

1. Objet et domaine d'application

Ce mode opératoire décrit les étapes à suivre pour réaliser les prélèvements génitaux et ano-génitaux.

2. Documents associés

C2-PR01	« Prélèvements »
C1-ENR05	« Feuille de prescription »
C3-PR02	« Transport, manipulation et conservation des échantillons »
C2-INS20	« Prélèvements pour dépistage de germes spécifiques : Bactéries Multi Résistantes (BMR), mycobactéries, mycoplasme, <i>Chlamydia trachomatis</i> »
REMIC 2018	: Référentiel en microbiologie médicale
EMCM	European manual Clinical microbiology 1st edition

3. Responsabilités

Le prescripteur est responsable de la demande adressée au laboratoire et de l'indication de l'analyse microbiologique. La nature du prélèvement bactériologique doit être précisée. Certains microorganismes sont recherchés sur prescription explicite ou à l'initiative du biologiste en cas symptomatologie évocatrice : *Chlamydia trachomatis*, mycoplasmes urogénitaux, virus, agents responsables d'ulcérations.

Le personnel d'accueil du laboratoire s'enquiert auprès du patient (voire du prescripteur) de certains renseignements (grossesse, stérilet,...). Le laboratoire fournit les informations nécessaires au bon prélèvement et au transport de l'échantillon et est responsable de la mise en œuvre technique, de la validation et de la transmission des résultats.

4. Déroulement de l'activité

4.1. Matériel utilisable dans les salles de prélèvement

- Spéculums à usage unique
- Ecouvillons secs (tige plastique ou aluminium) pour mycoplasmes
- Ecouvillons Eswab bouchon rose
- Ecouvillons Eswab bouchon orange
- Pour les frottis cervicaux : brosse Cervex®, pots ThinPrep (Hologic) 20 ml

4.2. Modalités de prélèvement

Prélèvement génital féminin : Le prélèvement est fait de préférence en dehors de la période menstruelle, avant antibiothérapie. Pas de douche vaginale, de traitement local (gel, crème, ovule, injection) dans les 24 H qui précèdent le prélèvement. Ce prélèvement ne peut être fait qu'au laboratoire ou en clinique.

Prélèvement génital masculin : Le matin avant toute toilette, et si possible avant la première miction, sinon à distance d'une miction (2H). Ce prélèvement ne peut être fait qu'au laboratoire ou en clinique, de préférence avant antibiothérapie.

4.3. Technique de prélèvement

4.3.1. Prélèvements féminins

Préparer la salle (mise en place du rouleau gynéco. propre) avant installation de la patiente. Se laver les mains au savon ou avec la solution hydro alcoolique.

Préparer le matériel nécessaire sur la tablette. Faire installer la patiente en position gynécologique. Mettre en place l'éclairage. Mettre les gants à usage unique. La décision de placer ou non un spéculum est liée à prescription, au contexte ou la nature des germes recherchés.

=> Une demande de prélèvement cervical ou la présence de lésions internes l'impose. En revanche pour une demande de recherche de *Chlamydia trachomatis* ou de mycoplasmes urogénitaux, en l'absence de douleurs pelviennes et si le médecin n'a pas précisé que cette recherche doit être effectuée au niveau cervical, un simple prélèvement vaginal (sans pose de spéculum) est possible (recommandations HAS juillet 2010). Le prélèvement doit préférentiellement être effectué par un biologiste ou du personnel habilité. Mettre en place le spéculum, en position fermée. Après introduction dans le vagin, tourner à 90° vers le bas, ouvrir et tourner la clé de blocage. On visualise alors le vagin avec le col de l'utérus. Procéder au prélèvement en fonction de la prescription, tel que défini plus loin. Refermer le spéculum doucement pour ne pas pincer la muqueuse vaginale et le jeter à la poubelle ainsi que le papier usagé et les gants.

=> En revanche une demande de prélèvement vaginal simple ou chez la femme enceinte ne justifie pas la pose de spéculum. Procéder à un écouvillonnage au niveau de la moitié inférieure des parois vaginales, du vestibule et de la vulve. Se laver les mains. Identifier les échantillons. Noter tous les aspects significatifs observés durant le prélèvement sur la feuille de prélèvement (présence de lésions visibles, aspect et odeur de la leucorrhée, saignement au contact...)

4.3.1.1. Femme non enceinte : prélèvement cervico-vaginal

Prélèvement vaginal simple :

Prélever 1 écouvillon Eswab bouchon rose

- Cervicite : écouvillonner le col (endocol et exocol)
- Vulvo-vaginite ou leucorrhée : écouvillonner la paroi vaginale

Recherche de *Chlamydia trachomatis* au niveau du col utérin :

Nettoyer l'exocol à l'aide d'un écouvillon ordinaire. Introduire ensuite l'écouvillon spécifique Chlamydia (écouvillon Eswab) dans l'endocol de manière à ne plus voir l'extrémité et faire tourner l'écouvillon pendant 3 à 5 secondes. Retirer l'écouvillon en évitant de toucher les parois vaginales. Décharger l'écouvillon dans le milieu de transport spécifique en l'agitant ou en le tournant vigoureusement pendant une quinzaine de secondes puis le laisser dans le milieu de transport en cassant l'extrémité de la tige.

Recherche de mycoplasmes urogénitaux :

Nettoyer l'exocol à l'aide d'un écouvillon ordinaire. A l'aide d'un autre écouvillon sec (éviter les écouvillons avec milieu de transport), prélever l'endocol et le vagin en écouvillonnant bien la muqueuse pour recueillir des cellules. L'écouvillon prélevé

peut être conservé 2 H à température ambiante ou 4 H au réfrigérateur. S'il ne peut parvenir dans ces délais au laboratoire, le décharger dans le flacon de milieu de transport **suspension médium** qui sera apporté au laboratoire dans les meilleurs délais.

Frottis cervical et/ou recherche d'HPV:

Les échantillons ne doivent pas être prélevés.

- lors des périodes menstruelles
- après une douche vaginale ou un traitement local de moins de 3 jours

Le dispositif de prélèvement (brosse Cervex®) doit être inséré avec sa partie centrale dans le canal cervical, sa partie périphérique s'appuyant sur l'exocol). Effectuer un mouvement de rotation (2.5 tours complets dans le sens des aiguilles d'une montre) afin de recueillir des cellules exo- et endocervicales et immerger l'extrémité de l'unité de prélèvement dans le pot ThinPrep en frottant vigoureusement la brosse contre les parois pendant 10 sec avant de la retirer. Ne pas laisser la tête de la brosse dans le flacon.

Problèmes rencontrés :	<u>Mesures correctives :</u>
• Col non vu (par plusieurs préleveurs)	✓ Antécédents gynéco-obstétriques et chirurgicaux. ? (Informé le prescripteur)
• Prélèvement hémorragique	✓ Tamponner avec un écouvillon et signaler sur fiche anapath.
• Patiente vierge	✓ renvoi vers le gynécologue.

4.3.1.2. Femme enceinte

Recherche du portage vaginal de *Streptococcus agalactiae* (Strepto. B) :

Ce prélèvement est réalisé vers les 34^{ème}- 35^{ème} semaines d'aménorrhée. La pose d'un spéculum n'est pas nécessaire. Le prélèvement s'effectue par écouvillonnage de l'ensemble de la paroi du tiers vaginal inférieur.

En cas d'antécédent d'accouchement prématuré :

Effectuer un prélèvement vaginal en début de grossesse (à la recherche d'une vaginose)

En cas de menace d'accouchement prématuré ou de rupture prématurée des membranes :

Effectuer un prélèvement vaginal dans lequel seront recherchés les germes à risque pour l'enfant ou toute autre bactérie en culture pure avec disparition de la flore normale.

Suspicion d'infection chorio-amniotique ascendante :

Cette infection débutant par une colonisation de l'endocol, il est nécessaire d'effectuer un prélèvement endocervical en évitant toute contamination par les sécrétions vaginales. Pour cela, nettoyer l'exocol avec un tampon stérile imbibé de sérum physiologique, puis écouvillonner l'endocol et retirer l'écouvillon sans toucher

les parois vaginales. Ce prélèvement est habituellement réalisé en établissement de soins par le gynécologue obstétricien.

4.3.2. Prélèvements masculins

En cas d'urétrite

Recherche de germes banaux + *Chlamydia trachomatis* + mycoplasmes urogénitaux.

Le prélèvement doit être réalisé le matin avant toute toilette ou au moins 2 heures après la dernière miction.

Dans une salle de prélèvement fermée à clé, demander au patient qui se tient debout le dos au mur les jambes légèrement écartées de baisser son pantalon et ses sous-vêtements.

Interroger sommairement le patient (écoulement, douleur, prurit, adénopathie, hémorragie...) et reporter les informations pertinentes (feuille de travail, SIL).

Préparer 3 (ou 4 si pas d'Eswab), écouvillons de diamètre approprié :

- 2 Eswab orange (un pour germes banaux ED et culture, le second pour PCR *C trachomatis*)
- 1 écouvillon sec tige aluminium (ED + mycoplasmes)

Mettre des gants. Inspecter le gland, le méat, le sillon balano-préputial. En cas de lésion, un prélèvement par écouvillonnage complémentaire peut être fait à l'initiative du biologiste.

Presser le gland et recueillir un éventuel écoulement sur l'écouvillon avec milieu de transport.

Introduire successivement la partie terminale des écouvillons dans l'urètre et effectuer un grattage urétral par rotation. Il faut prendre en compte la douleur éventuelle liée au prélèvement, surtout en cas d'inflammation urétrale.

En cas d'épididymite ou de prostatite :

Procéder à un écouvillonnage urétral ou à un recueil de sperme ou au recueil du 1^{er} jet urinaire.

En cas d'orchite :

Préférer le prélèvement d'abcès à la seringue par le chirurgien. Un recueil de sperme est également possible.

4.3.3. Prélèvements pour les deux sexes

En cas d'ulcération ano-génitale

Effectuer un prélèvement de l'ulcération afin de compléter les autres prélèvements déjà réalisés.

Recherche de virus herpétique (HSV 1 et 2) par culture (lésions vésiculeuses ou ulcérées). Voir guide de prélèvement du laboratoire partenaire.

Recherche d'*Haemophilus ducreyi* (chancre de Ducreyi, rare en Europe, ne se voit plus qu'en Papouasie, Nouvelle Guinée : chancre unique ou multiple, à base molle, oedémateux, douloureux, avec une fréquente adénopathie inguinale douloureuse et isolée)

Nettoyer l'ulcération avec un tampon imbibé de sérum physiologique. Prélever la base ou les bords du chancre à l'aide d'un écouvillon avec milieu de transport.

Recherche de *Chlamydia trachomatis* (sérovars L1 à L3 : lymphogranulomatose vénérienne ou maladie de Nicolas et Favre, rare en Europe : ulcération génitale indolore qui peut passer inaperçue puis lymphadénite parfois fistulisée ou rectite). Voir chapitre spécifique.

Recherche de syphilis : *Treponema pallidum* par immunofluorescence directe (chancre induré, indolore, avec adénopathie satellite). La recherche directe (microscope à fond noir ou amplification génique) est uniquement réalisée par des laboratoires spécialisés. Cette recherche manque de sensibilité et de spécificité et doit être complétée par une sérologie syphilitique (positivation du TPHA environ 8-10 j et du VDRL environ 10-15 j après l'apparition du chancre).

Nettoyer l'ulcération avec un tampon imbibé de sérum physiologique. Gratter légèrement sans faire saigner les bords ou le fond de l'ulcération avec un écouvillon, recueillir la sérosité et la déposer sur une lame de verre.

Recherche de *Klebsiella granulomatis*, (agent de la donovanose, rare en Europe : papules indolores s'ulcérant progressivement, puis apparition de granulations s'étendant dans la région inguinale)

Faire procéder (milieu spécialisé) à une biopsie du granulome inguinal. pour une recherche des corps de Donovan. Un grattage des tissus sous-cutanés est également possible, à déposer sur lame de verre.

NB : Ces prélèvements sont habituellement réalisés par le gynécologue obstétricien ou l'urologue.

4.4. Volume d'échantillon requis

Sans objet

4.5. Conservation et transport

	Germes banaux	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Mycoplasmes urogénitaux	
Type d'échantillon	1 écouvillon Eswab bouchon rose, à défaut 1 écouvillon avec milieu de transport, à défaut 1 écouvillon sec	1 écouvillon Eswab bouchon rose ou orange.	1 écouvillon sec (que l'on peut décharger dans le flacon suspension médium selon le délai d'acheminement)	
Durée maximale de conservation	2H à température ambiante (écouvillon sec, REMIC) ou 24 h si Eswab ou milieu de transport gélosé	5j à température ambiante, 1 semaine à 4°C	<u>Ecouvillon sec :</u> 2 H à température ambiante 4 H au réfrigérateur	<u>Flacon suspension médium ensemencé :</u> 48 H à température ambiante 72 H au réfrigérateur 6 mois au congélateur

5. Classement, sauvegarde et archivage

Des feuilles de travail informatiques sont créées au secrétariat lors de l'enregistrement du dossier.

Cf. Archivage informatique des données scanbac et SIL.

Cher(e) Ami(e),

Afin d'améliorer la praticabilité et la performance des prélèvements gynécologiques, nous privilégions l'utilisation des écouvillons Eswab qui permettent de réduire le nombre d'écouvillons à prélever et prolongent la validité du prélèvement avant ensemencement.

Attention : Ces écouvillons ne sont pas validés pour la recherche des Mycoplasmes uro-génitaux

Résumé pratique

PV simple :

1 seul écouvillon Eswab (pour culture et examen direct)



ou à défaut

1 écouvillon avec milieu de transport (culture) + 1 écouvillon sans milieu de transport (examen direct)

PV + mycoplasme :

1 écouvillon Eswab (pour culture et examen direct) + 1 écouvillon sans milieu de transport (pour mycoplasme)



ou à défaut

1 écouvillon avec milieu de transport (culture) + 2 écouvillons sans milieu de transport (pour mycoplasmes et examen direct)

PV + mycoplasme + chlamydiae :

2 écouvillons Eswab (un pour culture et examen direct, le second pour chlamydiae) + 1 écouvillon sans milieu de transport (pour mycoplasme)



ou à défaut

1 écouvillon avec milieu de transport (culture) + 2 écouvillons sans milieu de transport (pour mycoplasmes et examen direct) + 1 écouvillon Eswab rose (pour chlamydia)

L'ensemble des écouvillons sont disponibles sur demande au LBM Vialle : 04 95 30 17 40

Elisabeth PARISI : Biologiste Responsable de la Microbiologie LBM Vialle