

3• Examen des sécrétions et exsudats ano-génitaux

Plan du chapitre

- 1• Contexte
- 2• Objectifs
- 3• Prélèvements
 - 1- Prélèvements dans les deux sexes
 - 2- Prélèvements du tractus génital chez la femme
 - 3- Prélèvements génitaux masculins
 - 4- Transport des prélèvements
- 4• Examen bactériologique
 - 1- Examen direct
 - 2- Culture
 - 3- Biologie moléculaire
 - 4- Antibiogramme
- 5• Conclusion

1• Contexte

L'étude des prélèvements de sécrétions et exsudats génitaux ou ano-génitaux est réalisée au laboratoire de bactériologie pour la détection des micro-organismes responsables :

- ◆ chez la femme : des cervicites, vulvovaginites, urétrites, salpingites, endométrites, anites, des ulcères ano-génitaux, des infections des glandes de Bartholin ou, en fin de grossesse, d'un portage d'une bactérie potentiellement pathogène pour la mère et/ou l'enfant avant ou au moment de l'accouchement ;
- ◆ chez l'homme : des urétrites, épидидymites, prostatites, anites, ou des ulcères ano-génitaux.
- ◆ Un grand nombre de ces infections sont des **maladies sexuellement transmissibles**, et nécessitent donc l'examen du ou des partenaires sexuels.
- ◆ Dans les deux sexes, lors de l'exploration d'une hypofertilité.

2• Objectifs

L'examen bactériologique des sécrétions et exsudats génitaux a plusieurs objectifs :

- séparer les germes pathogènes de la flore génitale normale, en particulier chez la femme (voir tableau 1),
- diagnostiquer les infections du tractus génital et les vaginoses développées à partir des germes commensaux,
- diagnostiquer les infections sexuellement transmises (MST),
- apporter une aide au traitement dans la décision d'instaurer une antibiothérapie, le choix des antibiotiques, le suivi du traitement et de la guérison,
- participer à la prévention des MST avec l'examen du ou des partenaires et la déclaration de ces maladies,
- les infections virales, en particulier herpétiques, présentent une grande importance dans ces contextes mais ne seront pas envisagées ici.

3• Prélèvements

La qualité des prélèvements, effectués autant que possible au laboratoire, et des renseignements cliniques conditionne la pertinence des résultats bactériologiques. Les prélèvements effectués au laboratoire, par le biologiste, permettent de noter l'aspect des lésions et de la leucorrhée (en particulier l'aspect et l'odeur évocateurs d'une vaginose ou d'une candidose).

Chez la femme, l'une des précautions majeures dans le diagnostic des infections hautes visera à éviter les contaminations par les germes du bas appareil.

Tableau 1 : Micro-organismes des voies génitales féminines

Micro-organismes toujours pathogènes	Micro-organismes commensaux éventuellement pathogènes	Micro-organismes sans pouvoir pathogène connu
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Corynebacterium</i>
<i>Trichomonas vaginalis</i>	<i>Mobiluncus spp</i>	<i>Neisseria</i> autres que <i>gonorrhoeae</i>
Herpès virus	<i>Mycoplasma</i> , <i>Ureaplasma</i>	Staphylocoques non <i>aureus</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i>	
	<i>Streptococcus spp</i>	
	Anaérobies strictes	
	Entérobactéries	
	Papillomavirus	

1- Prélèvements dans les deux sexes

→ Dans les **urétrites** :

- ◆ on effectue un prélèvement endo urétral à l'écouvillon,
- ◆ pour rechercher les *Chlamydia*, il est préférable de procéder à un grattage endo-urétral à la curette ophtalmique émoussée ou au Bacto Pick®, bien que certains préconisent l'utilisation d'un écouvillon en dacron ou alginate monté sur tige métallique en raison des risques traumatiques des premiers cités.

→ Devant une **ulcération ano-génitale** :

- ◆ le recueil de la sérosité se fera au niveau de la base ou des bords de l'ulcère avec un vaccinostyle, une öse, une curette ou un écouvillon,
- ◆ des biopsies ou une ponction du bubon satellite pourront être réalisées, de préférence au cabinet du médecin ou à l'hôpital.

→ S'il existe des **pustules** :

- ◆ la meilleure technique de prélèvement est le recueil du contenu à la seringue ou à l'écouvillon.

→ Le recueil du **premier jet des urines** peut être intéressant dans les urétrites, en particulier pour les recherches de *Chlamydia* par techniques de biologie moléculaire.

→ Un **prélèvement anal** (éventuellement de **gorge**), dans les cas de suspicion de MST, sera souvent utile au diagnostic.

2- Prélèvements du tractus génital chez la femme

Chez la femme, les prélèvements génitaux se font sous spéculum avec un éclairage adapté, sauf pour la recherche de streptocoques du groupe B où le simple écouvillonnage vulvaire donne les meilleurs résultats.

→ Dans les **vulvo-vaginites**, on procède à un écouvillonnage des sécrétions de l'orifice vaginal et de la voûte vaginale postérieure.

→ Dans les **bartholinites**, l'aspiration à la seringue du canal ou le prélèvement à l'écouvillon sont recommandés.

→ S'il existe une **cervicite**, on fera un écouvillonnage de l'endocol, et on recherchera toujours le gonocoque et les *Chlamydia* à ce niveau.

→ Pour rechercher l'étiologie d'une **endométrite**, on fait appel au prélèvement d'endocol et éventuellement à l'aspiration transcervicale par cathéter qui sont du domaine du spécialiste.

→ Dans les cas d'**annexite**, le liquide d'abcès se prélève à la seringue et les cellules tubo-péritonéales par brossage au cours de l'acte chirurgical.

→ Pour le **matériel intra-utérin**, l'examen bactériologique se fait sur le matériel et sur l'éventuel pus.

3- Prélèvements génitaux masculins

→ Dans les **épididymites** et les **prostatites**, on procèdera à un écouvillonnage urétral, un prélèvement de sperme, ou au recueil du premier jet urinaire.

→ Pour le diagnostic des **prostatites**, on recueillera les sécrétions prostatiques après éventuel massage prostatique et/ou le premier jet urinaire.

→ Dans les **orchites**, le meilleur matériel est le prélèvement d'abcès à la seringue (par le chirurgien). On peut également trouver l'agent responsable dans le sperme.

Dans tous les cas, les prélèvements doivent permettre l'examen direct et l'ensemencement (deux écouvillons).

Les recherches de *Chlamydia* et de *Mycoplasma* n'ont que peu de chance d'aboutir si le matériel prélevé ne contient pas de cellules, obtenues par grattage.

4- Transport des prélèvements

Si les prélèvements ne sont pas effectués au laboratoire, ils doivent être transportés rapidement dans des milieux de transport appropriés (gonocoque, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, virus).

4 • Examen bactériologique

Les renseignements cliniques et épidémiologiques, l'aspect des lésions et leur localisation observés au cours du prélèvement sont indispensables à l'orientation du diagnostic bactériologique. Ils conditionnent la valeur du résultat, qui sera obtenu après examen cytotactériologique direct, suivi, selon les cas, de culture, techniques de biologie moléculaire et examen sérologique (non traité dans cet ouvrage).

1- Examen direct

L'examen cytotactériologique direct des prélèvements est fonction du contexte clinique :

↳ Ulcérations :

- ◆ L'examen extemporané, au microscope à fond noir, de la sérosité du chancre permet la mise en évidence de *Treponema pallidum*. On peut également faire appel à l'immunofluorescence directe, à l'imprégnation argentine ou à la coloration de Vago.
- ◆ La coloration de May-Grunwald-Giemsa de frottis réalisés avec la sérosité d'un chancre mou ou du pus du bubon mettra en évidence des bacilles évoquant *Haemophilus ducreyi*, en sachant que cette bactérie est peu colorable au Gram.
- ◆ Il ne faut pas oublier la possibilité d'exulcérations, de type herpétique, en rapport avec une infection à *Chlamydia* (maladie de Nicolas-Favre) ou *Mycoplasma* (voir ci-dessous).
- ◆ On pourra exceptionnellement mettre en évidence des corps de Donovan (*Calymmatobacterium granulomatis* ou *donovani*) dans un granulome inguinal survenu 2 à 3 mois après un rapport contaminant.

↳ Urétrites, cervicites et vaginites :

- ◆ Les trois causes les plus fréquentes des vaginites sont *Candida albicans*, *Trichomonas vaginalis* et les bactéries des vaginoses. On recherche systématiquement *N. gonorrhoeae*, et on ajoute la recherche de *Chlamydia trachomatis* dans les urétrites et cervicites.
- ◆ Il est important de savoir que *Candida albicans* peut exister chez des femmes totalement asymptomatiques.
- ◆ L'examen macroscopique, la couleur, l'odeur, le pH des sécrétions vaginales sont un élément important du diagnostic, en particulier des vaginoses qui associent sécrétions grisâtres, odeur d'amines de poisson (test à la potasse 10 %) et pH > 4,5.

- ◆ L'état frais, entre lame et lamelle recherchera la présence de *Trichomonas vaginalis* ou de *Candida albicans* (ce dernier est mieux mis en évidence après dilution dans la potasse à 10 % et au contraste de phase).
- ◆ Les colorations de May-Grunwald-Giemsa, et éventuellement de Papanicolaou, permettent l'étude cytologique indispensable : présence de polynucléaires, de cellules vaginales, de «clue-cells» des vaginoses, de *Trichomonas vaginalis*, et plus rarement mise en évidence des cellules à inclusion de l'infection à *Chlamydia trachomatis*.
- ◆ La coloration de Gram permet le diagnostic de gonorrhée, de candidose à *Candida albicans* et surtout d'étudier la flore bactérienne vaginale et son équilibre qui peut être décrit par un **score de I à IV** (score I = flore équilibrée, score IV = flore complètement substituée, cf tableau 2).
- ◆ Dans la **vaginose bactérienne**, on observe un déséquilibre de la flore commensale au profit des anaérobies ou de *Gardnerella vaginalis* au dépend de la flore de Döderlein (lactobacilles) : score III ou IV. En pratique l'examen direct permet le diagnostic de vaginose étant donné la difficulté, le coût et les délais de la mise en culture des bactéries.
- ◆ L'immunofluorescence est adaptée à la recherche de *Chlamydia trachomatis*.

Dans les autres localisations, l'examen direct **recherchera** : *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans*, *Chlamydia trachomatis*.

2- Culture

La culture est impossible pour *Treponema pallidum*, très difficile pour *Haemophilus ducreyi* (sur gélose au sang cuit ou frais enrichie).

Les prélèvements seront ensemencés au minimum sur :

Tableau 2 : Evaluation des flores vaginales au Gram

Score	Morphotypes <i>Lactobacillus</i>	Morphotypes <i>Gardnerella, Bacteroides</i>	Bacilles incurvés à Gram variable (<i>Mobiluncus</i>)
0	++++	0	0
1	+++	+	+ ou ++
2	++	++	++ ou ++++
3	+	+++	
4	0	++++	

Les morphotypes sont gradués en nombre moyen de bactéries par champ à l'immersion.

- ◆ Gélose au sang cuit avec et sans mélange inhibiteur (type VCN ou VCAT) pour la recherche de *Neisseria gonorrhoeae* incubée en atmosphère de 10 % de CO₂.
- ◆ Gélose au sang (base Columbia) ± ANC pour la recherche de diverses bactéries à Gram positif, dont *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*.

L'isolement de *Gardnerella vaginalis* sur gélose au sang humain n'a de signification qu'accompagné d'une appréciation semi-quantitative. *Gardnerella* n'est pas le seul germe impliqué dans les vaginoses (association avec des bactéries anaérobies, *Mobiluncus* spp).

- ◆ Une gélose lactosée est utile pour la recherche de divers bacilles à Gram négatif, en particulier les entérobactéries qui ne seront prises en considération, dans les urétrites et vaginites, que si elles sont abondantes, en l'absence d'autres germes.

Sur prescription explicite, d'autres cultures sont mises en œuvre :

- ◆ Cultures cellulaires pour l'isolement de *Chlamydia trachomatis*.
- ◆ Milieux artificiels enrichis en sérum de veau et en extrait de levure pour l'isolement et la **numération** de *Mycoplasma hominis* et de *Ureaplasma urealyticum*.
- ◆ Gélose au sang en anaérobiose dans les endométrites du postpartum, ou développées sur matériel intra-utérin à la recherche de *Prevotella*.
- ◆ Milieux pour mycobactéries dans les endométrites (rares), les épидidymites : *Mycobacterium tuberculosis*.
- ◆ Selon la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale (arrêtés du 30 juillet 1997) les recherches de *Chlamydia* chez la femme par méthode immunologique et dans les deux sexes, de *Treponema pallidum* ou d'*Haemophilus ducreyi* peuvent être effectuées à l'initiative du biologiste.

3- Biologie moléculaire

Les techniques d'amplification génique peuvent être utilisées, en particulier pour la recherche de *Chlamydia* à partir des produits pathologiques ou des urines.

De nouvelles techniques se développent pour la recherche des streptocoques du groupe B ou de *Neisseria gonorrhoeae*, leur application au diagnostic clinique reste à valider.

4- Antibiogramme

L'antibiogramme sera systématiquement réalisé dans les infections endocervicales du haut appareil génital sur les germes **pathogènes** isolés, sur les souches de gonocoque avec recherche de bêta-lactamases. Il n'est pas à réaliser sur les bactéries colonisant le bas appareil génital en particulier chez la femme, sauf dans le cas du portage des streptocoques du groupe B au cours du troisième trimestre de la grossesse étant donné la possibilité de prévention des infections néonatales par une antibioprofylaxie pendant l'accouchement.

5- Conclusion

En dehors des cas où la bactériologie met en évidence un agent pathogène spécifique en culture pure, l'interprétation des examens des prélèvements génitaux est toujours difficile, en particulier chez la femme, du fait de l'abondance et de la variété de la flore bactérienne du bas appareil génital.

Bibliographie

Identification of aerobic bacteria from genital specimens in : Clinical Microbiology Procedures Handbook - Vol. 1 - H.D. ISENBERG 1992, A.S.M. Washington DC.

FLANDROIS J.-P., CHOMARAT M. - L'examen bactériologique des prélèvements d'origine génitale - In : Bactériologie Médicale Pratique - 1987 - pages 69-78.

HILLIER S.L., SCHUCHAT A.- Preventing neonatal group B streptococcal disease : the role of the clinical microbiology laboratory - Clinical Microbiology Newsletter ; 1997, 19 :15, 113-120.

FAUCHERE J.L. - Bactériofiches - Techniques en bactériologie clinique - 1997 ; Ellipses - PARIS.

BEBEAR C., FOURMAUX S., FLEURY H.J.A. - Diagnostic biologique des MST chez la femme - Méd. Mal. Infect. 1994 ; 24 : 349-360.

NUGENT R.P., KROHN M.A. and HILLIER S.L. - Reliability of Diagnosing Bacterial Vaginosis Is Improved by a Standardized Method of Gram Stain Interpretation - J. Clin. Microbiol. 1991 ; 29 : 297-301.

Recommandations pour la pratique clinique : «Les infections bactériennes cervicovaginales au cours de la grossesse». Texte des experts. J.Gynécol. Obstet. Biol. Reprod. 1997 ; 26 : 8 - 42.

«Les infections cervico-vaginales au cours de la grossesse». Recommandations pour la pratique clinique. Texte de synthèse. Bull. Soc. Fr. Microbiol. 1998 ; 13 : 55 - 62.