

Prélèvements Génitaux (Femmes & Hommes)

Pr Makhtar CAMARA

Laboratoire de Bactériologie-Virologie

CHNU Aristide Le Dantec

Objectifs

1. Lister les différentes indications d'un examen cyto-bactériologique de prélèvements génitaux (PG)
2. Expliquer les conditions à respecter pour les PG
3. Décrire les différentes techniques de prélèvements
4. Décrire les différentes étapes du diagnostic bactériologique
5. Interpréter les résultats

Chez les femmes

Introduction (1/2)

Examen des sécrétions génitales permet de faire le diagnostic

- **D'une infection génitale transmise par voie sexuelle**
encore appelée Infection sexuellement transmissible ou IST
 - **Germes responsables** = agents d'IST
- **D'une infection génitale en l'absence de contact sexuel**
 - **Germes responsables** = commensaux

Introduction (2/2)

Complications

- Infections génitales non traitées ou mal traitées peuvent entraîner des complications :
 - Endométrite
 - Ovarite
 - Salpingite
- Complications peuvent évoluer vers **la stérilité**

Buts du PG

- Rechercher les agents responsables d'IST
- Rechercher les agents d'infections génitales
- Sécuriser les dons ovules
- Sécuriser la fécondation *in vitro*

Indications cliniques

PG motivé par la symptomatologie :

- Leucorrhées (« **pertes blanches** »)
- Ulcérations génitales
- Bilan de stérilité, d'infertilité
- Bilan pré-nuptial
- Bilan de contraception
- Bilan de surveillance de grossesse

Appareil génital féminin

- **Bas appareil génital**

- vulve, vagin, exocol
- urètre

Flore commensale polymorme

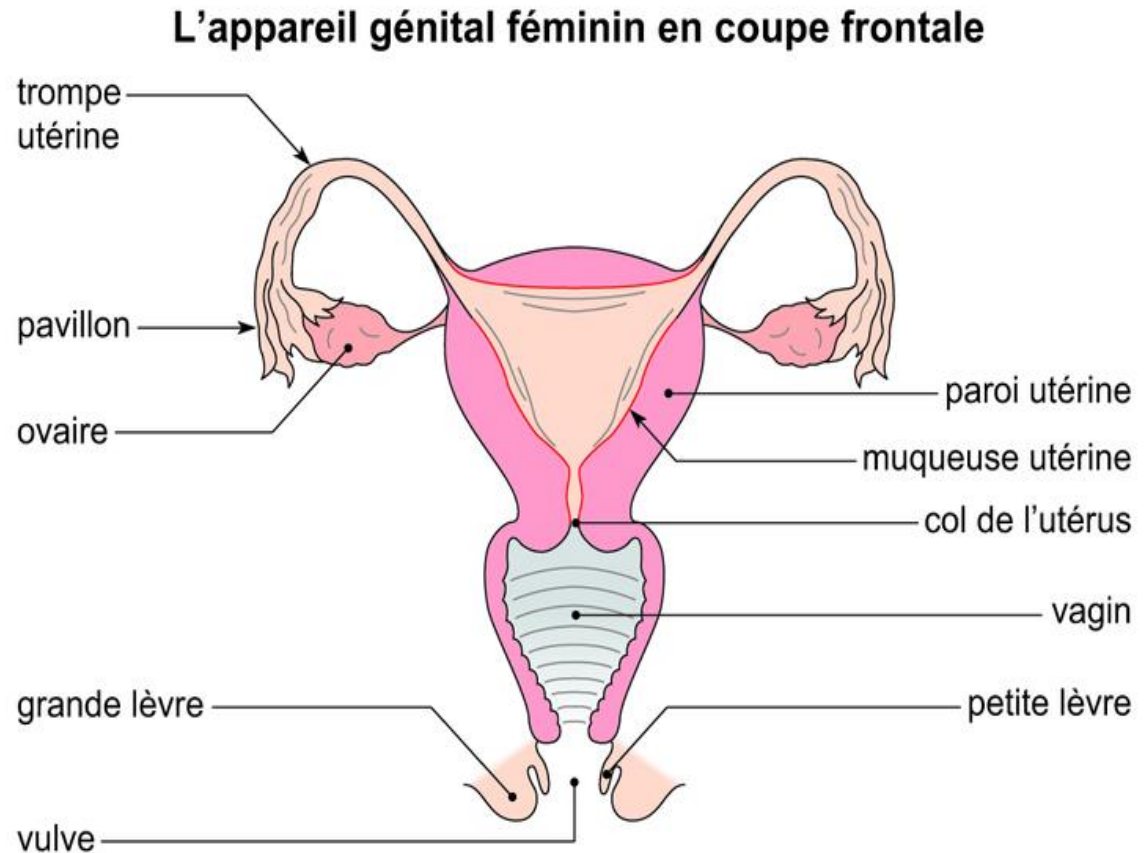
- **Haut appareil génital**

- endocol, utérus,
- trompes, ovaires

Stérile

- **Glandes annexes**

- Skène, Bartholin



Flore commensale

Jamais pathogène

- *Lactobacillus* +++
- *Corynebacterium*
- *Neisseria* commensales
- *Staphylococcus* non
aureus

Pathogène possible

- *Candida albicans*
- *Gardnerella vaginalis*
- *Mobiluncus* spp.
- *Streptococcus* spp.
- *Staphylococcus aureus*
- *Mycoplasma* spp. 9
- *Enterobacteriaceae*

Flore commensale

Germes pathogènes spécifiques

- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Chlamydia trachomatis*
- *Treponema pallidum*
- *Haemophilus ducreyi*
- *Trichomonas vaginalis*

Infections génitales

- **Vaginite, vulvo-vaginite**
- Bartholinite
- Skénite
- **Cervicite**
- Urétrite
- Infections profondes
 - Endométrite
 - Salpingite
 - Ovarite
- Ulcérations : génitales, anales

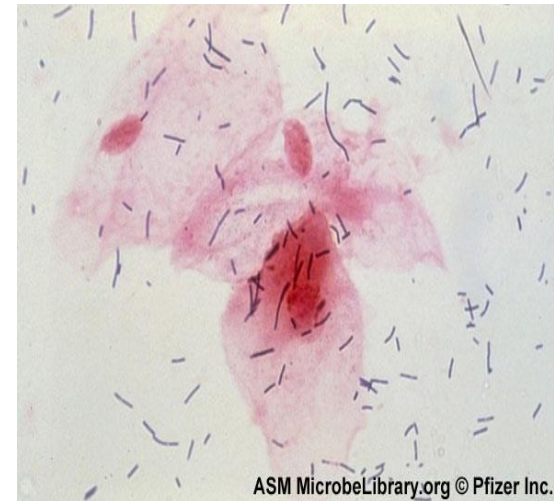
Flore vaginale normale

A l'état normal et en période d'activité hormonale

- le pH vaginal est acide (pH < 4,5)
- Flore vaginale
 - bacilles lactiques *Lactobacillus acidophilus*
 - ou bacille de Doderlein +++
 - bactéries anaérobies

Bacilles de Doderlein

- une barrière qui s'oppose à l'implantation d'autres germes (« barrière écologique »)
- Infection => une modification de la flore



ASM MicrobeLibrary.org © Pfizer Inc.

Recueil des sécrétions

Conditions

- Avant toute **antibiothérapie** ou **antifongithérapie**
 - locale (ovules, gels, crèmes, lotion) ou générale
 - arrêt 3 jours avant recueil
- En dehors des menstrues
- Pas de toilette intime la veille et le jour du prélèvement
- Pas de rapport sexuel 24-48h avant prélèvement

Matériel de prélèvement (1/3)

- Spéculum stérile, non lubrifié
- Ecouvillons, cytobrosses, spatules
- Gants stériles
- Antiseptique doux, eau physiologique stérile
- Compresses stériles
- Table gynécologique
- Lampe pour un bon éclairage

Matériel de prélèvement (2/3)

Spéculums

Réutilisable

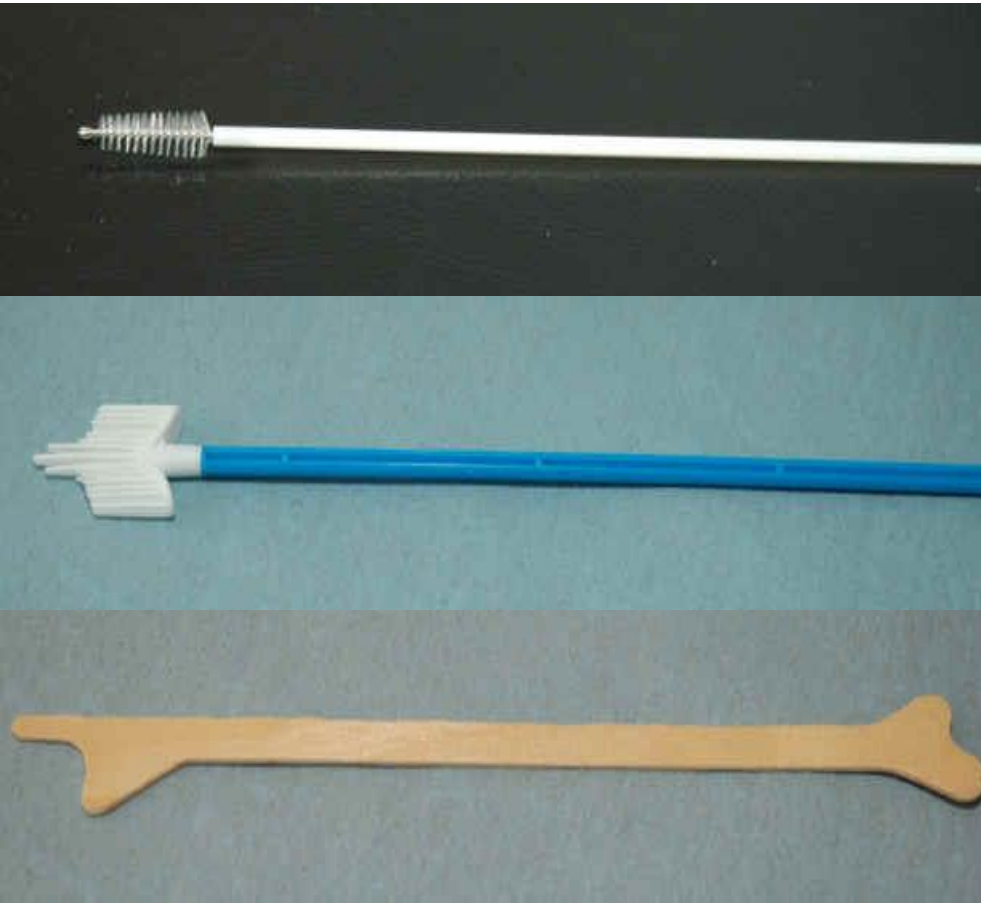


Jetable



Matériel de prélèvement (3/3)

Ecouvillons



Techniques de recueil

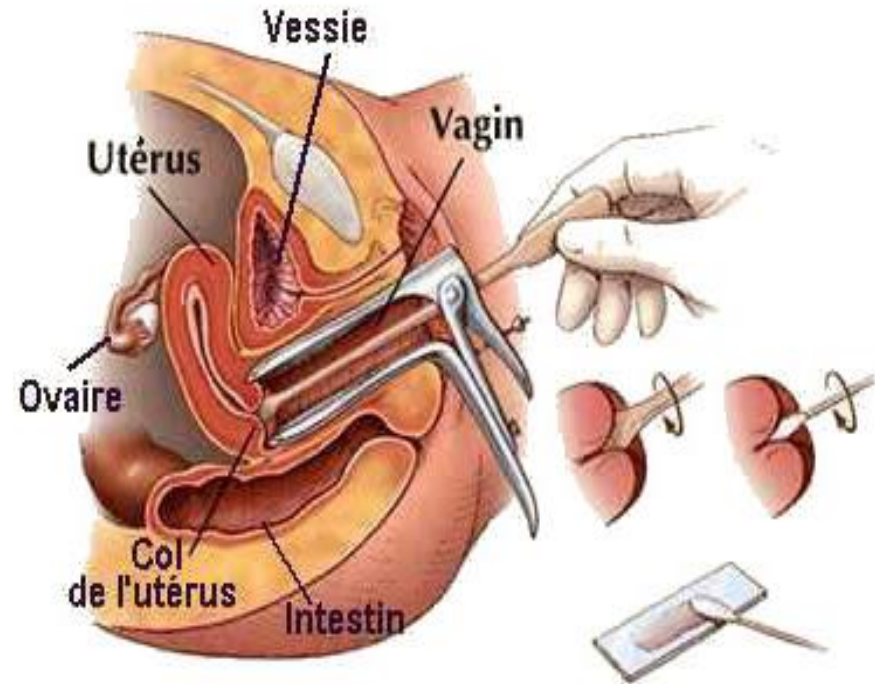
- Patiente en position gynécologique
- Disposer d'une lampe mobile
- Faire un examen gynécologique visuel



Prélèvement vaginal proprement dit

- **Pose du spéculum**

- Installer la patiente en position gynécologique
- Nettoyer la vulve avec l'antiseptique doux
- Placer le spéculum stérile
- Bien éclairer

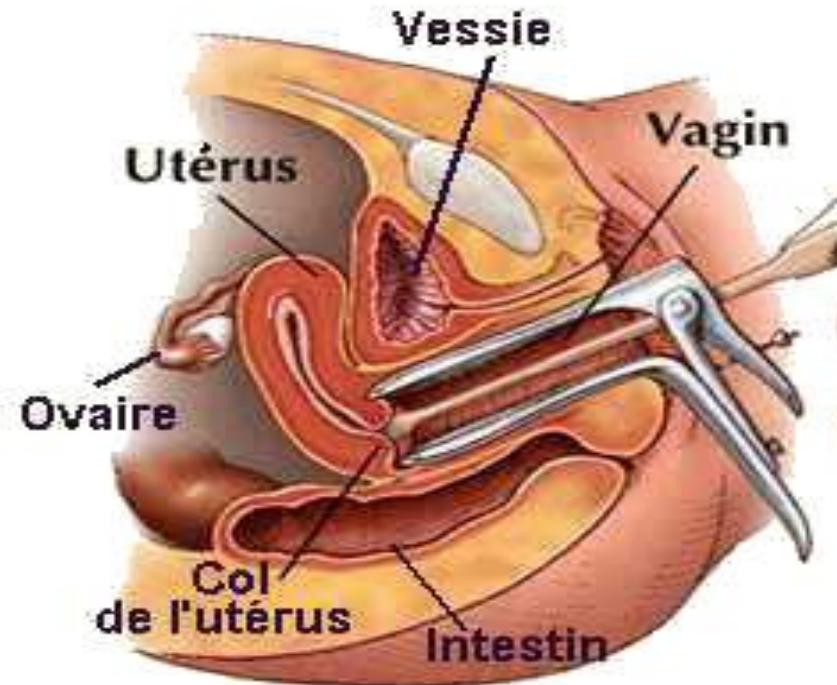


Prélèvement exsudat vaginal

Sécrétions vaginales

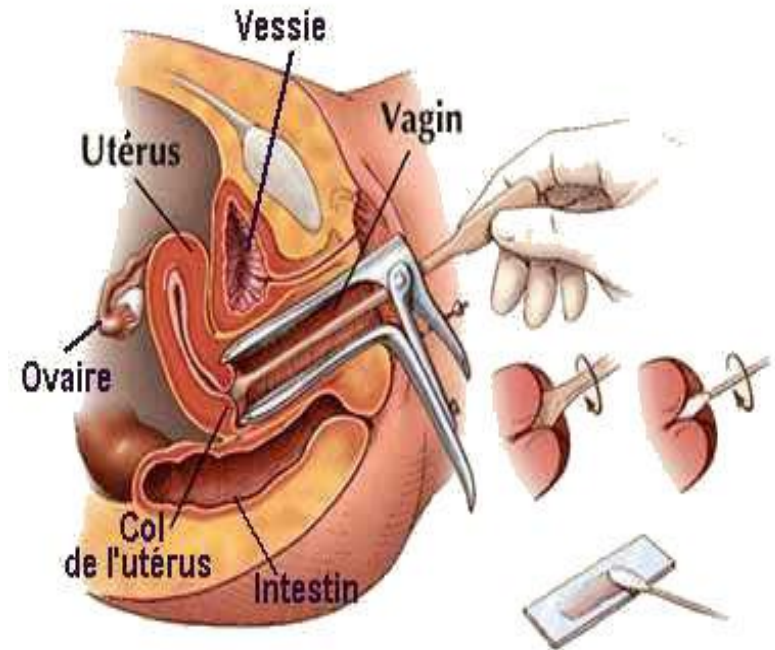
En cas de vaginite ou vaginose

- *Sites de recueil*
 - Cul-de-sac postérieur (tube contenant du serum physiologique)
 - Exocol (tube sec et/ou milieux spécifiques)
- *Techniques de recueil*
 - Ecouvillonnage
 - Aspiration



Prélèvement endocervical

- **En cas de cervicite**
 - au **niveau de l'orifice externe du col** pour la recherche du gonocoque
 - au **niveau de l'endocol**, après nettoyage de l'exocol « **moucher** » le col avec des compresses, pour la recherche de *Chlamydia* (prélèvement riche en **cellules**)



Prélèvement génital

- **Sécrétions vulvaires (chez la jeune fille)**
 - Écouvillonner les sécrétions vulvaires
 - Écouvillonner les lésions vulvaires

- **Pus des glandes annexes**
 - Nettoyer la vulve : eau physiologique stérile
 - Ecouvillonner l'orifice des glandes
 - Aspirer le pus à l'orifice des glandes

Prélèvement génital

- **Ulcérations**

- Nettoyer la lésion
- Eau salée stérile
- Pas d'antiseptique

Recueil

Recueillir la sérosité **par grattage léger** au niveau de la base ou des bords de l'ulcère avec un vaccinostyle, une anse, une curette ou un écouvillon en prenant soin de ne pas faire saigner

Sécrétions urétrales

- ***Pus au méat urétral***
 - masser l'urètre de haut en bas
 - aspirer ou écouvillonner le pus
- ***Sécrétions endo-urétrales***
 - nettoyer le méat avec l'antiseptique
 - introduire écouvillon/cytobrosse sur 1 à 2 cm
 - racler les sécrétions et les cellules
- ***1^{er} ml du 1^{er} jet d'urines***

Matériels de transport - Conservation

Milieus de transport

- Gélose molle de Amies
- Gélose molle de Stuart
- Écouvillons
- Eau physiologique stérile

Transport sur courte distance

- Immédiat en moins de 30 mn
- Idéal : prélever au laboratoire

Transport sur longue distance

- Milieu de Young et Stuart
- Milieu d'Amies
(survie du gonocoque pendant 24-48 heures)

Diagnostic au laboratoire

Examen macroscopique

Réalisé au cours du prélèvement

- Blanchâtres, grisâtres, verdâtres, marrons ...
- Mousseuses, grumeleuses ou « **caillebotées** », pâteuses ...
- Odeur fétide : « **poisson pourri** » (test à la potasse à 10 %)

Mesurer le pH vaginal : pH normal est acide (3,8-4,5)



Diagnostic au laboratoire

Examen microscopique

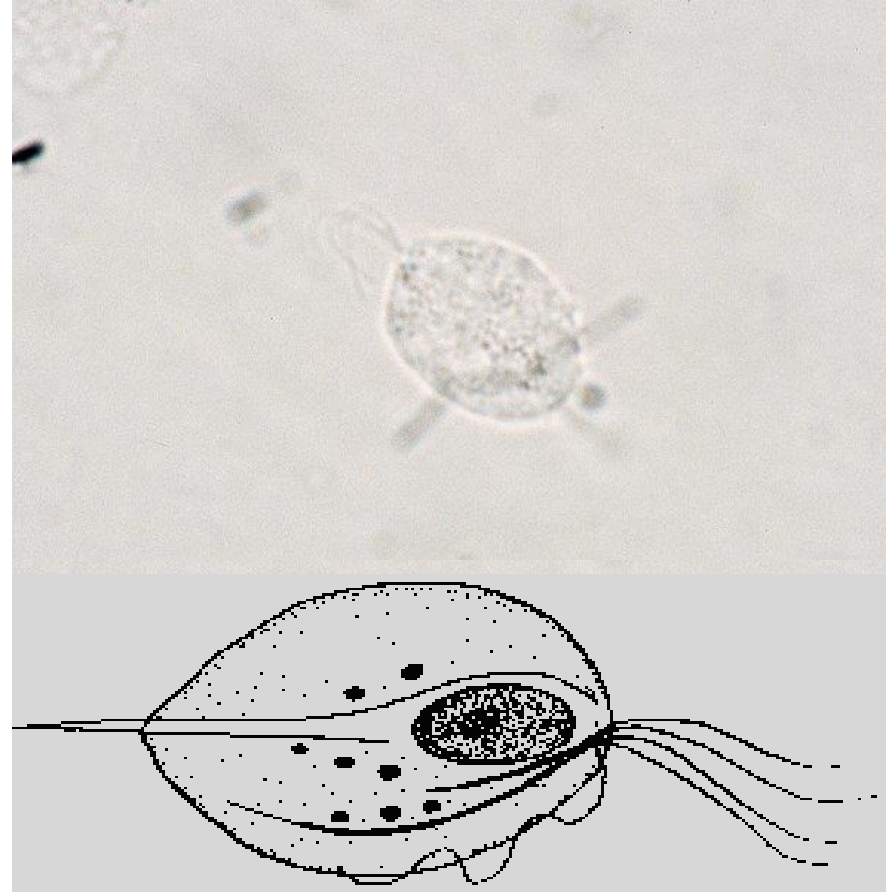
État frais

- Leucocytes (nombre/champ), hématies
- Cellules vaginales
- *Trichomonas vaginalis* (mobilité caractéristique « **en tourniquet** » ou « **en tourbillon** »)
- Levures et filaments mycéliens

Diagnostic au laboratoire



Levures à *Candida albicans*



Trichomonas vaginalis

Diagnostic au laboratoire

Examen microscopique

Coloration de Gram

- **Qualité de la flore**
 - type de la flore vaginale
 - bactéries à Gram (+) ou à Gram (-)
 - *Trichomonas*, levures
- **Quantifier la flore : **Quatre types** de flore vaginale**
 - Type I : bacilles à Gram (+) = 100 %
 - Type II : bacilles à Gram (+) > 50 %
 - Type III : bacilles à Gram (+) < 50 %
 - Type IV : absence bacilles à Gram (+)

Diagnostic au laboratoire

Score de Nugent

Evaluation du score de Nugent de la flore vaginale

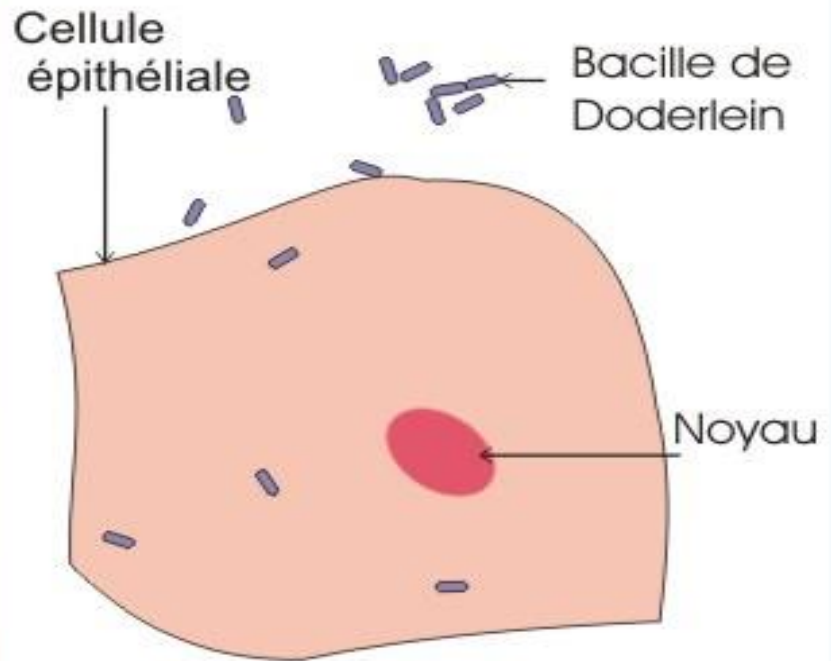
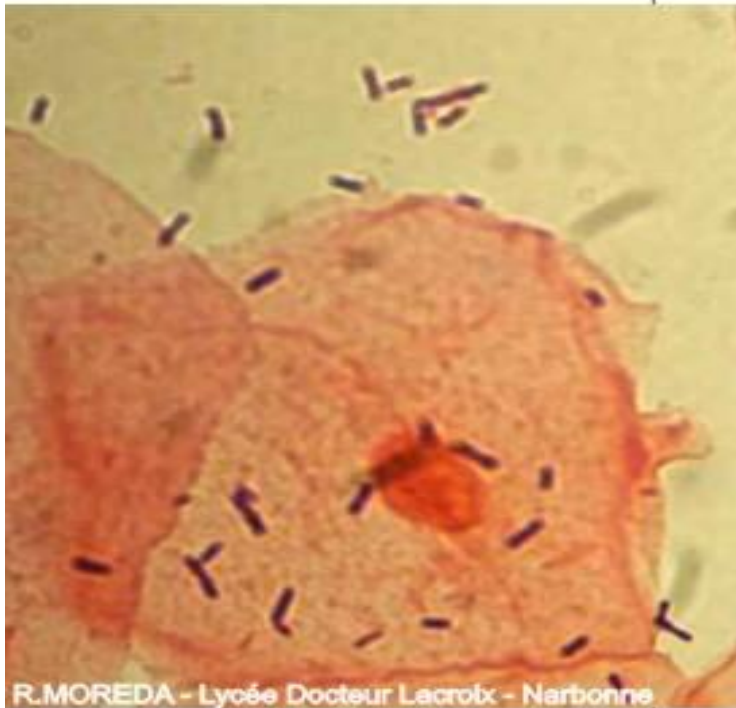
Quantité par champs > (immersion de l'objectif 100 >	> 30	6 à 30	1 à 5	< 1	0
Morphotype lactobacilles (L) : Bacilles à Gram + à bords parallèles	0 ○	1 ○	2 ○	3 ○	4 ○
Morphotype Gardnerella et anaérobies (G) : Bacilles à Gram variable, corynéformes, polymorphes	4 ○	3 ○	2 ○	1 ○	0 ○
Morphotype Mobiluncus (M) : Bacilles incurvés à Gram variable (coup d'angle)	2 ○	2 ○	1 ○	1 ○	0 ○

• Interprétation du score de Nugent :

- En explorant par examen direct microscopique, après coloration de Gram, des sécrétions vaginales prélevées au niveau du cul-de-sac postérieur ou latéral du vagin on peut établir le score de Nugent qui divise la flore vaginale en trois groupes :
 - **Groupe 1 (score comprise entre 0 et 3) :**
 - flore normale, à prédominance de lactobacilles, parfois elle est associées à d'autres morphotypes bactériens mais présents en petite quantité
 - **Groupe 2 (score comprise entre 4 et 6) :**
 - flore intermédiaire, avec des lactobacilles peu abondantes et associées à d'autres morphotypes bactériens peu différenciés en petite quantité. Il s'agit d'une flore vaginale altérée, mais elle n'est pas en faveur d'une vaginose bactérienne.
 - **Groupe 3 (score compris entre 7 et 10) :**
 - flore évocatrice d'une vaginose bactérienne. Les lactobacilles ont disparu, au profit d'une flore anaérobie abondante et polymorphe.
- Cette exploration microscopique est actuellement plus sensible et spécifique que le diagnostic clinique des vaginoses bactériennes.

Diagnostic au laboratoire

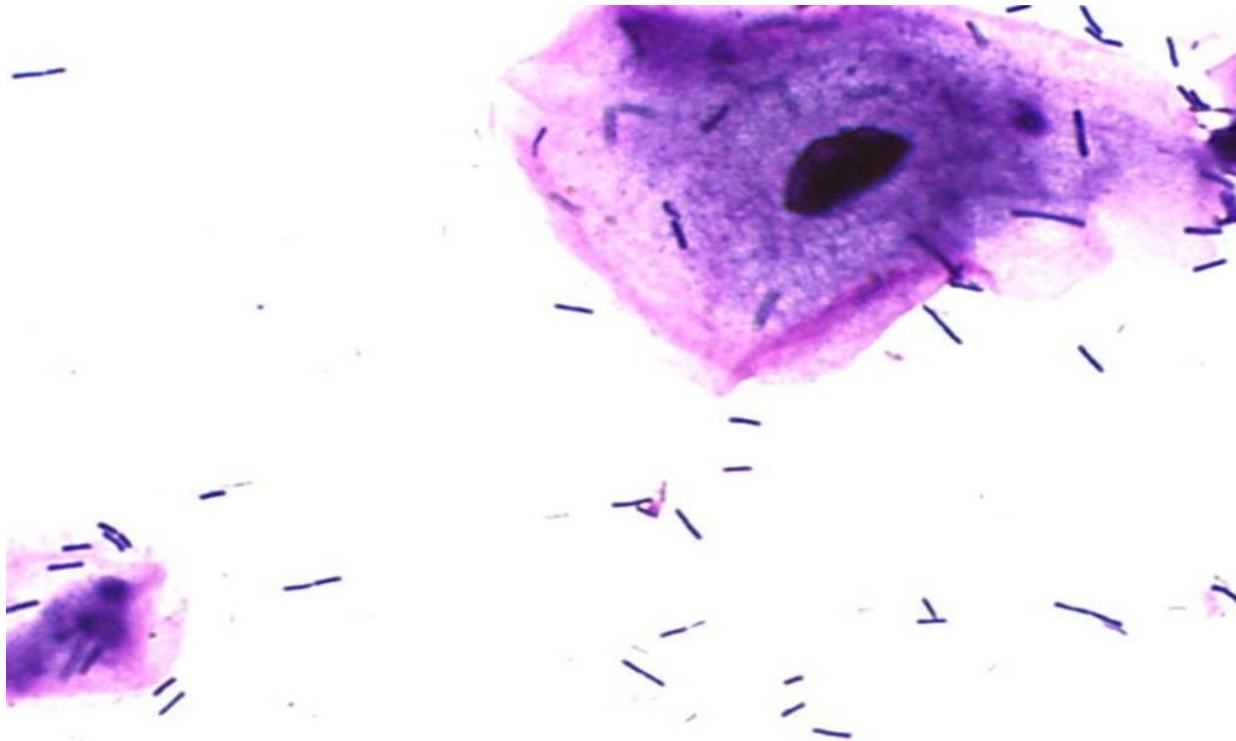
Flore vaginale normale



Frottis vaginal normal
coloré au Gram - x1000

Diagnostic au laboratoire

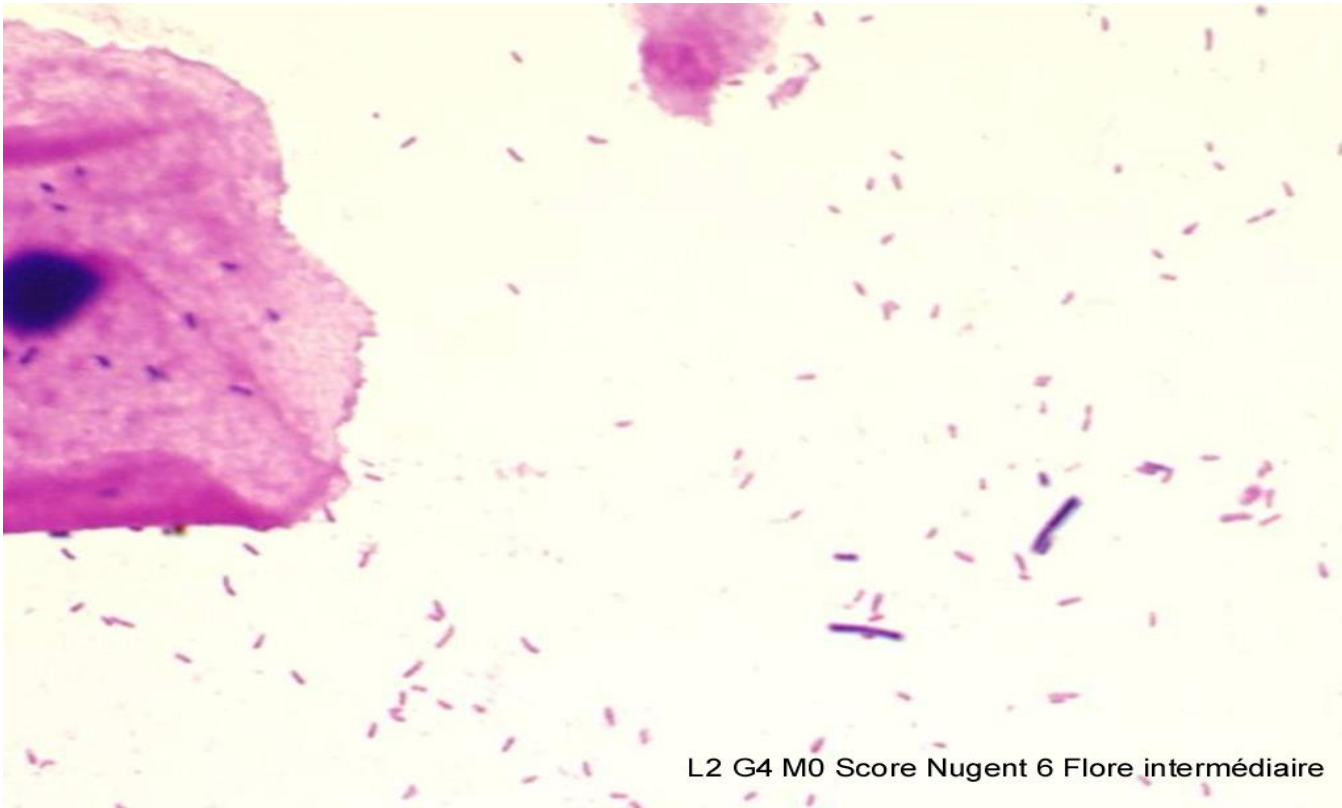
Flore de type I



L0 G0 M0 Score Nugent 0 Flore normale

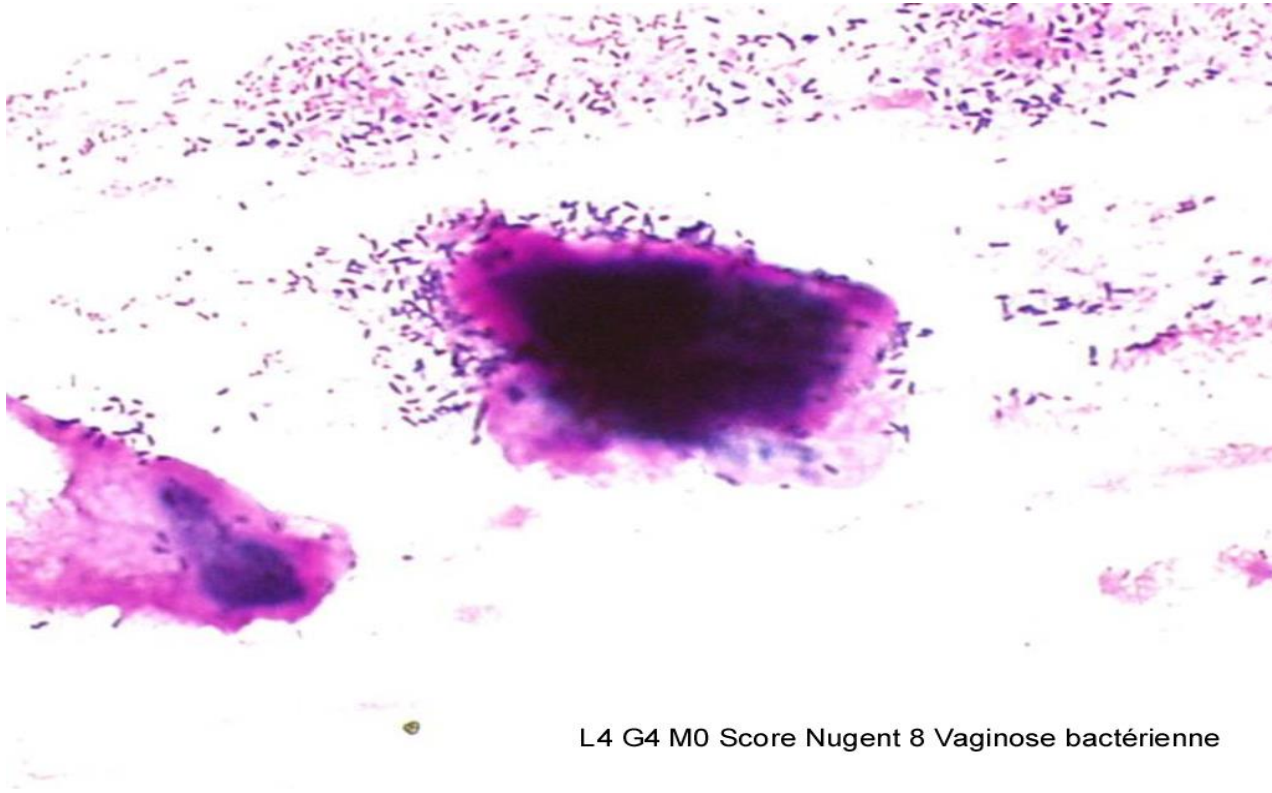
Diagnostic au laboratoire

Flore intermédiaire (type III)



Diagnostic au laboratoire

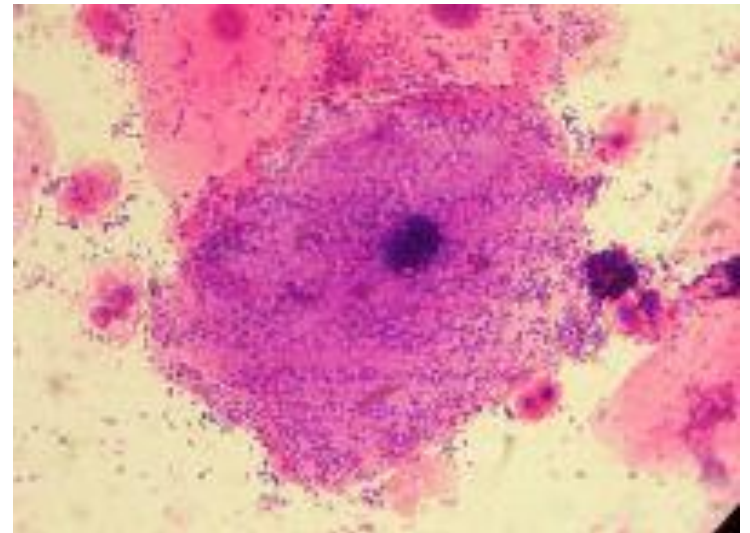
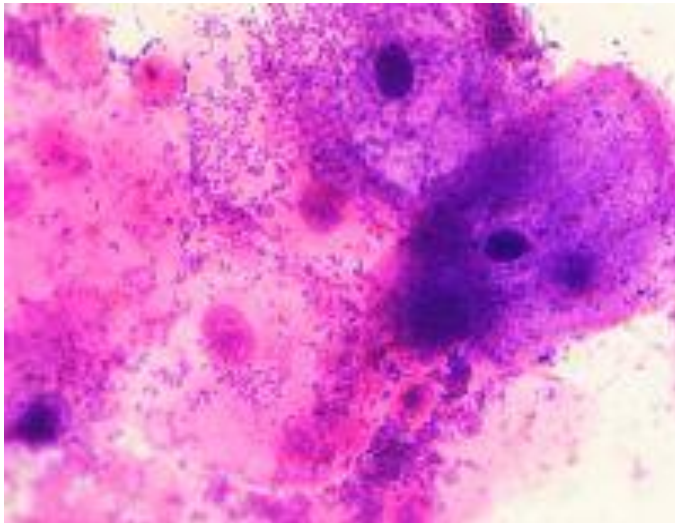
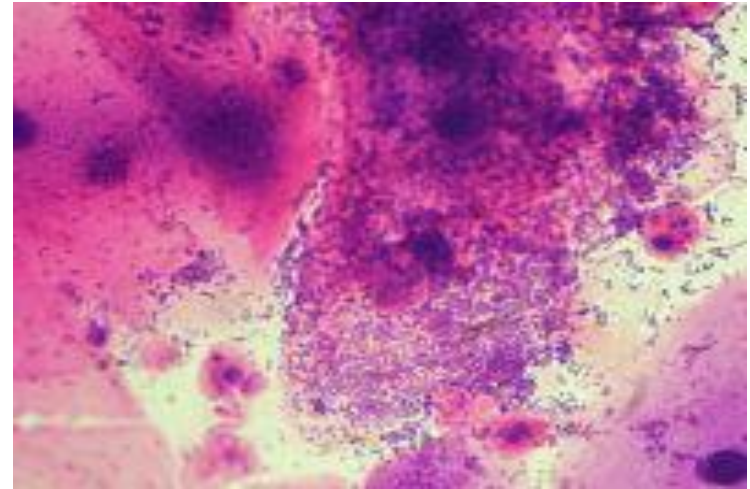
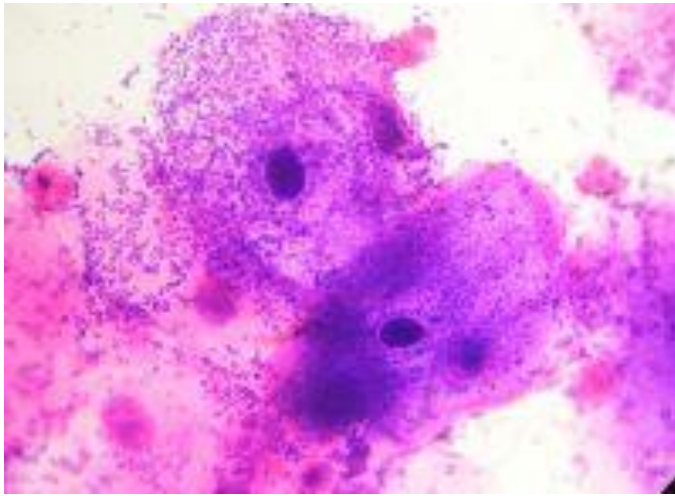
Flore de type IV



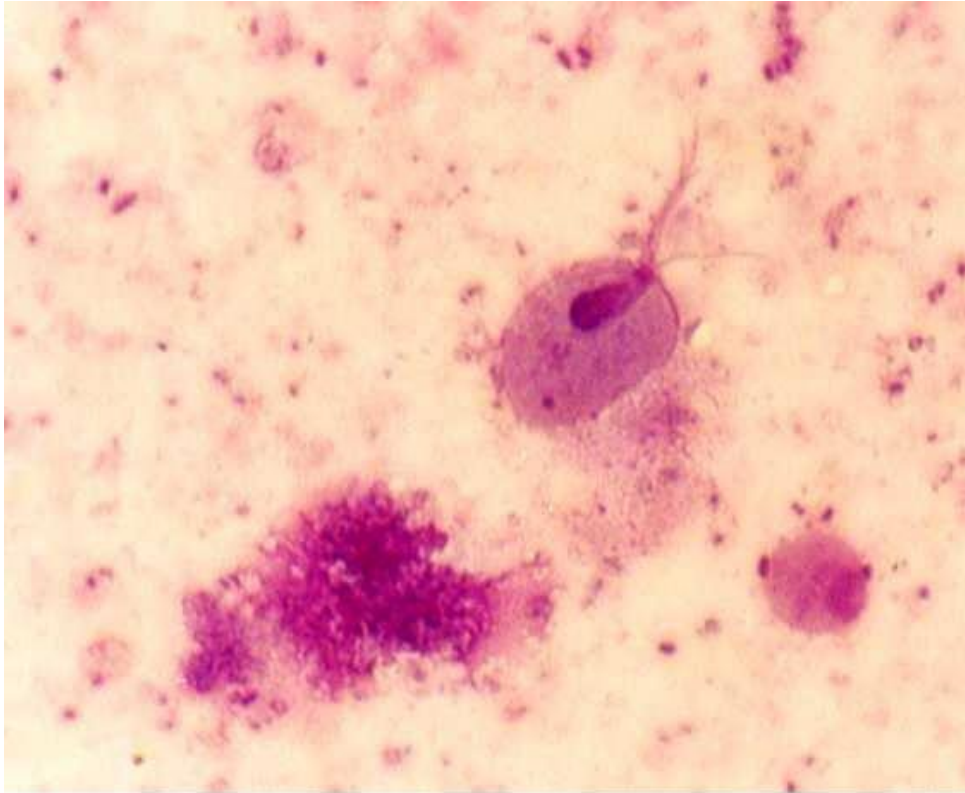
L4 G4 M0 Score Nugent 8 Vaginose bactérienne

Diagnostic au laboratoire

Flore de type IV : *Gardnerella vaginalis* + *Mobiluncus* spp.

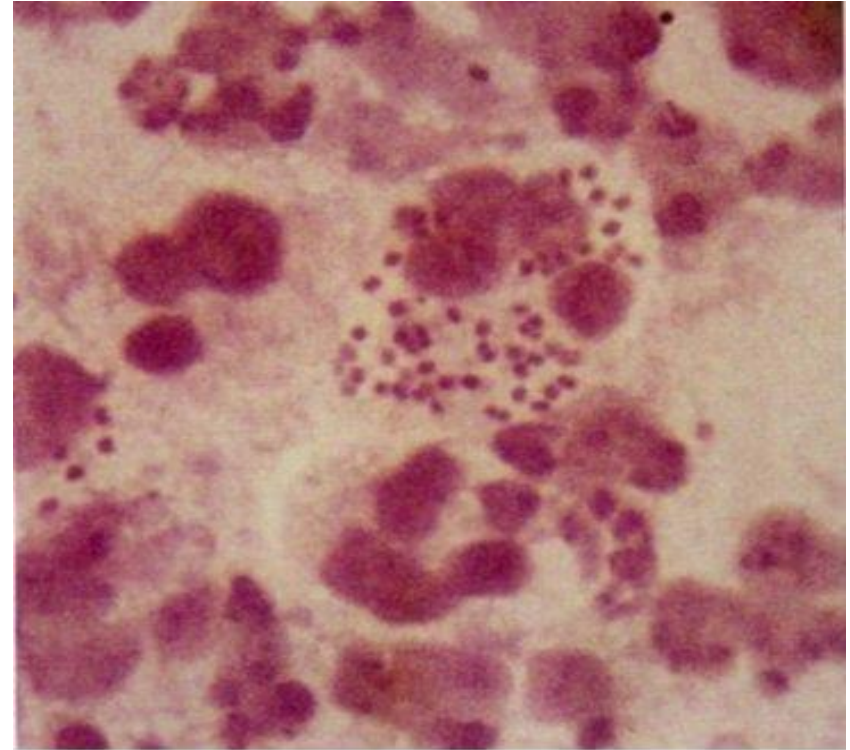


Diagnostic au laboratoire



Trichomonas vaginalis
Coloration de Gram (x100)
(origine Internet).

Parasite des voies génitales, il se remarque plus particulièrement lors de l'examen direct état frais. Mobile grâce à ses flagelles.



Neisseria gonorrhoeae - Coloration de Gram (x100).
Bien noter la répartition régulière à l'intérieur des polynucléaires, de ces cocci à gram négatif groupés en diplocoques, donnant l'image en « grain de café ».
Ne pas confondre avec des staphylocoques décolorés.

Diagnostic au laboratoire

Examen microscopique

Coloration de Giemsa

- Polynucléaires neutrophiles
- Cellules vaginales
- *Trichomonas vaginalis*
- Levures
- *Haemophilus ducreyi*
- *Gardnerella vaginalis*

Diagnostic au laboratoire

Mise en culture

Géloses usuelles

- Géloses au sang
 - Sang cuit + VCN : *N. gonorrhoeae*
 - Sang frais + acide nalidixique (GSN) : Gram (+) : SGB, *Listeria monocytogenes* et *S. aureus*
- Géloses EMB : entérobactéries
- Sabouraud : *Candida*
- Gélose A7 : mycoplasmes

Diagnostic au laboratoire

Mise en culture

Bouillons

- Bouillon thioglycolate : toute bactérie
- Bouillon urée-arginine : mycoplasmes
- Bouillon streptosel : streptocoques

Diagnostic au laboratoire

Interprétation des résultats

Diagnostic d'une cervicite à gonocoque

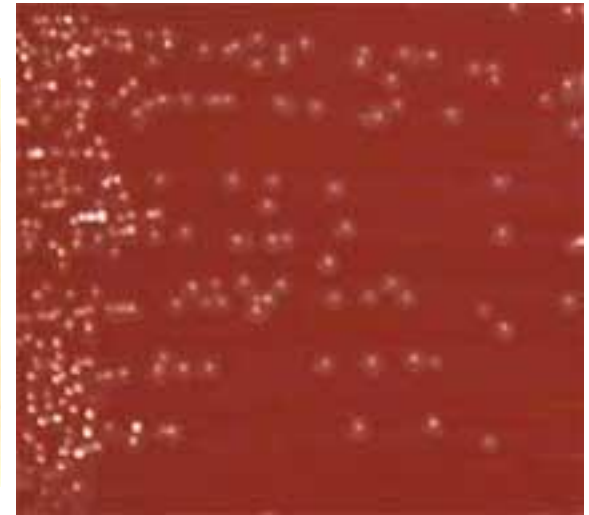
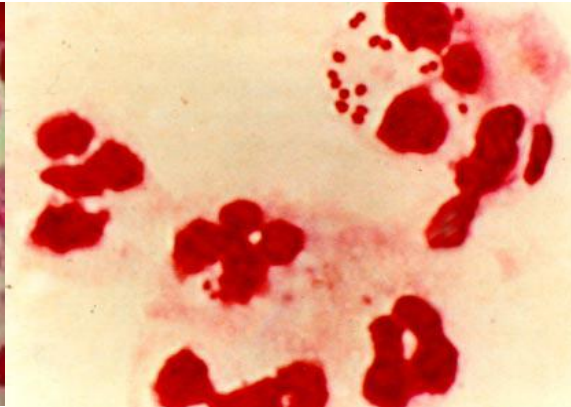
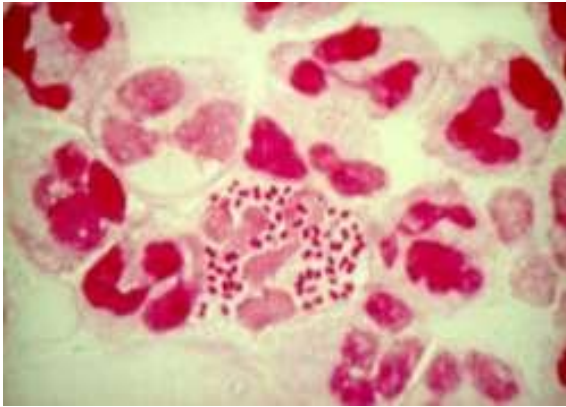
- **Prélèvement au niveau de l'endocol**
- **Examen direct**

Colorées au Gram ou au Bleu de méthylène

- Leucocytes (PNN)
 - **Diplocoques à Gram (-) intra et extra cellulaires**
-
- **Culture : gélose chocolat**
 - Gélose au sang \pm VCN + facteurs de croissance (Polyvitex)
 - Croissance sous CO₂ au bout de 24 à 48 heures
 - **Identification et antibiogramme**

Diagnostic au laboratoire

Neisseria gonorrhoeae



Diagnostic au laboratoire

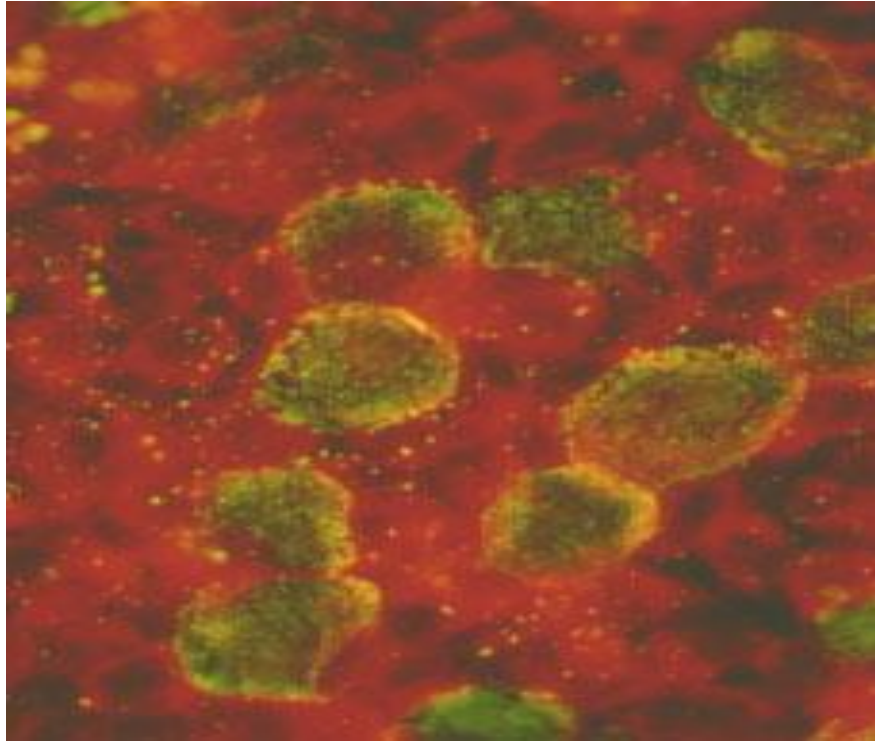
Interprétation des résultats

Diagnostic d'une cervicite à *Chlamydia*

- Examen direct : Coloration au Giemsa
- Culture cellulaire : présence d'inclusions cytoplasmiques dans cellules infectées visibles après coloration au Giemsa, au Lugol
- Recherche d'Ag : IFD, ELISA
- Mise en évidence de l'ADN par PCR

Diagnostic au laboratoire

Chlamydia trachomatis



Inclusions (vertes/jaunes) dans les cellules épithéliales génitales infectées (rouges)

Diagnostic au laboratoire

Diagnostic de **vaginite** ou de **vaginose**

Examen macroscopique

- **Leucorrhées à *Trichomonas***
abondantes, **mousseuses**, verdâtres et nauséabondes
- **Pertes dues à *Candida albicans***
peu abondantes, épaisses, blanchâtres (aspect de lait caillé « **caillebotées** »)
- **Vaginose bactérienne due à *Gardnerella vaginalis***
 - odeur « **d'amine de poisson** », vert grisâtre ou blanche
 - consistance fine et homogène

Diagnostic au laboratoire

Diagnostic de **vaginite** ou de **vaginose**

Examen microscopique

– Etat frais

- *Trichomonas vaginalis*
- Levures et filaments mycéliens
- Leucocytes (réaction inflammatoire)
- Cellules épithéliales

– Examen après coloration de Gram

- l'abondance de la flore normale (Bacille de Doderlein) et le type de flore
- Présence de levure (*Candida albicans*)
- Présence de *Gardnerella vaginalis*
- Présence d'une flore monomicrobienne évoquant un germe banal

Diagnostic au laboratoire

Diagnostic de **vaginite** ou de **vaginose**

Culture

- Ensemencement systématique
 - de gélose Sabouraud pour l'isolement de *C. albicans*
 - GSO ou (GSN) chez la femme enceinte
- Autres milieux en fonction des résultats de l'examen direct et des renseignements cliniques
- Si présence de *Trichomonas* => identification inutile de toute flore d'accompagnement ?

Diagnostic au laboratoire

Vaginite à *Candida*

- **État frais**

- nombreuses levures
- filaments mycéliens

- **Culture sur Sabouraud**

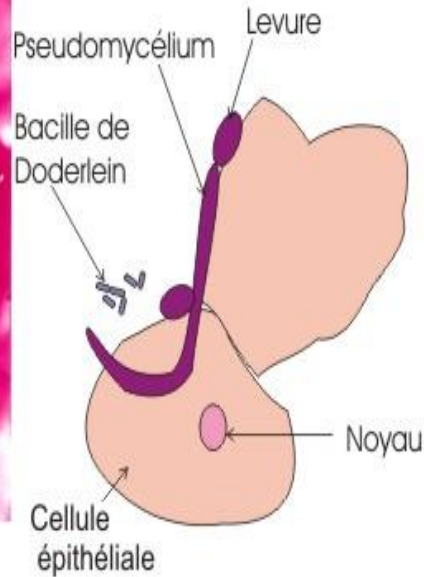
- nombreuses colonies
- test de filamentation (+) à lire dans les 4h après incubation à 37 °C
- ou sur milieu chromogène (Ex: CHROMOGAR *Candida*)

Diagnostic au laboratoire

Candida albicans



R. Moreda - Lycée Docteur Lacroix - Narbonne



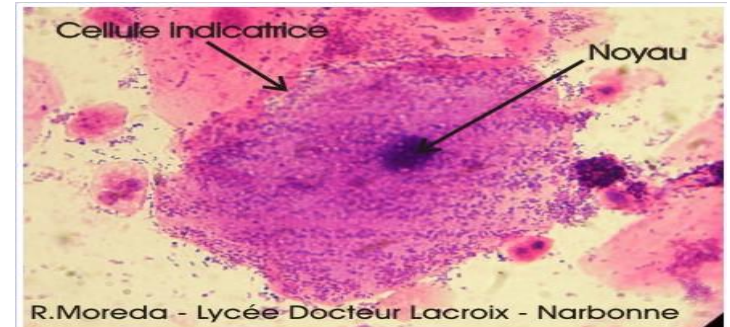
Mycose vaginale à *Candida albicans*
Frottis vaginal coloré au Gram - x1000



Diagnostic au laboratoire

Vaginose bactérienne

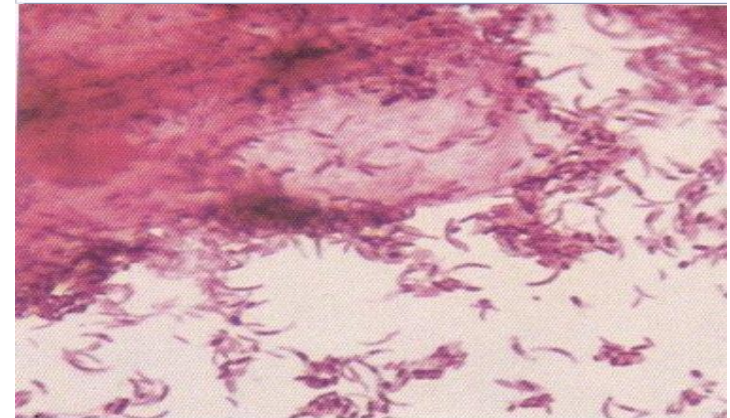
- Présence de “**clue cells**” à l'examen direct => vaginose à *Gardnerella vaginalis*
 - sécrétions homogènes dites « grisâtres »
 - odeur d'amines de poisson (apprécié par le sniff test)
 - renforcée par la potasse à 10 %
 - pH > 4,5
- ***Mobiluncus***
 - Bacilles à Gram (-) incurvés
 - associés à *G. vaginalis*



R. Moreda - Lycée Docteur Lacroix - Narbonne

Vaginose : présence de cellules indicatrices (Cellules épithéliales recouvertes de *Gardnerella vaginalis*)

Frottis vaginal coloré au Gram x1000



Mobiluncus + Gardnerella vaginalis

Coloration de Gram (x100).

Nombreux bacilles, à gram positif, incurvés et se décolorant facilement. Mobiluncus : germe microaérophile responsable de vaginite.

Cette bactérie est très souvent associée à une gardnerella comme sur cette photographie.

Diagnostic au laboratoire

Infection à *Mycoplasma*

Culture

- présence de *Mycoplasma*
- présence de *Ureaplasma*

Interprétation

- taux $\geq 10^4$ UFC : unités formant colonies
- ou 10^4 UCC : unités changeant couleur

Isolement : milieu solide (Gélose A7)

Colonies « **œuf sur le plat** » pour *M. hominis*

« **oursin** » pour *Ureaplasma* spp.

Diagnostic au laboratoire

Culture de *Mycoplasma* en bouillon



Diagnostic au laboratoire

Diagnostic d'une **ulcération**

Ulcération **syphilitique**

- Recherche de *Treponema pallidum* à l'état frais, au microscope à fond noir après imprégnation argentique (**coloration de Fontana Tribondeau**), de la sérosité du chancre ou du liquide de ponction ganglionnaire
- Immunofluorescence directe (IFD)
- Sérologie (RPR et TPHA)

Diagnostic au laboratoire

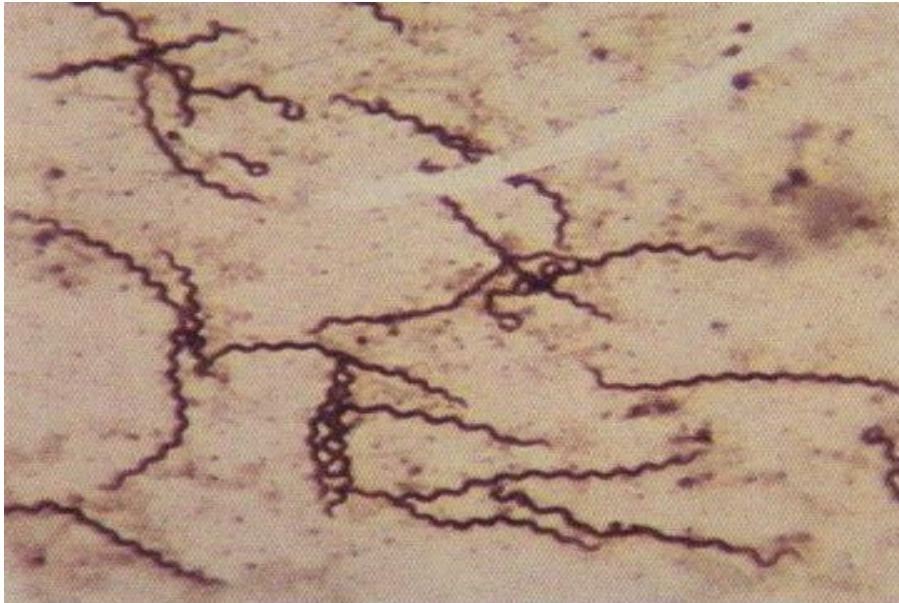
Diagnostic d'une **ulcération**

Ulcération due au **chancre mou** à *Haemophilus ducreyi*

- Coloration au MGG ou au bleu de méthylène sur frottis réalisés avec la sérosité du chancre mou ou du pus d'abcès de l'aine
 - petits bacilles isolés ou disposés en courtes chaînettes « **chaîne de bicyclette** » ou en petits amas intracellulaires
- Isolement par culture : difficile, nécessite le facteur X
 - **Gélose au sang de lapin à 30 %**
 - Incubation 33-35 °C, 5 à 10 % CO₂ en atmosphère humide

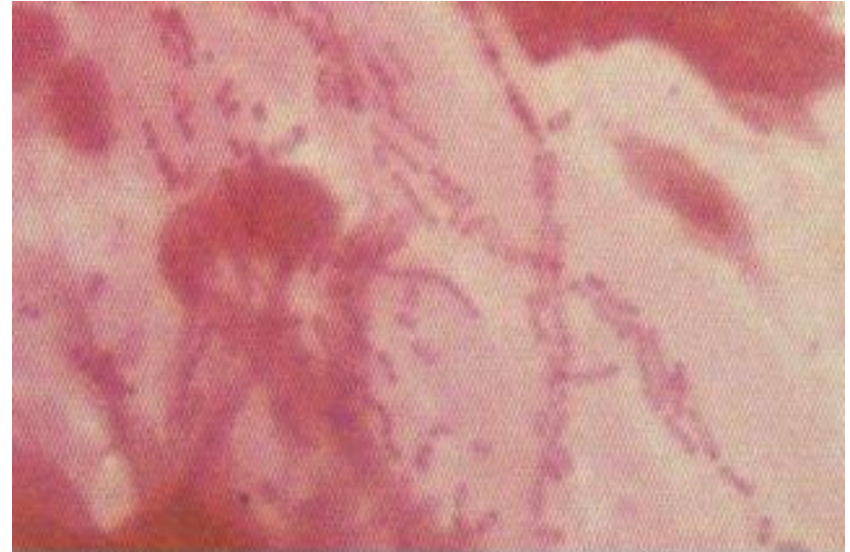
Diagnostic au laboratoire

Diagnostic d'une **ulcération**



Treponema pallidum

Coloration de Fontana-Tribondeau (x1000).
Contrairement aux différentes spirilles commensales que l'on peut trouver dans la bouche et dans le tube digestif, le tréponème pâle est caractérisé par sa forme et la régularité de ses spires bien serrées.



Haemophilus Ducreyi **dans un chancre mou**

Coloration de Gram (x1000).
A noter ici l'image très connue en
« chaîne de bicyclette »

Diagnostic au laboratoire

Recherches spéciales

- *Chlamydia trachomatis* : IFD, ELISA
- *Mycoplasma genitalium* : PCR
- *Treponema pallidum* : IFD, Agglutination et hémagglutination
- Papillomavirus : coloration Papanicolaou

Diagnostic au laboratoire

Infection sûre

- *N. gonorrhoeae*
- *C. trachomatis*
- *T. pallidum*
- *H. ducreyi*
- *T. vaginalis*
- *Papillomavirus*
- *Herpes simplex virus type 2 (HSV-2)*

Diagnostic au laboratoire

Infection possible

- *Gardnerella vaginalis*
- *Mobiluncus* spp.
- *Mycoplasma*, *Ureaplasma*
- Entérobactéries
- *Streptococcus agalactiae* (streptocoque du groupe B)
- *Staphylococcus*
- *Candida albicans*

Diagnostic au laboratoire

Délai pour le compte rendu

Examen microscopique

- État frais / Gram : 20 minutes
- IFD : 2 heures
- ELISA : 3-4 heures

Culture-Identification : 2-3 jours

Antibiogramme : 1 jour

Prélèvements génitaux chez l'homme

Buts

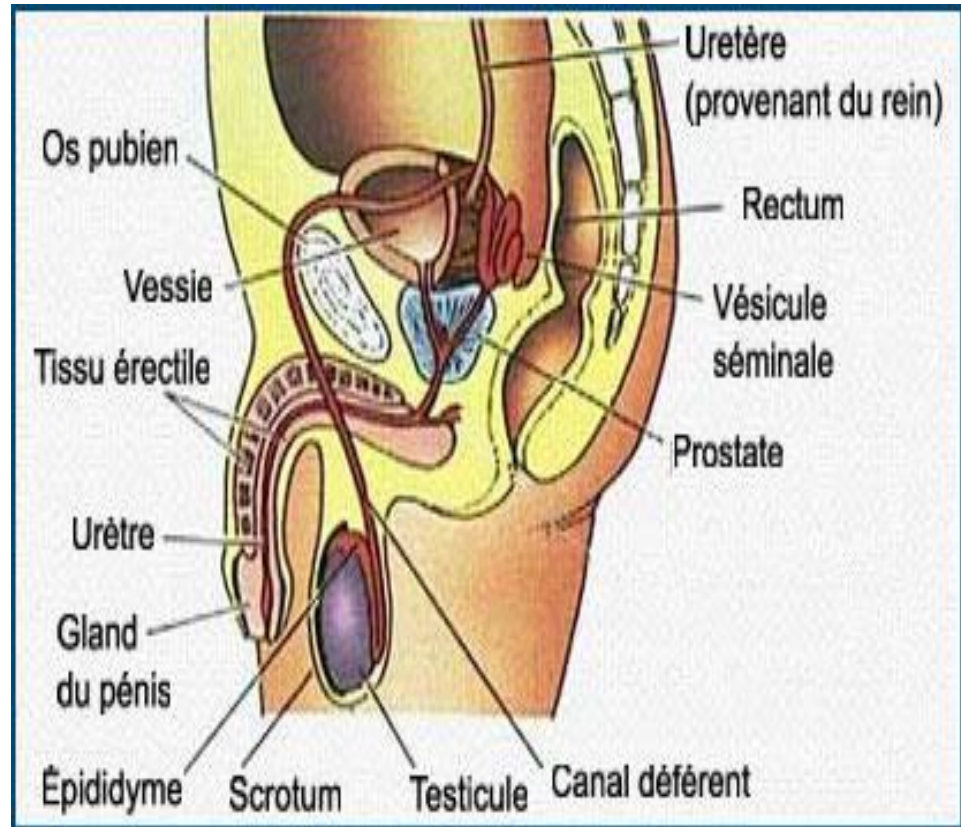
- Rechercher les agents responsables IST
- Rechercher les agents infections génitales
- Sécuriser les dons de sperme
- Sécuriser la fécondation *in vitro*

Indications cliniques

- **Ulcérations génitales**
- **Ecoulement urétral « Chaude pisse »**
- Bilan de stérilité
- Bilan d'infertilité
- Bilan pré-nuptial

Appareil génital masculin

- Testicules
- Épидidyme
- Vésicules séminales
- Prostate
- Urètre



Infections génitales

- Ulcérations ano-génitales
- Urétrite
- Prostatite
- Epididymite
- Orchite
- Phimosis

Flore commensale

- *Lactobacillus*
- *Corynebacterium*
- *Staphylococcus*
- *Streptococcus*
- *Neisseria*
- *Enterobacteriaceae*

Siège : 1/3 terminal de l'urètre

Ulcérations génitales

Localisations

- Gland, sillon balano-préputial, ou plus rarement sur la verge

IST d'étiologie virale

- * HSV-2+++++
- * VZV, CMV (chez immunodéprimé)

IST d'étiologie bactérienne

- * *T. pallidum* (« **chancre dur** »)
- * *C. trachomatis* (Lymphogranulomatose vénérienne LGV)
- * *H. ducreyi* (« **chancre mou** »)
- * *Klebsiella granulomatis* (donovanose, anciennement appelée *Calymatobacterium granulomatis*)

Ulcérations génitales : Le chancre syphilitique

Agent : *T. pallidum* subsp. *pallidum*

Phase de syphilis primaire

Chancre 3 semaines après le contact infectant

- Lésion érosive, le plus souvent unique, circulaire de 5-10 mm de diamètre, non douloureuse, dur, à fond propre et bords réguliers
- Adénopathies inguinales indolores



© Mayo Foundation for Medical Education and Research. All rights reserved.

Ulcérations génitales :

Lymphogranulomatose vénérienne ou Maladie de Nicolas-Favre

- Agent : ***C. trachomatis*** sérovars L1, L2, L3
 - Symptômes 1-3 semaines après le contact infectant
 - Lésions primaires : petites ulcérations non douloureuses
 - Phase secondaire : lymphadénite inguinale douloureuse pouvant fistuliser à la peau

Ulcérations génitales : chancre mou

Agent : *H. ducreyi*

- Symptômes 1 semaine après contact sexuel contaminant
- Lésions érosives multiples, inflammatoires, douloureuses, non indurées avec des bords muco-purulents
- Adénopathie inconstante, douloureuse contenant du pus



Ulcérations génitales : La donovanose

- Agent : *K. granulomatis*
 - Symptômes 1-2 mois après contact sexuel contaminant
 - Lésion papulaire ou nodulaire indolore, évoluant rapidement pour donner une ulcération bourgeonnante, saignotante, indolore à bords surélevés
 - Pas d'adénopathie mais diffusion sous-cutanée de l'infection



Ulcérations génitales :

Recueil des prélèvements

Conditions

- Doit être impérativement réalisé au laboratoire
- Examen rapide
- Avant toute antibiothérapie
- Pas de toilette intime
- Pas de rapport sexuel la veille

- Prélèvement de la sérosité et/ou ponction ganglionnaire

Ulcérations génitales :

Recueil des prélèvements

- **Nettoyage de la lésion à l'eau stérile**
 - Recueil de sérosité **par grattage léger** au niveau de la base ou des bords de l'ulcère avec un vaccinostyle, une anse, une curette en prenant soin de ne pas faire saigner;
 - Pour la recherche de **tréponèmes**, renouveler le prélèvement (2^{ème} est + riche) et éviter les écouvillons
 - Pour la recherche de ***H. ducreyi***, un écouvillonnage sera réalisé sur la base ou les bords de la lésion
 - Pour la recherche de ***C. trachomatis***, recueil de la sérosité après grattage
 - Pour la recherche de ***K. granulomatis***, ponction du granulome inguinal

Ulcérations génitales :

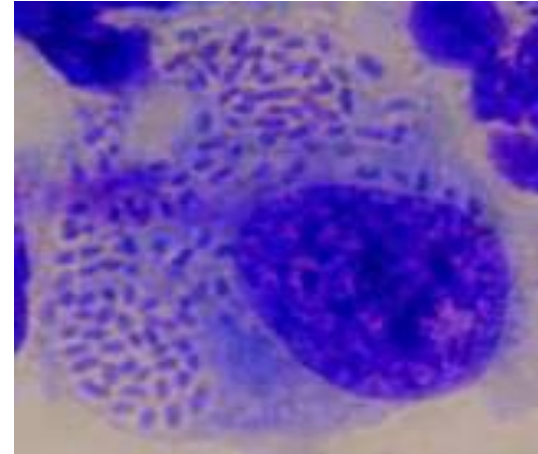
Examen direct

- **Tréponèmes**
 - Microscope à fond noir dans quelque goutte d'eau physiologique (mobilité)
 - Après coloration (bleu de méthylène, argentique)
- ***H. ducreyi***
 - Bacille à Gram négatif, coloration bipolaire
 - Aspect en « **chaîne de bicyclette** » au bleu de méthylène ou May Grunwald Giemsa
- ***K. granulomatis***
 - Coloration au MGG => mise en évidence des « **corps de Donovan** » dans les prélèvements tissulaires => pose le diagnostic

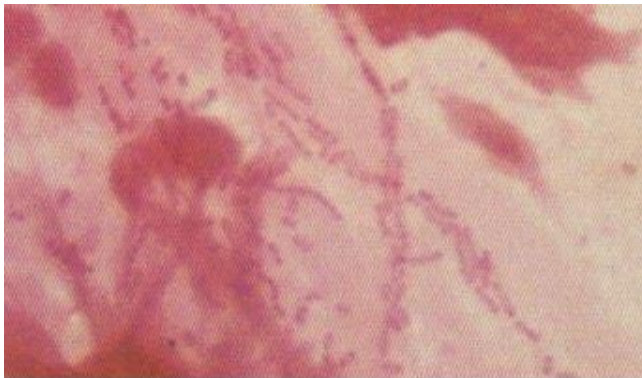
Ulcérations génitales :

Examen direct

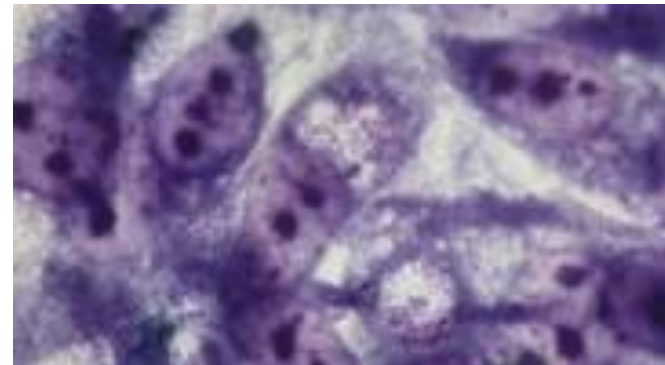
Treponema pallidum



Haemophilus ducreyi



Klebsiella granulomatis



Ulcérations génitales :

Culture/Identification

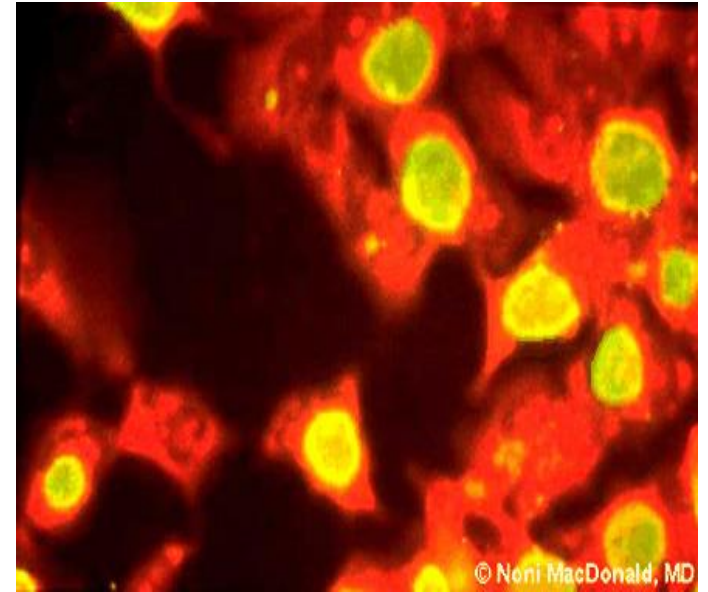
Isolement difficile

- ***H. ducreyi*** :
 - Gélose riche au sang + polyvitex (+/- ATB) 5-10% de CO₂ pendant 48h minimum
 - Identification sur la base aspect chancre, morphologie des bactéries et des colonies (petites, brillantes, grisâtres, à bords rugueux)
- ***C. trachomatis***
 - Culture cellulaire : McCoy ou HeLa29 (labo spécialisé)
 - Recherche d'inclusions cytoplasmiques dans les cellules infectées après coloration au Giemsa, au Lugol

Mise en évidence Ag bactériens

C. trachomatis

- Immunofluorescence directe à partir du prélèvement
- Réactions immuno-Enzymatiques



Recherche ADN bactérien

Amplification génique par PCR

- Techniques commerciales
 - *C. Trachomatis*
- Techniques maison
 - *H. ducreyi*
 - *K. granulomatis*

Recherche d'anticorps

Diagnostic syphilis

– Réactions non tréponémiques

- Ag cardiolipidiques non spécifiques de *T. pallidum* (RPR ou VDRL)
 - positive 2-3 sem après apparition du chancre

– Réactions tréponémiques

- TPHA (*T. pallidum* hemagglutination assay)
 - positive 1 sem après apparition du chancre
- FTA-abs (fluorescent treponemal antibody absorbed)
 - Positive ~ moment apparition du chancre

Urétrites : Définition

Inflammation de l'urètre

- Le plus souvent d'origine infectieuse transmise lors de contact sexuel
- **Écoulement urétral** clair ou purulent (> 50%)
- Signes associées : dysurie, pollakiurie, brûlures mictionnelles

Etiologie des urétrites

Urétrites gonococciques

- *Neisseria gonorrhoeae*

Urétrites non gonococciques

- *C. trachomatis*
- Mycoplasmes génitaux
 - *M. genitalium*
 - *U. urealyticum*
- *Trichomonas vaginalis*

Etiologie des urétrites

Neisseria gonorrhoeae

Urétrite aiguë symptomatique

- **2-5 jours** après contact contaminant
- **Écoulement purulent** dans 90 % des cas
- **Brûlures mictionnelles** = « chaude pisse »
- Diagnostic par microscopie et culture



Etiologie des urétrites

Chlamydia trachomatis

- Principal agent des UNG (sérotypes D à K)
 - **10-20 jours** après contact contaminant
 - Symptomatique dans 50 % des cas
 - **Écoulement clair**
 - Dysurie, pollakiurie ou brûlures mictionnelles
 - Écoulement purulent (rare)
 - Infection asymptomatique
 - Diagnostic par IFD, mev Ag, PCR ou culture (labo spécialisés)

Etiologie des urétrites :

Mycoplasmes

- ***M. genitalium***
 - Responsable de 15-25 % des UNG
 - Urétrites récidivantes et chroniques
 - Homosexuels +++
 - **Ecoulement le plus souvent mucopurulent**
- ***U. urealyticum***
 - Implication discutée car portage génital asymptomatique (homme et femme)
 - Infection si titre $>10^4$ unités/ml

Etiologie des urétrites :

Autres germes

- ***Trichomonas vaginalis***

Protozoaire flagellé responsable de 5-15 % des UNG

- Plus rarement
 - ***Haemophilus spp.***
 - ***Streptocoques***
 - ***Entérobactéries***

Diagnostic au laboratoire des urétrites

Recueil du prélèvement

Conditions

- Doit être idéalement réalisé au laboratoire
- Examen rapide
- Avant toute antibiothérapie
- Pas de toilette intime
- Pas de rapport sexuel la veille

Diagnostic au laboratoire des urétrites

Recueil du prélèvement

Matériel

- Écouvillons stériles
- Cytobrosses stériles
- Pipettes pasteurs stériles en plastique
- Gants stériles
- Compresses stériles
- Antiseptique + eau physiologique stérile
- Bon éclairage

Diagnostic au laboratoire des urétrites

Recueil du prélèvement

Goutte de pus urétral

- Doit être réalisé **le matin avant toute toilette**
- Position semi-allongé
 - Masser l'urètre contre symphyse pubienne
 - Pus apparaît au méat
 - Aspirer ou écouvillonner la goutte
 - Prélèvement sur lame pour examen direct



Diagnostic au laboratoire des urétrites

Recueil du prélèvement

Sécrétions endo-urétrales

- Nettoyer le méat avec l'antiseptique
 - introduire écouvillon ou cytobrosse sur 1 à 2 cm
 - racler les sécrétions et les cellules
- Recueil du 1^{er} ml du 1^{er} jet d'urines

Diagnostic au laboratoire des urétrites

Recueil du prélèvement

Sécrétions endo-urétrales

– Dans tous les cas

- Ecouvillons fins sur 1 cm pour germes standard, mettre dans milieu de transport
- Pour avoir des cellules
 - Ecouvillons en alginate sur **2-3 cm** avec léger raclage pour recherche de mycoplasmes
 - Ecouvillons en alginate sur 2-3 cm avec léger raclage pour recherche de chlamydia à mettre dans milieu de transport

– Urines de **1^{er} jet** pour recherche de *C. trachomatis*

Diagnostic au laboratoire des urétrites

Transport/stockage du prélèvement

- Transport rapide vers le laboratoire
- Milieu de transport
 - *Neisseria gonorrhoeae* : Stuart ou Amies
 - *Chlamydia trachomatis* : 2SP
 - Mycoplasmes : 2SP ou A3
- Conservation des urines à 4 °C

Diagnostic au laboratoire des urétrites

Examen macroscopique

Aspect des sécrétions

- Sécrétions fluides
- Grisâtres
- Purulentes

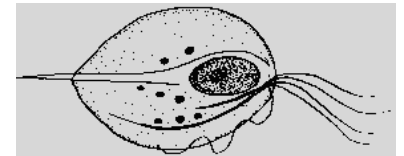
Diagnostic au laboratoire des urétrites

Examen microscopique

Etat frais

- Rechercher des cellules
 - leucocytes
 - cellules urétrales

- Rechercher
 - *Treponema pallidum* (microscope à fond noir)
 - *Trichomonas vaginalis* grâce à sa mobilité
 - Levures



Diagnostic au laboratoire des urétrites

Examen microscopique

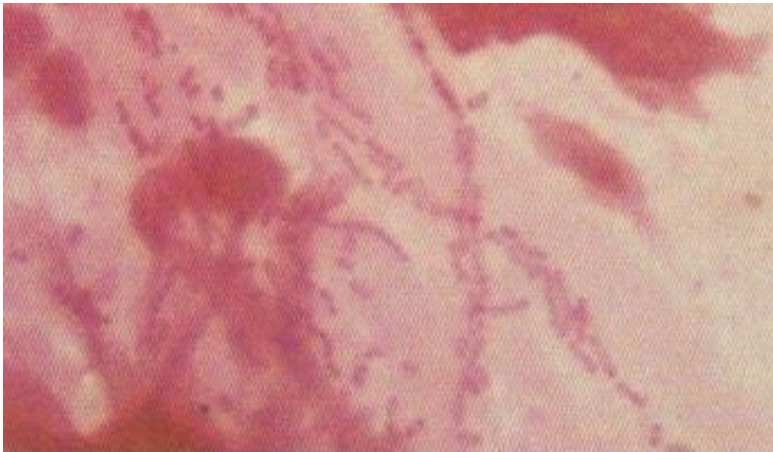
Coloration de Gram

- Diplocoques à Gram (-)
 - en grains de café intra et extra-cellulaires évocateurs de *N. gonorrhoeae*
- BGN en chaînette : *H. ducreyi*
- Autres bactéries
- Leucocytes

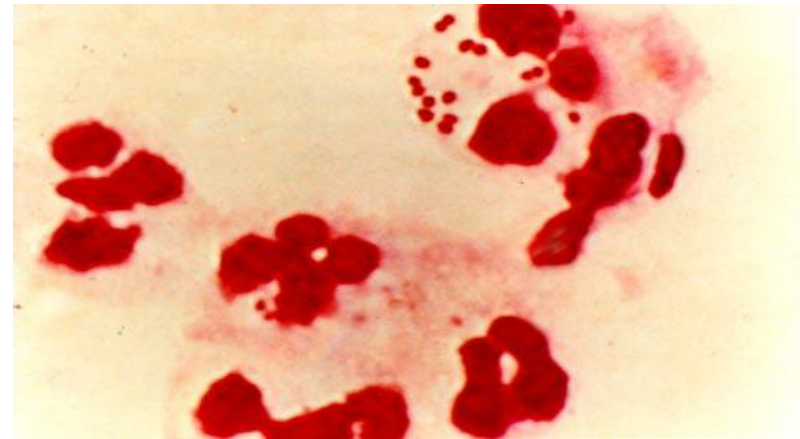


Diagnostic au laboratoire des urétrites

Examen microscopique



Haemophilus ducreyi



Neisseria gonorrhoeae

Diagnostic au laboratoire des urétrites

Culture/Identification

Indications des géloses usuelles

- Sang cuit + FC (facteurs de croissance) : toute bactérie
- Sang cuit FC + VCN : *N. gonorrhoeae*
- Sang frais + acide nalidixique (GSN) : Gram (+)
- EMB : entérobactéries
- Sabouraud : *Candida*

Diagnostic au laboratoire des urétrites

Culture/Identification

Bouillons

- Bouillon thioglycolate : toute bactérie
- Bouillon urée-arginine : mycoplasmes
- Bouillon streptosel : streptocoques

Diagnostic au laboratoire des urétrites

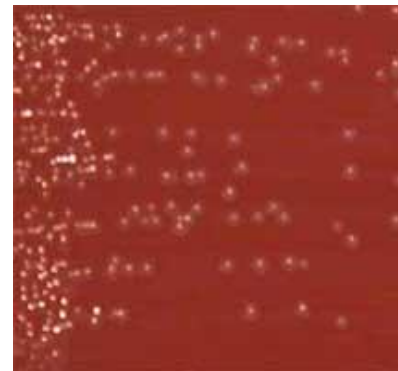
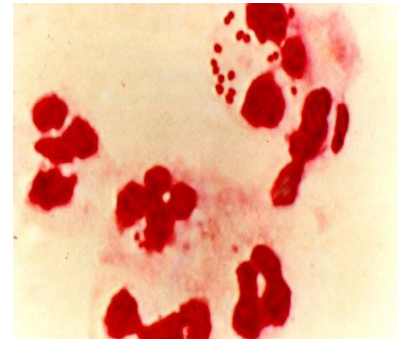
Mise en Culture

- **Mycoplasmes**
 - Milieux enrichis en sérum et extraits de levures
 - Milieu solide (gélose A7)
 - Milieu liquide permettant identification, numération et antibiogramme (sauf *M. genitalium*)
- ***C. trachomatis***
 - Culture impossible sur milieu gélosé
 - Culture cellulaire : McCoy ou HeLa29 (labo spécialisé)

Diagnostic au laboratoire des urétrites

Identification

- ***N. gonorrhoeae***
 - Colonies grisâtres, bords réguliers, +/- brillantes
 - Catalase (+) et oxydase (+)
 - Glucose (+)
 - Maltose/fructose/saccharose (-)
 - ONPG (-) et gamma GT (-)



Diagnostic au laboratoire des urétrites

Identification

- Réaliser des galeries
- Effectuer tests complémentaires
- Réaliser les antibiogrammes

Diagnostic au laboratoire des urétrites

Identification

- **Mycoplasmes**

- Observation des cultures sur gélose X40

- *M. hominis* : colonie en aspect en « œuf sur le plat »

- *U. urealyticum* : colonie dense de façon homogène aspect en « oursin »

- Mini-galleries

- Identification et titrage des bactéries

- Résistance naturelle vis-à-vis de certaines ATB

- » β -lactamines

- » Macrolides C14 ou C15 (érythromycine, azythromycine)

- » Kétolides (linézolide)

- Dégradation de l'urée (*U. urealyticum*)

- Hydrolyse de l'arginine (*M. hominis*)

Diagnostic au laboratoire des urétrites

Interprétation des résultats

- Culture polymicrobienne
 - Peu ou moyennement abondante : colonisation
- Culture pure ou prédominance d'1 espèce
 - Processus infectieux (entérobactéries , *Pseudomonas*...)
- ***C. trachomatis* ou *N. gonorrhoeae***
 - Infection même si pas de symptômes
- Mycoplasmes sont commensaux
 - *U. urealyticum* (interprétation en fonction du taux)
 - $>10^4$ UCC/ml si prélèvement urétral (PU)
 - $>10^3$ UCC/ml si urines

Recherche d'Ag ou de génome bactérien

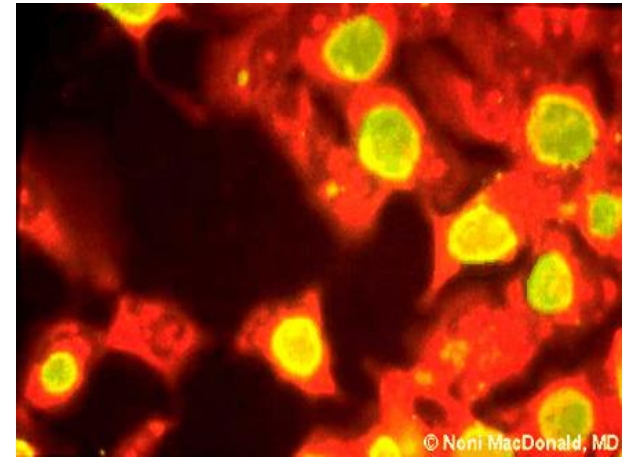
- ***C. trachomatis***

- **Ag**

- IF direct
 - Immuno-enzymatique

- **ADN**

- Amplification génique par PCR



Infections profondes

Prostatites

Orchites

Epididymites

Prostatite

- **Inflammation de la glande prostatique**
 - Etiologie bactérienne dans 10 % des cas
 - Prostatite aiguë bactérienne
 - Prostatite chronique bactérienne
 - **Agents**
 - *Escherichia coli* +++
 - Autres entérobactéries
 - *Pseudomonas*
 - Entérocoques

Prostatite

- **1^{ères} urines du matin**
 - 1^{er} ml du jet : échantillon n°1
 - 1 ml au milieu du jet : échantillon n°2
- **Masser la prostate**
 - recueillir le 1^{er} ml du jet d'urines
 - c'est l'échantillon n°3

Prostatite : culture

- **Ensemencer – lecture**

- ensemençer les 3 échantillons
- incuber durant 24 heures
- compter colonies /chaque échantillon

- **Interprétation : prostatite si**

- nombre de germes dans n°3 est supérieur aux n°1 et 2

Epididymite

- **Inflammation de l'épididyme**
 - Le plus souvent orchi-épididymite
 - Agents d'urétrite
 - *Chlamydia* (taux d'Ac > 1/32)
 - *N. gonorrhoeae*
 - Mycoplasmes
 - Agents de prostatite
 - ***Escherichia coli* +++**
 - Autres entérobactéries, *Pseudomonas*, entérocoques
 - Plus rarement
 - Mycobactéries, *Haemophilus*

Spermoculture

- Diagnostic de certaines infections (induisant ou non un problème de fertilité)
 - Accompagne le spermogramme ou spermocytogramme
- Recherche des germes
 - Entérobactéries
 - Gonocoque
 - Mycoplasmes
 - Chlamydiae (sérodiagnostic)
 - Champignons
- Milieux de culture
 - Gélose au sang; gélose lactosée; gélose chocolat; milieu de Sabouraud
- Spermoculture négative ne garantit pas l'absence d'infection surtout si leucocytose

Infection sûre

- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Chlamydia trachomatis*
- *Treponema pallidum*
- *Haemophilus ducreyi*
- *Trichomonas vaginalis*
- Papillomavirus
- Herpesvirus 2

Infection probable

- **Entérobactéries**
- ***Streptococcus***
- ***Staphylococcus***

Merci de votre attention