

CAHIER DE

# Formation

N° 19

Biologie médicale

Mai 2000

**VAGINITES  
ET VAGINOSES**



CAHIER DE

# Formation

## Biologie médicale



Ceci est la VERSION NUMERIQUE des CAHIERS BIOFORMA déjà parus et distribués à l'ensemble des LABORATOIRES D'ANALYSES de BIOLOGIE MEDICALE en FRANCE.

]

TOUT LE CONTENU DE CE FICHER RESTE LA PROPRIETE DE BIOFORMA.  
LES DROITS D'AUTEURS SONT PROTEGES A LA B.N.F.

]

Toute reproduction, toute utilisation, partielle ou totale, des textes, schémas et photos de cet ouvrage, sans l'autorisation écrite de BIOFORMA, seront poursuivies devant les tribunaux compétents.

]

Seule une impression pour une copie personnelle ( étudiant, interne, biologiste de labm ) est permise.





Cher Confrère,

Nous vous proposons ci-après un cahier de formation consacré aux affections de la sphère uro-génitale de la femme. La recrudescence de ces pathologies entraîne une collaboration étroite entre le clinicien et le laboratoire pour établir un diagnostic précis, un suivi du traitement permettant d'en mesurer l'efficacité et au besoin de la modifier, puis le contrôle de la guérison.

Cet ouvrage, abondamment illustré, rédigé par un expert reconnu, doit être pour vous et vos confrères un instrument de formation continue ainsi qu'un document de référence que vous pourrez consulter aisément dans votre pratique journalière.

Les cahiers de formation de biologie médicale BIOFORMA permettent à tous les biologistes de bénéficier d'une mise à niveau des connaissances dans les domaines de leur activité quotidienne. Ils viennent en complément des actions de formation régionales.

Nous vous souhaitons une bonne réception de cet ouvrage et espérons que sa qualité technique répondra à vos attentes.

Nous vous prions d'agréer, Cher Confrère, nos cordiales et confraternelles salutations.

Adrien BEDOSSA  
Président

# VAGINITES ET VAGINOSES

CAHIER **BIOFORMA**  
DE  
**Formation**  
version numérique

# LISTE DES AUTEURS



- F. CATALAN  
Médecin Biologiste  
Consultant OMS pour les MST  
CHP du Montgarde  
AUBERGENVILLE
  
- A. MILOVANOVIC  
Biotechnologiste  
Laboratoire du CHP du Montgarde
  
- Marie MINZ  
Médecin Biologiste  
Centre de Cytogénétique et diagnostic prénatal  
CHP du Montgarde
  
- Marie Françoise PETAVY-MAYNIER  
Biologiste  
Centre de Cytogénétique et diagnostic prénatal  
CHP du Montgarde



**L'ÉCOSYSTÈME VAGINAL ET SES PERTURBATIONS**

<b>I- GÉNÉRALITÉS</b> .....	9
<b>II- LE MILIEU NATUREL</b> .....	10
<b>II.1.</b> La Flore bactérienne commensale.....	11
<b>II.2.</b> La notion d'équilibre et de défense.....	15
<b>II.2.1.</b> Les facteurs de régulation.....	20
<b>II.2.2.</b> Composition de la flore vaginale normale.....	21
<b>III-LA PATHOLOGIE DES VOIES VAGINALES BASSES</b> .....	23
<b>III.1.</b> La gonococcie et les infections à neisseria.....	25
<b>III.1.1</b> Les aspects cliniques.....	28
<b>III.1.2.</b> Diagnostic.....	29
<b>III.1.3.</b> Physiopathogénie de l'infection gonococcique.....	34
<b>III.1.4.</b> Traitement.....	35
<b>III.2.</b> Les infections à Chlamydia trachomatis.....	37
<b>III.2.1.</b> Physiopathogénie.....	37
<b>III.2.2.</b> Les bases du diagnostic.....	41
<b>III.3</b> Les mycoses vaginales.....	55
<b>III.3.1.</b> Les agents responsables.....	57
<b>III.3.2.</b> Physiopathogénie de Candida albicans.....	57
<b>III.3.3.</b> L'aspect clinique.....	59
<b>III.3.4.</b> Le diagnostic de candidose vaginale.....	60
<b>III.3.5.</b> Le traitement.....	66
<b>III.4</b> Vaginites à trichomonas vaginalis (TV).....	69
<b>III.4.1.</b> L'agent causal.....	69
<b>III.4.2.</b> L'aspect clinique.....	70
<b>III.4.3.</b> Le diagnostic.....	71
<b>III.4.4.</b> Le traitement.....	78
<b>III.5.</b> Les vaginites bactériennes.....	79
<b>III.5.1.</b> Les entérobactéries.....	81
<b>III.5.2.</b> Actynomyces Israeli.....	84
<b>III.5.3.</b> Mycoplasmes urogénitaux.....	85
<b>III.5.4.</b> Le staphylocoque doré pathogène.....	86

<b>III.6.</b> Les vaginoses bactériennes.....	87
<b>III.6.1.</b> Gardnerella vaginalis quelques faits chronologiques.....	87
<b>III.6.2.</b> La flore associée à ces vaginoses .....	88
<b>III.6.3.</b> L'aspect clinique.....	89
<b>III.6.4.</b> Le diagnostic de la bactériose vaginale.....	92
<b>III.6.5.</b> Traitement de la bactériose vaginale.....	95
<b>IV- CONCLUSION</b> .....	96

# L'ÉCOSYSTÈME VAGINAL ET SES PERTURBATIONS

F. CATALAN\*, A. MILLOVANOVIC\*,  
M. MINZ, M.-F. PETAVY

CAHIER DE **BIOFORMA**  
**Formation**  
version numérique

## I. GÉNÉRALITÉS.

---

Un processus inflammatoire localisé au niveau de la cavité vaginale, peut être consécutif à la présence d'un ou de plusieurs agents infectieux associés : **bactéries, parasites, virus...**

Ce processus peut être localisé à la muqueuse vaginale seule – on parle alors de **vaginite simple** – ou au contraire il peut s'étendre aux muqueuses voisines – et il s'agira dans ce cas et **vulvo-vaginite** voire **d'inflammation cervico-vaginale**, ou simplement d'**urétrite**.

Les vaginites peuvent être primaires ou secondaires.

Dans la **vaginite primaire**, l'agent pathogène est, dans la majorité des cas, d'origine exogène. Son implantation et son développement dans la cavité vaginale **nécessitent des conditions très particulières**, qui peuvent varier selon l'agent en cause et provoquent en règle générale une **réaction inflammatoire**. Elle se traduit par un **écoulement purulent** (leucorrhée) où l'on mettra en évidence le « pathogène » responsable.

**Il s'agit le plus souvent de trichomonas vaginalis ou de candida albicans** qui sont en cause mais bien d'autres micro-organismes, même de commensaux habituels peuvent, dans certaines circonstances (cofacteurs), entraîner le même type de pathologie.

La **vaginite secondaire** est plutôt la conséquence d'une infection urétrale ou cervicale due le plus souvent à un pathogène sexuellement transmissible (Neisseria Gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, mycoplasmes uro-génitaux).

De même, les viroses génitales (Herpès virus, Papillomavirus, Parvovirus...) peuvent se compliquer souvent de vaginites parfois très intenses.

**La vaginose bactérienne** (en principe sans inflammation) correspond à un processus complexe qui résulte d'un déséquilibre de l'antibiose vaginale, exercée habituellement par certaines espèces de **lactobacilles** qui jouent un rôle inhibiteur pour d'autres bactéries.

Pendant longtemps il a été admis que ces lactobacilles produisaient de l'acide lactique, à partir du glycogène que contiennent les cellules intermédiaires de l'épithélium vaginal malpighien. L'acide produit permettrait de maintenir un pH acide défavorable à la survie d'autres bactéries

En fait, le rôle relatif à ces lactobacilles, comme facteur stimulateur de la glycogénèse n'a jamais été établi de façon certaine. Il semblerait que leur effet protecteur soit plutôt lié à

l'action de certains enzymes (endopeptidases) produits par ces bactéries et, de métabolites toxiques qui s'accumuleraient au cours de la multiplication et de la survie de ces bactéries.

La flore lactobacillaire est elle-même contrôlée par la présence de bactériocines appelées **lactocines** produites par une majorité des espèces habituellement rencontrées dans les cavités naturelles de l'homme. *Lactobacillus acidophilus* est le plus fréquent mais d'autres espèces peuvent être isolées : *L. fermentans*, *L. brevis*, *L. Casei*, *L. Leshmania*, *L. Salivarium*, *L. Lactis* et *L. Cellobiosis*.

Il apparaît évident que la « **vaginose bactérienne** » est consécutive à un phénomène complexe – où interviennent de **nombreux cofacteurs** qui ne sont pas encore totalement reconnus (variations hormonales, antibiothérapie, corps étrangers...) ayant pour conséquence une perturbation passagère de l'écosystème vaginal, il s'agit donc plus exactement d'une « **bactériose vaginale** ».

Il semble par ailleurs que des modifications de l'immunité locale soient principalement à l'origine de ce phénomène.

En règle générale, la « bactériose vaginale » ne s'accompagne pas de réaction inflammatoire, tout au moins au cours du processus d'installation.

En revanche, cet aspect peut être modifié en fonction de la nature des bactéries qui prédominent, du taux de prolifération de bactéries commensales habituelles et de l'état d'intégrité préalable de l'épithélium de revêtement de la cavité vaginale. Une ectopie vaginale de l'épithélium cylindrique de l'endocol (ectropion), s'accompagne fréquemment d'une inflammation locale qui peut modifier la structure de l'environnement, source d'une prolifération anormale des bactéries commensales ou devenir une proie facile pour des bactéries pathogènes sexuellement transmissibles. Une virose préexistante (HSV, Papillomavirus...) peut être, également un facteur facilitant une infection bactérienne.

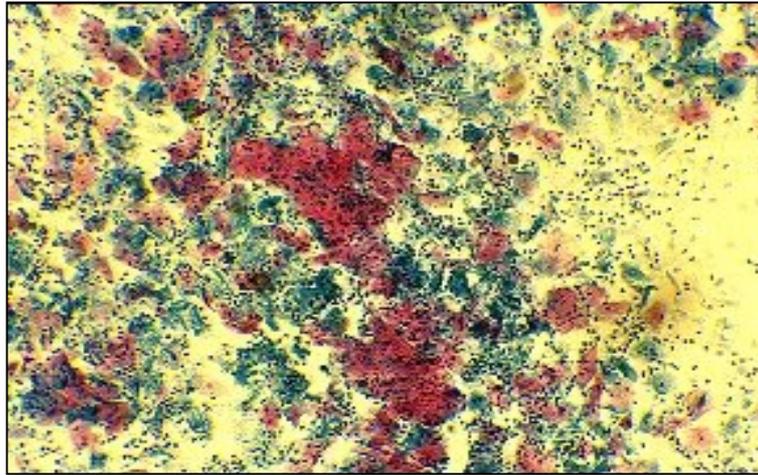
## ■ II. LE MILIEU NATUREL, LES VOIES GÉNITALES BASSES

---

**La cavité vaginale**, comme toutes les cavités naturelles, est tapissée d'un épithélium malpighien constitué de plusieurs couches cellulaires superposées (épithélium pluristratifié) qui se renouvellent constamment sous l'effet synergique des hormones sexuelles. Cependant, l'humidification constante des muqueuses en raison de la sécrétion des glandes sous-jacentes et l'absence de cornification (kératinisation), facilitent la phénomène **d'adhérence bactérienne**.

## II.1- La flore bactérienne commensale

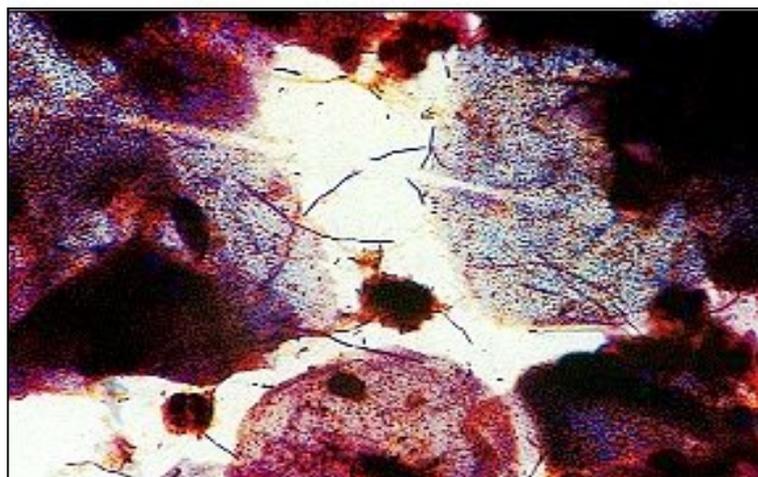
Les **voies génitales basses** sont normalement habitées par de très nombreuses bactéries, de type varié, dont l'équilibre et la nature conditionnent l'état physiologique (photo 1).



*Photo 1 : Aspect d'une sécrétion vaginale normale : Coloration de Papanicolaou ;  
Grossissement WX 100.*

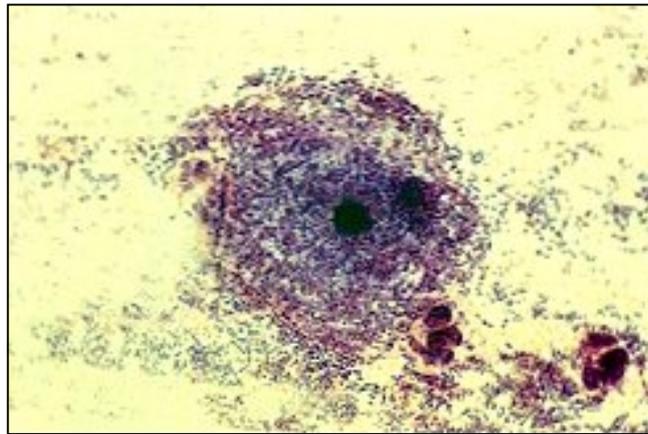
De ce fait, ces cellules sont colonisées en permanence par ces bactéries qui y puisent ainsi les éléments nutritifs permettant leur prolifération et donc leur renouvellement.

La flore bactérienne commensale, constituée en majorité par des **lactobacilles** (photo 2), joue un rôle de contrôle par le phénomène d'exclusion mutuelle qui empêche qu'une espèce se multiplie aux dépens d'une autre. Cette régulation s'opère par des mécanismes variés et complexes qui conduisent à l'établissement d'un environnement écologique équilibré particulier.



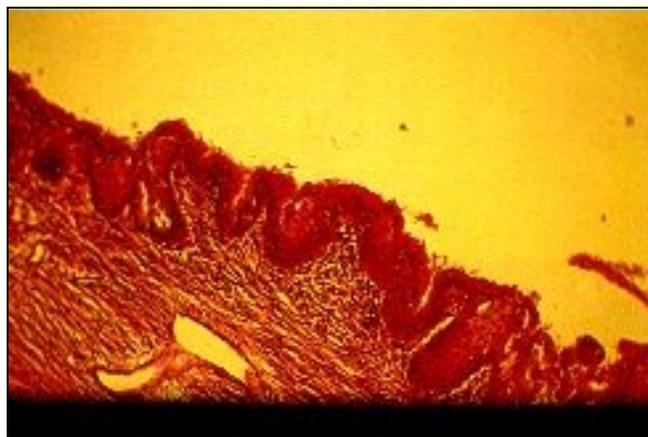
*Photo 2 : Flore lactobacillaire normale : Coloration de Gram : Grossissement X 400*

Au cours de leur différenciation et de leur maturation, les cellules situées en surface se détachent régulièrement, entraînant avec elles les bactéries adhérentes. Ce phénomène participe au maintien de l'équilibre écologique vaginal (photo 3).



*Photo 3 : Cellule épithéliale desquamant et entraînant avec elle les bactéries adhérentes : Coloration de Gram ; Grossissement X 400.*

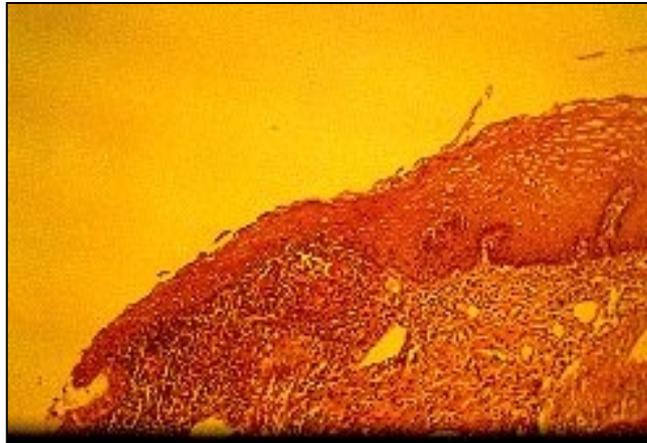
Bien qu'il n'existe pas de kératinisation au niveau des muqueuses comme c'est le cas au niveau de l'épiderme, de nombreuses glandes sécrètent du **mucus riche en protéases** qui digèrent, détachent et détruisent bon nombre des bactéries et de virus exogènes non adaptés (photo 4).



*Photo 4 : Coupe histologique de la muqueuse endocervicale : Epithélium cylindrique ; Coloration – hémalum éosine ; Grossissement X 100*

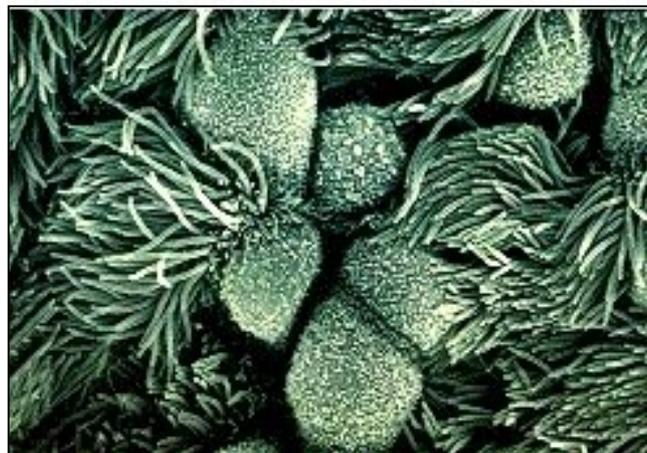
Il est évident que toute solution de continuité dans l'épithélium de surface survenant à l'occasion d'un micro-traumatisme ou d'un processus pathologique local (chancre, macule ou vésicule herpétique, etc...), peut favoriser le passage dans les couches profondes, voire le chorion de micro-organismes qui, occasionnellement pathogènes, peuvent provoquer une lésion ou une infection s'accompagnant d'une réaction inflammatoire locale.

**Au niveau du col**, le revêtement pluristratifié se continue, à l'intérieur, par un épithélium cylindrique constitué d'une seule assise cellulaire. Entre les deux se situe un **épithélium de transition** fait seulement de trois ou quatre couches cellulaires superposées qui sont souvent sollicitées dans les problèmes de régénération cellulaire représentant ainsi une **zone cible** particulièrement importante (photo 5)



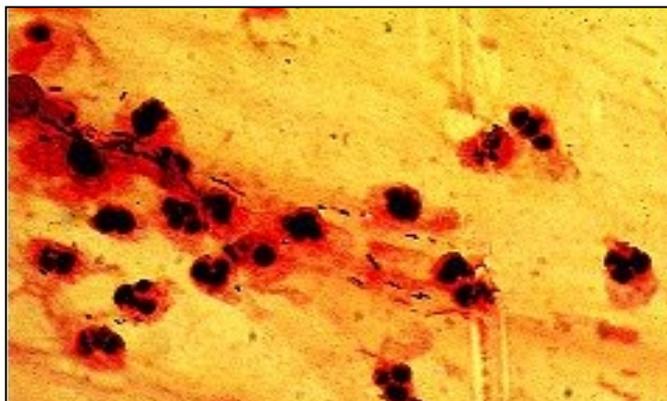
*Photo 5: Coupe histologique de la zone de jonction Exocol-Endocol ;  
Hémalum éosine, Grossissement X 100*

**L'épithélium cylindrique** qui fait suite tapisse ainsi les surfaces de **l'endocol**, de **l'endomètre** et aussi **des trompes de Fallope** (photo 6)



*Photo 6 : Ciliature normale de l'épithélium tubaire, chez la femme,  
Microscopie électronique (P.A. Mårdh)*

Les cellules qui le composent sont ciliées par endroits et le mouvement constant et rythmé des cils, crée avec le mucus sécrété par les glandes sous-jacentes, un courant qui participe au mécanisme de défense de l'organisme. Au niveau de **l'endocol**, les cellules cylindriques sont aussi en contact avec une flore bactérienne moins abondante et moins variée (photo 6').



*Photo 6' : Frottis d'endocol avec polynucléaires et flore pauvre.*

C'est précisément dans cette complexité écologique que réside la principale difficulté d'incriminer, au cours d'un processus inflammatoire la responsabilité d'une bactérie plutôt que d'une autre.

Il faut dès lors différencier les micro-organismes **pathogènes** des **bactéries commensales** qui normalement participent au bon équilibre écologique.

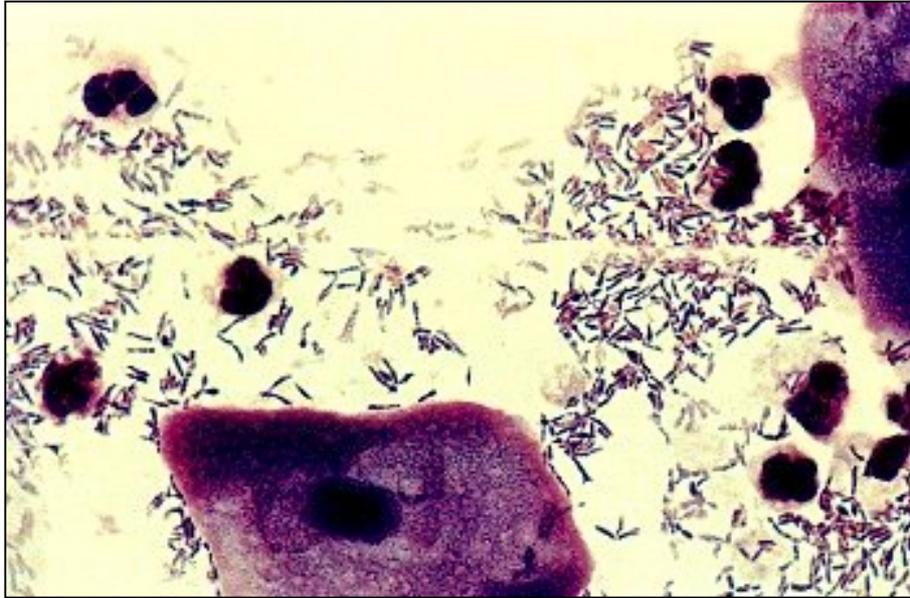
Le nombre des bactéries pathogènes dont la présence, au niveau des muqueuses génitales, est anormale, semble être relativement restreint et mérite une étude plus approfondie.

**Les infections induites par ces bactéries constituent, en général, les maladies sexuellement transmissibles (M.S.T.). Parmi les plus fréquentes, il faut citer Neisseria Gonorrhoeae (NG), Chlamydia trachomatis (Ct), Treponema pallidum (TP), Hemophilus ducrey (HD), Trichomonas vaginalis (Tv), les virus Herpès Simples (VHS), les Papillomavirus (HPV)... (tableau I)**

*Tableau I : Tableau des germes pathogènes responsables des MST Majeures, pouvant entraîner des complications graves*

GERMES RESPONSABLES (MST Majeures)	
<b>BACTÉRIES</b> CHLAMYDIAE GONOCOQUES TRÉPONÈMES B. DUCREY	<b>VIRUS</b> HERPÈS VIRUS PAPILOMAS HIV

En revanche, beaucoup d'autres bactéries sont capables de vivre en symbiose dans un état d'équilibre parfait et, dans un environnement bien défini grâce aux interactions déjà évoquées. Dans certains cas, cet état d'équilibre peut être rompu, par des facteurs multiples encore peu connus. Une prolifération anormale de certaines populations bactériennes en résulte. On les appelle des bactéries **commensales opportunistes**. Il faut citer parmi celles-ci, toute espèce bactérienne dont la prolifération anormale participe à l'instauration d'un syndrome clinique particulier : *Hemophilus (Influenzae)*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Streptocoques β-hémolytiques (groupe B)*, *Staphylocoques*, *Actinomycètes*, certaines *entérobactéries*, *Neisseria* et même certaines *corynébactéries* et *lactobacilles*... (photo 7)



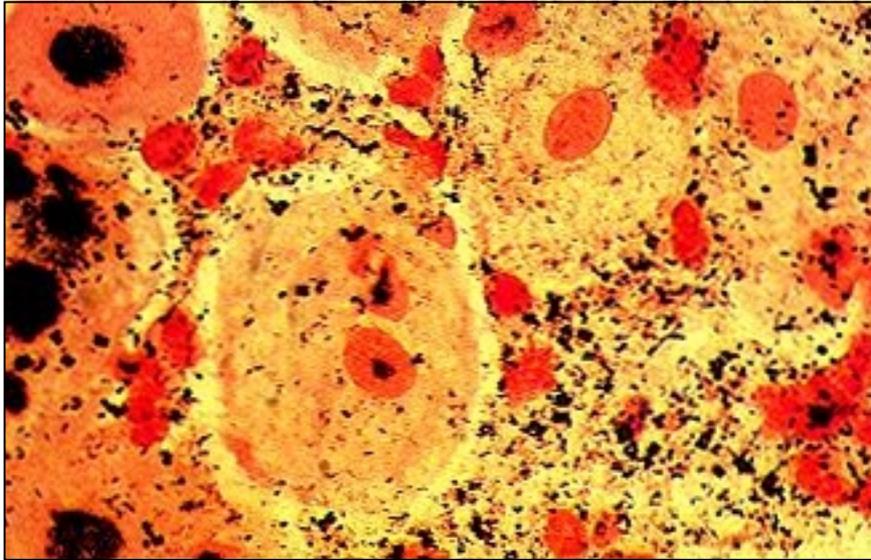
**Photo 7 :** Flore commensale « opportuniste » à Gram positif : Coloration de Grant ; Grossissement WX 400.

## II.2- La notion d'équilibre et de défense des muqueuses

L'équilibre de la flore bactérienne, au niveau des muqueuses, est maintenu grâce au concours de facteurs exogènes et endogènes.

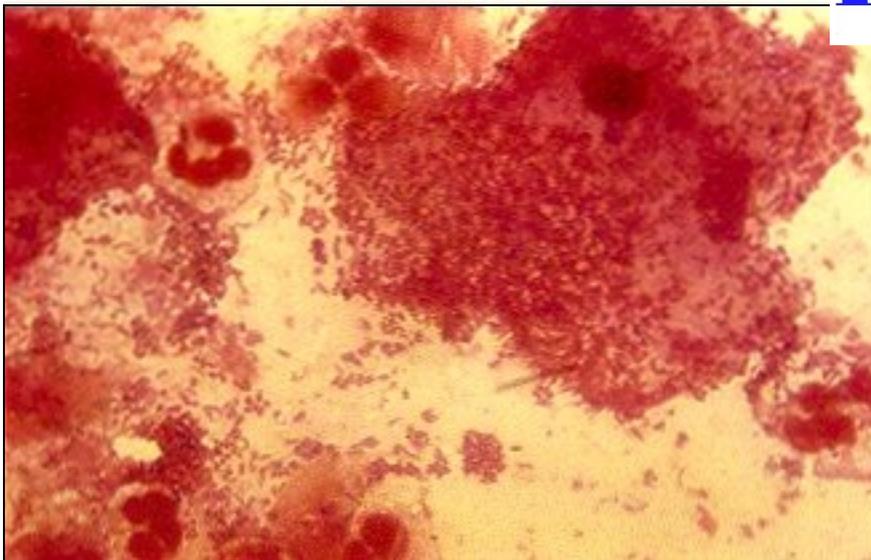
La surface de l'épithélium est recouverte d'une couche hydrophile ou « glyocalice » qui, associée au mucus endocervical, empêche l'adhérence des germes pathogènes. La composition physico-chimique de ce mucus est sous la dépendance des œstrogènes.

La plupart des germes d'origine exogène ne montre pas d'affinité pour la muqueuse vaginale et ce manque d'adhérence fait que ces germes transitent simplement par la muqueuse car, sans attache particulière. Ils sont entraînés par le courant liquidien que constitue la **glair cervical** résultant de la sécrétion des glandes de l'endocol (photo8).



*Photo 8 : Flore commensale non « adhérente » : Coloration de Gram ; Grossissement X 400.*

En revanche, les germes qui ont la capacité d'adhérer aux cellules muqueuses et de s'y multiplier, vont constituer la flore microbienne anormale (photo 9)



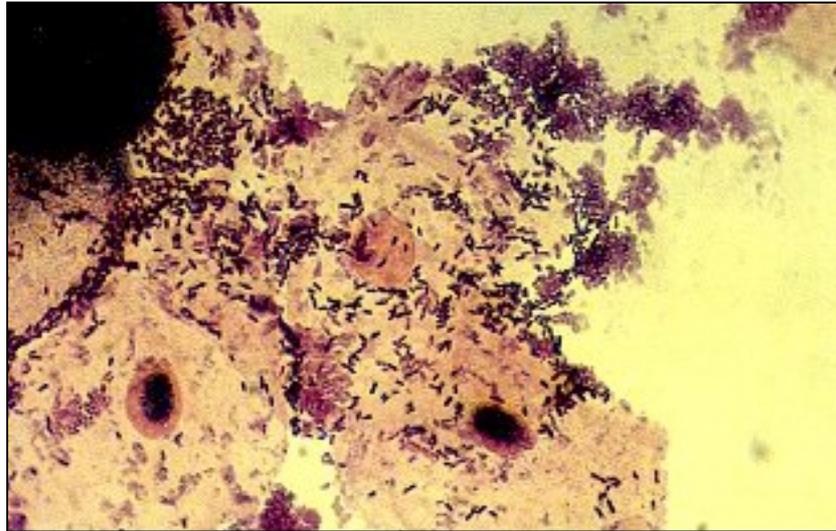
*Photo 9. Flore microbienne « adhérente » : Coloration de Gram ; Grossissement X 400*

La composition du mucus endocervical varie en fonction des sécrétions hormonales, au cours du cycle menstruel. Ceci peut expliquer les aspects différents en quantité surtout, de la flore normale que l'on peut observer au cours du cycle menstruel et aux différentes époques de la vie. Ceci est particulièrement vrai dans la période post ménopausique où le manque de stimuli de la muqueuse par les hormones, inhibe le phénomène d'adhérence et raréfie la flore normale fragilisant alors la muqueuse qui devient la cible des opportunistes (**vaginite atrophique de la ménopause**).

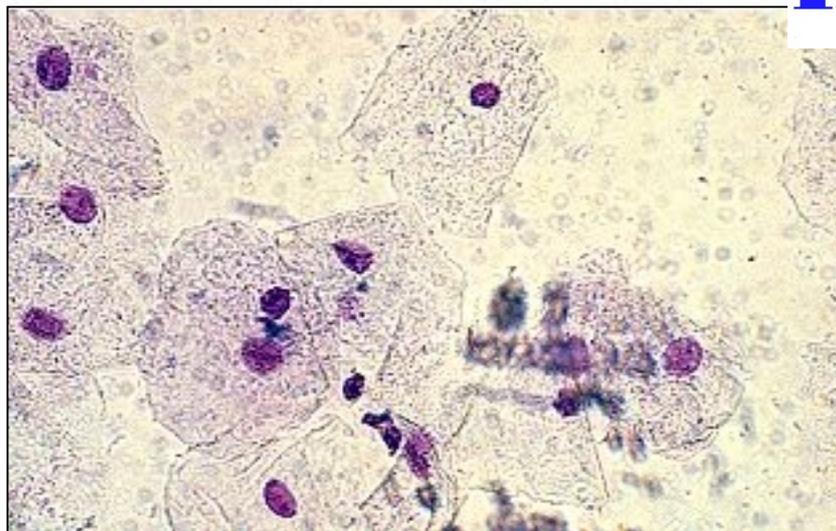
En général, la colonisation de la cavité vaginale s'observe dès la naissance mais son aspect caractéristique, essentiellement lactobacillaire et/ou corynéforme, ne s'acquiert en réalité qu'après la puberté, ce qui démontre bien l'action prépondérante des hormones.

Si les forces d'attraction et de répulsion ne sont pas négligeables dans le phénomène de l'adhérence bactérienne, il est évident que le rôle des adhésines semble primordial avec des nuances variant d'un individu à un autre.

L'adhésion bactérienne n'entraîne aucune réaction inflammatoire sauf lorsque des germes pathogènes sont en cause (photos 10 et 11)

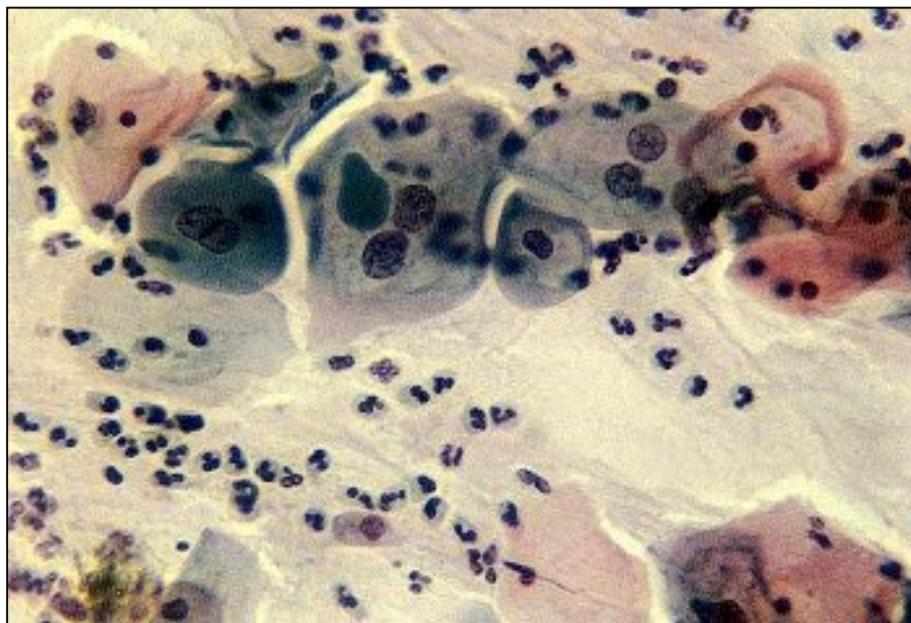


*Photo 10 : Flore bactérienne normale : Coloration de Gram, absence de réaction inflammatoire : Grossissement X 400.*



*Photo 11 : Même préparation observée à l'état frais ; Grossissement X 400*

En revanche d'autres causes non infectieuses peuvent provoquer une inflammation avec un écosystème bactérien tout à fait normal (ectropion, endométriose, etc.) (photo 12).



*Photo 12 : Etat inflammatoire de l'endocol. Coloration de Papanicolaou ; Grossissement X 400*

Une vingtaine d'espèces bactériennes, essentiellement à gram positif, participent à l'équilibre écologique bactérien, avec des variations qualitatives et quantitatives au cours du cycle menstruel. Les bactéries anaérobies strictes sont, quantitativement, 2 à 5 fois plus fréquentes que les bactéries aérobies.

Les mycoplasmes uro-génitaux se rangent au nombre de cette flore « normale »

C'est manifestement le cas pour ureaplasma uréalyticum, alors que mycoplasma hominis est plus souvent isolé en grande quantité chez les femmes montrant une pathologie vaginale.

En revanche, ces micro-organismes sont de bons marqueurs d'une activité sexuelle certaine, puisqu'ils sont absents durant la période qui va de l'enfance à la puberté, avant tout rapport sexuel.

La prolifération et la persistance anormale de certaines espèces bactériennes – et c'est le cas de *Listéria monocytogènes*, du streptocoque B, de l'Herpès virus type 2 et, du Papillomavirus enfin - au moment de l'accouchement, semblent bien corrélées avec les infections du post-partum et/ou néonatales (tableaux II, III et IV).

**Tableau II : Définition de l'infection puerpérale**

<p style="text-align: center;"><b>ÉTIOLOGIE</b></p> <p style="text-align: center;">INFECTION ASCENDANTE AU COURS DE L'ACCOUCHEMENT NORMAL INFECTION DU LIQUIDE AMNIOTIQUE LORS DES EFFORTS D'ACCOUCHEMENT PAR GERMES DE LA CAVITÉ VAGINALE</p>
--

**Tableau III : Signes Cliniques de l'infection puerpérale  
d'après Filker et Monif**

<p style="text-align: center;"><b>SIGNES (FILKER ET MONIF)</b></p> <p style="text-align: center;">TEMPÉRATURE <math>\geq 38</math> DANS LES 24 HEURES ET DANS LES 10 JOURS DOULEUR ABDOMINALE SENSIBILITÉ ABDOMINALE UTÉRINE ANNEXITE LEUCORRHÉES MALODORANTES TROUBLES</p>
---

**Tableau IV : Fréquence étiologique des bactéries responsables de  
l'infection puerpérale, d'après Heather, Watts et al.**

<b>FRÉQUENCE ÉTIOLOGIQUE</b> (HEATHER WATTS et COLL.)	
UREAPLASMA UREALYTICUM	72 %
MYCOPLASMA HOMINIS	24 %
ASSOCIÉS À B.V.	61 %
AUTRES	29 %
CHLAMYDIA TRACHOMATIS	2 %

### **II.2.1- Les facteurs de régulation**

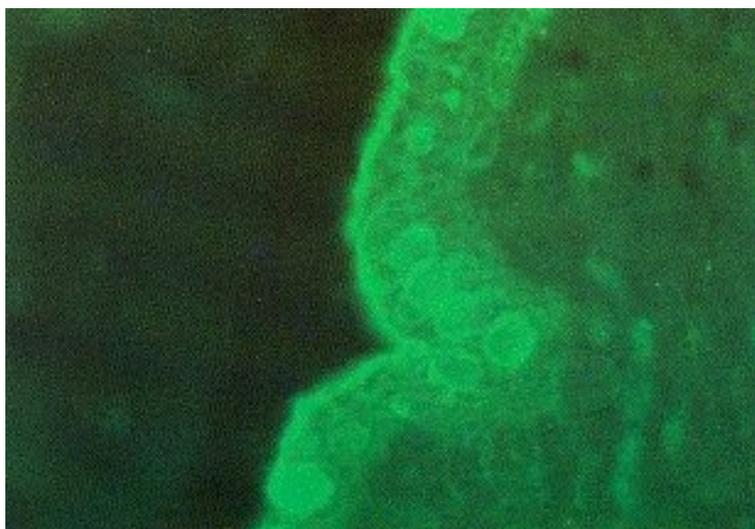
Les bactéries présentes dans la cavité vaginale, interagissent à l'aide des métabolites intermédiaires formés qui en modifiant l'environnement participent au maintien de l'équilibre écologique. Ainsi l'indice d'oxydoréduction (Redox) abaissé par la prolifération anormale des bactéries anaérobies, diminue la capacité phagocytaire des leucocytes et des macrophages de la muqueuse sous-jacente.

Il s'agit pour la plupart d'inhibiteurs de certaines espèces dont l'activité optimale se situe à des pH très acides compatibles avec l'environnement vaginal normal.

Il est probable que d'autres substances normalement présentes dans la cavité vaginale jouent un rôle complémentaire dans le maintien de cet équilibre en créant des synergies microbiennes de prédilection, et en excluant d'autres bactéries.

Ainsi, le mucus endocervical charrie de la lactoferrine, du zinc, du lysozyme et du complément créant au cours des agressions exogènes un environnement idéal pour la phagocytose.

Pour compléter ces défenses naturelles qui participent au maintien de la symbiose vaginale, il suffit de mentionner l'immunité locale particulièrement développée au niveau des innombrables formations lymphoïdes de la sous-muqueuse et qui réalisent la synthèse des anticorps. C'est le cas pour les IgA à activité anticorps et les IgA sécrétoires opsonisantes mais également les IgG et les IgM (photo 13).



**Photo 13 :** Coupe histologique de la muqueuse endocervicale : Coloration à l'aide d'un anticorps monoclonal anti IgA. Observer le film muqueux d'IgA sécrétoires et les follicules sous-jacents

Les **œstrogènes** participent à cet équilibre en augmentant le flux sanguin et en maintenant la perception sensorielle périphérique, prévenant ainsi l'atrophie vaginale. En revanche, les changements physiologiques qui surviennent à la ménopause entraînent une diminution

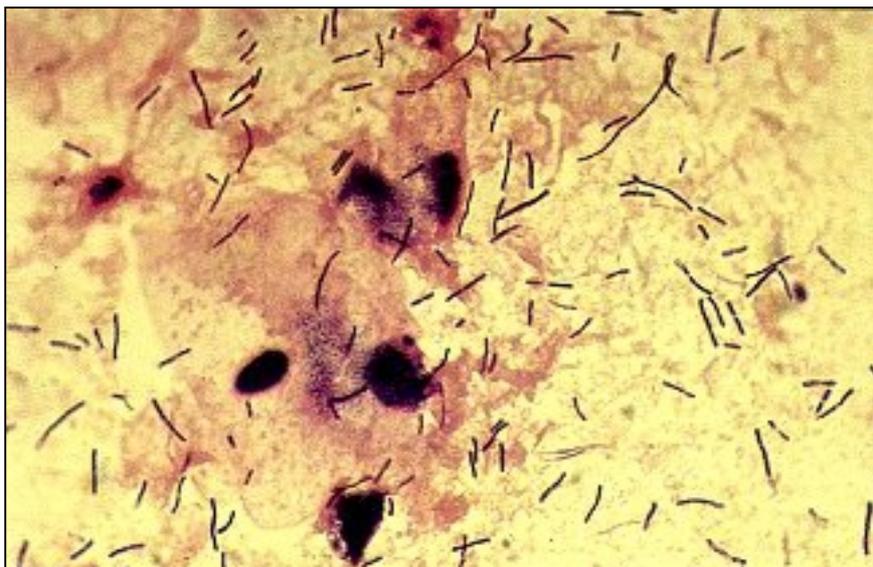
du flux sanguin cutané ainsi qu'une perte de la tonicité urétrale et une diminution des sécrétions, aussi bien au niveau du mucus (protéases) qu'au niveau de l'immunité (anticorps, IgA sécrétoires, etc.). Cette diminution ne permet plus de piéger les bactéries.

Cet état nouveau, inhabituel, explique les phénomènes d'incontinence et les infections répétées à germes d'origine fécale (Entérobactéries, Streptocoques non hémolytiques, Staphylocoques saprophytes, etc.)

### **II.2.2- Composition de la flore vaginale normale**

**Les lactobacilles dominant la flore vaginale normale.** Leur nombre est affecté par le taux de glycogène des cellules épithéliales intermédiaires, de même que par le pH, le taux des hormones sexuelles et la fréquence des rapports sexuels.

La première description de la flore vaginale fut faite en 1892 par **Doderlein** [1] qui donna son nom à ces bacilles qu'il considérait, avec ses collègues, comme constituant une population homogène de bacilles à gram positif. Les essais d'identification et de classification ne leur ont attribué leur nom définitif qu'en 1901 par **Beijerinck** [2]. Il a fallu attendre 1960 pour différencier les espèces de lactobacilles qui composent la flore vaginale [Rogosa et Sharpe : 3], confirmer leur prédominance et leur attribuer la valeur indice de « bonne santé » (photo 14).



**Photo 14 :** *Lactobacillus acidophilus* : Coloration de Gram ; Grossissement X 400.

Des études récentes ont fait état de l'hétérogénéité de la flore vaginale en mettant en évidence des coliformes, diphtéroïdes, cocci gram positif et anaérobies stricts.

Les lactobacilles, les leuconostoc et les streptocoques produisent de grandes quantités d'acide lactique.

Certains lactobacilles sont anaérobies stricts (*L. Catenaformis*), mais la majorité sont des **Lactobacillus acidophilus et fermentum**.

Les colonies sur gélose au sang de mouton sont, après 48 heures, petites à moyennes avec une zone d'hémolyse incomplète qui produit un verdissement (photo 14'). Ils sont catalase négatif, polymorphes mais réguliers et à bouts arrondis.



*Photo 14' : Colonies  $\alpha$  hémolytiques de lactobacilles sur gélose chocolat.*

Les autres espèces sont isolées avec une fréquence moindre.

Giorgi et Coll., 1987 [4] en s'aidant de techniques d'hybridation moléculaire, considèrent que les formes vaginales plus fréquentes sont les lactobacilles : **acidophilus, crispatus, jensenic, fermentum et gasseri**.

Les lactobacilles inhibent par des mécanismes variés la croissance des autres espèces bactériennes en maintenant un pH inférieur à 4,5. Ces conditions empêchent la prolifération de *Gardnerella vaginalis*. Ce rôle est contesté par certains auteurs qui argumentent que l'acidité vaginale existe dès la naissance alors que le vagin est amicrobien.

Il est probable que la flore lactobacillaire n'est pas l'unique responsable de l'acidité vaginale, les acides gras produits par les cellules épithéliales participent aussi à son maintien.

L'adhérence des lactobacilles aux cellules épithéliales joue également un rôle important sur l'exclusion des pathogènes (exclusion par encombrement stérique).

**Lactobacillus Casei** (*rhamosus*) le plus gros morphologiquement est celui qui possède le plus fort pouvoir d'exclusion.

**Mårdh** et **Weström** ont montré qu'à pH 7,0, *Gardnerella vaginalis* montre une capacité d'adhérence aux cellules, identique à celle des lactobacilles. Elle serait la bactérie la plus

adaptée pour adhérer aux cellules superficielles de l'épithélium vaginal. Les lactobacilles interfèrent également sur l'adhérence des candida albicans aux cellules épithéliales, condition « sine qua non » pour déclencher la filamentation.

Certaines espèces de lactobacilles produisent de l'eau oxygénée (H<sub>2</sub> O<sub>2</sub>) soit directement, soit à travers un système peroxydasique. Cette production serait un excellent moyen d'exclusion des bactéries n'ayant pas de catalase, particulièrement les bactéries anaérobies. **Eschenbach** [5] a montré (1989) que 96% des femmes saines ont des lactobacilles producteurs d'H<sub>2</sub> O<sub>2</sub> alors que ces mêmes lactobacilles ne sont isolés que dans 3,5% des femmes atteintes de bactériose vaginale.

Cette diminution serait la cause de la prolifération des bactéries catalases négative, Gardnerella étant la plus fréquente, associée à des bactéries anaérobies strictes. Ce qui expliquerait, dans de telles conditions, la fréquence d'isolement de Gardnerella vaginalis. Ainsi les femmes enceintes dépourvues de sources de lactobacilles productrices de H<sub>2</sub> O<sub>2</sub> seraient plus susceptibles de développer une bactériose vaginale au cours de leur grossesse.

La production de **bactériocines** (lactacines, plantaricine, SIK 83), par certaines espèces agirait contre les cocci à gram positif et les autres lactobacilles assurant ainsi une certaine homogénéité au sein de l'espèce

Une stimulation immunitaire enfin (macrophages et lymphocytes du stroma) serait directement liée à la présence de lactobacillus casei et acidophilus..

Ainsi, des modifications qualitatives et quantitatives de la flore vaginale, par de multiples cofacteurs, peuvent provoquer un déséquilibre du milieu écologique et favoriser l'implantation de micro-organismes qui conditionnent une pathologie particulière dont l'intensité varie en fonction de l'importance de la perturbation.

### ■ III. LA PATHOLOGIE DES VOIES GENITALES BASSES

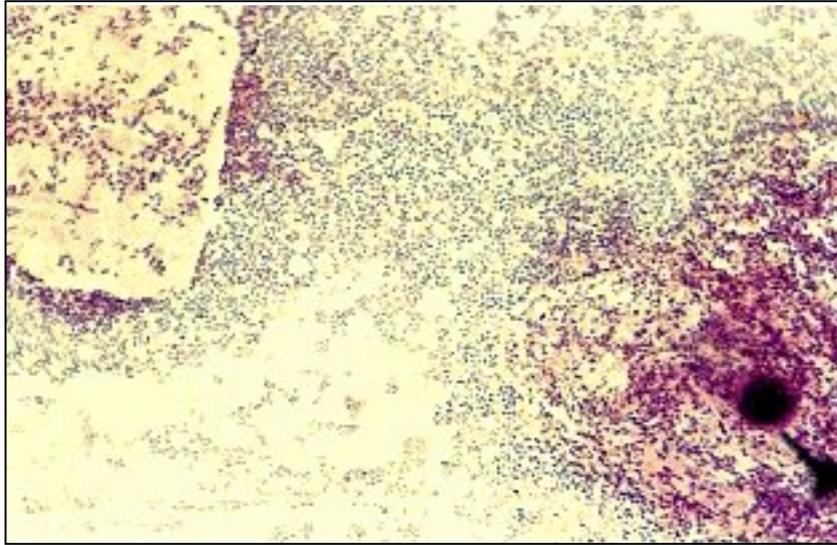
---

Les perturbations rapportées dans la composition de la flore vaginale, qui sont à l'origine de la majorité de la pathologie vaginale, semblent être en rapport avec une modification des récepteurs cellulaires.

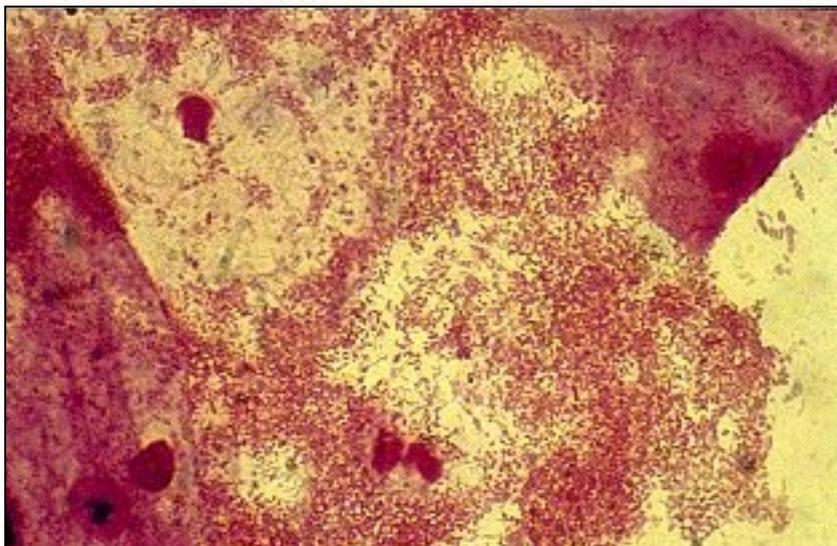
Ces modifications rendent les bactéries habituelles inaptes à adhérer aux cellules pour maintenir l'équilibre.

La plupart de ces récepteurs sont connus [Krivan H.C., 1989 :6], ils concernent essentiellement, Gardnerella vaginalis, Mobiluncus curtisii et mullieris mais aussi candida albicans Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis.

Les mécanismes qui participent à ces modifications ne sont pas encore parfaitement connus mais ils concernent une sous-population de cellules épithéliales que l'on appelle « Clue-cells » pour *Gardnerella vaginalis* (photo 15) ou « Comma cells » pour les *Mobiluncus* (photo 16).



*Photo 15 : Clue-cell » à Gardnerella vaginalis : Coloration de Gram ; Grossissement X 400*



*Photo 16 : « Comma-cell » à Mobiluncus : Coloration de Gram : Grossissement X 400*

Il est logique de penser qu'il existe une flore vaginale qui protège de l'implantation de candida albicans et inhibe sa filamentation.

Les antibiotiques peuvent détruire cette flore protectrice ou la réduire suffisamment pour lever l'inhibition. Ce rôle a logiquement été attribué aux lactobacilles puisqu'habituellement ils dominent la scène ! Il a été avancé même un rôle putatif à une flore vaginale déficiente responsable des récurrences à *Candida albicans*.

Sobel [7] a récemment démontré la déficience des lactobacilles après cure prolongée de métronidazole.

80% des sujets sont colonisés par des levures du genre *Candida albicans* de 50% d'entre eux développent une vaginite à candida (In vaginitis and vaginosis, Benson J., Horowitz M.D. and Mårdh P.A. (1991).

En revanche, une production excessive de lactobacilles, à la suite d'un traitement antimycosique, entraîne une cytolyse importante, responsable d'une sécrétion exagérée et de sensations de brûlures, pouvant simuler une reprise des symptômes de la vaginite.

Il s'agit en règle générale de sécrétions relativement compactes mais homogènes dont l'abondance gêne la patiente qui consulte persuadée d'avoir une infection.

L'examen à l'état frais confirme la présence d'une flore particulièrement abondante fait exclusivement de lactobacilles en désaccord parfois avec la date du cycle et de nombreux noyaux nus signant ainsi une cytolyse importante (photo 17).



*Photo 17 : Cytolyse lactobacillaire : Coloration de Gram ; Grossissement x 400*

### **III.1- La gonococcie et les infections à neisseria**

Cette infection **due au gonocoque** (*Neisseria gonorrhoeae*) avait perdu un peu de son intérêt dans sa fréquence au cours de cette décennie, grâce à l'extraordinaire campagne d'information que la pandémie de VIH avait provoquée dans le monde entier. Connue aussi sous le nom de « **chaude pisse** », sa prévalence est la plus élevée dans les groupes sexuellement actifs entre 20 et 25 ans.

Le Centre de Contrôle des maladies transmissibles d'Atlanta, aux Etats-Unis, a également rapporté une baisse sensible de 1994 à 1995 où l'incidence est passée de 165 à 149,5 pour

100 000 habitants. En 1995, l'Organisation Mondiale de la Santé a estimé à 62 millions le nombre de cas de gonococcie dans le monde dont 1 800 000 pour le seul continent Américain du Nord (**WHO/GPA/STD 95-1**). Cela représente, pour les **USA**, quelque 393 000 cas rapportés et 800 000 cas réels estimés par l'Institut de médecine. La transmission est favorisée par le contact vaginal, anal ou pharyngé non protégés car la bactérie responsable trouve, dans les régions chaudes et humides, un environnement favorable à sa multiplication.

A la suite d'un contact sexuel, **l'infection débute** généralement au **niveau du col** d'où elle peut d'étendre vers les régions voisines (urètre, vagin, anus), les organes annexes (endomètre, trompes de Fallope, péritoine) provoquant une **inflammation pelvienne** source **d'obturation tubaire et de stérilité**, lorsqu'elle est bilatérale. Certaines souches particulières de Gonocoques ont une tendance marquée à disséminer dans l'organisme et provoquer des **arthrites** voire une **septicémie** qui justifie l'hospitalisation [8].

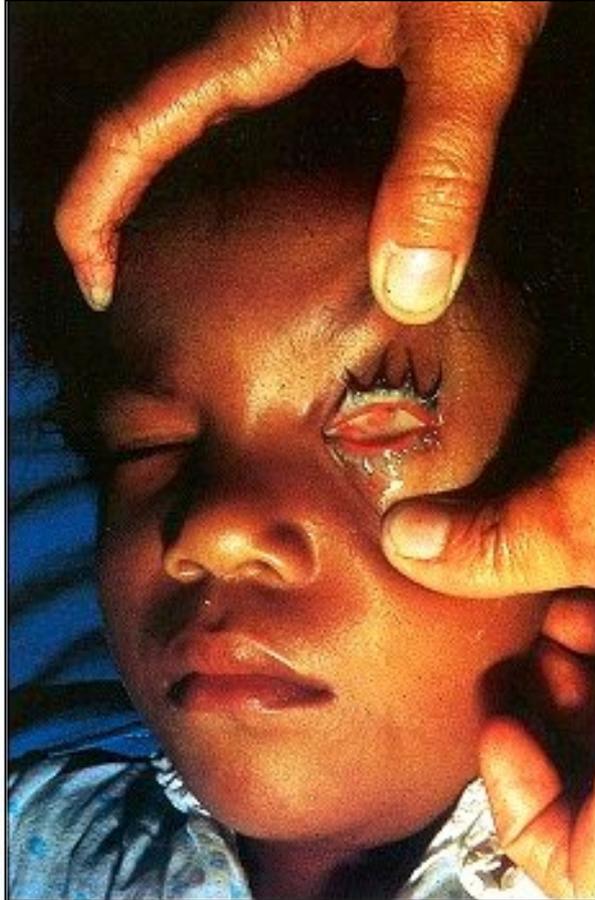
En revanche l'infection peut passer inaperçue chez plus de 80% des femmes qui deviennent alors des réservoirs de virus ou des agents de transmission de l'infection. L'absence de symptômes cliniques manifestes, favorise les complications et permet une plus vaste dissémination de la maladie

Une femme infectée par le « **Gonocoque** », au moment de **l'accouchement**, peut transmettre à l'infection à son enfant qui la manifesterà par une **conjonctivite purulente** (photo 18). Aujourd'hui l'application systématique, à la naissance, de deux gouttes d'un collyre à base de nitrate d'argent à 5% (Méthode de Credé), a considérablement diminué le risque de transmission verticale



*Photo 18 : Conjonctivite du Nouveau-né à Neisseria gonorrhoeae*

La transmission oculaire peut survenir aussi chez l'enfant (photo 19) et chez l'adulte (photo 20). Il s'agit, le plus souvent d'une contamination accidentelle, par contact avec des sécrétions d'une personne contaminée.



*Photo 19 : Conjonctivite de l'enfant à Neisseria gonorrhoeae*

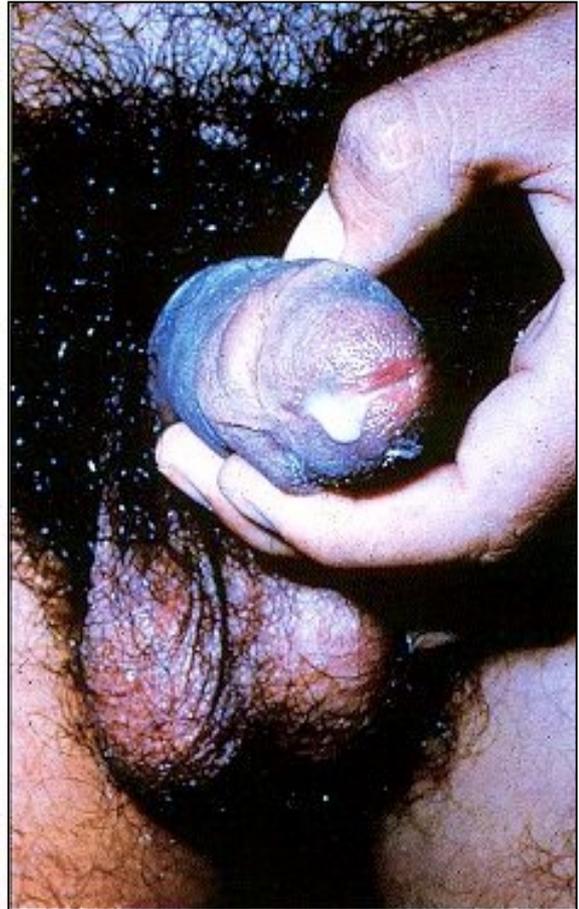


*Photo 20 : Conjonctivite de l'adulte à Neisseria gonorrhoeae (Professeur A. Siboulet.)*

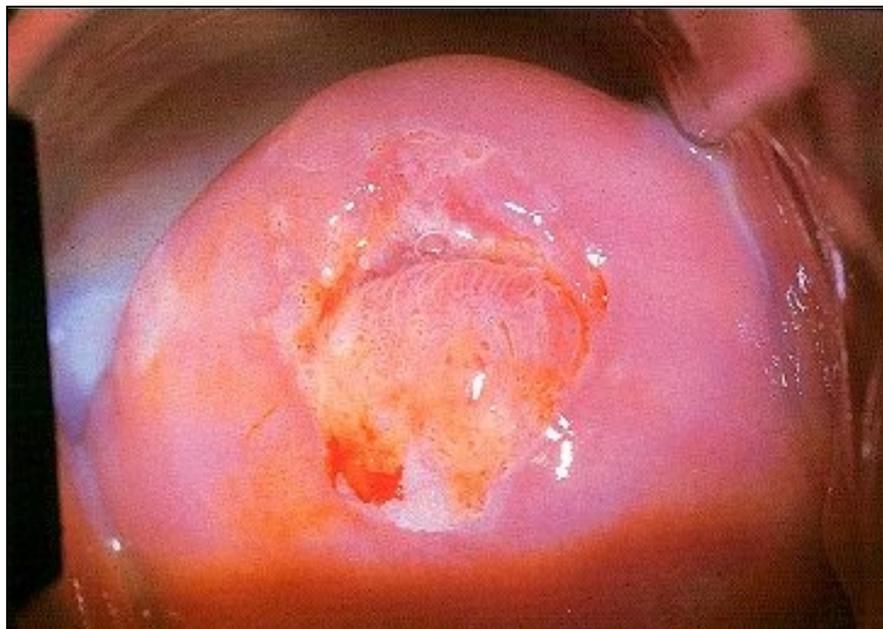
### ***1.1.1- Les aspects cliniques***

Comme nous l'avons précisé antérieurement l'infection gonococcique passe souvent inaperçue chez la femme. C'est le plus souvent, l'infection chez le partenaire (écoulement purulent au niveau du pénis, sensation de brûlure intense à la miction) (photo 21) – lorsqu'elle est connue – qui attire l'attention et incite la femme à consulter.

Les signes cliniques évocateurs d'une infection due au gonocoque apparaissent entre **2 et 10 jours** après un contact sexuel avec un partenaire infecté. La femme ressent une **douleur**, ou sensation de **brûlure à la miction** ; **des leucorrhées** purulentes,



***Photo 21 : Urétrite aigüe masculine à *Neisseria gonorrhoeae****



***Photo 22 : Cervicite purulente à *Neisseria gonorrhoeae* (Professeur A. Siboulet).***

L'apparition de **douleurs du bas-ventre**, de **méno-métrorragies**, voire de **vomissements** et/ou de **fièvre** évoquent au plus haut point une **progression ascendante** de l'infection.

### III.1.2 -Diagnostic

Si le diagnostic de la gonococcie masculine, dans sa forme classique, est relativement facile, et se suffit d'une coloration de Gram, pratiquée sur le frottis effectué à partir d'une goutte de la sécrétion génitale, il n'en va pas de même dans la gonococcie chez la femme qui manque souvent de signes cliniques caractéristiques qui puissent attirer suffisamment l'attention. De plus, la coloration classique est peu fiable par le fait que nous sommes dans une cavité où règne une flore microbienne aussi abondante que variée. Cependant lorsque l'infection s'accompagne de signes cliniques évocateurs et que la coloration de Gram, du frottis réalisé à partir d'une goutte de pus endocervical et/ou urétral, met en évidence l'image caractéristique de **cocci Gram négatif en forme de grains de café** et groupés dans le cytoplasme des multiples polynucléaires qui font la toile de fond du frottis, il faut accorder à ces images toute leur **valeur pathognomonique** (photo 23).

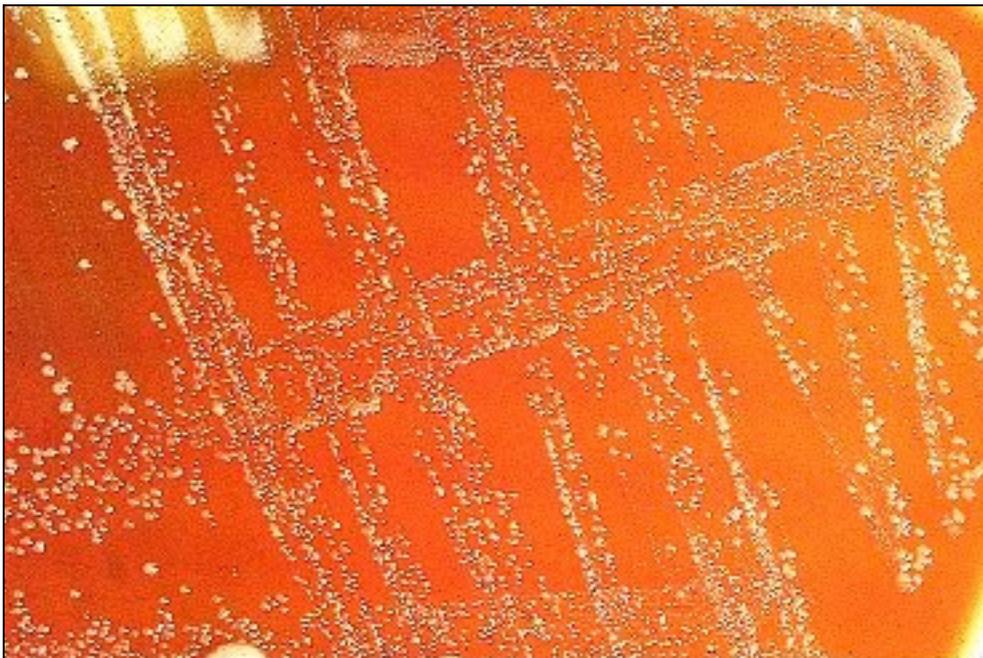


**Photo 23 :** Frottis d'urétrite aigüe à Gonocoques : Coloration de Gram.  
*Observer les diplocoques à Gram négatif « intra-cellulaires ».*

Dans tous les cas une confirmation par culture est absolument requise

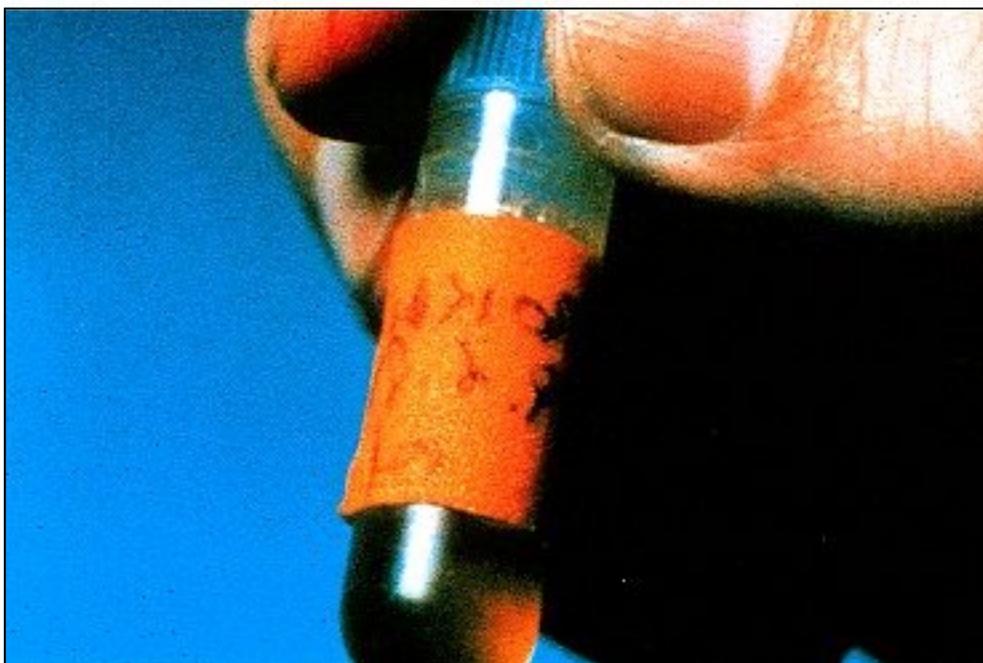
Deux techniques diagnostiques irréfutables sont aujourd'hui à notre disposition :

**A. La culture sur gélose chocolat** (milieu de Thayer – Martin : photo 24)



*Photo 24 : Colonies de Neisseria gonorrhoeae : milieu de Thayer Martin*

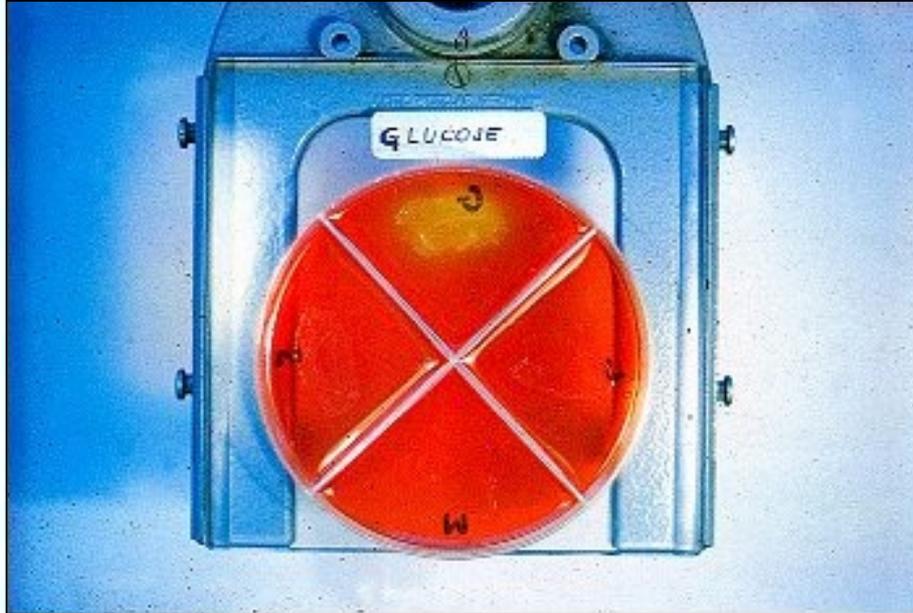
**B. La détection du DNA** de *Neisseria gonorrhoeae* par une technique simple et rapide d'hybridation en tube (photo 25)



*Photo 25 : Tube contenant du milieu pour la recherche de gonocoque par hybridation moléculaire.*

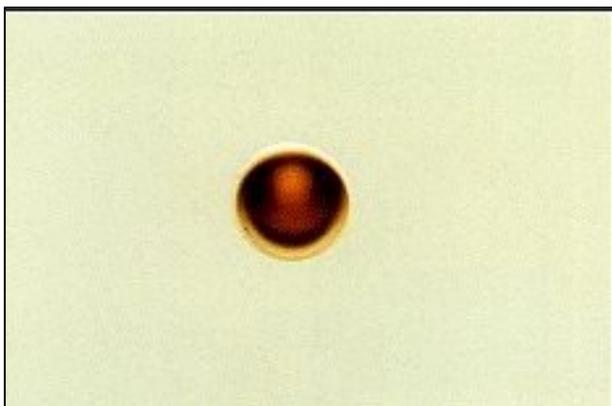
### III.1.2.1.- L'avantage de la culture est de permettre :

- **Une identification précise de *Neisseria gonorrhoeae*.** D'autres types de *Neisseria* peuvent en effet être occasionnellement responsables d'infections génitales chez la femme (*Neisseria meningitidis*, *sicca*, *mucosa*...) (photo 26)

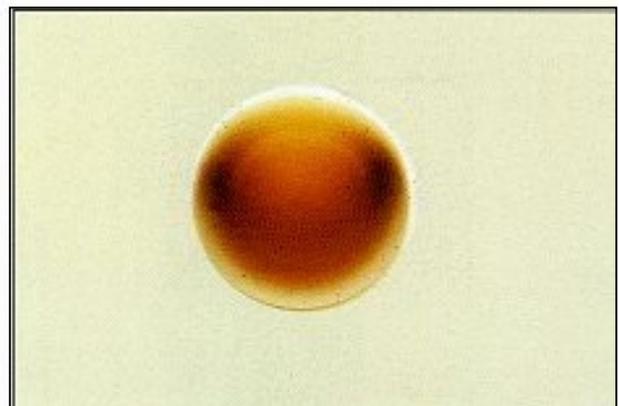


**Photo 26 :** *identification du Gonocoque : milieu contenant, dans les compartiments respectifs (Glucose, fructose, maltose et saccharose) ; le gonocoque utilise seulement le glucose.*

L'isolement de *Neisseria gonorrhoeae* a permis de se rendre compte qu'il existe plusieurs phénotypes morphologiques et génotypes différents qui ont un rapport indiscutable avec la virulence [9, voir bibliographie] (photos 27 et 27')

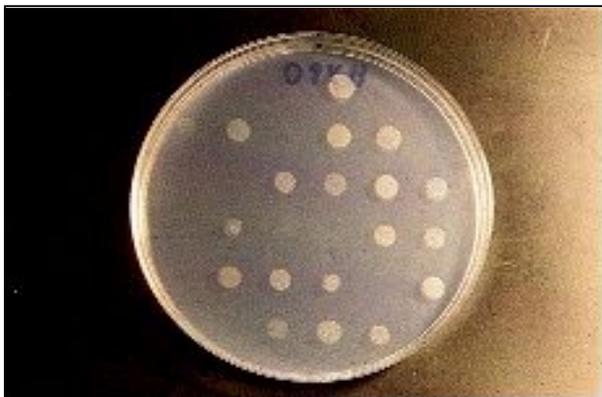


**Photo 27**  
*Phénotype T2 des colonies de *Neisseria gonorrhoeae*, sur milieu NYC (CDC-Atlanta)*

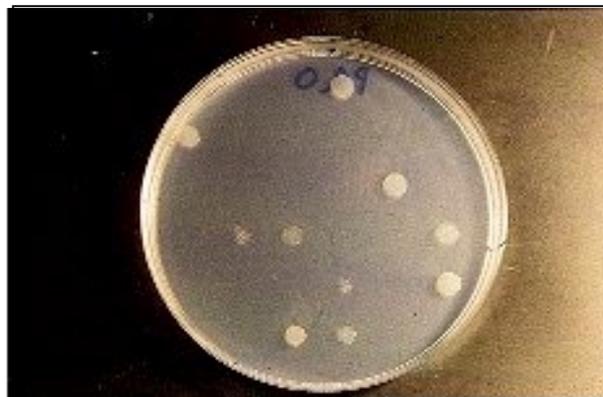


**Photo 27' :**  
*Phénotype T1 des colonies de *Neisseria gonorrhoeae*, sur milieu NYC (CDC-Atlanta).*

• Une étude épidémiologique plus approfondie que des Centres de référence et des Réseaux Nationaux peuvent réaliser sur simple demande de la part du laboratoire ayant isolé la souche (Auxotypage, photos 28 et 28' étude de la structure protéique du gonocoque isolé – Sérotypage). Il va sans dire que ces études supplémentaires ne sont aucunement indispensables car elles n'apportent rien de plus au diagnostic, mais elles peuvent aider à la traçabilité épidémiologique de l'infection et déclencher éventuellement une étude ciblée.



*Photo 28 : Auxotype de Neisseria gonorrhoeae  
Hypoxantine dépendant : milieu NEDA  
dépourvu d'hypoxanthine*



*Photo 28' : Auxotype de Neisseria  
gonorrhoeae Proline dépendant  
milieu NEDA dépourvu de proline*

• Etude de la résistance aux antibiotiques

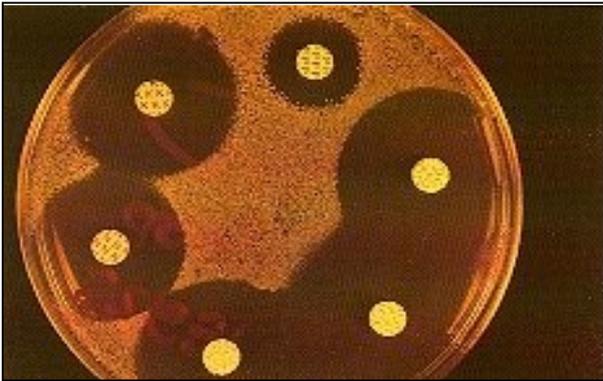
L'étude de la sensibilité aux différents antibiotiques, utilisés à ce jour pour le **traitement** de la **gonococcie**, ne sera entreprise qu'en présence de souches qui possèdent une  **$\beta$ -Lactamase** (enzyme que certaines souches de gonocoques bien connues excrètent pour faire échec à tout traitement à base de Pénicilline – antibiotique majeur pour ce type d'infection), qui peut être détectée très rapidement à l'aide de réactifs commercialisés ou non (photo 29)

CAHIER DE **BIOFORMA**  
**Formation**  
version numérique

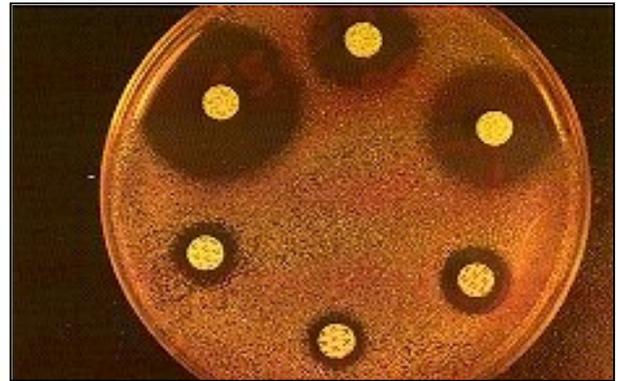


*Photo 29 : Souches de gonocoques productrices de Béta-lactomase à 9 heures et à 3 heures ;  
A 11 heures et 1 heure deux souches non productrices.*

Les exigences nutritives de *Neisseria gonorrhoeae* sont telles qu'il est difficile d'appliquer les normes internationales de l'antibiogramme. Le milieu le plus approprié pour réaliser cette étude est encore le milieu NYC (photos 30 et 30').



**Photo 30 :** Souche de Gonocoque sensible  
Aux bêta-lactamines : milieu NYC



**Photo 30 ' :** Souche de Gonocoque Résistant  
à la Pénicilline (P à 8heures)

Dans certains pays (Est asiatique et Ouest africain), le taux de souches résistantes est préoccupant en termes de Santé Publique [10 et 11].

En revanche la culture offre quelques **inconvénients** :

- Nécessité d'un environnement de CO<sub>2</sub> (jarre + sachets générateurs d'anhydride carbonique, cloche + bougie, incubateur à CO<sub>2</sub>).

- Long **temps d'incubation** (36 heures au minimum)

un **ensemencement immédiat** sur les milieux appropriés mis sous CO<sub>2</sub>.

**III.1.2.2. – Les techniques d'hybridation** sont beaucoup plus rapides et conviennent mieux à un diagnostic de dépistage. D'une grande sensibilité elles trouvent une application de choix dans la détection des complications ascendantes de l'infection, où la culture fait échec dans environ 50% des cas [12].

L'**inconvénient** réside essentiellement dans leur prix de revient, beaucoup plus élevé, et dans le fait qu'aucune autre investigation ne peut être entreprise, dans la mesure du possible, d'où l'intérêt de coupler les deux techniques.

La réponse immunitaire en cas d'infection paraît être d'une grande complexité et, concerne aussi bien l'immunité à médiation cellulaire que l'immunité humorale. De nombreux essais de mise au point de réactions sérologiques, permettant de détecter les personnes infectées, ont été tentés sans succès [13].

En revanche la connaissance de la structure du Gonocoque permet aujourd'hui, de réaliser un sérotypage, à l'aide d'anticorps monoclonaux et de classer ainsi les souches isolées en

groupes différents [14]. Cette technique offre un intérêt épidémiologique certain et permet de se rendre compte de l'hétérogénéité et de la complexité de structure des souches isolées.

### **III.1.3. Physiopathogénie de l'infection gonococcique**

**Les souches virulentes** de gonocoques sont dotées de filaments de nature protéique dénommés - **pili** – qui favorisent l'adhérence aux cellules des revêtements muqueux et permettent l'effraction de l'épithélium et la dissémination de proche en proche de l'infection grâce à la multiplication « in situ » des bactéries [15].

Les produits du métabolisme du gonocoque provoquent une intense réaction inflammatoire et des lésions tissulaires irréversibles, si un traitement approprié n'est pas instauré dans les plus brefs délais.

Dans la membrane externe du gonocoque, outre la présence de molécules de lipopolysaccharides implantées dans le feuillet interne, entre lesquelles les pili viennent se frayer un passage, on trouve de nombreuses molécules de protéines complexes. La protéine principale, par son abondance (P I), sert de base à la classification antigénique des gonocoques. D'autres protéines (P II, P III) auraient, outre les propriétés immunogènes, une action nécrotique directe sur l'épithélium tubaire (protéases ?) pouvant entraîner, à la suite d'une intense réaction inflammatoire – **inflammation pelvienne, pelvi-péritonite, salpingite** [17] ayant pour conséquences :

- une obturation incomplète des trompes qui retarde la progression de l'œuf et favorise les grossesses ectopiques (Grossesse extra-utérine),

ou bien une **obturation bilatérale** des trompes, responsable alors de **stérilité**.

Des investigations scientifiques, sont actuellement en cours, pour isoler les gènes responsables de la synthèse de ces protéines, afin de mieux connaître leur rôle et aboutir peut être à la fabrication d'un **vaccin** efficace qui protégerait de l'infection [18].

Des souches déficientes dans le métabolisme du fer ont été décrites, elles seraient plus particulièrement responsables de la dissémination sanguine (**Gonococcie disséminée**) et probablement des métastases au niveau des articulations (**Gonococcie articulaire**). Fort heureusement ces souches sont, en général, très sensibles à la Pénicilline.

La présence du gonocoque dans les voies génitales basses, au moment de l'accouchement, peut être responsable de la transmission au nouveau-né qui risque de développer une **conjonctivite néonatale**. Reconnue comme entité distincte en 1881, elle ne fut différenciée de la conjonctivite à inclusions qu'en 1909 par Lindner. Sa prévalence aux USA et en Europe depuis le XIX<sup>e</sup> siècle peut varier de 1 à 15% des enfants nouveau-nés.

Non traitée, cette conjonctivite aiguë purulente souvent bilatérale, peut entraîner une fonte purulente de l'œil. Elle se manifeste en général, deux ou trois jours après la naissance et

peut être évitée en appliquant dans chaque œil, deux gouttes d'un collyre au nitrate d'argent [méthode de Crédé : 19] voir photo 18.

D'autres traitements ont été proposés avec autant d'efficacité.

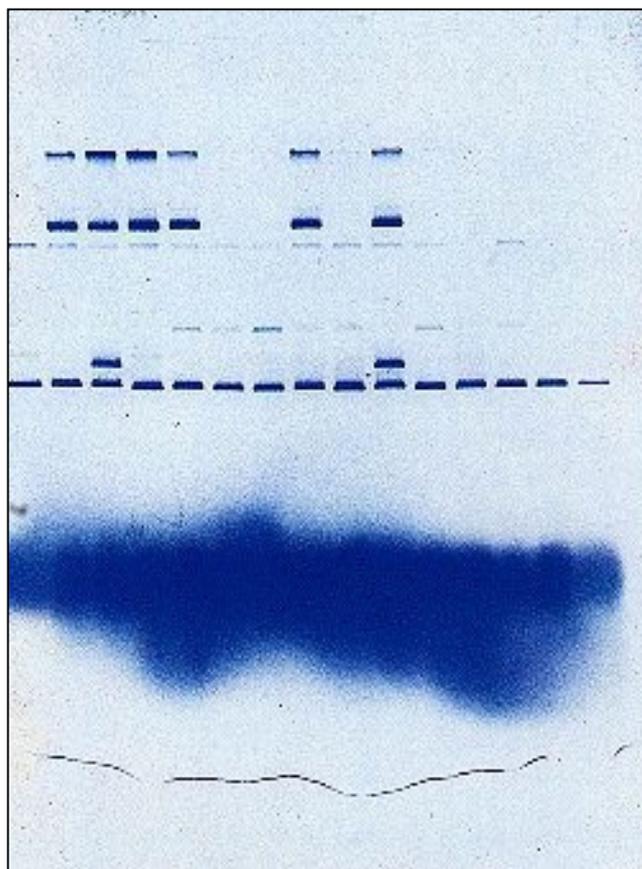
*On comprend aisément la nécessité de détecter l'infection le plus tôt possible, afin de limiter les dégâts, et instaurer rapidement un traitement efficace pour éviter les complications.*

### III.1.4- Traitement

Le gonocoque est une bactérie encore sensible à de nombreux antibiotiques et tout particulièrement à la **Pénicilline** et ses dérivés. Les recherches menées dans les centres de référence, montrent toutefois une dérive chromosomique constante par laquelle ces bactéries nécessitent des doses de plus en plus importantes de pénicilline, tout en demeurant, en termes de microbiologie – **sensibles** – c'est à dire que la quantité minimale d'antibiotique (CMI) nécessaire, in vitro, pour tuer la bactérie demeure très inférieure aux **normes** [20].

En revanche, depuis 1976 des souches particulières ont été isolées concomitamment en Extrême-Orient et en Afrique de l'ouest [21]. Ces souches sécrètent une enzyme – **pénicillinase** – capable de détruire la pénicilline, qui devient alors totalement inefficace contre ces bactéries. Le nombre et la cible de ces enzymes sont très variés et leur action peut s'étendre à d'autres antibiotiques de la même famille  **$\beta$ -Lactamases** – obligeant le médecin à recourir à des antibiotiques beaucoup plus coûteux (Céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération, Fluoroquinolones, Macrolides ou apparentés...) [22]

La synthèse de ces enzymes est sous la dépendance de – **plasmides** – présentes dans le cytoplasme de la bactérie et, dont la structure génétique s'est avérée relativement complexe, indiquant une variabilité imprévisible au sein des souches qui en étaient pourvues (photo 31). Ces doubles brins de DNA libres sont tout à fait capables de porter des gènes de résis-



*Photo 31 : Caractérisation des plasmides isolés de certaines souches de Gonocoques : Gel d'agarose et coloration des séquences de DNA*

tance à d'autres antibiotiques, constituant ainsi des populations de bactéries – **multirésistantes** – qu'il faut bien connaître pour mieux délimiter les foyers d'infection [23].

Chaque année, les centres de référence et les laboratoires spécialisés, font part à l'occasion des congrès, colloques ou de symposiums des résultats de leurs recherches. Cela permet à des experts de se constituer en groupes de travail pour établir des recommandations de traitement, en fonction des résultats des recherches bactériologiques et de biologie moléculaire, et des données épidémiologiques. Il en est ainsi des Centres de Contrôle des Maladies Transmissibles aux Etats-Unis (CDC Atlanta), de l'OMS pour les pays en développement, des réunions de consensus et des Centres de Références pour la France...

*Compte tenu de ces considérations, la conduite à tenir devant une gonococcie confirmée, des voies génitales basses non compliquée, est basée sur des données d'ordre purement bactériologiques.*

#### **Le gonocoque isolé n'a pas de $\beta$ -Lactamase :**

- **Pénicilline** : une injection intramusculaire unique de 3 millions d'unités + 1 g de probénécide (Bénémidé : 2 comprimés à 0,50 g) per os, ou bien,
- **Ampicilline** : Un sachet de 3, 50 g per os + 1 g de Bénémidé, ou bien,
- **Ceftriaxone** : une injection intramusculaire unique de 300 mg, ou bien
- **Céfixime** per os.

En cas d'allergie connue aux  $\beta$  Lactamines, on pourra être tout aussi efficace en appliquant :

- Une injection intra-musculaire de 2 g de **Spectinomycine**, la résistance à cet antibiotique, bien qu'elle soit rapportées dans la littérature médicale dès 1981 [24], reste exceptionnelle.
- **Des Fluoroquinolones** per os en dose unique (Péfloxacine : 200 mg, Eracine : 300 mg, ofloxacine : 200 mg),
- Des apparentés aux **macrolides** (Azithromycine : 150 mg), également per os en dose unique.
- Pour des raisons économiques évidentes il est tout à fait plausible de recourir à des molécules moins onéreuses comme les aminoglycosides (Kanamycine, Spectinomycine...)

#### **Le gonocoque isolé est porteur d'une Pénicillinase- $\beta$ Lactamase :**

Toute tentative de traitement par une Pénicilline G sera, dans ce cas voué à l'échec. Il faudra traiter par les céphalosporines de troisième génération (Céfixime, Céfoxitine, Ceftriaxone...), ou par des antibiotiques appartenant à une autre famille. Il faut cependant songer, à la lumière des études réalisées sur les plasmides extraits de ces bactéries, qu'une

souche porteuse d'une  $\beta$ -Lactamase peut être aussi résistante à d'autres antibiotiques. Dans ce cas un antibiogramme doit être réalisé, il permettra de « rectifier le tir », le cas échéant.

En règle générale ces souches demeurent sensibles à la Spectinomycine.

**Le gonocoque est isolé inopinément**, sans signes cliniques particuliers :

Il est impératif de faire une recherche épidémiologique autour de la patiente pour rechercher le réservoir de virus proprement dit et le traiter. Un interrogatoire précis recherchera l'existence de signes pouvant évoquer une complication (douleurs du bas ventre, épisode fébrile récent, règles douloureuses, éruption cutanée fugace, douleurs articulaires...).

Des examens complémentaires, à la recherche d'une atteinte des voies génitales hautes, doivent être entrepris. Le traitement sera adapté au type de complication éventuellement détectée, dans le cas contraire on appliquera le traitement ci-dessus décrit.

### **III.2- Les infections à *Chlamydia trachomatis* :**

**En 1995, aux Etats-Unis, 87 % des maladies infectieuses étaient des MST**

Chaque année 3 millions d'adolescentes ont une MST, les infections génitales à *Chlamydia trachomatis* (Ct) occupent la première place avec environ 4 millions de nouveaux cas estimés en fonction de la forte proportion des formes silencieuses [25]. Depuis 1984, le taux d'incidence de l'infection à *Chlamydia trachomatis* est passé de 3,2 à 182,2 cas pour 100 000 habitants alors que le taux d'incidence chez la femme atteignait 290,3 dépassant largement le taux d'incidence chez l'homme (52,1). Cette importante augmentation est en partie liée à l'amélioration des techniques de laboratoire, appliquées au diagnostic, et à une généralisation des programmes de surveillance dans les groupes à risques.

Il en est de même dans le Royaume-Uni et les pays Scandinaves, où la systématisation des protocoles de dépistage a eu des effets indiscutablement positifs faisant régresser le nombre des complications, et le taux d'incidence [26].

En France, il n'existe pas d'observatoire épidémiologique comparable à ceux des pays anglo-saxons, malgré la mise en place de réseaux nationaux (Renachla, 27) si bien que toute évaluation de l'incidence de cette infection est délicate. Néanmoins, il apparaît que le taux de stérilité tubaire, dont la cause principale demeure *Chlamydia trachomatis*, n'a pas diminué ces dernières années, ce qui laisse à penser **que l'infection chlamydienne est plutôt stable en France.**

#### **III.2.1- Physiopathogénie**

*Chlamydia trachomatis* est une bactérie parasite intracellulaire obligatoire qui ne se multiplie que dans le cytoplasme des cellules tapissant les muqueuses – particulièrement

au niveau des cellules malpighiennes de la zone de jonction, au niveau du col de l'utérus, et des cellules cylindriques qui constituent la bordure ciliée de l'endocol, de l'endomètre et des trompes de Fallope -, expliquant la transmission quasi essentiellement sexuelle de *Chlamydia trachomatis*. Le parasitisme cellulaire obligatoire est à l'origine du cycle de vie très particulier, biphasique caractéristique du genre. La forme métabolique de la bactérie – **le corps réticulé** – survit très mal dans le milieu extérieur, où il est rapidement détruit ; la forme achevée – **le corps élémentaire** – au contraire, résiste plus longtemps et constitue la forme infectante, responsable de la transmission. Cette physiologie à caractère polymorphe, de *Chlamydia trachomatis*, explique la discrétion des symptômes cliniques de début, aussi bien chez l'homme que chez la femme : simple urétrite subaiguë ou cervicite discrète.

La présence de *Chlamydia trachomatis* chez un adulte implique une **contamination sexuelle préalable**. Cependant, la période d'incubation est très variable d'un sujet à un autre et de surcroît, l'existence de formes de latence – génératrices de récurrences spontanées – et de fréquentes contaminations nouvelles, par des biotypes différents, interdisent, le plus souvent, de dater précisément la contamination.

Cette notion est importante, car la constatation d'une infection génitale à *Chlamydia* chez une femme est souvent un facteur de déséquilibre psychologique dans le couple.

L'imprécision du délai de contamination peut donner au médecin des arguments pour rétablir l'harmonie du couple parfois menacée...

Plus de 75% de ces infections sont totalement dépourvues de signes cliniques à leur début et peuvent, de ce fait, passer totalement inaperçues générant les complications bien connues.

• **complications génitales ascendantes** : endométrites, salpingites aiguës, salpingites chroniques, pélvi-péritonites...

• **séquelles cicatricielles** : grossesses ectopiques, stérilités tubaires,

• **complications générales** : arthrites, conjonctivites, pneumopathies, endocardites

• **complications néonatales** : conjonctivites, pneumopathies graves.

Une meilleure connaissance des mécanismes présidant à l'apparition de ces complications et, plus particulièrement, des salpingites permet de mieux comprendre les difficultés diagnostiques et thérapeutiques de ces infections :

*Chlamydia trachomatis* gagne les voies génitales hautes par voie ascendante. L'atteinte des trompes est précédée par une infection de l'endomètre rarement très bruyante. *Chlamydia trachomatis* se fixe sur les cellules de l'épithélium cylindrique tubaire, par un mécanisme de mimétisme moléculaire probable [28] puis, pénètre dans les cellules par endocytose, protégée par une vacuole d'origine membranaire où, la particule infectante dérive le flux d'échanges entre l'intérieur et l'extérieur, puisant ainsi les éléments nutritifs nécessaires à sa propre réplication [29, 30]

Après un ou plusieurs cycles de multiplication apparaissent, dans le cytoplasme des cellules infectées, des vacuoles contenant un mélange de corps élémentaires (infectants) et de corps réticulés (non infectants) de *Chlamydia trachomatis*. Ultérieurement, les inclusions libèrent le contenu des vacuoles dans la lumière tubaire. Les corps élémentaires, seules particules ayant un pouvoir infectant, vont infecter d'autres cellules.

Parmi les multiples structures qui composent les particules, certaines d'entre elles, mieux connues, participent directement à l'élaboration des séquelles qui résultent de ces complications ascendantes.

On citera ainsi l'antigène de groupe, commun à toutes les espèces de « *Chlamydiae* », de nature – **Lipido Polysaccharidique** – ou **LPS**. Constitué d'un complexe – Lipides, hydrates de carbone – dont la structure présente une étroite similitude avec l'acide 2 ceto 3 désoxy octanoïque, composant caractéristique des bactéries à Gram négatif.

Lorsqu'il est produit en excès, le LPS s'exprime à la surface de la cellule infectée, fixe le complément et conduit à la destruction de la cellule infectée. Il est possible d'ailleurs comme il en est pour le VIH – avec la protéine membranaire – que d'autres cellules non infectées subissent le même sort. Le résultat en est une destruction cellulaire focale qui expliquerait les lésions observées :

- L'infection tubaire en effet s'accompagne d'une perturbation de la motricité ciliaire de l'épithélium avec parfois disparition de la ciliation en « plaques » et, coalescence des cils restants entraînant une inhibition ou un blocage de la progression de l'œuf fécondé, augmentant ainsi le risque de grossesse extra utérine (photo 32).



*Photo 32 : Zone ciliaire détruite au niveau de la muqueuse tubaire (P.A. Mårdh)*

- Une réaction de défense de la muqueuse qui se traduit par un afflux leucocytaire avec toute la chaîne de réactions chimiques qui caractérisent l'inflammation provoquant ainsi une importante infiltration de la muqueuse tubaire pouvant occasionner de sérieux dégâts tissulaires. L'aspect positif est qu'une certaine quantité de particules est éliminée mais une proportion non négligeable survit à cette réaction et l'infection va s'installer définitivement.

En revanche l'infection induit la production, par les lymphocytes et les monocytes, de substances toxiques qui sont sécrétées – comme le Tumor Necrosis Factor (TNF), d'interférons et d'interleukines essentiellement IL-1 et IL-6, qui produisent des nécroses tissulaires, suivies d'une réparation cicatricielle, à l'origine des dégâts.

Les corps élémentaires sont altérés par l'interféron  $\gamma$ , ils persistent alors dans les cellules infectées entretenant ainsi la synthèse de protéines cytotoxiques comme ce serait le cas pour la « **heat shock protéine** », d'un poids moléculaire de 57 – 60 KD (**CHSP 60**), identifiée comme une protéine–**stress** – du groupe « **GroE1** » qui présenterait plus de 50% d'homologie avec des protéines humaines. L'apparition d'anticorps vis-à-vis de cette protéine s'observerait, en effet avec une plus grande fréquence, chez les femmes « **stériles** » [31] et lors des infections récurrentes, des salpingites et des grossesses extra-utérines [32, 33].

#### - Polymorphisme du gène « **momp** » :

La « Protéine Majeure de la Membrane Externe » ou **MOMP** pour « Major Outer Membran Protein », de *Chlamydia trachomatis* induit la formation d'anticorps « **neutralisants** » qui inhibent la réplication des particules et bloquent donc l'infection, favorisant ainsi l'élimination des particules restantes par les lymphocytes **T** [34, 35]

De fréquentes « **mutations** » au niveau des allèles du locus « **omp-1** » produisent un polymorphisme impressionnant qui ne porte quelquefois que sur un seul acide aminé, aboutissant, au niveau de la cellule-hôte, à une sélection immunologique qui esquivait l'attaque immunitaire [36, 37].

Le succès écologique des chlamydiae pourrait être lié, précisément à leur facilité, sous la pression d'une sélection immunologique, de générer des mutations successives.

Des infections multiples surviennent fréquemment dans les groupes « **à risque** » et on assiste parfois à des recombinaisons génétiques entre les différents sérotypes, ce qui complique considérablement le polymorphisme génétique qui en résulte.

Cette variabilité génétique complique bien évidemment tout espoir de vaccination.

#### Rôle du système HLA :

Il semblerait que seule une catégorie de personnes présente un risque élevé de développer une complication après une infection par *Chlamydia trachomatis* [38].

Ce rôle avait déjà été évoqué dès 1978 à propos du **Syndrome de Reiter** [39]

**- A propos des risques :**

A la suite d'une salpingite, l'évaluation des risques :

- **d'infertilité** peut atteindre 20%
- de **douleurs pelviennes** chroniques résiduelles 18%,
- d'une **grossesse extra-utérine** 9%. Il est important de noter que les grossesses ectopiques sont la principale cause de décès maternel au cours du premier trimestre de grossesse et que le taux de cas observés a été multiplié par 5 au cours des 20 dernières années aux Etats-Unis.

*-l'incidence des infections génitales à **Chlamydia trachomatis** est nettement supérieure chez les adolescentes que chez les adultes (9 à 27% contre 4 à 15%) - [40].*

*- En 1995 les Centres de l'OMS estimaient à 89 millions, le nombre de sujets infectés par **Chlamydia trachomatis**, dans le monde.*

*D'après l'Institut National de Médecine, les complications dues à **Chlamydia trachomatis** sont celles, après le VIH, qui coûtent le plus cher, 4 milliards de \$ par an [40] et, à un moindre degré par rapport aux MST ulcéreuses, elles favorisent l'infection au VIH.*

*- La fréquence des formes asymptomatiques ou persistantes peut dépasser 80%*

- selon ces études, les facteurs les plus fréquemment corrélés avec l'infection à *Chlamydia trachomatis* sont :

- la consommation de tabac,
- les antécédents d'infections à *Chlamydia trachomatis* (rôle des récives ou des recontaminations),
- le partenaire sexuel récent (plus que le nombre de partenaires),
- l'ectopie cervicale.

*En revanche, on sait qu'une jeune adolescente de 15 ans à 10 fois plus de risques de développer un syndrome inflammatoire pelvien à la suite d'une MST, qu'une femme de 24 ans.*

### **III.2.2. Les bases du diagnostic**

A l'heure actuelle on reconnaît trois espèces différentes au sein de la famille des *Chlamydiaceae* ; chacune d'elles peut infecter l'homme par contact direct.

*Chlamydia trachomatis* et *Chlamydia pneumoniae* sont commensales de l'homme tandis que *Chlamydia psittaci* se retrouve particulièrement chez les animaux, à partir desquels l'homme peut s'infecter accidentellement.

Au sein de chaque espèce existent des structures protéiques complexes communes (antigènes de groupe) ou propres à chaque espèce (antigènes d'espèces) mais différant d'une espèce à l'autre et enfin des antigènes propres à chaque souche (antigènes de type), ces derniers permettent de diviser chaque espèce en « sérovars » (photo 33).

Les études d'hybridation moléculaire DNA-DNA avec les résidus résultant de la digestion par des enzymes de restriction, montre des différences possibles avec les souches isolées au sein d'un même séro-type [41, 42]

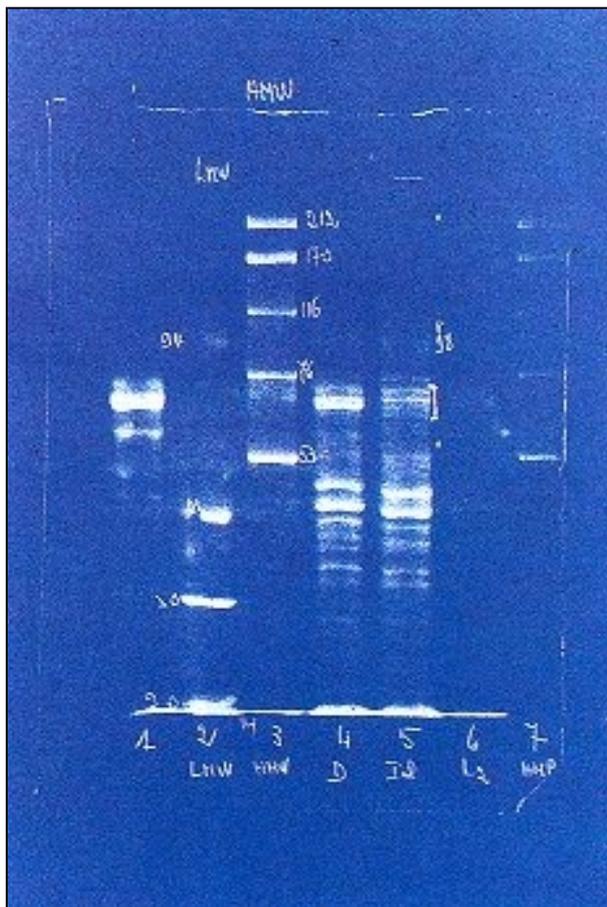
Ainsi l'espèce *trachomatis* est constituée de trois groupes distincts par leur structure et leur pouvoir pathogène, les infections génitales sont en relation étroite avec le groupe dit « *occulogénital* ».

*Chlamydia pneumoniae* constitue un groupe qui peut provoquer chez l'homme adulte des infections des voies aériennes supérieures de gravité très variée. Il est responsable de 6 à 10% des pneumonies de l'adulte.

Cette espèce individualisée au cours de la dernière décennie réagit faiblement avec des anticorps monoclonaux qui reconnaissent l'espèce *trachomatis*, ce qui permet de la différencier aisément de l'espèce *trachomatis* et de lui rattacher certaines sérologies positives, liées à sa communauté antigénique.

Les groupes en relation avec la pathologie humaine donnent lieu à des réactions **sérologiques croisées intenses** entre elles et avec les autres espèces, de par leurs structures externes plus particulièrement, mais la différenciation est possible au départ de l'infection (IgM, IgA).

**Le tableau suivant résume les différentes espèces de chlamydiae pathogènes pour l'homme :**



**Photo 33 :** Profil protéique de différents "sérovars" de *Chlamydia trachomatis*

*Chlamydiae*

	<b>TRACHOMATIS</b>		<b>PNEUMONIAE</b>
	<b>HOMME</b>		<b>HOMME</b>
A, B, Ba, C	D, E, F, G, H, I, J, K	L1, L2, L3	TW 83, 1OL207
Trachome Endémique	Infections oculo-génitales, pneumonie du nouveau-né  Conjonctivites	Lympho-granulomatose vénérienne ou Maladie de Nicolas, Favre, et Durand	Pneumonies rhino- pharyngites, trachéo- bronchites adultes

**III.2.2.1- Structure des bactéries**

C'est le seul exemple connu dans le monde bactérien de l'existence d'un cycle de reproduction propre, avec un polymorphisme des différentes formes métaboliques. La structure demeure toutefois relativement homogène dans les différentes particules présentes : **les corps élémentaires**, infectieux, et les **corps réticulés**, non infectieux (photo 34).



**Photo 34 :** Coupe d'une inclusion Chlamydienne, montrant des corps réticulés perméables et des corps élémentaires « opaques » aux électrons : Microscopie électronique

- La paroi bactérienne

Elle est essentiellement constituée par la **membrane externe**, à travers laquelle se font les échanges d'énergie et les échanges nutritifs.

**La feuille externe** est de nature complexe et contient la presque totalité des structures antigéniques de la bactérie. Un arrangement de sous unités protéiques hexagonales s'observe dans les **corps élémentaires**, conférant à cette particule une rigidité particulière qui joue un rôle majeur, lors de l'infection, dans le mécanisme d'adhérence aux cellules épithéliales.

La structure est identique pour toutes les particules que peut contenir une inclusion mais la proportion de certaines substances peut varier d'une particule à l'autre.

Elle contient en majorité des protéines et des précurseurs de protéines dont certaines sont riches en cystéine. Les protéines dites **principales** ou **majeures** sont antigéniquement distinctes pour les trois espèces, elles constituent la MOMP.

Globalement, les structures antigéniques de la paroi constituent **trois groupes de structures** :

- **Les antigènes spécifiques de groupe** sont présents tout au long du cycle de

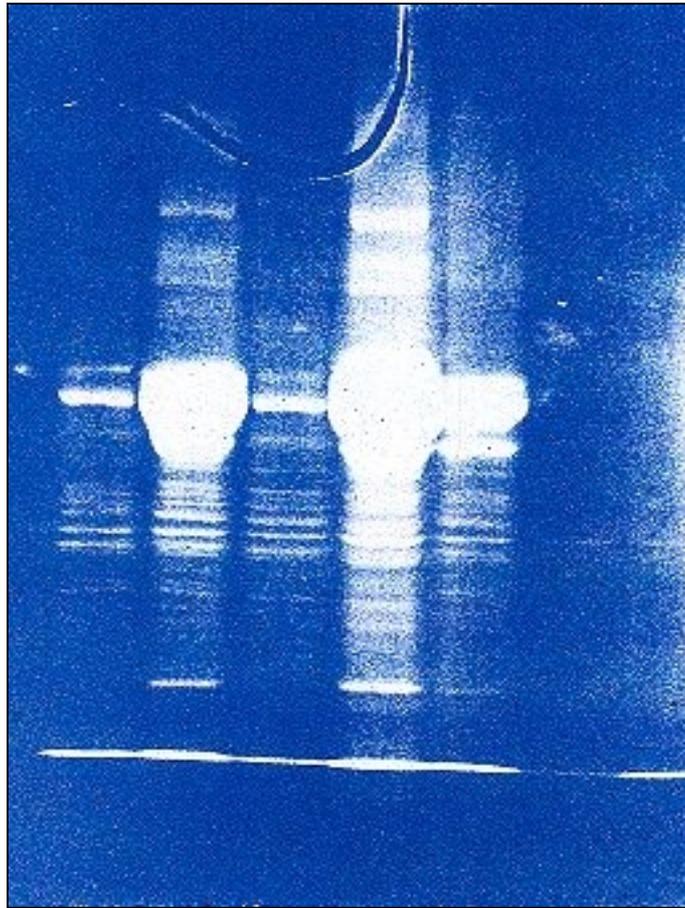
multiplication dont les plus connus sont les lipopolysaccharides (LPS) extractibles par les solvants organiques, particulièrement l'éthyl-ester-désoxycholate de soude.

Détectable par des réactions de *fixation du complément* il serait responsable, dans les cellules infectées, de phénomènes inflammatoires qui pourraient conduire à une nécrose cellulaire. Composé d'un noyau similaire à l'acide de 2-céto3-désoxy-octanoïque-composant caractéristiques des bactéries à Gram négatif – il peut donner des réactions immunologiques croisées avec d'autres bactéries. Les monomères des lipopolysaccharides ont un poids moléculaire compris entre 25 et 3 Kd.

Produit en excès au cours de certaines infections extensives (LGV, Psittacose), la réaction immunogène peut être très intense avec un taux d'anticorps circulants très élevé.

- **Les antigènes spécifiques d'espèces**, révélés par *électrophorèse en gel d'agarose*, montrent parfois des différences importantes dans le profil des protéines extraites et solubilisées (photo 35) :

- une protéine thermolabile de 155 Kd est commune aux trois groupes de *Chlamydia trachomatis* mais elle est absente chez *Chlamydia psittaci*,



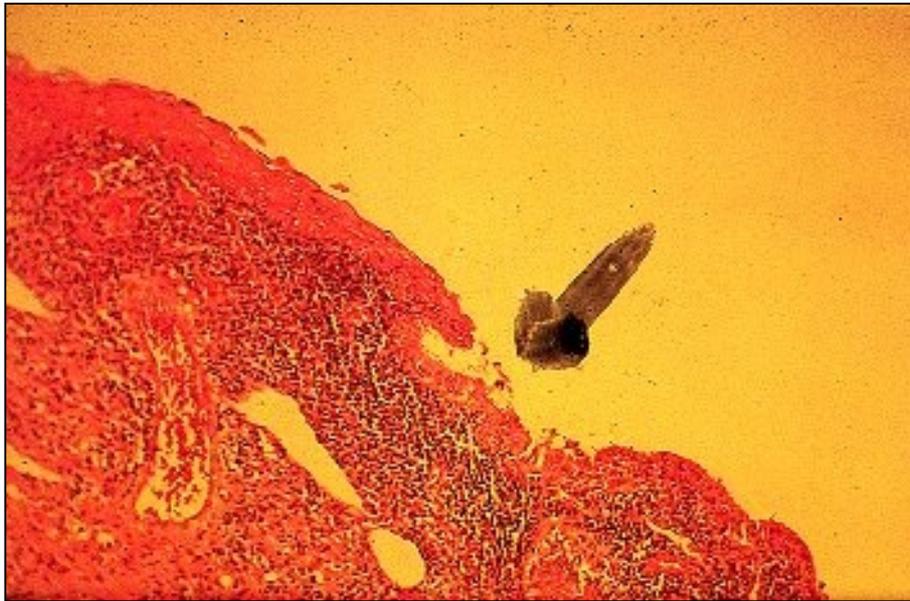
**Photo 35 :** Profil protéique de plusieurs « isolats » :  
Western-blot coloré par une solution d'amidoschwartz

- Un couple de protéines de 62 et 60 Kd est également spécifique d'espèce, l'une d'elles est riche en cystéine (62 Kd), l'autre semble jouer un rôle primordial dans le mécanisme de l'adhérence aux cellules eucaryotes. Une autre enfin, de 57 Kd semblerait jouer un rôle important dans le déclenchement des délabrements nécrotiques de tissus infectés.

• **Les antigènes spécifiques de type** ont permis, grâce à des anticorps monoclonaux de classer les différents sérovars en trois groupes C, B et F. Les anticorps dirigés contre ces antigènes sont neutralisants et joueraient un rôle important dans l'immunité acquise (28-30 Kd).

*La plupart de ces antigènes sont de nature protéique et un bon nombre d'entre eux jouent un rôle important dans le mécanisme d'adhérence aux cellules épithéliales qui tapissent la paroi des muqueuses. Les cellules malpighiennes, métaplasiques ou cylindriques sont particulièrement vulnérables (photo 36).*

*C'est donc à leur niveau qu'il faudra rechercher les particules infectantes, souvent nombreuses et à l'état libre, dans les liquides de sécrétion des muqueuses.*



**Photo 36 :** Zone de prédilection pour l'infection par les bactéries pathogènes : coupe histologique de la zone de jonction exocol-endocol colorée à l'hémalum éosine ; Grossissement x 100.

### III.2.2.2- Importance du prélèvement

Comme pour tout examen bactériologique, l'objectif est de mettre en évidence **l'agent pathogène dans les sécrétions cervicales**.

Comme la plupart des micro-organismes, parasites intra-cellulaires, les *Chlamydiae* sont très fragiles en dehors de l'hôte habituel. Il est impératif donc de recueillir un échantillon contenant surtout des cellules infectées plutôt que les simples sécrétions.

Les milieux de transport qui sont mis à la disposition des médecins ne servent en réalité qu'à préserver la survie d'une partie des particules libres et la quantité de particules viables est d'autant plus importante que le temps écoulé après le prélèvement est plus court.

Les basses températures prolongent la survie.

*Aucun milieu de transport n'est parfait et ne peut assurer la survie de la totalité des particules infectieuses, seules capables de résister en dehors des cellules infectées.*

Il faut en revanche tenir compte du nombre important de bactéries commensales qui risque d'altérer la structure des particules infectantes de *Chlamydia trachomatis*.

Les sécrétions cervicales contiennent du mucus riche en protéases qui risquent de modifier la morphologie des **corps élémentaires**, diminuer leur pouvoir infectant et, mettre ainsi en défaut certaines techniques de détection ( culture, méthodes immunologiques).

Il est donc indispensable d'établir un protocole rigoureux de prélèvement que l'on s'efforcera de suivre scrupuleusement. En voici le détail :

- a) prélever à la phase aiguë de la maladie,
- b) prélever en dehors de tout traitement ( au moins 2 ou trois semaines après l'arrêt d'un traitement antibiotique),
- c) recueillir dans un milieu de transport contenant des inhibiteurs de la prolifération bactérienne (culture), ou dans un liquide d'extraction approprié ( détection d'antigènes, hybridation avec ou sans amplification ),
- d) transporter l'échantillon le plus rapidement possible au laboratoire, sans dépasser le délai maximum de 24 heures.

Il ne faut pas oublier que les basses températures évitent la prolifération des bactéries saprophytes qui, en revanche, se multiplient à la température ambiante.

***La qualité du prélèvement conditionne les résultats à partir desquels le praticien adaptera la thérapeutique.***

Le matériel utilisé pour recueillir les échantillons est constitué par des **écouvillons en dacron** dont la taille diffère selon qu'ils s'appliquent à l'homme ou à la femme.

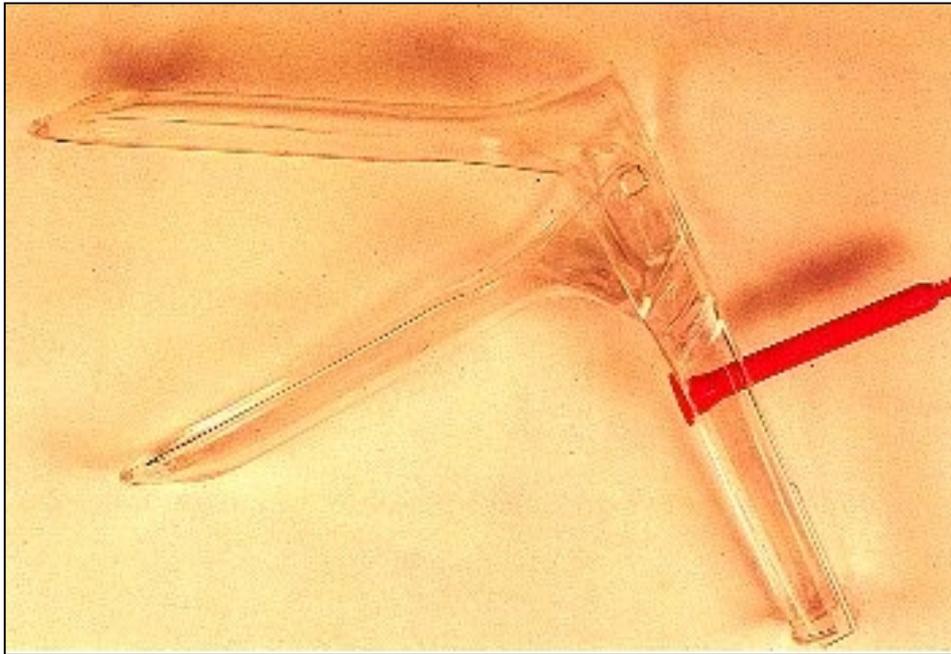
**Les écouvillons rigides en matière plastique** ou Bactopick, conviennent pour tous les types de prélèvement et sont souvent mieux acceptés que les écouvillons en dacron.

Par ailleurs on peut diminuer la douleur due au grattage en trempant au préalable le « bactopick » dans le milieu de transport avant de l'introduire dans l'urètre. Le recueil au niveau du col est généralement indolore.

Actuellement, la recherche chez l'homme doit se faire par des **techniques d'hybridation après amplification génique sur un échantillon d'urines fraîchement émises.**

**La mini-brosse** (Cytobrush) assure un grattage efficace, en revanche elle a l'inconvénient de ramener une grande quantité de mucus qui, dans certaines techniques, risque de gêner la détection des particules (méthodes immunologiques, amplification génique...).

La patiente est placée en position gynécologique sur la table d'examen. Un spéculum à usage unique, non lubrifié, est introduit puis ouvert (photo 37) afin de positionner l'orifice du col dans la partie médiane du vagin. Avant tout recueil, il est nécessaire d'éliminer la glaire cervicale à l'aide de un ou plusieurs écouvillons en coton.



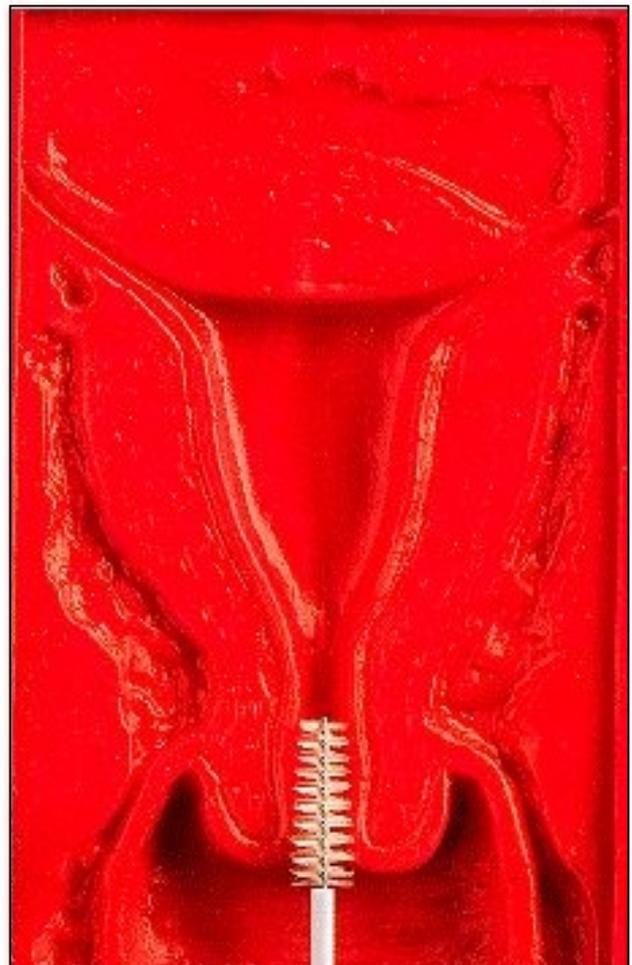
*Photo 37: Spéculum à usage unique, ouvert, pour l'exploration du col.*

**Si un examen bactériologique complet est demandé**, on introduira tout d'abord un écouvillon dans le canal endocervical pour la recherche de *Neisseria gonorrhoeae* et ensuite, un «bactopick» ou une «brosse» en lui imprimant un mouvement de rotation afin de balayer toute la surface de la muqueuse endocervicale (photo 38).

Ce geste entraîne souvent un saignement sans conséquence. Si un écouvillon a été utilisé, il sera déchargé dans le milieu de transport ( culture ) mais il sera retiré après l'avoir convenablement exprimé contre les parois du tube.

Pour tout autre moyen de détection on utilisera l'écouvillon préconisé par le fournisseur et le milieu qui convient. En aucun cas, il ne faudra utiliser n'importe quel écouvillon - le bactopick excepté - ou un autre milieu que celui qui est adapté à la méthode de détection prévue.

**Il existe aujourd'hui des réactifs mixtes**



*Photo 38 : Coupe sagittale de la cavité vaginale et de l'endomètre, montrant l'insertion d'une « cytobrosse-Plus » pour le recueil des cellules cylindriques de l'endocol*

qui permettent , grâce à un technique d'hybridation après amplification, de rechercher en même temps *Neisseria gonorrhoeae* et *Chlamydia trachomatis* ( Amplicor-Roche, techniques d'hybridation Genprobe).

A réception, les échantillons doivent être analysés dans les plus brefs délais ou être conservés à basse température ( - 70 ° C ou moins ).

Retenons en outre les trois remarques ci-après :



a) *Un échec est souvent lié à un prélèvement non conforme.*

b) *On augmentera la sensibilité de la détection en multipliant les sites de prélèvement (urètre + col).*

c) *On ne gagne rien à disperser les échantillons sous prétexte de rechercher les compétences car la multiplicité des prélèvements sur un même site diminue le nombre de particules présentes et risque d'incriminer à tort la bonne foi du biologiste !*

### III. 2.2.3- Les méthodes de détection

De nombreuses techniques de très bonne sensibilité et d'une excellente spécificité sont aujourd'hui disponibles pour détecter les particules chlamydiennes dans les prélèvements des voies génitales basses.

- La recherche directe par Immunofluorescence

Cette technique simple et rapide nécessite un simple frottis sur lame à partir de l'écouvillon qui a servi à faire le prélèvement. Le réactif est un anticorps de souris qui reconnaît spécifiquement un **épitope** de la structure de la membrane externe de *Chlamydia trachomatis*. Certains réactifs utilisent des anticorps monoclonaux anti-LPS, dans ce cas des réactions croisées peuvent survenir avec d'autres bactéries - particulièrement des bacilles à Gram négatif - et donner lieu à de « **faux positifs** ». Elles ont l'avantage de détecter toutes les espèces de *Chlamydiae*.

Cette technique peut servir de **technique de confirmation** à partir du tube de milieu de transport utilisé pour la culture dans les cas litigieux ou discordants.

En revanche son utilisation requiert une grande habitude de l'immunofluorescence et un parfait réglage des microscopes.

- Techniques EIA

Elles détectent l'antigène **LPS** à l'aide d'un anticorps polyclonal ou monoclonal conjugué à un enzyme (PO ou PAL) qui agit sur un substrat approprié en donnant une réaction colorée dont l'intensité est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre

L'inconvénient majeur de ces techniques est leur tendance à donner de faux positifs, par réactions croisées avec d'autres bactéries. Dès lors leur emploi est limité à des situations bien précises et, nécessitent parfois le recours à des techniques de neutralisation (43).

- Techniques d'hybridation

Elles ont l'avantage de la **rapidité d'exécution** et une **grande sensibilité**, essentiellement liées au conjugué luminescent.

Les réactifs sont constituées de **sondes DNA** séquentielles simple brin, capables de s'hybrider spécifiquement avec les séquences de RNA ribosomal des *Chlamydiae*, l'échantillon (col, urètre ou autres liquides de sécrétion ) étant recueilli dans un tube contenant une solution d'extraction définie.

Les hybrides double brin sont stables et d'autant plus abondants que les séquences d'ARN présentes sont plus nombreuses. La quantité de photons libérés, dans le milieu de réaction, est comparée à un témoin négatif. Les techniques d'hybridation ont l'avantage de pouvoir être envoyées au laboratoire sans aucune astreinte de milieu, de température de conservation et offrent une plus grande souplesse de délai à température ambiante. ***Les sensibilité et spécificité sont comparables à celle de la culture.***

Le seul système actuellement commercialisé offre l'avantage de pouvoir faire du coup par coup, échappant ainsi à la contrainte des séries comme c'est le cas pour certaines techniques de type ELISA.

- Techniques d'amplification

Il existe à ce jour plusieurs techniques d'amplification qui permettent de mettre en évidence le matériel génétique en très faible quantité, dans un échantillon d'urine par exemple.

Toutes utilisent pour ce faire des séquences oligonucléotidiques ( amorces) spécifiques des séquences de **DNA-cible ou de RNA-cible** qui dans des conditions bien définies permettent une répllication, à volonté, des séquences nucléotidiques spécifiques du plasmide que portent les souches de *Chlamydia trachomatis*.

Une amplification préalable de la cible à détecter améliore considérablement la **sensibilité de détection** et permet de l'appliquer à des échantillons contenant peu de bactéries, même non viables et, dans des échantillons où d'autres techniques seraient vouées à l'échec. C'est, par exemple, le cas pour les urines où la quantité de particules libres se trouve considérablement diluée. En revanche, le recueil d'urines constitue un geste simple, non traumatisant , qui peut s'appliquer à tous sans discernement de sexe.

Chez l'homme, il remplace avantageusement le prélèvement urétral, traumatisant et unanimement mal supporté.

Le recueil des urines ne doit pas exempter de réaliser un prélèvement au **niveau du col**, chez la femme, car c'est le **site de prédilection** de l'infection génitale à *Chlamydiae*, la localisation urétrale étant inconstante.

A l'heure actuelle , plusieurs techniques d'amplification sont commercialisées:

### ***La PCR (Amplicor-Roche)***

C'est une amplification DNA du plasmide cryptique en présence de Taq polymérase et de Déoxynucléotides triphosphates dans une série de cycles où les variations de température permettent des réplifications successives de la même séquence (amplicons).

Des sondes oligonucléotidiques fixées sur plaque de microtitration permettent de capter et d'immobiliser les amplicons préalablement biotinylés. Ils seront révélés à l'aide d'un conjugué avidine-peroxydase.

La caractéristique de ce réactif réside dans l'utilisation de désoxyuridine à la place de thymidine et à l'introduction, au départ de l'amplification d'Ampérase (Uracile-N-Glycolase ) capable de détruire les amplicons résiduels (contaminants). De cette façon on peut éviter les contaminations provenant d'une amplification préalable.

### ***La TMA ( Transcription Médiated Amplification : Bio Mérieux )***

La cible amplifiée est un brin RNA qui, en présence de Transcriptase Reverse, formera un modèle DNA. Les cibles RNA amplifiées constituent les amplicons qui seront détectés à l'aide de sondes ADN simple brin, marquées avec un ester d'acridinium.

En présence d'eau oxygénée en milieu alcalin, il se produit une dégradation qui libère des photons dont la quantité est proportionnelle au nombre d'hybrides formés. Cette lumière émise est mesurée dans un photo luminomètre et le calcul se fait automatiquement par rapport à la valeur-seuil.

### ***La LCR ou Ligase Chain Reaction***

Ce système d'amplification met en œuvre deux paires de **sondes oligonucléotidiques** qui reconnaissent deux séquences proches l'une de l'autre dans la cible ADN, laissant ainsi après leur fixation un espace libre entre elles qui sera comblé par une ligase. La séquence tout entière sert ainsi de matrice pour le cycle suivant.

Bien que basée sur un principe un peu différent , ce type d'amplification va aboutir à la multiplication de séquences d'ADN contenues dans la cible. Il s'agit d'amplicons de nature ADN ce qui obligera à respecter les règles élémentaires de manipulation afin de ne pas contaminer les échantillons suivants avec un positif éventuel amplifié.

- L'isolement sur culture cellulaires

C'est par définition la technique de référence car elle seule permet de détecter une infection évolutive, les particules infectantes ou corps élémentaires, viables, étant seuls capables d'infecter des cellules sensibles.

Beaucoup de cellules de lignée continue peuvent être infectées par *Chlamydia trachomatis* mais les plus utilisées à l'heure actuelle sont les cellules Hep-2 qui proviennent de cellules d'un cancer du larynx humain. La résistance de ces cellules est grande et elles peuvent être dupliquées indéfiniment sans problème.

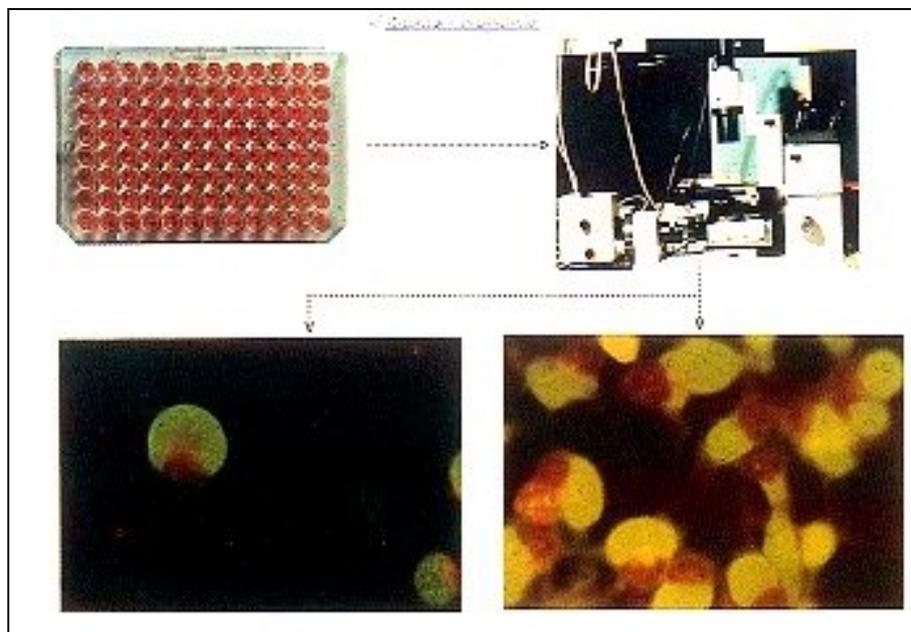
Le principe est simple et consiste à obtenir, sur un support inerte - traité pour la culture de tissus -, une monocouche cellulaire qui forme un tapis uniforme. L'échantillon, est recueilli au niveau du col à l'aide d'un écouvillon inerte (bactopick, dacron, cytobrush). Un prélèvement additionnel au niveau de l'urètre augmente la sensibilité de 23% [44]. L'échantillon est déchargé dans un millilitre d'un milieu liquide de préservation (milieu 2 SP), puis mis en contact avec la couche cellulaire et centrifugé une heure à 2 000 tr/mn, dans une centrifugeuse équipée de nacelles.

Afin de favoriser la multiplication des bactéries, on bloque la multiplication des cellules en rajoutant au milieu de la cycloheximide. Après 48 heures d'incubation on obtient la formation de colonies chlamydiennes appelées « **inclusions** » détectables à l'intérieur des cellules par simple coloration (photo 39).



*Photo 39 : Chlamydia trachomatis: Inclusions colorées par le Giemsa après 48 heures d'incubation; culture, Grossissement x 1000.*

La plus conseillée à ce jour est la détection des inclusions par une technique immunologique à l'aide d'un anticorps monoclonal qui reconnaît un antigène spécifique de l'espèce *trachomatis* (MOMP) et le LPS commun à toutes les espèces de *Chlamydiae* (photo 40).



**Photo 40:** *Chlamydiae* : micro-culture cellulaire; coloration à l'aide d'un anticorps monoclonal anti MOMP. En partant du haut à gauche: plaque de culture contenant les monocouches cellulaires dans les puits ; microscope inversé pour l'observation ; couche cellulaire colorée montrant de nombreuses « inclusions » ; une inclusion isolée.

Si la technique d'isolement a été longtemps considérée comme la méthode de référence, cela est dû à sa très haute spécificité qui approche de 100%. La sensibilité est, en revanche, comprise entre 70 et 90 % seulement ! [45].

#### III.2.2.4- La sérologie

L'utilité de la sérologie au cours des infections dues à *Chlamydia trachomatis* a été très controversée et continue encore aujourd'hui de déchaîner les passions !

Pour certains auteurs, les anticorps de la classe des IgA seraient produits au niveau des muqueuses infectées et leur présence correspondrait à une infection évolutive.

En ce qui concerne les IgG, le taux peut être très élevé ( $> 1/512$ ) et probablement en rapport avec une infection invasive et agressive. Dans ce cas, la quantité croît rapidement et en trois semaines ou un mois le taux sérique est multiplié par quatre ou plus. On parle alors de **séroconversion**.

La reconnaissance de la structure bactérienne par son anticorps spécifique modifie en général le comportement de la bactérie par rapport à sa cible. Certains anticorps sont neutrali-

sants et jouent alors un rôle de défense, alors que d'autres semblent n'être que de simples témoins d'un contact avec la bactérie responsable.

Ainsi par exemple, certaines protéines de la membrane externe des *Chlamydiae* - les adhésines - facilitent la fixation des bactéries aux récepteurs cellulaires et favorisent ainsi l'infection. La présence d'anticorps empêche la fixation et fait avorter l'infection; ces anticorps sont dits neutralisants car ils prennent une part active dans la lutte contre l'infection.

Au contraire, certains d'entre eux, en se liant à l'antigène spécifique vont constituer des complexes qui adhèrent aux cellules épithéliales « facilitant » ainsi l'infection.

D'autres enfin, les « protéases », en se fixant sur les bactéries, vont favoriser leur destruction par une réaction enzymatique en chaîne.

Tous ces anticorps sont difficiles à discerner par de simples réactions de détection (Fixation du complément, Elisa, Immunofluorescence) et c'est précisément là que réside la difficulté d'interprétation des réactions sérologiques au cours d'une infection.

La persistance ou la disparition de ces anticorps peuvent rendre également d'immenses services pour la compréhension de l'évolution de l'infection. La plupart des réactions qui permettent la détection des anticorps anti-*chlamydia* - ELISA, micro-immunofluorescence... - utilisent soit des mélanges d'antigènes extraits des particules purifiées ou encore les particules elles-mêmes immobilisées sur un support. Le résultat obtenu est alors difficilement interprétable en ne donnant qu'une idée globale ou quantitative de la réaction immunitaire mais ne peut en aucun cas s'appliquer à un diagnostic précis.

L'expérience médicale montre qu'un taux élevé d'anticorps ( $IgG \geq 1/256$ ) est souvent associé à une infection agressive, profonde, compliquée. Mais souvent il n'y a aucun rapport entre le titre d'anticorps et la gravité de l'infection.

Certains travaux ont montré que la nature des anticorps détectés pourrait avoir une valeur diagnostique indiscutable bien que cette notion ne fasse pas l'unanimité. Deux points essentiels sont à développer:

### • La notion d'IgA

Les muqueuses sont habituellement les sites les plus exposés aux agressions microbiennes, aussi sont-elles nanties de systèmes de défense propres, parmi lesquels figurent les IgA sécrétoires, constituées d'un dimère d'IgA où chaque molécule est reliée à l'autre par une pièce intermédiaire, elle-même formée par une chaîne polypeptidique J et un composant sécrétoire, provenant d'un précurseur transmembranaire sécrété par les cellules bordantes.

Ces IgA sécrétoires se combinent aux structures responsables de l'adhérence et inhibent ainsi la fixation aux cellules des particules infectantes.

Les muqueuses possèdent, par ailleurs, un système immunitaire local - **le MALT** - qui déclenche, lorsqu'un antigène étranger vient à son contact, un cycle de maturation lymphocytaire à l'issue duquel se produit une migration lymphocytaire dans le stroma qui se trouve ainsi infiltré.

Ces IgA formées « *in situ* » peuvent être détectées quantitativement par des techniques ELISA ou par d'autres techniques avec des sensibilités variables, surtout lorsque cette recherche s'effectue sur des liquides autres que le sérum. Des techniques qualitatives comme le Western Blot, ont souvent une plus grande valeur diagnostique quant à l'âge ou l'évolution de l'infection.

### • A propos des IgM

*Un taux d'anticorps IgM, même très faible, a une grande valeur diagnostique mais les techniques qui permettent cette détection manquent souvent de sensibilité, ce qui rend l'application difficile.*

De nombreuses techniques ont été commercialisées pour la détection des anticorps, elles sont basées sur des méthodes diverses.

Il faut citer parmi les plus utilisées, les techniques ELISA et les techniques d'immunofluorescence, comme les plus reproductibles mais difficilement comparables entre elles.

Une mention toute particulière doit être faite pour les techniques ELISA utilisant des antigènes spécifiques obtenus par génie génétique et qui conviennent particulièrement à la détection des IgA.

Les méthodes basées sur une séparation préalable des antigènes microbiens extraits des particules purifiées doivent retenir plus particulièrement notre attention (Western-blot) et bien que non encore commercialisées, elles sont très prometteuses pour la compréhension de la cinétique des anticorps microbiens au cours d'une infection spécifique (Anticorps P 60).

### III.3- Les mycoses vaginales

**Candida albicans** demeure le **principal pathogène** pour la vulve et le vagin d'un nombre important de femmes. Il semblerait qu'une dépression du système immunitaire local en favorise l'implantation.

En revanche, un bon nombre de femmes apparemment en bonne santé (montrant une flore normale de lactobacilles ) sont également concernées par ces problèmes de mycoses récidivantes, ce qui laisse supposer d'autres mécanismes encore méconnus à l'origine de ces récives (déficience de la flore existante ou autres facteurs favorisants ?).

Hôte commensal habituel du tractus intestinal, essentiellement terminal, il peut profiter de certaines circonstances pour se fixer sur la muqueuse vaginale saine, la pénétrer et jouer un rôle pathogène indiscutable. Il est probable que des facteurs extrinsèques et intrinsèques s'intriquent pour augmenter ou inhiber le rôle pathogène des différentes souches.

Les souches diffèrent entre elles et cette variation peut jouer un rôle dans les nuances du pouvoir pathogène.

Les raisons de la multiplication du nombre de levures dans le vagin, de la formation d'hyphes ou même d'un enchevêtrement mycélien, relèvent probablement de mécanismes complexes intriqués, déjà mentionnés auparavant.

Certains auteurs [46] admettent que la femme saine est porteuse de souches commensales de *Candida albicans* qui pourraient devenir pathogènes à l'occasion d'une modification du terrain.

L'histoire naturelle de la colonisation vaginale, bien qu'ayant fait l'objet de multiples études, demeure encore énigmatique. Certaines de ces études [47] laisseraient à penser que cette colonisation pourrait s'observer pendant plusieurs mois voire plusieurs années.

Il est peu probable que la cavité vaginale soit le siège d'un portage chronique et il est admis que le réservoir serait la région anale et rectale, les levures vivant dans le tube digestif de manière habituelle [48].

Il est évident que la souche responsable provient d'ailleurs, soit d'un partenaire asymptomatique, soit d'un autre site du même sujet.

Plus de 25 % des femmes explorées n'ont pas de *Candida albicans* dans leur vagin, dans ce cas si une infection survient, elle a indubitablement une origine exogène. En revanche, 20 à 25% des femmes asymptomatiques ont, en période d'activité génitale, du *Candida albicans* dans le vagin ou la région vulvo périnéale.

D'autres études ont montré que les souches isolées des vagins de femmes porteuses et celles provenant d'autres sites de l'organisme sont génétiquement distinctes [46].

En revanche, les souches successivement isolées chez des femmes ayant de nombreux épisodes récurrentiels, semblent toujours avoir pour origine la même souche [49].

Dans ce contexte, certaines études, dans lesquelles le partenaire a été traité en même temps, montrent bien que la source de ré-infection n'est pas forcément le partenaire [50].

Ces souches, sensibles in vitro aux anti-mycotiques, peuvent résister à la thérapeutique lorsqu'elles colonisent d'autres endroits de l'organisme.

### **III.3.1- Les agents responsables**

**Plus de 30 % des vaginites sont dues à des levures du genre candida et dans 80 % des cas, il s'agit de Candida albicans (Ca).** Commensal du tube digestif, de la peau et des cavités naturelles de l'homme, Ca est présent chez 5 à 10 % des femmes saines, chez 18 à 23 % des femmes ayant des leucorrhées et chez plus de 30 % des femmes enceintes.

Approximativement , 75 % des femmes ont au cours de leur vie au moins un épisode infectieux dû au Candida albicans. La plupart du temps il s'agit d'une manifestation épisodique, mais un nombre non négligeable souffre de récurrences.

Ces récurrences semblent dues à une ré-infection par d'autres souches ou peut-être à une latence dans les tissus envahis à partir desquels il y aurait un relargage vaginal ultérieur.

Le genre Candida rassemble à ce jour plus de 150 espèces différentes, très répandues dans le monde animal et végétal. Il s'agit d'un champignon dimorphique qui se multiplie, sous la forme levure, par bourgeonnement d'une cellule. A ce stade, on observe des levures arrondies ou ovoïdes isolées. Certaines d'entre elles montrent un bourgeon plus ou moins proéminent (photo 46).

Dans certaines conditions, ces levures ont la possibilité de filamenter et de former soit un pseudo mycélium, soit une véritable texture mycélienne (photos 44 et 49).

Si Candida albicans est le principal pathogène, d'autres espèces peuvent aussi provoquer des désordres identiques au niveau du vagin.

**Ainsi, Candida glabrata** est incriminé dans 9 à 15 % des cas. **Candida tropicalis** dans 15 % des cas.

Et plus rarement, on peut isoler : C. parapsilosis, C. guilliermondii et C. stellatoïdea, C. Krusei...

### **III.3.2- Physiopathogénie de Candida albicans .**

Le début de la maladie correspond à une prolifération des levures dans la cavité vaginale consécutive à un attachement des levures aux cellules vaginales.

Cette prolifération est favorisée par un taux élevé **d'œstrogènes**.

La flore vaginale normale, en règle générale, empêche la colonisation des cellules par candida albicans.

En revanche, sa suppression, liée à une antibiothérapie à large spectre ou à une cause infectieuse, favorise cette colonisation.

L'attachement aux cellules épithéliales est une étape importante dans la pathogénie de la candidose vaginale [55].

Il est rare en effet que la forme levure libre soit associée à une réaction inflammatoire, au contraire de ce qui s'observe lorsqu'il existe des formes mycéliennes [54]. D'ailleurs, le passage de la forme levure à la forme mycélienne précède le début de la symptomatologie clinique.

D'après Helmer et Harold (Understanding Infectious diseases, 1992), l'adhérence de *Candida albicans* et de *Candida tropicalis* est plus importante que pour les autres espèces moins pathogènes [52].

Il a été démontré de même que les formes bourgeonnantes adhèrent 2 à 50 fois plus que la forme levure isolée.

- Le phénomène d'adhérence

La paroi de *Candida albicans* contient en grande majorité des mannanes ou glycoprotéines contenant du mannose qui joueraient le rôle d'adhésines [53].

Les ligands cellulaires à ces adhésines sont probablement les glycoprotéines ou bien les glycolipides membranaires des cellules muqueuses. Il est probable que la fibronectine et la laminine jouent aussi un rôle important [56].

Il existe dans la forme levure comme dans les formes filamenteuses des récepteurs aux « opsonines-complément dépendantes » qui pourraient masquer les ligands aux opsonines et réduire, voire bloquer, la phagocytose des parasites [57].

En revanche, des anticorps de type IgA présents dans les sécrétions vaginales pourraient jouer un rôle protecteur de la muqueuse au moment de la colonisation des surfaces muqueuses.

Dès lors, l'immunité locale semble jouer un rôle bien plus important que l'immunité humorale, dans la défense contre l'agresseur [58].

Il n'est pas rare en effet, d'observer des candidoses vaginales et même des récurrences fréquentes, chez des patientes qui ont dans leur sérum des IgG anti *Candida albicans*, même à des taux élevés.

Les mannanes de *Candida albicans* peuvent, soit stimuler, soit supprimer l'immunité à médiation cellulaire et jouer ainsi un rôle important dans la fréquence des récurrences [55].

Dans certaines conditions, le mycélium peut envahir les tissus sous-jacents, en produisant une **intense réaction inflammatoire et des ulcérations** (photo 42).

Ce mécanisme relèverait d'un processus enzymatique, dû à la présence de phospholipases et de carboxyprotéases, associé à un processus mécanique de « forcing » [59].

### III.3.3- L'aspect clinique

La **candidose vaginale** dans sa forme **classique** (photo 41) se présente essentiellement comme une **vulvo vaginite** associant :

- un **prurit vulvaire et vaginal**,
- un **érythème muqueux**
- une **sécrétion vaginale épaisse plus ou moins caillabottée, adhérent à la muqueuse en paquets grumeleux.**

Il n'est pas rare d'observer dans les formes suraiguës des **ulcérations** (photo 42) associées à une sensation de brûlure insupportable. Il est important de noter : **l'aspect de l'urètre et de rechercher un écoulement** révélateur d'une **urétrite associée** ou d'une **réaction inflammatoire locale externe** qui rend compte de l'ampleur pathologique.

**L'aspect de la cavité vaginale**, explorée à l'aide d'un spéculum **non lubrifié** à usage unique, introduit jusqu'au fond de la cavité. L'ouverture doit se faire avec douceur de façon à dégager la partie vaginale du col dont on essaie de centrer l'orifice externe. Les valves repoussent le plancher et le plafond de la cavité, laissant les **faces latérales dégagées** dont on notera la couleur, l'intensité de l'œdème, l'aspect et l'abondance des sécrétions.

- **L'aspect du col** où l'on recherchera l'existence d'un **ectropion**, qui pourrait expliquer la présence de polynucléaires dans les sécrétions, parfois abondants et souvent isolés mais aussi de lésions éventuelles.

Si la **glaière cervicale** est abondante, il est nécessaire de la préciser et d'en apprécier



*Photo 42 : Mycose vaginale avec ulcérations multiples.*

la consistance et la transparence, puis on l'écartera à l'aide d'un tampon de coton stérile.

**L'aspect de la vulve** peut révéler un **érythème vulvite** : (photo 43) ou des lésions qui parfois, si elles sont isolées, peuvent poser un problème de diagnostic différentiel (tréponème, ducrey, herpès...).

Le **pH vaginal** sera mesuré à la **bandelette** de papier dans la gamme de 4,5 à 7,5 ou de 4 à 6.

C'est après cet examen attentif des muqueuses que les prélèvements seront effectués pour l'étude bactériologique.

#### **III.3.4- Le diagnostic de candidose vaginale**

Une parcelle de sécrétions prélevée sur les faces latérales du vagin à l'aide d'un écouvillon, est étalée sur deux lames de verre propre.



**Photo 43** : Vulvite mycosique.

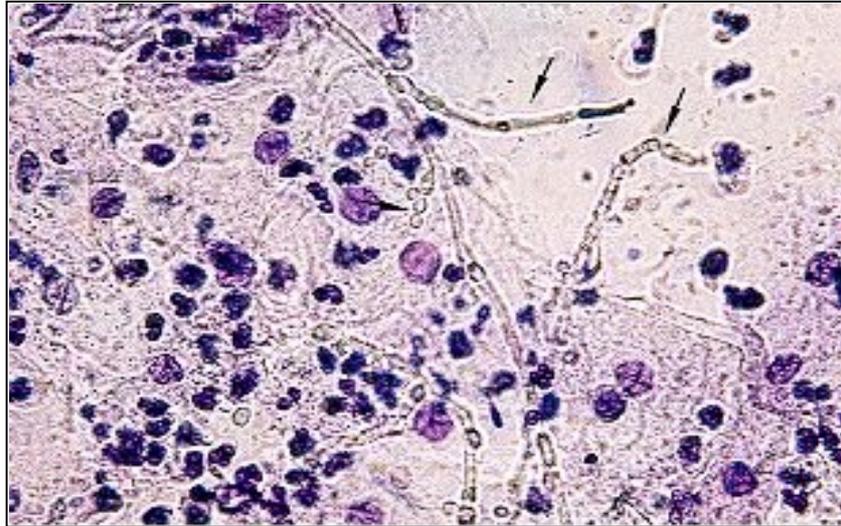
Avec le même écouvillon, une portion importante de sécrétions est à nouveau recueillie puis étalée à la surface d'un milieu solide de Sabouraud. Le reste de l'écouvillon est plongé dans un tube étroit contenant 2 ml de milieu de Roiron en exprimant l'écouvillon sur les parois du tube.

Enfin, une öse de sécrétions est recueillie à l'aide d'anses en plastique à usage unique et émulsionnée dans une goutte de sérum physiologique déposée sur une lame de verre porte-objet. De la même façon, on prélève une autre parcelle que l'on émulsionne dans une goutte de KOH à 10 % dans l'eau distillée.

Les deux émulsions sont recouvertes d'une lamelle couvre-objet.

Elles sont observées au microscope optique binoculaire équipé d'un objectif 40 X et d'oculaires 10 X.

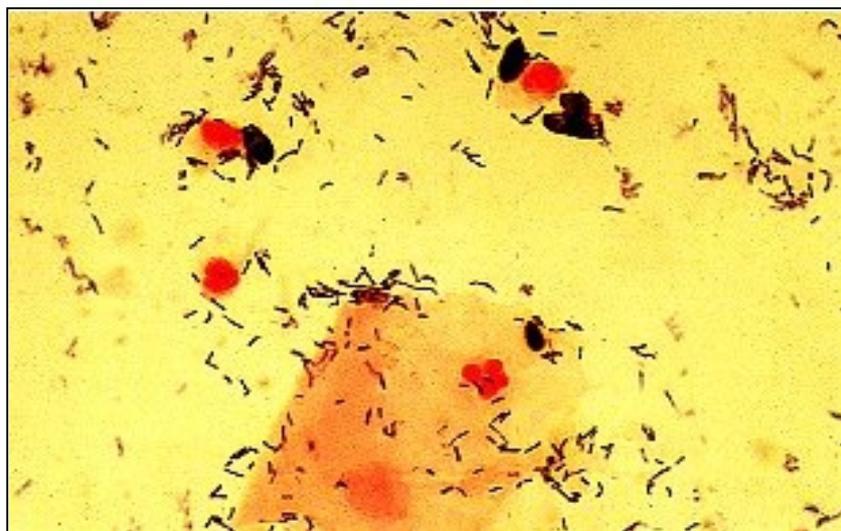
En présence de candidose vaginale, on observera des cellules épithéliales souvent abondantes, de nombreux polynucléaires en amas et en traînées (photo 44).



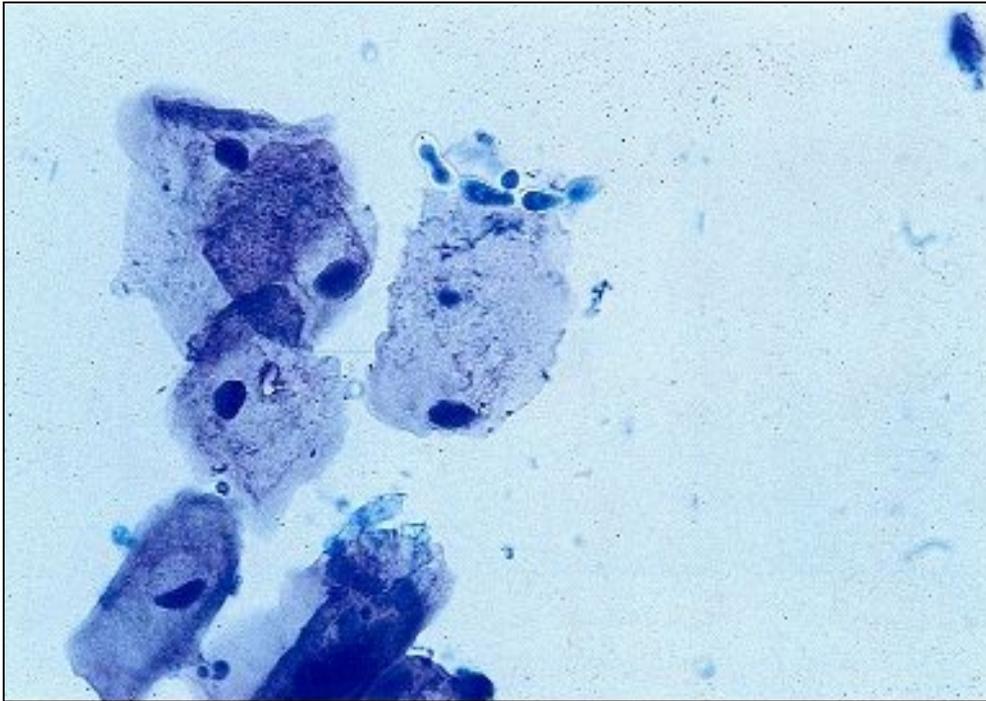
**Photo 44 :** Examen à « l'état frais d'une mycose vaginale : nombreux polynucléaires  
Et des cellules Malpighiennes, filaments mycéliens.

Les levures ovoïdes, ont une dimension de 3 ou 5µm (↓)

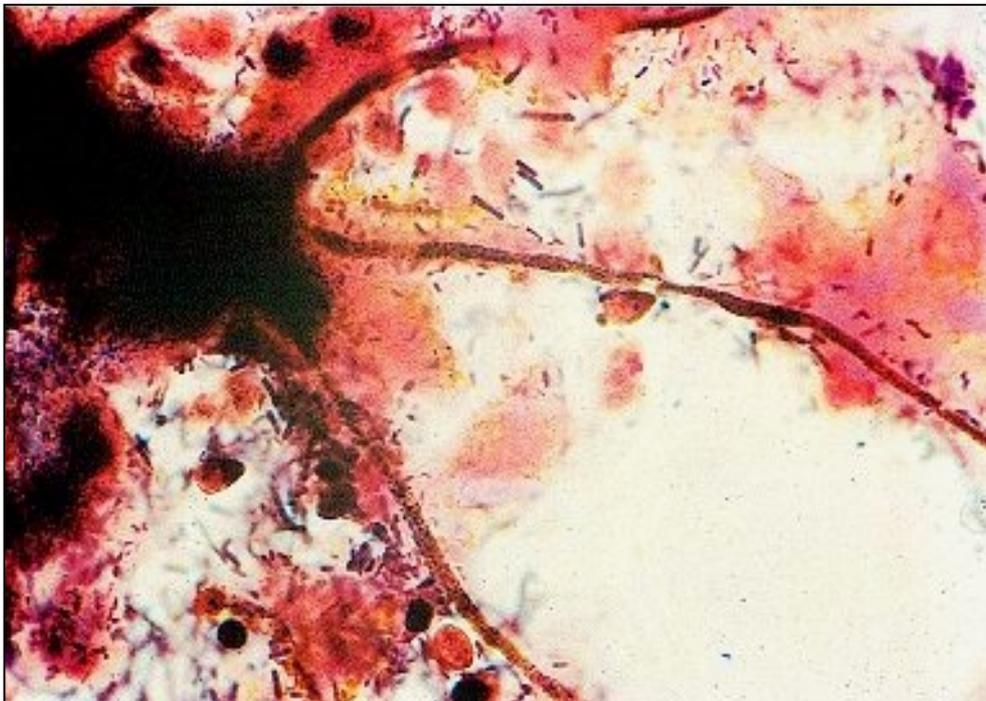
Il n'est pas rare d'observer des formes bourgeonnantes ainsi que des filaments mycéliens. La potasse lyse les cellules et permet de mieux voir les « levures » qui pourraient être confondues avec des hématies. La coloration de Gram confirme de diagnostic de mycose vaginale en montrant les levures, soit isolées (photos 45 et 46), soit uniquement des filaments mycéliens - dans les mycoses aiguës agressives - (photos 47 et 48), soit le plus souvent, un mélange des deux formes visibles du parasite : Levures en amas et filaments mycéliens (photo 49). D'autres méthodes de coloration ont été proposées mais elles sont souvent plus longues et n'apportent rien de plus au diagnostic (photo 50).



**Photo 45 :** Frottis de sécrétions vaginales : Coloration de Gram ; 4 polynucléaires, une cellule  
épithéliale, de nombreux lactobacilles, 5 levures prenant « fortement » le Gram ;  
Grossissement x 250.



*Photo 46 : Frottis de sécrétions vaginales ; Coloration de Gram : nombreuses cellules Malpighiennes ; à 12 heures un amas de levures isolées.*



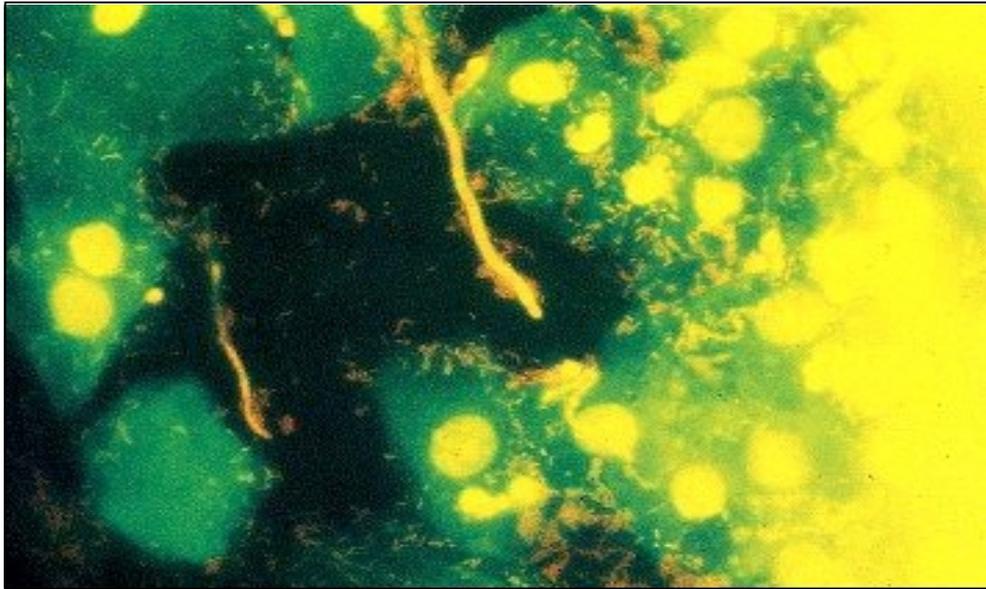
*Photo 47 : Frottis de sécrétions vaginales : Coloration de Gram : polynucléaires peu nombreux, flore lactobacillaire, nombreux filaments mycéliens.*



*Photo 48 : Frottis de sécrétions vaginales: Coloration de Gram : polynucléaires peu nombreux, flore lactobacillaire, un filament mycélien fortement coloré.*

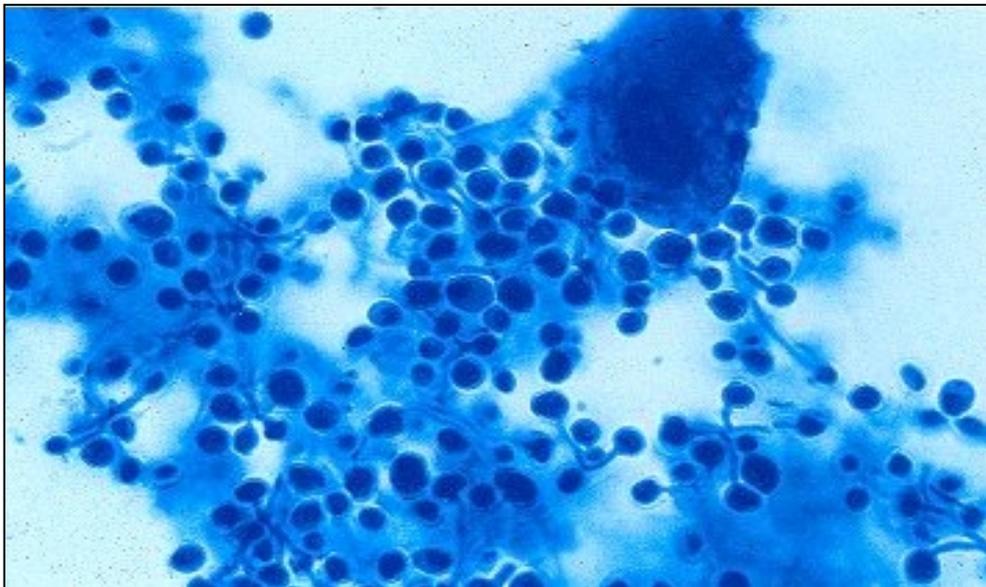


*Photo 49 : Frottis de sécrétions vaginales ; coloration de Gram : rares polynucléaires, nombreuses levures et filaments mycéliens fortement colorés, flore à Gram négatif.*



**Photo 50** : Frottis de sécrétions vaginales; Coloration à l'acridine-orange : cellules épithéliales, nombreux polynucléaires, deux filaments mycéliens, quelques levures, flore abondante.

L'observation des formes bourgeonnantes et de la filamentation précoce dans le milieu liquide de Roiron ( contenant du sérum) s'observe rapidement pour candida albicans (photo 51) . Certaines souches de candida stellatoïdea filamentent aussi dans ces milieux et comme pour l'espèce albicans, elles produisent aussi des chlamydozoïdes dans les milieux appropriés (milieu PCB par exemple ).



**Photo 51** : Levures incubées en milieu de Roiron après 24 heures d'incubation : tubes germinatifs et nombreuses levures.

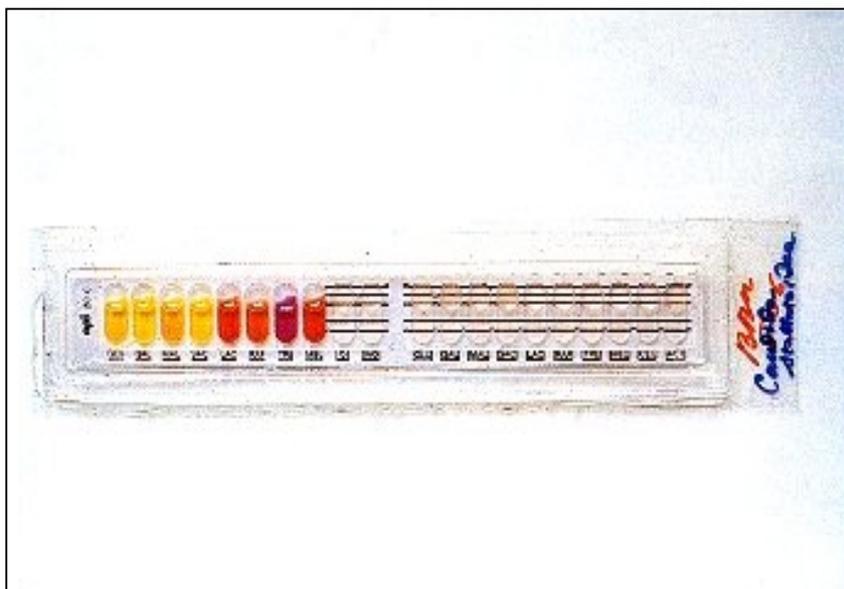
La filamentation s'observe aisément sur le milieu au riz - Tween 80 par exemple.

Ces critères en général suffisent pour faire le diagnostic de *Candida albicans*. Lorsque le direct est positif (1/3 des cas environ), le nombre de colonies en Sabouraud est très élevé (photo 52).



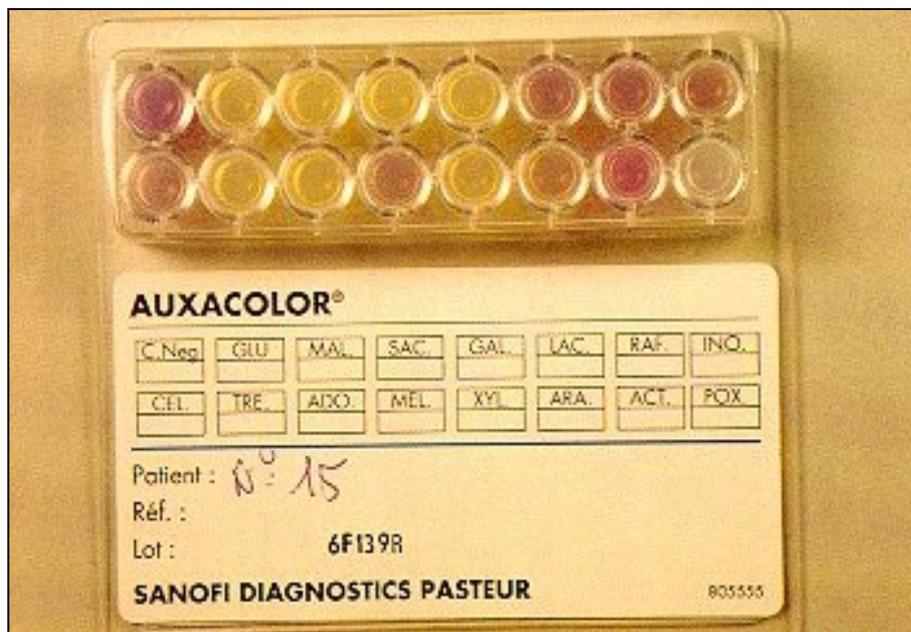
**Photo 52 :** Nombreuses colonies de *Candida albicans* sur Gélose au sang, en bas et sur Sabouraud en haut: Colonies grasses sur Sabouraud, mates et étoilées sur gélose au sang.

Dans les cas litigieux où ces critères ne sont pas réunis, on peut recourir à l'étude des caractères biochimiques et à l'étude de l'assimilation des sucres (auxanogramme : Api20C) (photo 53).



**Photo 53 :** Zymogramme-Auxanogramme « Api » : *Candida stellatoïdea*.

Des galeries de type auxacolor (Sanofi Pasteur) par exemple, réunissent ces examens complémentaires dont le profil obtenu permet de rattacher la souche isolée à une douzaine d'espèces de candida communément rencontrées en pathologie humaine (photo 54).



**Photo 54 :** Galerie d'identification « Auxacolor » Sanofi) : *Candida albicans*.

La constitution antigénique de *Candida albicans* est complexe et variable en fonction des milieux utilisés et des conditions de culture mais le groupe antigénique le plus important est le complexe peptido-gluco-mannane, oligosucres unis à un peptide qui représente 10 % du poids total du mannane par une liaison N-Acétyl D glucosamine.

La grande majorité des antigènes protéiques sont situés dans le cytoplasme. Ils sont plus spécifiques et coexistent à la fois dans les formes levures et les formes filamenteuses.

### **III.3.5- Le traitement**

Le choix du traitement doit tenir compte de la gravité de l'infection, de sa complexité, de l'adhésion du patient, du coût médicamenteux et de la pharmacologie des médicaments.

#### **a) La gravité de l'infection et sa complexité**

Le traitement doit être adapté à la gravité de l'infection. Il est évident qu'un épisode fortuit, même aigu de candidose vaginale ne sera pas traité de la même façon que la maladie can-

didasique avec ses fréquentes récurrences qui empoisonnent la vie de la patiente, du partenaire... et du médecin !

La durée du traitement et l'opportunité d'une « dose unique » seront essentiellement dépendantes du désir et de l'activité de la patiente dans le cas d'une **vaginite aiguë**.

Dans le cas des **vaginites récidivantes** (au moins 4 épisodes de vaginite dans l'année qui a précédé), il est nécessaire de préciser qu'il s'agit d'épisodes mycosiques seuls. On s'assurera donc qu'il n'existe pas d'autres infections génitales concomitantes et on éliminera aussi toute autre cause iatrogène possible.

Il n'est pas forcément nécessaire de prolonger le traitement au-delà de sept jours mais, ce qui est important, c'est de prévenir la patiente qu'il faudra qu'elle ait toujours des médicaments à l'avance pour se traiter dès les premières manifestations cliniques. L'attitude pratique peut aller jusqu'à la prophylaxie systématique selon des critères bien connus des patientes.

Dans ces cas, une thérapeutique orale peut consolider un traitement local (ovules, crèmes, gels, comprimés gynécologiques...) du même produit ou d'un produit différent.

Un traitement prophylactique peut même être proposé chez ces patientes en cas de traitement antibiotique à large spectre, prolongé, prescrit pour une toute autre cause.

#### ***b) « L'adhésion » du patient***

L'expérience prouve que de plus en plus, les patientes abandonnent plus ou moins rapidement les traitements longs, particulièrement les antifongiques qui souvent sont fortement colorés. Cela conduit évidemment à des **échecs thérapeutiques** avec récurrence immédiate, par relargage vaginal de levures quiescentes.

Des traitements courts sont de plus en plus réclamés et prescrits, bien que l'efficacité réelle de ces traitements en pathologie vaginale méritent encore une confirmation par des études scientifiquement définies.

De nombreuses études partielles [60, 61, 62, 63] ont montré une égale efficacité des traitements courts (trois jours au lieu de sept jours).

De même, le conditionnement n'a pas montré de différence significative dans le résultat thérapeutique (ovules ou crèmes [66]). S'il ne semble pas exister de différence dans l'efficacité thérapeutique avec les traitements courts de trois jours, avec des taux de guérison pouvant atteindre voire dépasser 90 %, en revanche des traitements plus courts (dose unique) doivent être considérés avec beaucoup plus de prudence et d'esprit critique [64].

### c) *Le coût*

Le coût du traitement doit également être pris en considération. Il est bon de rappeler que **ce qui coûte le plus cher, c'est l'échec thérapeutique dû à un traitement inadéquat, par insuffisance diagnostique.**

**Un diagnostic correct minimise le coût global du fait de l'application d'une thérapeutique appropriée.**

**Ne pas oublier qu'une antibiothérapie à large spectre prolongée, peut favoriser la surinfection par *Candida albicans* ce qui alourdit la prise en charge de la patiente,**

- **que la grossesse** interfère aussi dans l'efficacité du traitement.

En revanche, si le traitement systématique des partenaires des femmes ayant un épisode fortuit ne semble pas nécessaire, il s'impose dans le cas des récurrences bien que cela ne fasse pas l'unanimité des auteurs !



### d) *La pharmacologie des médicaments*

Le traitement des mycoses superficielles à *Candida albicans* relève aujourd'hui essentiellement des dérivés azotés. Ils sont en général bien supportés et ils peuvent être administrés en comprimés per os et/ou en topiques (crèmes, ovules, comprimés gynécologiques, gels).

Ils agissent en bloquant la synthèse de l'Ergostérol (l'équivalent fongique du cholestérol humain) produisant ainsi des lésions dans la paroi du champignon. Dans ces conditions, le système immunitaire local vient aisément à bout des cellules lésées et des blastopores quiescentes.

L'effet fongistatique devient fongicide à doses élevées. Cette inhibition se fait par le biais de la cytochrome oxydase P450 avec laquelle ces produits se lient. Moins dépendants de cette voie métabolique, *C. tropicalis* et *C. guilliermondii* sont moins sensibles aux dérivés imidazolés.

On trouvera en annexe la liste des produits disponibles dans la série. Les derniers-nés, triazolés (Itraconazole et Fluconazole, Perconazole, Vibunazole ) ont des demi-vies plus élevées que les imidazolés (Ketoconazole et précédents). De plus, le Fluconazole, hydrosoluble, se lie peu aux protéines plasmatiques et a une demi-vie de 24 heures avec un plateau atteint sur 4-5 jours atteignant des pics de 3 à 6 µg dans le LCR, ce qui en fait un excellent médicament pour les mycoses systémiques. Il peut être donné d'ailleurs par voie intraveineuse.

Le traitement par les polyènes (Nystatine) est souvent bien toléré et d'un coût très abordable mais les taux de guérison à long terme et même à court terme sont très inférieurs à ceux des Imidazolés [65,66]. Par contre, son association aux imidazolés topiques, semble

donner de meilleurs résultats dans les récurrences, peut-être en agissant sur le réservoir digestif.

Nous renvoyons aux annexes 1 et 2 pour les schémas thérapeutiques proposés dans les différents cas

Eschenbach, in Vaginitis and vaginosis (1991), fait état de l'efficacité non négligeable de l'acide borique en comprimés gynécologiques 600 mg deux fois par jour durant 14 jours [67]. Bien qu'il n'ait pas été détecté d'ion borique dans le sang des patientes traitées, cette approche est à déconseiller chez la femme enceinte, compte tenu de la plus grande absorption vaginale.

### III. 4- Vaginites à trichomonas vaginalis ( Tv)

#### III.4.1- L'agent causal

Décrit par Dieudonné il y a plus de 100 ans, il a été sûrement l'un des premiers pathogènes humains, décrits.

Il s'agit d'un protiste eucaryote flagellé du groupe Mastigophora (Protozoaires).

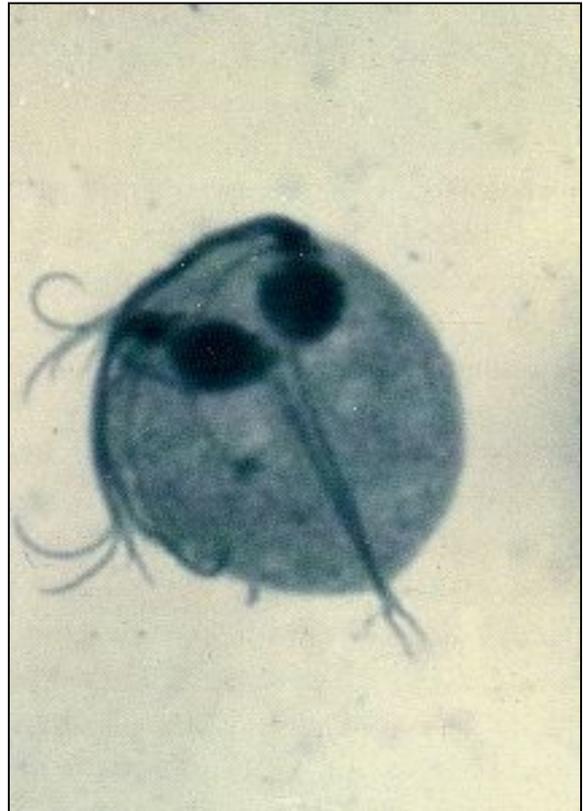
Doté de très faibles possibilités de synthèse, c'est un parasite hautement adapté à l'être humain.

Bien qu'isolé en milieu défini axénique en 1940, les milieux de culture sont souvent très complexes et d'un coût élevé.

Le parasite possède un métabolisme fermentatif, au cours duquel se dégage de l'hydrogène, ce qui le rapproche des micro-organismes anaérobies stricts. Ce métabolisme est dû en partie à l'ultrastructure cellulaire, particulière, du parasite qui possède des organites appelés hydrogénosomes; en revanche, il est dépourvu de mitochondries [68]. Il se reproduit par fission binaire.

Le milieu le plus favorable à son développement est la cavité vaginale bien qu'on puisse l'isoler sur d'autres sites génitaux (urètre, col) et extragénitaux (poumons, pharynx, abcès, etc...).

Il existe d'autres espèces qui colonisent l'homme, qui sont incapables de



**Photo 55 :** *Trichomonas vaginalis* en cours de division : On notera les 2 noyaux, le double axostyle et les deux touffes de 4 flagelles antérieurs, résultant du phénomène de division.

provoquer une infection génitale: **pentatrichomonas hominis** (intestinal), **trichomonas tenax** (bouche).

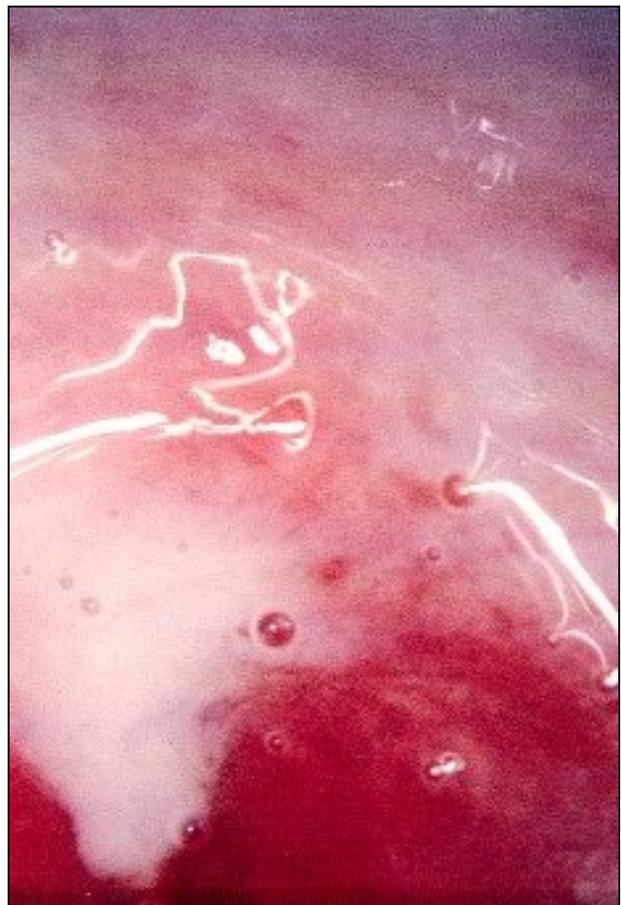
Leur morphologie en microscopie électronique est d'ailleurs très différente ainsi que leurs exigences nutritives.

Le pouvoir pathogène des parasites relèverait de sa faculté d'attachement aux cellules épithéliales de la cavité vaginale. De nombreuses études ont montré les modifications cellulaires qui s'observent à la fois dans le parasite (multiplication des microtubules dans la zone proche de l'attache) et du côté de la cellule-hôte (prolongements dendritiques de la membrane cellulaire) [69].

Il est probable que cet attachement aux cellules hôtes conditionne les profondes modifications observées au cours de la trichomonase humaine. Sous l'effet de protéases [70,71], il se produit une cytotoxicité responsable des manifestations cliniques observées.

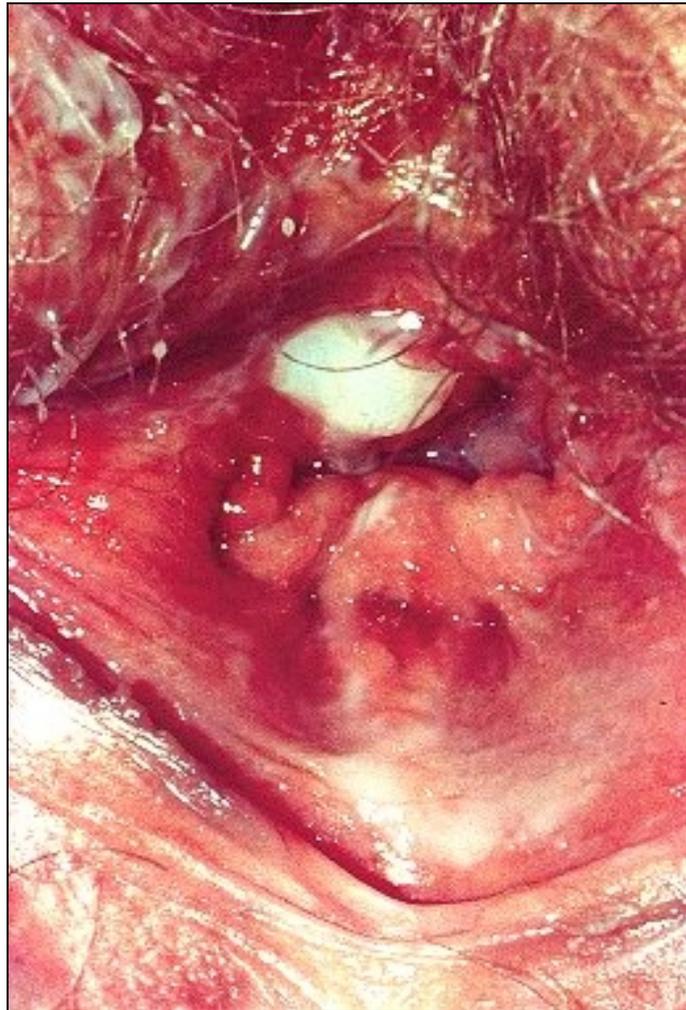
### **III.4.2- L'aspect clinique**

5 à 30 jours après un contact contaminant, l'infection se manifeste par une vulvovaginite s'accompagnant d'un prurit intense (dans 50% des cas), de dysurie et d'une importante augmentation des sécrétions vaginales. Une dyspareunémie peut être associée à la dysurie. Les leucorrhées peuvent varier en quantité et en aspect. Elles peuvent être minimales ou au contraire très abondantes et dans ce cas, elles dominent le tableau clinique; elles prennent volontiers un aspect moussant (photo 56). Elles peuvent être blanchâtres ou verdâtres, malodorantes ou pas. La sévérité de la symptomatologie varie d'une patiente à une autre. Comme dans le cas des candidoses vaginales, la vulve peut montrer un érythème, avec des ulcérations ou plutôt des excoriations. La sécrétion purulente peut s'observer au niveau de la vulve. Ces leucorrhées sont présentes dans 50 à 80 % des cas. Environ 25 % des femmes infectées par TV sont asymptomatiques et environ 1/3 d'entre elles développent des



**Photo 56 :** *Vaginite à Trichomonas vaginalis :*  
*On notera l'abondance*  
*et l'aspect « moussant » des sécrétions.*

signes de vaginite dans les mois qui suivent et la gravité de l'infection peut varier au cours de l'évolution ce qui prouve que des facteurs liés à l'hôte interfèrent (photo 57).



*Photo 57: Leucorrhées discrètes au cours d'une infection à Trichomonas vaginalis.*

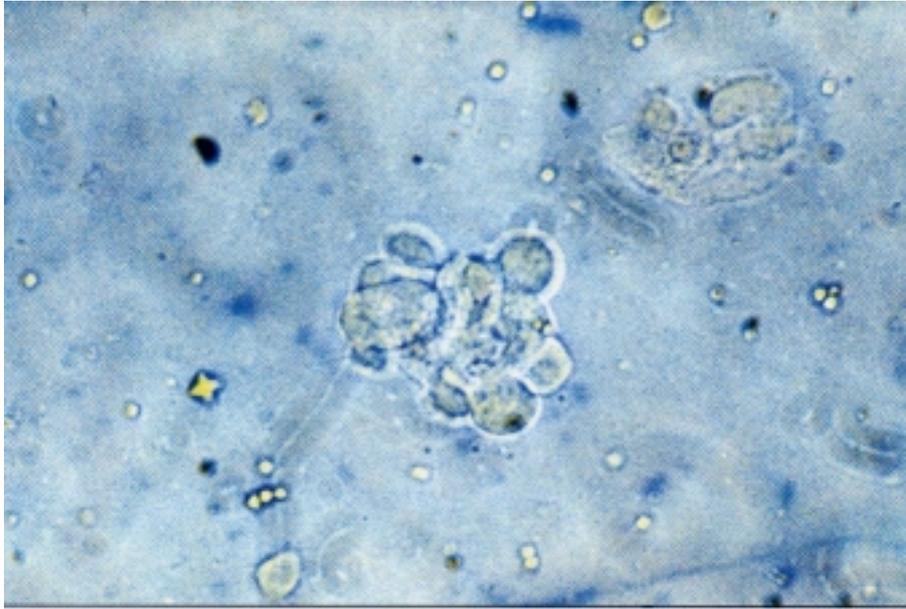
Le parasite est sexuellement transmissible mais le partenaire masculin est rarement symptomatique.

### **III.4.3- Le diagnostic**

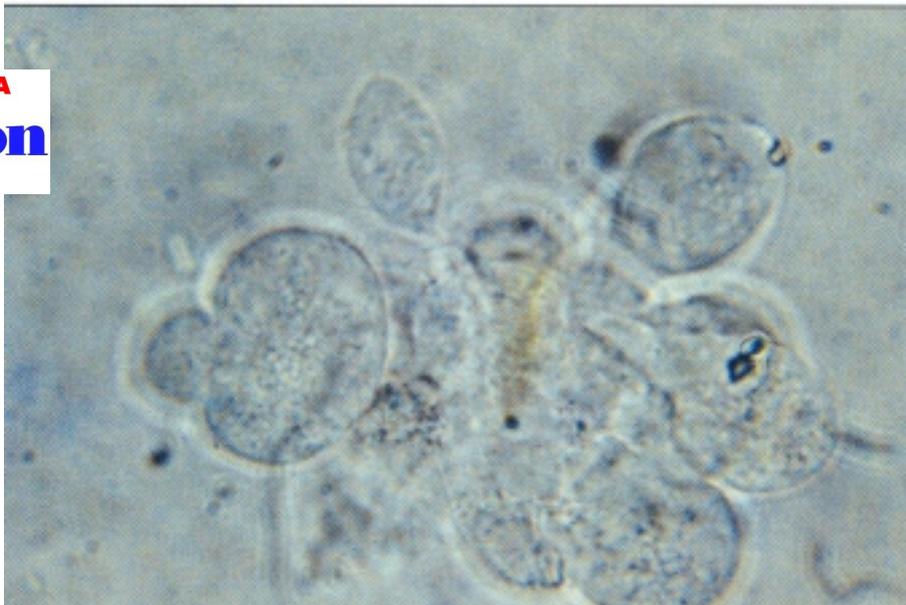
La présence de TV dans la cavité vaginale s'accompagne souvent, particulièrement chez les femmes symptomatiques, d'une **forte réaction inflammatoire**.

#### *III.4.3.1- Examen direct*

Le parasite peut être observé en examinant entre lame et lamelle une goutte de la sécrétion vaginale au microscope optique normal (photo 58), condenseur diaphragmé, objectif 25 x, oculaire 10 x, ou au microscope à contraste de phase (photo 59). Il est parfaitement reconnaissable à ses mouvements saccadés dûs aux contractions de sa membrane ondulante. Il se déplace grâce à 4 flagelles antérieurs libres (photo 55).



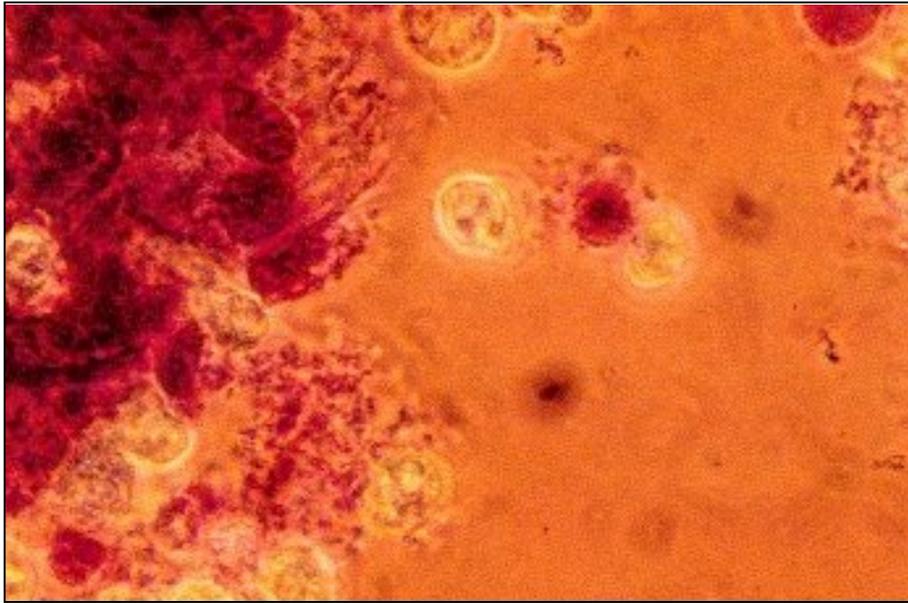
*Photo 58 : Infection à Trichomonas vaginalis ; état frais : cellules épithéliales, polynucléaires, au centre un amas de parasites mobiles*



CAHIER DE **BIOFORMA**  
**Formation**  
version numérique

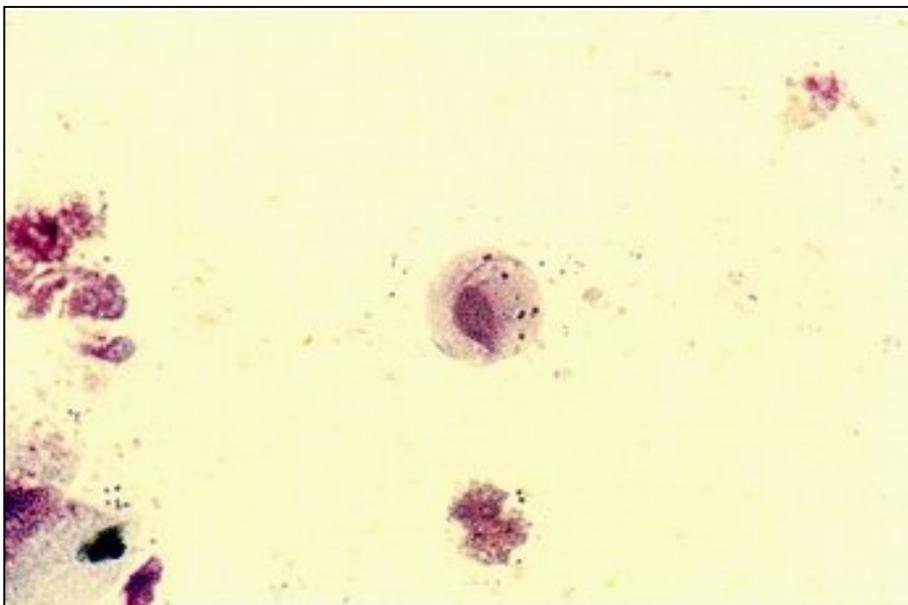
*Photo 59 : Amas de Trichomonas en « contraste de phase » : grossissement x 400.*

L'observation microscopique directe dans une goutte de solution de bleu crésyl à 0.5 %, donne une réfringence particulière au parasite vivant qui permet de le repérer facilement sous le microscope, grâce à ses mouvements saccadés (photo 60). **Il faut se méfier des formes immobiles car une proportion non négligeable de polynucléaires ne prend pas le bleu crésyl et ils apparaissent également réfringents et risquent de donner à tort une image faussement positive!** C'est la raison pour laquelle un examen direct, où les mouvements caractéristiques du parasite ne sont pas franchement observés, doit être vérifié par une technique de coloration classique. Rappelons que l'on ne connaît pas de forme kystique à Trichomonas vaginalis.



**Photo 60** : Sécrétion vaginale observée à « l'état frais » dans une goutte de bleu crésyl à 0.5% : *Trichomonas vaginalis*, polynucléaires et cellules épithéliales.

La sensibilité de l'examen direct dépasse 80 % chez la femme symptomatique, elle est très nettement diminuée chez la femme asymptomatique et plus encore chez le partenaire masculin où les formes immobiles, arrondies, en souffrance sont la règle (photo 61).

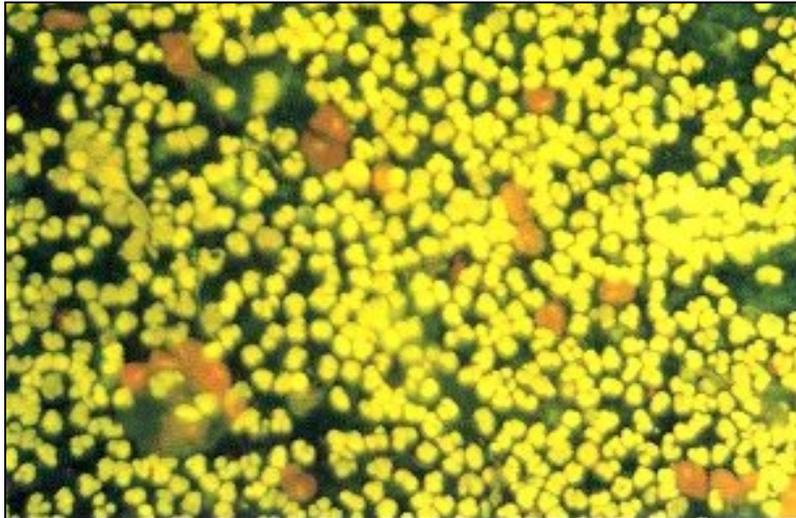


**Photo 61** : Forme altérée de *Trichomonas vaginalis* :  
Coloration de May Grunwald Giemsa (BBL 555)

Toutefois, ces formes apparemment en souffrance, sont souvent méconnues, mal observées et peuvent être une source de recontamination par les formes végétatives existant réellement. D'où l'intérêt de traiter concomitamment les partenaires.

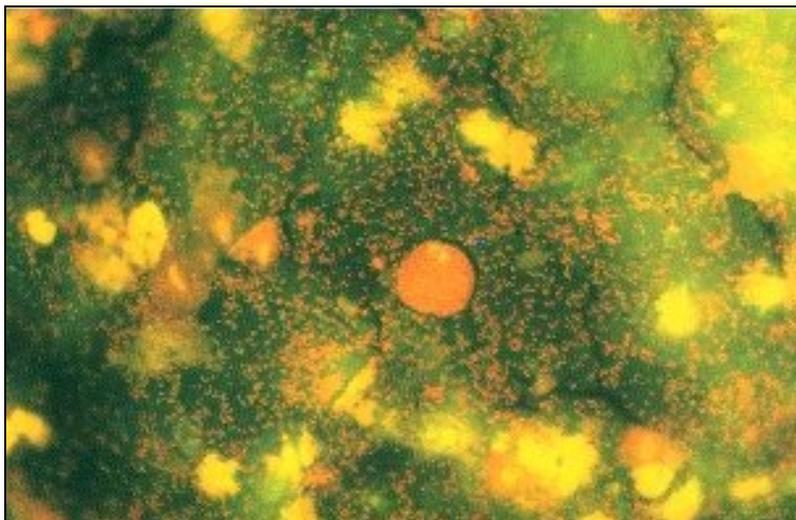
L'étalement d'une goutte de sécrétion sur une lame propre et dégraissée permet de réaliser des colorations, plus sensibles pour mettre en évidence le parasite. Les plus classiquement utilisées sont :

- **Coloration à l'orangé d'Acridine** : A pH 3,8 (tampon de Me Ilvaine), le DNA et le RNA cellulaires ont une coloration différente. Le parasite est coloré en rouge orangé dans son cytoplasme; alors que le noyau apparaît jaune paille (photo 62).



**Photo 62** : Frottis de sécrétion vaginale à *Trichomonas vaginalis*, Coloration « Acridine – Orange » ; Grossissement x 200.  
On notera l'importance de la réaction inflammatoire.

De plus, le rapport nucléo-cytoplasmique est très faible et contraste avec les cellules inflammatoires voisines ( photo 63).



**Photo 63** : Même type de sécrétion coloré par l'Orangé d'acridine ; Grossissement x 400.  
On notera l'abondance de la flore microbienne.

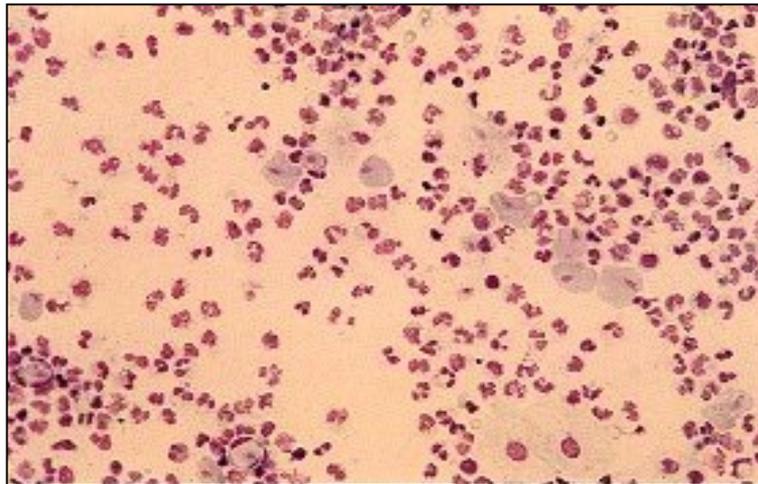
Cette coloration facile à réaliser et rapide (7 mn) est un adjuvant précieux au diagnostic de Tv ; elle nécessite toutefois un microscope à fluorescence. Sa sensibilité est supérieure à l'état frais et aux autres colorations.

• **Coloration de Giemsa ( BBL 555)**

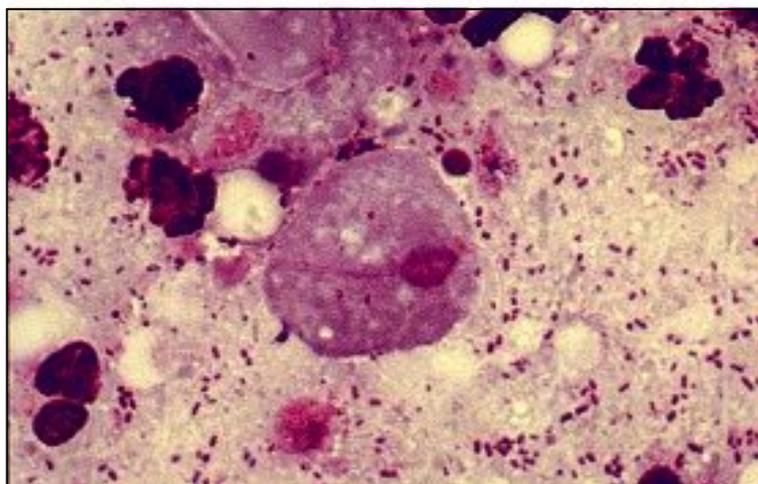
Le frottis étalé est fixé dans le flacon fixateur pendant 30 secondes puis essoré verticalement sur une feuille de papier filtre et trempé immédiatement dans le flacon d'éosine (30 secondes); après essorage, la lame est trempée dans le flacon contenant la solution de bleu de méthylène également pendant 30 secondes.

Après lavage à l'eau du robinet , la lame est séchée puis observée à l'immersion au microscope optique.

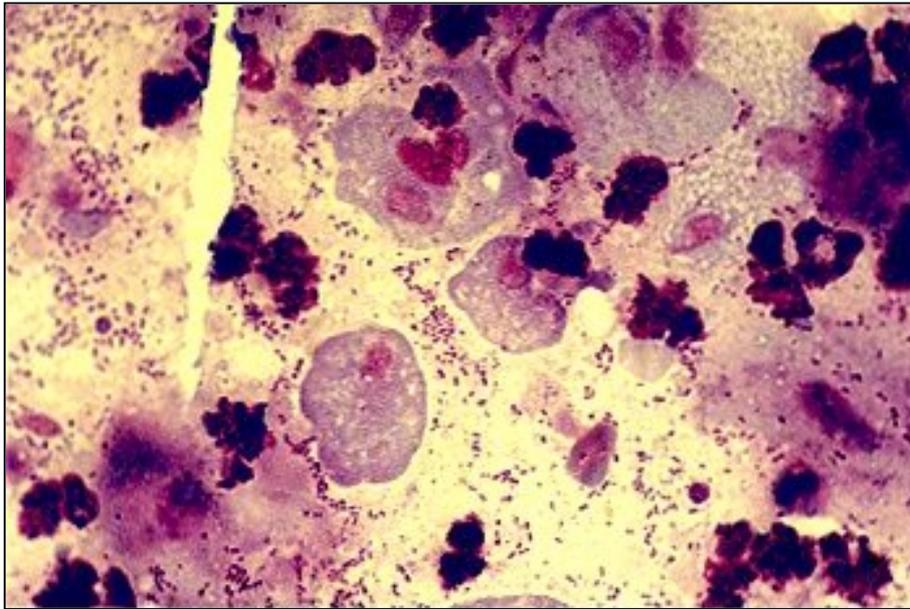
Le parasite est coloré en bleu (cytoplasme : photo 64) souvent vacuolisé (photo 65), le noyau rouge violet apparaît souvent décentré (photo 66). Le blépharoplaste et l'axostyle



**Photo 64** : Vaginite à *Trichomonas* ; Coloration BBL 555; Grossissement x 200.



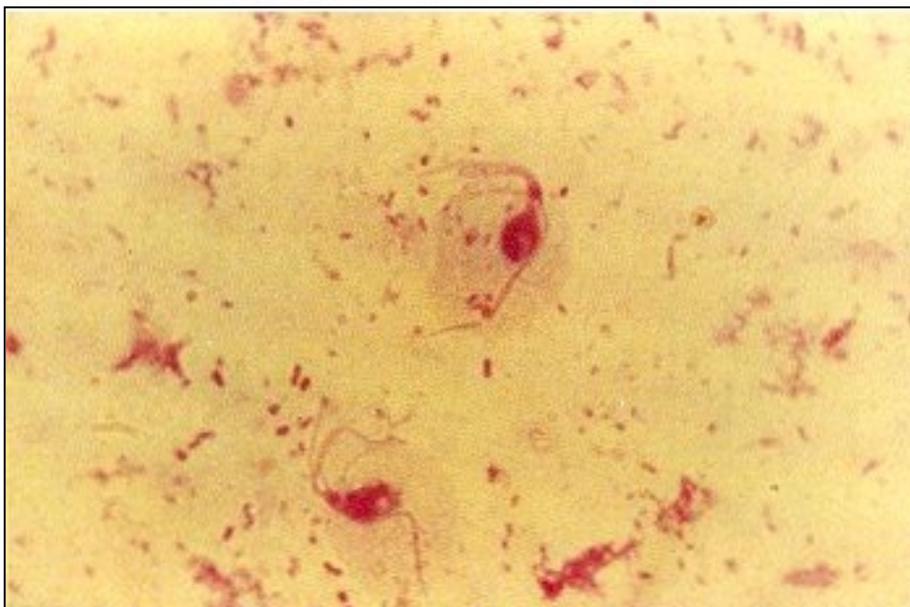
**Photo 65** : Vaginite à *Trichomonas vaginalis* ; Coloration BBL 555;  
Grossissement x 400 immersion



**Photo 66** : Vaginite à *Trichomonas vaginalis*; Coloration BBL 555; Grossissement x 400.

(appareil locomoteur d'orientation) colorés en rouge sont caractéristiques du parasite. Il n'est pas rare de trouver des formes cellulaires incomplètes. L'aspect amaeboïde du parasite et la basophilie particulière de son cytoplasme, surtout en périphérie, assurent le diagnostic.

Dans les formes végétatives libres, les flagelles et la membrane ondulante issus du blépharoplaste sont clairement observés, parfois même à la coloration de Gram, bien que ce type de coloration ne convienne pas au diagnostic d'infection à « **Trichomonas vaginalis** » (photo 67).



**Photo 67** : Vaginite à *Trichomonas vaginalis* : une curiosité à la coloration de Gram (G. Durel, collection du Professeur A. Siboulet).

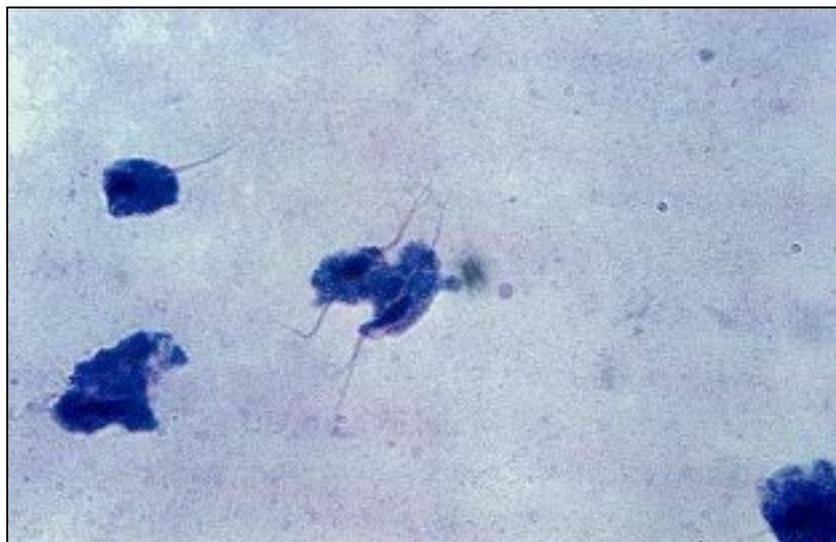
### III.4.3.2- La culture

Le parasite se cultive bien, sur des milieux définis contenant des vitamines et des aminoacides. L'addition de faibles quantités de gélose (0,25 %) permet au parasite d'y adhérer ce qui lui assure une meilleure survie.

Le milieu complexe de Roiron distribué en tubes étroits, (photo 68) convient parfaitement, le Tv survit trois ou quatre jours. L'addition d'antibiotiques permet d'éliminer au mieux la flore qui, souvent accompagne l'infection à trichomonas vaginalis. Le parasite sédimente au fond du tube où il constitue un bouton blanc nacré, qu'il faudra aspirer à la pipette pour les repiquages et l'observation microscopique (photo 69).



**Photo 68:** Deux tubes contenant du milieu de Roiron pour la culture de *Trichomonas vaginalis*: le rapport Volume/Surface est très important pour le succès de la culture.



**Photo 69:** Culture de *Trichomonas vaginalis* en milieu de Roiron : Coloration May Grundwald Giemsa

il n'existe pas de **modèle animal** qui reproduise la maladie humaine et, les milieux de cultures, pour autant qu'ils permettent la multiplication du parasite, ne peuvent refléter la physiologie qu'il possède *in vivo*.

Certaines souches provoquent chez la souris, des abcès sous-cutanés et une péritonite purulente lorsqu'elles sont injectées par voie intra-péritonéale. On retrouve, dans le pus, le parasite que l'on peut cultiver et colorer.

#### **III.4.4- Le traitement**

Durant de nombreuses années, le traitement de la trichomonase a posé un grave problème qui a été résolu avec l'avènement du Métronidazole en 1960.

D'autres dérivés (tinidazole, secnidazole) ayant des demi-vies plus longues ont permis de compléter cette thérapeutique efficace. La prise orale de ces médicaments fournit un taux sérique très largement efficace pour tuer la totalité des parasites.

Le traitement en dose unique de 2 g de métronidazole fournit un taux supérieur à 20 mg/l de produit pendant au moins six heures, temps largement suffisant pour tuer la totalité des parasites.

La prise orale de 1 g trois fois dans la journée maintient des taux cumulés qui dépassent 30 mg/l pendant 48 heures. Le traitement recommandé par l'OMS est une prise unique de 2 g per os.

En cas d'échec, des doses de 500 mg deux fois par jour peuvent être préférées et associées à un comprimé gynécologique deux fois par jour pendant 7 ou 14 jours.

Le traitement à dose unique est préféré, il est efficace à 95 % surtout lorsque le partenaire est traité en même temps.

Dans certains cas, la prise orale peut entraîner des nausées (5 à 25 % des cas : [72]). Une diète alcoolique doit accompagner la prise orale 24 heures après la prise pour éviter un effet antabuse. Les drogues agissent par réduction chimique dans le parasite où diffuse le produit, produisant un métabolite léthal éphémère. Cette réduction est meilleure dans un milieu anaérobie.

Les souches résistantes isolées à ce jour montrent une déficience dans la réduction de la partie nitrée et ce, en présence d'oxygène.

Les CMI en anaérobiose sont inférieures à 3,1 mg/l et, en aérobiose inférieures à 50 mg/l. Il semblerait [73], qu'il existe une meilleure corrélation entre les CMI obtenues *in vitro* en aérobiose et la réalité *in vivo*. Dans tous les cas, les échecs à des traitements répétés concernent toujours des souches dont les CMI *in vitro* en aérobiose dépassent 400 mg/l.

Il faut toujours vérifier, devant un échec, si le traitement a été bien suivi (surtout en cas de traitement long) et si le partenaire a lui aussi été traité.

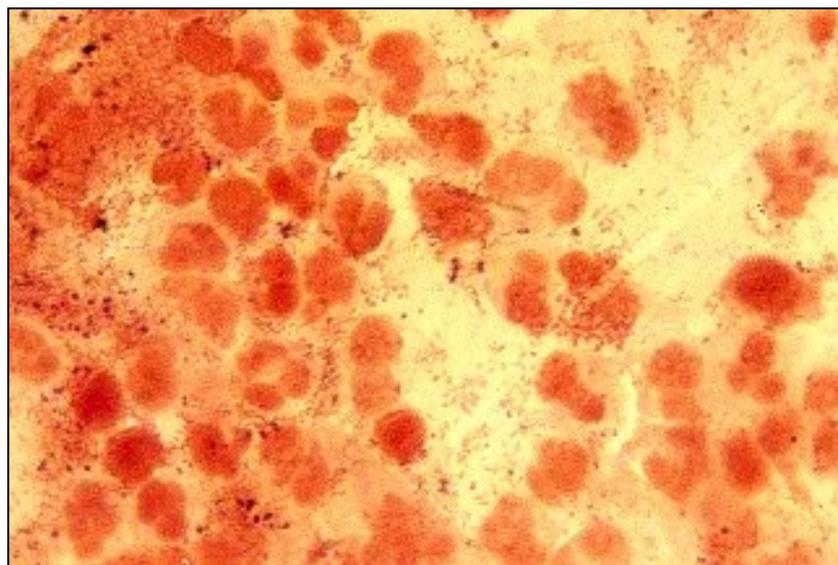
Plus de 75 % des échecs thérapeutiques répondent bien à un nouveau traitement, sans qu'il soit nécessaire d'augmenter les doses.

Chez la femme enceinte, le métronidazole pourra être prescrit au cours du premier trimestre.

Seules les vaginites symptomatiques seront traitées. Le cotrimazole semble avoir une activité certaine sur le trichomonas. A terme, on traitera localement.

### III.5- Les vaginites bactériennes

Dans certaines circonstances, des bactéries commensales du tube digestif peuvent exceptionnellement adhérer aux cellules vaginales et provoquer des vaginites. Il s'agit rarement de vulvo-vaginites mais elles sont caractérisées par la présence d'un écoulement contenant de nombreux polynucléaires (photo 70). Ces manifestations cliniques peuvent s'accompagner ou non d'une **odeur nauséabonde**.



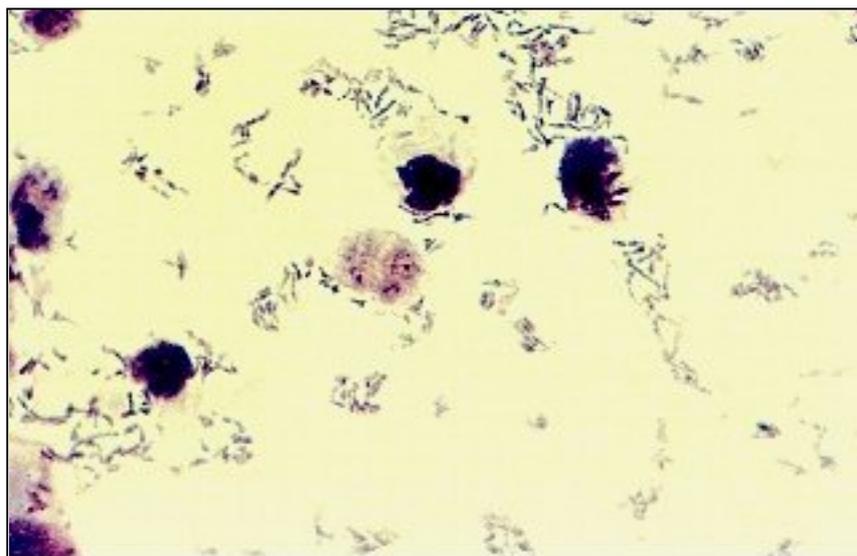
*Photo 70 : Vaginite à bactéries Gram négatif*

En règle générale, il s'agit de bactéries **aérobies anaérobies facultatives**, rarement de bactéries anaérobies strictes [74, 75, 76].

Souvent, un désordre hormonal est la cause première de ces vaginites et les germes isolés n'ont pas de spécificité particulière mais on notera toujours un déséquilibre profond de la flore vaginale.

N'oublions pas qu'un désordre hormonal peut exagérer la quantité de bactéries habituellement considérées « normales ». Ainsi, dans un nombre non négligeable de cas, on peut être confronté à une prolifération anormale de **lactobacilles** ou de **Corynébactéries**, dans un contexte de **leucorrhées abondantes** et d'irritation vulvo-vaginale (mais surtout vaginale) intense.

Le frottis montre dans ces cas là une flore extrêmement présente (photo 71)



*Photo 71 : Prolifération anormale de Corynébactéries ; Coloration de Gram ; Grossissement x 250 immersion.*

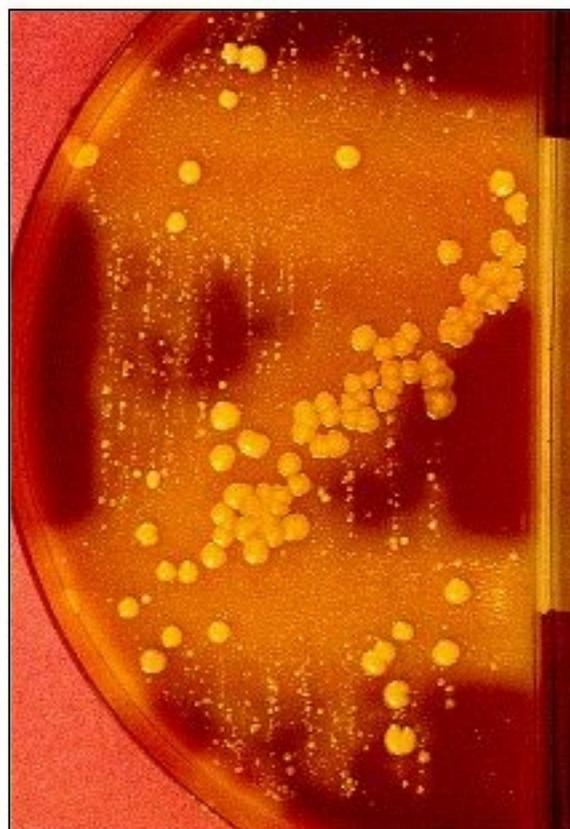
Lorsque les lactobacilles sont en cause les cellules épithéliales sont rares et la cytolysse est intense. On observe volontiers cet aspect, en deuxième partie de cycle, chez une femme en période d'activité génitale.

Les polynucléaires sont généralement absents mais ils peuvent être nombreux. Il faut vérifier dans ce cas l'existence éventuelle d'un **ectropion**.

Un tableau identique est la règle chez la femme enceinte dans la deuxième partie (2<sup>e</sup> semestre) de sa grossesse. Le pH vaginal est en principe inférieur à 4,2.

La culture en gélose au sang et même en gélose chocolat + polyvitex montre un tapis caractéristique de lactobacilles alpha hémolytiques (photo 72) qu'il n'est pas nécessaire d'identifier au delà de l'aspect morphologique après coloration de Gram.

Il s'agit dans ces cas-là de faire remonter le pH vaginal avec des douches vaginales



*Photo 72 : Culture abondante de Lactobacilles sur Gélose - chocolat + Isovitalex (BioMérieux) : Noter la zone d'alpha hémolyse au niveau des colonies.*

légèrement alcalines (30 à 60 g de bicarbonate de sodium par litre d'eau), Cibley and Cibley in Vaginitis and Vaginosis, 1991.

Par ailleurs, les bactéries le plus souvent isolées dans un contexte de vaginite sont par ordre de fréquence :

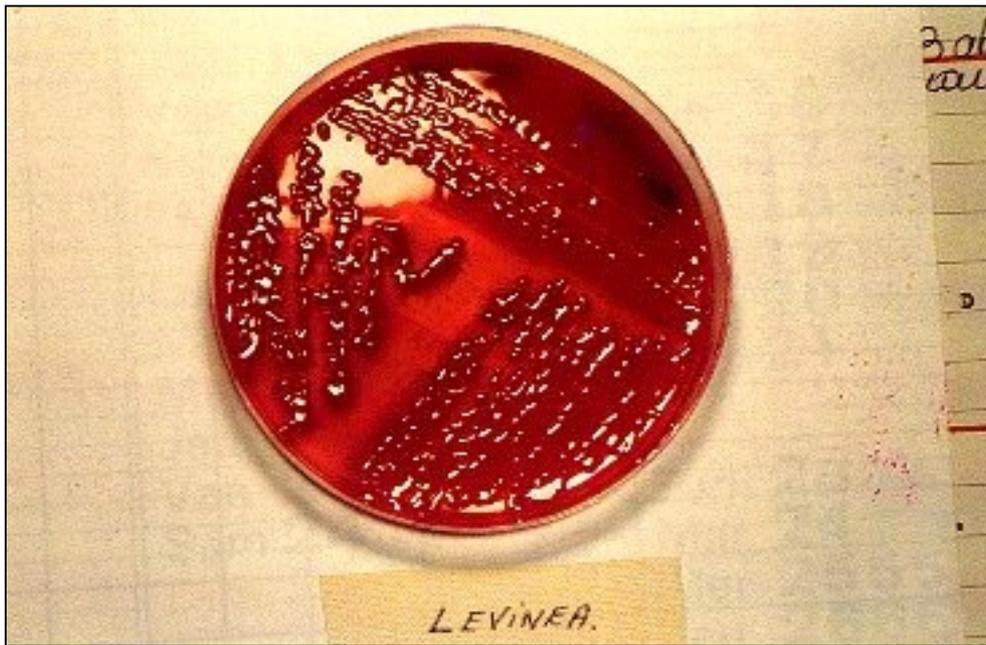
**III.5.1-Les entérobactéries** et plus particulièrement **Escherichia Coli** (photo 73) et **Protéus** (photo 74) mais aussi **Enterobacter cloacae** et toute la variété des bactéries non fermentatives oxydase plus (**Pseudomonas, xanthomonas, ochrobactrum, Levinea** photo 75, etc...).



*Photo 73 : Isolement de E. coli sur Hektoën.*

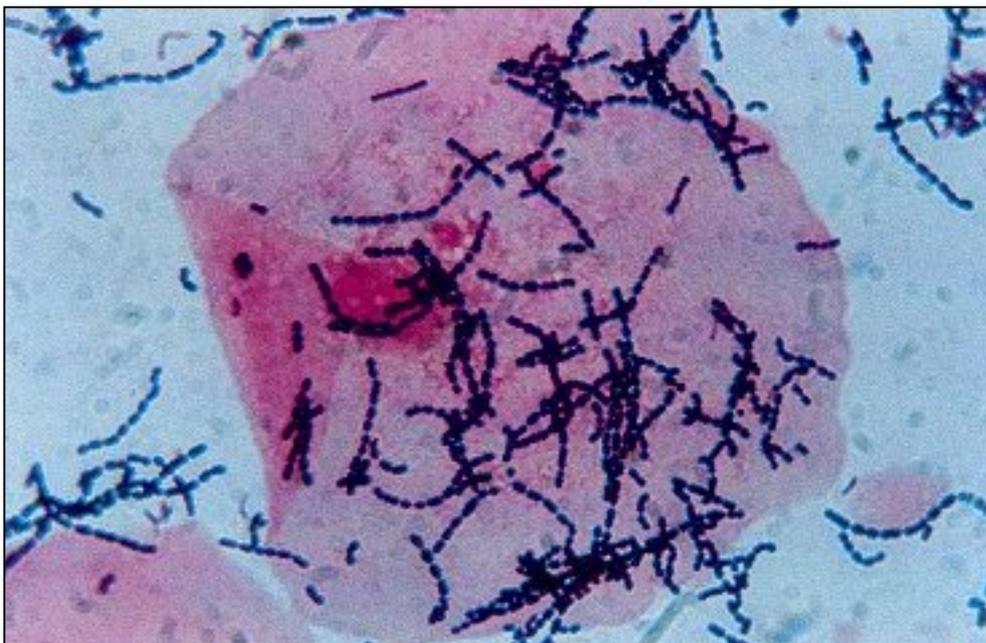


*Photo 74 : Isolement de Protéus sur Hektoën.*

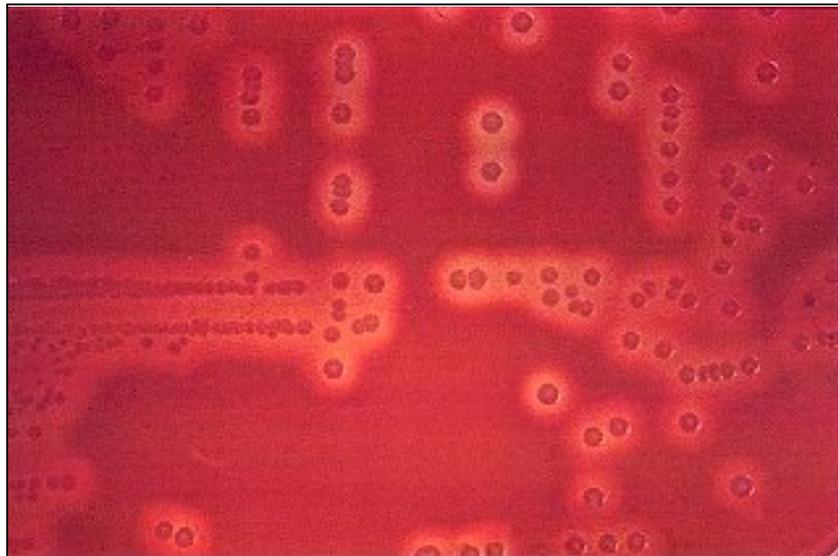


**Photo 75 :** Isolement de Lévinéa sur milieu sélectif ; noter l'aspect exubérant des colonies.

Ces bactéries gram négatif sont le plus souvent associées à des cocci gram positif avec une forte prédominance des **streptocoques (Agalactiae et Entérocoques, des groupes B et D)**. La **réaction inflammatoire** qui accompagne ces désordres bactériens est plus ou moins intense et dépend plus du statut hormonal de l'hôte que des bactéries proprement dites (photos 76, 77).



**Photo 76 :** Frottis de sécrétions vaginales ; Coloration de Gram :  
Nombreuses « chaînettes de Streptocoques B.

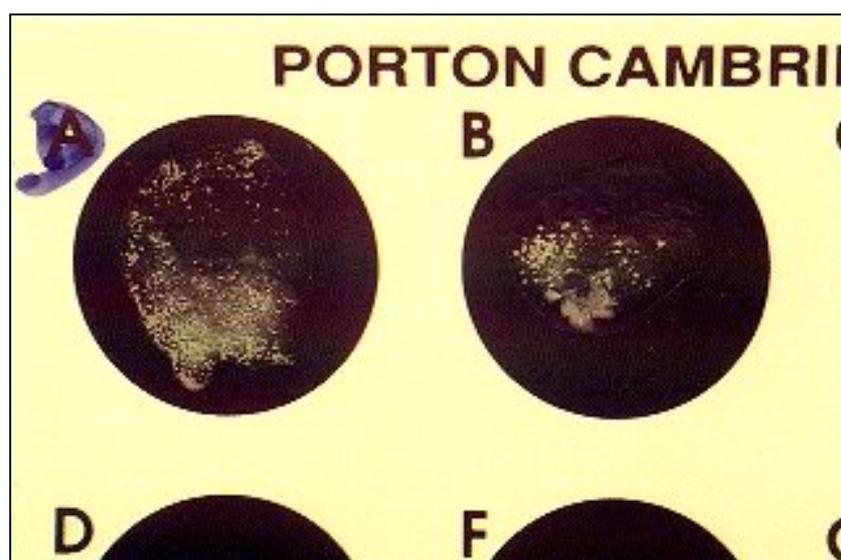


**Photo 77 :** Isolement de *Streptocoque B* sur gélose au sang : Zone franche de Béta hémolyse

Ce tableau est assez fréquent chez la femme ménopausée et la vaginite s'installe alors sur une muqueuse atrophique (présence de cellules dystrophiques). Le traitement antibiotique doit impérativement s'accompagner d'un réajustement hormonal.

Les traitements topiques sont souvent préférés car un traitement à large spectre per os favorisera le développement de *Candida albicans*.

Certains germes clés, inhabituels dans la cavité vaginale, doivent attirer l'attention du médecin lorsqu'ils sont isolés en grande quantité et la thérapeutique spécifique devra être complétée par une thérapeutique de suppression éventuelle (stérilet, tampon, corps étranger, etc...).



**Photo 78 :** Agglutination montrant l'appartenance des streptocoques préalablement isolés au groupe B et D (*Streptex*).

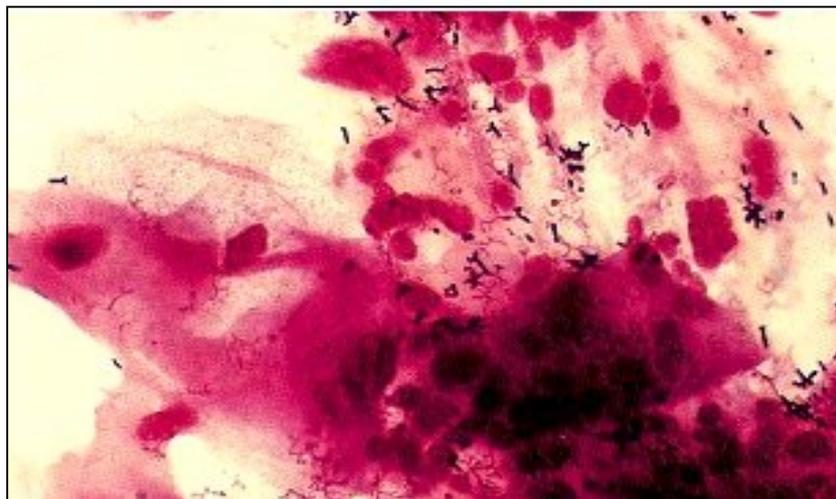


*Photo 79 : Isolement de Streptocoque D sur milieu « Streptococcosel » :  
Noter les colonies noires caractéristiques.*

**III.5.2.- Actinomyces Israeli**, le plus fréquent des actinomycètes isolés à ce niveau, accompagne souvent le port d'un **stérilet prolongé**. Il représente un risque important d'infection haute (inflammation pelvienne). Sa présence et son isolement signent le plus souvent une endométrite déjà installée. Anaérobie strict, il est souvent méconnu car il ne pousse pas sur les milieux usuels dans les conditions habituelles.

Son traitement (Beta lactamines, clindamycine) doit s'accompagner de la suppression du stérilet et d'une surveillance clinique voire coelioscopique de la patiente.

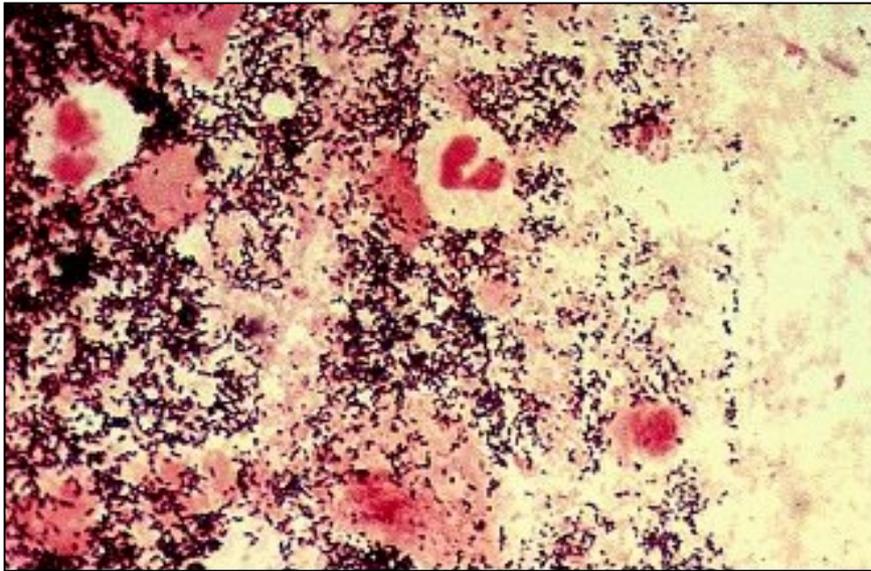
Sa morphologie caractéristique, à la coloration de Gram, attire le plus souvent l'attention du microbiologiste : il s'agit d'un bacille à gram positif court et ramifié à une extrémité : (photo 80), rarement aux deux extrémités (bifidobactérium).



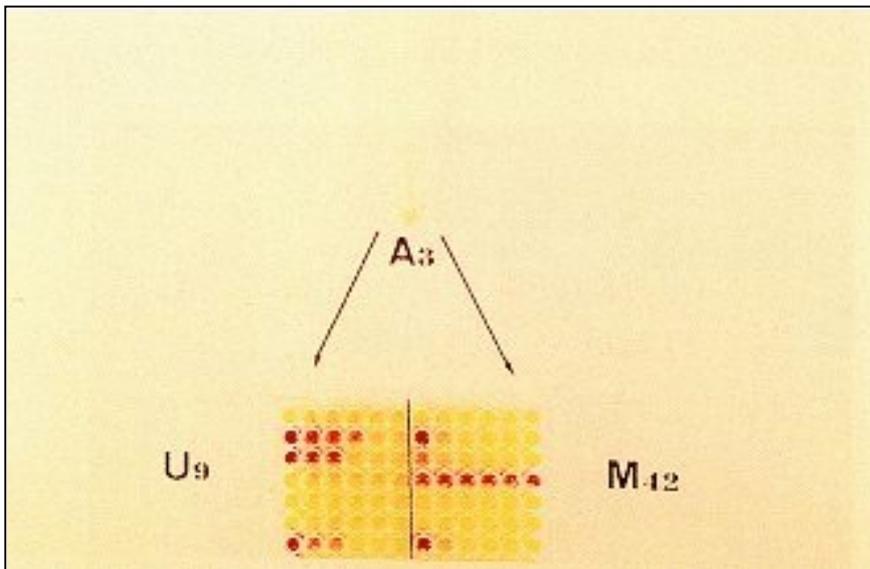
*Photo 80 : Frottis endocervical inflammatoire, montrant la présence de courts bacilles à Gram positif : Actinomyces Israéli, isolé après dépose du stérilet.*

**III.5.3- Mycoplasmes urogénitaux.** Trois types de mycoplasmes, hôtes habituels de la cavité vaginale (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*) ou du tube digestif (*Mycoplasma genitalium*) peuvent proliférer anormalement et provoquer une **vaginite** et/ ou une **cervicite**.

L'aspect du frottis est inflammatoire avec une flore apparemment normale, ou modifiée (photo 81) mais les mycoplasmes sont isolés à des taux inhabituels qui dépassent largement  $10^5$  unités changeant la couleur (ucc) par ml de sécrétion. La quantification est nécessaire pour juger de l'importance du désordre (photo 82).



**Photo 81 :** Vaginite à Mycoplasmes ; Coloration de Gram : Flore abondante « corynéforme », polynucléaires, cellules épithéliales.



**Photo 82 :** Isolement de *Mycoplasma Hominis* et *Uréaplasma uréalyticum* à la 2<sup>e</sup>, 3<sup>e</sup> et 8<sup>e</sup> rangée ; Isolement de *Mycoplasma hominis* en forte proportion à la rangée 4.

Il n'est pas rare d'isoler une ou plusieurs de ces espèces à des taux supérieurs à  $10^7$  ucc/ml (photo 83).

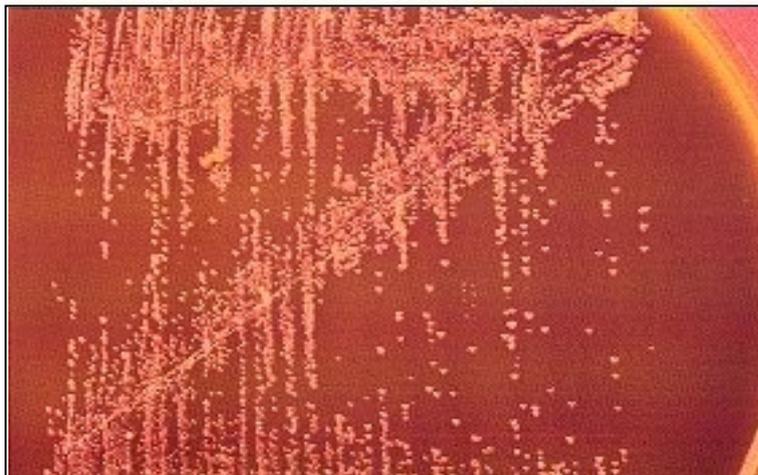


**Photo 83 :** Une colonie de *Mycoplasma hominis*, en « œuf sur le plat » et une colonie d'*uréaplasma uréalyticum* (noire) dans un milieu gélose (A7C).

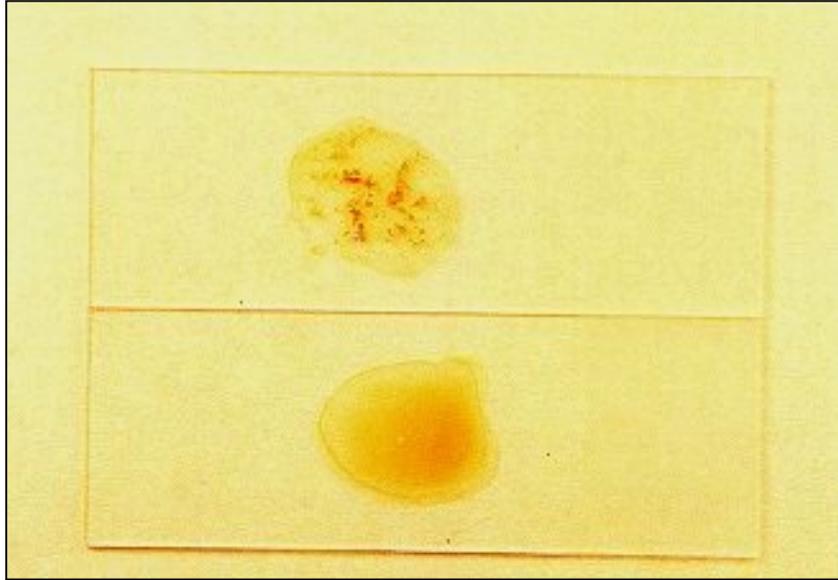
Dans ce cas, leur traitement est indiscutable. Il s'agira d'un traitement partagé (partenaire) pour éviter tout échec.

Des quantités voisines de  $10^5$  ucc/ml peuvent s'observer chez des femmes asymptomatiques et/ou chez leurs partenaires.

**III.5.4- Le staphylocoque doré pathogène** (photos 84 et 85). Sa présence dans le vagin est inhabituelle, il est souvent associé à un corps étranger (tampon ou autre...). Son isolement doit entraîner un examen approfondi de la cavité vaginale dans ses moindres replis. Un traitement antibiotique approprié doit être instauré après avoir retiré le corps étranger éventuel.



**Photo 84 :** Isolement de *Staphylocoque doré* sur gélose au sang.



**Photo 85** : Identification du *Staphylocoque doré* par « Slide-test », mettant en évidence la Protéine A.

### III.6- Les vaginoses bactériennes

On les appelle aussi les vaginites non purulentes.

Le mécanisme de la vaginose, terme impropre par lui-même, est complexe. Il est la conséquence de la rupture de l'équilibre écologique habituel de la cavité vaginale.

Les lactobacilles comme le bacille décrit au siècle dernier par Doderlein (tous les lactobacilles ne sont pas des bacilles de Doderlein) indiquent par leur présence une bonne écologie vaginale. Leur disparition en revanche est le témoin d'une profonde perturbation où plusieurs cofacteurs entrent en jeu (hormonologiques, immunologiques, mécaniques, infectieux, etc...) et dont la conséquence sera la prolifération inconsiderée d'une flore microbienne atypique et complexe.

Le contenu de cette flore influence peu la clinique mais interfère sûrement en terme de quantité sur la sécrétion vaginale souvent fétide qui manque rarement au tableau.

Dans plus de 90 % des cas, un germe essentiel est incriminé : **Gardnerella vaginalis** que l'on a connu dans la littérature médicale, sous diverses dénominations.

#### III.6.1- *Gardnerella vaginalis* : quelques faits chronologiques

-1936 : Thompson constate la présence de bacilles pleiomorphiques à gram négatif [74].

-1946 : Henriksen confirme et isole du tractus urogénital ce diplobacillus variabilis [75].

-1953 : Leopold isole du tractus urogénital chez l'homme une bactérie qu'il assimile à un hemophilus [76].

-1954 : Gardner et Dukes (Lettre à Science, 1954) rapportent la présence de ce « nouveau bacille » dans les sécrétions vaginales de femmes atteintes de vaginite [77].

-1955 : ils le nomment *Hemophilus vaginalis* parce qu'isolé de la cavité vaginale.

Nouveau pathogène ? Ou simple témoin d'un processus complexe? [78].

Ils inoculent le nouveau venu obtenu en culture, chez 15 femmes saines : une seule est malade.

Puis ils inoculent 15 femmes avec les sécrétions vaginales de femmes malades : 11 développent la maladie.

Il semble donc qu'un cofacteur soit nécessaire à *hemophilus vaginalis* pour qu'il se manifeste.

-1959 : Heltai et Teleghany constatent que les femmes guéries continuent d'avoir *H. vaginalis* et jettent le discrédit sur le germe qu'ils disculpent de sa responsabilité pathologique [79].

-1961 : Lepage et Dunhelberg (1962) isolent le même germe de femme saines [80].

-1963 : Zinnerman et Turner reclassifient le germe dans les corynebactériaceae [81].

-1973 : Mc Cornack isole corynébactérium chez 38 % de femmes symptomatiques et chez 31 % de femmes asymptomatiques et mettent en doute le germe comme marqueur réel de la maladie [82].

-1980 : Greenwood et Pickett associant l'analyse de la paroi et l'hybridation DNA-DNA, montrent la similitude des souches isolées entre elles mais réfutent leur appartenance au genre corynébactérium [83]. Ils créent un nouveau genre : *Gardnerella*, confirmé en 1980 par Peter Piot [84].

**-1982 : Totten et Coll mettent au point un milieu sélectif pour *Gardnerella vaginalis* [85]. C'est à partir de ce moment là que l'on peut constater que la presque totalité des femmes atteintes de vaginite non spécifique sont porteuses de *Gardnerella vaginalis* mais aussi 40% des femmes saines. Ils démontrent ainsi que *Gardnerella vaginalis* n'est pas le seul en cause dans cette manifestation caractéristique qui de droit reprend sa dénomination initiale de vaginite non spécifique. Partant de là les auteurs qui ont étudié le problème, se sont intéressés à l'étude qualitative de la flore microbienne qui accompagne cette entité clinique.**

### *III.6.2- La flore associée à ces vaginoses*

Déjà en 1895, Krönig [86], décrit grâce à la coloration de gram, un streptocoque anaérobie qu'il rend responsable de certaines « vaginites ».

En 1933, Curtis décrit un bacille incurvé extrêmement mobile, qu'il rend responsable des leucorrhées observées dans cette pathologie vaginale [87]. En 1957, Brewer [88] rapporte la présence de vibrions et de bacilles filamenteux non cultivables dans les sécrétions anormales observées chez ces femmes-là. Il a été montré que chez les femmes ayant des leucorrhées nauséabondes, la flore anaérobie est 200 à 10 000 fois plus abondante que dans des sécrétions normales.

En 1980, Durieux et Dublanchet [89] isolent le germe incurvé décrit, étudié ultérieurement par Thomasson (1984 : [84] ), Peloux et Thomas (1981 : [91]), Sprott (1982 : [92] ), Holtz (1982 : [54], 1977 : [93], [94]), Skarin [95].

Spiegel et Roberts, en 1984 [96], caractérisent ces micro-organismes qu'ils nomment Mobiluncus et y définissent deux espèces : Mobiluncus mullieris, bacille incurvé gram positif faible et un bacille plus petit et fin : Mobiluncus curtisii....

Le terme de vaginose bactérienne a été proposé en 1984 par Weström [97]. Il attire l'attention sur le déséquilibre qui s'observe dans ce contexte entre la flore anaérobie et la flore aérobie, de même que la diminution de la flore lactobacillaire qui, bien qu'elle puisse persister, change qualitativement. Ces lactobacilles ne sont pas producteurs d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Remplaçant celui de vaginite, à cause de l'absence de réaction inflammatoire (ce qui n'est pas toujours le cas !), ce terme est tout aussi impropre car il ne s'agit pas d'une entité anatomique spécifique mais plutôt d'un concours de circonstances où plusieurs cofacteurs s'intriquent pour créer un milieu favorable à la prolifération de certaines bactéries, particulièrement **Gardnerella vaginalis** dont la présence est quasi constante.

Autour de Gardnerella vaginalis et en fonction de la présence de cofacteurs inconnus, le développement d'une espèce bactérienne plutôt qu'une autre est favorisé. Aussi nous lui préférons le terme de **bactériose vaginale**.

---

#### Bactériose vaginale

---

Mycoplasmes urogénitaux surtout M. Hominis	Bactéroïdes spp
Mobiluncus mullieris Mobiluncus curtisii	Gardnerella vaginalis

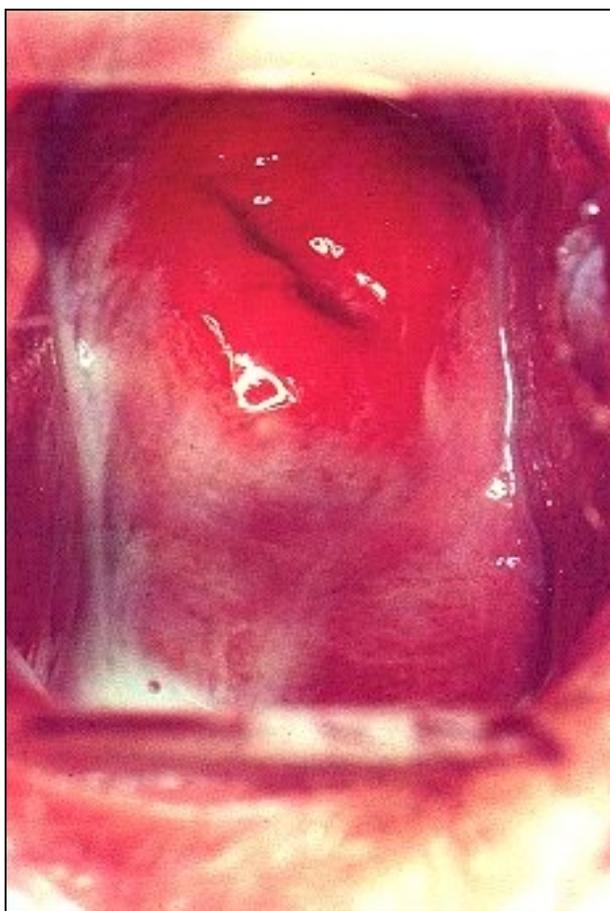
---

Ce phénomène étant consécutif à, ou entraînant, la disparition des lactobacilles producteurs d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### **III.6.3- L'aspect clinique**

Environ 50 % des femmes porteuses de bactériose vaginale n'ont aucune manifestation clinique qui puisse attirer l'attention.

-Parmi les formes symptomatiques, ce qui attire en priorité l'attention est une **leucorrhée** abondante, laissant des traces dans les sous-vêtements (photo 86).



*Photo 86 : Aspect clinique de la bactériose vaginale (A. Siboulet).*

La couleur peut varier de blanchâtre, à blanc grisâtre. Les sécrétions s'écoulent franchement par l'orifice vaginal vers le scrotum. Elles sont homogènes, aqueuses ou mucoaqueuses, contrairement aux sécrétions normales qui sont flocculeuses et compactes.

Le deuxième signe qui attire l'attention est l'**odeur fétide** inhabituelle, qui amène la patiente à consulter. L'alcalinisation accentue l'odeur fétide (poisson pourri) de ces sécrétions. Cela est particulièrement ressenti après des rapports sexuels (dû au pH alcalin du sperme).

A l'examen gynécologique, on observe une leucorrhée adhérent à la muqueuse vaginale qui souvent n'est ni œdématisée, ni érythémateuse.

**Le pH vaginal** est un élément caractéristique, il est défini en dehors des menstruations ou d'un rapport sexuel.

Il est mesuré au papier pH et se situe entre 5 et 6. Si bien **qu'un pH<4,5 exclut toute bactériose vaginale** .

Une goutte de sécrétion, mélangée à une goutte de potasse en solution à 10 % dégage une odeur de poisson (photos 87, 88, 89).



**Photo 87 :** *Test à la potasse : Une goutte de sécrétion sur une lame, une solution de potasse (KOH à 10 %), une pipette pasteur.*



**Photo 88 :** *Laisser tomber une goutte de la solution sur la sécrétion ; mélanger à l'aide de la pipette.*



**Photo 89 :** *Porter le mélange à proximité du nez ; il se dégage une odeur nauséabonde, de poisson.*

Cette odeur est caractéristique (« sniff test » des auteurs anglo-saxons ou test à la potasse ou encore amine-test). Elle est générée par la libération d'amines qui ont pu être identifiées : la triméthyl amine serait la principale responsable de l'odeur dégagée. La flore anaérobie, abondante dans les sécrétions, participe très activement à l'élaboration de ces amines.

Une dyspareunie accompagne rarement la bactériose vaginale.

Le processus physiopathologique serait lié à une coopération bactérienne.

La présence de *Gardnerella vaginalis* en grande quantité limiterait la flore lactobacillaire productrice d' $H_2O_2$  qui interagirait avec l'oxygène pour produire un radical hydroxyle toxique pour la plupart des bactéries (ion chloradinium). La diminution des lactobacilles efficaces favoriserait la prolifération des bactéries anaérobies (*Mobiluncus* et Bactéroïdes) qui produisent de l'acide succinique en grande quantité. Or à pH 5,5, l'acide succinique bloque le chimiotactisme positif des leucocytes ce qui expliquerait l'absence de réaction inflammatoire en rapport avec symptomatologie clinique.

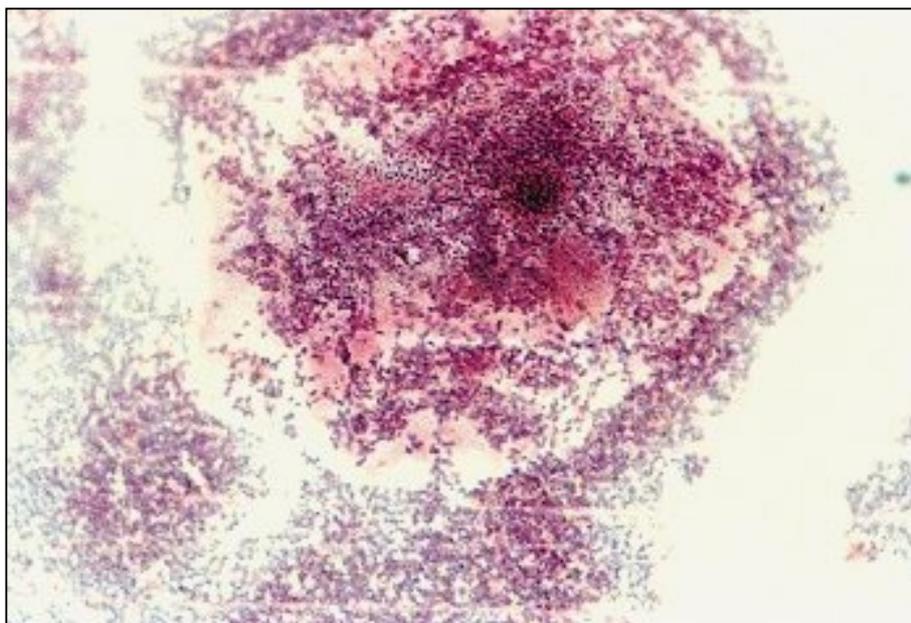
#### **III.6.4- Le diagnostic de la bactériose vaginale**

Le pH vaginal et le test à la potasse représentent des éléments essentiels pour établir le diagnostic de bactériose vaginale. La sensibilité de ce dernier serait de 94 % selon Brand [98].

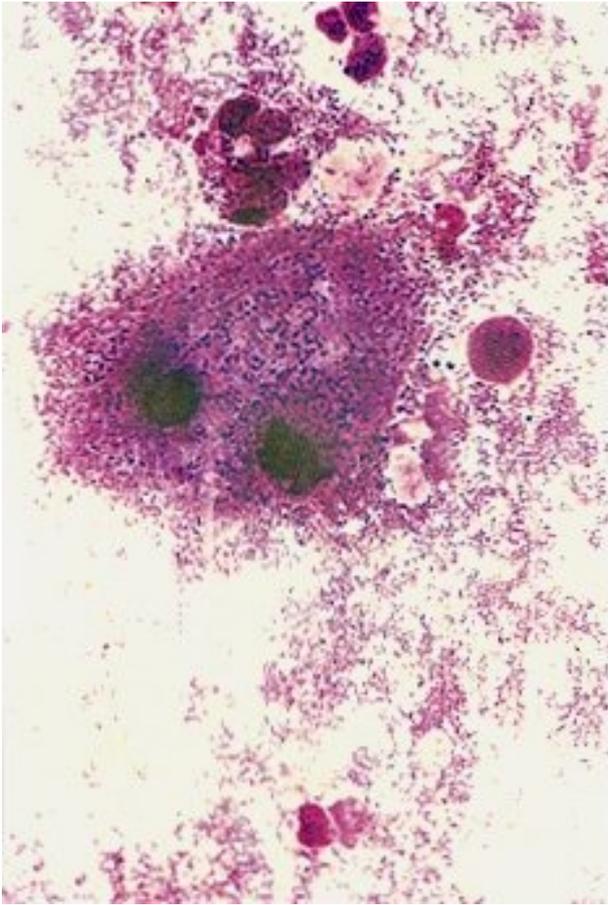
L'examen microscopique est une étape importante dans le diagnostic. Une ose de sécrétion est émulsionnée dans une goutte d'eau physiologique déposée sur une lame porte-objet ; elle sert à l'examen cytobactériologique extemporané.

L'observation de la lame au microscope optique permet de mettre en évidence un nombre important de cellules épithéliales, de rares polynucléaires et une flore apparemment monomorphe, extrêmement abondante.

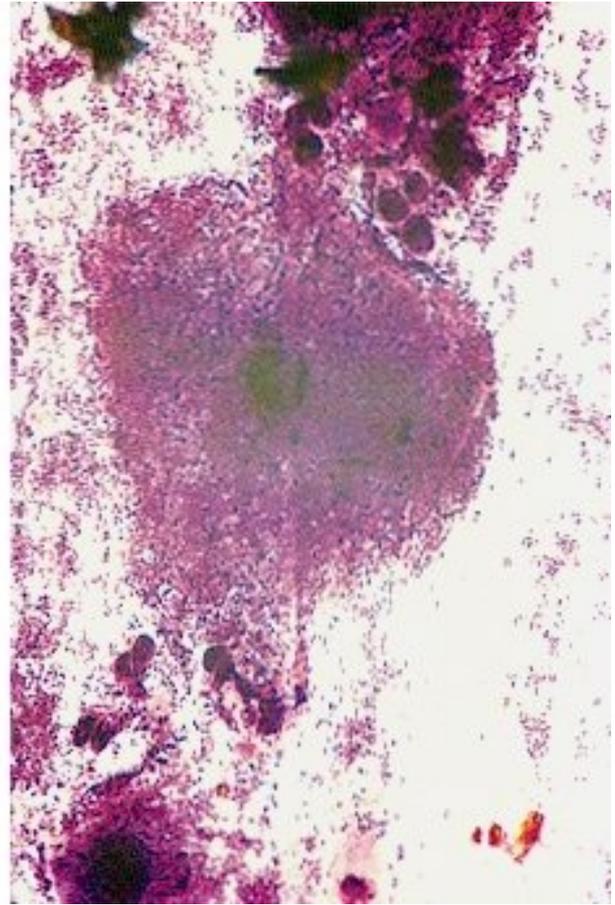
L'abondance est telle qu'on a l'impression d'un déferlement bactérien entre les cellules présentes (Raft microbien : photo 90). Certaines cellules épithéliales sont littéralement recouvertes de cette flore estompant ainsi les limites cellulaires (Clue-Cells des auteurs anglo-saxons : photos 91, 92).



**Photo 90** : « Raft microbien » observé au cours d'une Bactériose vaginale ; Coloration de Gram ; Grossissement x 1000 immersion.



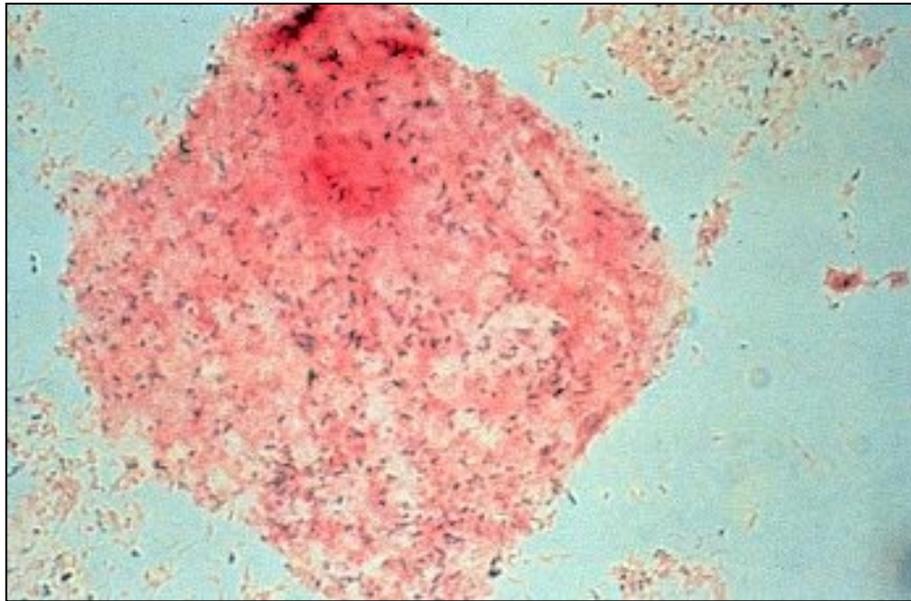
**Photo 91** : « Clue – cell » à *Gardnerella vaginalis* ; Coloration de Gram ; Grossissement x 1000 immersion.



**Photo 92** : « Clue – cell » à bacilles Gram positif.

Une goutte de sécrétion étalée sur lame séchée, fixée et colorée par la méthode de Gram, confirme ces images et montre une affinité tinctoriale mal définie, tantôt Gram positif, tantôt Gram négatif ; les deux aspects coexistent la plupart du temps. Il est intéressant de noter le pourcentage des cellules littéralement criblées de bactéries, (Clue-Cells) bien que la notion de quantité n'ait pas une traduction particulière.

D'après Thomasson et Gelbart [99], deux critères suffisent à poser le diagnostic de bactériose vaginale : le test KOH positif et la présence de " Clue-Cells" que nous désignons par **cellules indicatrices** (photo 93).



**Photo 93 : " Clue-cell " identique à Bacilles Gram négatif.**

Un consensus international établi à ce jour le diagnostic de bactériose vaginale lorsque **trois** des critères suivants sont réunis :

- **pH vaginal > 4,5,**
- **test à la potasse positif,**
- **leucorrhées malodorantes, adhérentes,**
- **présence de Clue-Cells à l'examen microscopique.**

Dans la bactériose vaginale, le nombre de cellules épithéliales est en règle générale bien supérieur au nombre de leucocytes et la flore bactérienne est très nettement supérieure au nombre de lactobacilles qui souvent disparaissent.

La présence de polynucléaires en nombre important doit faire suspecter une MST (maladie sexuellement transmissible), où le plus souvent trichomonas vaginalis ou Candida albicans sont en cause. Une flore où prédomine Mobiluncus curtisii peut entraîner une réaction inflammatoire non négligeable.

Thomasson et coll ont préconisé en 1988 [100] un test rapide à partir des sécrétions vaginales qui consiste à mettre en évidence la proline aminopeptidase. Ce test rapide aurait une valeur prédictive positive de 87 % et une valeur prédictive négative de 87 % situant ce test au-dessus de la chromatographie gaz-liquide.

La bactériose vaginale a été incriminée dans la survenue d'une endométrite du post-partum (Larsson et Bergman, 1986 : [101], Paavonen, 1987 : [102] ).

Eschenbach, en 1988 [103], a même associé la bactériose vaginale à certaines **salpingites** et pour Weström, en 1983 [104], toute salpingite vraie était exclue devant un état frais normal des sécrétions vaginales où prédominent les lactobacilles.

Pour certains auteurs (Bejar, 1981 : [105] ), la présence d'une bactériose vaginale chez la femme avant le terme serait un facteur non négligeable de risque d'accouchement prématuré qui serait lié aux grandes quantités de phospholipases A2 accumulées en présence des bactéries responsables et qui seraient susceptibles de déclencher la cascade de production des prostaglandines.

Bien que l'isolement et l'identification des germes présents ne soit pas indispensable pour le diagnostic, on trouvera en annexe quelques milieux préconisés dans l'isolement spécifique des bactéries rencontrées au cours des bactérioses vaginales.

### ***III.6.5- Traitement de la bactériose vaginale***

Le traitement est relativement simple dans le sens où il s'agit plus de rétablir un équilibre momentanément perdu, que d'agir spécifiquement sur une bactérie donnée.

Les plus grandes causes d'échec concernent des traitements inappropriés par insuffisance du diagnostic. D'où l'intérêt de bien examiner, de faire un diagnostic précis et de prescrire un traitement adéquat.

Le traitement du partenaire sexuel ne doit pas être systématique mais on devra en considérer l'opportunité en cas de récurrences à moyen ou long terme.

Compte tenu de la fréquente association de la flore anaérobie, le choix thérapeutique portera essentiellement sur le métronidazole. De nombreuses études ont montré que le meilleur schéma thérapeutique concerne la prise orale de 500 mg de métronidazole, deux fois par jour pendant une semaine (taux de guérison de 80 à 90 %). Ce schéma est supérieur à celui d'une dose unique de 2 g de métronidazole (taux de guérison : 47-85 % selon les auteurs).

Récemment, de nombreuses études ont montré l'efficacité de la clindamycine dans la bactériose vaginale.

Cette drogue était déjà connue pour son activité sur *Mobiluncus* (300-500 mg/j en deux prises pendant dix jours) alors que *Mobiluncus curtisii* résiste au métronidazole (Spiegel, 1987, Sprott, 1983).

Le taux de guérison obtenu avec ce schéma est très voisin de celui obtenu avec le métronidazole et dépasse 90 %. Son utilisation expose dans certains cas à une sélection intestinale de *clostridium difficile* qui peut provoquer des diarrhées.

Des formes topiques sont actuellement disponibles et semblent donner entière satisfaction. Une étude faite en double aveugle avec la crème clindamycine à 0,1, 1 ou 2 % a montré un

taux de guérison significatif (une application matin et soir pendant cinq jours ou sept jours). L'avantage du produit est la totale indifférence de la flore lactobacillaire, ce qui assure un repeuplement de la flore dès la disparition de la symptomatologie clinique.

Le dosage à 2 % a donné lieu à moins de récurrences que les autres dosages qui pourtant ont donné des taux de guérison identiques (Livengood, 1990).

C'est une thérapeutique de choix chez les femmes enceintes.

Ces schémas thérapeutiques ont largement supplanté les classiques traitements à l'ampicilline qui, malgré leur efficacité sur *Gardnerella vaginalis* ne concèdent qu'un taux de guérison inférieur à 50 %. De plus, active sur les lactobacilles, elle inhiberait le repeuplement.

#### ■ IV. CONCLUSION

---

Si le problème des vaginites et des vaginoses semble plus éclairé ces dernières décennies, il demeure toutefois un problème complexe qui est loin d'être résolu en totalité.

Si la symptomatologie, caractéristique dans certains cas, attire l'attention du praticien, un diagnostic précis doit s'imposer selon un schéma rigoureux que le microbiologiste doit appliquer consciencieusement pour venir en aide au praticien dans l'application d'une thérapeutique efficace, source de guérison.

Une compréhension globale du problème doit nous préserver de l'écueil de traiter, un pathogène seul parce qu'il a été détecté à l'examen rapide (candidose vaginale, trichomonase...).

Un pathogène peut souvent en cacher un autre plus grave pour l'avenir de la patiente et c'est notre devoir d'en faire le diagnostic face à une patiente inconnue !

C'est dans cette optique que ces quelques données bibliographiques associées à notre expérience personnelle vous ont été livrées en espérant qu'elles apporteront une aide à l'approche diagnostique.

Mais bien du chemin reste encore à parcourir, ce qui est en quelque sorte réconfortant !

De nombreux autres pathogènes sont, chez la femme, responsables de profonds désordres génitaux et parfois de graves complications mais pour lesquels, outre les viroses qui feront l'objet d'un chapitre à part, leur fréquence est nettement moindre.

Ils nous a semblé opportun de les citer sous forme de tableaux, en annexe, qui seront, nous l'espérons, suffisamment clairs pour vous permettre de les reconnaître et de les traiter.

## ANNEXE 1

---

### Schémas proposés pour le traitement des vaginites à *Candida albicans* (Eichensbach, 1991)

<b>Butoconazole</b>	Crème à 2%	une application (3 jours)
<b>Clotrimazole</b>	Comprimé gynécologique 100 mg Comprimé gynécologique 100 mg Crème à 1	deux comprimés (3 jours) un comprimé (7 jours) une application (7 jours)
<b>Miconazole</b>	Ovules 200 mg Ovules 100 mg	un ovule (3 jours) un ovule (7 jours)
<b>Terconazole</b>	Ovules 80 mg Crème 0,4% Crème 0,8%	un ovule (3 jours) une application (7 jours) une application (3 jours)

### **Traitement dose unique dans les candidoses vaginales (Janet D. Wilson, 1995)**

#### **Topiques vaginaux**

Clotrimazole 500 mg

Econazole 150 mg

Miconazole 1.2 g

Fenticonazole 600 mg

#### **Triazoles**

Fluconazole per os 150 mg

Itraconazole per os 200 mg x 2

## ANNEXE 3

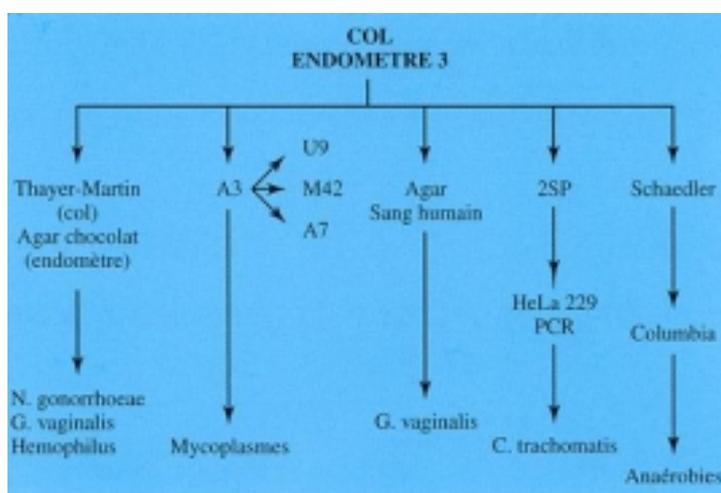
### Les vaginites récurrentes

Elles font souvent échec à toute thérapeutique (Sobel, 1986) qu'elle soit curative ou crème prophylactique (candida albicans), c'est un problème réel de santé publique.

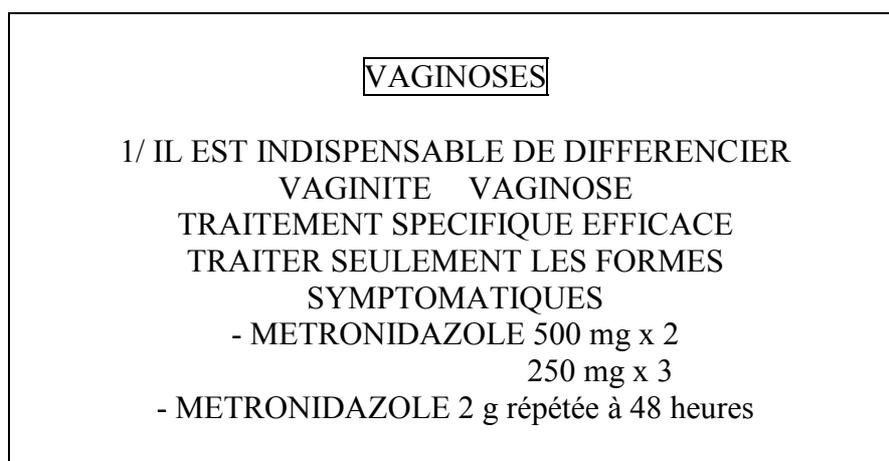
C'est souvent l'hôte lui-même qui en est la cause et non la virulence de l'agent causal (hormones, immunité locale, etc...),

Souvent autres causes : Neurodermatite ; lichen plan, lichen scléreux ; vulvodynie essentielle; vestibulite vulvaire; co-infection HPV

### Algorithme pour l'examen direct des sécrétions vaginales



**Photo 94:** Tableau du protocole d'ensemencement des sécrétions génitales chez la femme.



**Photo 95 :** Tableau du traitement de base des Bactérioses vaginales.

### Milieux proposés pour l'isolement de GV

M. de Totten : c'est le plus sélectif pour GV : il est biphasique.

Gélose Columbia ANC contenant 2 µg/ml de Fungizone (10 ml couche inférieure).

Gélose Columbia ANCF additionnée de 5 % de sang humain (15 ml) coulée sur la gélose précédente, solidifiée.

Incubation à 36 °C sous 5 % de CO<sub>2</sub> —————> 24 heures —————> 48 heures

Petites colonies grisâtres à bords nets. Identification API-STREPTO ou API-CORYNE

Bêta hémolyse diffuse. Petits bacilles courts avec quelques formes filamenteuses.

Catalase et oxydase négatives.

Hydrolyse hippurate, amidon, glucose, maltose. Pas le raffinose ni le mannitol.

Sensibilité à Métronidazole 50 µg, H<sub>2</sub> O<sub>2</sub> (10 µl), Polyanétole Sulfonate de Sodium (PSS) (disques).

### Quelques directives diagnostiques pour les ulcérations génitales

Les ulcérations génitales peuvent être la conséquence d'une agression « bactérienne ou virale » d'origine sexuelle ou bien (exceptionnellement ) d'une infestation parasitaire - quoique il ne s'agisse pas d'une vraie ulcération dans ce cas-là.

Les principales bactéries incriminées sont : *Tréponéma pallidum* (SYPHILIS), *Hémophilus ducreyi* (CHANCRE MOU), les sérotypes L1, L2, L3, de *Chlamydia trachomatis* (LGV), et enfin *Calimmatobactérium granulomatis* (GRANULOME INGUINAL).

Dans les circonstances particulières où il n'existe aucune possibilité de diagnostic biologique, il est absolument nécessaire de soigner particulièrement, l'interrogatoire et l'observation clinique, sachant toutefois que la sensibilité diagnostique est dans ce cas très basse:

- Ainsi une ulcération peu douloureuse reposant sur une base infiltrée (*exulcération*) qui donne un aspect cartonné, orientera volontiers vers une étiologie tréponémique (photo annexe 1).

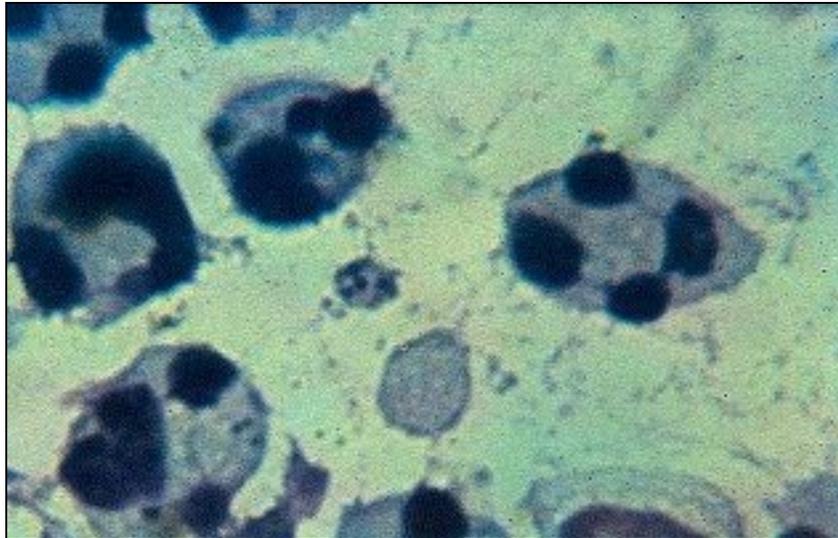


*Photo annexe 1*

Dans ce cas on recherchera avec une grande attention la présence dans le pli inguinal d'un ou plusieurs ganglions, généralement dur et non enflammé.

- Au contraire une ulcération, flasque, douloureuse, enflammée évoquera plus volontiers un **chancre mou**. On recherchera attentivement la présence d'une adénopathie inflammatoire dans les plis inguinaux qui quelquefois peut prendre un aspect de bubon.

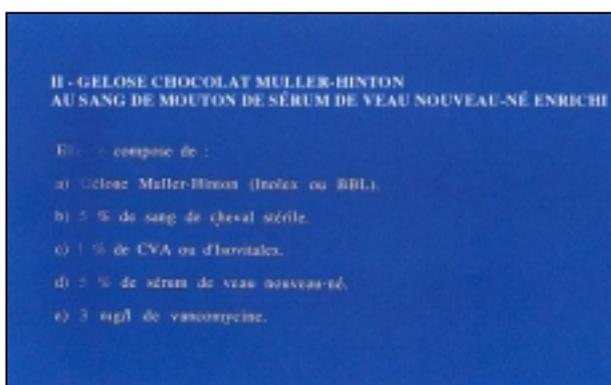
- L'abondance de la flore vaginale de proximité, diminue considérablement l'intérêt de l'examen microscopique direct du frottis fait à partir de la lésion préalablement nettoyée avec une gaze imbibée de sérum physiologique. La coloration de Gram n'est pas la plus indiquée, on lui préfère les colorations à base de bleu (Giemsa, Wright, bleu de toluidine...), dans ces conditions le **bacille de Ducrey** se colore surtout aux extrémités (photo annexe 2), il est isolé ou en très courtes chaînes de trois ou quatre éléments. Des



*Photo annexe 2*

colorations utilisant des immuns sérums et un conjugué fluorescent rendent de grands services, mais ils sont rares et non commercialisés.

La **culture** est indiscutablement le meilleur moyen, à l'heure actuelle de confirmer la présence du bacille de Ducrey. Elles se pratiquera à l'aide d'un écouvillon que l'on rotera lentement sur la lésion préalablement nettoyée avec une gaze humide. Le milieu qui a semblé donner les meilleurs résultats est une gélose chocolat contenant 5% de sérum de veau nouveau-né (photos annexes 3 et 4).



*Photo annexe 3*



*Photo annexe 4*

L'écouvillon est déroulé à la surface du milieu, puis étalé à l'aide d'un enseigneur et **incubé immédiatement à 33° C** en atmosphère enrichie de CO<sub>2</sub>. Les colonies apparaissent après 48 heures ou 72 heures; elles sont petites, transparentes avec un centre acuminé et glissent sur le milieu lorsqu'on veut les recueillir avec l'anse, (photo annexe 4)

Une recherche de  $\beta$  Lactamase doit être entreprise de façon systématique, avant d'entreprendre un traitement. La présence d'un ou de plusieurs plasmides de résistance n'est pas rare et peut faire échec au traitement.

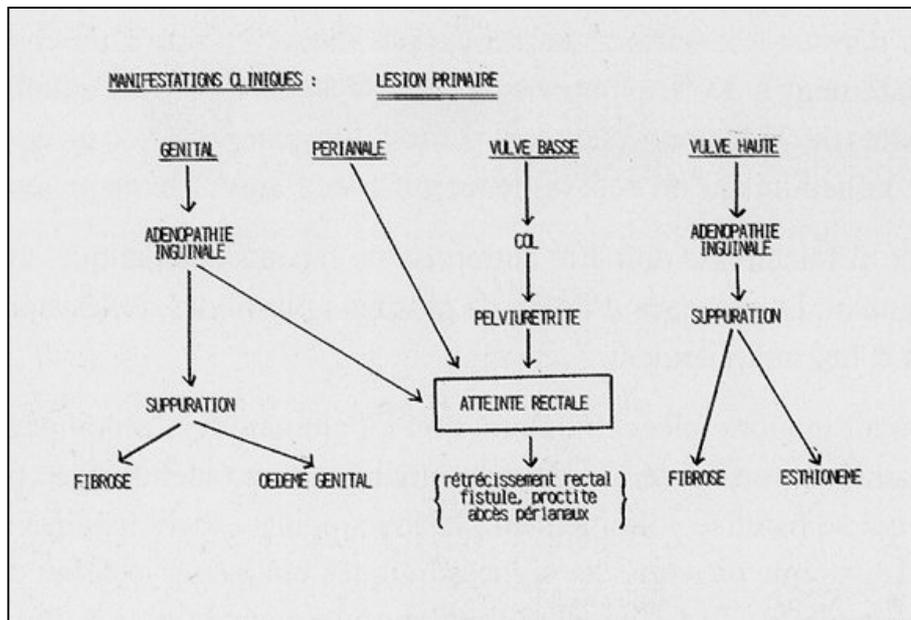
- Une ulcération à l'emporte pièce, indolore, non inflammatoire s'accompagnant parfois d'une adénopathie uni ou bilatérale, de type inflammatoire (adénite avec péri-adénite ), persistante et qui se fistulise volontiers en plusieurs points (abcès fistulisé en « pomme d'arrosoir »). L'extrême pauvreté des signes cliniques fait passer le début de l'infection totalement inaperçue, et c'est la plupart du temps à la **période d'état** (bubon inguinal, souvent bilatéral ) **ou encore au cours des complications**, que la maladie est reconnue (photo annexe 5).



*Photo annexe 5*

Il faut y songer particulièrement lorsque la patiente revient d'un voyage sous les Tropiques, ou qui a eu des relations sexuelles avec un partenaire au retour de pays tropicaux.

La maladie est due à Chlamydia trachomatis des sérotypes L1, L2, L3 qui, à partir **du chancre** d'inoculation (**apparaît 7 à 14 jours après le contact infectant**) essaient rapidement par voie lymphatique - d'où le nom de Lympho granulomatose vénérienne : LGV -, et aussi par voie sanguine (photo annexe 6).



*Photo annexe 6*

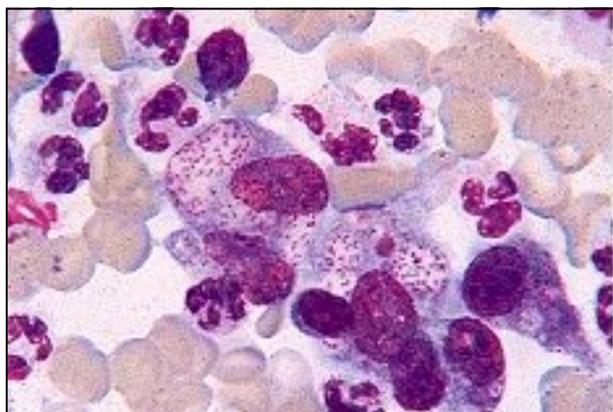
On retrouvera dans la lésion primaire les bactéries, que l'on peut mettre en évidence par des techniques directes simples ou après amplification génique, mais la tendance particulière de ces bactéries à se répandre par voie lymphatique, fait de la sérologie un atout majeur pour le diagnostic. Elle s'avère en général très fortement positive (taux d'anticorps >1/256).

■ Des **lésion ulcérées, souvent très étendues**, indolores dans la forme simple, sans adénopathie satellite, d'aspect « granulomateux », fréquentes dans certaines zones chaudes, tropicales et subtropicales humides, évoquent au plus haut point un **Granulome inguinal** (photo annexe 7).

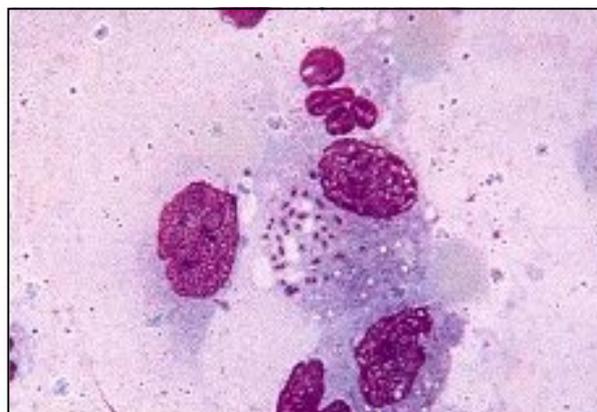


*Photo annexe 7*

Ces lésions sont dues à une bactérie, encapsulée dans sa forme extra cellulaire, ou se présentant sous l'aspect de très fins bacilles acidophiles contenus dans de multiples vacuoles des macrophages qui affluent au site de pénétration. Ce sont « **les corps de Donovan** » (photos annexes 8 et 9). La transmission sexuelle est très contestée et n'a jamais pu être établie de façon certaine.



*Photo annexe 8*



*Photo annexe 9*

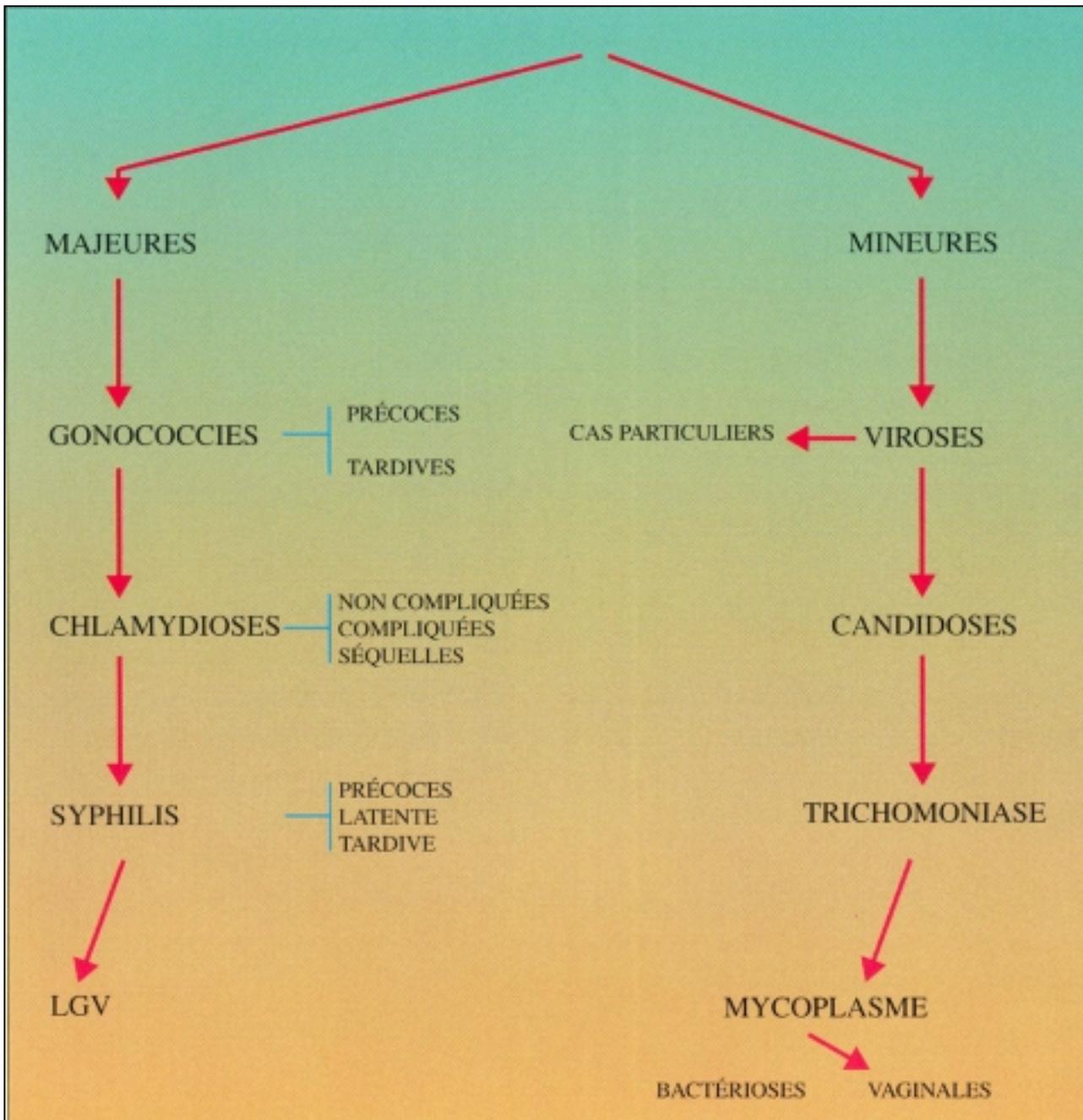
Ces bactéries sont actuellement dénommées, **Calimmatobactérium granulomatis**, mais toute tentative d'isolement a échoué jusqu'à ce jour.

L'aspect du frottis, réalisé en écrasant entre lame et lamelle un bourgeon charnu prélevé au niveau de la lésion, et coloré par le colorant de Wright, est assez évocateur lorsqu'on suspecte la maladie, très rare sous nos climats tempérés.

■ L'apparition inopinée de lésions multiples, dans la sphère génitale, extrêmement douloureuses et, s'accompagnant d'une intense réaction inflammatoire loco-régionale évoquent fortement une poussée herpétique dont l'intérêt mérite une description particulière plus approfondie, ultérieurement.

Les tableaux, très simples qui sont annexés n'ont ( qu'une prétention, celle de déclencher quelques gestes simples qui conduisent à une possibilité de diagnostic, que des techniques plus pointues pourront confirmer.

## Maladies sexuellement transmissibles



## Traitement de la syphilis

1) PRÉCOCE : PRIMO - SECONDAIRE : Benzyl - penicilline (EXTENCILLINE) : 2,4 MUI / IM  
PROCAINE-PÉNICILLINE 1,2 M U / J x 10 + 1 g Probenécide PO

Si allergie prouvée : TÉTRACYCLINES, ERYTHROMYCINE, mais attention échecs !

2) LATENTE : PRIMO SECONDAIRE--- TERTIAIRE : Extencilline 1,2 MUI / sem. x 4  
BICLINOCILLINE 1.2 MUI / j x 15  
: Ponction lombaire systématique

3) SYPHILIS CONGÉNITALE : PÉNICILLINE G : 50.000 U I / Kg / j x 10 (biquotidien).

4) VIH+ → RISQUE ACCRU DE SYPHILIS NERVEUSE

" " " **Séronégativité**

SURVEILLANCE NEUROLOGIQUE

PÉNICILLINE G / IV : 10 - 24 M U / j x 15

## Traitement de la gonococcie

1) **AIGUË** (NON COMPLIQUÉE) / BETA LACTAMASE NÉGATIF :

- AMOXICILLINE (Clamoxyl, Agram, Bristamox...) : 3 g PO + 1 g Probenécide
- AMPICILLINE : 3,5 g PO + 1g "
- PROCAINE PENICILLINE ou BICLINOCILLINE : 4,8 Millions / IM + "
- DOXYCYCLINE (Vibramycine, Spanor 100) : 1 gélule x 2 / j / x 7 jours
- MINOCYCLINE : 1 gélule le soir pendant 7 jours

BETA LACTAMASE +

- CEFOTAXIME (Claforan) : 1 g / IM + 1G Probenécide PO
- CEFOXITINE : 2 g " " " " "
- CEFTRIAXONE (Rocéphine) : 250 mg / IM
- SPECTINOMYCINE (Trobicine) : 2 g / IM

1) **COMPLIQUÉE** ou **EXTRA GENITALE** : (Disséminée, Epididymite, Salpingite) :

- DOSE UNIQUE DE DÉPART (Voir 1) + Traitement prolongé :

- DOXYCYCLINE (Vibramycine, Spanor 100)
- MINOCYCLINE (Minocline)
- MACROLIDES (Erythromycine, Josacyne, Zythromax,...)
- FLUOROQUINOLONES : (Ofloctet, Ciflox...)

# Traitement des Chlamydioses

- PRISE EN COMPTE DES CONSÉQUENCES	SANITAIRES, ÉCONOMIQUES SOCIALES
- SI TRAITEMENT INADÉQUAT →	RECHUTES COMPLICATIONS ÉPIDÉMIOLOGIE
- TENIR COMPTE AVANT TOUT DU CONTEXTE	CLINIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE BIOLOGIQUE
<b>1) INFECTIONS LOCALISÉES</b> →	URÈTRE ENDOCOL RECTUM
- DOXYCYCLINE (Vibramycine, Spanor 100)	100 mg le soir x 10 - 15 jours
- MINOCYCLINE (Minocine)	
- FLUOROQUINOLONES (Ofloset, Ciflox)	
- MACROLIDES (Erythromycine, Josacine, Azythromycine*)	
- * 80 mg ou 40 mg ou même 20 mg / Kg x 3 / jour	
- TRAITER LE / LES PARTENAIRES	

**2) LA FEMME ENCEINTE :**

- LE TRAITEMENT DOIT ÊTRE SYSTÉMATIQUE DÈS LE PREMIER TRIMESTRE EN CAS DE POSITIVITÉ.
- ÉRYTHROCINE 500 mg x 4 / j x 7 jours + partenaires.
- AMOXICILLINE (Clamoxyl, Agram, Bristamox).  
500 mg x 3 / jour X 7 jours.

**3) CONJONCTIVITE DU Nouveau-né :**

- ÉLIMINER UNE GONOCOCCIE.
- Sirop d'ÉRYTHROMYCINE 50 mg / hg x 4 / jour x 15 jours.

**4) PNEUMOPATHIE DU Nouveau-né :**

- Présence d'IgM, taux d'IgM > à celui de la mère.
- ÉRYTHROCINE 50 mg / Kg x 4 / jour x 10 jours ou plus.

**5) LGV :** DOXYCYCLINE 100 mg x 2 / jour x 14.  
MINOCINE : 100 mg / jour / x 14.  
SULFAMIDES : 1 g en quatre fois / jour x 14.  
FLUOROQUINOLONES : 200 mg / jour x 7.  
ÉRYTHROCINE : 500 mg x 4 / jour x 14.  
ROXITHROMYCINE Mieux tolérée et plus active in vitro que l'Érythromycine.

## 6) TRAITEMENT DES COMPLICATIONS :

NE PAS OUBLIER QUE CHLAMYDIA PEUT AGIR SEUL OU ASSOCIÉ GONO  
ANAÉROBIES  
MYCOPLASMES

- DIRECTIVES OMS :

- CÉFOXITINE : 2 g I V x 4 / jour + DOXYCYCLINE 100 mg I V x 2.
- THIAMPHÉNICOL : 500 mg I V x 4 / jour + GENTAMYCINE 1,5 mg / Kg / I V.
- CLINDAMYCINE : 900 mg I V x 3 / jour. " " "

- POURSUIVRE QUATRE JOURS APRÈS LA RÉOLUTION DES SIGNES CLINIQUES.
- DOXYCYCLINE 100 mg x 2 P O / jour x 14 - 21 jours.

Si traitement ambulatoire penser aux associations possibles anaérobies (ana.).

- MÉTRONIDAZOLE 500 mg x 3 / jour / x 10.

- DIRECTIVES CONSENSUS 1993 : CAS AIGÛS ET SUBAIGÛS :

- AMOXYCILLINE + Ac. Clavulanique : 3 - 6 g / jour X 6 P O + ANTI-CHLAM. > 6 sem.
- CEPHALOSPORINES DE 3<sup>ème</sup> GÉNÉRATION + MÉTRONIDAZOLE + ANTI -CHLAM.
- BÉTA-LACTAMINE + AMINOGLYCOSIDE (Gentamycine) + ANTI -CHLAM.
- CLINDAMYCINE I V + GENTA + ANTI -CHLAM. (OFLO.). (2,5 g puis P O 1,8 g).

AJOUTER UN ANTI-INFLAMMATOIRE APRÈS LA DÉFERVESENCE DES SIGNES CLINIQUES.

## Traitement des vaginites

### 1) - CANDIDA ALBICANS : CHOIX

GRAVITÉ  
COMPLIANCE  
COMPLEXITÉ  
COÛT  
PHARMACOLOGIE

AIGÛE  
RÉCIDIVANTE

DÉMONTRER QU'ELLE EST UNIQUE  
INUTILE DE POURSUIVRE LE TRAITEMENT AU-DELÀ DE 7 JOURS

#### MYCOSE OCCASIONNELLE :

- GYNOPEVARYL 150 LP 1 OVULE + CRÈME
- LOMIXIN : ANTIFONGIQUE + ANTIPROTÉASE : 1 OVULE + CRÈME
- TRIFLUCAN (FLUCONAZOLE) 5 mg / j (de 1 à 3 jours).
- ITRACONAZOLE : (SPORANOX).
- PERCONAZOLE...

### 2) - MYCOSES RÉCIDIVANTES : Au moins 4 épisodes / an.

- LOMEXIN : 1 OVULE / J x 1 ou 2... 6 mois

Se fier au calendrier.

Prodromes bien connus des patientes

- TRIFLUCAN : 50 mg / jour x 3, 6 à 8 mois.
- CLARITINE (20 mg / j) - ZIRTEC 4 jours consécutifs, 3 à 6 mois.  
(LORATADINE).

# Vaginites

## - VAGINITE À TRICHOMONAS :

TRAITEMENT DE BASE :

- MÉTRONIDAZOLE 2 g LE SOIR P O.
- COMPRIMÉS GYNÉCOLOGIQUES À 500 ET 750 mg.
- AUTRES DÉRIVÉS : SECNIDAZOLE (FLAGENTYL), TINIDAZOLE (FASIGYNE).

**NE PAS OUBLIER DE TRAITER LE, LA OU LES PARTENAIRES**

SI ÉCHEC = PROBLÈME ÉPIDÉMIOLOGIQUE :

- 500 mg MÉTRONIDAZOLE X 2 / J X 7 jours + 1 cpr gynécologique X 2 / j.

CHEZ LA FEMME ENCEINTE :

- MÉTRONIDAZOLE AU COURS DU PREMIER TRIMESTRE (TOPIQUE).

## - VAGINITES BACTÉRIENNES :

Il s'agit le plus souvent de : ENTÉROBACTÉRIES,  
STREPTOCOQUES (B ou D le plus souvent).  
Bacilles Gram moins OXYDASE +

- PROBLÈME HORMONAL LE PLUS SOUVENT

GERMES - CLÉS : ACTINOMYCES ISRAELI (Endométrites, Salpingites). Associées au DIU.

STAPHYLOCOQUE DORÉ (Tampon oublié, corps étranger).  
MYCOPLASMES

**TRAITEMENT SELON LA FLORE ISOLÉE,  
L'INTENSITÉ DE LA RÉACTION INFLAMMATOIRE,  
LE TAUX DE BACTÉRIES ISOLÉES.**

## Les bactérioses vaginales

ELLES SONT CARACTÉRISÉES PAR LA PRÉSENCE DE TROIS AU MOINS  
DES CRITÈRES SUIVANTS : pH > 4,2

SNIF-TEST (KOH à 10 %) POSITIF

ODEUR NAUSÉABONDE DES SÉCRÉTIONS

PRÉSENCE DE CLUE-CELLS

**LE TRAITEMENT A POUR OBJECTIF DE RÉTABLIR L'ÉQUILIBRE MOMENTANÉMENT PERDU.**

3 SCHÉMAS D'ÉGALE VALEUR :

- MÉTRONIDAZOLE (FLAGYL) : 500 mg X 2 / J X 7 (inactif sur *Mobiluncus curtislii*).

- CLINDAMYCINE CRÈME (DALACINE gel, DALACINE T Topic Phosphate).

300 mg ou 500 mg / J EN DEUX FOIS X 10.

INCONVÉNIENTS : SÉLECTION DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE → DIARRHÉES

- CLINDAMYCINE CRÈME (0,1, 1, 2 %\*) MATIN ET SOIR X 5 - 7 J.

**N'A AUCUNE INFLUENCE SUR LA FLORE LACTOBACILLAIRE**

\* DIMINUE LES RÉCURRENCES QUI DANS CE CAS PEUT POSER LE PROBLÈME DU TRAITEMENT CONCOMITTENT DU PARTENAIRE

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 1- DODERLEIN A., Das Scheidensekret und Seine Behandlung fin purpura ficher (in German), Lespzig : E. Besold, 1892. Taken from central, *Bakteriol. Parasiten*, 1892, 11, 699, German abstract.
- 2- BEIJERINK M.W., cited in SNEATH P.H.A., MAIR N.S., SHARPE M.E., HOLT J.G., Eds Bergeys Manual of Systematic Bacteriology, vol. 2, *Baltimore M.D.*, William and Wielkins.
- 3- ROGOSA M., SHARPE M.E., Species differentiation of human vaginal lactobacilli, *J.Gem. Microbiol.*, 1960, 23, 197-201.
- 4- GIORGI A., TORRIANI S., DELLAGLIO F., Bs G., STOLA E., BERNUZZI L., Identification of vaginal lactobacilli from asymptomatic women, *Microbiologica*, 1987, 10, 337-384.
- 5- ESCHENBACH D.A., DAVICK P.R., WILLIAMS B.L., KLEBANOFF S.J., YOUNG-SMITH K., CRITCHLOW C.M., HOLMES K.K., Prevalence of hydrogen peroxyde-producing Lactobacillus species, in normal women, and women with bacterial vaginosis, *J. Clin. Microbiol.*, 1989, 27, 151-256.
- 6- KRIVAN M.C., Microbial adhesion : glycolipids as possible receptors for vaginal pathogens. 2<sup>nd</sup> international Meeting ou vaginitis & vaginosis, *March. Orlando. Fla.*, 1989, 20-31.
- 7- BENSON J. HOROWITZ M.D., MARDH P.A., SOBEL Jack D., COOK Roger L., Vicenta REDONDO-LOPEZ editors, in *Vaginitis and vaginosis*, 1991, Wiley-Liss Inc.
- 8- MASI A.T., EISENSTEIN B.I., Disseminated Gonococcal Infection (DGI) and Gonococcal arthritis (GCA), II Clinical manifestations, Diagnosis, Complications, treatment and prevention, *Sem. Arthritis Rheum.*, 10, 173, 1981.
- 9- RICE R.J., THOMSON S.E. : Treatment of uncomplicated infections dues to N. Gonorrhoeae. A review of clinical efficacy and in vitro susceptibilty studies from 1982 through 1985. *Jama* 1986. 255. 1739-1745.
- 10- MARCHAL C., TAHA M.K., LARRIBE M., SEIFERT H.S., SO M. : Bases moléculaires de la virulence de la *N. gonorrhoeae*. *Bull. Acad. Nat. Med.* 1991; 175 : 823-834.
- 11- RICE R.J., THOMPSON S.E., *JAMA*, 1986, 225.
- 12- GOLTZ S.P., DONEGAN J.J., YANG H.L., POLLICE M., TODO J.A., MOLINA M.M., VICTOR J., KELKER N., The use of non radioactive DNA probes for rapid diagnosis of STD bacterial infection, in MACARIO A.J.L., CONWAY E. (Eds), *Academic Press. Inc.*, N.Y., 1990, 2-44.
- 13- LAMMEL C.J. et al., Antibody-Antigen specificity in the immune response to infection with Neisseria gonococcus., *J. Infect. Dis.*, 152, 1985-1990.

- 14- SANDSTRÖM E.G. et al., Serology of *Neisseria gonorrhoeae* : Coagglutination serogroups W I, W II, W III, correspond to different outer membrane protein I molecules, *Infect. Immunol.*, 38, 462, 1982.
- 15- PIERCE W.A., BUCCHANAN T.M., Attachment role of gonococcal pili : Optimum conditions and quantitation adherence of isolated pili to human cells in vitro, *J. Clin. Invest.*, 61, 931, 1978.
- 16- KING G.L., SWANSON J., Studies in gonococcal infection : XV – Identification of surface proteins of *Neisseria gonococcus* correlate with leucocytes association., *Inf. Immunol*, 21, 575, 1978.
- 17- ROBERTSON J.N., HECKELS J.E., WARD M.E., Tubal infertility in Gambia : Chlamydial and Gonococcal serology, in women with tubal occlusion, compared with pregnant controls, *Bull. World health Organisation*, 1985, 63, 1107-1113.
- 18- CARBONETTIN., SIMNAD V., ELKINS C., SPARLING F., Molecular Biology of Gonococcal porin protein P I, a candidate vaccine component, in “vaccines for Sexually Transmitted Disease”, MEHEUS A. And SPIER R.E. (Eds).
- 19- FORBE G., FORBES G.M. Silver nitrate and the eyes of the new-born, *Am. J. Dis Child.*, 121, 1, 1971.
- 20- FARUKI H. et al., A community-based outbreak of infection with penicillin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* not producing penicillinase (chromosomally mediated resistance), *N. Engl. J. Med.*, 313, 607, 1985.
- 21- ROBERTS M. Et al., Molecular characterization of two beta-lactamases specifying plasmids from *Neisseria gonorrhoeae*, *J. Bacteriol.*, 131, 557, 1977.
- 22- Centers for dis. Control. Penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae*, United states, 1986, *MMWR*, 36, 107, 1987.
- 23- Centers for dis. Control, Sentinel survey Control for antimicrobial resistance in clinical isolates of *Neisseria gonorrhoeae*, *MMWR*, 36, 585, 1987.
- 24- ASHFORD W.A. et al., Spectinomycin-resistant penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae*, *Lancet*, 2, 1035, 1981.
- 25- BUNNEL R., National Center for Diseases Control, Atlanta, Division of Sexually Transmitted Diseases, 1999.
- 26- MEHMET G., M.D. Ph. D., MARDH P.A., M.D. Ph.D., A cost-effectiveness Analysis of Screening and treatment for *Chlamydia trachomatis* Infection in Asymptomatic Women, *Ann. Int. Med.*, 124, 1996, 1.
- 27- GOULET V., BLAISOT B., MACKIE M., COSTE E., ORFILA J., CATALAN F. : Etude des chlamydioses en 1989, à partir d'un Réseau de Laboratoires d'Analyses Médicales (*Enquête RENACHLA*). B.E.H. n° 27/1990 – juillet 1990.

- 28- STEPHENS R.S., Molecular mimicry and *Chlamydia trachomatis* infection of eucaryotic cells, *Trends Microbiol.*, 1994, 2, 99-101.
- 29- HACKSTADT T., SCIDMORE M.A., ROCK D.D., Lipid metabolism in *Chlamydia trachomatis*-infected cells : directed trafficking of Golgi-derived sphingolipids to the chlamydial inclusion, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, USA, 1995, 92, 4877-4881.
- 30- HACKSTADT T., ROCKY D.D., HEINZEN R.A., SCIDMORE M.A., *Chlamydia trachomatis* interrupts an exocytic pathway to acquire endogenously synthesized sphingomyelin in transit from the Golgi apparatus to the plasma membran., *EMBO J.*, 1996, 15, 964-977.
- 31- BRUNHAM R.C., MACLEAN I.W., BINNS B., PEELING R.W., *Chlamydia trachomatis* : its role in tubal infertility, *J. Infect. Dis.*, 1985, 152, 1275-1282.
- 32- WAGAR E.A., SCHACHTER J., BAVOIL P., STEFENS R.S., Differential human serologic response to tow 60.000 molecular weight *Chlamydia trachomatis* antigens, *J. Infect. Dis.*, 1990, 162, 1076-1081.
- 33- PEELING R.W., BAILEY R.L., CONWAY D., HOLLAND M.J., DILLON E. MABEY D.C.W., Antibody response to the chlamydial heat shock protein 60 is associated with scarring trachoma, 96<sup>th</sup> American Society for Microbiology meeting, New Orleans, May 1996, Abstract, 2871.
- 34- BRUNHAM R.C., PEELING R.W., *Chlamydia trachomatis* antigens : role in immunity and pathogenesis, *Infect. Agents dis.*, 1994, 3, 218-233.
- 35- BRUNHAM R.C., PLUMMER F., STEFFENS R.S., Bacterial antigenic variation, host immune response and pathogen-host co-evolution, *Infect. Immun.*, 1993, 61, 2273-2276.
- 36- BRUNHAM R., YANG C., MC LEAN I., KIMANI J., MAITHA G., PLUMMER F., *Chlamydia trachomatis* from individuals in a sexually transmitted disease core group exhibit frequence sequence variation in the major outer membrane protein gene (omp-1), *J. Clin. Invest.* 1994, 94, 458-463.
- 37- DEAN D., SCHACHTER J., DAWSON C.R., STEFENS R.S., Comparison of the major outer membrane protein variant sequence regions of B/Ba isolates : a molecular epidemiologic approach to *Chlamydia trachomatis* infections, *J. Infect. Dis.*, 1992, 166, 383-392.
- 38- CONWAY D.J., HOLLAND M.J., CAMPBELL A.E., BAILEY R.L., KRAUSA P., PEELING R.W. et al., HLA class I and class II polymorphism and trachomatous scarring in a *Chlamydia trachomatis*-endemic population, *J. Infect. Dis.*, 1996, 174, 643-646.

- 39- SCHACHTER J., DAWSON C.R., Reiter's syndrome. Human Chlamydial infections, Littleton MA, PSG Publishing Co., 1978.
- 40- STAMM W. et al., *J. Infect. Dis.*, 1999, 179, S 380-383.
- 41- CALDWELL H.D., KUO C.C., KENNY G.E., Antigenic analysis of *Chlamydiae* by two dimensional immunoelectrophoresis, *J. Immunol.*, 1975, 115, 969-975.
- 42- SAYADA C., DENAMOUR E., XERRIB., ORFILA J., CATALAN F., HELION J., Rapid genotyping of the *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein by the polymerase chain reaction, *FEMS Letters*, 1991, 83, 73-78.
- 43- KELLOG J.A., SEIPLE J.W., HICK M.E., Cross-reaction of clinical isolates of bacterias and yeasts with the Chlamydiazyme test for chlamydial antigen, before and after use of a blocking agent, *Am. J. Clin. Pathol.*, 1992, 97, 309-312.
- 44- JONES R.B., KATZ B.P., VAN DER POL B., CAINE V.A., BATEIGER B.E. et al., Effet of blind passage and multiple sampling on recovery of Chlamydiae from urogenital specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 1986, 24, 1029-1033.
- 45- SCHACHTER J. Biology of chlamydia trachomatis. In Holmes K.K., Mårdh P.A., Sparling P.F., Wiesner P.J. eds, *Sexually Transmitted diseases*, New York, Mc Graw-Hill, 1984, 243-257.
- 46- SCHMID J. et al., 1993, January, *J. of Clin. Microbiol.*, vol. 31, n° 1, 39-46.
- 47- WILSON J.D., Female Genital Infection, Martin Duwitz editor, 1995.
- 48- SOLL et al., In *vaginitis and vaginosis*, Besson J., Horowitz M.D., Per Anders Mårdh, MD Editions, Wales hic.
- 49- SOLL D.R., GALASK R., ICHEY S. et al., Switching of candida albicans during successive episodes of recurrent vaginitis, *J. Clin. Microbiol.*, 1989, 27, 681-690.
- 50- BISSCHOP and al., Cotreatment of the male partner in vaginal candidiosis. A double blind randomised, Control Study, 1986, 93, 79-81.
- 51- SQUIER C.A., Candida albicans ultrastructure : colonisation and invasion of oral epithelium, *Infect. Immunol.*, 1980, 29, 252-260.
- 52- SOBEL J.D., MYERS P., LEVISION M.E., KAYED., C. Albicans adherence to vaginal epithelial cells, *J. Infect. Dis.*, 1981, 143, 76-82.
- 53- GAUDIN R.L., ROGERS A.L., PATERSON R. BIENKE E.S., Evidence for mannose mediated adherence of candida albicans to human buccal cells in vitro, *Inf. Immun.*, 1982, 35, 79-85.

- 54- RICHARDSON M.D., SOUTH H., Production of germ tubes by virulent and attenuated strains of candida albicans, *J. of Infect. Dis.*, 1981, 144, 565-569.
- 55- SEGAL E., LEHRER N., ITSHAK Q., Adherence of candida albicans to human vaginal epithelial cells, Inhibition by aminosugars, 1982, *Exp. Cell. Biol.*, 50, 13-17.
- 56- KALO A., SEGAL E., SAHAR A., DAYAND., Interaction of candida albicans with genital mucosal surfaces : involvement of fibronectin in adherence, *J. of Inf. Dis.*, 1988, 157, 1253-1256.
- 57- DIAMOND R.D., OPPENHEIM F., NAKAGAWA Y., KRIZESICKI R., HAN-DEUSHILD L.L., Properties of a product of candida albicans hyphae and pseudohyphae that inhibits contact between the fungi and human neutrophils in vitro, *J. of Immunol.*, 1980, 125, 2797-2804.
- 58- PICOLELLA E., LOMBARDI G., MORELLI R., Generation of suppressor cells in the response of human lymphocytes to a polysaccharide from candida albicans, *J. of Immunol.*, 1981, 126, 2151-2155.
- 59- PUGH D., CAWSON R.A., The cytochemical localization of phospholipase in candida albicans infecting the chick chorioallantoid membrane, I, 1977, 15, 29-35.
- 60- BRADBEER C.S., MAYHEW S.R., BARLOW Y.D., Butoconazole and Miconazole in treating vaginal candidiosis, *Genitourin. Med.*, 1985-61, 270-272.
- 61- MC NELLIS D., MC LEOD M., LAWSON J., PASQUALE S.A., Treatment of vulvovaginal candidiosis in pregnancy. A comparative study, *Obstet. Gynecol.*, 1977, 50, 674-678.
- 62- DROEGMULLER W., ADAMSON D.G., BROWN D. Et al., Three Days treatment with butoconazole nitrate for vulvovaginal candidiosis, *Obst. Gynecol.*, 1984, 64, 530-534.
- 63- FORSSMAN L., MILSON I., Treatment of recurrent vaginal candidiosis, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1985, 153, 959-961.
- 64- LEBHERZ T., GUESS E., WOLFSON N., Efficacy of single-versus-multiple dose Clotrinazole therapy in the management of vulvo vaginal candidiosis, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1985, 153, 965-968.
- 65- DAVIS J.R., FRUDENFELD J.H., GODDART J.L., Comparative evaluation of Monistot and Mycostatin in the treatment of vulvo vaginal candidiosis, *Obstet. Gynecol.*, 1974, 44, 403-406.
- 66- MARKS H.J., A double blind comparison of Clotrimazole and nystanine vaginal tablets in candida vaginitis, *Postgrad. Med. J.*, 1974, 50, 105-106.

- 67- VAN SLYKE K.K., MICHEL V.P., REIN M.F., Treatment of vulvovaginal candidosis with boric acid powder, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1981, 141, 145-148.
- 68- MULLER M., Mode of action of metronidazole in anaerobic bacteria and protozoa, *Surgery*, 1983, 93, 165-171.
- 69- NIELSEN M.H., NIELSEN R., Electro microscopy of trichomonas vaginalis Donn  Interaction with vaginal epithelium in human trichomoniasis, *Acta. Pathol. Microbiol. Scant (B)*, 1975, 83, 305-390.
- 70- LOCKWODD B.C., NORTH M.J., COOMBS G.H., The release of hydrolase from trichomonas vaginalis and trichomonas foetus, *Mol. Biochem. Parasitol.*, 1988, 30, 135-142, 32.
- 71- ARROYO R., ALDERETTE J.F., Trichomonas vaginalis surface proteinase activity is necessary for parasite adherence to epithelial cells, *J. of Immun.*, 1989, 57, 1991-1997.
- 72- LOSSICK J.G., Treatment of trichomonas vaginalis infections, *Rev. Infect. Dis.*, 1982, 4, S 801-S 818.
- 73- LOSSICK J.G., Treatment of intractable vaginal trichomoniasis. In *Vaginitis and vaginosis* : Benson J., Horowitz M.D. and Per-Anders M rdh M.D. Editors, 1991, Wiley-Liss Inc., 21-220.
- 74- THOMSON L., Other oxydase positive bacteria found in cultures made for neisseria gonorrhoeae, *J. Bacteriol.*, 1936, 31, 82-83.
- 75- HENRIKSEN S.D., Gram negative diplobacili from the genito urinary tract., *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, 1947, 24, 184-197.
- 76- LEOPOLD S., Heretofore undescribed organism isolated from the genito urinary system, US Armed Forces, *Med. J.*, 1953, 4, 263-266.
- 77- GARDNER H.L., DUKES C.D., New etiologic agent in non specific bacterial vaginitis (letter), *Science*, 1954, 120, 853.
- 78- GARDNER H.L., DUKES C.D., Hemophilus vaginalis vaginitis : a newly defined specific infection previously classified as non specific vaginitis, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1955, 69, 962-976.
- 79- HELTA  A., TALEGHANY P., Non specific vaginal infections. A critical evaluation of hemophilus vaginalis, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1959, 77, 144-148.
- 80- LEPAGE S.P., Hemophilus vaginalis and its role in vaginitis, *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, 1961, 52, 34-54.
- 81- ZINNERMAN K., TURNER G.C., The toxonomic position of haemophilus vaginalis (corynebacterium vaginale), *J. Path. Bacteriol.*, 1961, 85, 213-219.

- 82- MC CORMACK W.M., HAYES C.H., ROSSNER B. Et al., Vaginal colonization with *Corynebacterium vaginale* (*haemophilus vaginale*), *J. Infect. Dis.*, 1977, 136, 740-745.
- 83- GREENWOOD J.R., PICKETT M.J., Transfer of *haemophilus vaginalis*. Gardner and Dukes to a new genus *gardnerella* : *G. Vaginalis* (Gardner and Kukes), *Comp. Nov. Inter., J. System Bacteriol.*, 1980, 30, 170-178.
- 84- PIOT P., VAN DYCK E., GOOD FELLOW M., FALKOW S., A taxonomic study of *gardnerella vaginalis* (*haemophilus vaginalis*), Gardner and Dukes 1955, *J. Gen. Microbiol.*, 1980, 119 (pt 2), 373-396.
- 85- TOTTEN P.A., AMSEL R., HALE J., PIOT P., HOLMS K.K., Selective differential human blood bilayer media, for isolation of *gardnerella vaginalis* (*haemophilus*), *J. Chir. Microbiol.*, 1982, 15, 141-147.
- 86- KRÖNIG I., Über die Natur der Scheidemkemie Speziell über 12 das vorkamen Anaerober Streptokokken in schimdensecret Schmangem, Leipzig, 1892, 48.
- 87- CURTIS A.H., A mobile curved anaerobic bacillus in uterin discharges, *J. Inf. Dis.*, 1933, 12, 165-169.
- 88- BREWER J.L., HALPERN B., THOMAS G., *Hemophilus vaginalis* vaginitis, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1957, 74, 834-843.
- 89- DURIEUX R., DUBLANCHET A., Les vibrions anaérobies des leucorrhées, I: technique d'isolement et sensibilité aux antibiotiques, *Med. Mal. Infect.*, 1980, 10, 109-115.
- 90- THOMASON J.L., SCHRECKENBERGER P.C., LE BEAU L.J. WILCOSKI L.M., SPELLACY W.N., A selective and differential agar for anaerobic comma-shaped bacteria recovered from patients having mobile rods, and non specific vaginosis, *Scand. J. Urol. Nephrol.*, 1984, 86 (suppl.), 125-128.
- 91- PELOUX Y., THOMAS P., A propos de quelques bactéries mobiles, anaérobies gram négatif, *Rev. Inst. Pasteur*, Lyon, 1981, 14, 103-111.
- 92- SPROTT M.S., PATTMAN R.S., INGHAM H.R., SHORT G.R., NARANG H.K., SELKON J.B., Anaerobic curved rods in vaginitis (letters), *Lancet*, 1982, 1, 54.
- 93- HOLST E., SKARIN A., MÄRDH P.A., Characteristics of anaerobic comma-shaped bacteria recored from the female genital tract, *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 1982, 1, 310-316.
- 94- HOLST E., WHATNE B., HOVELIUS B., MARDH P.A., Bacterial vaginosis. Microbiological and clinical **fuidings**, *Eur. J. Clin. microbiol.*, 1987, 6, 536-541.

- 95- SKARIN A., Mobiluncus. Characteristics of a comma-shaped, mobile, anaerobic bacterium cultured from the human vagina, Lund, Sweden, University of Lund, 1986, Thesis.
- 96- SPIEGEL C.A., ROBERTS M., Mobiluncus gen. nov., Mobiluncus curtisii subsp. Curtisii sp. nov. Mobiluncus curtisii subsp holmesii subsp nov., and Mobiluncus mulliériis sp., nov. Curved rods from the human vagina, *Int. J. System Bacteriol.*, 1984, 34, 177-184.
- 97- WESTROM L., EVALDSON G., HOLMES K.K., VAN DER MEIJEDN W., RYLANDER E., FREDRIKSON B., Taxonomy of vaginosis. Bacterial vaginosis a definition, In : Mårdh P.A., Taylor-Robinson D. Eds. Bacterial vaginosis, Uppsala, Stockholm, Sweden, Almquist and Wiksell, International, 1984, 259-260.
- 98- BRAND J.M., GALASK R.P., Trimethyl amine : the substance mainly responsible for the fishy odor often associated with bacterial vaginosis, *Obstet. Gynecol.*, 1986, 68, 682-685.
- 99- THOMASON J.L., GELBART S.M., ANDERSON R.J., OSYPOWSKI P.J., Statistical evaluation of diagnostic criteria for bacterial vaginosis, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1990, 162, 155-160.
- 100- THOMASON J.L., GELBART S.M., WILCOSKI L.M., PETERSON A.K., JILLY B.J., HAMILTON P.R., Proline aminopeptidase activity as a rapid diagnostic test to confirm bacterial vaginosis, *Obstet. Gynecol.*, 1988, 71, 607-611.
- 101- LARSSON P.G., BERGMAN B.B., Is there a causal connection between motile curved rods, Mobiluncus species, and bleeding complication? *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1986, 154, 107-108.
- 102- PAAVONEN J., CRITCHLOW C.W., DEROVEN T. and al., Etiology of cervical inflammation, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1986, 154, 556-564.
- 103- ESCHENBACH D.A., HILLIEM S., CRITCHLOW C., STEVENS C., DE ROVENT T., HOLMES K.K., Diagnosis and clinical manifestations of bacterial vaginosis, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1988, 158, 819-828.
- 104- WESTROM L., Clinical manifestations and diagnosis of I.D., *J. Repro. Med.*, 1983, 28 (suppl.), 703-708.
- 105- BEJAR R., CURBELO V., DAVIS C., GLUCK L., Premature labor II : Bacterial sources of phospholipases, *Obstet. Gynecol.*, 1981, 57, 479-482.

EGOPRIM  
30/32 rue du Couëdic – 75014 PARIS

Juin 2000  
Dépôt légal : Juin 2000

ISSN / 1296 2892  
ISBN 2-913633-27-7

***Cahiers de formation déjà parus***

- |                                      |                                       |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| N° 1 : <i>HÉMATOLOGIE</i>            | N° 15 : <i>DÉPISTAGE</i>              |
| N° 2 : <i>IMMUNOANALYSE</i>          | <i>DE LA TRISOMIE 21</i>              |
| N° 3 : <i>PARASITOLOGIE</i>          | N° 16 : <i>IMMUNO-ALLERGIE (2)</i>    |
| N° 4 : <i>BACTÉRIOLOGIE</i>          | N° 17 : <i>VIRUS DES HÉPATITES</i>    |
| N° 5 : <i>HORMONOLOGIE</i>           | <i>A (VHA) et E (VHE)</i>             |
| <i>GAZOMÉTRIE</i>                    | N° 18 : <i>DOSAGE DES MÉDICAMENTS</i> |
| N° 6 : <i>G.B.E.A.</i>               | <i>TOME II</i>                        |
| N° 7 : <i>IMMUNO-ALLERGIE (1)</i>    | N° 19 : <i>VAGINITES ET VAGINOSES</i> |
| N° 8 : <i>HÉMOGLOBINES GLYQUÉES</i>  | N° 20 : <i>HÉMOSTASE ET THROMBOSE</i> |
| <i>LIPIDES</i>                       | N° 21 : <i>VIRUS DES HÉPATITES</i>    |
| N° 9 : <i>DOSAGE DES MÉDICAMENTS</i> | <i>B (VHB), DELTA (VDH),</i>          |
| <i>TOME I</i>                        | <i>C (VHC), AUTRES</i>                |
| N° 10 : <i>HÉMATOLOGIE</i>           | N° 22 : <i>SYNDROME</i>               |
| <i>CAS ILLUSTRÉS</i>                 | <i>DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES</i>        |
| N° 11 : <i>AMIBES ET FLAGELLÉS</i>   | N° 23 : <i>PARASITES SANGUINS</i>     |
| <i>INTESTINAUX</i>                   | N° 24 : <i>BIOCHIMIE PEDIATRIQUE</i>  |
| N° 12 : <i>LES MALADIES A PRIONS</i> | N° 25 : <i>LES MOISSISSURES</i>       |
| N° 13 : <i>AUTOIMMUNITÉ</i>          | <i>D'INTÉRÊT MÉDICAL</i>              |
| <i>ET AUTOANTICORPS</i>              |                                       |
| N° 14 : <i>L'EXPLORATION</i>         |                                       |
| <i>DE LA THYROÏDE</i>                |                                       |

BIOFORMA est la structure nationale qui gère et organise la formation continue conventionnelle des directeurs et directeurs adjoints de L.a.b.m. privés.

Cette formation continue est financée par les trois Caisses Nationales de l'Assurance Maladie (C.N.A.M.T.S., C.C.M.S.A., et C.A.N.A.M.) dans le cadre de la convention passée entre elles et les trois syndicats de biologistes. (S.d.B., S.N.M.B., et S.L.B.C.).

A ce titre, BIOFORMA édite des cahiers de formation comme celui-ci.

Ces ouvrages sont distribués à chaque laboratoire d'analyse de biologie médicale, privés et hospitaliers, aux inspecteurs des DRASS, aux pharmaciens et médecins conseils des CRAM, aux responsables de la DGS et du Ministère de la Santé. Les précédents numéros, ou épuisés en version papier, seront disponibles à la consultation sur le site Internet [www.bioforma.net](http://www.bioforma.net) à partir de 2002.

Ces livres ne sont pas en vente dans le commerce et le tirage est de 6 500 exemplaires.