

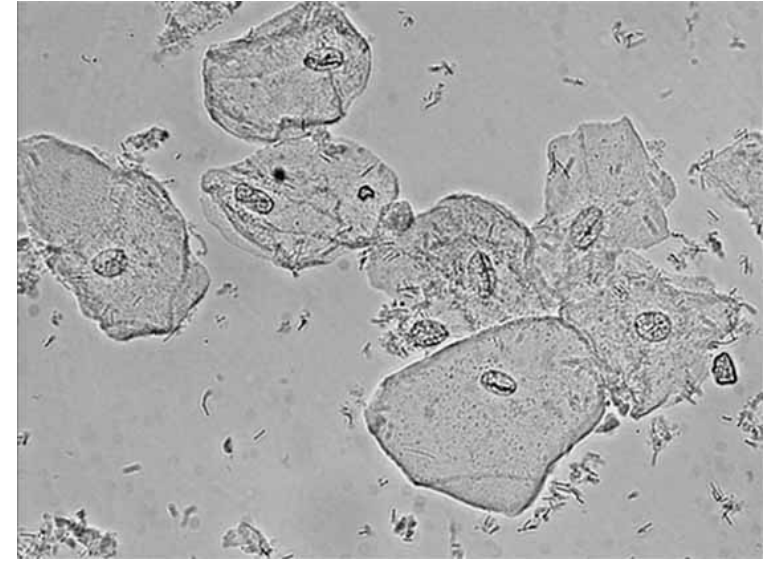
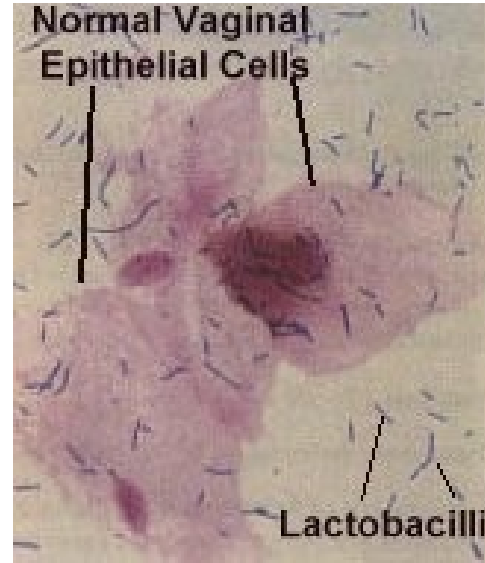
Romano Mattei

Vulvovaginiti



## Caratteristiche dell'ambiente vaginale

Età	pH	Glicogeno	Microrganismi
Neonatale	Acido	SI	Lattobacilli
Prepubere	7-8	NO	Rari di vario genere
Fertile	3,5-4,5	SI	Lattobacilli
Climaterio	>8	NO	Enterobatteri



Nelle femmine di età fertile, gli estrogeni permettono lo sviluppo di un epitelio vaginale spesso con un numero elevato di cellule superficiali che svolgono una funzione protettiva e che contengono un grande deposito di glicogeno.

*Lactobacilli* e *Corynebacteria* acidogenici usano il glicogeno per produrre acidi lattici, acidi acetici e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Ciò determina un ambiente acido che protegge dalla crescita di batteri patogeni

## Leucorrea: che cosa significa?

Uno dei sintomi che più frequentemente preoccupa la paziente è la presenza di “leucorrea”: tale aspetto non è necessariamente espressione di un processo infettivo in atto. Il rilascio di \*fluido endometriale, la produzione di muco da parte delle ghiandole cervicali, il trasudato vaginale, l’essudato delle ghiandole accessorie di Skene e Bartolino e il normale processo di esfoliazione dell’epitelio squamoso vaginale contribuiscono alla produzione di una fisiologica secrezione vaginale biancastra, inodore. La produzione giornaliera può arrivare a circa 1,5 g al giorno, con possibili fluttuazioni legate allo stato ormonale della donna e, quindi, indirettamente alla sua età, alla fase del ciclo mestruale, ad un eventuale stato gravidico.

# The Identification of Vaginal *Lactobacillus* Species and the Demographic and Microbiologic Characteristics of Women Colonized by These Species

May A. D. Antonio,<sup>1</sup> Stephen E. Hawes,<sup>3</sup>  
and Sharon L. Hillier<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Magee-Womens Research Institute and <sup>2</sup>Department of Obstetrics,  
Gynecology, and Reproductive Sciences, University of Pittsburgh,  
Pittsburgh, Pennsylvania; <sup>3</sup>Human Papillomavirus Research Group,  
University of Washington, Seattle

The general use of *L. acidophilus* to identify vaginal *Lactobacillus* has been more a historic than a scientific designation because of the poor reliability of existing tests used to differentiate *Lactobacillus* species. Even 80 years ago, there was uncertainty whether *L. acidophilus* characterized a group of related species or a single group of organisms that “undergoes transformation”

The Journal of Infectious Diseases 1999;180:1950–6  
© 1999 by the Infectious Diseases Society of America.

**Table 1.** *Lactobacillus* species detected among 302 women with or without bacterial vaginosis (BV), and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production by the lactobacilli.

DNA homology group	No. of women colonized	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> production	BV present
<i>L. crispatus</i> <sup>a</sup>	96 (32)	91 (95)	9 (9)
<i>L. jensenii</i> <sup>a</sup>	69 (23)	65 (94)	5 (7)
<i>L. gasseri</i>	14 (5)	10 (7)	6 (43)
<i>L. ruminis</i>	1 (.3)	9 (0)	1 (100)
<i>L. reuteri</i>	1 (.3)	0 (0)	0 (0)
<i>L. fermentum</i>	1 (.3)	0 (0)	0 (0)
<i>L. oris</i>	1 (.3)	0 (0)	0 (0)
<i>L. vaginalis</i>	1 (.3)	0 (0)	0 (0)
<i>Lactobacillus</i> 1086V	44 (15)	4 (9)	16 (36)
No homology	13 (4)	4 (31)	6 (46)
No lactobacilli	87 (29)	NA	73 (84)

NOTE. Values are no. (%) of the 302 women. NA, not applicable.

<sup>a</sup> Both *L. crispatus* and *L. jensenii* were recovered from 11 women, with 154 women being colonized by 1 or both of these species.

# VULVOVAGINITE

## Definizione

La vulvovaginite è infiammazione dei tessuti vulvari e vaginali.

## Sintomi

Caratterizzata da essudato vaginale e/o vulvare prurito e irritazione, nonché possibile cattivo odore

## Eziologia

Le cause più comuni di vulvovaginite acuta



## ***INFETTIVE***

### **Malattie Sessualmente Trasmesse (MST)**

- *Trichomonas vaginalis*
- *Mycoplasma*
- *HSV*
- *HPV*
- *Gonococco*
- *Treponema*
- *Chlamydia Trachomatis*

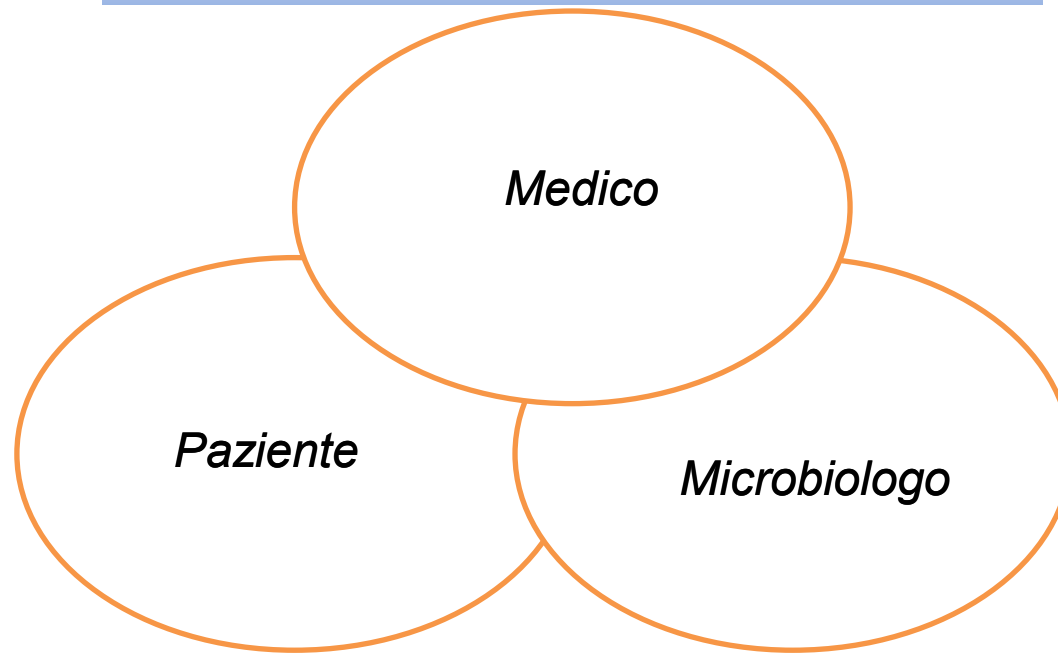
### **Malattie infettive a trasmissione non sessuale**

- *Vulvovaginiti Micotiche*
- *Vaginosi Batterica*
- *Vaginite Aerobia*
- *Lattobacillosi*

## ***NON INFETTIVE***

- *Vaginiti da contatto, irritative o allergiche*
- *Da farmaci*
- *Vaginite atrofica*
- *Vaginite psicosomatica*

## DIAGNOSI DI VULVOVAGINITE



Una storia dettagliata accompagnata dalla visita ginecologica e dalla valutazione microscopica delle secrezioni vaginali fresche ricercando le Clue cell indice di vaginosi, la mobilità di *Trichomonas vaginalis* o la presenza di blastospore e/o pseudoife potrebbero/dovrebbero fornire la diagnosi nella maggior parte dei casi.

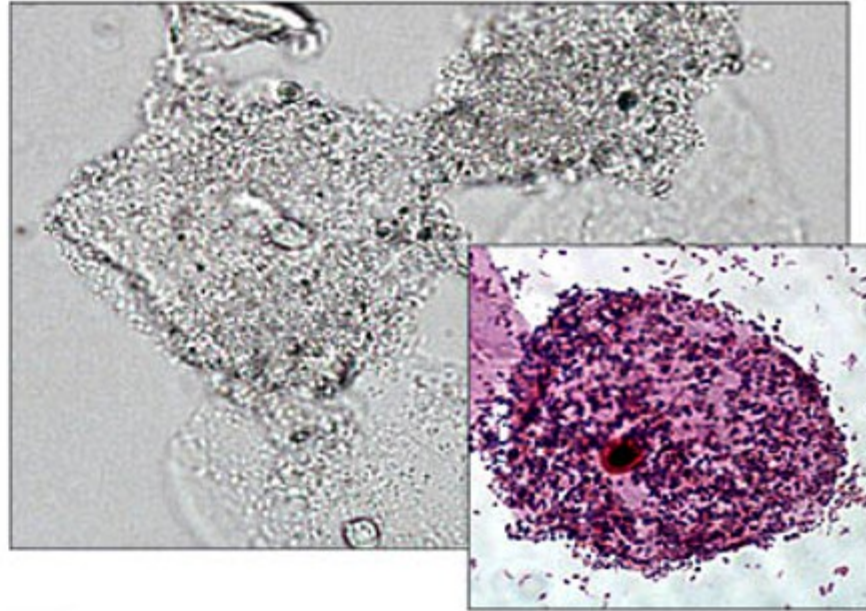
Un altro strumento diagnostico è la determinazione del pH:

- Normale pH di 3,8-4.2.
- *Candida spp.* pH usualmente <4.5.
- BV e *Trichomonas* pH > 4.5.

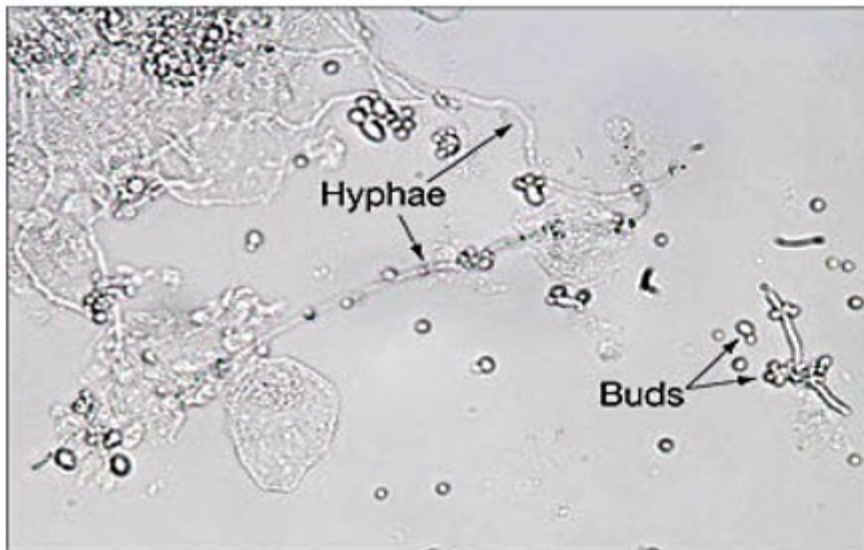
**A** Normal Vaginal Epithelial Cells



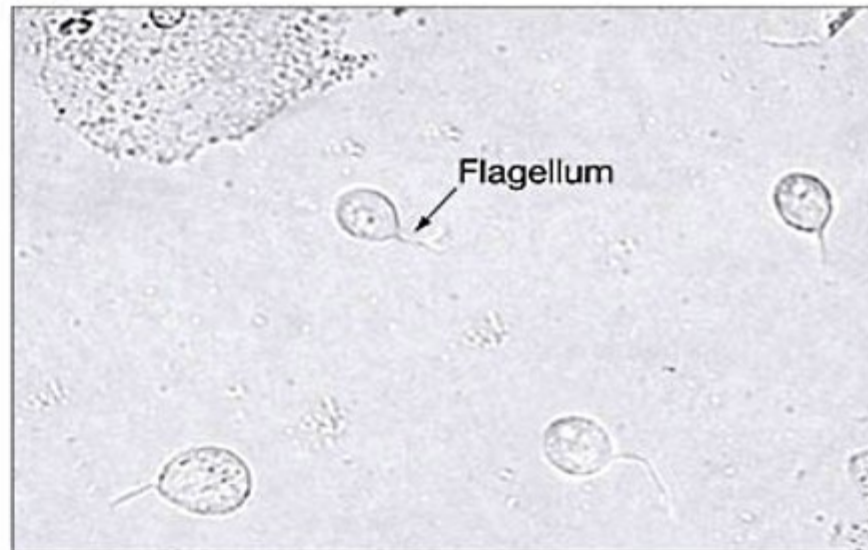
**B** Clue Cells With Coccobaccilli



**C** *Candida*



**D** Trichomonads



Contributo del laboratorio nella diagnosi di:

- *Vaginosi batterica*
- *Vaginite aerobia*
- *Lattobacillosi*



# VAGINOSI BATTERICA

## Definizione:

La vaginosi batterica è una sindrome polimicrobica che si verifica quando le normali specie di lattobacilli produttori  $H_2O_2$  nella vagina sono sostituite da alte concentrazioni di batteri rappresentate principalmente da batteri anaerobi

## Epidemiologia:

- La vaginosi batterica, anche se spesso asintomatica, è insieme con la candidiasi vulvovaginale, la causa più comune della vaginite, e per cui le donne ricorrono all'aiuto del medico. Il tasso di riportato di vaginosi batterica è del 45-55% in afroamericane, 20-30% nelle donne asiatiche e del 5-15% nelle donne caucasiche.
- Le recidive sono molto frequenti sia dopo terapie vaginali che orali.
- Principali comportamenti che facilitano la vaginosi batterica sono le lavande vaginali in quanto alterano l'ecosistema vaginale

## Agenti eziologici:

*Gardnerella vaginalis*

*Mobiluncus*

*Atopobium vaginae*

*Bacteroides spp.*

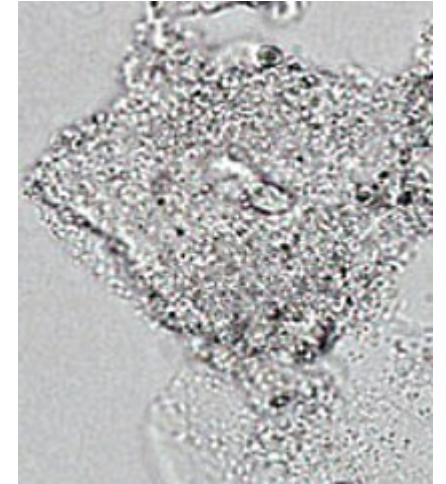
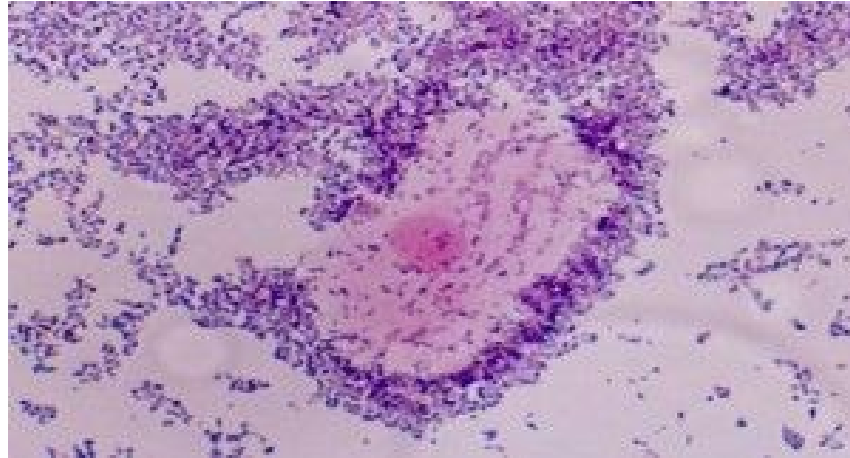
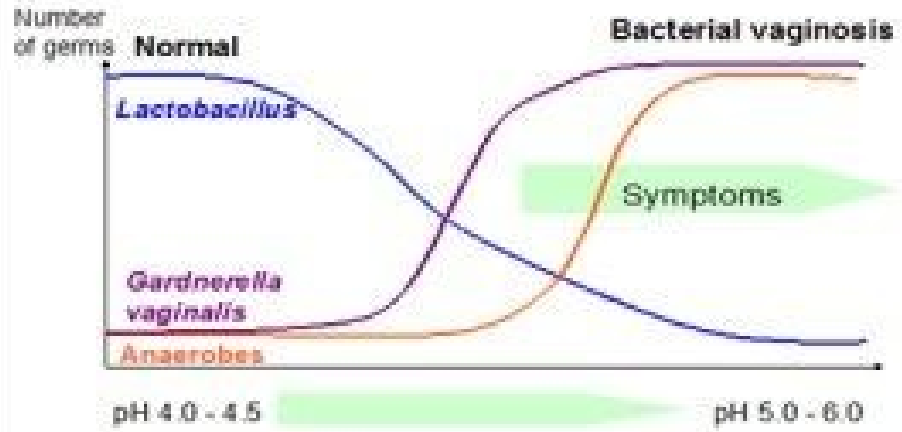
*Prevotella spp.*

*Peptostreptococcus species*

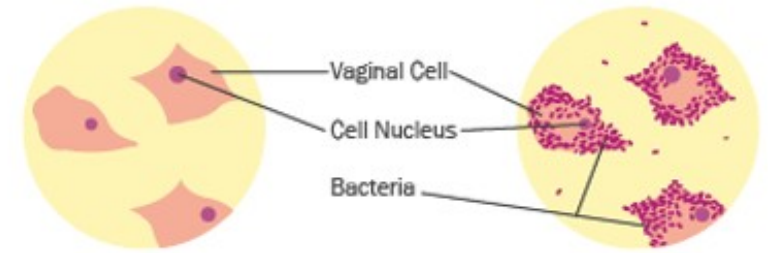
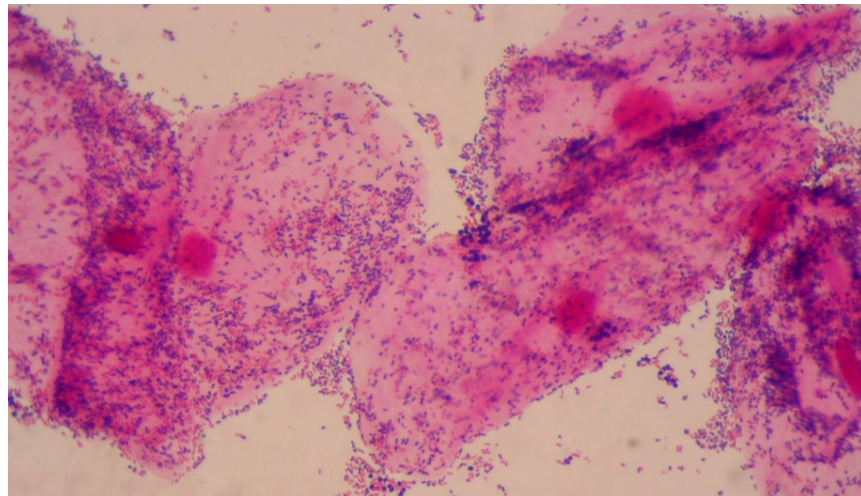
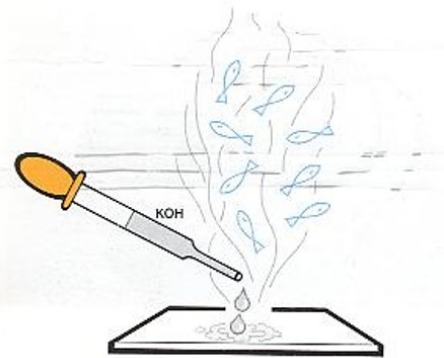
*Mycoplasma hominis*

*BV-associati batteri (BVAB1, BVAB2 e BVAB3)*

# Bacterial vaginosis (BV)



## Fishy odor test



Normal vaginal cells seen under a microscope.

"Clue Cells", vaginal cells with bacteria stuck to them.

## VAGINOSI BATTERICA e COMPLICAZIONI CLINICHE

Esistono numerosi dati che la vaginosi batterica, asintomatica o sintomatica, sia un fattore di rischio indipendente per gravi dell'apparato genitourinario e sequele ostetriche, inclusa la consegna pre-termine, il parto pre-termine, il basso peso alla nascita, endometrite dopo l'aborto e post partum.

Sviluppo della malattia infiammatoria pelvica (PID), una più alta probabilità di acquisizione di malattie sessualmente trasmissibili (STI) e dell'HIV.

A causa di queste complicazioni gravi, negli ultimi dieci anni si è registrato un aumento dell'interesse per la vaginosi batterica, riguardo alla diagnosi e al trattamento.

J.P. Menard et al, *Self-collected vaginal swabs or the quantitative real-time Polymerase Chain reaction assay of Atopobium vaginae and Gardnerella vaginalis and the diagnosis of bacterial vaginosis*, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2012,

T.L. et al. A delicate balance: risk factors for acquisition of bacterial vaginosis include sexual activity, absence of hydrogen peroxide-producing lactobacilli, black race, and positive herpes simplex virus type 2 serology. *Sex Transm Dis* 2008

R.M. Brotman, et al. , Bacterial vaginosis assessed by gram stain and diminished colonization resistance to incident gonococcal, chlamydial, and trichomonal genital infection. *J Infect Dis*. 2010,

E. Gillet, et al. Bacterial vaginosis is associated with uterine cervical human papillomavirus infection: a meta-analysis, *BMC Infect Dis*, 2011

K. Yoshimura et al , Intravaginal microbial flora by the 16S rRNA gene sequencing, *Am J Obstet Gynecol*. 2011

# DIAGNOSI DI LABORATORIO DI VAGINOSI BATTERICA

**CDC:** 3 dei 4 segni o sintomi devono essere soddisfatti per la diagnosi di vaginosi:

## Amsel criteria (1989)

1. *Secrezione omogenea, biancastra, non infiammatoria adesa uniformemente alle pareti vaginali.*
2. *Presenza di cellule indice «Clue cells» su esame microscopico.*
3. *PH > 4,5*
4. *Un odore pesce delle secrezioni dopo l'aggiunta di KOH.*

## Nugent criteria (1991)

Gold Standard

**Nugent Scoring system for Gram-stained vaginal smears**

Score rods	<i>Lactobacillus</i> Morphotype	<i>Gardnerella</i> and <i>Bacteroides</i> Morphotype	Curved Gram variable rods
0	4+	0	0
1	3+	1+	1+ or 2+
2	2+	2+	3+ or 4+
3	1+	3+	4+
4	0	4+	4+

0 = no morphotype present, 1+ = < 1 morphotype present, 2+ = 1 to 4 morphotype present, 3+ = 5 to 30 morphotype present, 4+ = > 30 morphotype present

## Sistema di punteggio da 0 a 10

0 - 3 Normale,  
4 - 6 Intermedio\*  
7 - 10 Vaginosi Batterica

\**La flora vaginale intermedia viene segnalata al medico per gestione basata sul contesto clinico.*

## Available Tests for BV Diagnosis<sup>7</sup>

TEST	TIME FOR RESULTS	DESCRIPTION
<b>Affirm VP III test</b>	< 1 hour	Automated DNA probe assay for detecting <i>G vaginalis</i> when present at a high concentration
<b>OSOM BV Blue system</b>	10 minutes	Chromogenic diagnostic test based on the presence of elevated sialidase enzyme activity in vaginal fluid samples
<b>FemExam <i>G vaginalis</i> Pip Activity Test card</b>	< 2 minutes	Detects proline aminopeptidase activity of anaerobes, especially <i>G vaginalis</i> , in vaginal discharge
<b>FemExam pH and amines test card</b>	2 minutes	Detects an elevated vaginal fluid pH (pH $\geq$ 4.7) and the presence of trimethylamine in a sample of vaginal discharge
<b>Real-time PCR assays</b>	2 hours	Quantitate the normal peroxidase-producing Lactobacillus species <i>L acidophilus</i> , <i>L crispatus</i> and <i>L jensenii</i> as well as the BV-associated bacteria <i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Atopobium vaginae</i> , <i>Megasphaera spp.</i> , <i>mobiluncus</i>
<b>Vaginal cultures</b> Up to 60% of normal vaginal flora contains <i>Gardnerella vaginalis</i>	3 days	Not recommended by the CDC for BV diagnosis due to the decreased viability of bacteria after 24 hours and the failure to distinguish pathogens from normal flora.
<b>Pap Smear</b> Reporting coccobacillary overgrowth and/or shift in vaginal flora suggesting BV	1 to 6 weeks	Not recommended by the CDC, must clinically correlate with Amsel criteria or other reliable diagnostic testing

# Accuracy of the Clinical Diagnosis of Vaginitis Compared to a DNA Probe Laboratory Standard

*Obstet Gynecol.* 2009 January

## Popolazione studiata

Studio prospettico comparativo clinico su un campione di 535 donne militari statunitensi che presentano sintomi vulv vaginali.

## Obiettivo:

Valutare l'esattezza della diagnosi clinica delle tre cause più comuni di sintomi vulvovaginali acuti (vaginosi batterica, vaginite da candidiasi e tricomoniasi) utilizzando un protocollo clinico tradizionale standardizzato rispetto ad una metodica standard di Laboratorio di biologia molecolare **Affirm.** (BD)

## Risultati

Rispetto al Test Affirm, la diagnosi clinica è risultata sensibile al 81-85% e specifica al 70- 99% specifico per vaginosi batterica, candida vaginite e tricomoniasi.

## Conclusioni

La disponibilità di utilizzare metodiche molecolari quali sonde di DNA per BV, TV e CV, nonché altri specifici Point Of Care Test più recenti può fornire l'opportunità di migliorare significativamente l'accuratezza della diagnosi e il trattamento per questi patologie molto comuni che il medico incontra a livello ambulatoriale.

# Evaluation of different diagnostic methods of bacterial vaginosis

*IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS) 2014*

Gamal F. M. Gad et al.,

## Popolazione studiata

Questo studio è stato fatto in Egitto superiore su 100 pazienti che si lamentano di sintomi di vaginite o eccessiva secrezione vaginale. I pazienti inclusi in questo studio erano di età compresa tra i 18 ei 45 anni.

## Risultati:

### True and false results of the different diagnostic methods

Methods	True positive	False positive	True negative	False negative
1- Culture	30	8	59	3
2- Amsel criteria	29	7	60	4
3- BVBlue test	29	1	66	4
4- qPCR	32	2	65	1

Methods	Sensitivity	Specificity	Accuracy	PPV*	NPV**
1- Culture	90.9	88	89	79	95.2
2- Amsel criteria	88	89.6	89	81	94
3- BVBlue test	88	98.5	95	96.6	94.3
4- qPCR	96.9	97	97	94	98.5

\* PPV (positive predictive value). \*\* NPV (negative predictive value).

## Conclusioni

Lo studio ha concluso che l'incidenza di vaginosi batterica (BV) è tra il 30 e il 38% utilizzando i diversi metodi diagnostici di BV. Tutti i metodi sperimentati inclusi i criteri di Amsel, la cultura, il test BVBlue (test cromogenico rapido) e il test PCR quantitativo sono metodi affidabili per la diagnosi di BV quando confrontati con il punteggio **Nugent come gold standard**.

# Vaginite aerobia

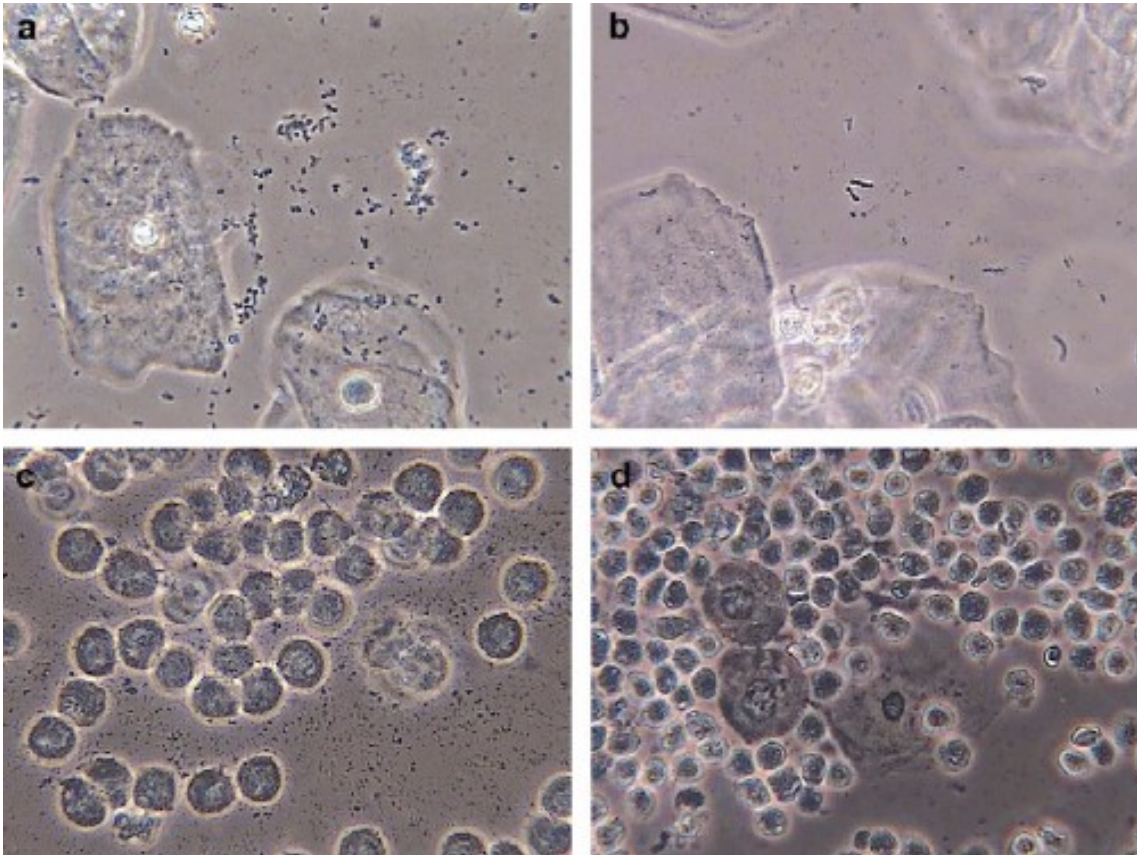
E' un'entità nosologica classificata tra le vulvovaginiti infettive a trasmissione non sessuale che comprende tutte quelle vaginiti ad etiologia batterica, caratterizzate da un'alterazione del normale ecosistema vaginale, che tuttavia non rientrano nei criteri diagnostici della vaginosi batterica.

È caratterizzata da una:

- < Lattobacilli
- > Leucositosi
- Leucociti tossici (leucociti con aspetto granulare indicativo di intensa attività lisosomiale)
- Cellule epiteliali parabasali (segno citologico di intensa reazione infiammatoria).
- Riduzione dei lattobacilli vaginali
- Sovra crescita di batteri aerobi, di derivazione per lo più intestinale (*E.coli*, *S. agalactiae* (gruppo B), *S. aureus*);
- Nel 10-20 % dei casi è possibile isolare anche *G. Vaginalis*, in un quadro misto di Vaginite Aerobia e Vaginosi Batterica.



Donders G et al. *Definition of a type of abnormal vaginal flora that is distinct from bacterial vaginosis: aerobic vaginitis. Br J Obstet Gynecol 2002.*



- $pH > 5$
- *Fishy odor test negativo*
- *Diminuita presenza di lattobacilli*
- *Numerosi leucociti*
- *Leucociti tossici*
- *Cellule epiteliali parabasali*
- *Secrezione giallastra, odore sgradevole*
- *Manifestazioni infiammatorie, dispareunia*

# Aerobic Vaginitis:

## Abnormal Vaginal Flora That Is Distinct From Bacterial Vaginosis.

Clinical Characteristics	Bacterial Vaginosis	Aerobic Vaginitis (1)
Lactobacilli	Displaced	Displaced
Pathogen	<i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Atopobium vaginae</i> , <i>Megasphaera</i> species, BVAB2	<i>Escherichia coli</i> , Group B Streptococcus, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>
Vaginal epithelial inflammation	None	Present
Elevation of pro-inflammatory cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8)	Moderate elevation	High elevation
Immune reaction (cytotoxic leukocyte)	Non-reactive	Reactive
pH [Normal = 3.8 – 4.2]	T= 4.2-4.5 BV $\geq$ 4.5	> 4.5; usually >6
Shed vaginal epithelial cells	Clue cells	Parabasal cells
Vaginal discharge characteristic	White, homogenous	Yellowish
10% KOH Whiff Test (fishy amine odor)	Positive	Negative
Treatment	Metronidazole <sup>b</sup> Clindamycin <sup>b</sup>	Kanamycin ovule. (5) 2% clindamycin topical. (3) Fluoroquinolones are reported to have clinical success. (5) GBS is uniformly sensitive to penicillin, ampicillin, amoxicillin, amoxicillin/ clavulanic acid. (7) <i>E. faecalis</i> is traditionally treated with ampicillin. (8)

References are provided for treatment information; Fluoroquinolones, such as ciprofloxacin, ofloxacin, and levofloxacin, are contraindicated in pregnant women. Levofloxacin has improved efficacy against Streptococci compared to ciprofloxacin. T= Transitional.

# Vaginosi lattobacillare

La vaginosi lattobacillare è una condizione caratterizzata dalla presenza estremamente elevata lunghi lattobacilli.

Nelle donne asintomatiche i lattobacilli vaginali delle donne misurano solitamente tra 5 e 15  $\mu\text{m}$  di lunghezza.

Pazienti con vaginosi lattobacillare hanno catene abbondanti, lunghe e segmentate di lattobacilli (noto anche come *leptotrix*), che vanno da 40 a 75  $\mu\text{m}$  lunghezza

## Diagnosi di laboratorio

Esame microscopico con soluzione salina fisiologica senza colorazione o fissazione di additivi.

La Vaginosi lattobacillare di solito si presenta come più di 50 lattobacilli presenti per campo a ingrandimento ( $\times 400$ ).

La lunghezza media del lattobacillo secondo Horowitz ed al. era di 60  $\mu\text{m}$  nei pazienti con lactobacillosi e 10  $\mu\text{m}$  nel gruppo di confronto.

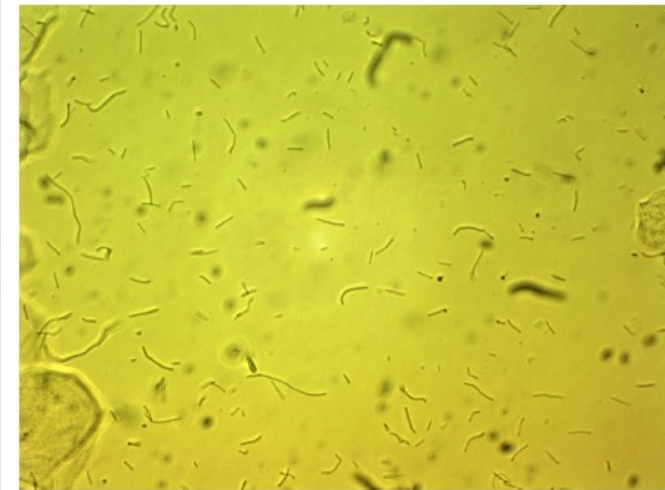


Figure 1: Vaginal Lactobacillosis with the presence of Leptotrix. Fresh wet mount 200x.

Differential Diagnostic Criteria for Candidiasis, Bacterial Vaginosis, Lactobacillosis and Cytolytic Vaginosis

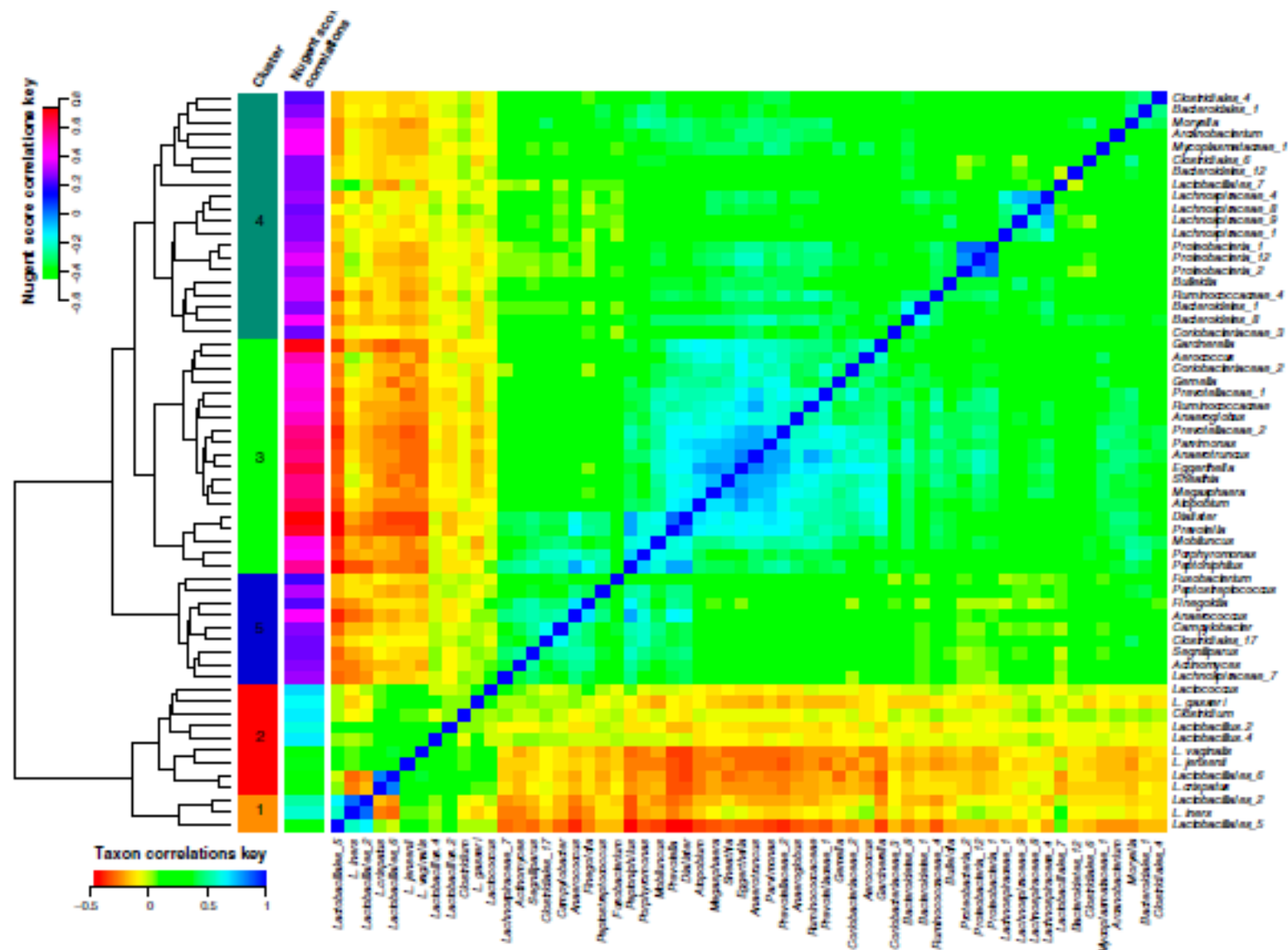
Diagnostic criteria	Candidiasis infection	Bacterial vaginosis	Vaginal lactobacillosis	Cytolytic vaginosis
Clinical symptoms	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Vulvar pruritus and pain</li> <li>2) Dyspareunia</li> <li>3) Discharge: white, thick</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Fishy odor more noticeable after menses and intercourse</li> <li>2) Discharge: thin, grayish-off white</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Vulvar pruritus</li> <li>2) Vulvar dysuria</li> <li>3) Constant wet feeling of underwear</li> <li>4) Discharge: profuse, white, paste-like, odorless</li> <li>5) Symptoms occur regularly especially at luteal phase of menses</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Vulvar pruritus</li> <li>2) Vulvar dysuria</li> <li>3) Dyspareunia</li> <li>4) Discharge: profuse, white, paste-like, odorless</li> <li>5) Symptoms occur regularly especially at luteal phase of menses</li> </ol>
Inspection	Vulvar erythema, edema	Typically there is no vaginal erythema or edema	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Normal or slightly erythematous and edematous vagina</li> <li>2) May have tenderness with speculum insertion</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Normal or slightly erythematous and edematous vagina</li> <li>2) May have tenderness with speculum insertion</li> </ol>
Vaginal pH	Normal < 4.5	pH > 4.5	Normal 3.5 - 4.5	Normal 3.5 - 4.5
Microscopic findings	Budding fungi with hyphae and/or pseudohyphae	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Positive whiff amine test</li> <li>2) Clue cells on saline wet mount</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Intermediate epithelial cells</li> <li>2) Long, segmented lactobacilli (40 - 60 µm in length)</li> <li>3) No cytoplasmic debris</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Intermediate epithelial cells</li> <li>2) Copious amount of lactobacilli with varying lengths</li> <li>3) Evidence of cytolysis: bare or naked intermediate nuclei</li> <li>4) Pap smear required for definitive diagnosis</li> </ol>
Treatment	Oral or vaginal azole	500 mg metronidazole BID for 7 days	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) 500 mg amoxicillin-clavulanate PO q 8 h for 7 days</li> <li>2) If allergic 100 mg doxycycline q 12 h for 10 days</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Sodium bicarbonate douching</li> <li>2) Sitz baths</li> <li>3) Tampon use discouraged for at least 6 months until asymptomatic</li> </ol>

# A New Era of the Vaginal Microbiome: Advances using Next-Generation Sequencing

*Chem Biodivers.* Author manuscript; available in PMC 2013 May 01.

Fettweis et al.

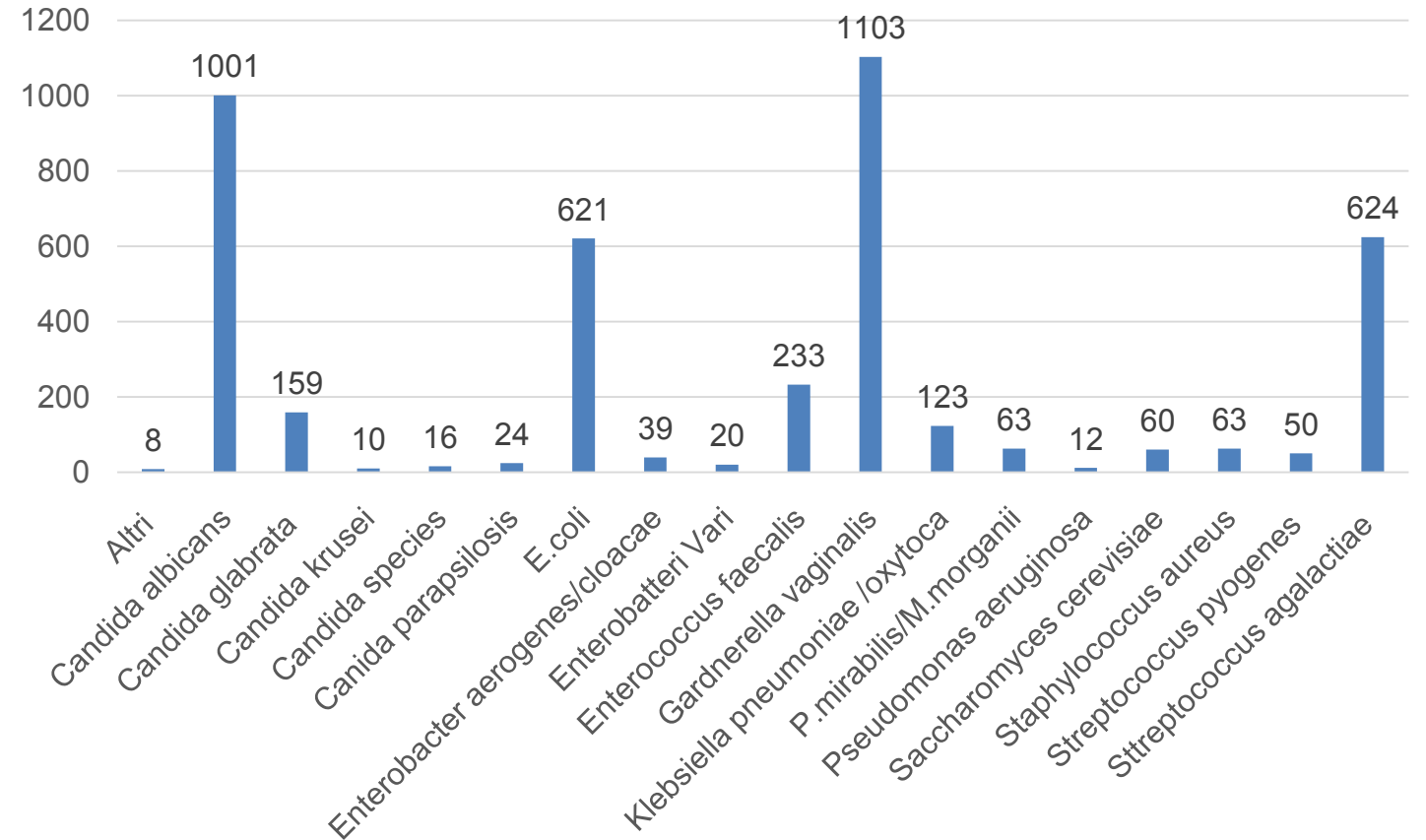
The human microbiome consists of trillions of microorganisms that colonize the human body. Different microbial communities inhabit vaginal, oral, skin, gastrointestinal, nasal, urethral and other sites of the human body. Currently, there is an international effort underway to describe the human microbiome in relation to health and disease.



[www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1002611107](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1002611107)

Altri	8
Candida albicans	1001
Candida glabrata	159
Candida krusei	10
Candida species	16
Canida parapsilosis	24
E.coli	621
Enterobacter aerogenes/cloacae	39
Enterobatteri Vari	20
Enterococcus faecalis	233
Gardnerella vaginalis	1103
Klebsiella pneumoniae /oxytoca	123
P.mirabilis/M.morganii	63
Pseudomonas aeruginosa	12
Saccharomyces cerevisiae	60
Staphylococcus aureus	63
Streptococcus pyogenes	50
Sttreptococcus agalactiae	624

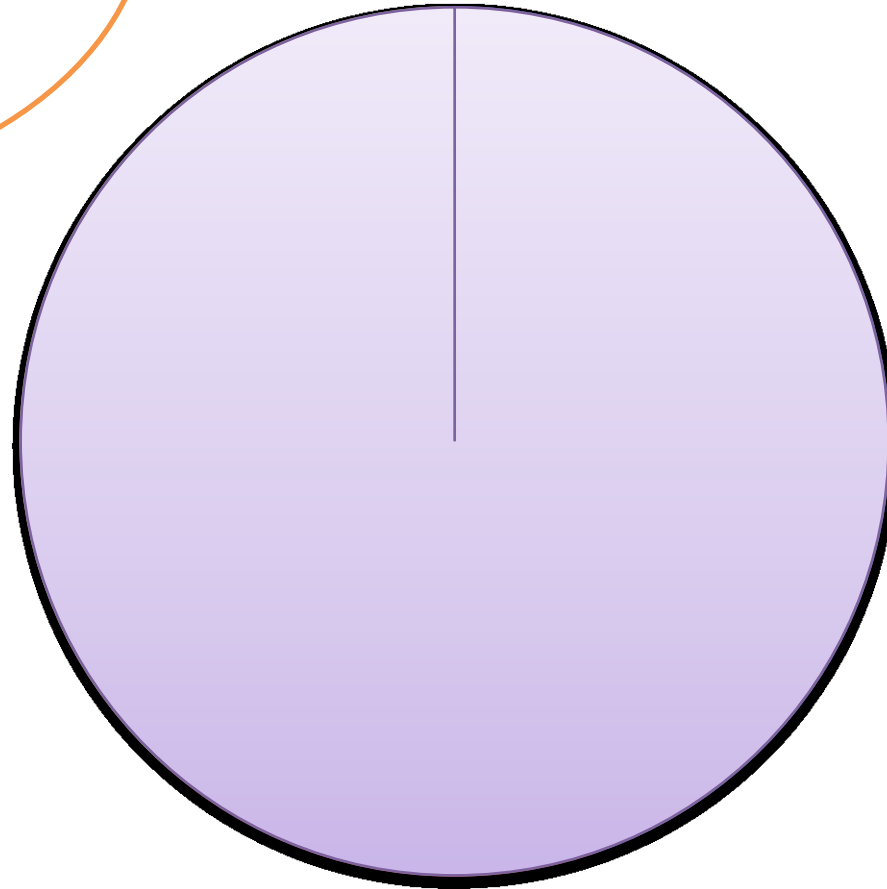
Tamponi vaginali: esame colturale



7666  
colture vaginali

dal 31/07/2015 al 31/07/2017

T.vaginale



■ Negativi ■ Miceti ■ Batteri

<i>Negativi</i>	3437	45%
<i>Miceti</i>	1270	17%
<i>Batteri</i>	2959	38%

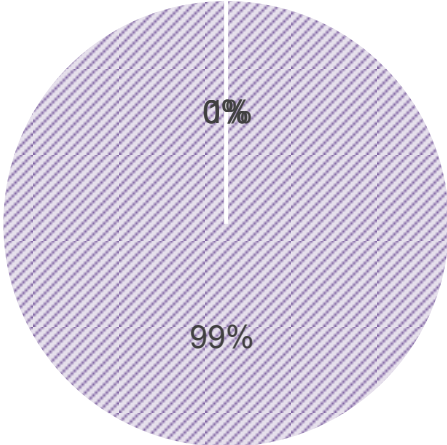
*Gardnerella vaginalis:*  
N°1103

% 14,3



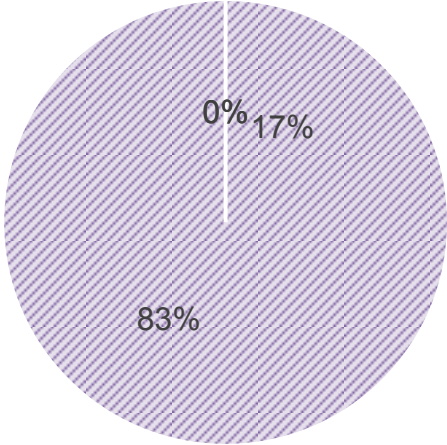
# TRICHOMONAS

■ Positivi ■ Negativi ■ ■



# MICETI

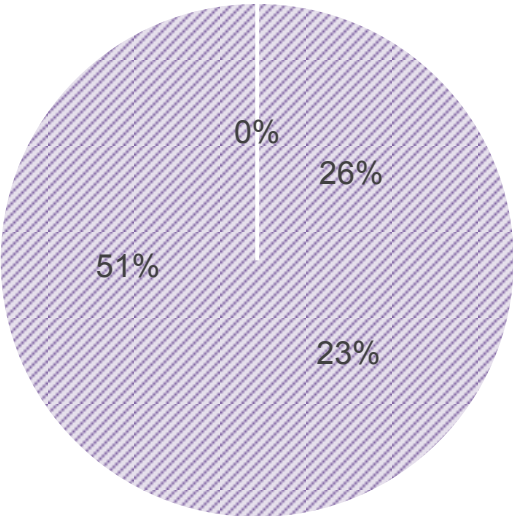
■ Positivi ■ Negativi ■ ■



7666  
Esami  
microscopici su  
essudato vaginale  
dal 31/07/2015 al 31/07/2017

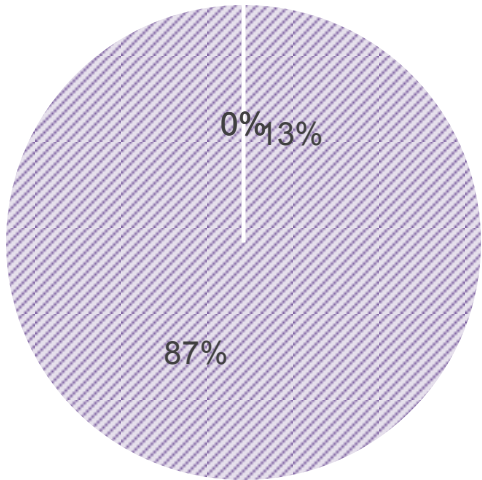
# LATTOBACILLI

■ Assenti ■ Rari ■ Presenti



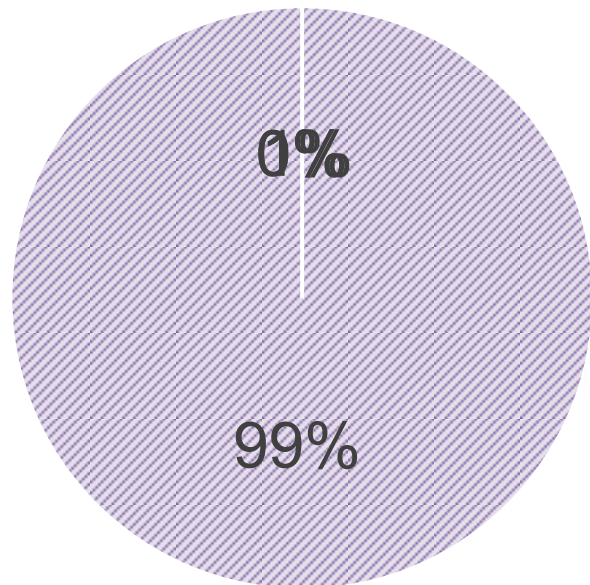
# LEUCOCITI

■ Numerosi ■ Assenti/rari/alcuni



7666  
Esami  
microscopici su  
essudato vaginale  
**32 Positivi**

■ Positivi ■ Negativi ■ ■



## Trícomonas vaginalis

3370  
Esami  
Secrezioni  
cervicali  
DNA NAT  
(Seegene)  
**38 Positivi**

■ Positivi ■ Negativi ■ ■

