

La Lutte contre *les* Maladies Sexuellement Transmissibles

UN MANUEL POUR L'ÉLABORATION ET LA GESTION DES PROGRAMMES

Editeurs

Dr. Gina A. Dallabetta

Directeur Associé, Unité MST
AIDS and Prevention (AIDSCAP Project)
Family Health International
U.S.A.

Dr. Marie Laga

Directeur, Section Épidémiologie et Intervention
Département de Microbiologie
Institut de Médecine Tropicale
Belgique

Peter R. Lamphey, M.D., Dr. M.H.

Vice Président et Directeur
AIDS Control and Prevention (AIDSCAP) Project
Family Health International
U.S.A.



Avec l'aide de:

James Cassell
Kathleen Henry
Mary O'Grady

Traduit de l'Anglais par:

Arnaud Tarantola, M.D.
pour la TradCom International, Paris, France

C H A P I T R E

12

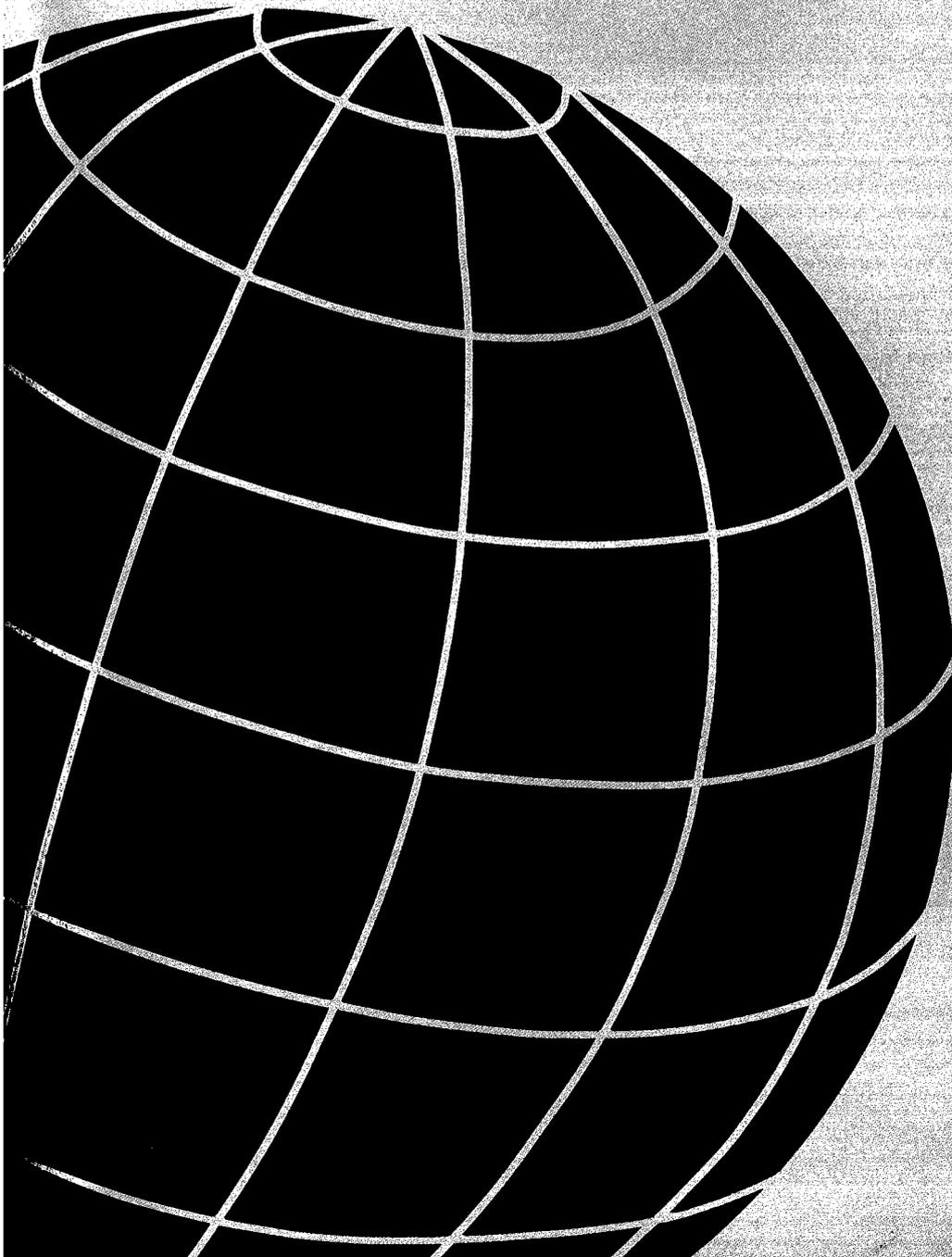
Le Laboratoire anti-MST

EDDY VAN DYCK

FRIEDA BEHETS

FRANÇOIS CRABBE

SETH BERKLEY



Le Laboratoire anti-MST

INTRODUCTION

Ce chapitre aidera les responsables de programme de lutte contre les MST à déterminer le type d'aide dont ils auront besoin en termes d'examens de laboratoire. Il leur fournit des critères qui leur permettront de choisir les examens complémentaires en montrant comment ces derniers peuvent venir compléter l'approche syndromique à la prise en charge des cas de MST.

LE RÔLE DU LABORATOIRE

Le premier rôle du laboratoire est d'apporter une aide au processus décisionnel:

- En pratique clinique quotidienne
- En termes de santé publique

PRATIQUE CLINIQUE QUOTIDIENNE

Un laboratoire peut participer aux trois types d'activité de lutte anti-MST présentés ci-dessous:

- Diagnostic
- Dépistage systématique des patients
- Dépistage volontaire de la population générale

SANTÉ PUBLIQUE

Les examens de laboratoire peuvent être utiles à la santé publique car ils peuvent:

- Aider à déterminer l'épidémiologie des MST
- Apporter des données opérationnelles
- Offrir un contrôle de qualité

CRITÈRES DE CHOIX D'UN EXAMEN DE LABORATOIRE

- Validité
- Fiabilité
- Faisabilité
- Acceptabilité

L'ORGANISATION DU LABORATOIRE

Les examens de laboratoire suivants sont généralement disponibles à trois niveaux successifs de l'infrastructure clinique:

- **Niveau périphérique:** examen direct en microscopie de prélèvements frais ou après coloration, test à la potasse et test de dépistage non-tréponémique de la syphilis.

- **Niveau intermédiaire:** examen au microscope, mise en culture de *Neisseria gonorrhoeae*, détection de l'antigène pour *Chlamydia trachomatis* et divers tests sérologiques, y compris le test pour le VIH.
- **Niveau central:** les examens peuvent être les mêmes que ceux disponibles au niveau intermédiaire ou être plus complets, selon le degré de décentralisation.

SURVEILLANCE DES RÉSISTANCES MICROBIENNES DE N. GONORRHOEAE

Les antibiotiques que l'on recommande dans le traitement de l'infection gonococcique ne sont pas disponibles ou sont financièrement inabordables dans de nombreux pays en voie de développement. Il est donc particulièrement important de surveiller la sensibilité de ces souches pathogènes aux antibiotiques moins onéreux dans ces pays. On peut utiliser ces données de surveillance pour développer et mettre à jour les recommandations thérapeutiques appropriées pour lutter contre les infections gonococciques au niveau des soins primaires.

COÛTS LIÉS AUX EXAMENS DE LABORATOIRE

Les études détaillées de rentabilité des soins basées sur des examens et des diagnostics effectués en laboratoire doivent inclure une évaluation des coûts directs et indirects (se reporter à la section sur les coûts liés aux examens de laboratoire).

L'APPROCHE SYNDROMIQUE À LA PRISE EN CHARGE DES MST

Le recours à une approche syndromique (*voir Chapitre 8*) rend inutile les tests diagnostiques ou simplifie les examens complémentaires nécessaires pour établir un diagnostic. Cette approche a une bonne sensibilité et une bonne spécificité en matière d'urétrite chez l'homme et d'ulcérations génitales chez la femme et chez l'homme. Cependant, cette méthode a tendance à avoir une sensibilité et une spécificité moins bonnes lorsqu'on l'utilise dans la prise en charge des pertes vaginales chez la femme.

L'APPROCHE ÉTIOLOGIQUE EN LABORATOIRE

Cette section présente les avantages liés à une approche diagnostique à l'aide d'examens de laboratoire pour quatre grands syndromes: (1) écoulement urétral; (2) pertes vaginales; (3) douleurs abdomino-pelviennes et (4) ulcérations génitales.

LES EXAMENS DE LABORATOIRE

Cette section décrit les examens complémentaires utilisés dans le cadre des principales MST: urétrite gonococcique, infection à *Chlamydia trachomatis*, syphilis, herpès génital, chancre mou, donovanose, candidose, trichomonase et vaginose bactérienne. Le Tableau 1 présente les examens complémentaires effectués à visée diagnostique pour chaque maladie et dans divers types de laboratoire.

CONCLUSION

De nombreuses infections demeurent totalement asymptomatiques, notamment chez les femmes. Lorsqu'elles sont symptomatiques, elles peuvent avoir plusieurs causes. Il y a un besoin urgent d'examens complémentaires simples et peu coûteux, surtout lorsqu'il s'agit de dépister des infections à *C. trachomatis* et à *N. gonorrhoeae* chez la femme.

L'approche syndromique aux MST (*voir Chapitre 8*) est conçue pour améliorer le diagnostic et leur traitement dans les centres de soins qui ne disposent pas d'examens complémentaires.

Cependant, elle peut être adaptée pour être utilisée lorsque l'on a accès à un laboratoire. Il faut disposer d'examens complémentaires si l'on veut dépister des infections chez des personnes asymptomatiques, identifier des

I N T R O D U C T I O N infections graves qui n'entraînent pas de signes cliniques

ou de symptômes spécifiques, surveiller la résistance aux antibiotiques et valider des algorithmes thérapeutiques.

Ce chapitre a été conçu pour aider les responsables de programme à déterminer la nature des examens complémentaires nécessaires pour apporter une aide à leur programme anti-MST. Il décrit le rôle du laboratoire dans la lutte contre les MST, les critères permettant de choisir les examens complémentaires et l'organisation des laboratoire anti-MST. Il explique également dans quels cas il est nécessaire de disposer d'examens complémentaires et résume les méthodes utilisées pour ces examens qui permettent de détecter les grandes causes des MST.

LE RÔLE DU LABORATOIRE DANS LA LUTTE CONTRE LES MST

Le laboratoire doit apporter une aide au processus décisionnel en termes de lutte contre les MST aussi bien au cours de la pratique clinique quotidienne qu'au niveau de la santé publique. Le renforcement des structures de laboratoire doit dans tous les cas dépendre des besoins des activités de lutte contre les MST.

Le premier rôle du laboratoire est d'apporter une aide au processus décisionnel:

- En pratique clinique quotidienne
- En termes de santé publique

PRATIQUE CLINIQUE QUOTIDIENNE

Les examens complémentaires améliorent la **spécificité** du diagnostic des MST symptomatiques. Ils augmentent aussi la **sensibilité** du diagnostic des MST asymptomatiques. Un laboratoire peut participer à trois types d'activité dans la lutte contre les MST:

- **Le diagnostic:** aider à la prise en charge des patients présentant des symptômes de MST;
- **Le dépistage systématique:** détection des patients souffrant de MST qui viennent chercher des soins pour d'autres raisons;
- **Le dépistage volontaire:** recherche volontaire des cas de MST dans la population ou parmi des personnes sélectionnées qui ne sont pas venues demander des soins.

Le diagnostic chez les patients symptomatiques

Les symptômes et les signes cliniques d'infection des voies génitales basses ne sont pas spécifiques, notamment chez la femme. Les examens complémentaires de laboratoire sont donc particulièrement utiles lorsqu'ils s'agit de distinguer entre des infections graves (par exemple, une endocervicite) et des infections plus courantes mais bénignes (par exemple, la vaginite). Des examens de laboratoire simples intégrés à la prise en charge syndromique de l'écoulement urétral permettent également de distinguer entre les infections à germe unique et celles à germes multiples, en diminuant l'administration de traitement antibiotiques inutiles.

Le dépistage des cas parmi les personnes asymptomatiques

Les examens de laboratoire augmentent la sensibilité du diagnostic des MST en permettant de détecter des

infections par les MST chez les personnes asymptomatiques. La détection des cas de MST asymptomatiques est particulièrement importante chez les femmes qui portent le fardeau des complications et des séquelles des MST. La détection des cas est encore plus nécessaire chez les femmes enceintes car les examens complémentaires aident à prévenir les conséquences néfastes de la syphilis, de la gonococcie et de la chlamydie chez le nouveau-né (*voir Chapitre 9*).

SANTÉ PUBLIQUE

Les examens de laboratoire jouent un rôle essentiel dans le processus décisionnel en santé publique. Ils aident à documenter l'épidémiologie des MST dans les populations-cibles, quels que soient les symptômes de ces infections. Les résultats de ces analyses apportent des arguments pour plaider en faveur des interventions de lutte contre les MST et évaluer leur impact. Les examens de laboratoire sont utiles en termes de recherche opérationnelle, par exemple lorsqu'il s'agit de valider les recommandations pour la prise en charge syndromique des MST symptomatiques ou l'élaboration de recommandations thérapeutiques appropriées en matière de MST. Les laboratoires de référence servent également à surveiller la qualité des résultats retrouvés par les laboratoires cliniques et à former les équipes qui y travaillent.

CRITÈRES DE CHOIX D'UN EXAMEN DE LABORATOIRE

Les critères qui permettent de déterminer quel examen de laboratoire utiliser sont semblables à ceux que l'on utilise pour choisir n'importe quel indicateur d'évaluation.

Les critères de choix d'un examen de laboratoire sont, entre autres:

- Sa validité;
- Sa fiabilité;
- Sa faisabilité (*pour le laboratoire*);
- Son acceptabilité (*y compris son coût, abordable ou non*) aux yeux du patient.

La validité dépend de la sensibilité (pourcentage de vrais positifs) et de la spécificité (pourcentage de vrais négatifs) du test par rapport à celles d'un «gold standard». Le «gold standard» est le meilleur test disponible pour le diagnostic d'une maladie donnée. Dans certains cas, il n'existe aucun test qui permette à lui seul de faire le diagnostic, et il faut avoir recours à une batterie de tests. C'est par exemple le cas pour l'«expanded gold standard» (culture cellulaire positive ou technique d'amplification d'ADN) que l'on utilise actuellement pour diagnostiquer une infection à *Chlamydia trachomatis*.

La sensibilité d'un test de laboratoire dépend en partie de la prévalence de la maladie. Si la prévalence de la maladie augmente, alors la probabilité de rencontrer cette maladie à la phase aiguë avec une concentration plus élevée de micro-organismes détectables augmente aussi. En général, une meilleure validité du test s'accompagne d'un coût accru.

La fiabilité est la capacité d'aboutir à des résultats similaires en répétant l'examen sur le même échantillon. La fiabilité dépend de la validité de la technique, mis aussi de sa facilité d'utilisation. Les techniques qui comprennent la mesure automatisée d'une substance, tels que les tests immunologiques enzymatiques ont une meilleure fiabilité intrinsèque que celles qui dépendent d'une interprétation par le technicien, comme c'est le cas pour l'examen microscopique direct. La mesure du taux d'anticorps anti-chlamydia par fluorescence directe peut être extrêmement sensible et fiable lorsqu'elle est effectuée par une personne entraînée, tandis qu'un test simple comme l'examen direct après coloration de Gram d'un prélèvement d'écoulement urétral peut avoir une fiabilité et une validité médiocres lorsqu'il est effectué par un technicien incompetent. Des techniques de plus en plus fiables sont développées par les laboratoires pharmaceutiques. Cependant, elles peuvent être responsables d'un surcoût important. En outre, même la technique la plus fiable donne des résultats médiocres lorsqu'elle est insuffisamment étalonnée ou que l'on ne l'évalue pas régulièrement à l'aide de procédures de contrôle qualité.

Au delà de sa facilité d'utilisation, **la faisabilité** technique d'un test de laboratoire dépend des besoins liés à la mise en oeuvre du test, tels que l'espace nécessaire, une alimentation régulière en électricité et en eau propre et le stockage des réactifs en espace réfrigéré. Il est de plus en plus difficile de répondre à ces nécessités au fur et à mesure que le centre de soins se situe plus loin d'un centre urbain. Les techniques sophistiquées ont également tendance à nécessiter plus de pièces de rechange, ainsi que des réactifs spécifiques. Même dans les grands laboratoires du secteur public, l'approvisionnement en pièces de rechange et en réactifs n'est pas prise en compte. Une enquête menée dans un pays d'Amérique Latine a conclu que 70 pour cent de l'ensemble des matériels de laboratoire du secteur public du pays était hors d'usage en raison du manque de pièces de rechange ou de réactifs.

L'acceptabilité d'un test aux yeux des patients dépend le plus souvent du type de prélèvement qu'il faut effectuer. Les prélèvements d'échantillons d'urine ou de salive sont indolores et plus simples à réaliser qu'un prélèvement sanguin. Dans certaines cultures, il peut être extrêmement difficile de faire accepter une prise de sang. Il n'est pas surprenant que le prélèvement urétral chez l'homme à l'aide d'un écouvillon soit la méthode de prélèvement la moins acceptable. Les techniques douloureuses ou invasives peuvent être plus acceptables aux yeux des patients symptomatiques, mais il est très important d'avoir recours à des examens indolores et simples pour détecter des cas ou dépister des personnes asymptomatiques. L'acceptabilité augmente également lorsque les résultats peuvent être obtenus rapidement, ce qui dépend de l'organisation de l'activité du laboratoire.

Enfin, l'acceptabilité repose en partie sur l'accessibilité financière lorsque les patients doivent payer pour avoir accès à des examens de laboratoire. De manière générale, les frais de laboratoire ne doivent pas dépasser le coût du traitement qui a pu être évité grâce à la réalisation des tests. L'acceptabilité des coûts de laboratoire effectués pour détecter des cas ou pour dépister les personnes asymptomatiques (y compris les partenaires sexuels asymptomatiques des patients souffrant de MST) est la plus basse.

Tableau 1
**TESTS DIAGNOSTICS RECOMMANDÉS EN FONCTION
 DE LA CAPACITÉ DU LABORATOIRE**

Maladie	Examen complémentaire	Laboratoire à l'échelon		
		Périphérique	Intermédiaire	Central/Centre MST
Gonococcie	Coloration sur lame (Gram, bleu de méthylène, safranin)	+	+	+
	Mise en culture	-	+	+
	β -lactamase	-	(+)	+
	Sensibilité aux antibiotiques	-	-	+
Chlamydia trachomatis	Détection de l'antigène			
	-IFD	-	(+)	+
	-ELISA	-	-	+
	PCR	-	-	(+)
	Mise en culture	-	-	+
	Sérologie	-	-	+
Syphilis	Microscopie à fond noir (Nelson)	-	(+)	+
	RPR	(+)	+	+
	TPHA	-	(+)	+
	FTA-Abs	-	-	+
	IgM	-	-	+
Herpès génital	Détection de l'antigène	-	-	+
	Mise en culture	-	-	+
	Sérologie	-	-	+
Chancre mou	Mise en culture	-	-	+
	Sensibilité aux antibiotiques	-	-	+
Donovanose	Étalement (Leishman, Wright)	-	(+)	+
	Histopathologie	-	-	+
Trichomonase	Direct sur étalement	+	+	+
	Mise en culture	-	-	+
Candidose	Étalement (+ 10% KOH)	+	+	+
	Mise en culture	-	-	+
Vaginose bactérienne	Examen direct, coloration, pH, KOH	+	+	+

+ oui
 (+) oui, si possible
 - non

ORGANISATION DU LABORATOIRE

PRATIQUE CLINIQUE QUOTIDIENNE

L'infrastructure des soins cliniques du secteur public est organisée sur trois échelons successifs. Tout d'abord, les patients consultent dans des centres sanitaires périphériques (centres de soins primaires ou de premier contact). Les patients qui doivent être adressés pour avis sont dirigés vers les centres sanitaires intermédiaires (régionaux) puis vers les structures sanitaires centrales (nationales). En général, les laboratoires cliniques sont également structurés en trois niveaux successifs (voir Tableau 1).

Les laboratoires périphériques sont rattachés aux dispensaires et aux hôpitaux de district. Les examens de laboratoire effectués à ce niveau comprennent généralement l'examen microscopique direct de prélèvements frais ou après coloration. Dans la prise en charge syndromique de l'écoulement urétral, l'examen direct au microscope aide à individualiser les infections gonococciques. En matière de pertes vaginales, l'examen direct aide à différencier entre une trichomonose et une candidose ou une vaginose bactérienne. Des tests simples comme le test à la potasse ou la mesure du pH vaginal permettent également d'identifier les vaginoses bactériennes. Les examens de laboratoire peuvent comporter des tests simples non-tréponémiques de dépistage de la syphilis: test *Rapid Plasma Reagin* (RPR test) ou *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL) test.

Il est fortement recommandé que les examens de laboratoire faisant partie du diagnostic des MST et des recommandations de détection de cas au niveau de soins santé primaires soient disponibles sur place afin d'améliorer leur acceptabilité et leur mise en oeuvre. Le RPR test chez la femme enceinte est un bon exemple de test de laboratoire qui doit être disponible dans les centres périphériques. L'orientation systématique des personnes asymptomatiques vers un autre centre pour effectuer un test aussi simple entraîne une dépense inutile de temps et d'argent et diminuera la fréquence de mise en oeuvre de ce test.

Les laboratoires de niveau intermédiaire sont souvent situés dans un hôpital régional ou de province. Leurs besoins diagnostiques sont plus importants, et ils dis-

posent d'une infrastructure plus développée et d'un personnel compétent. Ces laboratoires peuvent effectuer des cultures de *Neisseria gonorrhoeae* et l'identification de souches productrices de pénicillinases. Ils peuvent parfois réaliser une recherche d'antigène *Chlamydia trachomatis*, si la charge de travail de l'équipe et des ressources disponibles le leur permettent. Les tests sérologiques peuvent rechercher une infection par le VIH, (test *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* ou ELISA, ou test d'agglutination de particules) ainsi que des tests de confirmation de la syphilis (test *Fluorescent Treponemal Antibody* ou FTA-Abs) ou tests de microhémmagglutination à la recherche d'anticorps dirigés contre *Treponema pallidum* (MHA-TP).

Les laboratoires centraux sont le plus souvent situés dans la capitale ou dans un hôpital universitaire. Les tests diagnostics effectués dans ce type de structure varient en fonction des ressources humaines, matérielles et financières et de la charge de travail à laquelle l'équipe est confrontée. Il n'existe aucune distinction nette entre ce qui doit être et ce qui peut être réalisé dans un laboratoire central par rapport à un laboratoire de niveau intermédiaire. Ces décisions dépendent de l'organisation des services sanitaires dans le pays. Un seul laboratoire central peut suffire dans un petit pays. Dans les pays étendus, la centralisation des cas nécessitant un avis plus spécialisé peut se révéler irréalisable. Il est alors indispensable de décentraliser les examens de laboratoire au niveau régional.

Les contraintes qui viennent faire obstacle à la mise en place de services de laboratoire dans les pays en voie de développement sont, entre autres:

- Le manque de fournitures et de réactifs;
- L'insuffisance de l'approvisionnement en eau et en électricité;
- L'entretien inadéquat des équipements de laboratoire;
- Les compétences techniques limitées des personnels;
- L'absence de supervision et de contrôle qualité;
- L'absence de formation continue;
- L'absence d'éducation primaire et de formation continue pour les soignants sur l'utilité des examens de laboratoire.

Tous ces facteurs contribuent à diminuer la motivation des techniciens de laboratoire et peuvent faire en sorte que les locaux soient sales et mal entretenus, qu'il y ait du retard dans la réalisation des examens, que des réactifs périmés soient utilisés, que les échantillons soient mal étiquetés, que les registres des examens soient mal remplis et que le personnel soit souvent absent.

Quelques exemples de situations sur le terrain illustrent le type de problème qui résultent de ces contraintes:

- Dans un centre où consultent en moyenne chaque jour 100 patients souffrant de MST, les femmes devaient patienter plusieurs heures en attendant que le praticien reçoive les résultats de la coloration de Gram sur les prélèvements endocervicaux effectués pour chacune des femmes avant de mettre en route un traitement. Lorsqu'on leur a posé la question, les praticiens ont déclaré qu'ils mettaient en œuvre un traitement antigonococcique en se basant sur leur impression clinique, même si les résultats des examens revenaient négatifs, ce qui démontrait le peu de confiance qu'ils avaient dans la fiabilité du laboratoire.
- Dans un autre centre, les femmes enceintes étaient régulièrement envoyées vers un laboratoire où les techniciens leur demandaient d'effectuer elles-mêmes un prélèvement vaginal à l'aide d'un écouvillon afin de faire un étalement sur lame puis une coloration de Gram. Les écouvillons parvenaient souvent au laboratoire une fois secs, et les résultats de coloration de Gram qui mentionnaient la présence de diplocoques Gram-négatifs étaient souvent interprétés par les praticiens comme venant confirmer une infection gonococcique.
- Dans un centre de consultation en milieu urbain traitant un grand nombre de patients chaque jour, les examens complémentaires tels que les frottis vaginaux, les colorations de Gram et les mises en culture du gonocoque étaient effectués à l'aide de méthodes non-standardisées de mesure de la sensibilité utilisant des disques chez tous les hommes présentant une uréthrite et chez toutes les femmes présentant des pertes vaginales. Étant donné le grand nombre d'examen effectués, le laboratoire ne pouvait plus assurer la qualité requise. Le fait de revoir avec soin les indications des examens complémentaires et des techniques de laboratoire a permis d'améliorer la qualité du travail et le moral des techniciens de laboratoire, ainsi que celui des cliniciens qui comptaient sur la fiabilité et la rapidité des résultats.

La mise en place d'examen diagnostics en matière de MST est un processus difficile et onéreux. Lorsque l'on planifie les activités de développement et de diagnostic d'un laboratoire, il est indispensable de prendre en compte les facteurs suivants:

- La prévalence des MST doit être suffisamment importante pour que ces efforts soient justifiés.
- Le laboratoire doit disposer d'une aide logistique, d'un soutien financier et de ressources humaines suffisantes pour pouvoir maintenir ses activités.
- Les technologies et les méthodes mises en œuvre doivent être adaptées aux compétences techniques et au niveau d'éducation du personnel du laboratoire.
- Les praticiens doivent choisir le traitement ou les mesures préventives qu'ils mettront en œuvre en se basant sur les résultats des examens de laboratoire.
- Des examens supplémentaires ne doivent pas être introduits aux dépens d'autres besoins prioritaires; l'approche la plus rentable à la prise en charge des MST doit être utilisée.
- Le suivi, l'évaluation, la coordination et le contrôle de qualité doivent être assurés.

SANTÉ PUBLIQUE

Les études de prévalence comptent parmi les besoins essentiels en matière de santé publique dans la lutte contre les MST. Ces études permettent de valider les recommandations thérapeutiques (*voir Chapitre 8*), la surveillance des MST et la surveillance de la sensibilité des souches de *N. gonorrhoeae* (*voir Chapitre 15*). L'élément essentiel en termes de données épidémiologiques est la **fiabilité**, qui dépend de la compétence de la main d'œuvre et les procédures de contrôle qualité. Il est essentiel pour les laboratoires périphériques d'être fiables car les échantillons prélevés lors des études épidémiologiques sont envoyés vers un centre de référence dans le pays, qui est le plus souvent situé dans la capitale. Cependant, lorsque cela est impossible techniquement, il faut envisager de décentraliser les structures.

Les coûts générés par les études de santé publique doivent être financés par le secteur public, car on ne peut demander aux patients de payer pour des examens qu'ils n'ont pas demandé. C'est également parce que ces personnes n'ont pas demandé à être testées qu'il faut avoir recours aux méthodes les moins invasives de prélèvement afin de les rendre acceptables.

La séparation complète de la santé publique et des examens pour la pratique clinique quotidienne ne constitue pas une utilisation rentable des équipements et des personnels de laboratoire. En fait, certains laboratoires associent les deux activités car les revenus générés par les examens de laboratoire demandés en pratique clinique aident à financer des recherches de santé publique. Cependant, ces deux priorités ne doivent en aucun cas être associées au dépens des priorités de santé publique.

SURVEILLANCE DE LA SENSIBILITÉ DE *N. GONORRHOEAE* AUX ANTIMICROBIENS RATIONNEL

La surveillance de la sensibilité des souches de *N. gonorrhoeae* constitue un élément majeur de santé publique. Dans de nombreux pays du monde en voie de développement, les antibiotiques couramment recommandés par l'OMS ou le CDC dans le traitement de l'infection gonococcique ne sont ni disponibles ni financièrement abordables pour les patients souffrant de MST. Étant donné le profil variable de résistance aux antibiotiques, il peut être possible de recommander des antibiotiques moins coûteux tels que le cotrimoxazole ou la kanamycine, du moment que leur efficacité est régulièrement surveillée. Ainsi, les données de surveillance de la sensibilité sont utilisées principalement pour aider à élaborer et à mettre à jour les recommandations thérapeutiques dans la prise en charge des infections gonococciques au niveau de soins de santé primaire. **L'évaluation de la sensibilité pour chaque patient n'est pas justifiée.**

ANTIBIOTIQUES À TESTER

On teste la sensibilité à la pénicilline et aux tétracyclines pour des motifs liés à l'épidémiologie plutôt qu'à la pratique clinique quotidienne, puisque la résistance du gonocoque à ces antibiotiques est le plus souvent élevée dans de nombreux pays. Il faut également tester des médicaments moins coûteux, tels que triméthoprim-sulfaméthoxazole et les aminosides. La résistance aux fluoroquinolones augmente rapidement lorsque celles-ci sont largement utilisées, ce qui rend la surveillance indispensable. La spectinomycine et les céphalosporines de deuxième et de troisième génération demeurent très efficaces, mais la surveillance peut permettre de détecter l'émergence de souches résistantes.

MÉTHODE DU LABORATOIRE

La résistance de *N. gonorrhoeae* aux antimicrobiens est à médiation à la fois chromosomique et plasmidique. Les souches de *N. gonorrhoeae* productrices de pénicillinases (NGPP), également appelées *N. gonorrhoeae* bêta-lactamase-positives, se rapporte à la résistance plasmidique à la pénicilline, qui peut être décelée à l'aide d'examens simples et peu coûteux. Les souches de *N. gonorrhoeae* résistantes aux tétracyclines (NGRT) ont aussi une résistance plasmidique à ces antibiotiques. Il n'existe aucun test simple permettant de détecter les NGRT. Le plasmide correspondant doit être identifié à l'aide de techniques biomoléculaires. À l'inverse, on suppose que la résistance à la tétracycline est à médiation plasmidique lorsqu'elle atteint des niveaux qui dépassent de loin ceux qui sont observés en cas de résistance chromosomique.

La technique de dilution sur gel d'agarose constitue la méthode de référence pour l'évaluation quantitative de la résistance à médiation chromosomique aux antibiotiques. La croissance bactérienne est évaluée sur un milieu de mise en culture dans lequel on a incorporé diverses concentrations d'antibiotiques. Les résultats sont exprimés en termes de CMI (concentration minimale inhibitrice). Malheureusement, les impératifs techniques de cette méthode la rendent inaccessible

dans les pays en voie de développement, à l'exception de quelques laboratoires de référence expérimentés.

La technique de diffusion à disque consiste à mesurer la croissance bactérienne sur des milieux de culture gélatinés autour de morceaux de papier buvard calibrés et qui ont été imprégnés d'une quantité précise d'antibiotiques. Cette méthode est à la fois économique et simple à utiliser. Malheureusement, en ce qui concerne *N. gonorrhoeae*, cette méthode n'a été standardisée que pour un nombre limité d'antibiotiques.

Le test le plus récent, appelé E test, a été développé par AB Biodisk, une firme suédoise. Il associe les avantages de la technique de dilution sur gel d'agarose avec la simplicité d'utilisation des tests par diffusion. Des languettes de plastique imprégnées d'antibiotiques à dose croissante sont appliquées sur la surface de la gélose. Cette technique permet donc de déterminer la CMI. Le E test constitue une alternative fiable à la technique de dilution sur gel d'agarose en ce qui concerne *N. gonorrhoeae*. Cependant, cette technique est coûteuse et elle n'a pas encore été entièrement reconnue en tant que méthode de référence.

FRÉQUENCE

Certains pays occidentaux tels que les États-Unis et le Canada mènent une surveillance continue de la sensibilité du gonocoque dans des centres MST sentinelles répartis à travers le pays. Dans les pays en voie de développement, cependant, les données de surveillance servent surtout à valider les recommandations thérapeutiques. La validation de recommandations est un processus discontinu. Il est donc possible d'effectuer une surveillance de la sensibilité aux antibiotiques au cours d'études spécifiques à intervalles réguliers, notamment lorsque les ressources du laboratoire sont limitées.

TAILLE DE L'ÉCHANTILLON

On estime que 100 à 150 prélèvements comportant du gonocoque doivent être recueillis afin de mesurer une modification significative de la résistance aux antibiotiques entre deux enquêtes.

EFFECTIF DE LA POPULATION

Les patients de sexe masculin consultant en centre de soins primaires pour un écoulement urétral visible constituent le groupe de premier choix de population à étudier. En effet, c'est chez ce type de patients que la production de gonocoque est la plus élevée, et il est plus facile d'obtenir des échantillons auprès des hommes qu'auprès des femmes. Les patients inclus doivent être représentatifs des patients souffrant de MST rencontrés au premier niveau de soins dans le secteur de soins formel. Les patients inclus ne doivent pas avoir été adressés par d'autres services sanitaires. L'automédication, une pratique largement répandue dans de nombreux pays en voie de développement, ne doit pas entraîner l'exclusion de l'étude mais doit être notée au cours du processus de recueil des données.

Dans certains pays, les patients masculins sont très difficiles à joindre car la stigmatisation sociale liée aux MST entraîne une automédication à grande échelle. Les prostituées peuvent représenter une alternative intéressante pour constituer une population d'étude. Cependant, le recueil d'échantillons est plus difficile chez la femme, la prévalence de la gonococcie peut être plus faible, et on peut douter de la représentativité de ce groupe lorsqu'il s'agit de refléter la population générale.

CHOIX DES LIEUX D'ÉTUDE

Le nombre et la répartition géographique des sites à inclure dans l'enquête dépend de la représentativité de chacun des sites en termes de schéma de résistance dans le pays ainsi que de contraintes logistiques.

COÛTS LIÉS AUX EXAMENS DE LABORATOIRE

Il faut prêter une grande attention à la rentabilité des examens en laboratoire. Ce type d'examen est coûteux et ajoute à la difficulté d'apporter des soins à la population. Dans de nombreux pays à faible niveau de revenus, les

Tableau 2

COÛT DU DÉPISTAGE PAR TEST RAPID PLASMA REAGIN (RPR TEST) DANS UNE POPULATION DE 10 000 PERSONNES ASYMPTOMATIQUES POUR TROIS TAUX DIFFÉRENTS DE PRÉVALENCE DE LA MALADIE (SENSIBILITÉ DU RPR 85%, SPÉCIFICITÉ 98%)

Prévalence	1%*	5%	25%
Valeur prédictive positive (VPP)	30%	69,1%	93,4%
Nombre de vrais positifs détectés	85	425	2 125
Nombre total de «cas» détectés	283	615	2 275
Coût du dépistage ^a (Dollars US)	\$9 000	\$9 000	\$9 000
Coût lié à la prise en charge des «cas» détectés ^b			
Examens de laboratoire (tests RPR)	\$170	\$369	\$1 365
Soins médicaux	\$849	\$1 845	\$6 825
Coût total	\$10 019	\$11 214	\$17 190
Coût pour détecter un vrai positif	\$107,90	\$22,00	\$4,90
Coût total par vrai positif	\$117,90	\$26,40	\$8,10

(a) prélèvement sanguin: \$ 0,50; Examen de laboratoire: \$ 0,40

(b) Examen de laboratoire: \$ 0,60; soins médicaux: \$ 3,00

* Pour une prévalence de syphilis de 1%, un examen ayant une sensibilité de 85% et une spécificité de 98% détectera 85 cas (vrais positifs) de syphilis dans une population de 10 000 personnes et 198 cas positifs pour le test qui ne seront pas porteurs de la maladie (faux positifs); 15 vrais cas de syphilis ne seront pas détectés (faux négatifs) et 9 702 personnes seront correctement identifiées comme n'étant pas porteurs de la maladie (vrais négatifs).

		Syphilis			
		+	-		
RPR	+	85	198	283	Sensibilité: 85/100 = 85%
	-	15	9 702	9 717	Spécificité: 9 702/9 900 = 98%
		100	9 900	10 000	Valeur prédictive positive: 85/283 = 30%
					Valeur prédictive négative: 9 702/9 717 = 99,8%

dépenses de santé sont inférieures à US\$ 10 par habitant. Par conséquent, il est peu probable que l'on pourra réaliser un dépistage à grande échelle de la plupart des MST à l'aide des examens actuellement disponibles. Des études détaillées de rentabilité des soins basées sur les examens et le diagnostic en laboratoire sont très complexes et demandent que l'on prenne également en compte les coûts indirects. Les coûts directs, dont ceux liés à l'équipement, aux réactifs, aux médicaments et au coût de la main d'oeuvre sont plus faciles à calculer. Le Tableau 2 montre comment il est possible de calculer le coût direct du dépistage et du traitement de la syphilis.

L'APPROCHE SYNDROMIQUE À LA PRISE EN CHARGE DES MST

On appelle prise en charge syndromique le recours à un faisceau de symptômes et d'arguments cliniques pour décider quel traitement utiliser sans pour cela faire un diagnostic étiologique précis (voir Chapitre 8). Le recours à cette méthode rend inutile les tests diagnostiques ou simplifie les examens complémentaires nécessaires.

Bien qu'elle ait une sensibilité acceptable pour l'urétrite chez l'homme et les ulcérations génitales chez l'homme et chez la femme, l'approche syndromique tend à avoir une sensibilité et une spécificité plus faibles

dans la prise en charge de pertes vaginales chez la femme. Récemment, on a tenté de compléter le faisceau de signes cliniques et de symptômes en prenant en compte la réponse à des questions d'évaluation du risque ou avec des tests diagnostics simples, non-spécifiques, tels que la mise en évidence de l'estérase leucocytaire, une enzyme présente dans les globules blancs. D'un autre côté, la prise en charge de certaines pathologies liées aux MST, telles que le syndrome inflammatoire pelvien (SIP), requiert une prise en charge symptomatique, quelles que soient les ressources dont l'on dispose.

L'APPROCHE DIAGNOSTIQUE EN LABORATOIRE ÉCOULEMENT URÉTHRAL

Les cas d'écoulement uréthral peuvent être traités en se basant seulement sur les conclusions de l'examen clinique si l'on suit les recommandations de la prise en charge syndromique. Cependant, il faut avoir recours à des examens complémentaires si l'on veut distinguer entre l'urétrite gonococcique et non-gonococcique. On peut détecter la présence de leucocytes et de diplocoques intracellulaires typiques (urétrite à gonocoque) ou de leucocytes sans diplocoque intracellulaire (urétrite non-gonococcique) par l'examen microscopique d'un prélèvement de l'écoulement uréthral étalé sur une lame et coloré à l'aide de bleu de méthylène, de safranin ou par une coloration de Gram. Cette méthode ne permettra **pas** d'identifier l'infection mixte gonococcique et non-gonococcique. L'examen au microscope d'un étalement sur lame après coloration ayant une sensibilité de plus de 95 pour cent, la mise en culture dans le but d'isoler *N. gonorrhoeae* n'est pas indispensable au diagnostic et à la prise en charge médicale.¹ Cependant, l'isolement de souches de gonocoque, associé à une surveillance clinique de la réponse au traitement, peut avoir son importance lorsqu'il s'agit de surveiller les tendances des résistances aux antibiotiques.

En matière de dépistage ou de recherche des cas d'urétrite parmi les hommes asymptomatiques, le recueil d'échantillons urétraux constitue une méthode invasive qui n'est pas très appréciée par les personnes

concernées. Le prélèvement du premier jet des urines et la recherche de l'estérase leucocytaire est une alternative non-invasive. La détection de l'urétrite infectieuse par la recherche de l'estérase leucocytaire a une sensibilité de 41 à 100 pour cent. Cependant, elle ne permet pas de distinguer entre l'urétrite gonococcique et non-gonococcique. La spécificité de la méthode de l'estérase leucocytaire varie entre 35 et 100 pour cent. Par conséquent, la valeur prédictive positive d'un test dont le résultat est positif pourrait être extrêmement faible.²⁻⁷

PERTES VAGINALES/DOULEUR ABDOMINO-PELVIENNE

L'examen au microscope d'un étalement sur lame est très utile pour le diagnostic de la trichomonase, de la candidose et de la vaginose bactérienne (VB). Une mesure du pH, un test à la potasse et la coloration de Gram sur un prélèvement vaginal peut aider à rendre le diagnostic de VB plus fiable. Il est encore plus important de pouvoir faire le diagnostic de la cervico-vaginite gonococcique ou chlamydienne, des infections dont les séquelles peuvent être graves. Malheureusement, il n'existe pour le moment aucun moyen simple de diagnostiquer ces infections. L'examen direct après coloration de Gram a une sensibilité très faible lorsqu'il s'agit de diagnostiquer la gonococcie chez la femme, et la mise en culture demeure la méthode de référence.⁸ Les autres tests sérologiques diagnostiques de l'infection à *Chlamydia trachomatis* sont, entre autres, la recherche d'anticorps par immunofluorescence directe, les techniques immunoenzymatiques, la culture cellulaire, et la mise en évidence de l'ADN bactérien par hybridation moléculaire ou après amplification *in vitro* par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) ou LCR (*Ligase Chain Reaction*).

ULCÉRATIONS GÉNITALES

Les ulcérations génitales peuvent être dues à la syphilis, au chancre mou, à l'herpès, à la donovanose, ou (rarement) à la lymphogranulomatose vénérienne. La prise en charge des patients peut être basée sur l'examen clinique et la mise en oeuvre d'algorithmes

thérapeutiques. Les principales procédures à mettre en oeuvre pour le diagnostic étiologique certain d'une ulcération génitale sont:

- L'examen en microscopie à fond noir;
- Coloration de Wright ou de Leishman pour *Calymatobacterium granulomatis*;
- Mise en culture pour *Haemophilus ducreyi*;
- Mise en culture ou test immunoenzymatique direct pour le virus Herpes simplex;
- Sérologie pour la syphilis et la lymphogranulomatose vénérienne.

LES EXAMENS DE LABORATOIRE GONOCOCCIE

La gonococcie provoque un écoulement urétral purulent. Cependant, les signes cliniques et les symptômes de la maladie peuvent être absents ou difficile à distinguer de ceux d'une infection à chlamydiae. Par conséquent, il faut disposer de tests si l'on veut porter un diagnostic, détecter les cas et évaluer le traitement. L'examen direct au microscope de l'étalement sur lame d'un échantillon d'écoulement urétral chez l'homme et la mise en culture de tout autre type de prélèvement constituent des méthodes diagnostiques fiables.

Microscopie directe (chez l'homme)

La coloration simple d'un échantillon par le bleu de méthylène ou le safranin peut être un moyen rapide et fiable de diagnostiquer une gonococcie chez l'homme. Cependant, la coloration de Gram, qui donne des résultats plus spécifiques lorsqu'il s'agit d'échantillons contenant une flore bactérienne mixte, demeure la méthode de référence.

Techniques de détection de la gonococcie autres que la mise en culture

On a comparé diverses méthodes de détection de l'oxydase, l'endotoxine, l'antigène ou l'ADN gonococcique qui ne comportent pas de mise en culture à une technique standard de mise en culture. Toutes ces procédures se sont avérées plus coûteuses et moins efficaces qu'une technique de mise en culture pour les prélèvements extragénitaux et pour les échantillons qui ne

contiennent qu'un faible nombre de pathogènes (à l'exception du test d'amplification de l'ADN).⁹⁻¹³

Plusieurs techniques reposant sur la recherche d'anticorps ont été utilisées pour détecter les anticorps anti-gonococciques dans le sérum des patients. Aucune méthode actuellement disponible n'est utile pour le diagnostic car elles ne permettent pas de distinguer entre les traces immunologiques d'une infection en cours et celles d'une infection ancienne.

Mise en culture

Le fait de retrouver des diplocoques Gram-négatifs oxydase-positifs en amas semblables à ceux des gonocoques dans un échantillon mis en culture permet une identification suffisante et fiable de *N. gonorrhoeae* dans les prélèvements génitaux en pratique quotidienne. On recommande d'approfondir les méthodes d'identification lorsqu'il s'agit de prélèvements extragénitaux ou à des fins de recherche.⁹ On a souvent recours aux tests de dégradation des hydrates de carbone (glucose, maltose, lactose et sucrose), parfois en association avec les tests enzymatiques.¹⁴⁻¹⁷ Un test de confirmation immunoenzymatique utilisant des anticorps monoclonaux constitue une alternative très fiable mais plus coûteuse.^{16,18}

ÉVALUATION IN VITRO DE LA SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES

La conduite du traitement antigonococcique chez un patient donné ne requiert pas l'évaluation de la sensibilité du pathogène aux antimicrobiens car les recommandations thérapeutiques actuelles formulées par l'OMS suffisent pour traiter efficacement les infections gonococciques résistantes à la pénicilline, à l'ampicilline et aux tétracyclines. L'évaluation de la sensibilité microbienne peut être utile dans les cas suivants:

- Dans les laboratoires de référence, au cours d'études épidémiologiques, afin de fournir une information sur la sensibilité et surveiller les tendances de la résistance aux antibiotiques;
- Dans les laboratoires anti-MST qui effectuent un grand nombre d'examen afin de permettre de surveiller l'efficacité des traitements recommandés;
- Lorsque l'on étudie de nouveaux antimicrobiens;
- Lorsqu'il s'agit d'apporter des renseignements aux cliniciens en cas d'échec thérapeutique.

Il est important de se rappeler que l'échec du traitement peut être dû à la résistance du gonocoque aux médicaments actuellement recommandés, mais qu'il est plus souvent dû à une mauvaise observance du traitement, une récurrence infectieuse ou une infection associée à *Chlamydia trachomatis*. Si on effectue une évaluation *in vitro* de la sensibilité aux antibiotiques en l'absence de standardisation rigoureuse, celle-ci peut donner des résultats non fiables.

Recherche *in vitro* des résistances microbiennes à médiation plasmidique

***N. gonorrhoeae* productrices de pénicillinase (NGPP):** de nombreuses souches de *N. gonorrhoeae* sont résistantes à la pénicilline et à l'ampicilline car elles produisent une enzyme, la β -lactamase, qui entraîne une hydrolyse de ces médicaments. Il existe plusieurs méthodes de détection rapide des β -lactamases; dont: la méthode acidométrique, qui utilise un indicateur de pH pour détecter une acidité accrue due à l'hydrolyse de l'anneau β -lactame de la pénicilline; la méthode iodométrique qui détecte un changement de couleur due à la réduction de l'iode par l'acide pénicilloïque; et la méthode chromogène qui détecte le changement de couleur d'une céphalosporine chromogène après hydrolyse de l'anneau β -lactame.¹⁹⁻²¹

***N. gonorrhoeae* résistantes à la tétracycline (NGRT):** des souches de *N. gonorrhoeae* porteuses d'une résistance plasmidique de haut niveau à la tétracycline sont devenues endémiques dans diverses régions du monde. On peut identifier une NGRT en testant sa capacité à se multiplier sur un milieu de culture contenant 10 mg de tétracycline par litre. La concentration minimale inhibitrice de la tétracycline est ≥ 16 mg/l.²²

Infection à *Chlamydia trachomatis*

Chlamydia trachomatis est responsable d'un grand nombre de cas d'urétrite et de cervico-vaginite. Les symptômes et les signes cliniques d'infection chlamydienne peuvent être extrêmement discrets voire totalement absents, ce qui rend le diagnostic et le traitement précoce moins probable que dans le cas des autres MST. L'urétrite à chlamydia non traitée chez l'homme peut évoluer vers l'épididymite. Chez la femme, l'infection touche le plus souvent le col et elle s'étend souvent vers

l'urètre. *Chlamydia trachomatis* peut également envahir l'endomètre et les trompes de Fallope, entraînant une endométrite ou une salpingite. La chlamydie s'associe souvent à une infection gonococcique.

Avec l'arrivée de nouvelles technologies, le test de référence pour le diagnostic de l'infection à *C. trachomatis* est soit la culture cellulaire soit l'amplification d'ADN confirmée par un autre test effectué à l'aide d'une technique différente, telle que la recherche d'anticorps par immunofluorescence directe (IFD), ou par la même technique d'amplification d'ADN dirigée vers une autre cible, telle que le gène de la MOMP (*Major Outer Membrane Protein*). Cependant, la mise en culture de ce germe est une technique coûteuse en ressources financières et en main-d'oeuvre, lente, techniquement difficile et elle dépasse les possibilités de la plupart des laboratoires. Faite par une personne compétente, la spécificité de la mise en culture est de 100 pour cent. Les difficultés techniques pouvant interférer avec la fiabilité de la culture dans un laboratoire et sans aucun doute d'un laboratoire à un autre, on estime que sa sensibilité ne dépasse pas 70 à 80 pour cent.²³ La mise en culture de cellules du col à la recherche de *C. trachomatis* a une sensibilité de 65 pour cent par rapport à la technique LCR appliquée à un échantillon d'urine.²⁴

Des techniques différentes qui ne comportent pas de mise en culture (immunofluorescence, dosage immunoenzymatique, hybridation d'ADN) ont été développées au cours des années 1980. Ces méthodes, plus faciles à mettre en oeuvre et moins coûteuses que la mise en culture, sont désormais largement utilisées. De nombreuses publications scientifiques comparent les méthodes ne comportant pas de mise en culture avec la culture cellulaire. Cependant, il est extrêmement difficile d'évaluer leur véritable sensibilité et spécificité étant donné que la technique de référence qu'est la mise en culture ne remplit pas les critères d'un «gold standard».

Microscopie directe (chez l'homme)

L'examen direct d'un échantillon d'écoulement urétral par étalement sur lame avec coloration de Gram mettant en évidence des polynucléaires polymorphes

en l'absence de diplocoque Gram-négatif a une valeur prédictive positive élevée pour l'infection par *Chlamydia trachomatis* chez un patient présentant un écoulement urétral d'apparition brutale et n'ayant pas reçu d'antibiothérapie.

Culture cellulaire

De nombreuses lignées cellulaires offrent un bon support pour la mise en culture de *Chlamydia trachomatis*. Cependant, la méthode de choix dans la plupart des laboratoires est de mettre en culture des échantillons centrifugés sur des cellules monocouches McCoy synchronisées par le cycloheximide, d'incuber le mélange à 36°C pendant deux à trois jours suivie d'une révélation par immunofluorescence.^{26,37} Une phase de «blind passage» accroît la sensibilité de la méthode de culture cellulaire, mais elle peut cependant retarder le diagnostic de manière inacceptable.^{28,29}

Test d'immunofluorescence directe

Les anticorps monoclonaux marqués à la fluorescéine dirigés contre l'épitope spécifique à l'espèce des principales protéines membranaires permet de détecter les corps élémentaires de *Chlamydia trachomatis* dans les échantillons prélevés.³⁰ Cette méthode est rapide et simple à mettre en oeuvre, mais elle est laborieuse et sa lecture est difficile. Par conséquent, elle n'est pas recommandée lorsque l'on doit traiter un grand nombre d'échantillons. La lecture des résultats au microscope est un processus subjectif, et la fiabilité du test dépend de l'expérience de la personne qui le réalise.^{31,32} Les auteurs n'utilisent pas toujours la même valeur-seuil ou le nombre de corps élémentaires nécessaires pour qu'un spécimen soit considéré comme positif, ce qui influence la sensibilité de la méthode.³³⁻³⁵ De manière générale, l'IFD semble avoir une précision acceptable pour permettre un diagnostic chez les patients symptomatiques et pour le recherche de cas dans les populations à forte prévalence. Cependant, sa sensibilité n'est pas suffisante pour détecter le faible nombre de micro-organismes souvent présents chez les sujets asymptomatiques, notamment dans les populations à faible prévalence.^{36,37}

Dosage immunoenzymatique

Les méthodes immunoenzymatiques sont mieux adaptées que l'immunofluorescence directe lorsqu'il s'agit de traiter un grand nombre de spécimens à la fois. Cette méthode est également plus objective que l'IFD car ses résultats sont lus à l'aide d'un photomètre. La sensibilité et la spécificité globales des méthodes immunoenzymatiques et d'immunofluorescence sont comparables.³⁷ La plupart des tests immunoenzymatiques actuellement disponibles comprennent également un test de confirmation (neutralisation ou blocage) effectué sur un échantillon positif. Au cours du deuxième test immunoenzymatique, la présence ou l'absence d'antigène chlamydien dans un échantillon qui était initialement positif lors du premier test peut être confirmée par l'inhibition sélective de l'antigène par une immunoglobuline *Chlamydia*-spécifique.^{38,39}

Les nouveaux tests immunoenzymatiques membranaires sont faciles à utiliser. Ils permettent un diagnostic rapide de l'infection chlamydienne dans les conditions qui sont celles de l'exercice sur le terrain.⁴⁰ Ces méthodes ont une sensibilité moindre et sont par conséquent moins précises que les tests immunoenzymatiques classiques.

Sondes à ADN, PCR et LCR

Les méthodes d'hybridation de l'ADN ont récemment été appliquées au diagnostic de l'infection chlamydienne.⁴¹ Les tests disponibles dans le commerce sont faciles à mettre en oeuvre et il a été montré qu'ils sont très spécifiques. Par contre, leur sensibilité semble être comparable à celle de l'immunofluorescence directe et de la plupart des tests immunoenzymatiques. L'amplification des séquences d'ADN par les méthodes de PCR ou de LCR offre une sensibilité très élevée. Cependant, le coût élevé des techniques PCR et LCR, l'équipement spécialisé qui doit être mis en place au niveau du laboratoire et la facilité avec laquelle une contamination par d'autres sondes d'ADN peut survenir limitent actuellement l'application de cette méthode pour le diagnostic de routine.

Échantillons d'urine

L'obtention d'échantillons urétraux chez l'homme par un écouvillonnage urétral est une méthode invasive qui provoque un certain degré d'inconfort. Le recueil du premier jet des urines est une procédure non invasive

qui est donc mieux acceptée. Plusieurs études ont montré que les méthodes ne comprenant pas de mise en culture (immunofluorescence directe ou test immunoenzymatique) avaient une sensibilité comparable lorsqu'on les appliquaient à des échantillons prélevés par écouvillonnage urétral ou par recueil du premier jet d'urine.^{42,43} D'autres études ont montré que la mise en culture de centrifugats d'urine était moins sensible par rapport à l'écouvillonnage urétral.^{44,45} L'intérêt du recueil des urines chez la femme suivie d'une mise en culture par rapport à un écouvillonnage cervical a fait l'objet de controverses.^{23,46,47} Les résultats obtenus par technique d'amplification d'ADN sur des échantillons d'urine chez l'homme et chez la femme et sur des prélèvements effectués en milieu médical (PCR et LCR) semblent très prometteurs.²⁴

Tests sérologiques

On a utilisé diverses méthodes sérologiques (fixation du complément, microimmunofluorescence, dosage immunoenzymatique) pour étudier les infections chlamydiennes dans des conditions particulières. Cependant, leur intérêt diagnostique demeure limité. Comme c'est le cas pour la confirmation sérologique d'autres infections, on peut avoir la preuve sérologique d'une infection chlamydienne en observant une augmentation des anticorps par un facteur de quatre ou plus à au moins deux semaines d'intervalle. Le recours à un seul taux élevé d'anticorps pour le diagnostic d'urétrite ou de cervicovaginite chlamydienne ne constitue pas une méthode fiable. Un tel cas de figure fait évoquer le diagnostic de lymphogranulomatose vénérienne, d'arthrite réactionnelle, d'épididymite et de syndrome inflammatoire pelvien (SIP).^{23,32}

En général, les infections lymphogranulomateuses actives ont des taux de fixation du complément (FC) de 1:64 voire plus. Cependant, on peut observer des taux de FC élevés chez des personnes asymptomatiques et chez ceux souffrant d'une infection chlamydienne en l'absence de lymphogranulomatose. La microimmunofluorescence est plus sensible que la fixation du complément car il lui est possible de déterminer le type antigénique de la souche chlamydienne qui est en cause. La microimmunofluorescence n'est cependant pas disponible en routine et elle n'est utilisée que dans quelques laboratoires spécialisés.

LA SYPHILIS

La syphilis est contractée par contact sexuel avec une personne infectée présentant une ulcération ouverte. La transmission de *Treponema pallidum* nécessite l'exposition de muqueuses ou de peau lésée à des lésions infectantes.

On ne connaît aucune différence structurelle ou métabolique qui permette de différencier les spirochètes responsables de la syphilis vénérienne (*Treponema pallidum*), la syphilis endémique (*Treponema endemicum*), le pian (*Treponema pertenue*) et la pinta (*Treponema carateum*). Par conséquent, il est impossible de distinguer entre ces micro-organismes à l'aide d'examen de laboratoire. Cette distinction ne peut se faire qu'à l'aide de signes cliniques et d'études épidémiologiques, y compris des enquêtes pour documenter le mode de transmission.

La syphilis est une infection chronique qui s'accompagne de signes cliniques divers survenant à des phases évolutives distinctes. Chacune de ces phases requiert une approche diagnostique différente. Le tréponème peut être identifié au cours des phases primaire et secondaire. Dans la phase primaire, les tréponèmes peuvent être retrouvés à l'examen microscopique dans les lésions cutanées ou des muqueuses au niveau du point d'entrée (chancre primaire). Au cours de la phase secondaire, ils peuvent également être détectés dans les lésions papulaires ou dans les condylomes plats.

Les tests sérologiques sont négatifs au cours de la phase primaire précoce. Les anticorps apparaissent une à quatre semaines après qu'une lésion soit apparue. Tous les tests sérologiques sont positifs au cours de la phase secondaire, et la quasi totalité des patients ont des taux élevés d'anticorps (>1:8) aux tests non-tréponémiques. Les tests sérologiques demeurent positifs au cours de la phase de latence et de la phase tertiaire. Cependant, environ 20 pour cent des patients en phase latente tardive et 30 pour cent des patients en phase tertiaire peuvent demeurer aréactifs aux tests non-tréponémiques.

La syphilis congénitale est due au passage transplacentaire de *Treponema pallidum* d'une femme enceinte à son fœtus (voir Chapitre 9). Le diagnostic de la syphilis congénitale se base sur:

- La mise en évidence de *Treponema pallidum* au microscope dans les sécrétions nasales ou les lésions cutanées chez l'enfant, lorsqu'elles existent;

- La détection d'anticorps IgM spécifiques dans le sérum;
- La mise en évidence d'une apparition ou d'une montée des taux d'anticorps aux tests non-tréponémiques successifs au cours des huit premiers mois de la vie.

Examen microscopique direct

La microscopie sur fond noir est la seule méthode qui permette de faire un diagnostic immédiat de la syphilis à la phase primaire ou secondaire. Cependant, la fiabilité des résultats exige que cet examen soit réalisé dans des conditions techniques appropriées qui ne sont réunies que dans des laboratoires spécialisés, y compris de disposer d'équipes bien formées à cette tâche, et du temps et de l'équipement nécessaires.

Le test en immunofluorescence directe (IFD) peut constituer une alternative plus pratique que l'examen en microscopie sur fond noir car les échantillons sont fixés sur une lame à l'aide de méthanol ou d'acétone. Les examens de laboratoire peuvent donc être réalisés après le transport des prélèvements. L'immunofluorescence directe élimine également le risque de confondre avec d'autres spirochètes. Sa sensibilité et sa spécificité sont donc supérieures à celle de l'examen microscopique sur fond noir.⁴⁸ L'incapacité à observer le micro-organisme, cependant, n'exclut en rien le diagnostic de syphilis. Un résultat négatif peut signifier:

- Qu'un nombre insuffisant de tréponèmes étaient présents dans la lésion;
- Que le patient a récemment été traité ou traité de manière incomplète;
- Que la lésion était en voie de guérison naturelle;
- Que la lésion n'était pas de nature syphilitique.

Tests non-tréponémiques

Toutes les méthodes non-tréponémiques actuellement utilisées dans le diagnostic de la syphilis sont des tests de floculation qui utilisent le cardiolipide, la lécithine et le cholestérol comme antigène. Le test *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL) a été le premier de la série des tests de floculation⁴⁹ et la composition antigénique de base de tous les tests plus récents est la même que celle

du VDRL. L'antigène utilisé dans le VDRL n'est pas stabilisé. Par conséquent, il faut préparer une nouvelle solution chaque jour. Le VDRL doit être effectué sur un sérum chauffé à 56°C avant d'être testé, et les résultats doivent être lus à l'aide d'un microscope sous un grossissement de 100x. Ce test microscopique, le VDRL, est le seul test adapté à l'examen du liquide céphalo-rachidien. Une autre méthode microscopique, le test *Unheated Serum Reagin* (USR) peut être effectué à l'aide d'un antigène stabilisé ou un sérum non-chauffé.⁵⁰

La réaction des autres tests de floculation est visible à l'oeil nu. Le plus répandu de ces tests est le *Rapid Plasma Reagin* (RPR) test qui utilise des cartes plastifiées à la place de lames de verre et un antigène stabilisé auquel on a ajouté des particules de charbon. L'antigène n'est pas fixé sur ces particules. En fait, il est piégé dans le filet tissé par les complexes anticorps-antigène formés dans les échantillons positifs, ce qui rend la réaction visible à l'oeil nu. Ce test peut être fait sur du sérum ou du plasma non chauffé.⁵¹ Les versions modifiées du RPR sont, entre autres, le *Reagin Screen Test* (RST) qui utilise une teinture noire liposoluble à la place du charbon,⁵² l'antigène VDRL charbon, qui est comparable au RPR test, et le *Toluidine Red Unheated Serum Test* (TRUST) qui utilise le rouge de toluidine au lieu du charbon pour rendre la réaction visible.⁵³

Tests tréponémiques

Les tests tréponémiques spécifiques détectent les anticorps dirigés contre les composantes cellulaires tréponémiques. Les trois tests différents sont: l'immunofluorescence indirecte, l'hémagglutination, et l'*Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Le *Fluorescent Treponemal Antibody-Absorption* (FTA-Abs) test est le plus sensible de tous les tests utilisés dans la syphilis, mais il est techniquement le plus difficile à réaliser. La lecture standardisée, la dilution appropriée et la bonne qualité du conjugué, et l'utilisation de lames d'antigène de bonne qualité sont tous des éléments indispensables à la fiabilité du test.⁵⁴ Le dosage en microhémagglutination des anticorps dirigés contre *Treponema pallidum* (MHA-TP), le *Treponema pallidum Hemagglutination Assay* (TPHA) ou le *Hemagglutination Treponemal Test for Syphilis* (HATTS) sont plus facile à

Tableau 3

SENSIBILITÉ ET SPÉCIFICITÉ DES TESTS SÉROLOGIQUES POUR LA SYPHILIS

Test	Sensibilité (%) selon la phase de l'infection syphilitique				Spécificité (%)
	Primaire	Secondaire	Latente*	Tardive*	
VDRL	80 (74-87)	100	80 (71-100)	71 (37-94)	98
RPR	86 (81-100)	100	80 (53-100)	73 (36-96)	98
FTA-Abs	98 (93-100)	100	100	96	99
MHA-TP	82 (69-90)	100	100	94	99

* résultats accessibles à tous et rapportés dans la littérature

réaliser que le FTA-Abs, ont moins de variables, et sont plus adaptés à la réalisation d'examen en série lorsqu'il faut réaliser un grand nombre de tests.^{55,56} Les tests *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) sont conçus pour être effectués sur des prélèvements groupés et sont adaptés à l'automatisation des sérologies.^{57,58} Les différents tests tréponémiques ont tous une sensibilité et une spécificité comparables, à l'exception de la phase primaire de la syphilis au cours de laquelle le FTA-Abs est plus sensible que les autres.

Utilisation appropriée des tests sérologiques

Le Tableau 3 présente la sensibilité et la spécificité des tests tréponémiques et non-tréponémiques dans la syphilis en fonction des différentes phases de la maladie. Un test non-tréponémique réactif peut indiquer une infection en cours, une infection récente traitée ou une infection récente non traitée, ou enfin un résultat faussement positif. Les faux positifs surviennent dans un à trois pour cent des cas dans la population générale. L'immense majorité des sérums faussement positifs montrent des taux d'anticorps $\leq 1:4$. Cependant, des taux plus faibles ne peuvent permettre d'exclure une syphilis et sont souvent retrouvés aux cours des phases primaire précoce, latente tardive et tertiaire. La mesure des taux sériques à l'aide de méthodes non-tréponémiques quantitatives peut aider à obtenir une interprétation plus fiable des résultats et de surveiller les patients après qu'ils aient été traités. Si l'on veut exclure un résultat faux-positif, il faut effectuer un test tréponémique spécifique.

Un test tréponémique réactif peut indiquer une infection primaire ou précoce, une infection récente traitée ou non, ou enfin une infection dans le passé. Une fois infectées par des tréponèmes pathogènes, la plupart des personnes demeurent positives pour les tests tréponémiques pendant des années—parfois leur vie durant—tandis que les tests non-tréponémiques redeviennent négatifs au terme d'un traitement bien conduit.

En ce qui concerne les réactions douteuses (réactions discordantes non-tréponémiques-positives et tréponémiques-négatives) ou en cas de discordance avec l'impression clinique, ces tests doivent être répétés sur un nouveau prélèvement sanguin. Si la discordance persiste, on peut effectuer un autre type de test tréponémique afin de trancher définitivement. En cas de syphilis en phase d'incubation, tous les tests recherchant les anticorps sont négatifs. Au cours de la phase précoce de la syphilis primaire, on peut obtenir des résultats discordants (non-tréponémique-positif et microhématagglutination-négatif, non-tréponémique-négatif et microhématagglutination-positif, ou non-tréponémique-négatif microhématagglutination-négatif). Si l'on souhaite faire le diagnostic ou exclure la syphilis, ces tests doivent être répétés au bout de deux ou trois semaines sur un nouveau prélèvement sanguin. Dans de tels cas, il peut être utile d'effectuer un FTA-Abs, puisque c'est le test le plus sensible en cas de syphilis primaire. Enfin, lorsqu'un traitement adapté a été initié au cours de la phase précoce de la syphilis primaire, les patients peuvent demeurer anticorps-négatifs.

La séroréversion des tests non-tréponémiques qui deviennent négatifs chez les patients convenablement traités survient habituellement au bout de six mois à quelques années et elle est associée à la durée de l'infection, à l'existence d'une infection antérieure et au taux des anticorps sériques au moment du début du traitement. On peut également observer une séroréversion des tests tréponémiques au bout de quelques années chez une minorité de patients. Ce phénomène n'est pas encore complètement élucidé.

Lorsqu'on souhaite diagnostiquer ou identifier des cas de syphilis, il faut dépister les patients à l'aide d'un test non-tréponémique. Le test le plus couramment utilisé à ce jour est le test RPR 18-mm circulaire sur carte avec rotation mécanique. Dans les laboratoires ne disposant pas du matériel nécessaire ou ayant un petit nombre d'échantillons à traiter, il est possible de tourner les cartes à la main. La sensibilité d'un RPR «tourné à la main» est seulement un peu plus faible que celle d'un RPR test avec rotation mécanique. Par conséquent certains prélèvements ayant un taux d'anticorps $\leq 1:2$ peuvent apparaître négatifs au test avec rotation manuelle. On a recours aux tests spécifiques des anticorps tréponémiques afin de confirmer les résultats positifs aux tests non-tréponémiques et dans le cadre des études épidémiologiques. Le plus approprié de ces tests pour la pratique quotidienne est le TPHA.

Les sérums non-dilués comportant des taux d'anticorps élevés apparaissent parfois négatifs aux tests non-tréponémiques en raison du taux excessif d'anticorps. Ce phénomène, connu sous le nom d'effet de zone, est parfois retrouvé chez les patients qui présentent une syphilis secondaire. Par conséquent, les échantillons non-dilués aréactifs provenant de patients symptomatiques doivent être dilués au 1:16 ou au 1:256 et testés de nouveau à l'aide d'une méthode quantitative.

Mise en évidence d'IgM tréponémique dans le sérum

La synthèse d'anticorps IgM spécifiques est la première réponse immunitaire à médiation humorale après le début de l'infection par la syphilis comme c'est le cas pour les autres infections virales ou bactériennes. Dans

la syphilis, les anticorps IgM tréponémiques sont présents non seulement chez les patients qui présentent une syphilis primaire en phase précoce, mais on peut également les retrouver au cours de la période de syphilis latente et chez les patients en phase de syphilis avancée. Les IgM diminuent plus lentement après guérison spontanée de l'infection qu'après traitement efficace.

La détection des anticorps IgM est également très utile lorsqu'il s'agit de faire le diagnostic de syphilis congénitale. La présence d'anticorps IgM dans le sang des nouveau-nés témoigne de l'infection syphilitique prénatale chez l'enfant. Cependant, chez la plupart des enfants, les anticorps IgM n'apparaissent que quelques semaines ou quelques mois après la naissance. La montée des IgM dans le liquide céphalo-rachidien des patients ayant une barrière hémoméningée intacte (c'est à dire, ceux qui ont un rapport albumine sérique/albumine LCR normal) indiquent une neurosyphilis active. En effet, le poids moléculaire des IgM les empêche de traverser la barrière hémato-placentaire ainsi que la barrière hémoméningée si celles-ci sont intactes.

La sensibilité des méthodes tréponémiques permettant de détecter des IgM n'est pas optimale. Cependant, de tels résultats peuvent contribuer à une interprétation plus fiable de la syphilis congénitale, de la syphilis primaire, de la syphilis tardive et de réinfection chez les patients ayant des antécédents d'infection par la syphilis ou par une autre tréponématose. La disparition des IgM peut constituer une méthode utile d'évaluation du traitement chez des patients en phase précoce avant que la séroconversion aux tests non-tréponémiques ne survienne.

L'HERPÈS GÉNITAL

Le virus Herpes simplex (HSV) appartient au groupe des alpha herpesviridae qui provoquent une infection latente et entraînent une infection persistante. L'herpès génital est provoqué par HSV-2 dans environ 85 pour cent des cas. Les 15 pour cent restant sont causés par HSV-1. L'infection primaire par HSV peut être asymptomatique ou caractérisée par la survenue de lésions ulcérales ou vésiculaires étendues associées à des adénopathies inguinales, à une dysurie et à une fièvre. Les

épisodes récurrents d'herpès génital sont habituellement plus bénins (sauf chez l'hôte immunodéprimé) sont presque toujours causés par HSV-2. L'herpès génital est diagnostiqué essentiellement sur la constatation d'éléments cliniques. Il n'est le plus souvent pas indispensable d'avoir recours à des examens complémentaires.

L'herpès néonatal est la conséquence la plus grave de l'infection herpétique génitale. Le virus est transmis de la mère infectée à l'enfant lors de son passage dans la filière génitale. Il faut donc disposer d'examens complémentaires rapides et fiables permettant de détecter une infection par HSV chez des femmes enceintes asymptomatiques peu de temps avant l'accouchement, et de surveiller les nouveau-nés exposés au HSV à la naissance.

La culture virale

L'isolement du HSV dans des cultures cellulaires en laboratoire demeure la méthode diagnostique de référence. Les cultures effectuées sur des lésions vésiculaires récentes ont une sensibilité de plus de 90 pour cent. La mise en culture des lésions pustuleuses est positive dans 70 à 80 pour cent des cas, tandis que seulement 25 pour cent des lésions croûteuses donnent un résultat positif après mise en culture. Les cultures des lésions d'infection primaire produisent une quantité significativement plus élevée de virus par rapport à celles des lésions récurrentes.⁵⁹⁻⁶¹

L'effet cytopathogène qui caractérise HSV peut être objectivé par le recensement des cellules éparpillées et qui sont visibles au bout de un à sept jours d'incubation, en fonction de la concentration de virus dans l'échantillon prélevé. D'autres virus peuvent également provoquer un effet cytopathogène comparable à celui d'HSV. Il est recommandé d'avoir recours à une méthode d'identification formelle d'HSV lorsque l'on constate un type inhabituel d'effet cytopathogène ou lorsque les échantillons proviennent de personnes asymptomatiques. L'identification et le typage du HSV peut également s'avérer utile à des fins épidémiologiques ou de recherche. Les isolats de virus peuvent être identifiés comme étant du HSV puis classés en HSV-1 ou HSV-2 à l'aide de tests de neutralisation, de méthodes immunologiques ou d'hybridation d'acides nucléiques.

Méthodes de détection directe

Les méthodes ne comprenant pas de mise en culture sont plus facilement utilisables pour le diagnostic de l'infection par HSV en pratique clinique quotidienne. En effet, les structures nécessaires pour la mise en culture cellulaire ne sont disponibles partout. Les méthodes de détection rapide de l'antigène HSV à l'aide de méthodes immunologiques sont actuellement les plus répandues. Les méthodes immunologiques sont, entre autres, l'immunofluorescence, l'immunoperoxydase et l'*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). La sensibilité de ces méthodes de détection d'antigène semble varier entre 70 et 95 pour cent.^{62,63}

L'approche la plus nouvelle dans le diagnostic rapide du HSV est l'hybridation d'ADN.⁶⁴ À terme, l'amplification des séquences d'ADN à l'aide d'une *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pourrait constituer une méthode extrêmement sensible de détection du HSV chez les femmes enceintes asymptomatiques.⁶⁵

On ne considère plus les coloration de Papanicolaou et de Tzanck comme des méthodes adaptées pour le diagnostic de l'herpès génital.⁵⁹ Bien que ces méthodes soient simples et peu coûteuses et qu'on peut les utiliser pour démontrer des modifications cytologiques, telles que la présence de cellules géantes ou de cellules présentant des inclusions nucléaires provenant de lésions ou de prélèvements cervicaux, elles ne sont pas spécifiques pour HSV et ont une sensibilité faible par rapport à la culture cellulaire.

La sérologie

Les tests sérologiques effectués à la recherche d'anticorps anti-HSV peuvent aider à diagnostiquer la cause d'une lésion primaire si l'on constate une augmentation par un facteur quatre ou plus du taux d'anticorps entre un examen effectué au cours de la phase aiguë et un deuxième, effectué dix à 14 jours plus tard au cours de la phase de convalescence. Chez les patients qui présentent une infection récurrente, une augmentation significative des anticorps survient dans moins de dix pour cent des cas.

Les méthodes de recherche d'anticorps anti-HSV sont, entre autres, la fixation du complément, l'immunofluorescence indirecte, la technique de neutralisation, l'agglutination sur latex, l'hémagglutination et le dosage immunoenzymatique. Toutes ces méthodes ont une bonne sensibilité pour la détection des anticorps IgG mais elles ne peuvent pas distinguer entre une infection HSV récente et une infection passée sur un seul prélèvement sanguin. Aucun des tests disponibles sur le marché ne peut effectivement différencier entre HSV-1 et HSV-2 en raison de l'importance des réactions croisées. Les principales cibles des anticorps sériques sont les glycoprotéines virales de surface, et la plupart des épitopes immunogènes sont présents à la fois chez HSV-1 et HSV-2.

On a récemment décrit plusieurs nouvelles protéines spécifiques de HSV-1 et HSV-2, y compris la glycoprotéine gG de HSV-1, qui diffère significativement de la protéine gG de HSV-2. Des tests ELISA en phase solide utilisant des glycoprotéines gG purifiées et qui détectent de manière spécifique les anticorps anti-HSV-2 ont été mis sur le marché. On peut avoir recours à ces tests pour déterminer les taux d'anticorps IgG présents chez les patients exposés au HSV-2, y compris les personnes ayant été infectés par HSV-1 ou d'autres herpesviridae dans le passé.⁶⁶

LE CHANCRE MOU

Le chancre mou est provoqué par *Haemophilus ducreyi*. Cette maladie est transmise sexuellement lors de l'invasion directe de l'organisme par une porte d'entrée telle que la peau ou les muqueuses saines ou lésées. La maladie débute par une papule douloureuse à l'endroit de l'infection, évoluant vers une ou plusieurs ulcérations. Des adénopathies inguinales peuvent être présentes chez près de 50 pour cent des patients. On peut voir des ulcérations génitales étendues ou persistantes sans adénopathie inguinale chez des patients immunodéprimés lors d'une infection par le VIH. En raison de l'aspect atypique et de la surinfection de l'ulcération, le diagnostic clinique est exact dans 40 à 80 pour cent des cas.

Isolement et identification de H. ducreyi

À ce jour, le diagnostic du chancre mou dépend de la capacité à voir apparaître *H. ducreyi* en milieu de culture. Divers milieux de culture ont été utilisés pour isoler ce micro-organisme, avec plus ou moins de succès. On a montré que l'utilisation concomitante de milieux de culture pour gonocoque et Mueller Hinton pourrait accroître le taux d'isolement de *H. Ducreyi* dans les ulcérations qui peut alors atteindre 80 pour cent.

L'identification probable de *H. Ducreyi* peut être basée sur les caractéristiques des colonies, sur l'aspect de la coloration de Gram, sur la production de β -lactamases et sur la réaction à l'oxydase. Les colonies sont non-mucoïdes, surélevées, granulaires, de coloration gris-jaune et peuvent être déplacées sur la surface du milieu de culture à l'aide d'un anneau d'inoculation sans qu'elles se dilacèrent. Elles peuvent être soit translucides soit opaques, et cet aspect variable donne l'impression d'une culture mixte et impure. *H. ducreyi* est un organisme fastidieux dont l'activité biochimique est limitée. La présence d'hémine est nécessaire pour que la croissance s'amorce. La réduction de nitrates et la présence d'une phosphatase alcaline sont également deux caractéristiques importantes. *H. ducreyi* est oxydase-positif lorsqu'on la met en présence de tétraméthyle-p-phénylène-diamine, et près de 100 pour cent des isolats sont β -lactamase-positifs.

Méthodes de détection directe

L'examen direct des substances prélevées sur les ulcérations sur des étalement sur lame avec coloration de Gram peuvent aider au diagnostic de chancre mou si l'on retrouve des bacilles Gram-négatifs typiques, de petite taille, regroupés en chaînettes ou en «bancs de poisson». Cependant, on observe rarement ces aspects typiques sur des étalements de prélèvements provenant de patients dont la mise en culture a permis de faire le diagnostic de chancre mou. La sensibilité des colorations de Gram est donc bien inférieure à 50 pour cent.⁶⁷⁻⁶⁹ En outre, la plupart des ulcérations génitales étant infectées par une flore polymicrobienne en raison d'une contamination secondaire, la présence de bacilles Gram-négatifs peut être source d'erreur et de faux-positifs.^{69,70} Étant donné cette sensibilité et de cette spécificité faibles,

on ne recommande pas de faire une coloration de Gram après étalement sur lame pour faire le diagnostic de chancre mou.

Des méthodes de détection d'antigène et d'acides nucléiques de *H. ducreyi* ne comprenant pas de mise en culture ont été développées. Elles en sont encore cependant au stade de l'expérimentation. Les anticorps monoclonaux marqués à la fluorescéine ont été employés pour détecter la présence de *H. ducreyi* dans des échantillons prélevés en pratique clinique quotidienne. Il est possible de détecter des anticorps dirigés contre une protéine de 62 kiloDaltons et une autre de 29 kiloDaltons, respectivement, dans 50 pour cent et 74 pour cent des cas suspects de chancre mou.^{71,72} Ces résultats sont prometteurs, mais il faut encore évaluer ces méthodes et mener des dépistages étendus sur des prélèvements effectués en clinique avant de pouvoir se prononcer sur la fiabilité de ces méthodes. On a montré que les sondes ADN avaient une sensibilité de 100 pour cent et une spécificité de 100 pour cent pour l'identification des souches bactériennes isolées. Cependant, leur utilité dans le diagnostic direct du chancre mou reste à définir.⁷³⁻⁷⁴

La sérologie

L'intérêt des examens sérologiques pour le diagnostic de l'infection active de *H. ducreyi* est très limité, mais les sérologies ont démontré leur utilité lorsqu'il s'agit d'épidémiologie et de recherche.

L'élaboration de tests sérologiques fiables dépend de l'information détaillée dont on dispose sur la réponse immunitaire de l'hôte ainsi que de la présentation antigénique par l'organisme pathogène. Les données disponibles concernant ces mécanismes dans le chancre mou et *H. ducreyi* sont très limitées. L'expérience clinique et les études expérimentales d'inoculation chez l'homme suggèrent qu'il n'y a probablement pas d'immunité acquise vis-à-vis de *H. ducreyi*. Cependant, il faut poursuivre les travaux de recherche afin de déterminer sa composition antigénique, y compris les épitopes immunogènes spécifiques, ainsi que la cinétique de la réponse immunitaire à médiation humorale chez les personnes traitées ou non traitées présentant un épisode primaire ou récurrent de chancre mou.

Les anticorps IgG ou IgM sériques circulants dirigés contre *H. ducreyi* ont pu être détectés à l'aide de techniques de *dot immunobinding* et d'ELISA.⁷⁵ On a observé une variation qualitative et quantitative dans la réponse des anticorps chez les patients ayant des antécédents récents ou anciens de chancre mou. Cependant, les facteurs qui influencent les variations de ces réponses ne sont pas encore clairement élucidés.

L'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques

Au cours des deux dernières décennies, on a constaté une augmentation très significative des résistances chromosomiques et des résistances à médiation plasmidique de haut niveau parmi les souches isolées de *H. ducreyi*. Les schémas de résistance des souches isolées, cependant, peuvent varier de manière importante dans les régions à variation géographique élevée. On a constaté que les échecs thérapeutiques du traitement contre le chancre mou sont beaucoup plus fréquents chez les patients porteurs du VIH, mais on ignore encore si ces échecs du traitement sont associés de manière significative à l'infection par le VIH ou avec la résistance accrue aux antimicrobiens des souches de *H. ducreyi*.

Il n'existe à ce jour aucune procédure standardisée pour évaluer la sensibilité de *H. ducreyi*. La seule technique pratique et fiable est la méthode de dilution sur gel d'agarose qui permet de déterminer les concentrations minimales inhibitrices d'antibiotiques. Les milieux de culture les plus couramment utilisés sont le milieu de Mueller Hinton ou le milieu pour gonocoque enrichi avec de l'hémoglobine à un pour cent, du sérum de veau foetal à cinq pour cent et d'IsoVitaleX à un pour cent. L'évaluation de la sensibilité de *H. ducreyi* vis-à-vis des antimicrobiens est difficile. Cet examen n'est réalisable en pratique que dans des laboratoires de référence spécialisés.

LA DONOVANOSE

La donovanose est une infection chronique qui intéresse la peau, les membranes muqueuses et les glandes lymphatiques des zones génitales et périnéales. La maladie débute avec l'apparition d'un nodule sous-cutané à l'endroit de l'infection. Ce nodule érode la

peau jusqu'à former une ulcération granulomateuse et rouge. L'infection peut s'étendre aux ganglions lymphatiques. La maladie se transmet alors par voie sanguine et peut même s'accompagner de lésions cutanées à distance de la région génitale.

La donovanose est provoquée par *Calymatobacterium granulomatosis*, pathogène que l'on ne parvient pas encore à faire pousser en milieu de culture. Le diagnostic en laboratoire dépend de la capacité à observer des corps de Donovan sur des prélèvements de lésions étalés sur lame.

La microscopie directe

La sensibilité de la microscopie directe pour l'examen d'échantillons de tissus écrasés entre deux lames est de moins de 40 pour cent chez les patients porteurs de lésions cliniquement suspectes de donovanose. Les aspects histologiques observés dans les coupes d'une biopsie peuvent aider à distinguer entre la donovanose et d'autres maladies. Une ulcération accompagnée d'un infiltrat inflammatoire mixte de cellules plasmatiques, de polynucléaires neutrophiles et d'histiocytes avec une absence évidente de lymphocytes est fortement évocatrice de donovanose. La mise en évidence de micro-organismes intracellulaires caractéristiques (les corps de Donovan) par l'imprégnation à l'argent de Warthin Starry permet de faire le diagnostic.⁷⁶

La sérologie

On a pu mettre en évidence des anticorps dirigés contre *Calymatobacterium granulomatosis* à l'aide d'une méthode de fixation du complément dans le sérum de patients dont les lésions avaient persisté pendant plus de trois mois. Plus récemment, une technique d'immunofluorescence indirecte a été couronnée de succès. Les coupes biopsiques contenant des corps de Donovan sont mises en contact avec des sérums provenant de patients puis traités par des IgG anti-humaines conjuguées à de l'isothiocyanate de fluorescéine. En l'absence de méthode de culture fiable ou de méthode simple de détection ne comprenant pas une mise en culture, cet examen sérologique peut s'avérer très important pour le diagnostic de la donovanose.⁷⁷

LA CANDIDOSE

La vulvovaginite candidosique est causée par *Candida albicans* dans environ 85 pour cent des cas, les 15 pour cent restants étant dus à d'autres espèces, notamment *Candida glabrata*.⁷⁸ Parmi les signes cliniques et les symptômes classiques de candidose on retrouve une sensation de prurit vaginal, d'irritation vulvaire, de dysurie, une leucorrhée blanchâtre dite «caillebotée» (qui ressemble à du fromage blanc), non-malodorantes, et un érythème de la vulve et des lèvres. Cependant, les signes cliniques et les symptômes sont souvent moins spécifiques et les examens complémentaires sont alors essentiels pour faire le diagnostic.

La microscopie directe

Le champignon est facilement reconnaissable sur un étalement frais de sécrétions vaginales sur lame. Il s'agit de cellules rondes ou ovoïdes de 4 µm de diamètre présentant un bourgeonnement typique. L'adjonction de KOH à dix pour cent à la préparation peut faciliter la détection des levures, et notamment de reconnaître les filaments mycéliens (pseudohyphae). Les levures sont Gram-positives et sont faciles à mettre en évidence sur un étalement après coloration de Gram. Cependant, l'étalement frais sur lame possède une meilleure sensibilité.

La mise en culture

La mise en culture demeure la méthode la plus sensible actuellement disponible permettant de détecter la présence de *Candida*. Cependant, il faut souligner qu'une culture positive n'indique pas nécessairement que *Candida* est responsable de symptômes vaginaux, puisque ce germe est présent chez plus de 20 pour cent des femmes en bonne santé. La valeur diagnostique de l'examen en microscopie directe est bien supérieure. Peu de patientes présentant une candidose vaginale symptomatique sont négatives en microscopie. Par conséquent, la mise en culture peut n'être utile que si l'on suspecte cliniquement une candidose vaginale en l'absence de germe à l'examen microscopique direct.⁷⁹

Les colonies de levures apparaissent au bout de un ou deux jours d'incubation à 36°C. Elles ont un aspect opaque ou laiteux. Le seul aspect important de l'identification des isolats consiste à les différencier de colonies bactériennes. Aucune confirmation supplémentaire n'est nécessaire pour le diagnostic de candidose vaginale en routine.

LA TRICHOMONASE

On considère que la trichomonase se transmet essentiellement par voie sexuelle. Il est possible que les objets inertes (siège des toilettes...) puisse transmettre ce pathogène par voie non-sexuelle, mais cela n'a pas encore été documenté de manière fiable. *Trichomonas vaginalis* déclenche une réponse inflammatoire aiguë qui entraîne des pertes vaginales contenant un grand nombre de polynucléaires neutrophiles. Les symptômes typiquement associés à la trichomonase sont, entre autres, un prurit ou une irritation du vagin, et une leucorrhée mousseuse grise ou de couleur jaune-vert. Ces signes peuvent être accompagnés d'une odeur fétide et d'une dysurie.

Cette maladie sexuellement transmissible est provoquée par *Trichomonas vaginalis*, un protozoaire flagellé globulaire de forme de poire ou ovoïde. Bien que certains signes cliniques et symptômes soient de bons facteurs prédictifs d'une trichomonase, il faut pouvoir observer le parasite pour pouvoir établir le diagnostic.⁸⁰

La microscopie directe

Sur un étalement frais de sécrétions vaginales sur lame, on reconnaît aisément *Trichomonas vaginalis* par leurs mouvements rapides typiques. On retrouve généralement un grand nombre de polynucléaires neutrophiles. Cependant, un petit nombre de polynucléaires n'exclut pas l'infection.

Autres méthodes diagnostiques

La mise en culture de *Trichomonas vaginalis* est actuellement la méthode la plus sensible permettant de faire le diagnostic de trichomonase. Elle peut être indiquée lorsque l'on suspecte une infection vaginale alors que l'examen direct d'un étalement frais sur lame est négatif, lorsque l'on suspecte la maladie chez un homme ou à des fins de recherche. On a décrit l'utilisation de diverses méthodes de détection de *Trichomonas vaginalis*, y compris l'immunofluorescence, l'agglutination sur

latex, et l'*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*. Un test ELISA récemment développé semble avoir une sensibilité et une spécificité comparables à la mise en culture.⁸¹ Plusieurs méthodes de détection d'anticorps dirigé contre *Trichomonas vaginalis* dans le sérum et dans les sécrétions vaginales ont été évaluées mais aucune n'a véritablement permis d'améliorer les méthodes diagnostiques en matière de trichomonase.

LA VAGINOSE BACTÉRIENNE

La vaginose bactérienne est une entité clinique qui se caractérise par des sécrétions vaginales malodorantes en quantités faiblement augmentées. Elle s'associe à un développement excessif de *Gardnerella vaginalis*, de *Mycoplasma hominis*, de divers germes anaérobies tels que *Bacteroides* et *Mobiluncus* aux dépens de la flore bactérienne normale du vagin.

Méthodes diagnostiques

Le diagnostic de vaginose bactérienne se base sur la présence d'au moins trois ou quatre des caractéristiques suivantes:^{82,83}

Sécrétions épaisses homogènes de couleur

gris-blanc: L'interprétation de ce signe clinique est subjective. Les écoulements observés chez la femme souffrant de vaginose bactérienne ne sont souvent pas augmentés de manière nette par rapport aux femmes en bonne santé. La toilette intime peut diminuer les quantités de sécrétions observées.

Augmentation du pH: Le pH normal du vagin chez la femme adulte est environ de 4.0. En cas de vaginose bactérienne, ce pH est généralement augmenté à plus de 4,5. Le test pH vaginal possède la sensibilité la plus élevée mais la spécificité la plus faible des quatre examens. On observe également un pH élevé en cas de souillure des sécrétions vaginales par les règles, par des muco-sités cervicales ou du sperme et en cas d'infection par *Trichomonas vaginalis*.

LES BESOINS EN MÉTHODES DIAGNOSTIQUES

Odeur: Les femmes souffrant de vaginose bactérienne signalent souvent que leur vagin émet une odeur désagréable, due à la libération d'acides aminés produits par des bactéries anaérobies qui décarboxylent la lysine et la transforment en caverdine et l'arginine en putrescine. Si on ajoute une goutte de solution de KOH aux sécrétions vaginales, les acides aminés s'évaporent en produisant une odeur typique «de poisson».

Présence de clue cells: Les «clue cells» sont des cellules squameuses épithéliales recouvertes de nombreux coccobacilles. L'examen microscopique d'un étalement frais sur lame montre des cellules granulaires cloutées aux contours mal définis en raison du grand nombre des bactéries qui y adhèrent et la désintégration apparente de ces cellules. Les bactéries sont surtout de type *Gardnerella vaginalis*, parfois associées à des anaérobies.

Autre examens de laboratoire

Un étalement sur lame avec coloration de Gram a une meilleure spécificité pour la détection des clue cells par rapport à l'examen direct d'un prélèvement frais. En outre, une coloration de Gram permet d'évaluer de manière exacte la flore bactérienne vaginale. Les sécrétions vaginales normales contiennent essentiellement des lactobacilles et de très faibles pourcentages de streptocoques et de bactéries corynéformes. En cas de vaginose bactérienne, les lactobacilles sont remplacés par une flore mixte de morphotypes bactériens anaérobies et de *Gardnerella vaginalis*. En pratique, le diagnostic de vaginose bactérienne ne requiert pas l'identification de bactéries après mise en culture.

Les programmes de lutte contre les MST font face à de nombreuses difficultés en matière de diagnostic des MST. Nombre d'entre elles sont asymptomatiques, notamment chez la femme. Lorsqu'elles s'accompagnent de symptômes, elles sont souvent d'étiologie multiple. Bien qu'on puisse avoir recours à des associations thérapeutiques, le besoin urgent d'examens complémentaires simples et peu onéreux se fait sentir, notamment pour diagnostiquer l'infection par *Neisseria gonorrhoeae* et par *Chlamydia trachomatis* chez la femme. Il faut également disposer d'examens simples et peu coûteux pour pouvoir identifier les différentes causes d'ulcérations génitales. Des microscopes solides et de bonne qualité, des centrifugeuses, des rotateurs et autres équipements de laboratoires essentiels doivent être disponibles pour des sommes modiques.

Le test diagnostique idéal doit être:

- **Précis**—extrêmement sensible et spécifique;
- **Peu coûteux**—financièrement abordable pour les pays en voie de développement;
- **Simple**—nécessitant une formation minimale et peu ou pas d'équipement;
- **Rapide**—les résultats devraient être disponibles avant que le patient ne quitte le centre de consultation (20 minutes au maximum);
- **Commode**—les échantillons doivent être simples à recueillir et acceptables sur le plan socioculturel (tel qu'un recueil de salive, d'urine, qu'un écouvillonnage vaginal ou un prélèvement de sang capillaire et ne nécessitant aucune prise de sang ou d'examen vaginal au spéculum);
- **Stable**—utilisant des réactifs pouvant être entreposés pendant des périodes prolongées et ne nécessitant pas de conservation au frais (35°C et 80 pour cent d'humidité);
- **Fonctionnel**—sous un conditionnement simple accompagné d'instructions simples.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Handsfield HH, Lipman TO, Harnisch JP, Tronca E, Holmes KK. Asymptomatic gonorrhea in men: diagnosis, natural course, prevalence, and significance. *N Engl J Med* 1974;290:117-123.
2. Sadof MD, Woods ER, Emans SJ. Dipstick leukocyte esterase activity in first-catch urine specimens. *JAMA* 1987;258:1932-1934.
3. O'Brien SF, Bell TA, Farrow JA. Use of a leukocyte esterase dipstick to detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* urethritis in asymptomatic adolescent male detainees. *Am J Public Health* 1988;78:1583-1584.
4. Shafer M-A, Schachter J, Moscicki AB, et al. Urinary leukocyte esterase screening test for asymptomatic chlamydial and gonococcal infections in males. *JAMA* 1989;262:2562-2566.
5. Werner MJ, Biro FM. Urinary leukocyte esterase screening for asymptomatic sexually transmitted diseases in adolescent males. *J Adolesc Health* 1991;12: 326-328.
6. Mayaud P, Changalucka J, Grosskurth H, et al. The value of urine specimens in screening for male urethritis and its microbial aetiologies in Tanzania. *Genitourin Med* 1992;68:361-365.
7. McNagney SE, Parker RM, Zenilman JM, Lewis JS. Urinary leukocyte esterase test: a screening method for the detection of chlamydial and gonococcal infections in men. *J Infect Dis* 1992;165:573-576.
8. Goodhart ME, Ogden J, Zaidi AA, Krans ST. Factors affecting the performance of smear and culture tests for the detection of *Neisseria gonorrhoeae*. *Sex Transm Dis* 1982;9:63-69.
9. Knapp JS. Historical perspectives and identification of *Neisseria* and related species. *Clin Microbiol Rev* 1988;1:415-431.
10. Hook EW, Holmes KK. Gonococcal infections. *Ann Intern Med* 1985;102:229-243.
11. Granato PA, Franz MR. Evaluation of a prototype DNA probe test for the noncultural diagnosis of gonorrhea. *J Clin Microbiol* 1989;27:632-635.
12. Zubrzycki L. Non-culture tests for the diagnosis of gonorrhoea. *Adv Exp Med Biol* 1990;263:77-88.
13. Rein MF. Gonorrhoea. *Current Opinion in Infectious Diseases* 1991;4:12-21.
14. Kellog DS, Turner EM. Rapid fermentation confirmation of *Neisseria gonorrhoeae*. *Appl Microbiol* 1973;25:550-552.
15. Philip A, Garton GC. Comparative evaluation of five commercial systems for the rapid identification of pathogenic *Neisseria* species. *J Clin Microbiol* 1985;22:101-104.
16. Dillon JR, Carballo M, Pauzé M. Evaluation of eight methods for identification of pathogenic *Neisseria* species: *Neisseria*-Kwik, RIM-N, Gonobio-Test, Minithek, Gonocheck II, GonoGen, Phadebact Monoclonal GC OMNI Test, and Syva MicroTrak Test. *J Clin Microbiol* 1988;26:493-497.
17. D'Amato RF, Eriquez LA, Tomfohrde KM, Singerman E. Rapid identification of *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis* by using enzymatic profiles. *J Clin Microbiol* 1978;7:77-81.
18. Lawton WD, Battaglioli GJ. GonoGen coagglutination test for confirmation of *Neisseria gonorrhoeae*. *J Clin Microbiol* 1983;18:1264-1265.
19. Thornsberry C, Kirven LA. Ampicillin resistance in *Haemophilus influenzae* as determined by a rapid test for beta-lactamase production. *Antimicrob Agents Chemother* 1974;6:653-654.
20. Rosenblatt JE, Neumann AM. A rapid slide test for penicillinase. *Am J Clin Pathol* 1978;69:351-354.
21. O'Callaghan CH, Morris A, Kirby SM, Shinger AH. Novel method for detection of β -lactamase by using a chromogenic cephalosporin substrate. *Antimicrob Agents Chemother* 1972;1:283-288.
22. Morse SA, Johnson SR, Bridle JW, Roberts MC. High-level tetracycline resistance in *Neisseria gonorrhoeae* is result of acquisition of streptococcal tetM determinant. *Antimicrob Agents Chemother* 1986;30:664-670.
23. Taylor-Robinson D, Thomas BJ. Laboratory techniques for the diagnosis of chlamydial infections. *Genitourin Med* 1991;67:256-266.

24. Lee HH, Chernesky MA, Schachter J, et al. Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* genitourinary infection in women by ligase chain assay of urine. *Lancet* 1995;345:213-216.
25. Taylor-Robinson D. The value of non-culture techniques for diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections: making the best of a bad job. *Euro J Microbiol Inf Dis* 1992;11:499-503.
26. Ripa KT, Mardh PA. Cultivation of *Chlamydia trachomatis* in cycloheximide-treated McCoy cells. *J Clin Microbiol* 1977;6:328-331.
27. Stephens RS, Kwo CC, Tam MR. Sensitivity of immunofluorescence with monoclonal antibodies for detection of *Chlamydia trachomatis* in cell culture. *J Clin Microbiol* 1982;16:4-7.
28. Jones RB, Katz BP, van der Pol B, Caine VA, Batteiger BE, Newhall WJ. Effect of blind passage and multiple sampling on recovery of *Chlamydia trachomatis* from urogenital specimens. *J Clin Microbiol* 1986;24:1029-1033.
29. Schachter J, Martin DH. Failure of multiple passages to increase chlamydial recovery. *J Clin Microbiol* 1987;25:1851-1853.
30. Tam MR, Stamm WE, Handsfield HH, et al. Culture-independent diagnosis of *Chlamydia trachomatis* using monoclonal antibodies. *N Engl J Med* 1984;310:1146-1150.
31. Livengood CH, Schmitt JW, Addison WA, Wrenn JW, Magruder-Habib K. Direct fluorescent antibody testing for endocervical *Chlamydia trachomatis*: factors affecting accuracy. *Obstet Gynecol* 1988;72:803-809.
32. Barnes RC. Laboratory diagnosis of human chlamydial infections. *Clin Microbiol Rev* 1989;2:119-136.
33. Lipkin ES, Moncada JV, Shafer MA, Wilson TE, Schachter J. Comparison of monoclonal antibody staining and culture in diagnosing cervical chlamydial infection. *J Clin Microbiol* 1986;23:114-117.
34. Pothier P, Kazmierczak A. Comparison of cell culture with two different chlamydia tests using immunofluorescence or enzyme-linked immunosorbent assay. *European J Clin Microbiol* 1986;5:569-572.
35. Hipp SS, Yangsook H, Murphy D. Assessment of enzyme immunoassay and immunofluorescence test for detection of *Chlamydia trachomatis*. *J Clin Microbiol* 1987;25:1938-1943.
36. Ridgeway GL, Taylor-Robinson D. Current problems in microbiology: 1. Chlamydial infections: which laboratory test? *J Clin Pathol* 1991;44:1-5.
37. Plummer D, Garland S, Denham I. Testing for *Chlamydia trachomatis*: a double blind exercise? *Venereology* 1991;4:63-65.
38. Moncada J, Schachter J, Bolan G, et al. Confirmatory assay increases specificity of the Chlamydiazyme test for *Chlamydia trachomatis* infection of the cervix. *J Clin Microbiol* 1990;28:1770-1773.
39. Van Dyck E, Samb N, Dieng Sarr A, et al. Accuracy of two enzyme immunoassays and cell culture in the detection of *Chlamydia trachomatis* in low and high risk populations in Senegal. *Euro J Microbiol Inf Dis* 1992;11:527-534.
40. Patel JD, Joseph JM, Falker WA. Direct detection of *Chlamydia trachomatis* in clinical specimens by a dot-immunobinding technique using monoclonal antibody. *Journal of Immunologic Methods* 1988;108:279-287.
41. Palva A, Jansimies-Somer H, Saikku P, Väänänen P, Söderlund H, Ranki M. Detection of *Chlamydia trachomatis* by nucleic acid sandwich hybridization. *FEMS Microbiol Lett* 1984;23:83-89.
42. Paul ID, Coul EO. Evaluation of three *Chlamydia trachomatis* immunoassays with an unbiased, noninvasive clinical sample. *J Clin Microbiol* 1990;28:220-222.
43. Hay PE, Thomas BV, Gilchrist C, Palmer HM, Gibroy CB, Taylor-Robinson D. The value of urine samples from men with non-gonococcal urethritis for the detection of *Chlamydia trachomatis*. *Genitourin Med* 1991;67:124-128.
44. Schwebke JR, Clark AM, Pettinger MB, Nsubga P, Stamm WE. Use of an urine enzyme immunoassay as a diagnostic tool for *Chlamydia trachomatis* urethritis in men. *J Clin Microbiol* 1991;29:2246-2249.

45. Kok T-W, Payne LE, Bailey SE, Waddell RG. Urine and the laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* in males. *Genitourin Med* 1993;69:51-53.
46. Chernesky M, Sellors J, Mahony J, Jaug D, Pickard L, Krefel J. Diagnosis of *C. trachomatis* infections in women by examining cervical and urethral swabs and urine with culture and enzyme immunoassay. In: Bowie WR, et al., eds. *Chlamydial infections*. Cambridge: Cambridge University Press, 1990:483-486.
47. Sellors JW, Mahone JB, Jang D, et al. Comparison of cervical, urethral and urine specimens for the detection of *Chlamydia trachomatis* in women. *J Infect Dis* 1991;164:205-208.
48. Yobs AR, Brown L, Hunter EF. Fluorescent antibody technique in early syphilis. *Arch Pathol* 1964;77:220-225.
49. U.S. Public Health Service. Manual of tests for syphilis 1955. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1955: PHS publication no 411.
50. U.S. Public Health Service. Serology evaluation and research assembly 1956-1957. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1959: PHS publication no 650:92-93.
51. Portnoy J. Modifications of the rapid plasma reagin (RPR) card test for syphilis, for use in large scale testing. *Am J Clin Pathol* 1963;40:473-479.
52. March RW, Stiles GE. The reagin screen test: a new reagin card test for syphilis. *Sex Transm Dis* 1980;7:66-70.
53. Pettit DE, Larsen SA, Harbec PS, et al. Toluoiden red unheated serum test (TRUST). A non treponemal test for syphilis. *J Clin Microbiol* 1983;18:1141-1145.
54. Hunter EF, Deacon WE, Meyer PE. An improved test for syphilis—the absorption procedure (FTA-Abs). *Public Health Reports* 1964;17:410-412.
55. Cox PM, Logan LC, Norins LC. Automated, quantitative microhemagglutination assay for *Treponema pallidum* antibodies. *Appl Microbiol* 1969;18:485-489.
56. Wentworth BB, Thompson MA, Peter CR, Bawdon RE, Wilson DL. Comparison of a hemagglutination treponemal test for syphilis (HATTS) with other serologic methods for the diagnosis of syphilis. *Sex Transm Dis* 1978;5:103-111.
57. Stevens RW, Schmitt ME. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for treponemal antibody. *J Clin Microbiol* 1985;21:399-402.
58. Young H, Moyes A, McMillan A, Robertson DH. Screening for treponemal infection by a new enzyme immunoassay. *Genitourin Med* 1989;65:72-78.
59. Corey L, Spear PG. Infection with herpes simplex viruses. *N Engl J Med* 1986;314:686-691,749-757.
60. Corey L. Laboratory diagnosis of herpes simplex virus infections, principles guiding the development of rapid diagnostic tests. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1986;4:111S-119S.
61. Lafferty WE, Krofft S, Remington M, et al. Diagnosis of herpes simplex virus by direct immunofluorescence and viral isolation from samples of external genital lesions in a high-prevalence population. *J Clin Microbiol* 1987;25:323-326.
62. Schmidt MJ, Denis J, Devlin V, Gallo D, Mills J. Comparison of direct immunofluorescence and direct immunoperoxidase procedures for detection of herpes simplex virus antigen in lesion specimens. *J Clin Microbiol* 1983;18:445-448.
63. Nerurkar LS, Namba M, Braskears G, Jacob AJ, Lee YS, Sever JL. Rapid detection of herpes simplex virus in clinical specimens by use of a capture biotin-streptavidin enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1984;20:109-114.
64. Redfield DC, Richman DD, Albanil S, Oxmanil MN, Wahl GM. Detection of herpes simplex virus in clinical specimens by DNA hybridization. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1983;1:117-128.
65. Hardy DA, Arvin AM, Yasukawa LL, et al. Use of polymerase chain reaction for successful identification of asymptomatic genital infection with herpes simplex virus in pregnant women at delivery. *J Infect Dis* 1990;162:1031-1035.
66. Lee FK, Coleman RM, Pererira L, Bailey PD, Tatsuno M, Nahmias AJ. Detection of herpes simplex virus type 2-specific antibody with glycoprotein G. *J Clin Microbiol* 1985;22:641-644.

67. Choudhary BP, Kumari S, Bhati R, Agarwal DS. Bacteriological study of chancroid. *Ind J Med Res* 1982;76:379-385.
68. Coovadia YM, Kharsany A, Hoosen A. The microbial aetiology of genital ulcers in black men in Durban, South Africa. *Genitourin Med* 1985;61:266-269.
69. Sturm AW, Stolting GJ, Gormane RH, Zanen HC. Clinical and microbiological evaluation of 46 episodes of genital ulceration. *Genitourin Med* 1987;63:98-101.
70. Chapel TA, Brown WJ, Jeffris C, Stewart JA. The microbial flora of penile ulcerations. *J Infect Dis* 1979;137:50-56.
71. Schalla WO, Sanders LL, Schmid GP, Tam MR, Morse SA. Use of dot-immunobinding and immunofluorescence assays to investigate clinically suspected cases of chancroid. *J Infect Dis* 1986;153:879-887.
72. Karim H, Finn G, Easmon C, et al. Rapid detection of *Haemophilus ducreyi* in clinical and experimental infections using monoclonal antibody: a preliminary evaluation. *Genitourin Med* 1989;65:361-365.
73. Parsons L, Shayegani M, Waring AL, Bopp LH. DNA probes for the identification of *Haemophilus ducreyi*. *J Clin Microbiol* 1989;27:1431-1435.
74. Rossau R, Duhamel M, Janner G, Decourt JL, Van Heuverswyn H. The development of specific rRNA-derived oligonucleotide probes for *Haemophilus ducreyi*, the causative agent of chancroid. *J Gen Microbiol* 1991;137:277-285.
75. Museyi K, Van Dyck E, Vervoort T, Taylor D, Hoge C, Piot P. Use of an enzyme immunoassay to detect IgG serum antibodies to *Haemophilus ducreyi*. *J Infect Dis* 1988;157:1039-1043.
76. Freinkel AL. Histological aspects of sexually transmitted genital lesions. *Histopathology* 1987;11:819-831.
77. Freinkel AL, Dangor Y, Koornhof HJ, Ballard RC. A serological test for granuloma inguinale. *Genitourin Med* 1992;68:269-272.
78. Oriel JD, Patridge BM, Denny MJ, Coleman JC. Genital yeast infections. *Br Med J* 1972;4:761-764.
79. Sobel JD. Vulvovaginal candidiasis. In: Holmes KK, Mardh P-A, Sparling PF, et al., eds. *Sexually Transmitted Diseases*. 2nd ed. New York:McGraw-Hill, Inc, 1990:515-523.
80. Rein MF, Müller M. *Trichomonas vaginalis* and trichomoniasis. In: Holmes KK, Mardh P-A, Sparling PF, et al.: 1990:481-492.
81. Watt RM, Philip A, Wos SM, Sam GJ. Rapid assay for immunological detection of *Trichomonas vaginalis*. *J Clin Microbiol* 1986;24:551-555.
82. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med* 1983;74:14-22.
83. Spiegel CA. Bacterial vaginosis. *Clin Microbiol Rev* 1991;4:485-502.