

Dépistages des IST bactériennes : outils diagnostic

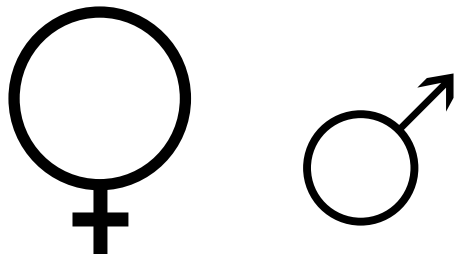
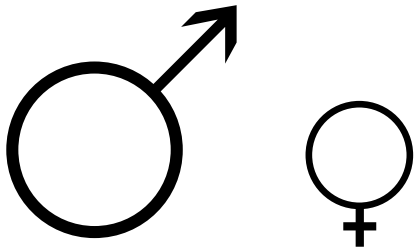
Dr. Béatrice Berçot
Laboratoire de Bactériologie-Sérologie infectieuse

GH Lariboisière-Saint Louis-Fernand Vidal

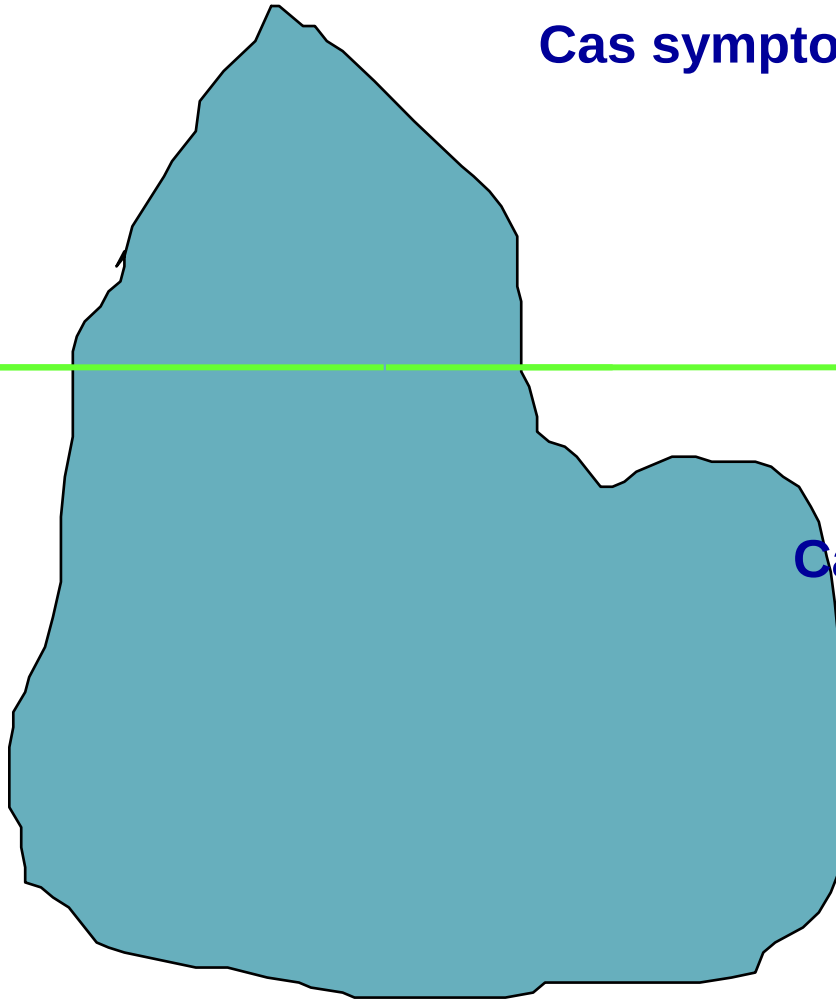
4 avril 2016

Maladies sexuellement transmissibles

Cas symptomatiques



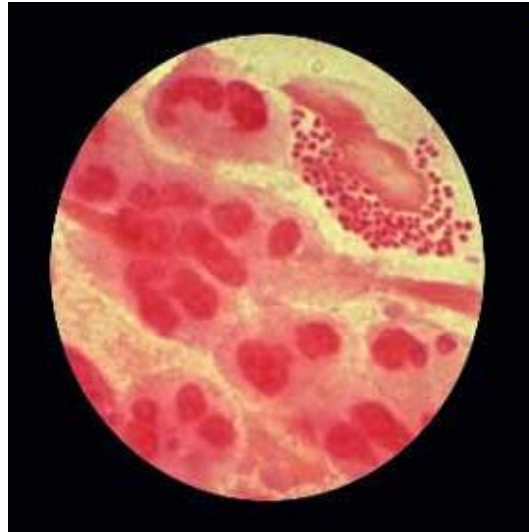
Cas asymptomatiques



Les tests diagnostiques

- Tests rapides (<2h)
 - Examen direct
 - Gonocoque (gram)
 - Trichomonas (état frais)
 - Syphilis (fond noir)
 - Immuno-chromatographie sur sang total : TROD
 - Syphilis
 - PCR en temps réel (Cepheid)
 - CT/NG, *Trichomonas*,
- Cultures et antibiogramme
 - Gonocoque, mycoplasmes
- PCR en temps réel en série
 - CT/NG, syphilis, mycoplasme
- Sérologies Elisa
 - Syphilis, *C. trachomatis* (LGV)

Gonocoque

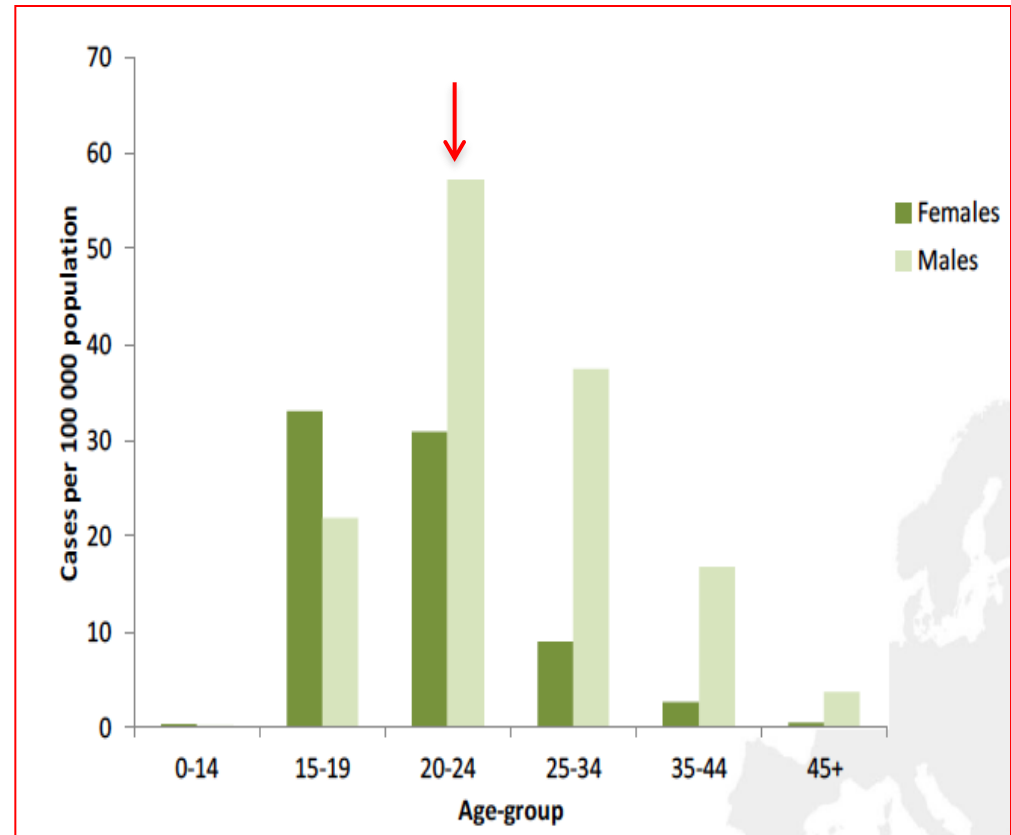


Infections à gonocoques : épidémiologie

- En France (15-59 ans)
: 39 / 100 000 (72.8%
IDF)

Eurosurveillance : La Ruche *et al*, 2015

- Homme jeune : 50%
- Urétrite ++

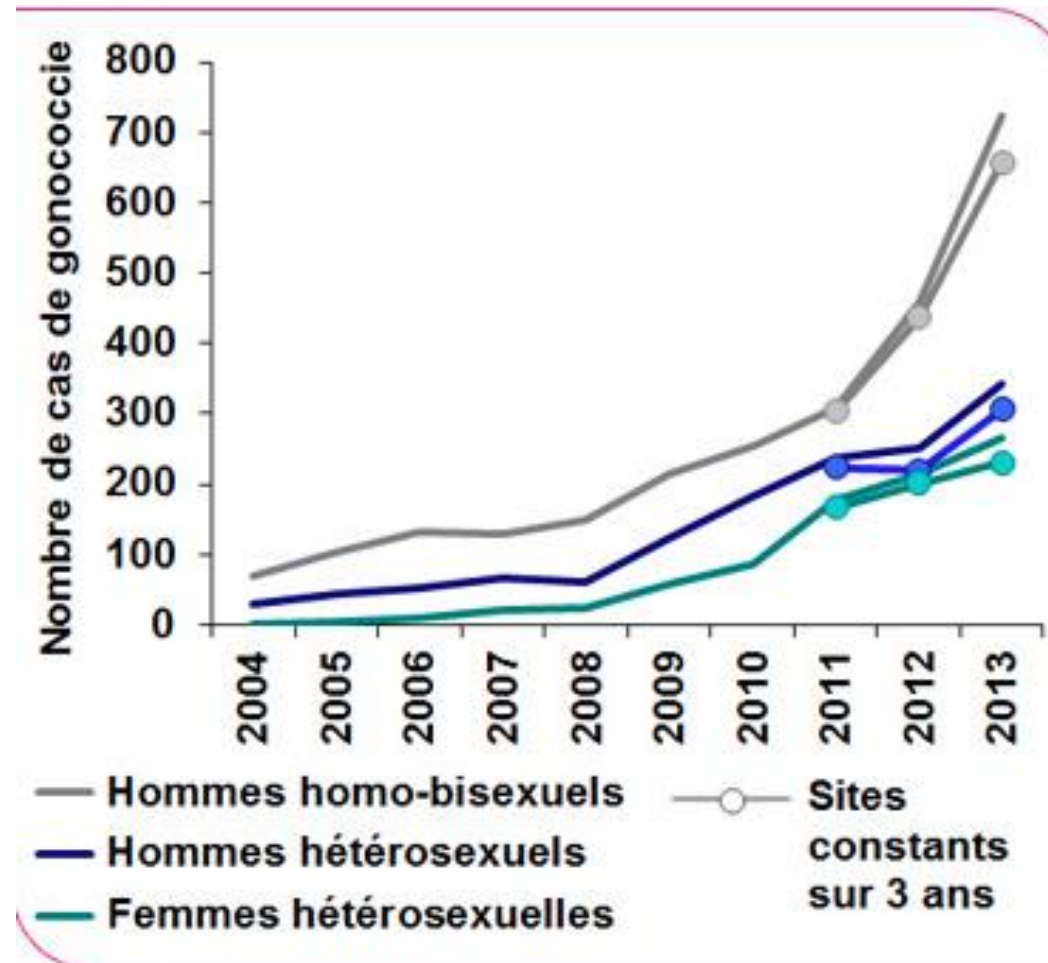


Datas from EURO-GASP

Infections à gonocoques : épidémiologie

- Transmission

MSM : 1/3 des cas



Source Renago

Diagnostic microbiologique : urétrite & cervicite

Prélèvement clinique

Prélèvement urétral / cervical

1^{er} jet urinaire

JO

Examen Direct

Coloration de Gram :
Cocci Gram négatif en diplocoque
Coloration de MGG :
Présence de polynucléaires

Diagnostic par biologie moléculaire

PCR/TAAN
trousses multiplex
N. gonorrhoeae / *C. trachomatis*

Cultures

Réalisation d'un antibiogramme
2014 : 45% homme, 25% femmes

Diagnostic exclusif par TAAN

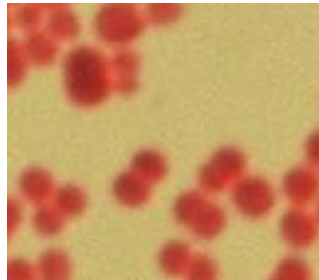
2008 : 1,6%
2012 : 28,4%
2014 : 22% homme, 57% femme

J1-J5

Gonocoque : diagnostic classique

Examen microscopique

- diplocoques intracellulaires
- Peu cher
- Résultats rapides
- Urétrite +++ : >90% sensibilité
- Pas recommandé pour les sites extra génitaux et asymptomatiques



Cultures

- “vieux gold standard”
- **Recommandé** pour les patients symptomatiques
- Seule technique qui permet d’obtenir la sensibilité de la souche
- Spécifique 100%
- Conditions optimisées (transport, méthodologie de culture,.)



Gonocoque : place des TAANs (= technique d'amplification = PCR)

AVANTAGES : recommandé car

- Plus sensible que culture pour sites extra-génitaux
- Automatisé, rapide, robuste, tolérant pour transport
- Prélèvements non-invasif : 1st jet urine / autoprélèvement vaginal
- Dépistage combiné possible : en général avec *C. trachomatis* mais autres tests possibles HVP, *T. vaginalis*, ...

DESAVANTAGES :

- Accréditation locale pour pour les sites extra-génitaux (choix test crucial)
- Pas antibiogramme
- Prudence site extra-génitaux : Faux + (*Neisseria commensales*)

Tests rapides

- Immunologiques : pas assez sensibles
 - Immunochromatographiques Ss 70%
 - Immunoassay OIA : Ss 60%

Gonocoque : un test RT-PCR unitaire rapide

....mais

Duplex CT/NG



2. Place Buffers in Cartridge.



3. Place swab in Cartridge.



4. Break swab



5. Closed lid, place in GeneXpert.

Gonocoque : recommandations de dépistage

- ▶ Population ciblée : HSH, multipartenaire, partenaire gono+, autres IST,
- ▶ Symptomatique : culture + TAAN
Homme : 1^{er} jet ou urétral
Femme : PV
- ▶ Asymptomatique : TAAN
Homme : 1^{er} jet
Femme : autoprélèvement vaginal
- ▶ Si suspicion de localisation anale, gorge (2 sexes) : TAAN
- ▶ Duplex CT/NG

C. trachomatis

bactérie strictement humaine à multiplication intracellulaire

Sérovars

A à C

Trachome



D à K

Urétrites/cervicites



L1 à L3

Lymphogranulomatose
vénérienne

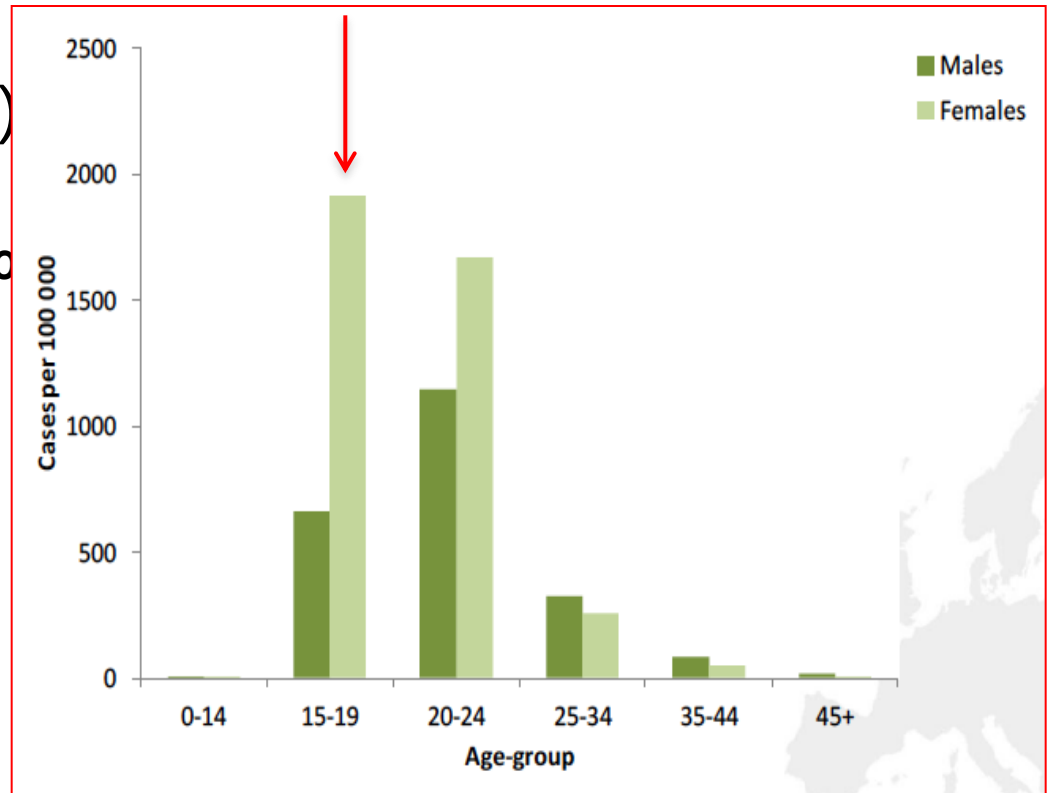


Infections à *Chlamydiae trachomatis* : épidémiologie

- En France (15-59 ans)
: 250 / 100 000

Eurosurveillance : La Ruche *et al*, 20

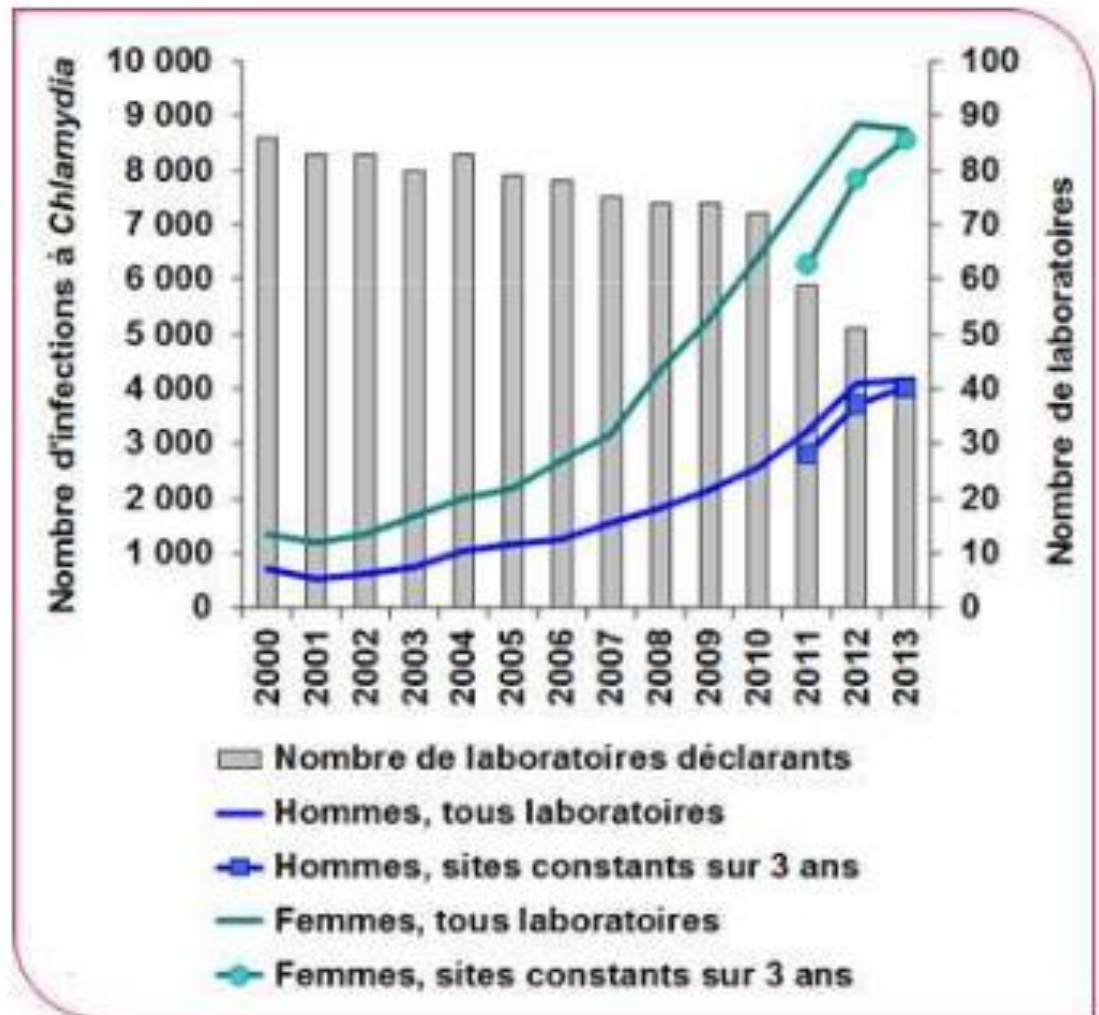
- **Incidence** en France :
3%, 10 à 20 % en
dispensaire
- Femme jeune +++
- HSH : 5%



Datas from EURO-GASP

Infections à *C. trachomatis* : épidémiologie

Transmission :
femme jeune
asymptomatique



Diagnostic microbiologique : urétrite & cervicite

Prélèvement clinique

1^{er} jet urinaire H / PV ou auto-prélevement vaginal F

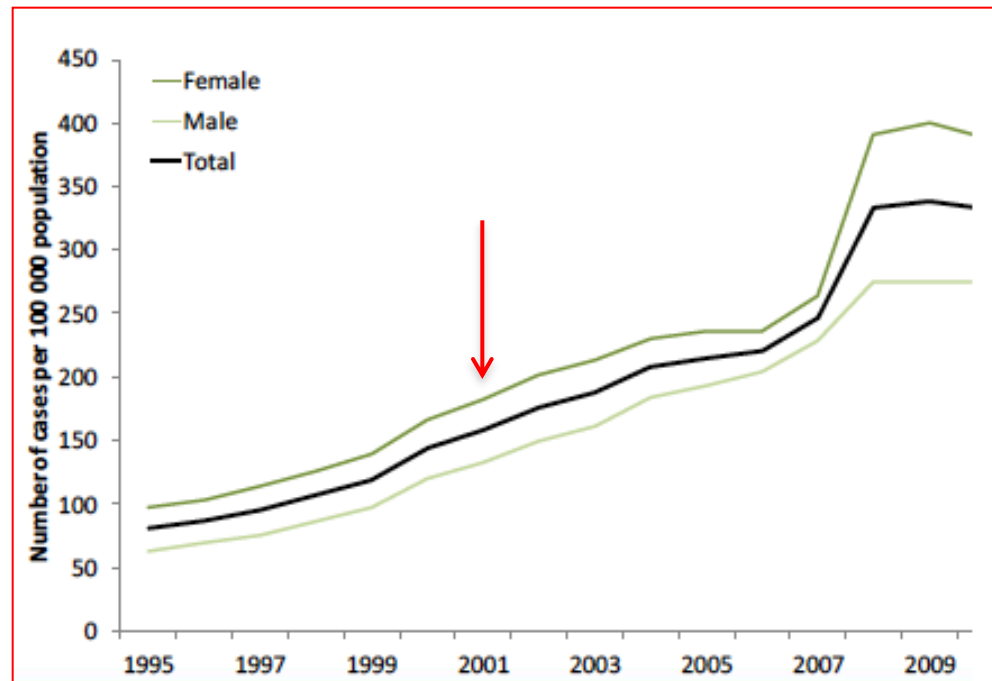


Diagnostic par biologie moléculaire PCR/TAAN +++

Culture cellulaire
Fluorescence directe
EIA
Tests rapides
Sérologie
Microscopie



Diminution de sensibilité



C. trachomatis : recommandations de dépistage

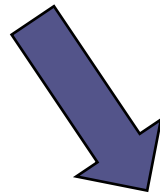
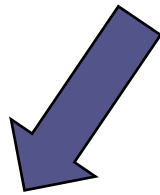
- ▶ Population ciblée : femmes de moins de 25 ans, homme moins de 30 ans
- ▶ Symptomatique ou asymptomatiques : TAAN
Homme : 1^{er} jet
Femme : PV ou autoprélèvement vaginal
- ▶ TAAN souvent en série, possibilité de faire un test unitaire Cepheid
- ▶ Sérologie : inutile, sauf infection profonde femme ou LGV

Lymphogranulomatose vénérienne (Maladie de Nicolas Favre)

LGV - *C. trachomatis* (L1 à L3)



Rectite



Adénite inguinale (fistulisation)

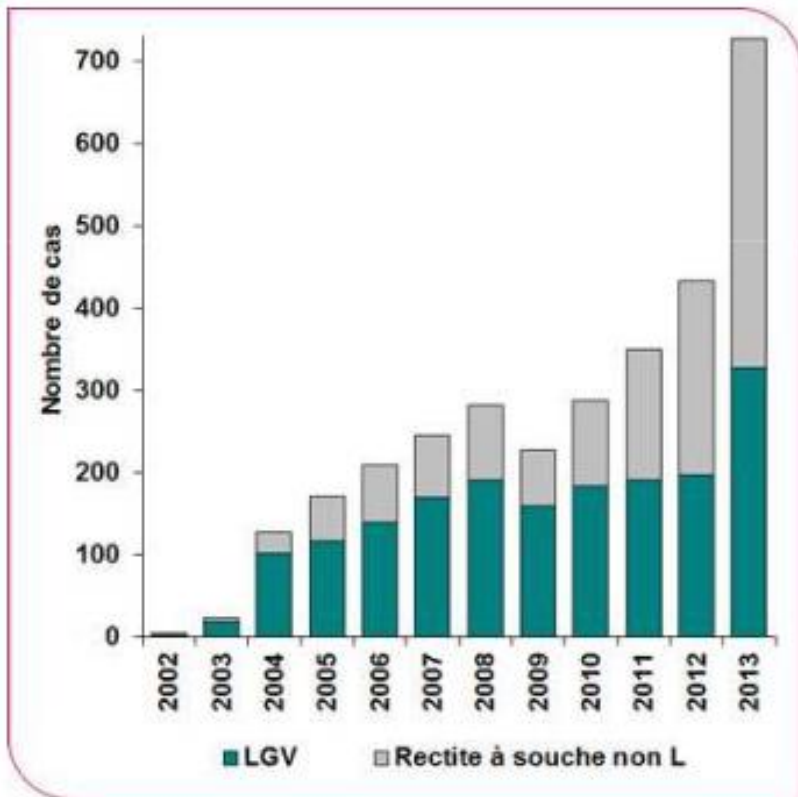
± ulcération(s) ano-génitale(s)

HSH : 98% des LGV

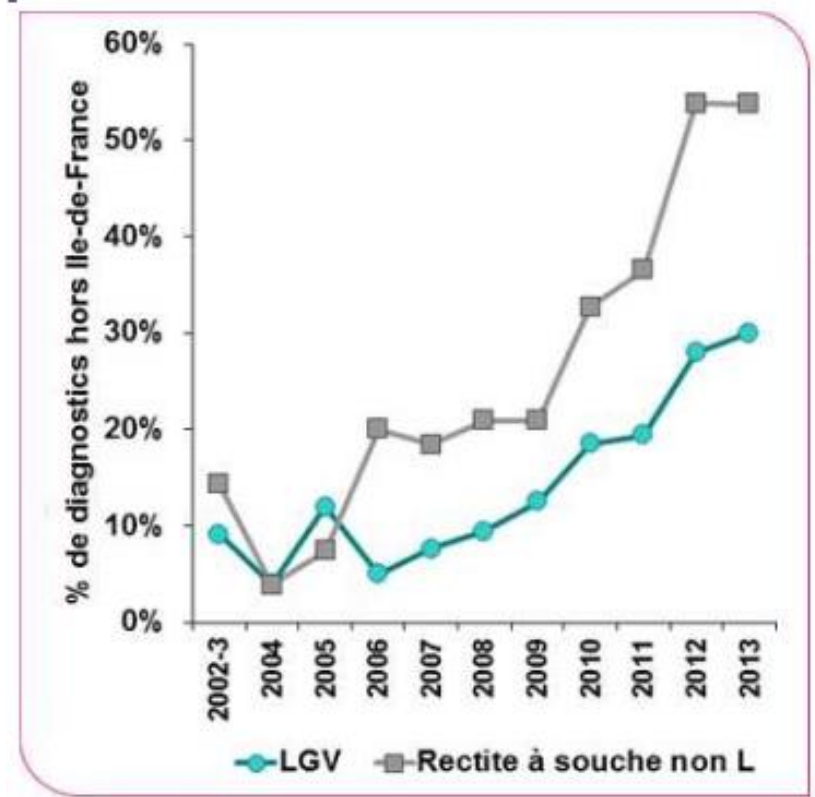
Epidémie de LGV rectale (L2b) en Europe

Homosexuels masculins VIH (+)

Infections à *C. trachomatis* : Augmentation de la Lymphogranulomatose vénérienne



700 cas en 2013, HSH :
98% des LGV



Source Renachla

LGV : Dépistage

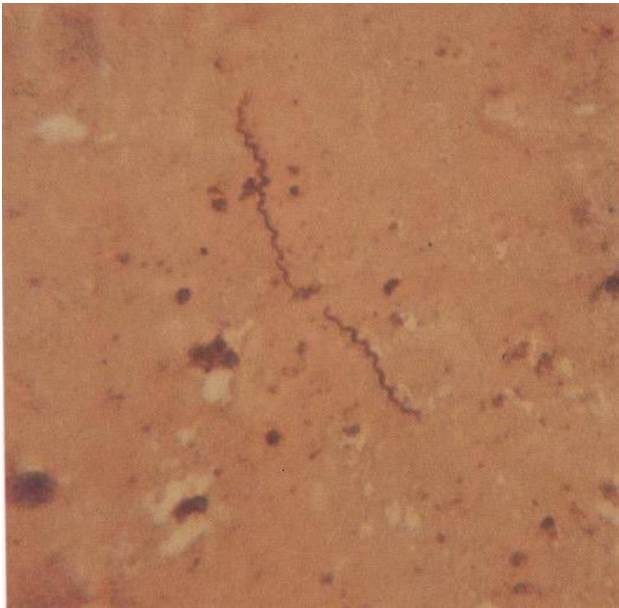
- ▶ Si suspicion : 1^{er} jet urine ou PV

+

- ▶ localisations anales, adénopathie fistulisée : TAAN

- ▶ Duplex CT/NG

Syphilis (*Treponema pallidum*)

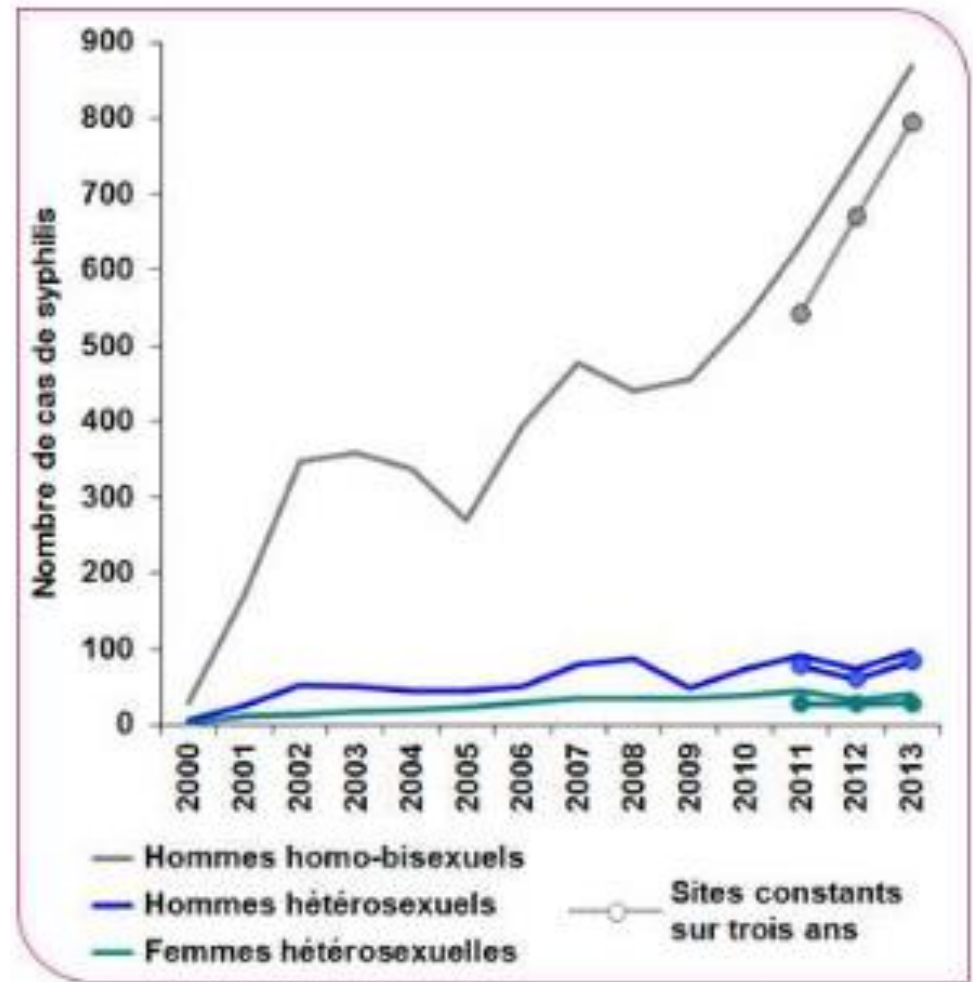


Pas cultivable
Sérologie ++



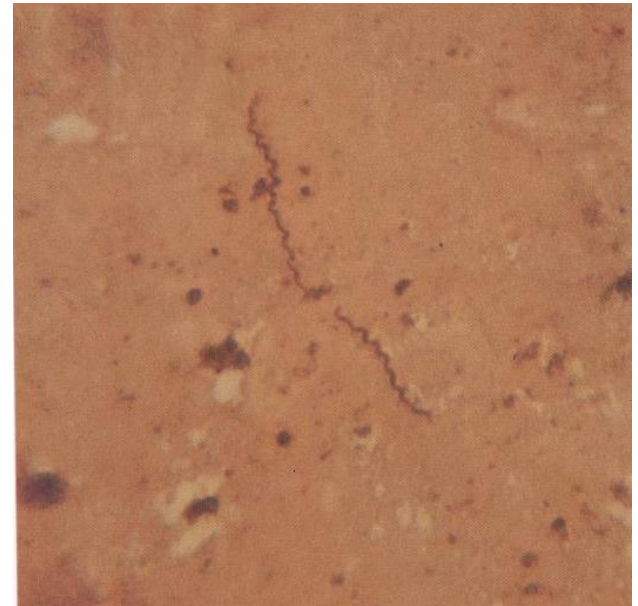
Syphilis (*Treponema pallidum*)

- En France 10000-20000 cas/an
- Homme +++
- HSH : 86% des cas (2013)

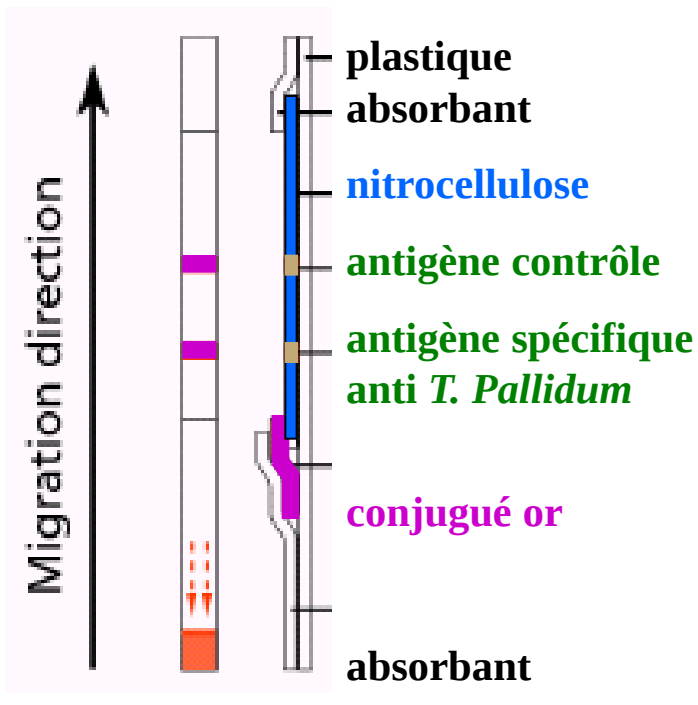


Diagnostic rapide : Examen au microscope à fond noir

- Non cultivable
- **Examen direct au microscope à fond noir**
 - Sur exsudat du chancre ou syphilides
 - Immédiatement après le prélèvement
 - Bactéries spiralées, mobiles
 - Faible spécificité sur lésions orales ou anales
- **Détection d'ADN : PCR multiplexe**



Diagnostic rapide : Tests Immuno-chromatographiques -TROD syphilis



▫ Diagnostic sérologique

- Anticorps dirigés (IgG+/- IgM ou IgA) contre *Treponema pallidum*
- Sang total ou plasma
- Performances

→ DGS du 3 février 2015, l'ANSM a réalisé un contrôle du marché des tests TROD syphilis
Résultats ANSM janvier 2016

TROD syphilis (n=9)

Fabricant/mandataire/ distributeur	Nom du réactif	Présentation
All Diag/Todapharma *	Syphilitop optima	bandelette
BioLytical/Emergo/Nephrotek	Insti Multiplex (dépistage des anticorps VIH-1 et VIH-2 et syphilis)	membrane Insti à l'intérieur d'une cartouche
Nal von Minden ●	Nadal Syphilis Test (test cassette)	cassette
	Nadal Syphilis Test (test strip)	bandelette
TrinityBiotech ●	Uni-Gold Syphilis Treponemal	cassette Le moins spécifique
Turklab/ Nephrotek	Toyo diagnostic syphilis TTPO1	cassette
Omega Diagnostics/Elitech ●	Visitech Syphilis	cassette
Standard Diagnostic/MT Procons/Alere ●	SD Bioline Syphilis 3	cassette
Ultimed / Biolys ●	Syphilis Test (Anti syphilis Card)	cassette
Vedalab/Servibio ●	Syphilis Sign	cassette

* Serum uniquement,

● IgG+M+/- A

TROD syphilis (n=9)

Evaluations fournies par les fabricants Comparaison au TPHA

- Sensibilité : 95% à 100%
- Spécificité : 94,7% à 100%
- VPP : 99,5%
- VPN : 99.9%

Place à trouver dans le schéma diagnostique +++

Réactions croisées possibles : FR, HAMA, ANA, Lyme, HSV, CMV, EBV, VHA, VIH, HTLV, VHC, VHB, chlamydiae, HPV, trichomonas, rubéole, grossesse, VVZ

Tests de diagnostic sérologique : 2 tests

TNT
Test Non Tréponémique

VDRL : Venereal Disease Research Laboratory
RPR : Rapid plasma reagin

sensibles, mais peu spécifiques

TT
Test
Tréponémique

TPHA : Treponema Pallidum Hemagglutination Assay

ag tréponémiques fixés sur un support (IgG)

TPPA : Treponema pallidum Particle Agglutination test

TPLA : Treponema pallidum Latex Agglutination test

FTA ABS : Fluorescent Treponemal Antibody Absorption Test

EIA : Enzymoimmunoassay ou ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)

CIA ou CA ou CLIA : Chemiluminescent Immuno assay

MFI : Multiplex Flow immunoassay

très spécifiques, très sensibles

Parfois + à vie

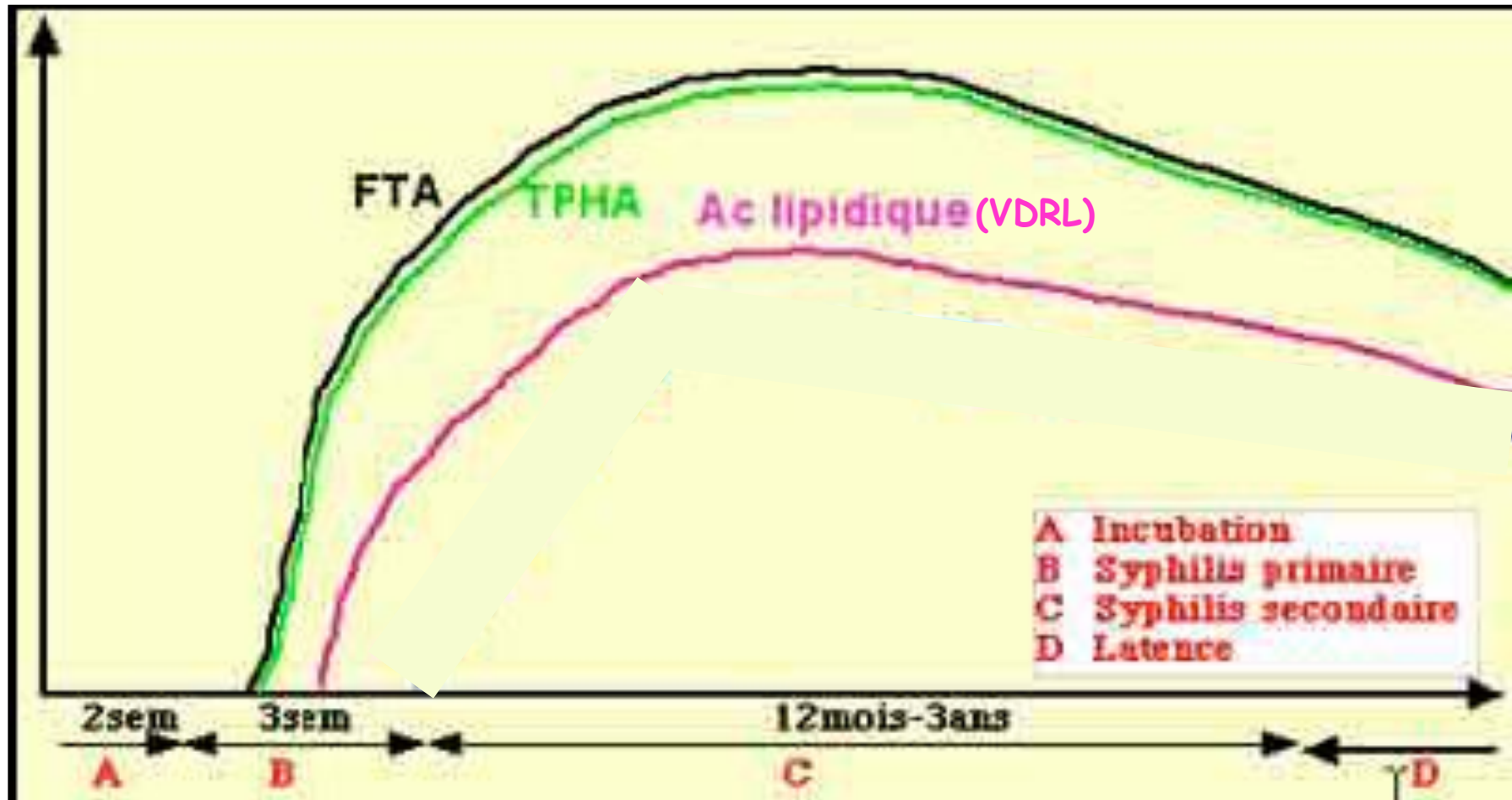
IMMUNOEMPREINTE

WB : Western Blot ou IB : Immuno Blot, peu utile

ILA : Immunoline assay

NB : TPI *treponema pallidum* immobilisation = test de Nelson qui ne se fait plus

Schématisation de l'évolution des anticorps



Nouvelle nomenclature

- Screening par un test ELISA IgM/IgG combinée puis VDRL si ce 1^{er} test est positif
- Le dosage d'IgM anti syphilis :
 - Positivité quinze jours après la contamination, en même temps que le chancre éventuel.
 - Négativation: trois mois après la contamination, même si pas de traitement

Reaction croisée:

- Treponema pallidum* subsp. *endemicum* : bejel
- Treponema pallidum* subsp. *pertenue* : pian
- Treponema carateum* : caraté

LOGIGRAMME

**TPHA Test tréponémique (TT)
Ig Totales (IGG + IgM)**

Réaction négative

Réaction positive

VDRL ou RPR AVEC TITRAGE

Réaction négative

Réaction positive

Début de séroconversion?

**TNT avec titrage sur un deuxième
sérum de contrôle (au moins une
semaine d'écart)**

Traitement

**Persistance d'une réaction
négative du TNT**

- Cicatrice d'une syphilis traitée tréponématose endémique
- Faux positif du TT :
- Très rares syphilis latentes tardives à TNT négatif

Recommandations de dépistage

- ▶ Population ciblée : autre IST, travailleur du sexe, prostitution, multipartenaires, HSH, viol, migrants (Europe Est, Afrique, Asie, Amérique du Sud), prisonniers, femme enceinte (obligatoire)

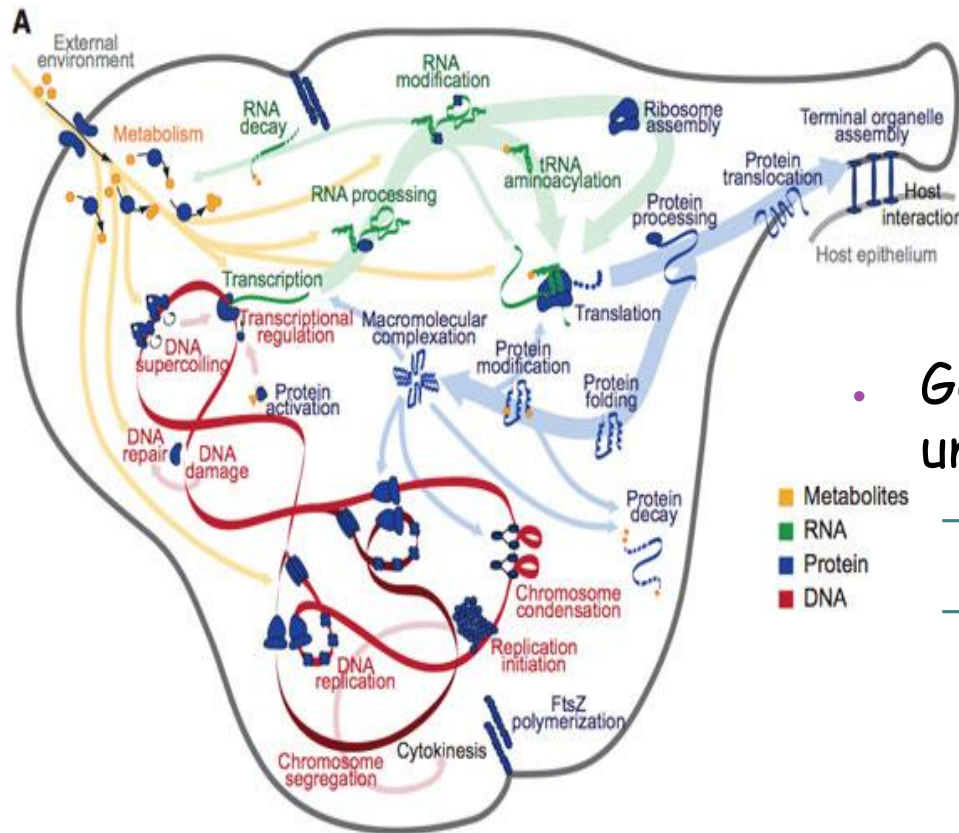
- ▶ Sérologie : référence

Place des TROD à déterminer, se positive comme la sérologie

- ▶ Stade ulcération : fond noir, PCR ulcération

Mycoplasma genitalium

- Groupe des mollicutes caractérisés par l'absence de paroi bactérienne
- 300 nm



- Génome le plus petit chez un être vivant
 - 525 gènes
 - 580 Kb

Mycoplasma genitalium - Pathogénicité

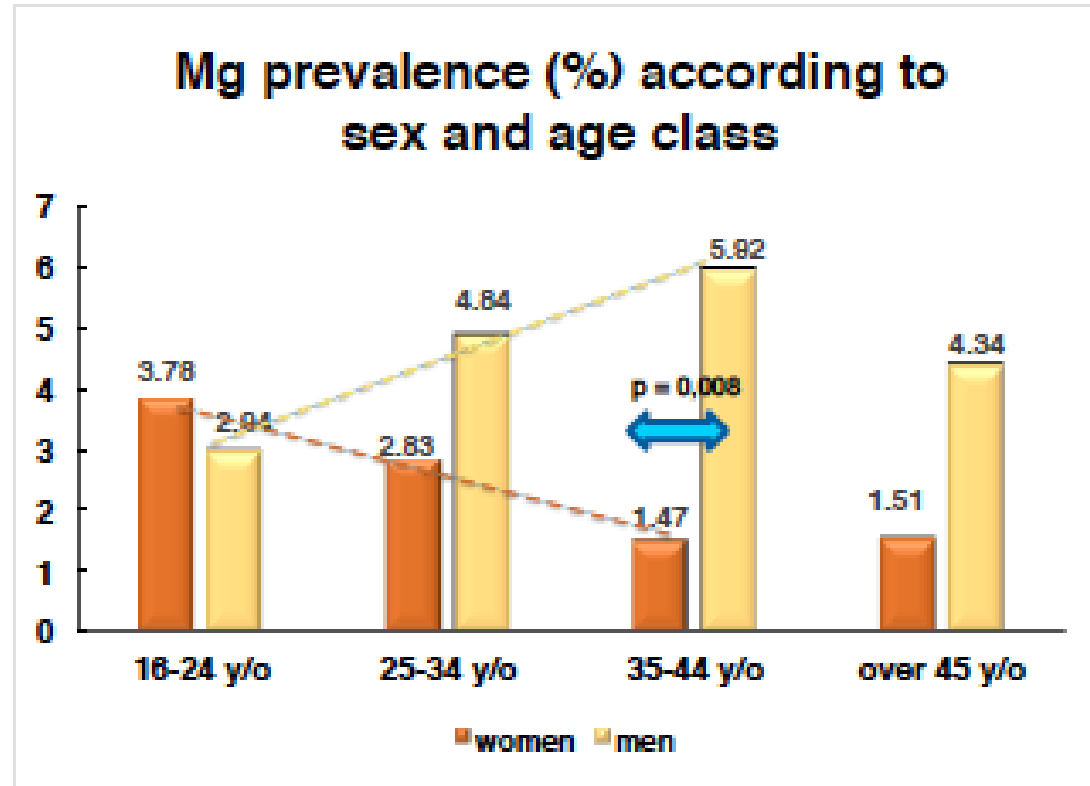
- Chez l'homme
 - Urétrites non gonococciques
 - Epididymites
 - Prostatites ? (isolé dans du tissu prostatique)
- Chez la femme
 - Cervicites
 - Salpingites
 - Rôle de l'infertilité tubaire et douleurs pelviennes chroniques

M. genitalium

- En France :
3-4% des ISTs

Prévalence + élevée chez
homme 35-44 ans

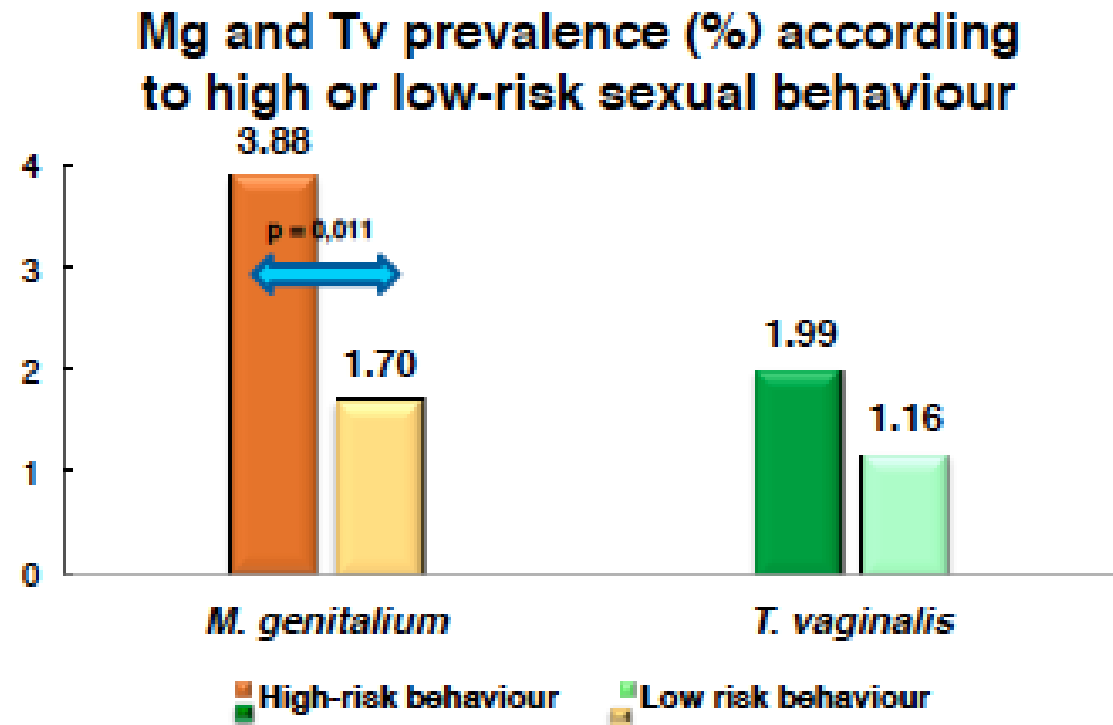
Asymptomatique : 71%



M. genitalium

- En France :
3-4% des ISTs

Prévalence plus élevée si
terrain IST : planning
familial, avortement,
prisonnier

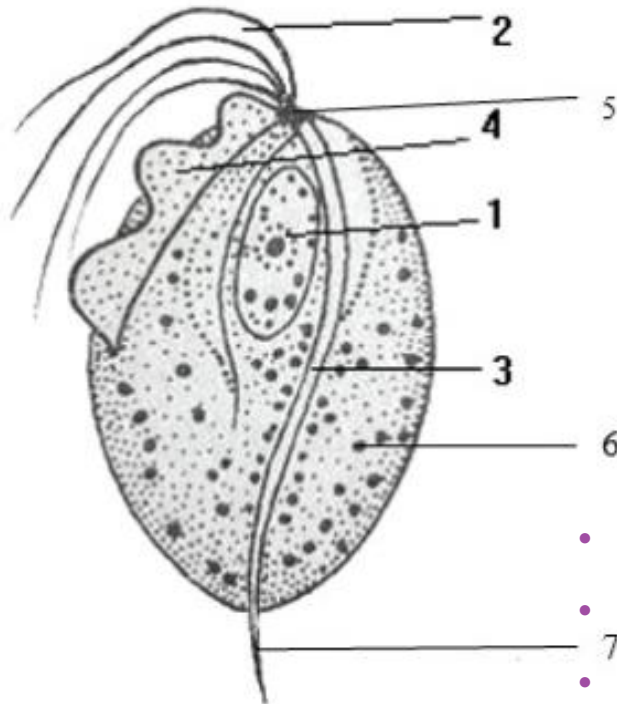


Pereyre, *et al.*, ECCMID 2016

M. genitalium

Diagnostic : repose sur la détection de l'ADN de MG par amplification génique, bactérie non cultivable (hors culture cellulaire)

Trichomonas vaginalis



- 1 : noyau
- 2 : flagelles antérieurs
- 3 : axostyle
- 4 : membrane ondulante
- 5 : blépharoblaste
- 6 : vacuole
- 7 : flagelle postérieur

- Protozoaire
- 10-15 μm long
- 7 μm large
- Flagelé, mobile, piriforme
- Bleuté au MGG
- Parasite strictement humain
- Transmission sexuelle, fragile extérieur

Trichomonas vaginalis - Pathogénicité

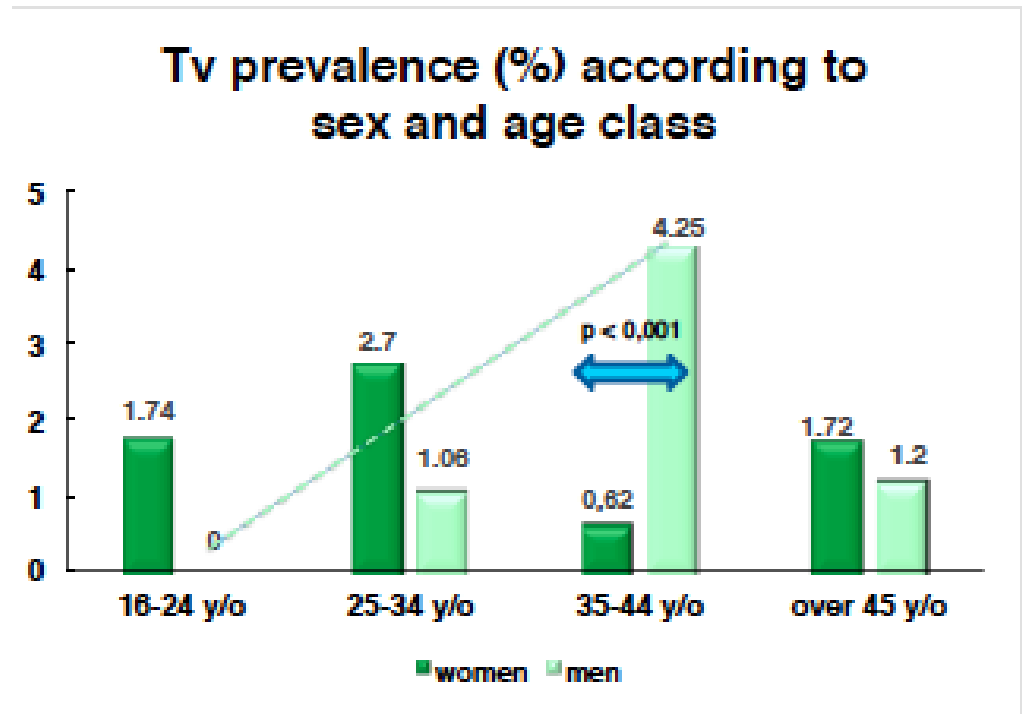
- Augmente le risque d'infection VIH
- Probable rôle dans les cancers de la prostate et du col de l'utérus
- Chez l'homme
 - Portages fréquemment asymptomatiques
 - Prostatites : rare
- Chez la femme
 - Généralement symptomatique
 - Vaginites
 - Cervicites

Trichomonas vaginalis - Caractéristiques

- En France :
1-2% des ISTs

Prévalence + élevée chez
homme 35-44 ans

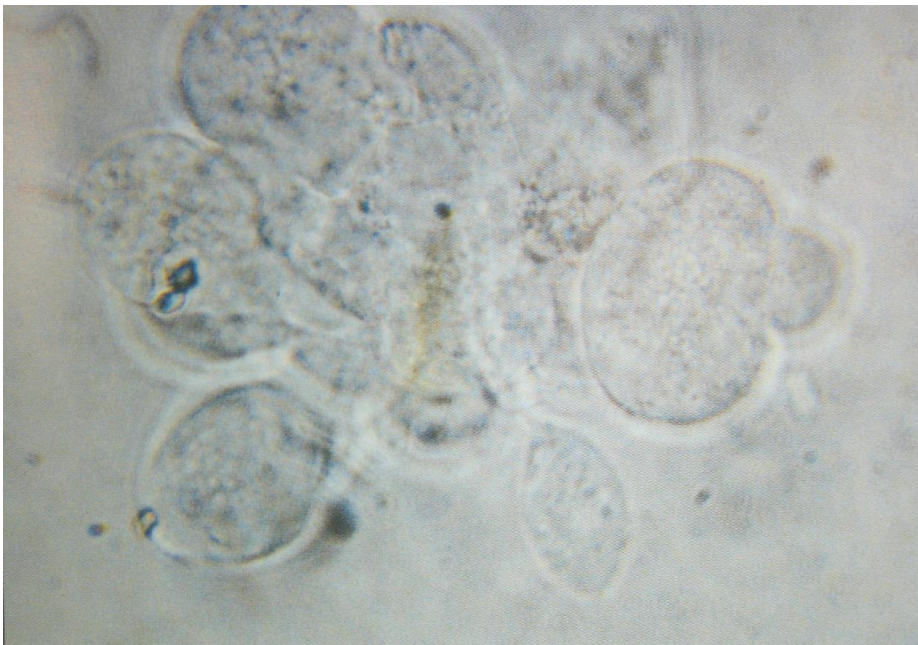
Asymptomatique : 61%



Pereyre, *et al.*, ECCMID 2016

Trichomonas vaginalis - Caractéristiques

- Diagnostic : Examen microscopique, culture (ex gold standard aujourd'hui peu réalisé), biologie moléculaire



Examen microscopique à l'état frais (X40)

Biologie à venir

- Choix des dépistages multiples en fonction des populations
 - PCR multiplex : *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis* et détection des virus du groupe HSV, papillomavirus
 - PCR spécifiques pour ulcérations
- Place des TROD et PCR délocalisée dans les CeGGID