

PRÉLÈVEMENTS GÉNITAUX CHEZ L'HOMME

TD de Microbiologie

4^{ème} année Pharmacie

Année Universitaire 2019-2020

Par : Dr KOUDA NOUR EL HOUDA

Pr Benammar Sonia

PLAN

- INTRODUCTION
- OBJECTIFS
- RAPPEL ANATOMIQUE DE L'APPAREIL GENITAL MASCULIN
- EPIDEMIOLOGIE
- DIAGNOSTIC DES INFECTIONS GENITALES CHEZ L'HOMME:
 - A. Ecoulement
 - B. Ulcération.
- PROPHYLAXIE ET MESURES ASSOCIÉES
- CONCLUSION
- BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

- L'étude cyto bactériologique des prélèvements génitaux masculins est un examen fréquemment réalisé au laboratoire de bactériologie pour la détection des micro-organismes responsables
- Les infections génitales chez l'homme sont principalement d'**origine sexuelle**, dans le cadre d'une infection sexuellement transmise (IST), ou d'**origine urinaire** (infection par voie rétrograde).
- Elles peuvent atteindre, de manière isolée ou associée, l'urètre (**urétrites**), l'épididyme et les testicules (**orchi-épididymites**) ou la prostate (**prostatites**).

INTRODUCTION

- Les infections sexuellement transmissibles (IST) restent plus que jamais d'actualité en raison de leur incidence mondiale croissante, des possibilités de complications et du risque accru de transmission des germes responsables.
- Les **prélèvements bactériologiques** sont indispensables pour confirmer le diagnostic et adapter le traitement.
- Le **traitement antibiotique probabiliste** doit être instauré et secondairement adapté à l'antibiogramme.
- Dans tous les cas, il ne faut pas oublier les **mesures associées** essentiellement de dépister les patients et leurs partenaires des autres IST.

OBJECTIFS

- L'examen bactériologique des prélèvements génitaux a plusieurs objectifs :
 - ✓ Diagnostiquer les infections sexuellement transmises (IST).
 - ✓ 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 IST avec l'examen du ou des partenaires et la déclaration de ces maladies.

RAPPEL ANATOMIQUE

- L'appareil génital masculin est l'organe de la reproduction.

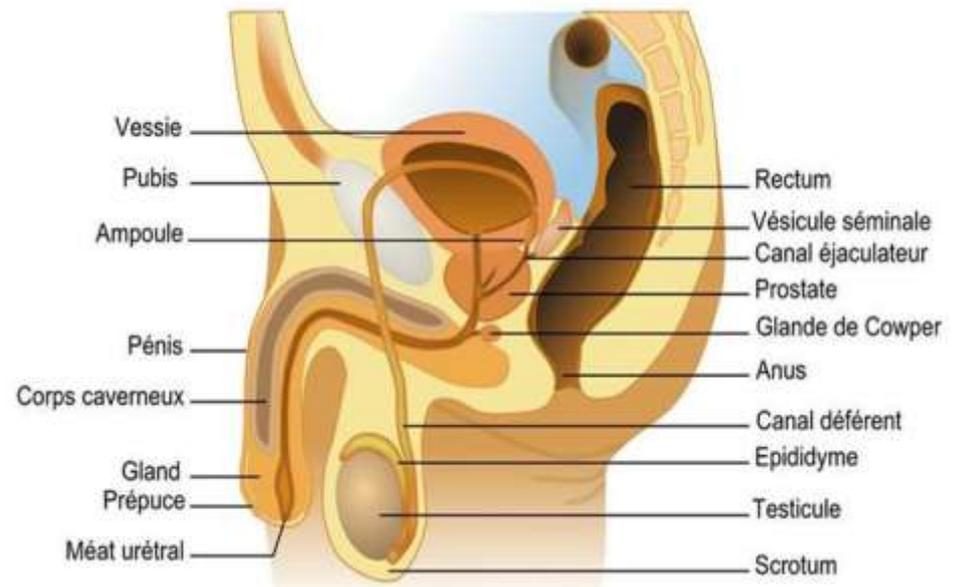
Il comprend :

- **Deux testicules** : ces organes de 5 cm de long sont logés dans une poche revêtue de peau (le scrotum) ; Ils assurent deux fonctions : la production de spermatozoïdes et la sécrétion d'hormones stéroïdiennes (testostérone notamment).
- **L'épididyme** est un organe de 5 cm de long qui coiffe les testicules ; il assure le transport et la maturation des spermatozoïdes.
- Le **canal déférent** (ou spermiducte) émerge de l'épididyme et se termine par une région dilatée, l'ampoule où sont stockés les spermatozoïdes avant d'être éjectés par l'urètre lors de l'éjaculation.
- **L'urètre** a deux fonctions : le transport du sperme au moment de l'éjaculation et celui de l'urine lors de la miction.

Les glandes annexes :

1. Les vésicules séminales : élaborent une grande partie du plasma séminal qui constitue le volume principal de l'éjaculat.

2. La prostate est située sous la vessie et secrète un liquide qui constitue le quart du volume du sperme et contribue à la motilité et au maintien en vie des spermatozoïdes. Comme la prostate entoure la partie initiale de l'urètre, elle peut le comprimer quand elle augmente de volume générant alors des troubles urinaires.



ÉPIDÉMIOLOGIE

- Une IST se transmet à l'occasion d'une relation sexuelle mais elle peut être aussi manuportée ou se transmettre à partir des muqueuses buccales.

- Des infections non sexuellement transmissibles peuvent le devenir comme l'infection par le virus de l'hépatite C (pratiques sexuelles traumatiques avec saignements).

- Les facteurs de risque d'IST sont:

Un rapport sexuel précoce, le nombre de partenaires, les antécédents d'IST, l'infection par le HIV et le niveau socio-économique faible.

- OMS 2013: 499 millions de nouveau cas annuels d'IST curables dans le monde; Chlamydie, gonococcie, syphilis et trichomonose.
 - 536 millions de porteurs d'herpès génitaux et 291 millions d'infections à HPV.
 - 33 millions de porteurs de HIV et 350 millions de porteurs de HBV.
- Ces IST sont à l'origine d'infertilité (chlamydie, gonococcie), de mortalité néonatale (syphilis) et de cancer (HBV, HPV). Il s'agit d'un enjeu majeur de santé publique; Il convient de renforcer la surveillance et le contrôle des IST (prévention, dépistage et vaccination).

V-DIAGNOSTIC DES INFECTIONS GÉNITALES CHEZ L'HOMME

- Les infections génitales se traduisent par:

- **1/ Un écoulement génital :**

urétrite chez l'homme

Les principaux microorganismes : *gonocoque*, *chlamydia trachomatis* (serotype D à K), et certains *Mycoplasmes*.

- **2/ Les érosions et ulcérations:**

- perte de substance muqueuse,
- l'érosion : superficielle
- l'ulcération: profonde.

Agents microbiens: *Tréponéma pallidum*, *Hemophilus ducreyi*, *Chlamydia trachomatis* serotype L.

A. ÉCOULEMENTS

- **Urétrite masculine:** L'urétrite représente l'inflammation de l'urètre et des glandes périurétrales. La cause est généralement infectieuse, sexuellement transmise. Les principaux germes responsables sont le gonocoque, le *Chlamydiae*, les mycoplasmes et le *Trichomonas*.
- Les urétrites sont classiquement décomposées en urétrites gonococciques (UG) et non gonococciques (UNG).
 - c'est une urgence thérapeutique vu la contagiosité et la gravité des complications .

A. ÉCOULEMENTS

- **L'urétrite est évoquée devant:**
 - Ecoulement méatique purulent spontané.
 - En dehors des mictions.
 - Très douloureux.
 - Associé à des brûlures mictionnelles.
 - Souvent symptomatologie moins franche :
 - Ecoulement matinal.
 - Méat collé.
 - Brûlures mictionnelles, prurit canalaire, dysurie.

A. ÉCOULEMENTS

- Le diagnostic d'une urétrite repose sur une évaluation de l'intensité de la réaction inflammatoire.
- Une urétrite se caractérise :
 - ✓ sur un frottis du prélèvement urétral ou de l'écoulement urétral coloré au MGG par la présence d'au moins 5 granulocytes par champ au grossissement $\times 1\ 000$.
 - ✓ sur un état frais du culot de centrifugation d'un premier jet urinaire par un nombre de granulocytes $\geq 10/\text{champ}$ au grossissement $\times 400$.

a) **Urétrite gonococcique :**

- La gonococcie ou blennorragie est dû à *Neisseria gonorrhoeae*.
- Incubation courte (2 à 5 jours), urétrite aiguë symptomatique (98% des cas) avec :
 - ✓ Un écoulement spontané purulent jaune verdâtre (60% des cas), clair (30%) ou absent (10%)
 - ✓ Des signes fonctionnels associés (la chaude-pisse).

PRÉLÈVEMENTS

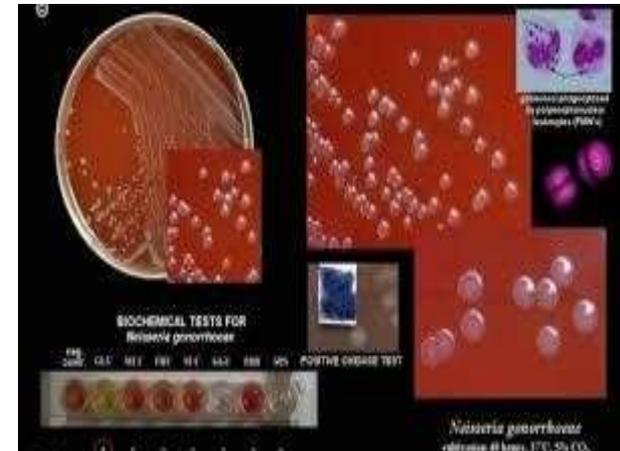
- **Prélèvement urétral** : qui se fait soit par écouvillonnage : des lésions urétrales , du pus d'urétrite , parfois d'un liquide prostatique.
- Le prélèvement doit comporter : 2 écouvillons, l'un pour l'examen direct et l'autre pour la culture.
- Soit à l'Öse de platine avec laquelle le frottis sera effectué juste après le prélèvement.
- **Les autres prélèvements porteront sur** : orifices glandulaires de Bartholin et de Skene.
- **Chez les homosexuels** : prélèvement anorectal .
- **Chez les deux sexes** : prélèvements amygdaliens et pharyngés.
- **Dans les formes cliniques généralisées**: Hémoculture, ponctions du liquide articulaire, prélèvement oculaire....

- **L'examen direct** : Il précède la mise en culture
- ✓ Faire un frottis mince à partir de : l'écouvillon / le prélèvement à l'Öse de platine.
- ✓ faire une coloration de gram.
- ✓ faire une coloration au bleu de méthylène
- ✓ Lecture au microscope: **cocci gram négatif en grains de café intra cellulaire +++**



• Mise en culture :

- Elle se fait à T: 35° C sous CO₂
- sur gélose au sang cuit+ VCN inhibant les germes contaminants.
- GSC simple (pour les gonocoques sensibles).
- On observe les boîtes après 24 à 48 heures d'incubation à la recherche de colonies petites (< 1mm) et brillantes.
- Le test à l'oxydase permet une première approche de l'identification.
- Les colonies oxydase positive sont ensemencées sur sang cuit et identifiées par l'étude de la fermentation des sucres. (glucose +, maltose-, fructose-, saccharose-).



Neisseria gonorrhoeae



- **Un antibiogramme est réalisé :**

En pratique, réaliser un antibiogramme sur milieu gélosé type chocolat polyvitex avec un inoculum de 1 MC (10^8 bactérie/ ml); en testant la sensibilité à : Peni G ou Amx, céftriaxone, FEP, CIP ou ofloxacine, spectinomycine, tétracycline et à l'azithromycine.

- ✓ La présence de la bêta-lactamase doit être recherchée par une technique chromogénique (sur disque de céfinase); la bêta-lactamase confère la résistance aux amino, carboxy- et acyluréidopénicillines. L'association à un inhibiteur de bêta-lactamase restaure l'activité de ces pénicillines.
- ✓ **Traitement:** ceftriaxone; une injection unique intramusculaire de 500 mg.

b) URÉTRITES NON GONOCOCCIQUES

- Il s'agit d'un syndrome regroupant l'ensemble des urétrites non liées à une infection gonococcique.
- Elles représentent plus de la moitié des urétrites. Elles sont généralement sexuellement transmises.

i. U N G À *CHLAMYDIAE TRACHOMATIS*: (IST)

La période d'incubation : 2 jours à 2 mois, avec 2 formes:

- **Forme aiguë :**

Elle présente la même allure qu'une urétrite gonococcique avec miction douloureuse, écoulement purulent abondant, accompagné parfois d'hémorragie.

- **Forme subaiguë :** la plus fréquente.

Les douleurs sont peu marquées. Le patient se plaint d'un écoulement urétral non purulent plutôt visqueux.

- **Prélèvement** : des muqueuses infectées
 - Par un écouvillonnage
 - Mieux par raclages,
 - 1^{er} jet urinaire.
- Sont placés dans un milieu de transport spécifique et conservés à 4°C.

Examen direct:

- Recherche de chlamydia trachomatis par **IFD:**

On utilise un anticorps monoclonal anti-chlamydia conjugué à l'isothiocyanate de fluoresceine.

-Les corps élémentaire (CE) apparaissent de couleur vert pomme sur fond de cellules colorées en rouge.

-La lecture est difficile.

•La mise en culture:

- Se fait sur œuf de poule embryonné ou sur culture cellulaire.

-Elle présente une excellente spécificité, une sensibilité de 80 à 90 .

- Il existe d'autres tests diagnostiques:
- immunoenzymatiques (*enzyme linked immunosorbent assay* [ELISA]), ou par *polymerase chain reaction* (PCR) (examen de référence sur le 1^{er} jet urinaire).
- Un des avantages des techniques de biologie moléculaire est qu'elles peuvent être réalisées à partir des urines du premier jet.
- La sérologie n'est pas très utile en pratique en raison de sa mauvaise spécificité, de sa mauvaise sensibilité et de la possibilité de réaction croisée avec *Chlamydia Pneumoniae*.

ii. UNG À MYCOPLASME:

M.genitalium :

- ✓ le plus fréquent chez l'homme;
- ✓ 15-35 % des UNG
- ✓ Diagnostic est posé par PCR uniquement.
- Urétrite trainante ou résistante au traitement (Azithromycine)

- *Ureaplasma urealyticum* et *M.hominis*

Ces 2 germes sont observés à l'état saprophytes chez des nombreux sujets masculins ou féminins n'ayant aucune affection génito-urinaire clinique décelable.

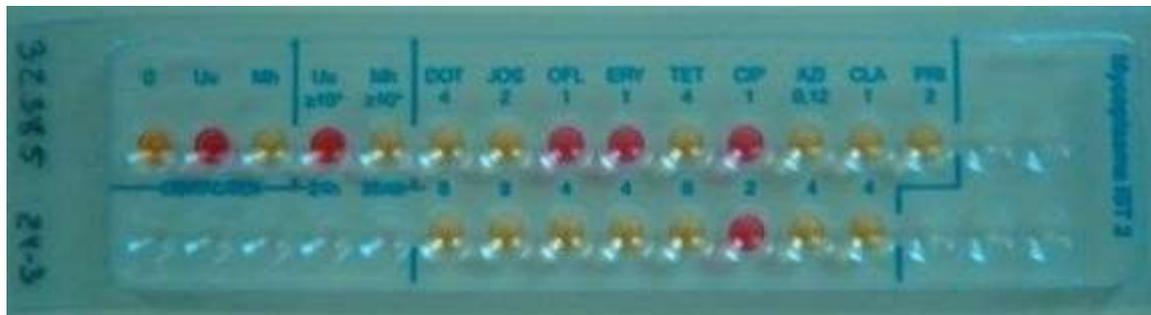
Ureaplasma et *Mycoplasma hominis* sont responsables d'urétrite non ou post gonococcique.

➤ Diagnostic positif si titre

✓ > ou = 10^3 UCC /ml : 1^{er} jet urinaire

✓ > ou = 10^4 UCC /ml : urétral

- **Prélèvement** : par écouvillonnage de l'urètre; le prélèvement doit apporter un maximum de cellules.
- **Isolement des mycoplasmes** :
 - Leur culture est délicate à effectuer. réservée à des laboratoire spécialisés.
 - ❑ galerie miniaturisée: milieux DUO (Sanofi-pasteur), peut être effectué en routine sur une microplaque de 6 cupules contenant des milieux déshydratés pour l'identification et le titrage différentiel des 2 espèces de Mycoplasmes.



AUTRES AGENTS IMPLIQUÉS DANS LES URÉTRITES

Trichomonas vaginalis

- ✓ Est parfois en cause,
- ✓ L'urétrite est le plus souvent asymptomatique ou subaiguë.
- ✓ C'est une IST.

Candida albicans

Est surtout responsable de balanites (inflammation du gland) et de rares urétrites subaiguës.

Germes pyogènes :

spp, des streptocoques, des entérobactéries.

Haemophilus

TRAITEMENT DES UNG

- Le traitement monodosé par azithromycine (1 g per os) s'impose de plus en plus dans le traitement des urétrites à CT. Les traitements classiques reposent sur les cyclines (doxycycline 200 mg j, minocycline 200 mg j), les macrolides (roxithromycine 150 mg * 2 j) ou les quinolones (ofloxacin 200 mg * 2 j) pour une durée minimale de 10 jours.
- Le traitement de référence d'UU consiste à l'administration de cyclines (doxycycline 200 mg j, minocycline 200 mg j) pendant 5 à 7 jours. L'érythromycine, la josamycine, la spectinomycine, l'azithromycine et l'ofloxacin sont également efficaces et utilisables en seconde intention (10% de souches résistantes aux cyclines).
- *Mycoplasma genitalium* répond au même spectre mais avec des durées de traitement plus longues (15 jours).

B. DIAGNOSTIC DES ULCÉRATIONS

- Une ulcération correspond à une perte de substance entraînant une plaie ouverte plus ou moins profonde.
- Elle s'accompagne presque toujours d'adénopathies satellites.
- On parle de chancre lorsqu'il s'agit d'IST.

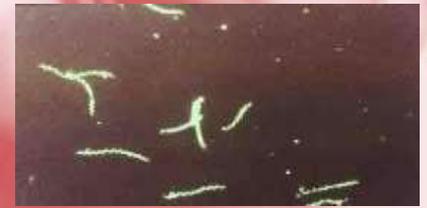
1. SYPHILIS

- La syphilis est une IST due à *Treponema pallidum*. Elle évolue en plusieurs stades (primaire, secondaire et tertiaire) entrecoupés de phases de latence.
- Le chancre correspond à la phase primaire. Il apparaît environ 3 semaines après une incubation silencieuse sous la forme typique d'une ulcération unique (le plus souvent) arrondie, à **base indurée, propre et indolore** qui guérit spontanément en 1 à 2 mois. Des adénopathies satellites sont habituelles.



Figure 1. Chancre syphilitique.

DIAGNOSTIC DIRECT



- Il consiste à rechercher *T. pallidum* à partir des **sérosités recueillies au niveau du chancre**. Cela peut se faire :
- Par EF observé immédiatement au microscope à fond noir. *Treponema pallidum* est une bactérie spiralée et mobile (mouvement de propulsion, rotation, flexion). Un résultat positif est évocateur de la syphilis et un résultat négatif ne peut l'exclure car ils existent des faux négatifs.
- Par immunofluorescence directe: à l'aide d'un anticorps anti-Treponema pallidum marqué à l'isothiocyanate de fluoresceine. Sensibilité et spécificité supérieure à l'examen à l'état frais.
- Méthodes de coloration: elles sont applicables aux spirochètes en général. Ce sont la coloration de Vago et l'imprégnation argentique de Fontana-Tribondeau.
- **Par amplification génique** : technique plus sensible que le fond noir.

SÉRODIAGNOSTIC

- **Le sérodiagnostic est le diagnostic de certitude de la syphilis**
- Il consiste dans un premier temps à un dépistage de la syphilis par deux réactions obligatoires dont au moins une de chaque groupe :
- **Groupe 1** : Méthodes à antigène non tréponémique: VDRL (Venereal Disease Research Laboratory), et RPR (Rapid Plasma Reagin test)
- **Groupe 2** : Méthodes à antigène tréponémique: TPHA (Treponema pallidum Hemagglutination Assay), FTA-Abs (immunofluorescence indirecte absorbée) et EIA (méthode immunoenzymatique)
- Lors d'un dépistage positif, il faut réaliser, dans un deuxième temps, un titrage avec chaque groupe de méthode.
- **Le test d'immuno-empreinte (Western-blot) est considéré comme le test de confirmation pour le diagnostic de syphilis.**

TRAITEMENT

- Le traitement repose sur la pénicilline G; une injection intramusculaire (IM) de 2,4 MUI d'Extencilline (benzathine benzylpénicilline) pour la syphilis primaire et secondaire, trois doses à 1 semaine d'intervalle pour la syphilis tertiaire.
- Si la sérologie est hautement positive, l'association d'une ampoule de corticoïde est souhaitable pour éviter une réaction d'Herxheimer.

2. CHANCRE MOU

- Les ulcérations multiples qui constituent le chancre mou sont dues à *Haemophilus ducreyi* ; c'est une IST fréquente dans certaines régions d'Afrique, d'Asie et des Caraïbes. Elle apparaît en général après une période d'incubation courte (moins de 1 semaine) et commence par de petites lésions rouges qui se transforment en petits ulcères superficiels.
- Contrairement à la syphilis, ces ulcères sont **douloureux**, inflammatoires à **bords irréguliers et non indurés** (d'où le terme chancre mou). Des ganglions inguinaux discrets et douloureux apparaissent chez la plupart des patients.



Figure Chancre mou.

- *H. ducreyii* est une bactérie vulnérable qui exige des contacts fréquents pour se propager dans une population.
- **Le prélèvement :**
 - la zone de décollement périphérique, en grattant sans faire saigner, avec une curette ou un écouvillon d'alginate.
 - La ponction du bubon s'impose.
 - Elle doit être pratiquée à l'opposé du point déclive.
 - Elle permet de retirer qq gouttes à plusieurs millilitres pour un but diagnostic ainsi que thérapeutique, (évite la fistulisation).

- **Examen direct:**

- La recherche *d'Haemophilus ducreyi* repose sur la mise en évidence de bacilles à Gram négatif à coloration bipolaire courts regroupés en chaînettes (« chaine de vélo ») à l'intérieur et/ou à l'extérieur des granulocytes.

- **Mise en culture :**

- Culture difficile.

- Laboratoires spécialisés

- De multiples méthodes ont été proposé

- gélose trypticase-soja au sang cuit.

- gélose au sang cuit + 1 d'isovitalex.

- On ne peut identifier^{0/0} précisément cette espèce avec les galeries habituelles. **L'identification se fait par amplification génique.**



TRAITEMENT

- Le traitement repose sur la désinfection locale des lésions et l'antibiothérapie par voie intramusculaire ou per os. Plusieurs classes peuvent être utilisées :
- ✓ Erythromycine : 500 mg \times 4/j per os pendant 7 à 10 jours ;
- ✓ Ceftriaxone : 250 mg intramusculaire monodose ;
- ✓ Ciprofloxacine : 500 mg \times 2/j per os pendant 3 jours ;
- ✓ Azithromycine : 1g per os, monodose.
- En cas de bubon, il faut simplement aspirer le pus et ne pas inciser, ni drainer l'adénopathie.

3. CHANCRE DE LA MALADIE DE NICOLAS-FAVRE OU LYMPHOGRANULOMATOSE VÉNÉRIENNE (LGV)

- La LGV est due aux sérotypes L1, L2 ou L3 de *Chlamydia trachomatis*.
- C'est une IST rare en Europe mais en augmentation chez les homosexuels masculins.
- La durée de l'incubation varie de 2 à 60 jours.
- Les premiers signes cliniques sont des micro-ulcérations génitales ou anales passant souvent inaperçues car indolores puis apparaissent des adénopathies inflammatoires inguinales qui peuvent se fistuler (en pomme d'arrosoir) ou entraîner une anorectite aiguë.
- Le diagnostic repose sur la mise en évidence de *Chlamydia trachomatis* sérovars L1 à L3 par une technique **d'amplification génique** à partir d'ulcérations ou/et de ponctions ganglionnaires.

4. DONOVANOSE

- Cette IST est due à un bacille à Gram négatif, *Klebsiella granulomatis*.
- L'incubation est très variable (3 à 40 jours), les ulcérations sont multiples avec des bordures en relief ; elles saignent facilement au contact et sont indolores. Il n'y a pas d'adénopathie satellite.
- Le diagnostic est avant tout microscopique : il repose sur la mise en évidence des corps de Donovan dans le frottis d'un granulome inguinal coloré au MGG (ils apparaissent colorés en bleu).

• Les corps de Donovan sont des inclusions bactériennes de forme caractéristique (aspect bipolaire dit « en épingle à nourrice ») à l'intérieur des macrophages. La recherche est souvent négative en cas de lésion très jeune ou, au contraire, ancienne. L'observation des corps de Donovan à partir d'une lésion à clinique évocatrice est suffisante pour affirmer le diagnostic.

• On peut mettre en évidence *K. granulomatis* par amplification génique.



Donovan Bodies

Clusters of blue- or black-staining, bipolar chromatin condensations in large mononuclear cells in granulation tissue infected with *Klebsiella* (*Calymmatobacterium granulomatis*).

TRAITEMENT

- Le bacille est sensible à de nombreux antibiotiques :
cyclines (tétracycline 500 mg × 4/j per os),
- Triméthoprim sulfaméthoxazole (800 mg/160 mg × 2/j per os),
- Érythromycine (500 mg × 4/j per os),
- Azithromycine (1g per os/semaine),
- Ciprofloxacine (750 mg × 2/j per os).
- La durée du traitement est de 3 semaines minimum.

PROPHYLAXIE ET MESURES ASSOCIÉES

- Elle comprend des traitements de partenaire sexuel des patients infectés, le port des préservatifs pour éviter la contagion par transmission sexuelle.
- La prévention obligatoire de la gonococcie oculaire du nouveau né est assurée par l'emploi d'un collyre antiseptique à base de nitrate d'argent, d'érythromycine ou de tétracycline instillé dès la naissance.
- Bilan d'IST et dépistage des partenaires:
- La recherche d'infections associées est systématique : syphilis, VIH, condylomes (HPV), herpès génital et hépatite B.
- Tous les partenaires identifiés dans les 2 mois précédant le diagnostic doivent être dépistés et traités si nécessaire.

CONCLUSION

- Les prélèvements génitaux chez l'homme :

Deux sont couramment effectués :

Le prélèvement urétral et le prélèvement du premier jet des urines).

- La conduite au laboratoire de ce type de prélèvement ne peut être réalisée sans les renseignements cliniques.

- 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, du fait de l'abondance et de la variété de la flore bactérienne du bas appareil génital.

BIBLIOGRAPHIE

- Amhis W. Les prélèvements génitaux chez l'homme, 2010.
- Barré A, Janier M, Sultan S, Le Monnier A, Aubert M, Zeitoun JD, Lemarchand N, de Parades V. Infections sexuellement transmissibles ano-rectales: quoi de neuf en 2015?. *Hépatogastro- & Oncologie Digestive*. 2015 Dec 1;22(10):919-28.
- Saurat JH, Lachapelle JM, Lipsker D, Thomas L. *Dermatologie et infections sexuellement transmissibles*. Elsevier Masson; 2004.
- Dominique S, Delmas V, Horpitan V, Boccon-Gibod L. Infections génitales masculines. *EMC-Maladies infectieuses*. 2004 Feb 1;1(1):55-65.
- Kersaudy-Rahib D, Clément J, Lamboy B, Lydié N. Interventions validées ou prometteuses en prévention des Infections Sexuellement Transmissibles (IST): synthèse de la littérature. *Santé publique*. 2013;1(HS1):13-23.