



Tests diagnostiques de l'infection génitale au *Trichomonas vaginalis*

Tests diagnostiques de l'infection génitale au *Trichomonas vaginalis*

Guide de pratique pour les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS

Institut national de santé publique du Québec
Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec

Février 2016

AUTEURE

Julie Bestman-Smith, médecin microbiologiste-infectiologue

AVEC LA COLLABORATION DU GROUPE DE TRAVAIL « PROTOCOLES DE L'AMMIQ » DU COMITÉ SUR LES ANALYSES DE LABORATOIRE EN LIEN AVEC LES ITSS (CALI) :

Annie-Claude Labbé, médecin microbiologiste-infectiologue et présidente du CALI

Annick Trudelle, conseillère scientifique et coordonnatrice du CALI

Pierre Lebel, médecin microbiologiste-infectiologue et responsable du groupe de travail

François Coutlée, médecin microbiologiste-infectiologue

Claude Fortin, médecin microbiologiste-infectiologue

Isabelle Tétrault, médecin microbiologiste-infectiologue

Marie Gourdeau, médecin microbiologiste-infectiologue

ET AVEC LA COLLABORATION DES AUTRES MEMBRES DU COMITÉ SUR LES ANALYSES DE LABORATOIRE EN LIEN AVEC LES INFECTIONS TRANSMISSIBLES SEXUELLEMENT ET PAR LE SANG (CALI)

Le Comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS (CALI) est un comité permanent d'experts formé avec l'accord du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) et de l'Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec (AMMIQ). Il relève de l'Unité sur les ITSS de la Direction des risques biologiques et de la santé au travail de l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ). Il est rattaché au directeur du Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) pour les aspects de laboratoire ainsi qu'au directeur de la Direction des risques biologiques et de la santé au travail (DRBST) pour les aspects de santé publique. Le CALI a le mandat de fournir une expertise scientifique et de formuler des recommandations et avis visant les activités de laboratoire à des fins de dépistage, de diagnostic, de suivi et de contrôle des ITSS. La liste des membres pour 2015-2016 est présentée à la page suivante.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Marc Steben, médecin-conseil, et Sylvie Bouvet, gynécologue-obstétricienne, pour leur contribution dans la révision de ce guide de pratique.

MISE EN PAGE

Virginie Boué, Direction des risques biologiques et de la santé du travail,
Institut national de santé publique du Québec

Liste des membres du CALI

(en date de février 2016)

Isabelle Alarie, médecin microbiologiste-infectiologue, CHUS Hôpital Fleurimont

Louise Charest, médecin clinicienne, Clinique médicale l'Actuel

Marc Dionne (membre d'office), directeur scientifique, Institut national de santé publique du Québec

Patrick Dolcé, médecin microbiologiste-infectiologue, Hôpital régional de Rimouski

Claude Fortin, médecin microbiologiste-infectiologue, CHUM Hôpital Notre-Dame

Éric Frost, microbiologiste, Université de Sherbrooke

Lise Guérard (membre d'office), chef de service, Service de lutte contre les ITSS, ministère de la Santé et des Services sociaux

Annie-Claude Labbé, médecin microbiologiste-infectiologue et présidente du CALI, Hôpital Maisonneuve-Rosemont, CIUSSS de l'Est-de-l'île-de-Montréal

Diane Lambert, médecin-conseil, Direction de santé publique des Laurentides

Gilles Lambert, médecin-conseil, Institut national de santé publique du Québec

Pierre Lebel, médecin microbiologiste-infectiologue, Hôpital général de Montréal

Brigitte Lefebvre, microbiologiste, Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

Jean Longtin, médecin-chef, Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

France Morin, médecin clinicienne, CLSC la Pommeraie

Donald Murphy, microbiologiste, Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

Raymond Parent (membre d'office), chef d'unité scientifique, Institut national de santé publique du Québec

Marc Steben, médecin-conseil, Institut national de santé publique du Québec

Isabelle Tétrault, médecin microbiologiste-infectiologue, CHA Hôpital Enfant-Jésus

Annick Trudelle, conseillère scientifique et coordonnatrice du CALI, Institut national de santé publique du Québec

Sylvie Venne, médecin-conseil, Service de lutte contre les ITSS, ministère de la Santé et des Services sociaux

Karl Weiss (membre d'office), médecin microbiologiste-infectiologue, président de l'AMMIQ

HISTORIQUE DU DOCUMENT

Version No :1

Date : Février 2016

Description des modifications (si applicable)	Réviseur (signature)	Date (AAAA-MM-JJ)

Table des matières

Liste des tableaux.....	VII
Liste des figures.....	IX
Liste des abréviations	XI
Faits saillants.....	1
1 Contexte.....	3
2 But.....	3
3 Objectifs.....	3
4 Utilisations	3
4.1 Épidémiologie	3
4.2 Manifestations cliniques	4
4.3 Lignes directrices pour la recherche de l'infection au <i>T. vaginalis</i>	4
5 Principes	6
6 Échantillon(s).....	9
6.1 Principes généraux	9
6.2 Écouvillons.....	10
6.3 Milieux de transport.....	13
6.4 Prélèvement, conservation, transport du spécimen.....	14
6.5 Critères de rejet	16
7 Sécurité	16
8 Équipement et matériel	16
9 Contrôle de qualité.....	16
10 Procédure	17
10.1 Examen microscopique à l'état frais	17
10.2 Coloration permanente.....	18
10.3 Tests de détection antigénique	20
10.4 Test de détection des acides nucléiques	22
10.5 Culture.....	23
10.6 TAAN.....	25
10.7 Sérologie.....	32
11 Conclusion.....	32
12 Références.....	35

Liste des tableaux

Tableau 1	Description des méthodes de détection du <i>T. vaginalis</i>	7
Tableau 2	Spécimens adéquats en fonction de la méthode diagnostique.....	10
Tableau 3	Écouvillons acceptables en fonction de l'analyse de laboratoire.....	11
Tableau 4	Caractéristiques des trousse de TAAN commerciales disponibles sur le marché (en date de février 2016).....	31

Liste des figures

Figure 1	<i>T. vaginalis</i> observé au microscope (40X) à l'état frais.....	18
Figure 2	Coloration Giemsa (100X) pour l'identification du <i>T. vaginalis</i>	19
Figure 3	Coloration de Gram (100X) pour l'identification du <i>T. vaginalis</i>	19
Figure 4	Coloration par l'acridine orange (100X) pour l'identification du <i>T. vaginalis</i>	20
Figure 5	Exemples de résultats obtenus avec le test OSOM® Trichomonas Rapid Test.....	21
Figure 6	Exemples de résultats obtenus avec le test Affirm™ VPIII.....	23
Figure 7	Système de culture du <i>T. vaginalis</i> : InPouch™TV BioMed Diagnostics	24

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
AMMIQ	Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec
CALI	Comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS
CE/IVD	Conformité européenne- <i>In Vitro Diagnostics</i>
CLIA	<i>Clinical Laboratory Improvement Amendments</i>
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CFU	Unités formatrices de colonie (<i>Colony Forming Units</i>)
DPO	<i>Dual Priming Oligonucleotide</i>
FDA	Food and Drug Administration
HARSAH	Hommes ayant des relations sexuelles avec d'autres hommes
HDA	Amplification dépendante de l'hélicase (<i>Helicase Dependent Amplification</i>)
INSPQ	Institut national de santé publique du Québec
ITS	Infections transmissibles sexuellement
ITSS	Infections transmissibles sexuellement et par le sang
IVD	<i>In Vitro Diagnostics</i>
KOH	Hydroxyde de potassium
LDT	<i>Laboratory Developed Tests</i>
MADO	Maladie à déclaration obligatoire
NaCl	Chlorure de sodium
OMS	Organisation mondiale de la santé
PCR	Amplification en chaîne par polymérase (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
POC	Point de service
RUO	<i>Research Use Only</i>
SDA	Amplification par déplacement de brin (<i>Strand Displacement Amplification</i>)
TAAN	Test d'amplification des acides nucléiques
TMA	Amplification médiée par la transcription (<i>Transcription-Mediated Amplification</i>)
URL	Unités relatives de lumière
TP	Température de la pièce
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine

Faits saillants

- L'infection au *Trichomonas vaginalis* est l'infection transmissible sexuellement et par le sang (ITSS) non virale la plus prévalente mondialement. Au Québec, les données épidémiologiques sont toutefois manquantes et l'ampleur de cette infection, ainsi que les données quant aux facteurs de risques propres à notre population, sont encore inconnues.
- La symptomatologie associée à cette infection est variable et non spécifique; dans plusieurs cas, les personnes affectées sont asymptomatiques. En considérant que l'infection peut être associée à des complications non négligeables chez la femme enceinte, en plus d'être un facteur de risque de transmission et d'acquisition accru du VIH, un diagnostic adéquat demeure important pour instaurer un traitement approprié.
- À la lumière de la littérature révisée, et en attente de recommandations plus précises, le groupe de travail est d'avis qu'il est pertinent de rechercher le *T. vaginalis* chez les femmes symptomatiques qui présentent un syndrome de vaginite et qui ont des facteurs de risque d'ITSS, en particulier en l'absence de diagnostic alternatif de candidose ou de vaginose bactérienne. En présence de cervicite, la recherche de *T. vaginalis* devrait être envisagée surtout lorsque la recherche de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* s'avère négative ou en l'absence de réponse au traitement syndromique recommandé pour la cervicite. Chez l'homme ayant des facteurs de risque d'ITSS, il est pertinent de rechercher le *T. vaginalis* lorsque les symptômes d'urétrite persistent suite au traitement syndromique recommandé, en l'absence d'infection à *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* et sans autre diagnostic précis. Quant aux personnes asymptomatiques, les indications de dépistage ciblé et les avantages d'un dépistage systématique ne sont pas définis au Québec.
- D'autres atteintes génitales, soit inflammatoires ou infectieuses, peuvent mimer les symptômes d'une infection à *T. vaginalis*. Les lecteurs peuvent se référer au guide sur le diagnostic d'infections vaginales, rédigé par ce même groupe de travail, afin de mieux étayer leur diagnostic différentiel.
- L'examen microscopique à l'état frais, la culture et un test antigénique (OSOM®, *Trichomonas Rapid Test*) sont les trois méthodes actuellement utilisées pour la détection du *T. vaginalis* dans les laboratoires du Québec, mais avec des sensibilités sous-optimales.
- Plusieurs tests d'amplification des acides nucléiques (TAAN) sont commercialement disponibles et certains sont approuvés par Santé Canada. En plus d'offrir une meilleure sensibilité comparativement aux autres analyses, les TAAN permettent des conditions de transport (délais, température de conservation) plus acceptables.
- Certaines trousse de TAAN pour la détection de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* incluent aussi la détection de *T. vaginalis* à partir du même spécimen (analyses multiplexes). L'utilisation de ces TAAN pour le dépistage des infections à *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* est préoccupante, car il n'y a actuellement aucune indication de dépistage de *T. vaginalis* et la conduite thérapeutique pour la prise en charge d'un test positif pour *T. vaginalis* chez une personne asymptomatique n'est pas définie.

1 Contexte

Ce document est une mise à jour des documents de l'Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec (AMMIQ) intitulé « Protocole des ITSS ». Le *Trichomonas vaginalis* était inclus dans le protocole « Vaginite ». Le présent document est donc une nouvelle édition ne traitant que de *T. vaginalis*.

Le comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les infections transmissibles sexuellement et par le sang (CALI) de l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ) a formé un groupe de travail composé des auteurs de cette série de documents. Ceux-ci sont maintenant intitulés « **Guide de pratique pour les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS** ».

Ce document pourra servir de guide pour aider à la rédaction et à la révision de la procédure opérationnelle normalisée par les responsables de laboratoire. Nous espérons aussi que certaines informations qui y sont présentées pourront être utiles aux cliniciens et professionnels de santé publique qui le consulteront.

2 But

Optimiser le diagnostic de l'infection génitale par le parasite *T. vaginalis* en décrivant les différents tests de laboratoire actuellement disponibles.

3 Objectifs

- Décrire les étapes conduisant à un prélèvement de qualité pour les tests de détection de l'infection au *T. vaginalis*.
- Décrire les principes et les procédures des tests de détection de l'infection au *T. vaginalis*, soit la microscopie à l'état frais, la coloration, les tests de détection antigénique, les tests de détection d'acides nucléiques par sonde, la culture et les tests d'amplification des acides nucléiques (TAAN).

4 Utilisations

4.1 Épidémiologie

Le *T. vaginalis* est un protozoaire et l'agent étiologique d'une infection transmise sexuellement chez l'humain. Ce microorganisme constitue l'infection transmissible sexuellement et par le sang (ITSS) non virale la plus prévalente mondialement. En effet, chez la femme, elle serait plus fréquente que l'infection à *Chlamydia trachomatis* et l'infection à *Neisseria gonorrhoeae*. En 2008, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé à 276,4 millions le nombre de nouveaux cas de *T. vaginalis* chez les personnes âgées entre 15 et 49 ans. Puisque l'infection peut être asymptomatique chez 50 % des femmes et chez 70-80 % des hommes(1), cette prévalence est probablement grandement sous-estimée. On décrit souvent le *T. vaginalis* comme étant l'ITSS « négligée »(2) et la prévalence de cette infection est malheureusement peu caractérisée. Au Québec, l'infection au *T. vaginalis* ne constitue pas une maladie à déclaration obligatoire (MADO). La fréquence de cette infection est donc inconnue et les indications de dépistage ou de détection restent à être démontrées.

Certaines données épidémiologiques provenant des États-Unis sont toutefois disponibles et peuvent nous aider à prédire les facteurs de risque associés à cette infection. Il est estimé que 3.7 millions de personnes sont infectées par *T. vaginalis* chaque année aux États-Unis(3). Une étude nationale a démontré que la prévalence de l'infection chez les femmes dans la population générale en âge de procréer était de 3,1 % et que le pic de l'infection surviendrait entre l'âge de 40-50 ans(4). La distribution selon l'âge n'est toutefois pas bien caractérisée chez l'homme, mais globalement, la prévalence semblerait faible(5,6). Une autre étude récente menée auprès d'hommes et de femmes s'étant présentés dans une clinique ITSS aux États-Unis a démontré que la prévalence de l'infection était de 20,2 %, soit de 27,0 % chez la femme et de 9,8 % chez l'homme. Les facteurs de risque associés à l'infection comprenaient entre autres l'âge (>40 ans) et l'origine Africaine Américaine(7). En effet, contrairement à l'infection à *C. trachomatis* et l'infection à *N. gonorrhoeae*, l'âge avancé semble être un facteur de risque significatif chez les deux sexes et ceci, probablement secondaire à une exposition répétée avec le temps(7).

4.2 Manifestations cliniques

Chez la femme, l'infection génitale au *T. vaginalis* cause principalement des symptômes de vaginite et de cervicite. Chez la femme enceinte, elle peut être associée à une rupture précoce des membranes et ainsi mener à un travail prématuré, favorisant un risque d'infection néonatale(8). Chez l'homme, l'infection peut mener à une urétrite, une prostatite et une épидидymite(8). L'infection pourrait persister sur de longues périodes de temps dans le tractus génito-urinaire et peut donc représenter un réservoir constant de transmission(9). L'infection est associée à un risque accru d'acquisition du virus de l'immunodéficience humaine (VIH), risque pouvant être jusqu'à deux à trois fois supérieur, ce qui est très préoccupant(10-12). L'infection serait en effet deux fois plus commune chez les individus infectés par le VIH, selon certaines études(13,14). Cependant, d'autres études nous démontrent que parmi les hommes ayant des relations sexuelles avec d'autres hommes (HARSAH), la prévalence du *T. vaginalis* est faible(5,6). Finalement, des cas d'infertilité secondaire à cette infection ont été rapportés(8) ainsi qu'un risque plus élevé de cancer de la prostate(15). La nécessité de bien connaître les tests de laboratoire pour la détection de cette ITSS devient donc importante afin d'avoir une meilleure prise en charge de cette infection.

La transmission du *T. vaginalis* semble jusqu'à maintenant s'effectuer principalement par inoculation intra vaginale ou intra urétrale lors des relations sexuelles(16). Le parasite n'infecte pas de façon commune les mains, la bouche ou le rectum. Malgré le fait que le parasite survit quelques minutes dans l'environnement, hors du corps humain, seulement quelques rares cas prouvés de transmission via des objets inanimés ont été rapportés à ce jour(17). La période d'incubation varie de 3 à 28 jours(17).

4.3 Lignes directrices pour la recherche de l'infection au *T. vaginalis*

4.3.1 QUÉBEC ET CANADA

Les Lignes directrices canadiennes sur les infections transmissibles sexuellement (ITS)(18), le Guide québécois de dépistage des ITSS (ministère de la Santé et des Services sociaux)(19) ainsi que le rapport sur la mise à jour des indications de dépistage des ITSS de l'INSPQ(20) ne recommandent pas de dépistage du *T. vaginalis* chez les personnes asymptomatiques. Aucune précision n'est apportée sur l'utilisation de tests diagnostiques du *T. vaginalis*, autrement que par l'état frais, chez une personne symptomatique. Un traitement épidémiologique est recommandé pour les partenaires sexuels actuels d'une personne avec une infection à *T. vaginalis*, même s'ils n'ont pas de symptômes(18,21). Pour cette infection, il n'est pas nécessaire de soumettre ces personnes à des

tests de dépistage de *T. vaginalis*(18). Par contre, il est recommandé d'évaluer la présence d'indication de dépistage des autres ITSS(21). Le guide québécois sur l'examen médical périodique de l'adulte vivant avec le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) n'inclut pas la recherche du *T. vaginalis* lors de l'examen initial ou annuel de la personne infectée par le VIH(22).

4.3.2 ÉTATS-UNIS

Dans les lignes directrices sur le traitement des ITSS des Centers for Disease Control and Prevention (CDC)(23), il est recommandé de rechercher le *T. vaginalis* chez toutes les femmes symptomatiques avec sécrétions vaginales suspectes et de considérer le dépistage chez les personnes asymptomatiques à haut risque d'infection (partenaires sexuels multiples, travailleurs/euses du sexe, usagers de drogues, histoire d'ITSS) ou dans un contexte de haute prévalence (consultation en clinique ITSS et dans les établissements correctionnels). D'un autre côté, puisqu'à ce jour le bénéfice populationnel en terme de rapport coût/efficacité d'un tel dépistage et du traitement de personnes asymptomatiques est inconnu, il est suggéré que la décision de dépister ou non le *T. vaginalis* repose sur l'épidémiologie locale de cette infection(24).

Chez la femme infectée par le VIH, les CDC recommandent de faire un dépistage à l'entrée en soin ainsi qu'annuellement, en raison des risques accrus de complications(23,24), notamment l'atteinte inflammatoire pelvienne(25). Chez la femme enceinte infectée par le VIH, un dépistage est également recommandé par certains experts(24) à la première visite prénatale afin de réduire le risque de transmission verticale du VIH, qui est accru en présence d'une infection par le *T. vaginalis*(26).

Aucune analyse de laboratoire n'est spécifiquement décrite dans le document.

4.3.3 ROYAUME-UNI

Dans le guide national du Royaume-Uni sur la prise en charge du *T. vaginalis* (27), il est recommandé de rechercher le *T. vaginalis* chez les femmes symptomatiques et de dépister les hommes ayant eu des contacts avec une personne infectée par *T. vaginalis*. Il y est également conseillé de rechercher *T. vaginalis* chez les hommes qui présentent des urétrites persistantes.

4.3.4 CONCLUSION

À la lumière de la littérature révisée, et en attente de recommandations plus précises, il est pertinent de rechercher le *T. vaginalis* chez les femmes symptomatiques qui présentent un syndrome de vaginite et qui ont des facteurs de risque d'ITSS, en particulier en l'absence de diagnostic alternatif tel que la candidose et la vaginose bactérienne. En présence de cervicite, la recherche de *T. vaginalis* devrait être envisagée surtout lorsque la recherche de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* s'avère négative ou en l'absence de réponse au traitement syndromique recommandé pour la cervicite^A. Chez l'homme ayant des facteurs de risque d'ITSS, il est pertinent de rechercher le *T. vaginalis* lorsque les symptômes d'urétrite persistent suite au traitement syndromique recommandé, en l'absence d'infection à *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* et sans autre diagnostic précis^A. Quant aux personnes asymptomatiques, les indications de dépistage ciblé et les avantages d'un dépistage systématique ne sont pas définis au Québec.

^A Selon des publications par des experts et certaines lignes directrices, la recherche de *Mycoplasma genitalium* serait recommandée dans cette situation. Ce pathogène fera l'objet d'un guide distinct (à paraître).

5 Principes

Le diagnostic de l'infection au *T. vaginalis* a longtemps reposé sur des critères cliniques tels que la qualité et la quantité des sécrétions vaginales, la présence d'un col de l'utérus ponctué de taches hémorragiques (col de l'utérus d'aspect framboisé) à l'examen au spéculum, l'odeur d'amine ou de poisson libérée lors d'ajout d'hydroxyde de potassium (KOH) 10 % sur les sécrétions vaginales et le pH alcalin (>6) de celles-ci. Cependant, l'absence de ces signes cliniques est insuffisante pour exclure l'infection(16) puisque ceux-ci peuvent être présents chez seulement 12 % des personnes infectés(28). Le diagnostic par un test de laboratoire est donc nécessaire afin d'augmenter la sensibilité et la spécificité du diagnostic. Les analyses de laboratoire actuellement disponibles sont classifiés en quatre groupes :

- L'examen microscopique (l'état frais et la coloration);
- La culture;
- Les tests de détection antigénique et d'acides nucléiques;
- Les TAAN.

Le tableau 1 résume les différentes caractéristiques de chacun de ces tests.

Tableau 1 Description des méthodes de détection du *T. vaginalis*
(Source : Inspiré de Harp 2011(16))

Analyses de laboratoire		Technique	Délais acceptables (prélèvement-réception au laboratoire)	Temps de réalisation	Spécimen accepté chez l'homme	Sensibilité	Spécificité	Homologations
Examen microscopique	État frais	Visualisation du parasite mobile	≤ 30 minutes idéalement. Max 24 heures TP ²	5 minutes	Oui	44-68 % ¹ (spécimens vaginaux, plus faible pour l'homme)	100 %	Non applicable
	Coloration à l'acridine orange	Visualisation du parasite	≤ 24 heures TP ²	5 minutes		30-60 %	100 %	
Culture		Mise en culture du spécimen et observation microscopique aux 24 heures	≤ 30 minutes idéalement. Max 24 heures TP ²	≤ 96 heures	Oui	40-96 %	100 %	Non applicable
Tests de détection antigénique et d'acides nucléiques	OSOM [®]	Immuno-chromatographie	≤ 24 heures (TP ²) ≤ 36 heures (4 ou -20°)	10 minutes	Non	82-95 %	97-100 %	Santé Canada/ FDA ³
	TV latex agglutination test	Agglutination sur lame	≤ 30 minutes (congélation possible)	10 minutes		55-99 %	92-100 %	Aucune
	BD Affirm [™] VPIII	Sonde d'ADN	72 heures (TP ² ou 2-8°C)	45 minutes		63 %	99,9 %	FDA ³
TAAN	APTIMA <i>Trichomonas vaginalis</i> Assay	TMA ⁴	24 heures à 60 jours 24 mois si congelé	3 heures	Non	95,3-100 %	95,2-100 %	Santé Canada/FDA ³

Analyses de laboratoire		Technique	Délais acceptables (prélèvement-réception au laboratoire)	Temps de réalisation	Spécimen accepté chez l'homme	Sensibilité	Spécificité	Homologations
TAAN (suite)	BD ProbeTec™ TV Qx	SDA ⁵	30 jours (2-30°C) 180 jours (-20°C) Variable selon le spécimen	3 heures	Non	92-99 %	99 %	Santé Canada/FDA ³
	Seeplex® STD6 ACE Detection kit	PCR	24 heures (TP2) 7 jours (2-8°C) Variable selon le spécimen	3 heures	Oui	ND	ND	Santé Canada
	Xpert® TV Cepheid	PCR	3 jours (2-8°C) 2 heures (15-30°C)	1 heure	Oui	92-100 %	97-100 %	Aucune
	BD MAX™ CT/GC/TV	PCR	2-4 heures (2-30°C) 24 heures (2-8°C) Dans le milieu de conservation fourni : 5 jours (2-30°C) 30 jours (-20°C) Variable selon le spécimen	3 heures	Non (<i>T. vaginalis</i>)	94,1 %	99,2 %	Santé Canada
	AmpliVue® Trichomonas Assay	HDA ⁶ (isothermique)	2 jours (25°C) 7 jours (2-8°C)	45 minutes	Non	98,3 %	98,3 %	Aucune

1 Données de sensibilité lorsque le test est réalisé dans les meilleurs délais possible, après quoi la sensibilité décroît rapidement.

2 TP : Température de la pièce.

3 FDA : Food and Drug Administration.

4 TMA : Amplification médiée par la transcription (Transcription-Mediated Amplification).

5 SDA : Amplification par déplacement de brin (Strand Displacement Amplification).

6 HDA : Amplification dépendante de l'hélicase (Helicase Dependent Amplification).

6 Échantillon(s)

6.1 Principes généraux

La sensibilité des tests de détection du *T. vaginalis* est dépendante de la qualité du prélèvement, de sa conservation et de son transport au laboratoire dans des conditions optimales. De plus, selon la méthode diagnostique utilisée, certains spécimens sont plus ou moins adéquats (voir tableau 2).

Chez la femme :

Les spécimens sur lesquels la recherche de *T. vaginalis* peut être effectuée sont :

- L'endocol;
- Les spécimens recueillis en cytologie liquide;
- Les sécrétions vaginales prélevées par le clinicien ou autoprélevées par la patiente en milieu de soins de santé;
- Les spécimens urétraux;
- L'urine.

Il est important de noter que tous les types de spécimens ne sont pas nécessairement appropriés pour tous les types d'analyses; certains spécimens seront à privilégier en fonction du test utilisé. De tous les types d'échantillons possibles, l'urine semble être l'échantillon avec la plus faible sensibilité(29).

Chez l'homme :

Les spécimens sur lesquels la recherche de *T. vaginalis* peut être effectuée sont :

- L'urine;
- L'écouvillon urétral.

Le sperme et les sécrétions prostatiques peuvent également constituer des spécimens adéquats chez l'homme. Malheureusement, aucun spécimen n'est encore approuvé pour les méthodes de détection antigénique et d'acides nucléiques (OSOM®, BD Affirm™ VPIII). L'urine est le spécimen le plus fréquemment recueilli pour l'examen direct et pour la culture, mais certains auteurs ne le préconisent pas dû à la faible quantité de *T. vaginalis* présent dans l'urine(29). Par contre, une étude a démontré une sensibilité similaire (67 %) entre la culture de l'urine et le spécimen urétral(30). Enfin, la mise en culture de ces deux spécimens augmente significativement la sensibilité du diagnostic du *T. vaginalis* (98 %)(31).

Il est encore à ce jour incertain si le rectum peut être un réservoir de *T. vaginalis*. Le bénéfice de ce site de prélèvement demeure inconnu et n'est donc pas recommandé. Pour ces mêmes raisons, il n'est pas recommandé de rechercher le *T. vaginalis* dans les spécimens pharyngés(23).

Tableau 2 Spécimens adéquats en fonction de la méthode diagnostique

Types de spécimens	Microscopie	Tests de détection antigénique et d'acides nucléiques	Culture	TAAN
Écouvillon endocervical	Non	Non	Non	Tous, sauf AmpliVue® Trichomonas Assay
Cytologie liquide	Non	Non	Non	APTIMA Trichomonas vaginalis Assay, Seeplex®
<u>Écouvillon de sécrétions vaginales</u>				
Autoprélèvement	Oui	Oui	Oui	Xpert® TV, ProbeTec™ TV Qx, BD MAX™ CT/GC/TV
Prélèvement par le clinicien	Oui	Oui	Oui	APTIMA Trichomonas vaginalis Assay, Xpert® TV, ProbeTec™ TV Qx, BD MAX™ CT/GC/TV
<u>Urine</u>				
Homme	Oui	Non	Oui	Seeplex®, Xpert® TV, APTIMA Trichomonas vaginalis Assay, Seeplex®, Xpert® TV, ProbeTec™ TV Qx, BD MAX™ CT/GC/TV
Femme	Non	Non	Non	Seeplex®, Xpert® TV, ProbeTec™ TV Qx, BD MAX™ CT/GC/TV
<u>Écouvillon urétral</u>				
Homme	Oui	Non	Oui	Seeplex®
Femme	Oui	Non	Oui	Seeplex®
Sécrétions prostatiques	Non	Non	Oui ¹	Non disponible
Sperme	Non	Non	Oui ¹	Non disponible

¹ Il est à noter qu'un écouvillon urétral chez l'homme serait préférable, en raison d'une plus grande sensibilité.

6.2 Écouvillons

Un écouvillon est nécessaire pour faire le prélèvement de sécrétions vaginales, urétrales et endocervicales. Les écouvillons acceptables pour le prélèvement dépendent du test diagnostique qui sera utilisé. Il importe donc au personnel de vérifier la méthode diagnostique préconisée par le laboratoire où seront soumis les spécimens. Pour la culture et l'examen direct, les écouvillons de coton sont acceptables, mais ils ne sont pas recommandés pour le test de détection antigénique (OSOM®) et les TAAN. L'écouvillon de Dacron ou de rayonne avec tige en plastique (et non en aluminium) est donc préférable. Il est à noter que pour la plupart des TAAN (APTIMA Trichomonas vaginalis Assay, Xpert® TV, ProbeTec™ TV Qx, BD MAX™ CT/GC/TV), les prélèvements doivent être effectués avec les écouvillons de la trousse fournis ou distribués par la compagnie. Seules les technologies Seeplex® STD6 et AmpliVue® permettent l'utilisation de différents écouvillons. Le tableau 3 présente une liste d'écouvillons acceptables en fonction des différentes analyses de laboratoire disponibles.

Tableau 3 Écouvillons acceptables en fonction de l'analyse de laboratoire
(Source : monographie des différentes trousse)

Analyses de laboratoire		Écouvillon	
Examen microscopique		Coton, dacron ou rayonne	
Culture		Coton, dacron ou rayonne	
Tests de détection antigénique et d'acides nucléiques	OSOM®(33)	Fourni dans la trousse (rayonne stérile sur tige de plastique) Écouvillon : <i>BD BBL™ culture swab™</i> (stérile ou en milieu liquide Stuarts)	
	BD Affirm™ VPIII(34)	Fourni dans la trousse	
TAAN	APTIMA <i>Trichomonas vaginalis</i> Assay(35)	Endocervicaux	<i>APTIMA Specimen Transfer Kit</i> (à utiliser avec les échantillons gynécologiques collectés dans la solution PreservCyt®)
		vaginaux	<i>APTIMA Unisex Swab Specimen Collection Kit</i> <i>APTIMA Vaginal Swab Specimen Collection Kit</i>
		Urine	<i>APTIMA Urine Collection Kit</i>
	BD ProbeTec™ TV Qx(36)		Fourni dans la trousse
	Xpert® TV Cepheid(37)		<i>Xpert Vaginal/Endocervical Specimen Collection kits</i> (Catalog #: SWAB/A-50) <i>Xpert Urine Specimen Collection kits</i> (Catalog #: URINE/A-50)
	Seeplex® STD6 ACE Detection kit(38)	Urine	Contenant propre de polypropylène
		Génitaux	Dacron, rayonne, alginate de calcium sur tige de plastique <i>Swab Specimen Collection Kit</i> et <i>Cervical Sampler</i> (Digene Corporation) <i>STD Swab Specimen Collection and Transport Kit</i> (Roche, Inc.) SPG CTM (<i>Chlamydia transport medium</i> , MicroTest, Inc.) <i>Bartels Chlam Trans™</i> (Bartels, Inc.) <i>IDEIA™ Chlamydia specimen Collection Kit</i> (DakoCytomation) <i>Flocked swabs</i> (Copan)
		Cytologie liquide	ThinPrep® (HOLOGIC® Inc.) SurePath™ (BD)

Analyses de laboratoire			Écouvillon
TAAN (suite)	BD MAX™ CT/GC/TV(39)	Urine	Contenant propre
		Endocervical/vagin	<i>BD MAX™ UVE Specimen Collection Kit</i> (BD, Cat.No.443420)
	AmpliVue® <i>Trichomonas Assay</i> (40)	Vagin	BD BBL™ CultureSwab™

6.2.1 TESTS DE DÉTECTION ANTIGÉNIQUE ET D'ACIDES NUCLÉIQUES

Pour le test de détection antigénique OSOM®, il est préférable d'utiliser l'écouvillon en rayonne stérile sur tige de plastique fourni avec la trousse ou les écouvillons BD BBL™ CultureSwab™ (stérile ou en milieu liquide Stuarts). En effet, la tige M40 de COPAN ou tout autre écouvillon avec milieu de transport avec gel d'agar pourrait entraîner des résultats faussement négatifs(33). Le test a seulement été validé avec le milieu liquide de Stuarts. Toutefois, dans le cas où un prélèvement est tout de même effectué avec un milieu contenant un gel, il serait possible d'utiliser l'émulsion ayant servi à l'état frais pour faire un prélèvement avec l'écouvillon de la trousse OSOM® et ainsi suivre les étapes subséquentes sans causer d'interférence (directives du fabricantier)^B. L'utilisation de l'ESwab™ de COPAN, s'est avérée favorable pour le recouvrement du *T. vaginalis*(41) et pourrait être envisageable après validation par le laboratoire.

Pour le test de détection d'acides nucléiques Affirm™ VPIII BD, le prélèvement doit être effectué à l'aide du système de transport à température ambiante, le nécessaire de prélèvement d'échantillon ou les écouvillons fournis dans la trousse de prélèvement Affirm™ VPIII.

6.2.2 TAAN

La plupart des méthodes utilisant les TAAN nécessitent un prélèvement à l'aide d'une trousse commerciale fournie ou suggérée par le fabricantier. Il est recommandé au lecteur de vérifier avec la fiche technique du test qui sera utilisé.

6.2.3 AUTRES SPÉCIMENS

L'urine doit être prélevée directement dans un contenant stérile sans agent de conservation.

6.3 Milieux de transport

Pour l'examen microscopique et la culture, il est important de mentionner que les spécimens doivent être transportés au laboratoire le plus rapidement possible. Les écouvillons comprenant des spécimens tels que les sécrétions vaginales ou urétrales peuvent être transportés dans le milieu « Amies » à la température de la pièce. Les milieux de transport contenant du charbon sont proscrits pour la coloration, car les particules entraînent des artéfacts qui compromettent la visualisation des microorganismes(42). Une étude a évalué l'utilisation de l'ESwab™ (COPAN) et le milieu de transport UTM à la température de la pièce(41). Aucune perte de sensibilité dans le recouvrement en culture du *T. vaginalis* n'a été démontrée, comparativement à l'inoculation directement au point de service, auprès du patient, dans un système de culture InPouch™ TV.

Pour le test antigénique OSOM®, l'écouvillon fourni dans la trousse de prélèvement doit être placé dans un tube propre et sec, en plastique ou en verre. Pour le test Affirm™ VPIII, l'écouvillon est directement inséré dans le tube contenant le milieu nécessaire, fourni avec la trousse.

Pour ce qui est des trousse disponibles commercialement pour la recherche de *T. vaginalis* par TAAN, il est recommandé de suivre les procédures et d'utiliser les milieux de transport proposés dans les fiches techniques des différents fabricantiers. Pour les spécimens obtenus en cytologie en milieu liquide, les milieux ThinPrep® de Hologic et SurePath® de BD ont été validés et s'avèrent

B Communication personnelle, Michelle Monahan, B.S. MT Manager Global Product Services, CORE Products – Americas Sekisui Diagnostics, 30 septembre 2014.

adéquats pour la technologie Seeplex® (Seegene). Seul le milieu PreservCyt® est approuvé pour le système APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay (Gen-Probe).

6.4 Prélèvement, conservation, transport du spécimen

Les étapes suivantes sont nécessaires pour la qualité d'un **bon prélèvement** (se référer au tableau 2 pour déterminer quel type de prélèvement est adéquat pour la technique utilisée).

- **Sécrétions vaginales** : écouvillonner la muqueuse vaginale durant l'examen pelvien au spéculum. Il est à noter que l'utilisation préalable de solution d'iode ou du lubrifiant vaginal n'est pas recommandée, car ces substances pourraient interférer avec les résultats du test antigénique (OSOM®). De plus, l'utilisation de spermicide peut également inhiber la croissance du *T. vaginalis*(42). Dans le cas de l'autoprélèvement vaginal, la patiente doit être bien renseignée sur la méthode à utiliser, afin de réaliser le prélèvement de toute la paroi de la muqueuse vaginale par une rotation de 360 degrés. À l'exception des TAAN, les spécimens doivent être transportés le plus rapidement possible au laboratoire pour éviter une perte de sensibilité des différents tests diagnostiques (se référer aux prochaines sections pour les caractéristiques associées à chaque méthode).
- **Endocervical** : puisque seuls les TAAN sont adéquats pour ce type de spécimen, les prélèvements devraient être effectués selon les directives de chacune des compagnies offrant ce test.
- **Cytologie liquide**: seuls certains TAAN sont approuvés pour ce type de prélèvement. La technologie Seeplex® (Seegene) permet la détection du *T. vaginalis* dans les milieux ThinPrep® de Hologic et SurePath® de BD alors que la trousse APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay (Gen-Probe) le permet dans le milieu PreservCyt®. Il est nécessaire de suivre les fiches techniques de ces fabricants pour le prélèvement des spécimens endocervicaux ainsi que leurs conditions de transport et de conservation.
- **Urétral chez l'homme** : prélever l'exsudat urétral plus d'une heure après la dernière miction, à l'aide d'un écouvillon. Un seul TAAN est approuvé pour ce type de prélèvement (Seeplex®) et les procédures du fabricant devront être suivies.
- **Urine** : il n'est pas recommandé de demander au patient de nettoyer la région génitale avant le prélèvement(43). L'urine de premier jet, avec ou sans massage prostatique, au minimum plus d'une heure après la dernière miction (pour certains TAAN jusqu'à plus de 2 heures après la dernière miction), est prélevée directement dans un contenant stérile sans agent de conservation. Vingt à 60 mL d'urine sont habituellement requis. Chez la femme, il est préférable d'éviter l'urine lorsque le TAAN Seeplex® est utilisé, car il pourrait y avoir dégradation de l'acide désoxyribonucléique (ADN) avec le temps et une certaine perte de sensibilité de la méthode. L'urine sera transportée dans un contenant stérile sans agent de conservation et conservée à la température de la pièce pour un maximum de 24 heures. Pour l'examen direct et la culture, l'urine doit être centrifugée à 500 g pendant cinq minutes et le sédiment élué dans 0,5 mL ou moins de saline pour l'observation microscopique directe. Lorsqu'une culture est effectuée, le sédiment est directement inoculé dans les milieux de culture et incubé à 37°C.
- **Sperme et fluide prostatique** : ces spécimens sont prélevés à l'aide d'un écouvillon à la suite d'un massage prostatique.

6.4.1 EXAMEN DIRECT À L'ÉTAT FRAIS

Il est important que le spécimen soit observé immédiatement à la suite du prélèvement pour préserver l'intégrité du parasite. Puisqu'en pratique, le matériel nécessaire à cette analyse n'est que très rarement disponible dans le bureau des médecins, le spécimen devra être placé dans un milieu de transport « Amies » et conservé à la température de la pièce pour un maximum de 24 heures(42). Par contre, des études nous démontrent que des délais de plus de 10-30 minutes entre le prélèvement et l'examen microscopique peuvent réduire significativement la sensibilité du test(44). Les spécimens ne devraient pas être réfrigérés, car de basses températures sont associées à un effet délétère sur le parasite ainsi qu'à une perte de mobilité qui est essentielle à son identification. Il est donc fortement conseillé de rejeter tous les spécimens parvenus au laboratoire dans un délai supérieur à 24 heures ainsi que les spécimens réfrigérés.

6.4.2 COLORATION PERMANENTE

Le spécimen est élué dans une petite quantité (moins de 1,0 mL) de chlorure de sodium (NaCl) 0,85 %. Une goutte est déposée sur une lame qui sera séchée à l'air ambiant. La lame pourra alors être transportée au laboratoire. Si la lame ne peut être directement échantillonnée, l'écouvillon devra être transporté dans un milieu « Amies » et peut être conservé pour un délai maximal de 24 heures avant la procédure. Les spécimens parvenus au laboratoire dans un délai supérieur à 24 heures doivent être rejetés.

6.4.3 TESTS DE DÉTECTION ANTIGÉNIQUE ET D'ACIDES NUCLÉIQUES

Pour le test de détection antigénique OSOM®, le spécimen peut être transporté dans un tube de plastique ou de verre à la température de la pièce et un délai de 24 heures est acceptable. Le spécimen peut également être conservé à 4 ou -20°C pour 36 heures. Il est à noter que l'éluât ayant servi à l'examen direct d'un prélèvement vaginal peut également être utilisé pour le test OSOM®. Pour ce qui est de la technique Affirm™ VPIII, le spécimen doit être directement introduit dans le système de transport à température ambiante Affirm™ VPIII, et ce, dans un délai n'excédant pas une heure à la température de la pièce ou quatre heures à 4°C. Il est mentionné que le délai maximal entre le prélèvement de l'échantillon et sa préparation ne doit pas excéder 72 heures à la température de la pièce. Le système peut également être transporté dans des conditions réfrigérées (entre 2 et 8°C).

6.4.4 CULTURE

Il est important que le spécimen soit inoculé directement dans le milieu approprié (Diamonds modifié, Trichosel ou Hollanders) le plus rapidement possible afin d'éviter que le spécimen ne se dessèche. L'utilisation du système de culture InPouch™ TV (BioMed Diagnostics) peut contrevenir aux délais inévitables puisque le système peut servir à la fois de transport et de milieu de culture. Une fois la poche inoculée, elle peut rester à la température de la pièce pour une période maximale de 48 heures(45). Selon un document de l'OMS, il est possible de proposer aux sites qui n'ont pas accès à ces milieux de culture de placer les écouvillons dans des tubes contenant du milieu « Amies »(43). Il est mentionné que ceux-ci pourraient être conservés à 4°C jusqu'à l'arrivée des spécimens au laboratoire desservant, et ce, dans les 24 heures suivant le prélèvement. D'un autre côté, tel que mentionné ci-haut, la réfrigération inhibe la mobilité du *T. vaginalis* et a un effet délétère sur le microorganisme(42). Finalement, une autre référence propose que le milieu « Amies » gel agar puisse maintenir la viabilité de la culture conservée à la température de la pièce pour 24 heures (± 6 heures) avant l'inoculation du spécimen dans le système de culture InPouch™TV(46).

À la lumière de ces données, il est suggéré :

- D'éviter de réfrigérer le spécimen;
- De mettre un commentaire indiquant que la sensibilité du test pourrait être diminuée, si une culture estensemencée avec un spécimen reçu réfrigéré;
- D'inoculer le spécimen dans les milieux appropriés dans les 24 heures suivant le prélèvement.

6.4.5 TAAN

Les TAAN sont les seules méthodes de détection du *T. vaginalis* qui permettent un délai prolongé entre le prélèvement et le début de la procédure. Cependant, les conditions de transport, de conservation et les délais acceptables sont très variables selon la technique utilisée et selon le spécimen à analyser. De plus, il est possible de conserver les spécimens dans les milieux d'extraction fournis pour des périodes d'autant plus prolongées et dans des conditions propres à chacune des méthodes. Les directives précises de celles-ci doivent donc être respectées et il est recommandé de vérifier auprès du laboratoire serveur dans quelles conditions le spécimen doit être conservé et transporté selon le type d'appareil utilisé.

6.5 Critères de rejet

- Absence d'identification et/ou discordance avec les informations contenues sur la requête.
- Délai de transport au-delà des limites acceptables établies par le laboratoire.
- Dessiccation évidente, à l'œil nu, du milieu de transport.
- Spécimen inadéquat tel qu'établi par le laboratoire.

7 Sécurité

Le *T. vaginalis* peut théoriquement être transmis au personnel de laboratoire par exposition des muqueuses à des gouttelettes et par inoculation parentérale accidentelle. Aucun cas de transmission chez le personnel de laboratoire n'a été signalé jusqu'à présent.

Les consignes de biosécurité de confinement de niveau 2 en vigueur dans l'établissement doivent être respectées :

- Porter une blouse de laboratoire et des gants lors de la manipulation des échantillons.
- Éviter la production d'aérosols.

Les procédures détaillées sont présentées dans la Fiche Technique Santé-Sécurité disponible sur le site internet : <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/trichomonas-fra.php>

8 Équipement et matériel

Spécifique à chaque technique.

9 Contrôle de qualité

Spécifique à chaque technique.

10 Procédure

10.1 Examen microscopique à l'état frais

L'examen à l'état frais peut être effectué sur des spécimens vaginaux, des exsudats urétraux ou du sédiment urinaire. De par son accessibilité, il constitue la méthode diagnostique la plus commune et un résultat peut même être émis directement dans le bureau du médecin, et ce, en combinaison avec le diagnostic de la vaginose bactérienne, si le médecin possède le matériel nécessaire. En effet, un sondage effectué auprès des laboratoires de la province de Québec en 2012 a démontré que ce test était offert dans 72 % des laboratoires(47). Cependant, l'examen direct à l'état frais est qualifié comme étant de complexité modérée, puisqu'il nécessite une certaine expertise pour l'identification du parasite au microscope(48). Un résultat positif est basé sur la présence du parasite vivant, qui est confirmé par la mobilité de ce dernier.

Voici brièvement les caractéristiques importantes à considérer pour faire l'identification du *T. vaginalis* :

- Le *T. vaginalis* est de taille variable, mais il mesure en moyenne 10 µm de longueur et 7 µm de largeur. Il prend une forme ovale ou de poire (figure 1). Il possède cinq flagelles, dont quatre sont situées sur sa partie antérieure. Le cinquième flagelle est incorporé dans la membrane ondulée.
- La présence de *Pentatrichomonas hominis* intestinal (protozoaire qui infecte l'humain, mais considéré non pathogène) peut causer un résultat faussement positif, car cet organisme est similaire au *T. vaginalis* et peut être confondu avec ce dernier. Il faut donc éviter toute contamination avec du matériel fécal.
- La vaginite inflammatoire desquamative peut également être difficile à distinguer de l'infection au *T. vaginalis*. Le prélèvement de la patiente affectée contient habituellement des cellules parabasales et plusieurs globules blancs avec mouvement brownien qui peuvent être confondus avec le *T. vaginalis*^C. La présence de flagelles est toutefois l'élément distinctif à rechercher.

La sensibilité de l'examen à l'état frais, lorsque comparée à des méthodes moléculaires hautement sensibles, varie de 44 à 68 %(49,50). Cette faible sensibilité est grandement due au fait que le *T. vaginalis* est hautement susceptible aux conditions de transport et il perd sa mobilité à des températures inférieures à 22°C, ce qui est primordial pour le diagnostic de l'infection. La meilleure sensibilité est obtenue lorsque les plus courts délais de transport et d'observation sont respectés. De plus, la détérioration du parasite entraîne une rétraction de ses flagelles, son arrondissement, et puisque la taille du parasite est similaire à celle des globules blancs, il peut être faussement identifié comme un globule blanc. Finalement, la charge parasitaire peut être sous le seuil de détection du microscope. Certains auteurs affirment même que cette méthode ne devrait pas être utilisée chez l'homme à cause d'une charge parasitaire souvent trop faible(29). L'examen microscopique des spécimens demeure tout de même une méthode très peu coûteuse et a l'avantage de fournir un résultat rapidement.

C Communication personnelle, Marc Steben, médecin conseil, février 2016.

Figure 1 *T. vaginalis* observé au microscope (40X) à l'état frais

(Source : Laboratoire HEJ, CHU de Québec, 2015)



10.2 Coloration permanente

L'utilisation d'une coloration permanente peut être justifiée pour l'identification du *T. vaginalis* lorsque l'état frais n'est pas disponible. Le Giemsa (voir figure 2) et le Papanicolaou sont les colorations les plus fréquemment décrites, mais sont peu utilisées en microbiologie pour ce diagnostic. Le *T. vaginalis* peut également être identifié fortuitement par la coloration de Gram réalisée pour le diagnostic de la vaginose bactérienne (figure 3).

De façon générale, la coloration au Giemsa est subjective et largement dépendante de la qualification de l'examineur. Les *T. vaginalis* peuvent être endommagés durant le processus de coloration et ainsi mener à une mauvaise interprétation des lames. La sensibilité rapportée pour cette méthode, lorsqu'un microbiologiste expérimenté en parasitologie réalise l'observation au microscope, est de 52 %, comparativement à la culture(51).

Le *T. vaginalis* peut être rapporté fortuitement lors d'une coloration de Papanicolaou provenant de spécimens du col utérin (cytologie cervico-vaginale ou Pap test). Cette méthode n'est pas reconnue pour le diagnostic du *T. vaginalis* à cause de sa faible sensibilité (44-79 %) et spécificité (83-99 %). Cependant, la cytologie liquide semble tout de même intéressante pour l'identification microscopique du *T. vaginalis*. Les sensibilités rapportées varient entre 60 et 96 % et les spécificités entre 98 et 100 %(52,53) ce qui suggère que le diagnostic pourrait être porté sur ce prélèvement et justifierait un traitement. Par contre, la cytologie liquide n'est pas encore considérée comme étant un test diagnostic pouvant être utilisé pour la détection de *T. vaginalis*(23).

Figure 2 Coloration Giemsa (100X) pour l'identification du *T. vaginalis*

(Source : Nicole Courcy, Laboratoire de l'Hôpital de l'Enfant-Jésus (HEJ), CHU de Québec, 2016)

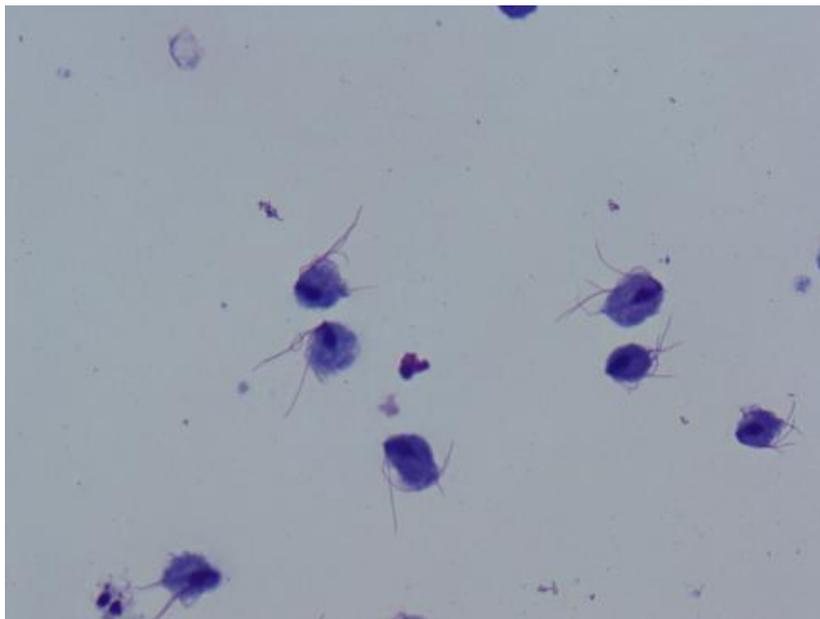
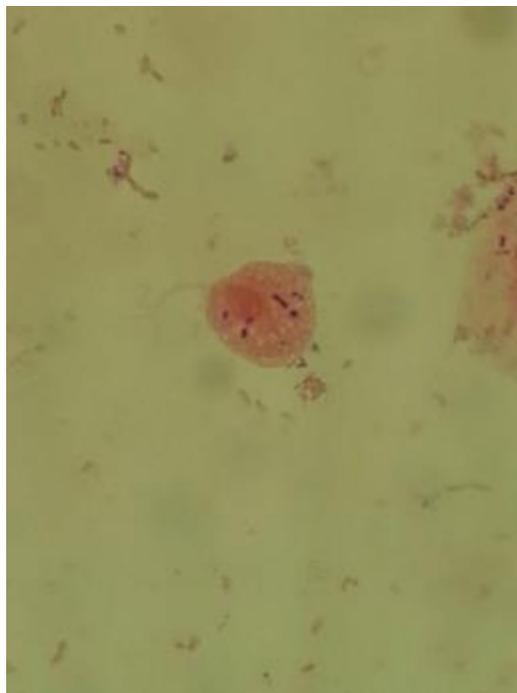


Figure 3 Coloration de Gram (100X) pour l'identification du *T. vaginalis*

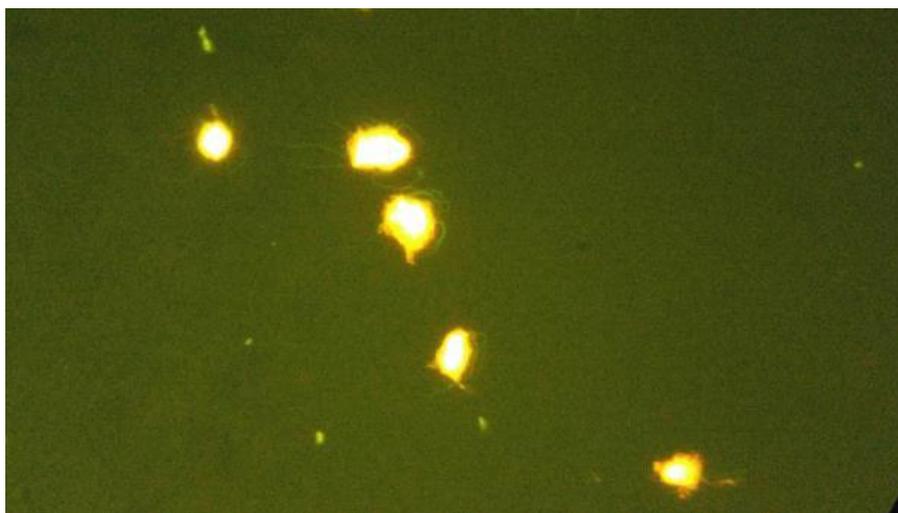
(Source : Jonathan Casavant, Laboratoire de l'installation Hôpital Maisonneuve-Rosemont du CIUSSS de l'Est de l'île de Montréal, avril 2015)



L'acridine orange, un colorant fluorescent non spécifique de l'acide nucléique peut être utilisé pour le diagnostic du *T. vaginalis*. Les trophozoïtes sont de coloration rouge brique avec un noyau jaune-vert en forme de banane (figure 4). Les cellules épithéliales et les leucocytes sont de couleur vert pâle avec des noyaux verts. Les levures et bactéries sont colorées en rouge, mais puisqu'elles sont significativement plus petites et de morphologie différente, il est facile de les distinguer des *T. vaginalis*(51). Cette technique est facile d'accès, simple à utiliser et assez spécifique (99 %). Le seuil de détection rapporté est de trois *Trichomonas*/mL, mais elle comporte tout de même une faible sensibilité (30-60 %)(51,54). Lors du sondage effectué auprès des laboratoires de la province de Québec en 2012, seulement 5 % des laboratoires utilisaient cette méthode pour le diagnostic du *T. vaginalis*(47).

Figure 4 Coloration par l'acridine orange (100X) pour l'identification du *T. vaginalis*

(Source : Maggie Rancourt, Laboratoire HEJ, CHU de Québec, 2016)



10.3 Tests de détection antigénique

De façon à pallier aux inconvénients reliés aux méthodes diagnostiques traditionnelles (faible sensibilité, expertise nécessaire), plusieurs méthodes de détection antigénique ont été développées pour le diagnostic de l'infection génitale au *T. vaginalis*(49,55,56). Deux tests sont actuellement commercialisés :

- OSOM® Trichomonas Rapid Test (Sekisui Diagnostics, California, USA);
- *T. vaginalis* latex agglutination test (Kalon Biological Limited, Surrey, UK).

Seul le OSOM® est approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) et Santé Canada et ce, sur des spécimens vaginaux de femmes symptomatiques ou soupçonnées d'avoir une exposition au *T. vaginalis*. Le test d'agglutination n'est pas distribué au Canada. Des tests ELISA ont également été validés(57), mais à ce jour, aucun n'est disponible commercialement.

Jusqu'à maintenant, aucune de ces méthodes n'a été approuvée pour le diagnostic du *T. vaginalis* chez l'homme.

Voici une brève description des principes de ces tests. Pour de plus amples informations, il est possible de consulter les fiches techniques propres aux manufacturiers.

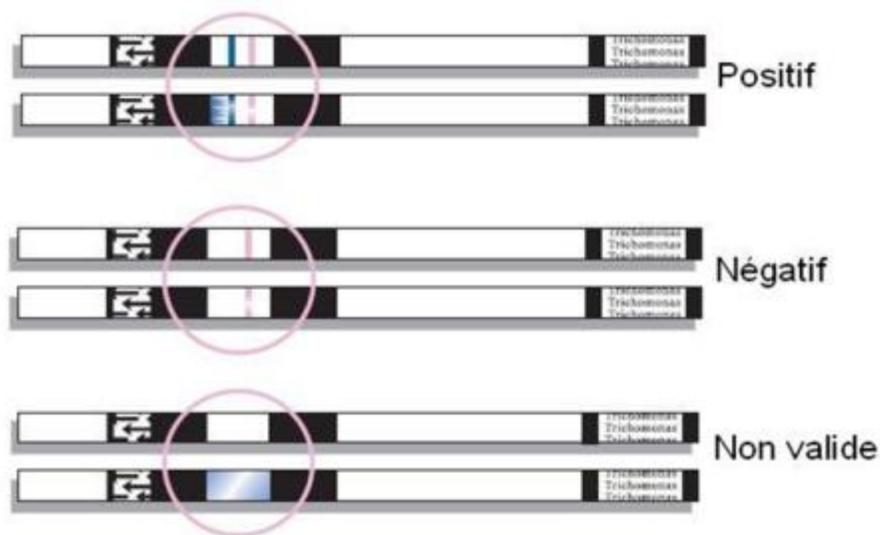
10.3.1 OSOM® TRICHOMONAS RAPID TEST

Cette méthode simple et rapide est approuvée en tant que *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (CLIA), donc utilisable en tant que test au point de service (POC). Elle consiste en une méthode immunochromatographique sur bandelette pour la détection d'antigènes spécifiques au *T. vaginalis*. Un prélèvement vaginal est effectué en utilisant l'écouvillon fourni par le manufacturier. Les tiges d'autres commerçants ne sont pas recommandées, car elles ne sont pas validées, particulièrement celles contenant du coton ou composées d'une tige en bois, puisque ces composés pourraient interférer avec la technique. En présence du tampon fourni, il y a solubilisation des protéines du *T. vaginalis*, mise en contact avec la bandelette puis lecture de celle-ci.

Les résultats sont interprétés selon l'apparition d'une ligne rouge référée au contrôle et la présence ou non d'une ligne bleue associée à la présence d'antigènes du *T. vaginalis*. Le test peut être lu comme étant positif, négatif ou non valide (figure 5). En présence d'un résultat non valide, le test doit être repris. Les sensibilité et spécificité rapportées pour ce test sont de 82-95 % et de 97-100 % respectivement (49,58). Les avantages majeurs de cette technique sont la rapidité d'obtention du résultat (moins de 30 minutes), la simplicité d'exécution, la flexibilité au niveau du délai de transport des spécimens (24 heures) et le fait qu'aucun matériel supplémentaire n'est requis pour effectuer le test. Au Québec, 7 % des laboratoires ont rapporté utiliser cette technique de détection lors du sondage effectué auprès des laboratoires de la province de Québec en 2012(47).

Le code d'analyse du « Répertoire québécois et système de mesures des procédures de biologie médicale 2015-2016 » est le 41171 (valeur pondérée 10,3)(59,60).

Figure 5 Exemples de résultats obtenus avec le test OSOM® Trichomonas Rapid Test
(33)



10.3.2 TV LATEX AGGLUTINATION TEST

Le TV latex agglutination test n'est pas approuvé par la FDA, et n'est pas commercialisé au Canada. Il est cependant utilisable en tant que « *Research Use Only* » (RUO). Cette technologie utilise des billes de latex liées à des anticorps pour la détection d'antigènes du *T. vaginalis*. Ces billes sont mises en contact avec l'éluat du spécimen vaginal prélevé par écouvillon et disposé sur une lame. La présence du *T. vaginalis* entraîne donc l'agglutination des billes de latex et celle-ci est évaluée après trois minutes (résultats possibles : négatif, positif 1+, 2+ ou 3+). En plus du matériel fourni, ce test

nécessite une lame, des tiges stériles pour le prélèvement et des micropipettes. Aucune spécification n'est mentionnée quant aux causes possibles d'interférence en fonction du type de tige ou du milieu de transport utilisé. Les sensibilité et spécificité rapportées pour ce test sont de 55-99 % et de 92-100 %, respectivement(63-65). Cette analyse possède les mêmes avantages et limites que le test OSOM®.

10.4 Test de détection des acides nucléiques

Un autre test, BD Affirm™ VPIII (commercialisé par Becton Dickinson), sans être une méthode antigénique, utilise des sondes d'ADN pour détecter des acides nucléiques des espèces de *Candida*, de *Gardnerella vaginalis* et de *T. vaginalis*. Il est approuvé par la FDA et par Santé Canada pour le diagnostic de ces trois infections sur des spécimens vaginaux de femmes symptomatiques. Cette méthode n'a été approuvée pour le diagnostic du *T. vaginalis* chez l'homme.

Ce test d'identification d'acides nucléiques est basé sur le principe d'hybridation des acides nucléiques. Deux sondes monocaténaïres (de capture et de coloration) différentes pour chacun des microorganismes détectables (*Candida* sp, *Gardnerella vaginalis* et *T. vaginalis*) sont utilisées. Une carte d'analyse comprenant des puits et des pastilles sert de support à l'hybridation des sondes aux acides nucléiques des pathogènes, à la capture de celles-ci, à la coloration par un conjugué enzymatique et à des lavages. Le flot des réactions est dirigé par le processeur BD MicroProbe. L'étape finale consiste à lire les résultats de la coloration sur chaque pastille des microorganismes identifiables (figure 6). Le temps requis pour procéder à l'analyse et obtenir les résultats est d'environ une heure.

L'avantage principal de cette méthode est la possibilité de détecter d'autres pathogènes associés aux infections vaginales (*G. vaginalis*, *Candida* sp). Un autre avantage est la flexibilité du délai entre le prélèvement et la préparation de l'échantillon (72 heures). Cependant, la méthode est plus complexe et donc moins souhaitable en tant que POC. Outre le matériel fourni, la procédure nécessite un système de transport à la température de la pièce Affirm™ VPIII, le nécessaire au prélèvement d'échantillon Affirm™ VPIII, un processeur MD MicroProbe, un bloc de lyse BD MicroProbe, des pipettes et un thermomètre. La sensibilité analytique rapportée du test varie d'un pathogène à l'autre, soit de moins de 1×10^4 cellules pour le *Candida*, 2×10^5 CFU pour le *G. vaginalis* et de 5×10^3 pour le *T. vaginalis*. Les sensibilité et spécificité rapportées sont de 63 % et 99,9 %, respectivement pour le diagnostic du *T. vaginalis*(61). Selon le manufacturier, il n'y aurait pas d'interférence causée par l'utilisation de crèmes lubrifiantes, de douches vaginales ou de spermicides. Au Québec, aucun laboratoire n'a rapporté utiliser cette technique de détection lors du sondage effectué auprès des laboratoires de la province de Québec en 2012(47).

Figure 6 Exemples de résultats obtenus avec le test Affirm™ VPIII

(34,62)



10.5 Culture

La culture est encore considérée comme étant la méthode de référence pour le diagnostic du *T. vaginalis*. Au Québec, 30 % des laboratoires sondés en 2012 utilisaient la culture comme méthode diagnostic du *T. vaginalis*(47). Cette méthode conserve les contraintes associées à l'identification du parasite en microscopie, mais la culture a l'avantage d'accroître la sensibilité de l'examen direct. En effet, chez la femme, la sensibilité se situe entre 75 % et 96 %, et se situe entre 40 et 56 % chez l'homme(50,56). La spécificité est de 100 % dans les 2 cas(50,56). Le *T. vaginalis* est un parasite anaérobique. Plusieurs milieux favorables à sa culture ont été conçus : les milieux Trichosel, Hollander, et Diamond's modifié sont les plus décrits. Ce dernier semble être le plus utilisé. Des systèmes de culture ont également été développés (InPouch™TV, BioMed Diagnostics, et le système Emyrean Diagnostics, Montain View) et permettent l'inoculation directe, le transport, la culture et l'examen direct au microscope.

Voici une brève description des étapes à suivre pour la mise en culture du spécimen :

- À la suite du prélèvement, le spécimen doit être immédiatement inoculé dans le milieu de culture qui sera placé dans un tube de verre. On doit s'assurer que l'écouvillon n'est pas sec avant l'inoculation du milieu. Casser la tige en utilisant des ciseaux stériles si nécessaire et le laisser dans le tube.
- L'urine doit être centrifugée à 250 g pour 10 minutes(42) ou à 500 g pour 5 minutes(43). Le surnageant est alors aspiré et le sédiment inoculé dans le milieu de culture.
- Incuber les tubes à 37°C avec un angle de 45 degrés pour une période minimale de 72 à 96 heures.
- Examiner au microscope la longueur entière du tube à la recherche de *T. vaginalis* mobiles libres dans le milieu ou accrochés à la paroi du tube. Aucun résultat ne doit être rapporté comme négatif avant 96 heures d'incubation(42).
- Un contrôle de croissance devrait toujours être utilisé en parallèle (*T. vaginalis* ATCC 30001).

Habituellement, les cultures sont positives pour la femme dans les 3 jours suivant l'inoculation. L'avantage principal de la culture est la possibilité de faire l'identification du *T. vaginalis* sur une grande variété de spécimens urogénitaux dont ceux obtenus chez l'homme. Chez la femme, les sécrétions vaginales sont à privilégier puisqu'elles sont plus sensibles que l'urine(56,66,67). Chez l'homme, l'écouvillon urétral est plus sensible que l'urine(29) et il est à noter que la culture de plusieurs sites augmente significativement le nombre d'infections identifiées. La culture possède également l'avantage d'être plus sensible que l'examen direct et elle est moins coûteuse que les méthodes diagnostiques plus modernes. D'un autre côté, c'est une méthode qui requiert une certaine expertise pour l'observation au microscope, un laboratoire avec un minimum d'équipement (incubateur, milieux de culture, température contrôlée) et un délai maximal de 30 minutes entre le prélèvement et la mise en culture, afin de maximiser la viabilité du microorganisme. Finalement, un délai d'attente non négligeable pouvant aller jusqu'à 96 heures est nécessaire avant d'obtenir les résultats. Il est donc fortement suggéré de tout de même faire un examen à l'état frais à l'arrivée du spécimen au laboratoire.

Un système de culture, le InPouch™TV BioMed Diagnostics, est disponible et a été développé pour faciliter la culture du *T. vaginalis*. Il semblerait également plus sensible que les autres milieux de culture (Hollander, Trichosel et Diamond's modifié)(68) Ce système consiste en une poche de plastique transparente avec chambre double (figure 7). Il a l'avantage de servir à la fois de milieu de transport et de croissance, ainsi que de servir à l'observation microscopique directement à travers la poche.

Figure 7 Système de culture du *T. vaginalis* : InPouch™TV BioMed Diagnostics
(45)



Voici une brève description des étapes à suivre pour la mise en culture dans le système InPouch™ *T. vaginalis* :

- Dans le cas où l'écouvillon (non fourni avec la trousse) n'a pas été ensemencé directement par le clinicien préleveur (celui-ci devrait en être notifié), il est inoculé dans la chambre supérieure de la poche.
- Au microscope, examiner le spécimen dans la première chambre. Au même titre qu'à l'état frais sur lame, le diagnostic peut être émis si des *T. vaginalis* mobiles sont observés.
- Le milieu contenu dans la première chambre est ensuite expulsé en le pressant manuellement dans la seconde chambre.
- Incuber la poche verticalement à 37°C pour 18 à 24 heures.
- La poche doit être observée au microscope dans la chambre inférieure. Il est mentionné que le meilleur endroit pour visualiser les *T. vaginalis* se situe au bas de cette chambre. En absence de *T. vaginalis* la poche est ré-incubée et devrait être observée à la recherche de *T. vaginalis* (voir les caractéristiques nécessaires au diagnostic à l'état frais) tous les jours pour une période de cinq jours. Si aucun *T. vaginalis* n'est observé, la culture est rapportée négative.

Le pH et la composition du milieu étant spécifiques au *T. vaginalis*, ce système devrait permettre uniquement la croissance de cette espèce de *Trichomonas*. Dans les conditions optimales, un inoculum comprenant 1 à 10 microorganismes est suffisant pour que la culture soit positive. Des spécimens peuvent cependant contenir des *T. vaginalis* non viables et il est recommandé de procéder à une coloration sur lame lorsque des objets suspects non mobiles sont identifiés(42).

Le code d'analyse du « Répertoire québécois et système de mesures des procédures de biologie médicale 2015-2016 » pour la culture du *T. vaginalis* est le 41170 (valeur pondérée 12,5)(59,60).

10.6 TAAN

10.6.1 PRINCIPES GÉNÉRAUX

Le développement des TAAN pour la détection du *T. vaginalis* a permis d'améliorer significativement la sensibilité du diagnostic de cette infection. Les TAAN sont même considérés comme le nouvel étalon d'or pour le diagnostic du *T. vaginalis*(27) et ces tests sont maintenant recommandés pour la détection du *T. vaginalis*(23). L'analyse par TAAN pour la recherche du *T. vaginalis* n'est pas inscrite au répertoire québécois et système de mesures des procédures de biologie médicale 2015-2016(59,60).

Plusieurs tests maison d'amplification en chaîne par polymérase (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) ont été décrits et validés chez l'homme et la femme, et quelques TAAN sont maintenant disponibles commercialement (voir tableau 4). Les TAAN maison développés par plusieurs laboratoires démontrent une sensibilité et une spécificité comparables aux tests commerciaux(69). Au moment de la rédaction de ce guide, quatre TAAN sont commercialisés et homologués par Santé Canada :

- APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay (Hologic Gen-Probe, San Diego, CA);
- Seeplex® STD6 ACE Detection kit (Seegene);
- BD ProbeTec™ TV Qx (BD Diagnostics, Sparks, MD);
- BD MAX™ CT/GC/TV (BD Diagnostic systems).

D'autres compagnies ont également développé des TAAN, mais leur approbation est à venir.

L'avantage principal des TAAN est leur grande sensibilité. Celle-ci varie entre 76 et 100 % selon la cible génomique, le type de spécimen, le contexte de consultation du patient qui sera prélevé (clinique ITSS) et la présence ou non de symptômes. La spécificité rapportée est de 98-100 % (49,51,56,61,70-72). Une étude récente a révélé que l'utilisation de TAAN pour le dépistage des femmes et des hommes consultant une clinique ITSS a permis de diagnostiquer 30 % de plus d'infections au *T. vaginalis* comparativement à l'examen direct(7).

Plusieurs types de spécimens sont acceptables dont ceux provenant des hommes. Des spécimens obtenus par cytologie liquide dans le contexte d'un Pap test sont adéquats pour certaines trousses. L'autoprélèvement est également souhaitable et approuvé pour certains TAAN, mais la sensibilité semble variable selon le type d'échantillon(73). Il est à noter cependant que tous les spécimens urogénitaux chez l'homme et la femme symptomatique ou non n'ont pas nécessairement été validés pour chacune des trousses (voir tableau 2). Finalement, les TAAN ont l'avantage d'outrepasser les contraintes reliées aux délais de transport et aux variations de température qui affectent l'identification du parasite par des méthodes traditionnelles.

L'accès à un TAAN de *T. vaginalis* devrait être possible au Québec et devrait être privilégié chez les patients symptomatiques ou pour les rares cas de diagnostic imprécis, vu la faible sensibilité des autres tests de détection disponibles (état frais et culture).

Certaines trousses (Seeplex® STD6 ACE Detection kit, BD ProbeTec™ Qx Sparks, MD sur la plateforme Viper System, BD MAX™ CT/GC/TV) offrent la possibilité de détecter plusieurs ITSS (incluant *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae*) sur un même prélèvement.

Certaines trousses de TAAN pour la détection de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* incluent aussi la détection de *T. vaginalis* à partir du même spécimen (analyses multiplexes). L'utilisation de ces triplex *C. trachomatis/N. gonorrhoeae/T. vaginalis* lors d'une prescription de dépistage de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* est préoccupante car il n'y a actuellement aucune indication de dépistage de *T. vaginalis* et la conduite thérapeutique pour la prise en charge d'un dépistage positif pour *T. vaginalis* n'est pas définie. De plus, l'utilisation de ces tests soulève la problématique des analyses qui ont été réalisées sans prescription médicale. D'un autre côté, ces tests pourraient permettre, dans un cadre de recherche, d'étayer les données épidémiologiques de l'infection au *T. vaginalis* propres à notre population.

Le délai d'obtention des résultats des TAAN actuellement disponibles (1 à 4 heures) est supérieur comparativement à l'état frais et aux tests de détection antigénique et d'acides nucléiques. Comme pour la majorité des microorganismes identifiés par TAAN, des résultats faussement positifs peuvent survenir durant la procédure ou par une contamination des spécimens. Une autre limite imposée par les TAAN est la détection d'organismes non viables. Il n'est donc pas recommandé de les utiliser pour vérifier l'efficacité d'un traitement. L'ADN peut en effet persister dans les cavités urogénitales à la suite du traitement, sans toutefois refléter une réinfection ou une récurrence de l'infection. À la suite d'un traitement efficace, un résultat négatif par TAAN est habituellement obtenu dans les deux semaines suivant le traitement(72). Or, dans les lignes directrices des CDC récemment publiées, il est recommandé de retester les femmes dans les trois mois suite au traitement de *T. vaginalis*, par TAAN(23).

Les TAAN actuellement disponibles ne permettent pas encore d'effectuer des tests de sensibilité aux antimicrobiens. Par contre, une diminution de la susceptibilité et/ou une résistance au métronidazole

(agent de première ligne) et au tinidazole (agent de deuxième ligne) n'ont été décrites que rarement(74,75). Pour cette raison, la mesure de la sensibilité du parasite n'est pas effectuée de routine. Finalement, et ce, particulièrement pour les tests commerciaux, les TAAN demeurent des méthodes coûteuses, requièrent un équipement spécifique et nécessitent du personnel de laboratoire qualifié. Une plateforme complètement automatisée comprenant des étapes de manipulation très limitées a récemment été approuvée par Santé Canada (BD MAX™ CT/GC/TV).

Aucun code d'analyse au « Répertoire québécois et système de mesures des procédures de biologie médicale 2015-2016" n'a été attribué jusqu'à maintenant pour la détection du *T. vaginalis* par TAAN(60).

Voici une brève description des TAAN commerciaux disponibles au Québec et approuvés par Santé Canada (en date de février 2016).

10.6.2 APTIMA TRICHOMONAS VAGINALIS ASSAY

Cette trousse consiste en un TAAN qualitatif pour la détection de l'acide ribonucléique (ARN) ribosomique provenant du *T. vaginalis*. Cette trousse est approuvée pour les spécimens provenant de femmes symptomatiques ou asymptomatiques tels que les écouvillons endocervicaux et vaginaux collectés par un clinicien et les échantillons d'urine féminins. Les spécimens endocervicaux prélevés dans la solution PreservCyt® sont également acceptables. Ce test fait appel aux techniques de capture de cible, d'amplification médiée par la transcription (*Transcription-Mediated Amplification*, TMA) et du test de protection de l'hybridation (*Hybridization Protection Assay*, HPA). Lors de l'étape de détection, la lumière émise par les hybrides marqués ARN:ADN est mesurée en signaux de photons dans un luminomètre et exprimée en unités relatives de lumière (URL). Tout le processus de détection peut être effectué sur une plateforme semi-automatisée (APTIMA Combo 2) ou pleinement automatisée (Tigris et Panther).

Lorsqu'évalué en clinique, ce test possède une sensibilité de l'ordre de 95 %, et une spécificité de 100 %(49,56,72). Malgré le fait que cette trousse ne soit pas encore approuvée chez l'homme, certains laboratoires l'utilisent sur des spécimens urétraux et sur l'urine, et obtiennent des sensibilités supérieures à la culture(73). Les spécimens urétraux semblent cependant être plus adéquats que l'urine ou le sperme(7,23,56) et une étude a rapporté une sensibilité de l'ordre de 80 % pour les spécimens urétraux autoprélevés versus l'urine (30 %)(73). Finalement, un même prélèvement permettrait de détecter la présence de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* et *T. vaginalis* en utilisant la plateforme APTIMA Combo 2.

Certaines limites de ce test ont été rapportées par le manufacturier et sont à prendre en considération. L'impact de l'utilisation de tampons et de douches vaginales sur la détection du *T. vaginalis* n'a pas été évalué. Les échantillons mucoïdes qui contiennent du *T. vaginalis* peuvent exhiber une baisse des valeurs URL. L'excès de mucus doit donc être retiré avant le prélèvement endocervical. Un résultat négatif n'exclut pas une possible infection puisque la présence de *Trichomonas tenax* ou de *Pentatrichomonas hominis* dans un échantillon peut réduire la capacité de détecter l'ARN ribosomique du *T. vaginalis*. La performance du test n'a pas été évaluée sur des échantillons vaginaux prélevés chez des femmes enceintes ni sur des spécimens prélevés chez des femmes de moins de 14 ans.

10.6.3 SEEPLEX® STD6 ACE DETECTION KIT (SEEGENE)

Le principe de ce TAAN repose sur une PCR multiplex pour la détection qualitative du *T. vaginalis*. Cette trousse permet de détecter dans un même spécimen les microorganismes associés à une ITSS et/ou symptômes urogénitaux suivants : *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* et *Ureaplasma urealyticum*. Cette technologie utilise un nouveau concept nommé *Dual Priming Oligonucleotide* (DPO) permettant le développement des amorces et une optimisation de la PCR par l'inhibition de l'appariement non-spécifique. Elle est basée sur trois étapes principales :

- L'isolation de l'acide nucléique;
- L'amplification par PCR de la cible d'acide nucléique utilisant le DPO primers :
- La détection sur un système automatique d'électrophorèse sur capillaire (ScreenTape, MultiNA) ou sur gel d'agarose.

Les instruments compatibles pour la détection sont le Caliper LabChip Dx, le MultiNA (Shimadzu) et le Tape Station (Lab901). Le test peut s'effectuer sur un échantillon d'urine, sur des spécimens génitaux (urétraux, endocervicaux et cervicaux) ainsi que sur des spécimens de cytologie liquide (ThinPrep® de Hologic® et SurePath® de BD). Toutefois, chez la femme, les spécimens génitaux sont préférables à l'urine, puisqu'il est possible que l'ADN dans l'urine se dégrade plus rapidement avec le temps. Cette technologie est actuellement homologuée par Santé Canada.

La limite de détection de cette méthode est de 100 copies/réaction pour le *T. vaginalis*, et la sensibilité rapportée par la compagnie sur des spécimens cervicaux et en cytologie liquide est de 100 %. Une étude a comparé l'utilisation de cette PCR multiplexe sur des spécimens cervicaux et urinaires à des PCR monoplexes pour chacun de ces pathogènes et la concordance fut de 100 % pour ce qui est de la sensibilité et de la spécificité(76). La sensibilité du test peut être réduite si les échantillons subissent de multiples cycles de gel/dégel ou s'ils sont conservés pour une durée prolongée. Le temps requis pour faire l'analyse suite à extraction de l'ADN est de 3 heures.

Une trousse Seeplex® STI ACE Master Detection permettrait également de détecter le *T. vaginalis* ainsi que le VHS-1 et 2. Cette trousse n'est toutefois pas encore homologuée au Canada, mais elle est disponible en tant que RUO.

10.6.4 BD PROBEtec™ TRICHOMONAS VAGINALIS (TV) QX AMPLIFIED DNA ASSAY

Ce TAAN est basé sur l'amplification par déplacement de brin (*Strand Displacement Amplification*, SDA). Des amorces d'amplification et des sondes fluorescentes sont utilisées pour la détection de l'ADN spécifique au *T. vaginalis*. La présence ou absence du *T. vaginalis* est déterminée en calculant le pic de fluorescence (*Maximum Relative Fluorescent Units; MaxRFU*) durant l'amplification. La technologie est validée sur la plateforme automatisée Viper™ de BD pour des spécimens prélevés chez la femme, soit des spécimens endocervicaux, des spécimens vaginaux prélevés par le clinicien ou autoprélevés ainsi que l'urine. Ce TAAN est également indiqué chez la femme symptomatique et asymptomatique. La détection simultanée d'autres pathogènes associées aux ITSS (*C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae*) peut être effectuée à l'aide d'un même écouvillon, alors que celle du VHS nécessitera deux écouvillons distincts.

La sensibilité analytique de ce test est d'environ 55 *Trichomonas*/mL et mis à part le *Trichomonas tenax*, aucune réaction croisée n'a pu être notée avec d'autres organismes possiblement présents dans le tractus génito-urinaire. Aucune substance interférente, à part le sang à des concentrations supérieures à 60 %, n'a été démontrée. Dans l'étude clinique menée par le fabricant, en comparant

ce test aux méthodes de référence (culture InPouch™TV et l'état frais) chez des femmes symptomatiques et asymptomatiques, la sensibilité du test variait entre 92,2 et 98,4 % et la spécificité était de 99 %^D.

Une étude récente a démontré une sensibilité de 98,3 % et une spécificité de 99,6 % avec cette trousse, pour des spécimens vaginaux obtenus par autoprélèvement(77). Les auteurs ont comparé ces résultats aux sensibilités et spécificités obtenues avec des méthodes de référence composite(77) :

- Culture : sensibilité de 97,4 %;
- État frais : sensibilité de 68,7 %;
- APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay : sensibilité de 100 % et spécificité de 98,3 %.

Les auteurs mentionnent également que les TAAN ont permis d'identifier plus d'infections que la culture ou l'état frais. Ils précisent que 12,9 % des infections ont été identifiées par un TAAN seulement(77).

10.6.5 BD MAX™ CT/GC/TV

Une PCR multiplex en temps réel (BD MAX™ System) pour la détection du *T. vaginalis*, *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* a été développée. Cette plateforme est pleinement automatisée et était seulement disponible en RUO, jusqu'en juin 2015, où elle a reçu l'homologation par Santé Canada. L'homologation par la FDA est prévue d'ici la prochaine année. Ce test permet la détection qualitative de l'ADN du *C. trachomatis* et/ou *N. gonorrhoeae* et/ou *T. vaginalis* de spécimens d'urine, endocervicaux et de sécrétions vaginales prélevées par le clinicien ou autocollectées en clinique, chez la femme symptomatique ou asymptomatique. Par contre, ce test n'a pas l'approbation pour la détection du *T. vaginalis* chez l'homme.

L'étude clinique menée par le commerçant a rapporté, lorsque comparé à la culture et à l'état frais et en considérant qu'un test était positif lorsque l'une ou l'autre de ces deux méthodes menait à la détection du *T. vaginalis*, une sensibilité de l'ordre de 92,7 % à 96,7 %, et d'une spécificité de 97,5 à 99,8 %. La variation des résultats dépendant du site prélevé et du statut symptomatique ou asymptomatique de la patiente. La sensibilité analytique rapportée est de 6,1 *Trichomonas*/mL pour les spécimens vaginaux et de 29,5 *Trichomonas*/mL pour l'urine.

De l'interférence a été observée en présence de mousse et de gel contraceptif, d'acyclovir, de crème contenant du métronidazole et du sang. Il est à noter que le *T. tenax* et le *P. hominis*, peuvent entraîner des réactions croisées, mais une infection mixte à *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* et/ou *T. vaginalis* ne semble pas entraîner de résultats faussement négatifs. Un test de détection de la vaginite (vaginose bactérienne, candidose, trichomonase) est également en développement par cette même compagnie.

10.6.6 AUTRES TAAN À VENIR

D'autres TAAN devraient être disponibles d'ici la prochaine année. Le GeneXpert TV est offert en RUO, mais est seulement approuvé en Europe. Le Roche Aurora FLOW, présentement disponible en « *Laboratory Developed Tests* » (LDT)-RUO, est une nouvelle plate-forme pleinement automatisée et devrait être disponible d'ici la prochaine année. Ce système complètement ouvert intègre un

^D Informations tirées du manuel du fabricant.

MagnaPure et un LightCycler 480. La performance de cette nouvelle plateforme semble encourageante(71). Un des objectifs de cette technologie est de permettre l'utilisation de l'éluat de l'extrait *C. trachomatis-N. gonorrhoeae* à partir du Cobas 4800 et de le transférer dans une plaque RT-PCR avec les sondes et amorces.

Finalement, la compagnie Quidel offre en tant que Conformité européenne-*In Vitro Diagnostics* (CE-IVD), un TAAN Isothermique (AmpliVue®) pour le diagnostic du *T. vaginalis*. Il est à noter que certains de ces TAAN peuvent être disponibles et utilisés par certains laboratoires privés.

Tableau 4 Caractéristiques des trousse de TAAN commerciales disponibles sur le marché (en date de février 2016)

<p>APTIMA Trichomonas vaginalis Assay (Gen-Probe) (35)</p>	<p>TMA pour la détection qualitative du <i>T. vaginalis</i> sur des spécimens génitaux (vagin, endocervical) et urinaires de la femme asymptomatique et symptomatique prélevés par le clinicien et les spécimens endocervicaux prélevés dans le milieu PreservCyt®.</p> <p>Homologué par Santé Canada et par la FDA.</p> <p>Plateforme semi-automatisée (APTIMA Combo 2) ou pleinement automatisée (Tigris, Panther).</p>
<p>Seeplex® STD6 ACE Detection kit (Seegene) (38)</p>	<p>PCR multiplex qualitative pour la détection de <i>C. trachomatis</i>, <i>N. gonorrhoeae</i>, <i>M. genitalium</i>, <i>U. urealyticum</i>, <i>M. hominis</i>, <i>T. vaginalis</i> dans des spécimens urinaires, urétraux, endocervicaux/cervicaux et en cytology liquid (ThinPrep de Hologic et SurePath de BD).</p> <p>Homologué par Santé Canada, non disponible aux États-Unis, IVD¹ Europe et RUO autres pays.</p> <p>Système de détection par électrophorèse sur capillaire ou sur gel d'agarose.</p> <p>Appareil compatible: PCR: GeneAmp 9700 PCR System (Life Technologies), SEEAMP PCR System (Seegene). MultiNA System Shimadzu, ScreenTape System (Lab901): pleinement automatisé, Caliper LabChipR DX (Caliper Life Sciences).</p>
<p>BD ProbeTec™ TV Qx (BD Diagnostics) (36)</p>	<p>SDA pour la détection qualitative du <i>T. vaginalis</i> sur des spécimens endocervicaux, vaginaux par autoprélèvement et d'urine chez la femme symptomatique et asymptomatique.</p> <p>Homologué par Santé Canada et par la FDA.</p> <p>Plate-forme automatisée BD Viper system.</p>
<p>BD MAX™ CT/GC/TV (39)</p>	<p>PCR qualitatif en temps réel permettant la détection de <i>C. trachomatis</i>, <i>N. gonorrhoeae</i> et <i>T. vaginalis</i> à partir du même échantillon et dans la même série sur des spécimens endocervicaux, vaginaux par autoprélèvement et d'urine chez la femme asymptomatique et symptomatique.</p> <p>CE-IVD².</p> <p>Homologué par Santé Canada.</p> <p>Plateforme entièrement automatisée et ouverte.</p>
<p>Xpert® TV, Cepheid (37)</p>	<p>PCR qualitative en temps réel pour la détection du <i>T. vaginalis</i> sur des spécimens urinaires chez l'homme et chez la femme symptomatique et asymptomatique et des spécimens endocervicaux et vaginaux obtenus par auto-prélèvement chez la femme symptomatique et asymptomatique.</p> <p>CE-IVD².</p> <p>Plateforme automatisée GeneXpert.</p>
<p>AmpliVue®, Quidel (40)</p>	<p>HDA3 isotherme pour la détection qualitative du <i>T. vaginalis</i> sur des spécimens vaginaux prélevés par le clinicien chez la femme symptomatique et asymptomatique.</p> <p>CE-IVD² (CLIA).</p>

1 IVD : *In Vitro Diagnostics*.

2 CE-IVD : Conformité européenne-*In Vitro Diagnostics*.

3 HDA : Amplification dépendante de l'hélicase (*Helicase Dependent Amplification*).

10.7 Sérologie

Des méthodes utilisant la sérologie ont été décrites(78-80). Il est estimé qu'il y a environ huit sérotypes de *T. vaginalis*. La réponse sérologique est variable selon les individus. Une variété de techniques a été utilisée pour démontrer la présence d'anticorps contre le *T. vaginalis*, mais ceux-ci sont non spécifiques et ne permettent pas de déterminer si l'infection est ancienne ou récente. De plus, dans certaines populations à faible prévalence, la détection d'anticorps pourrait simplement refléter une infection par un *T. vaginalis* non pathogène(81). Finalement, la sensibilité de la sérologie est faible et elle ne devrait pas être utilisée pour le diagnostic d'une infection active au *T. vaginalis*. Aucun laboratoire clinique n'offre ce type d'analyse au Québec.

11 Conclusion

Le *T. vaginalis* est une ITSS dont la prévalence est élevée dans plusieurs régions du monde, mais inconnue au Québec. Les conséquences de cette infection peuvent être non négligeables chez la femme(8,82,83) et favoriser la transmission du VIH.

Chez la femme enceinte symptomatique, un diagnostic précis et un traitement prompt et efficace sont essentiels. L'identification adéquate de l'infection à *T. vaginalis* chez les femmes symptomatiques éviterait également des traitements à l'aveugle comme c'est souvent le cas actuellement.

En l'absence de données épidémiologiques québécoises et de recommandations claires sur la conduite à adopter chez une personne asymptomatique, les recommandations quant aux indications de rechercher cette infection dans un contexte de dépistage restent à établir.

À la lumière de la littérature révisée, et en attente de recommandations plus précises, il est pertinent de rechercher le *T. vaginalis* chez les femmes symptomatiques qui présentent un syndrome de vaginite et qui ont des facteurs de risque d'ITSS, en particulier en l'absence de diagnostic alternatif tel que la candidose et la vaginose bactérienne. En présence de cervicite, la recherche de *T. vaginalis* devrait être envisagée surtout lorsque la recherche de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* s'avère négative ou en l'absence de réponse au traitement syndromique recommandé pour la cervicite. Chez l'homme ayant des facteurs de risque d'ITSS, il est pertinent de rechercher le *T. vaginalis* lorsque les symptômes d'urétrite persistent suite au traitement syndromique recommandé, en l'absence d'infection à *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* et sans autre diagnostic précis.

La mise au point de plusieurs TAAN commerciaux hautement sensibles et spécifiques, leur polyvalence quant au type de spécimens acceptables, ainsi que leur avantage non négligeable lié au transport, en font des méthodes à privilégier chez les patients symptomatiques. Cependant, le coût associé à ces méthodes peut être un facteur limitant et les tests de détection antigéniques demeurent tout de même une alternative intéressante et recommandable chez la femme. Le choix du test de détection du *T. vaginalis* devrait prendre en considération les facteurs analytiques et pré-analytiques propres à chaque laboratoire.

Pour le choix de la méthode diagnostique à privilégier (donc chez les personnes symptomatiques), les membres du groupe de travail retiennent que :

- L'utilisation de la microscopie à l'état frais peut établir un diagnostic rapide directement au chevet du patient. Toutefois, le matériel et l'expertise nécessaire à cette analyse ne sont que très rarement disponibles dans le bureau du médecin. De plus, la sensibilité étant moindre, en

présence d'un résultat négatif, un test plus sensible tel que la détection antigénique, d'acides nucléiques ou les TAAN devraient être envisagé.

- La coloration à l'acridine orange, quoique simple, facile d'accès et spécifique pour la détection du *T. vaginalis*, n'est pas une analyse assez sensible pour être recommandée comme unique test pour le diagnostic de cette infection.
- L'utilisation de tests de détection antigénique (OSOM® Trichomonas Rapid Test) chez la femme symptomatique peut établir rapidement un diagnostic et permettre de saisir l'opportunité de débiter un traitement approprié.
- Considérant que la charge parasitaire est plus faible chez l'homme, que les tests de détection antigénique ne sont pas approuvés pour l'homme, l'utilisation de tests plus sensibles tels que les TAAN sont à privilégier.
- En raison des délais associés à la culture, ainsi que la sensibilité plus faible de cette analyse comparativement aux tests plus récents, il est préférable de ne pas utiliser cette technique pour le diagnostic du *T. vaginalis*. Toutefois, considérant les coûts associés aux nouvelles technologies, l'utilisation du système InPouch™TV qui permet également un délai dans l'analyse pour des centres périphériques sans laboratoires est envisageable. En contrepartie, dans les rares cas où la résistance du *T. vaginalis* est suspectée, seule la culture permettrait actuellement de faire les analyses adéquates pour démontrer la sensibilité du parasite aux traitements.
- Dans le contexte actuel de centralisation des laboratoires, les TAAN deviennent une alternative intéressante pour pallier aux limites telles les délais et conditions de transport inhérentes à cette nouvelle organisation des services. La grande sensibilité de ces analyses permet également un diagnostic plus précis de l'infection, et ce, particulièrement chez les hommes où aucune autre épreuve diagnostique sensible n'est disponible.
- Certaines trousse de TAAN pour la détection de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* incluent aussi la détection de *T. vaginalis* à partir du même spécimen (analyses multiplexes). L'utilisation de ces TAAN pour le dépistage des infections à *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* est préoccupante, car il n'y a actuellement aucune indication de dépistage de *T. vaginalis* et la conduite thérapeutique pour la prise en charge d'un test positif pour *T. vaginalis* chez une personne asymptomatique n'est pas définie. D'un autre côté, ces trousse pourraient permettre, dans un cadre de recherche, d'étayer les données épidémiologiques de l'infection au *T. vaginalis* propres à notre population.

12 Références

- (1) Sena AC, Miller WC, Hobbs MM, Schwebke JR, Leone PA, Swygard H, et al. *Trichomonas vaginalis* infection in male sexual partners: implications for diagnosis, treatment, and prevention. *Clin Infect Dis* 2007 Jan 1;44(1):13-22.
- (2) Meites E. Trichomoniasis: the "neglected" sexually transmitted disease. *Infect Dis Clin North Am* 2013 Dec;27(4):755-64.
- (3) Satterwhite CL, Torrone E, Meites E, Dunne EF, Mahajan R, Ocfemia MC, et al. Sexually transmitted infections among US women and men: prevalence and incidence estimates, 2008. *Sex Transm Dis* 2013 Mar;40(3):187-93.
- (4) Sutton M, Sternberg M, Koumans EH, McQuillan G, Berman S, Markowitz L. The prevalence of *Trichomonas vaginalis* infection among reproductive-age women in the United States, 2001-2004. *Clin Infect Dis* 2007 Nov 15;45(10):1319-26.
- (5) Kelley CF, Rosenberg ES, O'Hara BM, Sanchez T, del RC, Sullivan PS. Prevalence of urethral *Trichomonas vaginalis* in black and white men who have sex with men. *Sex Transm Dis* 2012 Sep;39(9):739.
- (6) Mayer KH, Bush T, Henry K, Overton ET, Hammer J, Richardson J, et al. Ongoing sexually transmitted disease acquisition and risk-taking behavior among US HIV-infected patients in primary care: implications for prevention interventions. *Sex Transm Dis* 2012 Jan;39(1):1-7.
- (7) Muzny CA, Blackburn RJ, Sinsky RJ, Austin EL, Schwebke JR. Added benefit of nucleic acid amplification testing for the diagnosis of *Trichomonas vaginalis* among men and women attending a sexually transmitted diseases clinic. *Clin Infect Dis* 2014 Sep 15;59(6):834-41.
- (8) Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Clin Microbiol Rev* 1998 Apr;11(2):300-17.
- (9) Schwebke JR, Rompalo A, Taylor S, Sena AC, Martin DH, Lopez LM, et al. Re-evaluating the treatment of nongonococcal urethritis: emphasizing emerging pathogens--a randomized clinical trial. *Clin Infect Dis* 2011 Jan 15;52(2):163-70.
- (10) Hughes JP, Baeten JM, Lingappa JR, Magaret AS, Wald A, de BG, et al. Determinants of per-coital-act HIV-1 infectivity among African HIV-1-serodiscordant couples. *J Infect Dis* 2012 Feb 1;205(3):358-65.
- (11) Sexton J, Garnett G, Rottingen JA. Metaanalysis and metaregression in interpreting study variability in the impact of sexually transmitted diseases on susceptibility to HIV infection. *Sex Transm Dis* 2005 Jun;32(6):351-7.
- (12) van der PB, Kwok C, Pierre-Louis B, Rinaldi A, Salata RA, Chen PL, et al. *Trichomonas vaginalis* infection and human immunodeficiency virus acquisition in African women. *J Infect Dis* 2008 Feb 15;197(4):548-54.

- (13) Cu-Uvin S, Ko H, Jamieson DJ, Hogan JW, Schuman P, Anderson J, et al. Prevalence, incidence, and persistence or recurrence of trichomoniasis among human immunodeficiency virus (HIV)-positive women and among HIV-negative women at high risk for HIV infection. *Clin Infect Dis* 2002 May 15;34(10):1406-11.
- (14) Mullins TL, Rudy BJ, Wilson CM, Sucharew H, Kahn JA. Incidence of sexually transmitted infections in HIV-infected and HIV-uninfected adolescents in the USA. *Int J STD AIDS* 2013 Feb;24(2):123-7.
- (15) Sutcliffe S, Giovannucci E, Alderete JF, Chang TH, Gaydos CA, Zenilman JM, et al. Plasma antibodies against *Trichomonas vaginalis* and subsequent risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006 May;15(5):939-45.
- (16) Harp DF, Chowdhury I. Trichomoniasis: evaluation to execution. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011 Jul;157(1):3-9.
- (17) ASPC. *Trichomonas vaginalis* - Fiche technique santé-sécurité (agents pathogènes). 2011.
- (18) ASPC. Lignes directrices canadiennes sur les infections transmissibles sexuellement 2010 - Chapitre 4 - Prise en charge et traitement de syndromes spécifiques/ Pertes vaginales. 2010.
- (19) MSSS. Guide québécois de dépistage : infections transmissibles sexuellement et par le sang - Mise à jour 2014. [Québec]: Santé et services sociaux Québec, Direction des communications; 2014.
- (20) Drouin M-C, Steben M, et coll. Rapport sur la mise à jour des indications de dépistage des infections transmissibles sexuellement et par le sang. 2014 Sep.
- (21) MSSS. Les partenaires sexuels, il faut s'en occuper! 2014.
- (22) Baril J-G. L'examen médical périodique de l'adulte vivant avec le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). 2014.
- (23) CDC. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2015. 2015.
- (24) Meites E, Gaydos CA, Hobbs MM, Kissinger P, Nyirjesy P, Schwebke JR, et al. A Review of Evidence-Based Care of Symptomatic Trichomoniasis and Asymptomatic *Trichomonas vaginalis* Infections. *Clin Infect Dis* 2015 Dec 15;61 Suppl 8:S837-S848.
- (25) Moodley P, Wilkinson D, Connolly C, Moodley J, Sturm AW. *Trichomonas vaginalis* is associated with pelvic inflammatory disease in women infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 2002 Feb 15;34(4):519-22.
- (26) Gumbo FZ, Duri K, Kandawasvika GQ, Kurewa NE, Mapingure MP, Munjoma MW, et al. Risk factors of HIV vertical transmission in a cohort of women under a PMTCT program at three peri-urban clinics in a resource-poor setting. *J Perinatol* 2010 Nov;30(11):717-23.
- (27) BASHH. United Kingdom National Guideline on the Management of *Trichomonas vaginalis* 2014. 2014.
- (28) Fouts AC, Kraus SJ. *Trichomonas vaginalis*: reevaluation of its clinical presentation and laboratory diagnosis. *J Infect Dis* 1980 Feb;141(2):137-43.

- (29) Hobbs MM, Lapple DM, Lawing LF, Schwebke JR, Cohen MS, Swygard H, et al. Methods for detection of *Trichomonas vaginalis* in the male partners of infected women: implications for control of trichomoniasis. J Clin Microbiol 2006 Nov;44(11):3994-9.
- (30) Kaydos-Daniels SC, Miller WC, Hoffman I, Price MA, Martinson F, Chilongozi D, et al. The use of specimens from various genitourinary sites in men, to detect *Trichomonas vaginalis* infection. J Infect Dis 2004 May 15;189(10):1926-31.
- (31) Krieger JN, Verdon M, Siegel N, Critchlow C, Holmes KK. Risk assessment and laboratory diagnosis of trichomoniasis in men. J Infect Dis 1992 Dec;166(6):1362-6.
- (32) Isabelle Tétrault. Guide de pratique sur les tests diagnostiques de l'infection génitale au virus Herpes simplex. 2014.
- (33) Sekisui Diagnostics. Fiche technique OSOM® Trichomonas Rapid Test. 2013.
- (34) BD Diagnostics. Monographie de la trousse Affirm™ VPIII. 2010.
- (35) Gen Probe. Monographie de la trousse APTIMA *Trichomonas vaginalis* Assay . 2013.
- (36) BD Diagnostics. Monographie de la trousse BD ProbeTec TV Qx. 2013.
- (37) Cepheid. Monographie de la trousse Xpert® TV. 2015.
- (38) Seegen. Monographie de la trousse Seeplex® STD6 ACE Detection kit. 2015.
- (39) BD Diagnostics. Monographie de la trousse BD MAX™ CT/GC/TV. 2015.
- (40) Quidel. Monographie de la trousse AmpliVue®. 2015.
- (41) Rivers CA, Schwebke JR. Viability of *Trichomonas vaginalis* in Copan universal transport medium and eSwab transport medium. J Clin Microbiol 2008 Sep;46(9):3134-5.
- (42) Garcia LS, Isenberg H. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 3e édition. 2010.
- (43) OMS. Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus. 2013.
- (44) Kingston MA, Bansal D, Carlin EM. 'Shelf life' of *Trichomonas vaginalis*. Int J STD AIDS 2003 Jan;14(1):28-9.
- (45) BioMed Diagnostics. Fiche technique InPouch™ TV (*Trichomonas vaginalis*). 2015.
- (46) Hook EW, III. *Trichomonas vaginalis*--no longer a minor STD. Sex Transm Dis 1999 Aug;26(7):388-9.
- (47) Labbé AC, Lefebvre B, Tremblay C, Institut national de santé publique du Québec.LSPQ. Résultats du sondage sur les analyses de laboratoire en lien avec les infections transmissibles sexuellement et par le sang. Montréal: Institut national de santé publique du Québec; 2013.

- (48) Hobbs MM, van der PB, Totten P, Gaydos CA, Wald A, Warren T, et al. From the NIH: proceedings of a workshop on the importance of self-obtained vaginal specimens for detection of sexually transmitted infections. *Sex Transm Dis* 2008 Jan;35(1):8-13.
- (49) Huppert JS, Mortensen JE, Reed JL, Kahn JA, Rich KD, Miller WC, et al. Rapid antigen testing compares favorably with transcription-mediated amplification assay for the detection of *Trichomonas vaginalis* in young women. *Clin Infect Dis* 2007 Jul 15;45(2):194-8.
- (50) Patil MJ, Nagamoti JM, Metgud SC. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* from Vaginal Specimens by Wet Mount Microscopy, In Pouch TV Culture System, and PCR. *J Glob Infect Dis* 2012 Jan;4(1):22-5.
- (51) Radonjic IV, Dzamic AM, Mitrovic SM, rsic Arsenijevic VS, Popadic DM, Kranjcic Z, I. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection: The sensitivities and specificities of microscopy, culture and PCR assay. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006 May 1;126(1):116-20.
- (52) Aslan DL, Gulbahce HE, Stelow EB, Setty S, Brown CA, McGlennen RC, et al. The diagnosis of *Trichomonas vaginalis* in liquid-based Pap tests: correlation with PCR. *Diagn Cytopathol* 2005 Jun;32(6):341-4.
- (53) Lara-Torre E, Pinkerton JS. Accuracy of detection of *Trichomonas vaginalis* organisms on a liquid-based papanicolaou smear. *Am J Obstet Gynecol* 2003 Feb;188(2):354-6.
- (54) van Der SC, van BA, Zwijgers L, van Der BE, O'neill EL, Luijendijk A, et al. Improved diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection by PCR using vaginal swabs and urine specimens compared to diagnosis by wet mount microscopy, culture, and fluorescent staining. *J Clin Microbiol* 1999 Dec;37(12):4127-30.
- (55) Huppert JS, Batteiger BE, Braslins P, Feldman JA, Hobbs MM, Sankey HZ, et al. Use of an immunochromatographic assay for rapid detection of *Trichomonas vaginalis* in vaginal specimens. *J Clin Microbiol* 2005 Feb;43(2):684-7.
- (56) Nye MB, Schwebke JR, Body BA. Comparison of APTIMA *Trichomonas vaginalis* transcription-mediated amplification to wet mount microscopy, culture, and polymerase chain reaction for diagnosis of trichomoniasis in men and women. *Am J Obstet Gynecol* 2009 Feb;200(2):188-7.
- (57) Watt RM, Philip A, Wos SM, Sam GJ. Rapid assay for immunological detection of *Trichomonas vaginalis*. *J Clin Microbiol* 1986 Oct;24(4):551-5.
- (58) Campbell L, Woods V, Lloyd T, Elsayed S, Church DL. Evaluation of the OSOM *Trichomonas* rapid test versus wet preparation examination for detection of *Trichomonas vaginalis* vaginitis in specimens from women with a low prevalence of infection. *J Clin Microbiol* 2008 Oct;46(10):3467-9.
- (59) Nicole J, Perron J. Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale 2015-2016. 2015.
- (60) Nicole J, Perron J. Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale 2015-2016 - Les annexes. 2015.

- (61) Andrea SB, Chapin KC. Comparison of Aptima *Trichomonas vaginalis* transcription-mediated amplification assay and BD affirm VPIII for detection of *T. vaginalis* in symptomatic women: performance parameters and epidemiological implications. *J Clin Microbiol* 2011 Mar;49(3):866-9.
- (62) Levi AW, Harigopal M, Hui P, Schofield K, Chhieng DC. Comparison of Affirm VPIII and Papanicolaou tests in the detection of infectious vaginitis. *Am J Clin Pathol* 2011 Mar;135(3):442-7.
- (63) Adu-Sarkodie Y, Opoku BK, Danso KA, Weiss HA, Mabey D. Comparison of latex agglutination, wet preparation, and culture for the detection of *Trichomonas vaginalis*. *Sex Transm Infect* 2004 Jun;80(3):201-3.
- (64) Piperaki ET, Theodora M, Mendris M, Barbitsa L, Pitiriga V, Antsaklis A, et al. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* infection in women attending a major gynaecological hospital in Greece: a cross-sectional study. *J Clin Pathol* 2010 Mar;63(3):249-53.
- (65) Saleh AM, Abdalla HS, Satti AB, Babiker SM, Gasim GI, Adam I. Diagnosis of Trichomonous vaginalis by microscopy, latex agglutination, diamond's media, and PCR in symptomatic women, Khartoum, Sudan. *Diagn Pathol* 2014;9:49.
- (66) Lawing LF, Hedges SR, Schwebke JR. Detection of trichomonosis in vaginal and urine specimens from women by culture and PCR. *J Clin Microbiol* 2000 Oct;38(10):3585-8.
- (67) Mohamed OA, Cohen CR, Kungu D, Kuyoh MA, Onyango JA, Bwayo JJ, et al. Urine proves a poor specimen for culture of *Trichomonas vaginalis* in women. *Sex Transm Infect* 2001 Feb;77(1):78-9.
- (68) Borchardt KA, al-Haraci S, Maida N. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* in a male sexually transmitted disease clinic population by interview, wet mount microscopy, and the InPouch TV test. *Genitourin Med* 1995 Dec;71(6):405-6.
- (69) Hobbs MM, Sena AC. Modern diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection. *Sex Transm Infect* 2013 Sep;89(6):434-8.
- (70) Kim SJ, Lee DS, Lee SJ. The prevalence and clinical significance of urethritis and cervicitis in asymptomatic people by use of multiplex polymerase chain reaction. *Korean J Urol* 2011 Oct;52(10):703-8.
- (71) Vahidnia A, Costa S, Veenings S, Tuin H, van LL, Blikendaal H. Comparative evaluation of Roche Aurora FLOW, Becton and Dickinson Viper system, and Dynex DS2 for detection of Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, and *Trichomonas vaginalis* in various clinical specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014 Nov;80(3):191-2.
- (72) Schwebke JR, Hobbs MM, Taylor SN, Sena AC, Catania MG, Weinbaum BS, et al. Molecular testing for *Trichomonas vaginalis* in women: results from a prospective U.S. clinical trial. *J Clin Microbiol* 2011 Dec;49(12):4106-11.
- (73) Dize L, Agreda P, Quinn N, Barnes MR, Hsieh YH, Gaydos CA. Comparison of self-obtained penile-meatal swabs to urine for the detection of *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* and *T. vaginalis*. *Sex Transm Infect* 2013 Jun;89(4):305-7.
- (74) Schmid G, Narcisi E, Mosure D, Secor WE, Higgins J, Moreno H. Prevalence of metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis* in a gynecology clinic. *J Reprod Med* 2001 Jun;46(6):545-9.

- (75) Sobel JD, Nyirjesy P, Brown W. Tinidazole therapy for metronidazole-resistant vaginal trichomoniasis. *Clin Infect Dis* 2001 Oct 15;33(8):1341-6.
- (76) Lee SJ, Park DC, Lee DS, Choe HS, Cho YH. Evaluation of Seeplex(R) STD6 ACE Detection kit for the diagnosis of six bacterial sexually transmitted infections. *J Infect Chemother* 2012 Aug;18(4):494-500.
- (77) van der PB, Williams JA, Taylor SN, Cammarata CL, Rivers CA, Body BA, et al. Detection of *Trichomonas vaginalis* DNA by use of self-obtained vaginal swabs with the BD ProbeTec Qx assay on the BD Viper system. *J Clin Microbiol* 2014 Mar;52(3):885-9.
- (78) Garber GE, Proctor EM, Bowie WR. Immunogenic proteins of *Trichomonas vaginalis* as demonstrated by the immunoblot technique. *Infect Immun* 1986 Jan;51(1):250-3.
- (79) Krieger JN, Holmes KK, Spence MR, Rein MF, McCormack WM, Tam MR. Geographic variation among isolates of *Trichomonas vaginalis*: demonstration of antigenic heterogeneity by using monoclonal antibodies and the indirect immunofluorescence technique. *J Infect Dis* 1985 Nov;152(5):979-84.
- (80) Lossick JG, Kent HL. Trichomoniasis: trends in diagnosis and management. *Am J Obstet Gynecol* 1991 Oct;165(4 Pt 2):1217-22.
- (81) Garber GE. The laboratory diagnosis of *Trichomonas vaginalis*. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2005 Jan;16(1):35-8.
- (82) Cotch MF, Pastorek JG, Nugent RP, Hillier SL, Gibbs RS, Martin DH, et al. *Trichomonas vaginalis* associated with low birth weight and preterm delivery. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Sex Transm Dis*. 1997 Jul;24(6):353-60.
- (83) Cherpes TL, Meyn LA, Krohn MA, Lurie JG, Hillier SL. Association between acquisition of herpes simplex virus type 2 in women and bacterial vaginosis. *ClinInfectDis*. 2003 Aug 1;37(1537-6591 (Electronic)):319-25.