale(90). Dans cette même étude, le test BD Affirm™VPIII a démontré être moins spécifique que le décompte sur le frottis coloré au Gram pour diagnostiquer la vaginose bactérienne dans une population de patientes ayant les critères cliniques d'Amsel. Ceci s'explique par le fait que le test ne détecte que le *G. vaginalis* et comporte le risque de surdiagnostiquer la vaginose bactérienne.

La performance du test pour la détection de *T. vaginalis* est discutée dans le guide de pratique « Tests diagnostiques de l'infection génitale au *Trichomonas vaginalis* »(62).

5.4 Autoprélèvement de sécrétions vaginales

Chez les femmes n'ayant pas accès ou ne voulant pas subir un examen pelvien, l'autoprélèvement des sécrétions vaginales par écouvillonnage a été validé pour le dépistage, par des techniques moléculaires, d'ITS telles les infections à *C. trachomatis*, à *N. gonorrhoeae* et VPH(91-98).

Quelques études ont démontré que l'autoprélèvement est de qualité équivalente à celui réalisé par le clinicien pour le diagnostic de la vaginite à *T. vaginalis* par culture(99), par détection d'antigène avec l'OSOM ® Trichomonas Rapid Test réalisé par la patiente(100) et par TAAN(101).

Quelques études ont été publiées sur la validité de l'autoprélèvement dans le diagnostic de la vaginose bactérienne. Une étude a comparé l'autoprélèvement au prélèvement par un clinicien, sur un petit groupe de femmes enceintes, en utilisant les critères de Nugent à la coloration de Gram(102). La validité

du score dichotomique était excellente (kappa 0,94 (p < 0,001), avec une seule paire discordante, et celle du score continu était très bonne (kappa 0,83)(102). Strauss a publié en 2005 une étude similaire chez 129 femmes enceintes, en y incluant également la lecture du pH(103). Cette étude a observé une concordance au score dichotomique dans 122 spécimens (94,5 %; kappa 0,71)(103). Une autre étude réalisée chez 50 patientes symptomatiques visitant une clinique externe de gynécologie a permis d'identifier, à l'examen direct, 8 candidoses avec l'autoprélèvement par opposition à 6 pour les prélèvements effectués par un clinicien(104). On a cependant retrouvé plus d'examens directs compatibles avec une vaginose bactérienne (n=20) sur les prélèvements effectués par un clinicien par rapport à l'autoprélèvement (n=15)(104) . Plus récemment, une étude a comparé la mesure du pH (77 patientes) ou de la sialidase (51 patientes) par la patiente et le clinicien(105). La concordance des résultats pour la mesure du pH était de 76 % (sensibilité 65 %, spécificité 88 %) et celle de la sialidase, de 92 % (sensibilité 67 %, spécificité 98 %)(105).

Finalement, des études récentes ont évalué l'autoprélèvement par rapport au prélèvement clinique pour analyser le microbiote vaginal. Les résultats d'analyse des autoprélèvements effectués par 20 femmes en santé (un prélèvement) visitant une clinique externe de gynécologie ont été comparés aux prélèvements effectués par le clinicien (3 par patiente). L'analyse du microbiote vaginal par une méthode de biologie moléculaire basée sur l'analyse de polymorphisme de longueur des fragments de restriction terminaux (« terminal restriction fragment length polymorphism »; T-RFLP) et séquençage de l'ARN ribosomal 16S a démontré une aussi grande diversité microbienne par les 2 modes de prélèvements(106). Ménard a publié en 2012 une étude comparant les 2 modes de prélèvement pour la recherche, par PCR quantitatif en temps réel, de Lactobacillus spp., A. vaginae et G. vaginalis, chez 190 femmes enceintes. La concordance entre les 2 prélèvements calculée avec le coefficient de corrélation de Spearman a été très bonne, soit 0,748 pour A. vaginae, 0,918 pour Lactobacillus spp., et 0,94 pour G. vaginalis (p < 0,001). La concordance étant encore plus marquée en présence de concentrations bactériennes élevées (kappa 0.973 pour > 108 copies/mL de A. vaginae et 0,903 pour > 109 copies/mL de G. vaginalis; p < 0,001)(107). Il est important de souligner que dans toutes ces études, les prélèvements effectués par les patientes étaient réalisés dans un contexte d'évaluation clinique, à l'aide d'instructions précises.

Le recours à l'autoprélèvement et aux tests à domicile pour le diagnostic des infections vaginales est encore à l'étude et ces deux méthodes nécessitent des instructions précises pour être bien exécutées. Leur place reste encore à définir.

6 Tests au point de service

Plusieurs tests peuvent être réalisés auprès de la patiente, par le clinicien au point de service, par exemple l'examen direct à l'état frais au microscope, la mesure du pH, ou la détection d'odeur d'amines générée au contact avec une solution KOH. L'annexe 2 décrit comment réaliser ces procédures. Une formation préalable est nécessaire pour acquérir l'expertise nécessaire à la réalisation de ces tests.

7 Test autoadministré pour la mesure du pH

Un test de dépistage autoadministré des infections vaginales est disponible en pharmacie. VagiSense ® (Paladin Labs Inc., 2012) est publicisé comme un test de dépistage en vente libre à réaliser chez soi, destiné aux femmes en âge d'avoir des menstruations et qui veulent tester leur pH vaginal, plus particulièrement aux femmes qui présentent des symptômes tels des démangeaisons, des brûlures vaginales, ou des pertes vaginales de couleur ou d'odeur anormales ou en quantité

excessive. Il ne s'agit donc pas, à proprement parler, d'un test de dépistage, mais d'un test d'autodiagnostic.

Chaque boîte contient deux dispositifs permettant de répéter le test si une incertitude existe quant au contact du dispositif avec quoi que ce soit avant son insertion dans le vagin. Le coût d'achat en juin 2015 était de \$17,99 pour une boîte contenant deux dispositifs (taxes en sus)^H.

Chaque dispositif est emballé individuellement dans une enveloppe d'aluminium. Le dispositif consiste en un bâtonnet muni d'un embout jaune qu'il faut insérer à environ cinq centimètres de profondeur dans le vagin, en évitant qu'il entre en contact avec quoi que ce soit avant l'entrée dans le vagin. Après avoir tourné le dispositif sur lui-même plusieurs fois, on le retire et on vérifie qu'il a bien recueilli une quantité visible de sécrétions. Après 10 secondes, on observe si la coloration devient verte ou bleue, auquel cas la lecture démontre un niveau d'acidité anormal associé à un risque élevé d'infection bactérienne ou parasitaire nécessitant une consultation auprès d'un professionnel de la santé (résultat du test positif). Si l'embout demeure jaune, le test est négatif, signifiant possiblement la présence d'une infection à levures, et le fabricant suggère d'envisager un traitement en vente libre, mais ne précise pas que ce peut-être un niveau d'acidité normal ou associé à d'autres pathologies qu'une infection. En présence de taches de sang sur l'embout, il ne faut pas tenir compte du résultat. Le test ne doit pas être utilisé dans les conditions suivantes :

- Moins d'un jour avant ou après les menstruations;
- En présence de signes de menstruation ou de tout saignement vaginal;
- Moins de 12 heures après une relation sexuelle ou une douche vaginale;
- Moins de 72 heures après l'application d'une préparation vaginale telle un lubrifiant ou une crème spermicide.

L'indicateur utilisé est le nitrazine. La couleur jaune persiste jusqu'au seuil de pH de 4,2. La couleur se modifie selon la capacité locale des sécrétions d'exercer un effet tampon à partir d'un pH de 4,3 jusqu'à 5,1 et en tout temps à pH \geq 5,2 $^{\text{l}}$. Deux études de validation clinique sont disponibles sur le produit original (VS-SENSE), distribué par la compagnie CommonSense.

La première étude comparait l'utilisation de VS-SENSE aux évaluations cliniques et de laboratoire habituellement réalisées dans 3 centres médicaux(108). Outre les conditions citées plus haut où le test ne doit pas être utilisé, les critères d'exclusion comprenaient les femmes ménopausées et celles où un diagnostic d'atteinte inflammatoire pelvienne était soupçonné. L'étude inclut 193 femmes de plus de 18 ans avec des symptômes de vulvo-vaginite aiguë et 74 femmes asymptomatiques(108). La sensibilité et la spécificité du test VS-SENSE avec les patientes ayant un pH supérieur à 4,7, causé par une vaginose, une trichomonase ou autre condition clinique, ont été de 82,4 % (102/124) et 94,7 % (129/137) respectivement, et augmentaient à 91,8% et 92,9 % respectivement si on excluait 25 patientes où le changement de coloration n'était pas évident à interpréter(108). Comparé à la mesure du pH sur un papier gradué (positif à pH \geq 4,7) la sensibilité et la spécificité de VS-SENSE ont été de 80,9 % et 90,6 % respectivement(108).

Dans une étude réalisée dans une clinique gynécologique en Belgique, 90 femmes ont été évaluées (45 avec un pH vaginal \geq 4,5 et 45 avec un pH \leq 4,4)(109). Les auteurs ont noté une fréquence élevée de discordance (18/90) lors de l'interprétation du résultat de VS-SENSE (17 dans le groupe avec pH \geq 4,5 et 1 dans le groupe avec pH < 4,5(109). Comparé à la mesure du pH sur un papier gradué (positif à pH \geq 4,5 et négatif si < 4,0) la sensibilité et la spécificité de VS-SENSE ont été de 91 % et

H Communication personnelle, Marie Gourdeau, juin 2015.

I http://www.cs-commonsense.com/list.asp?pageid=36

97,8 % respectivement(109). Les critères utilisés pour la classification de la vaginose diffèrent de ceux habituellement utilisés, mais les résultats présentés nous permettent de conclure que VS-SENSE a été positif dans 2/14 cas de candidose et 3/40 cas avec flore normale(109).

Ce test d'autodiagnostic est disponible en pharmacie. Il peut guider les femmes qui désirent tester leur pH vaginal, mais en présence de symptômes, une consultation médicale est toujours recommandée.

8 Échantillon(s)

8.1 Prélèvements

8.1.1 CHEZ LA FEMME ADULTE

- Procéder à un examen gynécologique à l'aide d'un spéculum, si possible, afin d'exclure une cervicite. À noter que l'utilisation d'un lubrifiant peut interférer avec certains tests de détection rapide tels que la prise du pH ou les tests d'antigènes spécifiques au T. vaginalis.
- Prélever les sécrétions vaginales sur la paroi vaginale au niveau du dôme postérieur avec un écouvillon stérile (éviter les tiges en bois et le coton sauf pour la mesure du pH et l'état frais au point de service).
- Utiliser un milieu de transport gélifié («Amies» ou l'équivalent). Si une recherche spécifique pour T. vaginalis est demandée, effectuer un deuxième prélèvement avec un écouvillon distinct selon les directives du guide de pratique sur les tests diagnostiques de l'infection génitale au T. vaginalis(62).

8.1.2 CHEZ L'ENFANT

 Effectuer un lavage vaginal avec une solution saline non bactériostatique ou prélever des sécrétions vaginales avec un écouvillon humidifié(110).

8.2 Transport

Alors que l'état frais réalisé au point de service devrait l'être en moins de deux heures, lorsque le spécimen est transporté au laboratoire, il devrait être acheminé le plus rapidement possible, dans le milieu de transport, à la température de la pièce. Le délai devrait être inférieur à 24 heures(80,81).

8.3 Requête

- Bien remplir la requête d'analyse avec les renseignements suivants, si disponibles :
 - grossesse;
 - diagnostic soupconné;
 - récidive.
- Si une recherche spécifique de Candida est désirée, le préciser afin que le laboratoire effectue la culture pour recherche de levures.

- Si un test de sensibilité aux antifongiques est désiré, le préciser sur la requête avec la justification clinique.
- Si une recherche spécifique de *T. vaginalis* est désirée, le préciser afin que le laboratoire ne se limite pas à l'examen direct (voir le guide de pratique sur les tests diagnostiques de l'infection génitale au *T. vaginalis*)(62).

8.4 Critères de rejet

- Durée de transport supérieure à 24 heures.
- Absence de milieu de transport.
- Écouvillon inadéquat pour le prélèvement de sécrétions vaginales (exemple : alginate de calcium pour recherche de *T. vaginalis*).
- Milieu de transport inadéquat (présence de charbon par exemple).
- Absence d'écouvillon dans le milieu de transport.
- Absence de cellule épithéliale ou de spécimen apparent sur la lame.

Lorsque le spécimen est rejeté, inscrire sur le rapport « Analyse non réalisée » ainsi que la raison justifiant le rejet.

9 Sécurité

- Porter des gants lors de la manipulation des spécimens.
- Consulter les fiches techniques Santé-sécurité de l'Agence de la santé publique du Canada au http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/index-fra.php.

10 Équipement et matériel

- Matériel requis pour coloration de Gram modifiée (Kopeloff).
- Lames et lamelles.
- Solution saline 0,9 %.
- Microscope.
- Solution KOH 10 %.
- Milieux de culture :
 - culture bactérienne (géloses sang et MacConkey);
 - recherche de levures (gélose sang, Sabouraud dextrose ou chromogénique).

11 Contrôle de qualité

11.1 Coloration de Gram

À réaliser quotidiennement. Se référer au protocole en vigueur au laboratoire.

11.2 Milieux de culture

Les milieux de culture sont contrôlés selon les recommandations du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

11.3 Préparation de frottis servant d'échantillon standard dans l'évaluation des critères de Nugent

- Ensemencer une gélose chocolat avec des sécrétions vaginales et incuber 48 heures à 35°C.
- Préparer un frottis pour une coloration de Gram.
- Sélectionner les frottis correspondant aux prélèvements démontrant une croissance dans le 3°-4° quadrant de *Lactobacillus* spp. (score 0-3) et ceux avec une croissance dans le 3°-4° quadrant de *G. vaginalis* (score 7-10) (petites colonies transparentes en tête d'épingle; petits coccobacilles Gram négatif à variable; catalase négative).

Utiliser ces frottis à des fins d'enseignement et de formation continue.

12 Procédure

12.1 Examen direct

À noter que le frottis coloré au Gram des sécrétions vaginales peut être le seul examen direct effectué au laboratoire de microbiologie (à l'exception de la clientèle pédiatrique), si la détection du *T. vaginalis* au laboratoire ne repose pas uniquement sur l'examen direct à l'état frais.

12.1.1 ÉTAT FRAIS

- Presser l'écouvillon sur une goutte de solution saline 0,9 % déposée sur une lame.
- Recouvrir la lame d'une lamelle.
- Examiner sous un microscope en contraste de phase à grossissement 25X et 40X.
- En absence de cellule épithéliale ou en absence de spécimen apparent sur la lame :
 - vérifier si l'écouvillon n'est pas séché;
 - refaire une lame à partir de la tige de départ (en l'humidifiant avec une solution saline stérile au besoin) au cas où la lame, par erreur, n'aurait pas été étalée;
 - si la lame contient du spécimen, effectuer l'analyse;
 - si la lame ne contient toujours pas de spécimen, inscrire au rapport : « Analyse impossible à effectuer, l'écouvillon reçu ne contient pas de spécimen. ».
- Observer la présence de polymorphonucléaires, de levures (blastoconies, pseudohyphes et hyphes) et de cellules témoins.
 - les cellules témoins sont des cellules épithéliales squameuses auxquelles adhèrent particulièrement en périphérie de petits bacilles polymorphes Gram variable. En conséquence, les rebords ne sont plus clairement définis. Le décompte est significatif si supérieur à 20 % des cellules épithéliales.

- observer la présence de trophozoïtes mobiles de T. vaginalis.
- la présence de cellules para-basales, témoignant de la vaginite inflammatoire desquamative pourrait aussi être observée par certains experts^J.

<u>Note</u>: Cet examen devrait idéalement être réalisé au point de service de la patiente par un professionnel de la santé (voir l'annexe 2), en raison de la perte rapide de mobilité du *T. vaginalis* après le prélèvement (20 % en 10 minutes). En l'absence d'utilisation de milieu de culture ou autre technique basée sur la détection d'antigènes ou d'amplification des acides nucléiques, inscrire sur le rapport les limites de sensibilité de l'état frais pour déceler la présence de *T. vaginalis*.

12.1.2 TEST AU KOH

- Presser l'écouvillon sur une lame et mélanger avec une goutte de solution KOH 10 %.
- Recouvrir la lame d'une lamelle et examiner sous un microscope en contraste de phase à grossissement 25X et 40X.

Rechercher la présence de levures (blastoconies, pseudohyphes et hyphes).

12.1.3 COLORATION DE GRAM

- Évaluer la lame au microscope afin d'identifier et de quantifier les morphotypes bactériens et d'établir un score à l'aide d'une méthode de pointage (score selon Nugent).
- Utiliser la méthode de Kopeloff pour réaliser la coloration de Gram sur le frottis de sécrétions vaginales fixé à la chaleur pour faciliter la lecture (utilisation de 0,1 % de fuchsine basique comme contre-colorant) et la reproductibilité(81).
- Observer au grossissement 1000X (objectif 100X) à l'immersion à l'huile la présence ou l'absence de microorganismes (bactéries et levures) dans 20 à 40 champs et les quantifier tel que spécifié au tableau 1.
- Évaluer ensuite la quantité de bactéries selon leurs morphologies et additionner les points selon le « Score de Nugent » pour définir la flore (voir tableau 2).

Tableau 1 Décompte microbien/champ à 100X

Nombre de bactéries/champ	Pointage attribué	
Absence	0	
< 1/champ	1+	
1 – 4/champ	2+	
5 - 30/champ	3+	
> 30/champ	4+	

_

J Communication personnelle, Marc Steben, février 2016.

Tableau 2 Score de Nugent(46)

SCORE DE NUGENT 1				
	Quantité	Points		
	4+	0		
Longs basilles Gram positif	3+	1		
Longs bacilles Gram positif (Lactobacillus spp.)	2+	2		
	1+	3		
	0	4		
	0	0		
Dallin havillar Oran a table (c) and	1+	1		
Petits bacilles Gram variable/négatif (<i>G. vaginalis</i> , <i>Bacteroid</i> es spp.)	2+	2		
	3+	3		
	4+	4		
Pacillos Cram págatif inquestás	0	0		
Bacilles Gram négatif incurvés (Mobiluncus spp.)	1+ ou +2	1		
	3+ ou 4+	2		

INTERPRÉTATION

Total de 0 – 3 points = Présence de flore normale.

Total de 4 – 6 points = Présence de flore vaginale intermédiaire à interpréter selon le tableau clinique et le pH vaginal.

Total de 7 –10 points = Présence de flore vaginale compatible avec une vaginose bactérienne.

12.2 Culture

12.2.1 ENSEMENCEMENT ET INCUBATION

Une culture des sécrétions vaginales est rarement nécessaire chez les femmes adultes. Elle est effectuée selon les renseignements cliniques et/ou sur demande spécifique du clinicien. Elle est indiquée dans les situations suivantes :

- S. aureus et S. pyogenes: chez les enfants de moins de 10 ans, en présence d'un syndrome de choc toxique ou sur demande spécifique;
- Entérobactéries : chez les enfants de moins de 10 ans:
- Culture de « pus superficiel » : chez les femmes ne répondant pas aux traitements habituels des vaginites et vaginoses;
- Candida : sur demande spécifique.

Le score de Nugent ne peut être utilisé pour les enfants prépubères.

12.2.1.1. SÉLECTION DES MILIEUX DE CULTURE

- Ensemencer une gélose sang pour les spécimens pédiatriques ainsi que pour la recherche de S. aureus et S. pyogenes si requis. Incuber à 35°C - 37°C en aérobiose.
- Ensemencer une gélose MacConkey pour les spécimens de pédiatrie. Incuber à 35°C 37°C en aérobiose.
- Pour les femmes adultes chez qui le clinicien souhaite exclure une vaginite bactérienne (autre qu'associée à C. trachomatis et N. gonorrhoeae), lorsque la nature du spécimen indiquée est « pus superficiel » et que l'analyse demandée est « culture bactérienne », appliquer les procédures en vigueur au laboratoire.
- Une recherche de Candida peut être effectuée sur demande spécifique : ajouter un milieu de culture pour recherche de levures tels un Sabouraud ou une gélose chromogénique.

12.2.1.2. DEMANDES SPÉCIALES

Si une recherche de N. gonorrhoeae par culture est effectuée chez une femme hystérectomisée ou chez un enfant prépubère, l'analyse sera acceptée (voir le guide de pratique « Détection de Neisseria gonorrhoeae par culture »)(75).

12.2.2 IDENTIFICATION

- Lire les géloses après 24 heures et 48 heures.
- Identifier les pathogènes recherchés sur les milieux appropriés selon la demande précisée sur la requête (levures, S. pyogenes, S. aureus).
 - pour un enfant de moins de 10 ans, identifier également les entérobactéries en culture pure ou en prédominance.
- Quantifier (1 à 4 +)(81).

12.2.2.1. LEVURES

- Noter la présence ou l'absence de levures et quantifier (1 à 4 +).
- En l'absence de gélose chromogénique, l'identification présomptive du *C. albicans* peut être réalisée selon les procédures habituelles.

12.2.2.2. STREPTOCOQUE B-HÉMOLYTIQUE (OU S. PYOGENES)

- En présence de colonies β-hémolytiques, faire une catalase.
- Si la catalase est négative, procéder à l'identification dans les situations suivantes :
 - grossesse;
 - en présence d'un syndrome de choc toxique;
 - chez la fillette de moins de 10 ans.
- Plusieurs méthodes d'identification rapide sont disponibles, dont le sérogroupage par agglutination, la détection d'une pyranimidase (PYR : positif pour le S. pyogenes) et la spectrométrie de masse (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time Of Flight; MALDI-TOF).

Note: En présence de streptocoque β -hémolytique du groupe A chez une patiente (excluant la fillette), aviser l'infirmière en prévention des infections afin d'éliminer une acquisition nosocomiale (ex.: endométrite post-partum).

12.2.2.3. S. AUREUS

- En présence de colonies β-hémolytiques, faire une catalase.
- Si la catalase est positive, procéder à l'identification dans les situations suivantes :
 - si la recherche est demandée;
 - en présence d'un syndrome de choc toxique;
 - chez la fillette de moins de 10 ans.
- Plusieurs méthodes d'identification rapide sont disponibles dont le test de coagulase en tube ou sur lame, la thermonucléase en tube, l'agglutination au latex basée sur la détection de la protéine A et le MALDI-TOF.
- Conserver la souche s'il y a lieu de l'expédier au Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) pour la recherche de toxine TSST-1.

12.2.2.4. N. GONORRHOEAE

Se référer au Guide de pratique « Détection de Neisseria gonorrhoeae par culture »(75).

12.2.2.5. ENTÉROBACTÉRIES

- Noter la présence et la quantité chez la fillette de moins de 10 ans.
- Identifier si présent en culture pure ou en prédominance.

12.3 Épreuves de sensibilité

12.3.1 ANTIBIOGRAMME

Se référer au protocole spécifique élaboré à l'aide des normes du CLSI au http://shop.clsi.org/microbiology-documents/.

12.3.2 ANTIFONGIGRAMME

Un antifongigramme sera disponible (localement ou au LSPQ), sur demande spéciale, c'est-à-dire en cas d'échec de la prophylaxie au fluconazole.

12.4 Déclaration

Aucune des pathologies présentées dans ce document n'est associée à une maladie à déclaration obligatoire (MADO) sauf la shigellose et l'infection à *N. gonorrhoeae*. Toutefois, en présence de streptocoque β-hémolytique du groupe A chez une patiente (excluant la fille prépubère), aviser l'infirmière en prévention des infections afin d'éliminer une acquisition nosocomiale (ex: endométrite ou infection de plaie post-partum). De plus, une infection invasive à streptocoques du groupe A devient une MADO.

12.5 Envoi au LSPQ

Le LSPQ effectue sur demande la recherche du gène de toxine du choc toxique de *S. aureus* (TSST-1).

Un antifongigramme sera disponible sur demande si non offert localement, voir section 12.3.2.

13 Interférences

Aucune interférence.

14 Rapport

14.1 Rapport préliminaire

Un rapport préliminaire devrait être émis en présence de *T. vaginalis* et si les renseignements cliniques font état d'un diagnostic de choc toxique en présence de *S. aureus* ou *S. pyogenes*.

14.2 Rapport final

14.2.1 EXAMEN DIRECT (ÉTAT FRAIS, KOH ET GRAM)

- En présence d'une cellule épithéliale ou moins par champ 400X, effectuer l'analyse en ajoutant le commentaire suivant au rapport :
 - « Résultat sous réserve, le spécimen reçu contient peu de cellules. »
- En absence de cellule épithéliale ou en absence de spécimen apparent sur la lame, après les vérifications décrites à la procédure, inscrire au rapport :
 - « Analyse impossible à effectuer, l'écouvillon reçu ne contient pas de spécimen. ».
- Rapporter la présence de polynucléaires et quantifier 1-4+.
- Rapporter la présence ou l'absence de cellules témoins.
- Inscrire l'interprétation appropriée au score de Nugent concernant la vaginose bactérienne soit :
 - flore normale:
 - flore vaginale intermédiaire à interpréter selon la clinique et le pH vaginal;
 - flore compatible avec un diagnostic de vaginose bactérienne.
- Rapporter la présence ou l'absence de levures.
- Rapporter la présence ou l'absence de T. vaginalis à l'état frais. En l'absence de T. vaginalis dans un laboratoire n'utilisant aucune autre technique diagnostique (culture ou autre technique basée sur la détection d'antigènes ou d'amplification des acides nucléiques), inscrire sur le rapport :
 - « La sensibilité de détection du *T. vaginalis* à l'état frais est insuffisante pour exclure la présence de *T. vaginalis*».

14.2.2 CULTURE(S)

- Rapporter la croissance de levures et quantifier (1 à 4+). En présence de levures à l'examen direct, ajouter le commentaire suivant: « Les levures peuvent faire partie de la flore vaginale normale. À interpréter selon la présentation clinique ».
- Rapporter la croissance du streptocoque β-hémolytique, le groupe auquel il appartient (si requis) et quantifier (1 à 4+).
- Rapporter la présence de S. aureus et la présence de Listeria spp., si requis.
- S'il s'agit d'une culture pédiatrique, rapporter les entérobactéries si moins de 2 espèces.

14.2.3 ÉPREUVES DE SENSIBILITÉ

Rapporter si requit selon le microorganisme et les normes du CLSI.

14.2.4 CRITÈRES DE REJET

• Si le spécimen est rejeté, inscrire au rapport : « Analyse non réalisée » et spécifier le critère justifiant le rejet.

14.3 Valeurs critiques

Ne s'applique pas.

Références

- (1) Eckert LO. Clinical practice. Acute vulvovaginitis. N Engl J Med 2006 Sep 21;355(12):1244-52.
- (2) Sobel J. Approach to women with symptoms of vaginitis. Up to date 2014;Last update april 10, 2015.
- (3) Brotman RM, Klebanoff MA, Nansel TR, Andrews WW, Schwebke JR, Zhang J, et al. A longitudinal study of vaginal douching and bacterial vaginosis--a marginal structural modeling analysis. Am J Epidemiol 2008 Jul 15;168(2):188-96.
- (4) Brotman RM, Klebanoff MA, Nansel TR, Yu KF, Andrews WW, Zhang J, et al. Bacterial vaginosis assessed by gram stain and diminished colonization resistance to incident gonococcal, chlamydial, and trichomonal genital infection. J Infect Dis 2010 Dec 15;202(12):1907-15.
- (5) Fethers KA, Fairley CK, Hocking JS, Gurrin LC, Bradshaw CS. Sexual risk factors and bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis. Clin Infect Dis 2008 Dec 1;47(11):1426-35.
- (6) Fethers KA, Fairley CK, Morton A, Hocking JS, Hopkins C, Kennedy LJ, et al. Early sexual experiences and risk factors for bacterial vaginosis. J Infect Dis 2009 Dec 1;200(11):1662-70.
- (7) Sobel JD. Desquamative inflammatory vaginitis: a new subgroup of purulent vaginitis responsive to topical 2% clindamycin therapy. Am J Obstet Gynecol 1994 Nov;171(5):1215-20.
- (8) Cartwright CP, Lembke BD, Ramachandran K, Body BA, Nye MB, Rivers CA, et al. Development and validation of a semiquantitative, multitarget PCR assay for diagnosis of bacterial vaginosis. J Clin Microbiol 2012 Jul;50(7):2321-9.
- (9) Eschenbach DA. History and review of bacterial vaginosis. Am J Obstet Gynecol 1993 Aug;169(2 Pt 2):441-5.
- (10) Fredricks DN, Fiedler TL, Marrazzo JM. Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis. N Engl J Med 2005 Nov 3;353(18):1899-911.
- (11) Fredricks DN, Fiedler TL, Thomas KK, Oakley BB, Marrazzo JM. Targeted PCR for detection of vaginal bacteria associated with bacterial vaginosis. J Clin Microbiol 2007 Oct;45(10):3270-6.
- (12) Menard JP, Fenollar F, Henry M, Bretelle F, Raoult D. Molecular quantification of Gardnerella vaginalis and Atopobium vaginae loads to predict bacterial vaginosis. Clin Infect Dis 2008 Jul 1;47(1):33-43.
- (13) Menard JP, Mazouni C, Fenollar F, Raoult D, Boubli L, Bretelle F. Diagnostic accuracy of quantitative real-time PCR assay versus clinical and Gram stain identification of bacterial vaginosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2010 Dec;29(12):1547-52.

- (14) Srinivasan S, Liu C, Mitchell CM, Fiedler TL, Thomas KK, Agnew KJ, et al. Temporal variability of human vaginal bacteria and relationship with bacterial vaginosis. PLoS One 2010;5(4):e10197.
- (15) Srinivasan S, Hoffman NG, Morgan MT, Matsen FA, Fiedler TL, Hall RW, et al. Bacterial communities in women with bacterial vaginosis: high resolution phylogenetic analyses reveal relationships of microbiota to clinical criteria. PLoS One 2012;7(6):e37818.
- (16) Verhelst R, Verstraelen H, Claeys G, Verschraegen G, Delanghe J, Van SL, et al. Cloning of 16S rRNA genes amplified from normal and disturbed vaginal microflora suggests a strong association between Atopobium vaginae, Gardnerella vaginalis and bacterial vaginosis. BMC Microbiol 2004 Apr 21;4:16.
- (17) Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Vulvovaginitis and cervicitis. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015.
- (18) CDC. MMWR Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2015. Vol. 64/No. RR-03 ed. 2015.
- (19) Hainer BL, Gibson MV. Vaginitis. Am Fam Physician 2011 Apr 1;83(7):807-15.
- (20) Briselden AM, Moncla BJ, Stevens CE, Hillier SL. Sialidases (neuraminidases) in bacterial vaginosis and bacterial vaginosis-associated microflora. J Clin Microbiol 1992 Mar;30(3):663-6.
- (21) Cauci S, Culhane JF. High sialidase levels increase preterm birth risk among women who are bacterial vaginosis-positive in early gestation. Am J Obstet Gynecol 2011 Feb;204(2):142-9.
- (22) Lewis WG, Robinson LS, Gilbert NM, Perry JC, Lewis AL. Degradation, foraging, and depletion of mucus sialoglycans by the vagina-adapted Actinobacterium Gardnerella vaginalis. J Biol Chem 2013 Apr 26;288(17):12067-79.
- (23) Olmsted SS, Meyn LA, Rohan LC, Hillier SL. Glycosidase and proteinase activity of anaerobic gram-negative bacteria isolated from women with bacterial vaginosis. Sex Transm Dis 2003 Mar;30(3):257-61.
- (24) Smayevsky J, Canigia LF, Lanza A, Bianchini H. Vaginal microflora associated with bacterial vaginosis in nonpregnant women: reliability of sialidase detection. Infect Dis Obstet Gynecol 2001;9(1):17-22.
- (25) Hillier SL, Nugent RP, Eschenbach DA, Krohn MA, Gibbs RS, Martin DH, et al. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. N Engl J Med 1995 Dec 28;333(26):1737-42.
- (26) Hillier SL, Kiviat NB, Hawes SE, Hasselquist MB, Hanssen PW, Eschenbach DA, et al. Role of bacterial vaginosis-associated microorganisms in endometritis. Am J Obstet Gynecol 1996 Aug;175(2):435-41.
- (27) Laxmi U, Agrawal S, Raghunandan C, Randhawa VS, Saili A. Association of bacterial vaginosis with adverse fetomaternal outcome in women with spontaneous preterm labor: a prospective cohort study. J Matern Fetal Neonatal Med 2012 Jan;25(1):64-7.

- (28) Leitich H, Bodner-Adler B, Brunbauer M, Kaider A, Egarter C, Husslein P. Bacterial vaginosis as a risk factor for preterm delivery: a meta-analysis. Am J Obstet Gynecol 2003 Jul;189(1):139-47.
- (29) Nelson DB, Hanlon A, Hassan S, Britto J, Geifman-Holtzman O, Haggerty C, et al. Preterm labor and bacterial vaginosis-associated bacteria among urban women. J Perinat Med 2009;37(2):130-4.
- (30) Watts DH, Krohn MA, Hillier SL, Eschenbach DA. Bacterial vaginosis as a risk factor for post-cesarean endometritis. Obstet Gynecol 1990 Jan;75(1):52-8.
- (31) Wiesenfeld HC, Hillier SL, Krohn MA, Amortegui AJ, Heine RP, Landers DV, et al. Lower genital tract infection and endometritis: insight into subclinical pelvic inflammatory disease. Obstet Gynecol 2002 Sep;100(3):456-63.
- (32) Atashili J, Poole C, Ndumbe PM, Adimora AA, Smith JS. Bacterial vaginosis and HIV acquisition: a meta-analysis of published studies. AIDS 2008 Jul 31;22(12):1493-501.
- (33) Cohen CR, Lingappa JR, Baeten JM, Ngayo MO, Spiegel CA, Hong T, et al. Bacterial vaginosis associated with increased risk of female-to-male HIV-1 transmission: a prospective cohort analysis among African couples. PLoS Med 2012;9(6):e1001251.
- (34) Cu-Uvin S, Hogan JW, Caliendo AM, Harwell J, Mayer KH, Carpenter CC. Association between bacterial vaginosis and expression of human immunodeficiency virus type 1 RNA in the female genital tract. Clin Infect Dis 2001 Sep 15;33(6):894-6.
- (35) Martin HL, Richardson BA, Nyange PM, Lavreys L, Hillier SL, Chohan B, et al. Vaginal lactobacilli, microbial flora, and risk of human immunodeficiency virus type 1 and sexually transmitted disease acquisition. J Infect Dis 1999 Dec;180(6):1863-8.
- (36) Myer L, Denny L, Telerant R, Souza M, Wright TC, Jr., Kuhn L. Bacterial vaginosis and susceptibility to HIV infection in South African women: a nested case-control study. J Infect Dis 2005 Oct 15;192(8):1372-80.
- (37) Schwebke JR. Abnormal vaginal flora as a biological risk factor for acquisition of HIV infection and sexually transmitted diseases. J Infect Dis 2005 Oct 15;192(8):1315-7.
- (38) Taha TE, Hoover DR, Dallabetta GA, Kumwenda NI, Mtimavalye LA, Yang LP, et al. Bacterial vaginosis and disturbances of vaginal flora: association with increased acquisition of HIV. AIDS 1998 Sep 10;12(13):1699-706.
- (39) van de Wijgert JH, Morrison CS, Brown J, Kwok C, Van Der PB, Chipato T, et al. Disentangling contributions of reproductive tract infections to HIV acquisition in African Women. Sex Transm Dis 2009 Jun;36(6):357-64.
- (40) Balkus JE, Richardson BA, Rabe LK, Taha TE, Mgodi N, Kasaro MP, et al. Bacterial vaginosis and the risk of trichomonas vaginalis acquisition among HIV-1-negative women. Sex Transm Dis 2014 Feb;41(2):123-8.
- (41) Cherpes TL, Meyn LA, Krohn MA, Lurie JG, Hillier SL. Association between acquisition of herpes simplex virus type 2 in women and bacterial vaginosis. Clin Infect Dis 2003 Aug 1;37(3):319-25.

- (42) Nagot N, Ouedraogo A, Defer MC, Vallo R, Mayaud P, Van de PP. Association between bacterial vaginosis and Herpes simplex virus type-2 infection: implications for HIV acquisition studies. Sex Transm Infect 2007 Aug;83(5):365-8.
- (43) Wiesenfeld HC, Hillier SL, Krohn MA, Landers DV, Sweet RL. Bacterial vaginosis is a strong predictor of Neisseria gonorrhoeae and Chlamydia trachomatis infection. Clin Infect Dis 2003 Mar 1;36(5):663-8.
- (44) Eschenbach DA. Bacterial vaginosis: resistance, recurrence, and/or reinfection? Clin Infect Dis 2007 Jan 15;44(2):220-1.
- (45) Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. Am J Med 1983 Jan;74(1):14-22.
- (46) Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. J Clin Microbiol 1991 Feb;29(2):297-301.
- (47) McCormack WM, Covino JM, Thomason JL, Eschenbach DA, Mou S, Kapernick P, et al. Comparison of clindamycin phosphate vaginal cream with triple sulfonamide vaginal cream in the treatment of bacterial vaginosis. Sex Transm Dis 2001 Oct;28(10):569-75.
- (48) Schwebke JR, Hillier SL, Sobel JD, McGregor JA, Sweet RL. Validity of the vaginal gram stain for the diagnosis of bacterial vaginosis. Obstet Gynecol 1996 Oct;88(4 Pt 1):573-6.
- (49) van Schalkwyk J, Yudin M. Vulvovaginite: Dépistage et prise en charge de la trichomonase, de la candidose vulvovaginale et de la vaginose bactérienne. Directive clinique de la Société des obstétriciens et gynécologues du Canada. J Obstet Gynaecol Can 2015;37 (3eSuppl A):S1-S11.
- (50) Sobel JD. Vulvovaginal candidosis. Lancet 2007 Jun 9;369(9577):1961-71.
- (51) Eckert LO, Hawes SE, Stevens CE, Koutsky LA, Eschenbach DA, Holmes KK. Vulvovaginal candidiasis: clinical manifestations, risk factors, management algorithm. Obstet Gynecol 1998 Nov;92(5):757-65.
- (52) Shurbaji MS, Burja IT, Sawyer WL, Jr. Clinical significance of identifying candida on cervicovaginal (Pap) smears. Diagn Cytopathol 1999 Jul;21(1):14-7.
- (53) Merson-Davies LA, Odds FC, Malet R, Young S, Riley V, Schober P, et al. Quantification of Candida albicans morphology in vaginal smears. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1991 Nov 3;42(1):49-52.
- (54) Sobel JD, Faro S, Force RW, Foxman B, Ledger WJ, Nyirjesy PR, et al. Vulvovaginal candidiasis: epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. Am J Obstet Gynecol 1998 Feb;178(2):203-11.
- (55) CDC. Self-study CDC module for clinicians vaginitis. http://www2a.cdc.gov/stdtraining/self-study/vaginitis/. 2013.
- (56) Sobel J. Candida vulvovaginitis. Up to date 2014; Last update January 11, 2016.

- (57) Meites E. Trichomoniasis: the "neglected" sexually transmitted disease. Infect Dis Clin North Am 2013 Dec;27(4):755-64.
- (58) Huppert JS, Mortensen JE, Reed JL, Kahn JA, Rich KD, Miller WC, et al. Rapid antigen testing compares favorably with transcription-mediated amplification assay for the detection of Trichomonas vaginalis in young women. Clin Infect Dis 2007 Jul 15;45(2):194-8.
- (59) Nye MB, Schwebke JR, Body BA. Comparison of APTIMA Trichomonas vaginalis transcription-mediated amplification to wet mount microscopy, culture, and polymerase chain reaction for diagnosis of trichomoniasis in men and women. Am J Obstet Gynecol 2009 Feb;200(2):188-7.
- (60) Kingston MA, Bansal D, Carlin EM. 'Shelf life' of Trichomonas vaginalis. Int J STD AIDS 2003 Jan;14(1):28-9.
- (61) Stoner KA, Rabe LK, Meyn LA, Hillier SL. Survival of Trichomonas vaginalis in wet preparation and on wet mount. Sex Transm Infect 2013 Sep;89(6):485-8.
- (62) Bestman-Smith J. Guide de pratique sur les tests diagnostiques de l'infection génitale au *Trichomonas vaginalis*. À paraître. 2016.
- (63) Garden AS. Vulvovaginitis and other common childhood gynaecological conditions. Arch Dis Child Educ Pract Ed 2011 Apr;96(2):73-8.
- (64) Joishy M, Ashtekar CS, Jain A, Gonsalves R. Do we need to treat vulvovaginitis in prepubertal girls? BMJ 2005 Jan 22;330(7484):186-8.
- (65) Long SS, Pickering LK, Prober CG. Principles and practice of pediatric infectious diseases. Urethretis, vulvovaginitis, and cervicitis. Edinburgh: ElsevierSaunders; 2012.
- (66) Randelovic G, Mladenovic V, Ristic L, Otasevic S, Brankovic S, Mladenovic-Antic S, et al. Microbiological aspects of vulvovaginitis in prepubertal girls. Eur J Pediatr 2012 Aug:171(8):1203-8.
- (67) Stricker T, Navratil F, Sennhauser FH. Vulvovaginitis in prepubertal girls. Arch Dis Child 2003 Apr;88(4):324-6.
- (68) Laufer MR, Emans SJ. Vulvovaginal complaints in the prepubertal child. Up to date 2014;Last uptade april 1, 2015.
- (69) Sheel J, Liashenko K, Table de concertation en matière d'agression, Groupe de tarvail sur l'intervention médicosociale auprès des victimes d'agression sexuelle, Québec P. Guide d'intervention médicosociale: pour répondre aux besoins des victimes d'agression sexuelle : enfants, adolescentes, adolescents, femmes et hommes : intervenons ensemble! Québec: Direction des communications du Ministère de la santé et des services sociaux; 2010.
- (70) Lepoutre A, Doloy A, Bidet P, Leblond A, Perrocheau A, Bingen E, et al. Epidemiology of invasive Streptococcus pyogenes infections in France in 2007. J Clin Microbiol 2011 Dec;49(12):4094-100.
- (71) Hajjeh RA, Reingold A, Weil A, Shutt K, Schuchat A, Perkins BA. Toxic shock syndrome in the United States: surveillance update, 1979 1996. Emerg Infect Dis 1999 Nov;5(6):807-10.

- (72) Hamilton SM, Stevens DL, Bryant AE. Pregnancy-related group a streptococcal infections: temporal relationships between bacterial acquisition, infection onset, clinical findings, and outcome. Clin Infect Dis 2013 Sep;57(6):870-6.
- (73) Daneman N, McGeer A, Low DE, Tyrrell G, Simor AE, McArthur M, et al. Hospital-acquired invasive group a streptococcal infections in Ontario, Canada, 1992-2000. Clin Infect Dis 2005 Aug 1;41(3):334-42.
- (74) Chuang I, Van BC, Beall B, Schuchat A. Population-based surveillance for postpartum invasive group a streptococcus infections, 1995-2000. Clin Infect Dis 2002 Sep 15;35(6):665-70.
- (75) Fortin C, Labbé AC. Guide de pratique sur la détection de *Neiserria gonorrhoeae* par culture. 2014.
- (76) INESSS. Guide de traitement phamacologique ITSS Approche syndromique: Cervicite et urétrite, Épididymite/orchi-épididymite, Atteinte inflammatoire pelvienne (AIP), Rectite. Mise à jour 2015. 2015.
- (77) Agence de la santé publique du Canada. Lignes directrices canadiennes sur les infections transmissibles sexuellement 2010 Déclaration supplémentaire concernant les recommandations liées au diagnostic, à la prise en charge et au suivi des pertes vaginales : mars 2014. 2014.
- (78) Nyirjesy P, Leigh RD, Mathew L, Lev-Sagie A, Culhane JF. Chronic vulvovaginitis in women older than 50 years: analysis of a prospective database. J Low Genit Tract Dis 2012 Jan;16(1):24-9.
- (79) Sobel J. Desquamative inflammatory vaginitis. Up to date 2015; Last update August 19, 2015.
- (80) Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, Richter SS, Gilligan PH, Thomson RB, Jr., et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)(a). Clin Infect Dis 2013 Aug;57(4):e22-e121.
- (81) Garcia LS, Isenberg HD, American Society for Microbiology. Clinical microbiology procedures handbook. Washington DC: ASM Press; 2010.
- (82) Ilkit M, Guzel AB. The epidemiology, pathogenesis, and diagnosis of vulvovaginal candidosis: a mycological perspective. Crit Rev Microbiol 2011 Aug;37(3):250-61.
- (83) Sekisui diagnostics Rev. Monographie OSOM™ BVBLUE™. Sekisui diagnostics Rev. 1385-1. 2012.
- (84) Madhivanan P, Krupp K, Li T, Ravi K, Selezneva J, Srinivas V, et al. Performance of BVBlue rapid test in detecting bacterial vaginosis among women in Mysore, India. Infect Dis Obstet Gynecol 2014;2014:908313.
- (85) Bradshaw CS, Morton AN, Garland SM, Horvath LB, Kuzevska I, Fairley CK. Evaluation of a point-of-care test, BVBlue, and clinical and laboratory criteria for diagnosis of bacterial vaginosis. J Clin Microbiol 2005 Mar;43(3):1304-8.

- (86) Kampan NC, Suffian SS, Ithnin NS, Muhammad M, Zakaria SZ, Jamil MA. Evaluation of BV((R)) Blue Test Kit for the diagnosis of bacterial vaginosis. Sex Reprod Healthc 2011 Jan;2(1):1-5.
- (87) Myziuk L, Romanowski B, Johnson SC. BVBlue test for diagnosis of bacterial vaginosis. J Clin Microbiol 2003 May;41(5):1925-8.
- (88) Sheiness D, Dix K, Watanabe S, Hillier SL. High levels of Gardnerella vaginalis detected with an oligonucleotide probe combined with elevated pH as a diagnostic indicator of bacterial vaginosis. J Clin Microbiol 1992 Mar;30(3):642-8.
- (89) Sobel J. Bacterial vaginosis. Up to date 2015; Last update june 5, 2015.
- (90) Cartwright CP, Lembke BD, Ramachandran K, Body BA, Nye MB, Rivers CA, et al. Comparison of nucleic acid amplification assays with BD affirm VPIII for diagnosis of vaginitis in symptomatic women. J Clin Microbiol 2013 Nov;51(11):3694-9.
- (91) Fang J, Husman C, DeSilva L, Chang R, Peralta L. Evaluation of self-collected vaginal swab, first void urine, and endocervical swab specimens for the detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in adolescent females. J Pediatr Adolesc Gynecol 2008 Dec;21(6):355-60.
- (92) Masek BJ, Arora N, Quinn N, Aumakhan B, Holden J, Hardick A, et al. Performance of three nucleic acid amplification tests for detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae by use of self-collected vaginal swabs obtained via an Internet-based screening program. J Clin Microbiol 2009 Jun;47(6):1663-7.
- (93) Radcliffe KW, Flew S, Poder A, Cusini M. European guideline for the organization of a consultation for sexually transmitted infections, 2012. Int J STD AIDS 2012 Sep;23(9):609-12.
- (94) Schachter J, McCormack WM, Chernesky MA, Martin DH, Van Der PB, Rice PA, et al. Vaginal swabs are appropriate specimens for diagnosis of genital tract infection with Chlamydia trachomatis. J Clin Microbiol 2003 Aug;41(8):3784-9.
- (95) Schachter J, Chernesky MA, Willis DE, Fine PM, Martin DH, Fuller D, et al. Vaginal swabs are the specimens of choice when screening for Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae: results from a multicenter evaluation of the APTIMA assays for both infections. Sex Transm Dis 2005 Dec;32(12):725-8.
- (96) Schoeman SA, Stewart CM, Booth RA, Smith SD, Wilcox MH, Wilson JD. Assessment of best single sample for finding chlamydia in women with and without symptoms: a diagnostic test study. BMJ 2012;345:e8013.
- (97) Stewart CM, Schoeman SA, Booth RA, Smith SD, Wilcox MH, Wilson JD. Assessment of self taken swabs versus clinician taken swab cultures for diagnosing gonorrhoea in women: single centre, diagnostic accuracy study. BMJ 2012;345:e8107.
- (98) Taylor D, Lunny C, Wong T, Gilbert M, Li N, Lester R, et al. Self-collected versus clinician-collected sampling for sexually transmitted infections: a systematic review and meta-analysis protocol. Syst Rev 2013;2:93.

- (99) Schwebke JR, Morgan SC, Pinson GB. Validity of self-obtained vaginal specimens for diagnosis of trichomoniasis. J Clin Microbiol 1997 Jun;35(6):1618-9.
- (100) Huppert JS, Hesse E, Kim G, Kim M, Agreda P, Quinn N, et al. Adolescent women can perform a point-of-care test for trichomoniasis as accurately as clinicians. Sex Transm Infect 2010 Dec;86(7):514-9.
- (101) Van Der PB, Williams JA, Taylor SN, Cammarata CL, Rivers CA, Body BA, et al. Detection of Trichomonas vaginalis DNA by use of self-obtained vaginal swabs with the BD ProbeTec Qx assay on the BD Viper system. J Clin Microbiol 2014 Mar;52(3):885-9.
- (102) Nelson DB, Bellamy S, Gray TS, Nachamkin I. Self-collected versus provider-collected vaginal swabs for the diagnosis of bacterial vaginosis: an assessment of validity and reliability. J Clin Epidemiol 2003 Sep;56(9):862-6.
- (103) Strauss RA, Eucker B, Savitz DA, Thorp JM, Jr. Diagnosis of bacterial vaginosis from selfobtained vaginal swabs. Infect Dis Obstet Gynecol 2005 Mar;13(1):31-5.
- (104) Kashyap B, Singh R, Bhalla P, Arora R, Aggarwal A. Reliability of self-collected versus provider-collected vaginal swabs for the diagnosis of bacterial vaginosis. Int J STD AIDS 2008 Aug;19(8):510-3.
- (105) Huppert JS, Hesse EA, Bernard MC, Bates JR, Gaydos CA, Kahn JA. Accuracy and trust of self-testing for bacterial vaginosis. J Adolesc Health 2012 Oct;51(4):400-5.
- (106) Forney LJ, Gajer P, Williams CJ, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL, et al. Comparison of self-collected and physician-collected vaginal swabs for microbiome analysis. J Clin Microbiol 2010 May;48(5):1741-8.
- (107) Menard JP, Fenollar F, Raoult D, Boubli L, Bretelle F. Self-collected vaginal swabs for the quantitative real-time polymerase chain reaction assay of Atopobium vaginae and Gardnerella vaginalis and the diagnosis of bacterial vaginosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2012 Apr;31(4):513-8.
- (108) Sobel JD, Nyirjesy P, Kessary H, Ferris DG. Use of the VS-sense swab in diagnosing vulvovaginitis. J Womens Health (Larchmt) 2009 Sep;18(9):1467-70.
- (109) Donders GG, Marconi C, Bellen G. Easiness of use and validity testing of VS-SENSE device for detection of abnormal vaginal flora and bacterial vaginosis. Infect Dis Obstet Gynecol 2010;2010:504972.
- (110) MSSS. Guide d'intervention médicosociale. 2012.
- (111) Agence de la santé publique du Canada. Lignes directrices canadiennes sur les infections transmissibles sexuellement 2010 Chapitre 4 Prise en charge et traitement de syndromes spécifiques/ Pertes vaginales. 2010.
- (112) OMS. Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus. 2013.

Annexe 1

Tableau comparatif des caractéristiques diagnostiques cliniques et de laboratoire des vaginites les plus fréquentes

Annexe 1 : Tableau comparatif des caractéristiques diagnostiques cliniques et de laboratoire des vaginites les plus fréquentes^K

CARACTÉRISTIQUES	ÉTAT NORMAL	Vaginose	CANDIDOSE	TRICHOMONASE	VAGINITE INFLAMMATOIRE DESQUAMATIVE
Symptômes principaux	Pertes physiologiques (1-4 mL/j) +/- épaisses; incolores ou	Pertes malodorantes	Prurit Pertes blanches en grumeaux Dyspareunie	Pertes jaune-verdâtre Dyspareunie Dysurie Saignements post- coïtaux	Pertes jaune-verdâtre Brûlements Dyspareunie
Signes	blanches; généralement inodores	Pertes blanc-grisâtre tapissant la paroi vaginale	Inflammation vaginale Pertes blanches en grumeaux +/- adhérentes à la paroi	Inflammation vaginale Pertes jaune-verdâtre	Inflammation vaginale Pertes jaune-verdâtre
рН	4,0 – 4,5	> 4,5	4,0 – 4,5	5,0 – 6,0	> 4,5
Odeur d'amines (KOH 10 %)	Absente	Présente dans la majorité des cas (70 – 80 %)	Absente	Souvent présente	Absente
État frais (saline)	CE/PMN¹ > 1 Prédominance bacilles allongés	CE/PMN¹ > 1 Peu de bacilles allongés Prédominance coccobacilles Cellules témoins ≥ 20 %	CE/PMN ¹ > 1 Levures ~ 40 %	CE/PMN ¹ > 1 Flore mixte Présence trophozoïtes de <i>T. vaginalis</i> mobiles ²	CE/PMN < 1 Présence de polynucléaires et cellules para-basales

K Adapté de Sobel J UpToDate et Lignes directrices canadiennes sur les ITS(2,111).

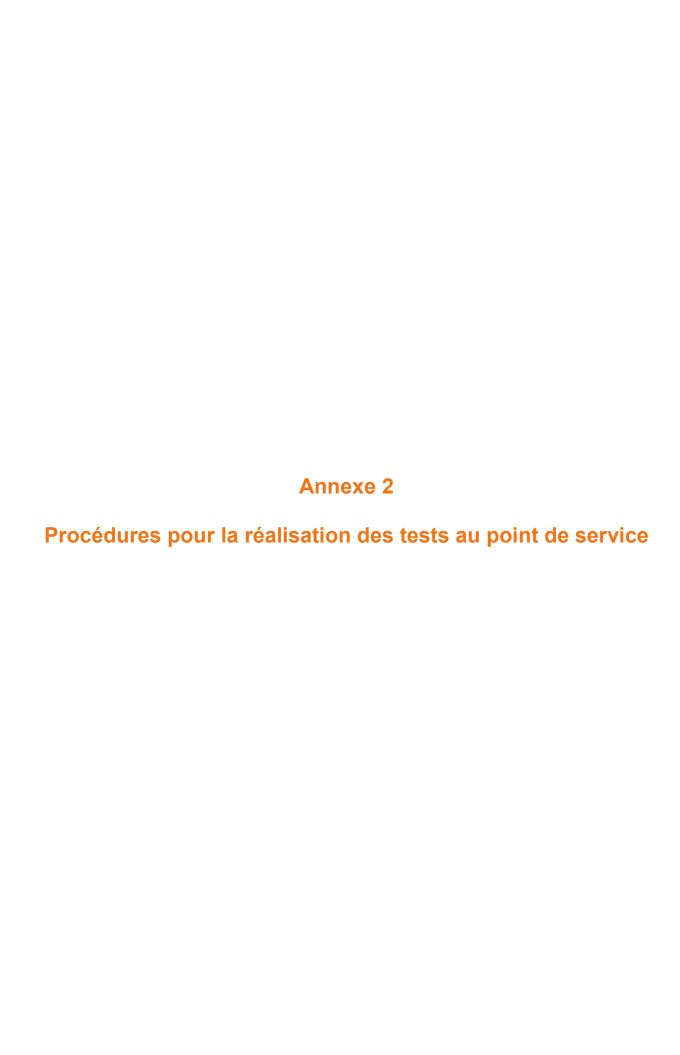
CARACTÉRISTIQUES	ÉTAT NORMAL	Vaginose	CANDIDOSE	TRICHOMONASE	VAGINITE INFLAMMATOIRE DESQUAMATIVE
Coloration de Gram	Prédominance de bacilles Gram positif allongés	Critères Nugent = 7 à 10	Levures	PMN très abondants Flore mixte	Voir état frais
Microscopie avec KOH 10 %	Absence levures	Absence levures	Levures ~ 70 %	Absence levures	Absence de levures
Autres analyses de laboratoire disponibles⁴	Non applicable	Culture G. vaginalis non recommandée Sonde hybridation G. vaginalis (Affirm VPIII) Détection rapide sialidases (OSOM BVblue test, genzyme) ³	Sonde hybridation Candida spp. (Affirm VPIII)	Culture (In Pouch TV culture system) Détection antigénique rapide (OSOM Trichomonas rapid test) Sonde hybridation T. vaginalis (Affirm VPIII) •TAAN (APTIVA)	Aucune

¹ Ratio CE/PMN: cellules épithéliales/ polymorphonucléaires.

² La sensibilité est faible et décroît rapidement après le prélèvement (20 % en 10 minutes).

³ Non disponible au Canada.

⁴ Pour plus de détails, consulter ce guide de pratique et celui sur le *T. vaginalis*.



Annexe 2 : Procédures pour la réalisation des tests au point de service^L

Matériel requis

- Papier pour mesure du pH avec zone de lecture se situant entre 4 et 5,5.
- Lames et lamelles.
- Solution saline 0.9 %.
- Microscope avec objectifs 10X et 40X.
- La possibilité d'effectuer une lecture en contraste de phase facilite la lecture de l'état frais.
- Solution KOH 10 %.

Procédures

- 1. Mesure du pH vaginal
 - Utiliser une tige montée non humidifiée et appliquer sur la paroi vaginale entre le col et l'introitus. Éviter le contact avec du sang, du sperme, du mucus ou avec les sécrétions cervicales ou dans le fornix postérieur.
 - Appuyer l'extrémité en coton sur le papier pH et rouler. Laisser à la température de la pièce.
 - Lire 2 à 5 minutes après l'application. Le pH normal est de 4,0-4,5 sauf en période prépubère et post-ménopausique où il est de > 4,7.
- 2. Examen direct au microscope
 - Presser l'écouvillon sur une goutte de solution saline 0,9 % déposée sur une lame (ou suspension avec une goutte de solution saline 0,9 %).
 - Recouvrir la lame d'une lamelle.
 - Examiner sous un microscope à grossissement 25-40X.
 - Vérifier la présence de polymorphonucléaires, levures (blastoconies, pseudohyphes et hyphes), trophozoïtes de *T. vaginalis* et de cellules témoins :
 - cellules témoins: Il s'agit de cellules épithéliales squameuses auxquelles adhèrent particulièrement en périphérie de petits bacilles polymorphes Gram variable; en conséquence, les rebords ne sont plus clairement définis. Le décompte est significatif si supérieur à 20 % des cellules épithéliales.
 - trophozoites de *T. vaginalis*: Les trophozoites de *T. vaginalis* peuvent être confondus avec les polymorphonucléaires et inversement. La présence de mobilité en ligne et non la vibration dans la solution est un critère essentiel pour les identifier correctement. C'est pourquoi il est préférable d'examiner le prélèvement à l'état frais aussitôt que possible après le prélèvement pour augmenter la sensibilité de détection du *T. vaginalis*.

Une vidéo de trichomonas en mouvements est disponible : http://www.youtube.com/watch?v=DKJnDz6yBSs&feature=fvsr

L Ces procédures nécessitent une formation préalable pour être réalisées correctement.

4. Test au KOH (Sniff test)

- Presser l'écouvillon sur une lame et mélanger avec une goutte de solution KOH 10 %.
 L'apparition d'une odeur d'amine est un résultat positif.
- Recouvrir la lame d'une lamelle et examiner sous un microscope à grossissement 25X et 40X.
- Rechercher la présence de levures (blastoconies, pseudohyphes et hyphes).

Les CDC proposent un module d'autoapprentissage, sur leur site Web, pour le diagnostic de vaginite : http://www2a.cdc.gov/stdtraining/self-study/vaginitis/.

Annexe 3

Images - Examen direct

Figure 1 T. vaginalis observé au microscope (40X) à l'état frais (Source : Laboratoire HEJ, CHU de Québec, 2015)



Figure 2 Coloration de Gram (100X) pour l'identification du *T. vaginalis* (Source : Jonathan Casavant, Laboratoire de l'installation Hôpital Maisonneuve-Rosemont du CIUSSS de l'Est de l'île de Montréal, avril 2015)

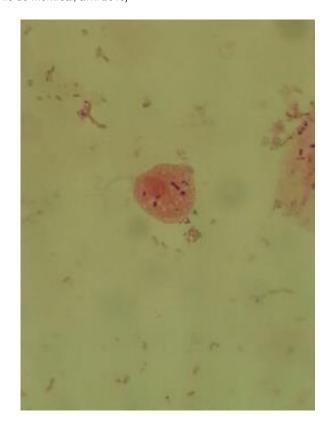


Figure 3 Levures : C. albicans (état frais) (Source: American Society for Microbiology, 2014, disponible en ligne à l'adresse: http://www.microbelibrary.org/library/gram-stain/3063-examination-of-gram-stains-of-vaginal-secretions

(libre accès))



Figure 4 Levure: C. albicans (coloration au Gram) (Source: American Society for Microbiology, 2014, disponible en ligne à l'adresse: http://www.microbelibrary.org/library/gram-stain/3063-examination-of-gram-stains-of-vaginal-secretions (libre accès))



Figure 5

Levures au KOH (400X) (Source: OMS, *Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections*, including *human immunodeficiency* virus, figure 8.1A page 90, 2013(112). Avec autorisation de l'auteur.)



Cellules témoins à l'état frais (400X) (Source : laboratoire HEJ, CHU de Québec, 2016) Figure 6

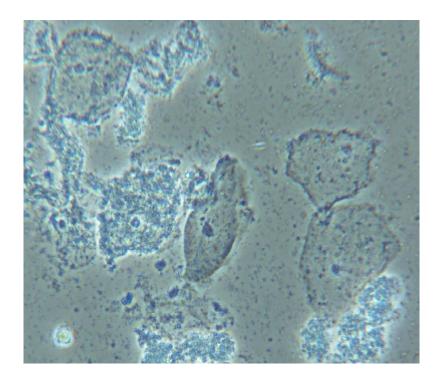


Figure 7 Cellule témoin (coloration au Gram)

(Source: American Society for Microbiology, 2014, disponible en ligne à l'adresse: http://www.microbelibrary.org/library/gram-stain/3063-examination-of-gram-stains-of-vaginal-secretions (libre accès))

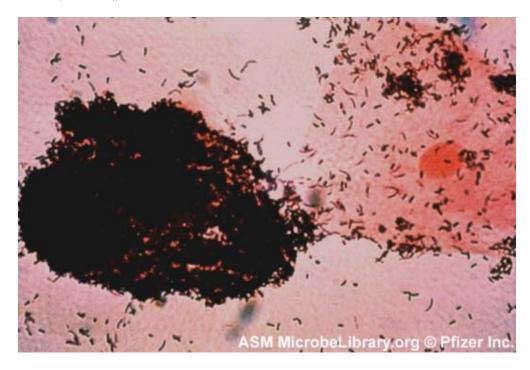
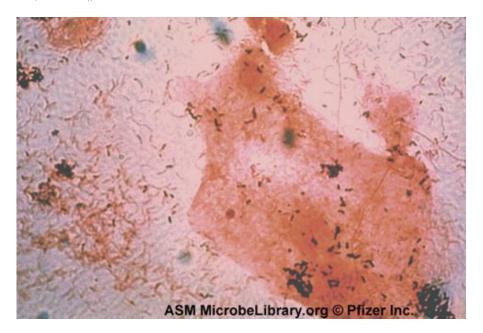


Figure 8 Flore vaginale normale (coloration au Gram)
(Source : American Society for Microbiology, 2014, disponible en ligne à l'adresse : http://www.microbelibrary.org/library/gram-stain/3063-examination-of-gram-stains-of-vaginal-secretions



Figure 9 Flore vaginale en présence d'une vaginose bactérienne (coloration au Gram) (Source : American Society for Microbiology, 2014, disponible en ligne à l'adresse : http://www.microbelibrary.org/library/gram-stain/3063-examination-of-gram-stains-of-vaginal-secretions (libre accès))



Note : l'article de Nugent et coll. propose un plus grand éventail d'images en lien avec les différents stades de l'infection vaginale(46).

Figure 10 Test de sécrétions vaginales par pH (Source : Danielle Longpré, Clinique médicale l'Actuel, 2016)

