

## ETUDE COMPARATIVE DES CRITERES D'AMSEL ET DU SCORE DE NUGENT POUR LE DIAGNOSTIC DE LA VAGINOSE BACTERIENNE A COTONOU, BENIN.

AFFOLABI D. \*, SISSINTO Y., BOKO G., AKONDE L., SOGBO F., AHOTIN G., MASSOUGBODJI A., ANAGONOU S.

Service de Microbiologie, Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou Maga, Cotonou

(\* Auteur correspondant : Dissou AFFOLABI  
Service de Microbiologie, Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou Maga, Cotonou

Telephone: +229-66-61-48-62

Email: [affolabi\\_dissou@yahoo.fr](mailto:affolabi_dissou@yahoo.fr)

(Reçu le 23 Août 2013; Révisé le 14 Octobre 2013; Accepté le 09 Novembre 2013)

### RESUME

Objectifs : Comparer les critères d'Amsel et le score de Nugent pour le diagnostic de la vaginose bactérienne (VB) à Cotonou et déterminer l'apport relatif de ces deux approches pour le diagnostic de la VB.

Matériel et méthodes : Il s'agit d'une étude prospective, qui s'est déroulée au Laboratoire de Bactériologie du Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou Maga de Cotonou du 06 mars au 06 mai 2013. Ont été inclus dans l'étude, tous les sujets de sexe féminin, âgés d'au moins 15 ans et consécutivement reçus dans ledit laboratoire pour examen cyto-bactériologique des sécrétions génitales durant la période d'étude. Pour chaque sujet, la recherche de la VB a été effectuée en utilisant les critères d'Amsel et le score de Nugent.

Résultats. La prévalence de la VB était de 35,9% selon les critères d'Amsel et de 42,7% selon le score de Nugent. Il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les deux approches de diagnostic ( $p = 0,36$ ). Cependant, en utilisant des critères composites Amsel/ Nugent (score de Nugent  $\geq 7$  et/ou score de Nugent  $\geq 4 +$  au moins 3 critères d'Amsel présents), la prévalence de la VB était de 48,5%.

Conclusion : Le diagnostic de la VB pourrait être amélioré par l'utilisation de critères composites Amsel/ Nugent. D'autres études sont néanmoins nécessaires pour confirmer ces observations.

Mots clés : vaginose bactérienne, Amsel, Nugent.

### ABSTRACT

Objectives: To compare Amsel criteria and Nugent score for the diagnosis of bacterial vaginosis (BV) and to determine a possible complementarity between the two diagnostic approaches.

Materials and methods: This prospective study was performed in the Bacteriology Laboratory of The National Teaching Hospital Hubert Koutoukou Maga, Cotonou, from March 6<sup>th</sup> to May 6<sup>th</sup>, 2013. All female patients, older than 15 years, admitted in the laboratory during the study period for genital fluid examinations, were included in the study. For each patient, genital fluid examination was performed, using Amsel criteria and Nugent score.

Results: Prevalence of BV was 35.9% according to Amsel criteria and 42.7% using Nugent score. There was no statistically significant difference between the two diagnostic approaches ( $p = 0.36$ ). However, using composite Amsel/ Nugent criteria, (Nugent score  $\geq 7$  and/or Nugent score  $\geq 4 +$  at least 3 Amsel criteria present), BV prevalence was improved to 48.5%.

Conclusion: Diagnosis of VB could be improved by composite Amsel/ Nugent criteria; further studies are needed however to confirm this finding.

Key words: Bacterial vaginosis, Amsel, Nugent.

## INTRODUCTION

La vaginose bactérienne (VB) est un état pathologique caractérisé par un déséquilibre de la flore microbienne du vagin. Elle se traduit en général par la disparition des lactobacilles au profit d'une prolifération importante d'autres germes tels que *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Mobiluncus spp* et autres bacilles à Gram négatif anaérobies (SOBEL, 1997 ; FORSUM et al., 2005). C'est une cause fréquente d'infections génitales chez les femmes en âge de procréer, et une source importante d'inconfort et de stress chez ces sujets. Sa responsabilité a été également reconnue dans les avortements spontanés, les accouchements prématurés, les faibles poids de naissance, l'endométrite du post-partum et l'infertilité (DONATI et al., 2010). De plus, plusieurs études épidémiologiques ont montré que la VB pourrait être associée à une susceptibilité accrue à l'infection par le VIH et aux autres infections sexuellement transmissibles (TAHA et al., 1998 ; MARTIN et al., 1999).

Pour le diagnostic de la VB au laboratoire, Amsel et al. ont décrit en 1983, des critères bio-cliniques basés sur l'aspect macroscopique des sécrétions génitales, leur pH, le test à la potasse et l'examen microscopique des sécrétions (AMSEL et al., 1983). Compte tenu des limites de ces critères pour le diagnostic de la VB, Nugent et al. ont développé en 1991, un score basé uniquement sur l'examen microscopique des sécrétions génitales après coloration de Gram (NUGENT et al., 1991). Ce score aboutit à une classification en flore vaginale normale, flore intermédiaire ou VB.

Bien que le score de Nugent soit utilisé dans beaucoup de laboratoires, il constitue une approche imparfaite de diagnostic de la VB si bien que plusieurs études sont actuellement menées pour l'améliorer ou pour développer de nouveaux tests plus performants, comme les

tests moléculaires (CHAWLA et al., 2013 ; SHA et al., 2005). Par ailleurs, compte tenu de leur simplicité, les critères d'Amsel continuent d'être utilisés dans certains laboratoires.

Dans la présente étude, nous nous sommes proposés de comparer le score de Nugent et les critères d'Amsel pour le diagnostic de la VB à Cotonou et de déterminer l'apport relatif de ces deux approches pour le diagnostic de la VB.

## MATERIEL ET METHODES

### Type d'étude

Il s'agit d'une étude prospective, comparative qui s'est déroulée au Laboratoire de Bactériologie du Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou Maga (CNHU-HKM) de Cotonou du 06 Mars au 06 Mai 2013. Ont été inclus dans l'étude, tous les sujets de sexe féminin, âgés d'au moins 15 ans et consécutivement reçus dans ledit laboratoire pour examen cyto-bactériologique des sécrétions génitales durant la période d'étude.

### Manipulations effectuées

**Recueil des échantillons.** Pour chaque sujet, après mise en place d'un spéculum non lubrifié, les sécrétions ont été recueillies dans le cul-de-sac vaginal postérieur à l'aide de 3 écouvillons.

**Aspect des sécrétions.** Au niveau du spéculum, l'aspect macroscopique des sécrétions a été noté.

**pH.** Il a été mesuré en mettant en contact les sécrétions génitales sur le spéculum avec une bandelette de papier indicateur de pH et en lisant immédiatement le pH correspondant par observation du changement de couleur de la bandelette.

**Test à la potasse.** Un écouvillon a été déposé sur une lame porte objet puis une goutte de solution de potasse à 10% a été ajoutée. Le test

Etude comparative des critères d'Amsel et du score de Nugent pour le diagnostic de la vaginose bactérienne à Cotonou, Bénin.

a été considéré comme positif s'il y a eu dégagement d'une odeur de poisson pourri.

**Examen microscopique.** Il a été fait à l'état frais à l'objectif X40 et après coloration de Gram à l'objectif X100. A partir de cet examen, les différents éléments bactériens et la présence de clue-cells ont été notés.

**Score de Nugent.** Il a été mesuré comme précédemment décrit en dénombrant les différents morphotypes bactériens et en catégorisant la flore vaginale en trois groupes (NUGENT et al., 1991):

- flore normale : score entre 0 et 3 ;
- flore intermédiaire : score entre 4 et 6 ;
- VB : score  $\geq 7$ .

**Critères d'Amsel.** La VB a été définie par la présence d'au moins trois des quatre critères

suivants : leucorrhées malodorantes et adhérentes ; pH vaginal  $> 4,5$  ; test à la potasse positif; présence de clue-cells à l'examen direct (AMSEL et al., 1983).

**Saisie et analyse des données**

Les données ont été saisies et analysées avec les logiciels EpiData et Microsoft Excel.

**RESULTATS**

Au total, 103 sujets ont été inclus dans l'étude. En considérant les critères d'Amsel, 37 échantillons présentaient au moins 3 critères bio-cliniques, donnant une prévalence de VB de 35,9%. En utilisant la présence d'au moins trois de ces critères comme gold standard, le pH était le test ayant la sensibilité la plus élevée et la spécificité la plus élevée a été obtenue avec le test à la potasse (Tableau I).

Tableau I : Performances des paramètres individuels des critères d'Amsel

		Vaginose selon Amsel		Sensibilité	Spécificité
		Oui	Non		
Leucorrhées caractéristiques	Oui	32	29	86,5%	56,1%
	Non	5	37		
pH > 4,5	Oui	37	46	100,0 %	30,3%
	Non	0	20		
KOH+	Oui	27	4	73,0%	93,9%
	Non	10	62		
Présence de clue-cells	Oui	31	11	83,8%	83,3%
	Non	6	55		

Selon le score de Nugent, la prévalence de la VB était de 42,7% (Tableau II).

Tableau II: Répartition des échantillons en fonction du score de Nugent

Score de Nugent	Fréquence	%
Flore normale	29	28,2
Flore intermédiaire	30	29,1
Vaginose	44	42,7
Total	103	100

La comparaison des deux approches de diagnostic de la VB montre qu'il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les deux approches (Tableau III,  $p = 0,36$ ).

Cependant des résultats discordants (VB par le score de Nugent et non par les critères d'Amsel et vice versa) ont été observés pour 19 échantillons (Tableau III).

Tableau III. Comparaison des critères d'Amsel et du score de Nugent pour le diagnostic de la vaginose

Vaginose selon les critères d'Amsel	Vaginose selon le score de Nugent		
	Oui	Non	Total
Oui	32	7	39
Non	12	52	64
Total	44	59	103

$p = 0,36$

Par ailleurs, comme le montre le tableau IV, tous les cas de VB selon le score de Nugent ont présenté au moins 2 critères d'Amsel. De plus, en cas de flore normale selon le score de Nugent, moins de 3 critères étaient présents

dans la plupart des cas. Enfin, 30 sujets avaient une flore intermédiaire selon le score de Nugent. Parmi eux, 18, 6, 5 et 1 avaient respectivement 1, 2, 3 ou 4 critères d'Amsel (Tableau IV).

Tableau IV: Comparaison détaillée du score de Nugent et des critères d'Amsel

Nombre de critères présents selon Amsel	Score de Nugent						Total N
	Flore				Vaginose		
	Normale		Intermédiaire		N	(%)	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	
N = 0	7	(24,1)	0	(0)	0	(0,0)	7
N = 1	14	(48,3)	18	(60)	0	(0,0)	32
N = 2	7	(24,1)	6	(20)	12	(27,2)	25
N = 3	1	(3,5)	5	(16,7)	16	(36,4)	22
N = 4	0	(0,0)	1	(3,3)	16	(36,4)	17
Total	29	(100)	30	(100)	44	(100)	103

## DISCUSSION

Nous n'avons pas observé de différence statistiquement significative entre les critères d'Amsel et le score de Nugent. Les critères d'Amsel sont des critères bio-cliniques. L'intérêt principal de l'utilisation de ces critères est qu'ils sont relativement simples à rechercher et assez faciles à maîtriser après une formation sommaire des techniciens. En dehors de la recherche de clue-cells au microscope, les autres critères peuvent être recherchés au lit du malade. De plus, cette approche de diagnostic est faisable dans les coins reculés où les infrastructures adéquates et un personnel qualifié ne sont pas toujours disponibles (MITTAL *et al.*, 2012).

Néanmoins, le score de Nugent a été préféré aux critères d'Amsel dans beaucoup de laboratoires car il pose moins de problèmes de sensibilité et de reproductibilité. En effet, le score de Nugent comporte des éléments moins subjectifs que ceux des critères d'Amsel (AMSEL *et al.*, 1983 ; NUGENT *et al.*, 1991).

Pendant, la maîtrise du score de Nugent n'est pas aisée en pratique courante et elle nécessite une formation approfondie et répétée. Cette difficulté a amené certains auteurs à développer une version simplifiée du score de Nugent, plutôt basée sur une évaluation grossière de la quantité relative des lactobacilles et des bactéries du genre *Gardnerella* (CHAWLA *et al.*, 2013 ; ISON *et al.*, 2002). Cette version simplifiée nécessite encore de plus amples évaluations.

Dans le score de Nugent, il existe un groupe dénommé « flore intermédiaire ». La prise en charge clinique adéquate des femmes ayant une flore vaginale intermédiaire au score de Nugent, n'est pas encore bien définie. Toutefois, certaines études ont montré que l'appartenance à ce groupe était associé à un risque plus accru d'évolution défavorable d'une grossesse et d'infection par le VIH, faisant suggérer que ce groupe n'est pas homogène et qu'il est nécessaire de disposer des outils pour identifier les sujets de ce groupe qui sont plus à

risque (HAY *et al.*, 1994). Dans notre étude, 30 sujets avaient une flore intermédiaire. Parmi eux, 18, 6, 5 et 1 avaient respectivement 1, 2, 3 ou 4 critères d'Amsel. Ainsi 6 (5 + 1) sujets ayant une flore intermédiaire étaient considérés comme présentant une VB selon les critères d'Amsel.

Les critères d'Amsel et le score de Nugent pourraient être complémentaires. En effet, en dehors des clue-cells communs aux deux, les autres éléments évalués dans chacune des approches, sont différents. En fait, deux sortes d'anomalies peuvent déséquilibrer la flore vaginale normale : la diminution quantitative des lactobacilles ou la présence de lactobacilles dépourvus d'action efficace (ROSENSTEIN *et al.*, 1997 ; MA *et al.*, 2012). Dans ce cas, une femme ayant une flore légèrement déséquilibrée pourrait présenter une VB, en raison d'une déficience lactobacillaire qualitative. L'utilisation de critères composites incluant les deux approches pourrait donc améliorer le diagnostic de VB.

Dans la littérature, dans environ 30% de cas, les sujets présentant des leucorrhées n'ont pas de diagnostic confirmé au laboratoire, soulignant la nécessité d'améliorer les tests actuels de diagnostic (ANDERSON *et al.*, 2004). Bien que le score de Nugent ait été considéré dans de nombreuses études comme méthode de référence, il possède de nombreuses limites, justifiant la recherche de son amélioration (SHA *et al.*, 2005 ; ZARIFFARD *et al.*, 2002).

C'est pourquoi, nous proposons ici d'utiliser ces critères composites combinant les deux approches. Ainsi, la VB pourrait se définir comme un score de Nugent  $\geq 7$  et/ou (un score de Nugent  $\geq 4$  + au moins 3 critères d'Amsel). La validité de ces critères composites pourrait être confirmée ou non dans une étude contrôlée à grande échelle sur l'évolution de la symptomatologie chez les patientes présentant une flore intermédiaire, en absence ou non de traitement spécifique.

Dans tous les cas, les limites des tests basés sur la microscopie ont amené à développer récemment des tests moléculaires de diagnostic de la VB. Ces nouveaux tests pourraient améliorer le diagnostic mais leur utilisation dans les pays à faibles revenus où la prévalence de la VB est la plus élevée, est problématique. En revanche, des tests simples sont en cours de développement. C'est le cas du test BVBlue, basé sur la mise en évidence dans les sécrétions génitales de la sialidase bactérienne, une enzyme sécrétée par les bactéries de la flore anaérobie comme *Prevotella* et *Bacteroides spp* (BRADSHAW et al., 2005). Ce test a donné des résultats prometteurs mais d'autres études de validation sont nécessaires avant de l'adopter en pratique courante.

La prévalence de la VB dans notre étude était de 35,9% (selon les critères d'Amsel), ou de

42,7% (selon le score de Nugent) ou encore de 48,5% selon les critères composites Amsel/ Nugent que nous proposons. Ces taux sont proches de celui de 47,6% obtenu par Guédou en 2012 chez les travailleuses de sexe au Bénin et en Inde (GUÉDOU et al., 2012). Des taux similaires ont été observés ailleurs en Afrique (DEMBA et al., 2005). La prévalence élevée de VB dans les pays à faibles ressources serait associé à certaines pratiques de toilette vaginale et au multipartenariat sexuel (FETHERS et al., 2008 ; KUMAR et al., 2011).

En conclusion, les critères d'Amsel et le score de Nugent pourraient être complémentaires pour le diagnostic de la VB qui peut donc être amélioré par l'utilisation de critères composites Amsel/ Nugent proposés dans la présente étude.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AMSEL R., TOTTEN P. A., SPIEGEL C. A., CHEN K. C., ESCHENBACH D., HOLMES K. K., 1983. Non specific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *American Journal of Medicine*, 74:14-22.
2. ANDERSON M. R., KLINK K., COHRSSSEN A., 2004. Evaluation of vaginal complaints. *Journal of the American Medical Association*, 291, 1368-1379.
3. BRADSHAW C. S., MORTON A. N., GARLAND S. M., HORVATH L. B., KUZEVSKA I., FAIRLEY C. K., 2005. Evaluation of a point-of-care test, BVBlue, and clinical and laboratory criteria for diagnosis of bacterial vaginosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 43, 1304-1308.
4. CHAWLA R., BHALLA P., CHADHA S., GROVER S, GARG S., 2013. Comparison of Hay's criteria with Nugent's scoring system for diagnosis of bacterial vaginosis. *Biomed Research International*, 3, 65-194.
5. DEMBA E., MORISON L., VAN DER LOEFF M. S., AWASANA A. A., GOODING E., BAILEY R., MAYAUD P., WEST B., 2005. Bacterial vaginosis, vaginal flora patterns and vaginal hygiene practices in patients presenting with vaginal discharge syndrome in The Gambia, West Africa. *BMC Infectious Diseases*, 5, 12.
6. DONATI L., DI VICO A., NUCCI M., QUAGLIOZZI L., SPAGNUOLO T., LABIANCA A., BRACAGLIA M., IANNIELLO F., CARUSO A., PARADISI G., 2010. Vaginal microbial flora and outcome of pregnancy. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 281, 589-600.
7. FETHERS K. A., FAIRLEY C. K., HOCKING J. S., GURRIN L. C., BRADSHAW C. S., 2008. Sexual risk factors and bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*, 47, 1426-1435.
8. FORSUM U., HALLÉN A., LARSSON P. G., 2005. Bacterial vaginosis--a laboratory and clinical diagnostics enigma. *APMIS*, 113, 153-161.

9. GUÉDOU F. A., VAN DAMME L., MIREMBE F., SOLOMON S., BECKER M., DEESE J., CRUCITTI T., ALARY M., 2012. Intermediate vaginal flora is associated with HIV prevalence as strongly as bacterial vaginosis in a cross-sectional study of participants screened for a randomised controlled trial. *Sexually Transmitted Infections*, 88, 545-551.
10. HAY P. E., LAMONT R. F., TAYLOR-ROBINSON D., MORGAN D. J., ISON C., PEARSON J., 1994. Abnormal bacterial colonisation of the genital tract and subsequent preterm delivery and late miscarriage. *British Medical Journal*, 308, 295-298.
11. ISON C. A., HAY P. E., 2002. Validation of a simplified grading of Gram stained vaginal smears for use in genito-urinary medicine clinics. *Sexually Transmitted Infections*, 78, 413-415.
12. KUMAR N., BEHERA B., SAGIRI S. S., PAL K., RAY S. S., ROY S., 2011. Bacterial vaginosis: Etiology and modalities of treatment-A brief note. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*, 3:496-503.
13. MA B., FORNEY L. J., RAVEL J., 2012. Vaginal microbiome: rethinking health and disease. *Annual Review of Microbiology*, 66, 371-389.
14. MARTIN H. L., RICHARDSON B. A., NYANGE P. M., LAVREYS L., HILLIER S. L., CHOHAN B., MANDALIYA K., NDINYA-ACHOLA J. O., BWAYO J., KREISS J., 1999. Vaginal lactobacilli, microbial flora, and risk of human immunodeficiency virus type 1 and sexually transmitted disease acquisition. *Journal of Infectious Diseases*, 180, 1863-1868.
15. MITTAL V., JAIN A., PRADEEP Y., 2012. Development of modified diagnostic criteria for bacterial vaginosis at peripheral health centres in developing countries. *Journal of Infection in Developing Countries*, 6, 373-377.
16. NUGENT R. P., KROHN M. A., HILLIER S. L., 1991. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *Journal of Clinical Microbiology*, 29, 297-301.
17. ROSENSTEIN I. J., FONTAINE E. A., MORGAN D. J., SHEEHAN M., LAMONT R. F., TAYLOR-ROBINSON D., 1997. Relationship between hydrogen peroxide-producing strains of lactobacilli and vaginosis-associated bacterial species in pregnant women. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 16, 517-522.
18. SHA B. E., CHEN H. Y., WANG Q. J., ZARIFFARD M. R., COHEN M. H., SPEAR G. T., 2005. Utility of Amsel criteria, Nugent score, and quantitative PCR for *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, and *Lactobacillus spp.* for diagnosis of bacterial vaginosis in human immunodeficiency virus-infected women. *Journal of Clinical Microbiology*, 43, 4607-4612.
19. SOBEL J. D., 1997. Vaginitis. *New England Journal of Medicine*, 337, 1896-1903.
20. TAHA T. E., HOOVER D. R., DALLABETTA G. A., KUMWENDA N. I., MTIMAVALYE L. A., YANG L. P., LIOMBA G. N., BROADHEAD R. L., CHIPHANGWI J. D., MIOTTI P. G., 1998. Bacterial vaginosis and disturbances of vaginal flora: association with increased acquisition of HIV. *AIDS*, 12, 1699-1706.
21. ZARIFFARD M. R., SAIFUDDIN M., SHA B. E., SPEAR G. T., 2002. Detection of bacterial vaginosis-related organisms by real-time PCR for Lactobacilli, *Gardnerella vaginalis* and *Mycoplasma hominis*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 34, 277-281.