



Tests diagnostiques de l'infection génitale au virus Herpes simplex

GUIDE DE PRATIQUE POUR LES ANALYSES DE
LABORATOIRE EN LIEN AVEC LES ITSS

Tests diagnostiques de l'infection génitale au
virus Herpes simplex

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

10 novembre 2014

AUTEURS

Isabelle Tétrault, 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
Julie Bestman-Smith, médecin microbiologiste-infectiologue
Marie Gourdeau, médecin microbiologiste-infectiologue

Avec la collaboration des membres du **Comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS (CALI)** de l'Institut national de santé publique du Québec (voir annexe 1).

Nous remercions Dr Christian Renaud, ainsi que les membres du Comité sur les ITSS (CITSS) de l'INSPQ pour leur collaboration.

La section sur les indications d'effectuer la sérologie spécifique de type est approuvée par le CITSS.

MISE EN PAGES

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

HISTORIQUE DU DOCUMENT

Version No :1

Date : 10 novembre 2014

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

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES TABLEAUX	V
LISTE DES FIGURES	V
LISTE DES ABRÉVIATIONS	VII
1 SOMMAIRE	1
1.1 Tests de détection virale du VHS	1
1.2 Sérologie spécifique de type du VHS	1
2 CONTEXTE	4
3 BUT	4
4 OBJECTIFS	4
5 UTILISATIONS	5
6 PRINCIPES	6
7 ÉCHANTILLON(S)	6
7.1 Principes généraux	6
7.1.1 Écouvillons	6
7.1.2 Milieux de transport	7
7.1.3 Prélèvement, conservation et transport du spécimen	11
7.2 Examen cytologique et détection antigénique	12
7.3 TAAN	14
8 SÉCURITÉ	14
9 ÉQUIPEMENT ET MATÉRIEL	14
10 CONTRÔLE DE QUALITÉ	14
11 PROCÉDURE	14
11.1 Examen cytologique et détection antigénique	14
11.1.1 Examen cytologique : frottis de Tzanck, coloration Papanicolaou ou Romanovsky	15
11.1.2 Détection antigénique	15
11.2 Culture virale	15
11.2.1 Méthodes de détection rapide en culture cellulaire	17
11.3 TAAN	17
11.3.1 Principes généraux	17
11.3.2 Trousses disponibles sur le marché (en date de juin 2014)	18
11.4 Sérologie spécifique de type	22
11.4.1 Principes généraux	22
11.4.2 Trousses utilisées au Québec	24
11.4.3 Indications	26
11.4.4 Recommandations du CALI	30
11.4.5 Interprétation des résultats de la sérologie spécifique de type du VHS	33
12 CONCLUSION	35
RÉFÉRENCES	37
ANNEXE 1 LISTE DES MEMBRES DU CALI	43

ANNEXE 2 CONSERVATION DU VIRUS HERPES SIMPLEX AVEC DES FIBRES D'ÉCOUVILLON : EFFET SUR LE DECOMPTE VIRAL	47
ANNEXE 3 ÉTUDE DE VIABILITÉ DU VIRUS HERPES SIMPLEX A TEMPÉRATURE PIÈCE ET À 4° CELSIUS	51
ANNEXE 4 ÉTAPES DE LA CULTURE PAR CENTRIFUGATION SUR LAMELLE (« SHELL VIAL »)	55
ANNEXE 5 CARACTÉRISTIQUES DES DIFFÉRENTS TESTS DE DÉTECTION VIRALE DISPONIBLES	59

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Milieux de transport et écouvillons disponibles sur le marché pour la recherche du virus Herpes simplex (en date d'avril 2014).....	9
Tableau 2	Caractéristiques des trousse de TAAN commerciales non automatisées disponibles sur le marché (en date de juin 2014).....	20
Tableau 3	Effets de la prévalence du VHS sur la performance des tests de sérologie spécifique de type du VHS.....	24
Tableau 4	Caractéristiques des cinq trousse utilisées au Québec par les laboratoires offrant la sérologie spécifique de type du VHS.....	25
Tableau 5	Interprétation des résultats de la sérologie spécifique de type chez une personne avec histoire de lésion génitale mais test de détection virale négatif	34
Tableau 6	Interprétation des résultats de la sérologie spécifique de type chez une personne qui ne présente pas de lésion génitale au moment de la visite et chez qui aucun test de détection virale n'a pu être effectué	35

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Exemple de lame pour effectuer l'immunofluorescence directe.....	13
----------	--	----

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN :	Acide désoxyribonucléique
AMMIQ :	Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec
ASR :	<i>Analyte specific reagents</i>
CALI :	Comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS
CDC :	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
ECP :	Effet cytopathogène
DRBST :	Direction des risques biologiques et de la santé au travail
FDA :	<i>Food and Drug Administration</i>
INSPQ :	Institut national de santé publique du Québec
ITSS :	Infections transmissibles sexuellement et par le sang
IVD :	<i>In Vitro Diagnostics</i>
LSPQ :	Laboratoire de santé publique du Québec
MSSS :	Ministère de la Santé et des Services sociaux
NHANES :	<i>National Health and Nutrition Examination Survey</i>
OMS :	Organisation mondiale de la santé
PCR :	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
RUO:	<i>Research Use Only</i>
TAAN :	Test d'amplification des acides nucléiques
UTM-RT :	<i>Universal transport media – Room temperature</i>
VHS :	Virus Herpes simplex

1 SOMMAIRE

1.1 TESTS DE DÉTECTION VIRALE DU VHS

- Il est primordial de confirmer le diagnostic d'infection herpétique génitale à l'aide d'épreuves de laboratoire, idéalement par un test de détection virale, qui prouve hors de tout doute la présence du VHS dans les lésions génitales.
- Trois tests de détection virale sont disponibles dans les laboratoires au Québec, soit la détection d'antigènes par immunofluorescence directe, la culture virale et le test d'amplification des acides nucléiques (TAAN). La sensibilité de l'immunofluorescence est plus faible que celle de la culture et du TAAN.
- Plusieurs types d'écouvillons et de milieux de transport sont disponibles pour recherche virale. Certains milieux de transport portent la mention RT, indiquant qu'il est possible de conserver et de transporter le spécimen à température de la pièce sur une courte période (< 4 heures), sans effet délétère sur la viabilité virale. Ils sont à favoriser.
- Peu de laboratoires au Québec offrent actuellement le TAAN VHS, qui est le test de détection virale qui a démontré la meilleure performance en terme de sensibilité et ce, à tous les stades de l'infection herpétique (vésicule, ulcère ou lésion croûtée). Un autre avantage non négligeable, outre la sensibilité accrue comparativement à la culture virale, est la stabilité des acides nucléiques indépendamment du respect de la chaîne du froid. Cette analyse serait particulièrement utile pour les centres périphériques ou éloignés qui doivent acheminer les spécimens à un laboratoire serveur.
- Dans un avenir proche, plusieurs compagnies de diagnostic moléculaire offriront la détection automatisée du VHS sur leur plate-forme en temps réel. L'offre de TAAN par les laboratoires régionaux devrait être majorée afin d'optimiser le diagnostic de l'infection herpétique, et ce, dans des temps-réponse acceptables.
- Compte tenu de leur coût, il est important d'utiliser ces tests de façon rationnelle et d'éviter de les répéter lorsqu'un résultat positif a déjà été obtenu à partir d'une lésion au même site anatomique (sauf si l'on désire exclure une résistance antivirale ou lorsque le résultat du typage obtenu ne correspond pas à l'histoire clinique). Le laboratoire devrait être en mesure de vérifier dans les données informatiques le résultat antérieur et d'indiquer sur le rapport que l'analyse n'a pas été effectuée puisqu'un résultat positif a déjà été émis pour ce patient à telle date et à tel site.

1.2 SÉROLOGIE SPÉCIFIQUE DE TYPE DU VHS

- La sérologie spécifique de type ne remplace pas les tests de détection virale qui prouvent hors de tout doute la présence du virus dans les lésions génitales.
- Comme pour les autres infections transmissibles sexuellement et par le sang (ITSS), le counseling pré et post test est un aspect important de la prévention et la prise en charge de l'herpès génital. Compte tenu de la complexité de cette ITSS, les cliniciens ont particulièrement besoin d'être outillés et soutenus, notamment pour transmettre de façon adéquate les informations concernant la transmission du virus ainsi que sur les forces et limites des analyses de détection virale et de la sérologie spécifique de type (notamment quant aux indications et à l'interprétation des résultats).

- La sérologie spécifique de type est disponible dans plusieurs laboratoires au Québec, permettant de détecter la présence d'anticorps contre le VHS de type 1 et 2. Cinq trousse sont utilisées par ces laboratoires, chacune ayant des performances variables.
- La sensibilité des différentes trousse disponibles varie selon la population étudiée. Elle se situe entre 75 et 100 %.
- Les spécificités des trousse citées dans la littérature proviennent de tests effectués chez des populations à haute prévalence d'herpès génital. Elles varient de 94 % à 98 %. Dans les populations à faible prévalence, la valeur prédictive positive s'abaisse et les risques de résultat faussement positif augmentent. Il est donc important de cibler les populations à haut risque d'herpès génital, car il n'y a pas de test de confirmation facilement accessible.
- Les indications publiées dans la littérature pour effectuer une sérologie spécifique de type reposit, pour la plupart, sur l'opinion d'experts et varient selon la littérature consultée.

Les membres du CALI retiennent les situations suivantes comme étant des indications acceptables pour effectuer une sérologie spécifique de type :

- Contribuer à établir ou exclure le diagnostic d'herpès génital chez les patients ayant des symptômes récurrents, des lésions atypiques ou des lésions en voie de guérison et un test de détection virale négatif ou n'ayant pu être effectué faute de lésion au moment de la visite^A.
- Vérifier le statut sérologique d'un partenaire sexuel régulier d'une personne chez qui l'infection (herpès génital) a été prouvée par test de détection virale et le conseiller si sérodiscordance.
- Dans certaines situations chez la femme enceinte, telles que précisées ci-après :

Considérations chez la femme enceinte :

- La Société des obstétriciens et gynécologues du Canada recommande que les femmes enceintes qui ne présentent pas d'antécédent d'infection au VHS mais qui ont connu un partenaire présentant une infection génitale au VHS devraient faire l'objet d'un dépistage sérologique afin de déterminer leur risque de contracter une infection génitale au VHS pendant la grossesse. Les membres du CALI sont d'accord avec cet énoncé, mais soulèvent la mise en garde suivante : la prévalence d'infection génitale chez les femmes enceintes étant variable et parfois faible selon la population étudiée, la valeur prédictive positive du test sérologique peut être abaissée avec risque d'émission d'un résultat faussement positif, entraînant un sentiment de fausse sécurité. La femme enceinte et son partenaire doivent être avisés de cette possibilité et conseillés sur les pratiques sexuelles sécuritaires afin de diminuer les risques d'acquisition du VHS durant la grossesse.
- Devant un **premier épisode d'herpès génital durant la grossesse**, idéalement confirmé par un test de détection virale, il est recommandé d'effectuer une sérologie spécifique de type afin de documenter la séroconversion et l'immunité avant l'accouchement. L'identification d'un premier épisode d'infection herpétique, particulièrement pendant le troisième trimestre, pourrait influencer la prise en charge du nourrisson après l'accouchement.

^A Puisqu'il est important de confirmer le diagnostic d'herpès génital avec un test de détection virale sur la lésion, demander au patient de consulter à nouveau lors du prochain épisode d'ulcération génitale.

- Si la femme présente des **lésions génitales actives à l'accouchement** :
 - **sans diagnostic d'herpès génital au préalable** : il est recommandé d'effectuer un test de détection virale sur les lésions et idéalement, une sérologie spécifique de type chez la mère si le laboratoire est en mesure d'émettre un résultat rapidement. Ceci permettra de classifier l'infection herpétique en primaire, non primaire ou récurrente et ainsi de préciser le risque de transmission néonatale et d'orienter la prise en charge de l'enfant à la naissance.
 - **avec antécédent d'herpès génital avant la grossesse** : il est recommandé d'effectuer seulement un test de détection virale sur les lésions. Ceci représente fort probablement une réactivation virale (infection récurrente) avec un risque de transmission néonatale faible.

Les membres du CALI ne retiennent pas les situations suivantes comme étant des indications d'effectuer une sérologie spécifique de type du VHS :

- Déterminer si l'infection herpétique est nouvellement acquise ou s'il s'agit d'une réactivation pour guider le counseling pré et post test et la conduite (en dehors des contextes mentionnés ici-haut lors d'une grossesse).
- Dépister les populations à risque d'ITSS telles que les HARSAH et les personnes ayant des partenaires multiples.
- Dépister systématiquement la femme enceinte.
- Dépister les personnes de la population générale.
- Dépister les personnes vivant avec le VIH (PVVIH).

Compte tenu que la majorité des laboratoires offre de façon simultanée la recherche d'anticorps spécifiques contre le VHS type 1 et 2 (sans égard à ce qui est demandé, et ce, pour des raisons pratiques), les membres du CALI entérinent cette façon de faire, en considérant les réserves suivantes :

- Il est recommandé d'effectuer la sérologie spécifique de type seulement si le résultat modifiera la conduite, en reconnaissant les limites de performance du test ainsi que l'importance du counseling pré et post test.
- Les membres du CALI reconnaissent que le fait d'effectuer une sérologie spécifique de type pour le VHS de type 1 et de type 2 peut être utile (lorsqu'indiqué tel que mentionné précédemment) afin d'exclure le diagnostic d'infection herpétique génitale devant un résultat négatif aux VHS-1 et VHS-2 (sauf dans un contexte de lésion récente ou d'exposition récente, où une séroconversion peut être en cours).

- Devant un résultat positif de sérologie VHS-1 isolée (sérologie VHS-2 négative et aucune confirmation par un test de détection virale), il est impossible de différencier une infection oro-labiale d'une infection génitale. Les membres du CALI recommandent que le laboratoire inclue le commentaire suivant lors de l'émission du rapport, afin de guider le clinicien dans l'interprétation du résultat : « *Ce profil sérologique doit être interprété selon le contexte clinique. Bien qu'il puisse être associé à une infection génitale par le VHS-1, il est possible qu'il soit causé par une infection oro-labiale. En présence de manifestations cliniques de primo-infection génitale, il est à noter que la période fenêtre pour la détection des anticorps anti-VHS-2 peut s'étendre jusqu'à 12 semaines. Un test de détection virale à partir d'un prélèvement de lésions est toujours à privilégier* ».

Il importe d'utiliser ce test de façon rationnelle et d'éviter de le répéter lorsqu'un résultat positif a déjà été obtenu pour l'un ou l'autre type de VHS. Le laboratoire devrait être en mesure de vérifier, dans les données informatiques, le résultat antérieur et d'indiquer sur le rapport que l'analyse n'a pas été effectuée puisqu'un résultat positif a déjà été émis pour ce patient à telle date et pour tel type de VHS.

2 CONTEXTE

Ce document est une nouvelle édition d'un document de l'Association des médecins microbiologistes et infectiologues du Québec (AMMIQ) intitulé « Protocole des ITSS : Tests diagnostiques de l'infection génitale à herpes simplex », dont l'auteur était Isabelle Tétrault. Le comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS (CALI) de l'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 du laboratoire. Nous espérons aussi que certaines informations qui y sont présentées pourront être utiles aux cliniciens et professionnels de santé publique qui le consulteront.

3 BUT

Ce document décrit les différents tests de laboratoire existants permettant d'établir le diagnostic d'infection génitale par le virus Herpes simplex (VHS).

4 OBJECTIFS

- Décrire les étapes conduisant à un prélèvement de qualité ainsi que les conditions optimales de conservation et de transport pour les tests de détection du VHS.
- Décrire les principes et les procédures des tests de détection du VHS, soit la détection d'antigènes, la culture virale et les tests d'amplification des acides nucléiques (TAAN).
- Décrire les principes et les procédures de la sérologie spécifique de type du VHS.
- Détailler les situations pour lesquelles une sérologie spécifique de type est indiquée et celles pour lesquelles elle n'est pas recommandée.

5 UTILISATIONS

Le VHS est la cause première des ulcères génitaux. Depuis 1976, les *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) étudient la séroprévalence du VHS aux États-Unis via la *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES). Ces études de séroprévalence du VHS type 1 et 2 s'effectuent chez des personnes âgées de 14 à 49 ans et permettent de stratifier la prévalence selon le sexe, l'âge, la race et le nombre de partenaires sexuels à vie (1). La période d'étude la plus récente remonte à 2005-2008 et a démontré une prévalence globale du VHS-2 de 16,2 % (12 % chez les hommes; 21 % chez les femmes). De ceux possédant des anticorps contre le VHS-2, 81 % ignoraient leur diagnostic d'infection herpétique génitale (2). Quant à la séroprévalence du VHS-1, 58 % de la population testée entre 1999 et 2004 possédaient des anticorps contre ce type de VHS (1).

Au Canada, des études de séroprévalence ont été effectuées dans les années 2000 dans diverses provinces et sur différentes populations (3). Ces études ont démontré une séroprévalence du VHS-2 de 17 % chez les femmes enceintes en Colombie-Britannique, 9 % et 6 % chez les femmes en âge de procréer en Ontario et Terre-Neuve et 19 % chez la clientèle testée en clinique d'ITSS en Alberta. Chez les personnes infectées par le VIH, 55 % avaient des anticorps contre le VHS-2. Une grande proportion de la population canadienne testée possédait des anticorps contre le VHS-1, soit de 52 % à 65 % des adultes en Alberta et plus de 80 % des femmes en âge de procréer en Ontario et Terre-Neuve (3). Il n'existe pas de données épidémiologiques similaires au Québec.

L'infection génitale par le VHS-1 est en progression depuis plusieurs années surtout chez les femmes, étant la cause de près de 50 % des infections primaires par le VHS dans certains pays. Cette augmentation reflète probablement une baisse d'acquisition de l'infection durant l'enfance et une susceptibilité accrue lors du début des relations sexuelles, mais également une augmentation du nombre de personnes pratiquant des relations oro-génitales (4).

Une faible proportion des patients atteints d'herpès génital présente des symptômes typiques d'infection (20 %), alors que la majorité a soit une présentation atypique telle que des fissures, des furoncles, un érythème localisé ou des excoriations (60 %) ou est complètement asymptomatique (20 %) (5).

Il importe de faire un diagnostic microbiologique de l'herpès génital (6), puisque la plupart des individus qui transmettent l'infection à leur partenaire ignorent leur diagnostic et que l'herpès génital causé par le VHS-2 est reconnu pour doubler les risques d'acquisition et de transmission de l'infection par le VIH. Comme la présentation clinique est rarement typique et que le diagnostic différentiel d'une ulcération génitale est vaste, la sensibilité du diagnostic clinique seul est de 40 % (7). Inversement, 20 % des patients diagnostiqués comme ayant une infection génitale herpétique sur la base de la clinique ne sont pas infectés par le VHS. La confirmation de l'infection par des tests de laboratoire est donc primordiale, d'autant plus si un traitement antiviral suppressif ou une césarienne sont envisagés et, aussi, considérant les conséquences psychosexuelles non négligeables associées à un tel diagnostic.

Les tests de laboratoire effectués doivent distinguer les deux types de VHS, soit le type-1 et le type-2, puisque plusieurs différences existent entre ces 2 types quant aux sites d'infection, au taux de récurrences, à la fréquence et à la durée de l'excrétion asymptomatique ainsi qu'au risque de transmission au partenaire. Les renseignements apportés par le typage permettront donc de donner des explications précises au patient sur le pronostic de son infection, ainsi que sur les moyens de diminuer la transmission (7).

6 PRINCIPES

Plusieurs tests de laboratoire sont disponibles pour le diagnostic de l'infection génitale par le VHS. Ils se divisent en 2 catégories : ceux permettant la détection virale (détection d'antigènes, culture virale et TAAN) et ceux permettant la détection d'anticorps spécifiques contre le VHS-1 et VHS-2 au niveau sanguin (sérologie spécifique de type).

7 ÉCHANTILLON(S)

7.1 PRINCIPES GÉNÉRAUX

La sensibilité des tests de détection virale dépend de la qualité du prélèvement, de sa conservation et de son transport au laboratoire dans des conditions optimales.

Les **spécimens adéquats** pour la détection virale sont l'écouvillonnage ou la biopsie d'une lésion cutanée ou muqueuse telles que l'endocol, le vagin, l'urètre, et le rectum. À noter qu'il n'est pas recommandé de faire un prélèvement chez une personne asymptomatique (8).

7.1.1 Écouvillons

Les **écouvillons acceptables** pour le prélèvement sont énumérés ci-dessous. Dans un souci de simplification pour le professionnel effectuant le prélèvement, il importe d'uniformiser le type d'écouvillon choisi dans chaque milieu pour que ce dernier soit adéquat autant pour la culture virale que pour le TAAN ou la détection antigénique (8-13).

- Écouvillons recommandés :
 - écouvillon de dacron, de rayonne ou en nylon velouteux (*flocked swab*)
 - avec tige en plastique ou en aluminium
- Écouvillons de coton : mise en garde :

La littérature consultée ne permet pas de recommander hors de tout doute ce type d'écouvillon pour la recherche du VHS. Une étude citée comme référence dans plusieurs ouvrages de microbiologie avait pour but de quantifier la baisse de l'inoculum du VHS-2 à divers intervalles de temps lorsque le virus était conservé à 4°C dans des suspensions contenant différentes fibres d'écouvillons (14). Cette étude a démontré une baisse de concentration du VHS-2 comparable pour les suspensions contenant du coton, du polyester, du dacron, de la rayonne et celle sans fibres (contrôle) (voir annexe 2). Toutefois, il est spécifié dans le texte, sans que ceci soit démontré graphiquement, que les titres viraux du VHS-2 avaient subi une baisse significative dans les suspensions de coton ayant subi une sonication après conservation à 4°C durant 24 heures (14). L'auteur

du manuel de référence en microbiologie Garcia et le *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) s'appuient sur cette étude pour ne pas recommander l'utilisation d'écouvillons de coton pour recherche virale (8,9). Toutefois, ce type d'écouvillon figure comme alternative acceptable pour la recherche du VHS dans le guide de laboratoire des ITSS de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et le manuel de microbiologie de l'*American Society for Microbiology* (13,15). Compte tenu qu'il existe sur le marché des écouvillons de polyester ou contenant d'autres fibres synthétiques ayant démontré des performances fiables pour recherche virale, nous sommes d'avis qu'il est préférable de ne pas utiliser d'écouvillon de coton pour rechercher du VHS (9,13-16).

Les **écouvillons inacceptables** pour le prélèvement sont énumérés ci-dessous (8,9,12,13) :

- Les écouvillons d'alginate de calcium sont toxiques pour plusieurs virus enveloppés, interfèrent avec les tests d'immunofluorescence et sont inhibiteurs pour les TAAN (par exemple, l'écouvillon Calgiswab® de Puritan pour culture de *Bordetella* sur prélèvement nasopharyngé). L'étude citée précédemment a démontré une baisse significative du nombre de particules virales du VHS lorsque celui-ci était en contact plus de 6 heures avec de l'alginate de calcium contenu dans le milieu de transport liquide (écouvillon cassé dans le milieu de transport, par exemple). Il semblerait que l'alginate de calcium se lie au VHS, le rendant non infectieux (annexe 2) (14,16).
- Les tiges en bois ne doivent pas être utilisées, car elles peuvent contenir des toxines et des substances inhibitrices et peuvent absorber une certaine quantité de liquide (9,13).

7.1.2 Milieux de transport

Différents milieux de transport sont disponibles pour recherche virale. Ces milieux existent sous forme liquide. Ils sont nécessaires pour éviter la dessiccation du spécimen, préserver la viabilité du VHS et l'intégrité des acides nucléiques et retarder la croissance de micro-organismes contaminants (9,12,13).

Le milieu de transport viral contient les éléments suivants : des protéines stabilisatrices (albumine sérique bovine ou gélatine), des agents antimicrobiens pour minimiser la contamination bactérienne et fongique (gentamicine, pénicilline, streptomycine, vancomycine, amphotéricine B ou nystatin), une solution saline équilibrée pour maintenir un pH neutre, ainsi qu'un indicateur de pH. Il contient également trois à cinq billes de verre qui facilitent la libération du virus des cellules et de l'écouvillon lors de l'agitation du liquide (vortex). Il ne doit pas contenir d'inhibiteurs qui interfèreraient avec les TAAN.

Les tubes de transport contiennent habituellement 2 à 3 mL de liquide. Certains contiennent un plus grand volume de liquide (5 à 7 mL) pour les spécimens tissulaires ou de biopsie. Il est important d'employer le plus petit volume nécessaire lorsqu'un écouvillon est utilisé afin d'éviter un effet de dilution qui pourrait diminuer la sensibilité des tests effectués.

Plusieurs milieux de transport pour recherche virale sont disponibles commercialement, alors que certains laboratoires au Québec les fabriquent eux-mêmes sur place. Le clinicien doit suivre les recommandations fournies par le laboratoire concernant le type de milieu de

transport à utiliser pour la recherche du VHS et l'entreposage du milieu de transport avant, pendant et après le prélèvement de l'échantillon clinique.

Certains fournisseurs offrent de façon combinée l'écouvillon et le milieu de transport viral. Le tableau 1 fournit, à titre de référence, un résumé des différents milieux de transport et les écouvillons commerciaux disponibles sur le marché pour recherche virale.

Tableau 1 Milieux de transport et écouvillons disponibles sur le marché pour la recherche du virus Herpes simplex (en date d'avril 2014)

(Source :(10,11,17-28))

Nom du milieu de transport viral	Manufacturier ou fournisseur	Conservation et transport du spécimen à la température de la pièce selon la monographie	Conservation du spécimen et transport à 2 à 8°C	Écouvillons disponibles	Tige à casser dans le milieu de transport
Copan Universal Transport Medium (UTM-RT) System	Copan/Distribué par Alere	√		- Polyester - Nylon velouteux - Tige plastique	√
Mswab™	Copan	√		- Nylon velouteux	√
BD Universal Viral Transport	BD	√		- Polyester - Nylon velouteux - Tige plastique	√
Universal Transport Medium UTM-RT	EMD Millipore	√		- Nylon velouteux - Tige plastique	√
Universal Transport : Σ-VCM™	Mwe medical wire	√		- Rayonne - Mousse cellulaire	√
Virocult® et Σ-Virocult®	Mwe medical wire	√		- Mousse cellulaire - Tige plastique et aluminium	√
MicroTest™ M4RT® Multi-Microbe Media	Remel/Distribué par Thermo Fisher Scientific	√		- Polyester - Tige plastique	√
MicroTest™ M4® M5®M6® Multi-Microbe Media	Remel/Distribué par Thermo Fisher Scientific		√	- Polyester - Tige plastique	√

Tableau 1 Milieux de transport et écouvillons disponibles sur le marché pour la recherche du virus Herpes simplex (en date d'avril 2014) (suite)

Nom du milieu de transport viral	Manufacturier ou fournisseur	Conservation et transport du spécimen à la température de la pièce selon la monographie	Conservation du spécimen et transport à 2 à 8°C	Écouvillons disponibles	Tige à casser dans le milieu de transport
Bartels ViraTrans™ Viral Transport Medium	TrinityBiotech		√		√
CVM Transport Media	Hardy Diagnostics	√		- Dacron - Nylon velouteux - Tige plastique	√
Meridian Viral transport	Meridian		√	- Nylon velouteux - Tige plastique	√
Multitrans™	Starplex scientific inc.		√	- Polyester - Nylon velouteux - Tige plastique	√
Puritan®UniTranz-RT™	Puritan/Distribué par ESBE		√	- Nylon velouteux - Rayonne velouteux - Velouteux HYDRA - Mousse de polyurethane - Tige plastique	√
Milieu de Hank's (HBSS)	LifeTechnologies Sigma Aldrich		√		Selon la taille du tube

Ce tableau n'est pas exhaustif et certaines fournitures sont susceptibles de ne pas être disponibles au Québec, ceci restant à être validé avec le fournisseur et le service des achats du laboratoire.

7.1.3 Prélèvement, conservation et transport du spécimen

Les étapes suivantes sont nécessaires pour la **qualité** d'un bon prélèvement (8,9,13,15) :

- Enlever les débris nécrotiques et l'exsudat des muqueuses ou des lésions avant le prélèvement sans faire saigner préférablement.
- Nettoyer le site à prélever avec de la saline physiologique stérile afin d'éviter la contamination microbienne qui peut interférer avec la culture. Ne pas utiliser d'antiseptique.
- Pour les lésions récentes, il importe de prélever le liquide des vésicules qui contient une haute concentration virale avec l'une des 2 méthodes suivantes :
 - aspirer du liquide de la vésicule avec une seringue à tuberculine et rincer le contenu de la seringue dans 1 ml de milieu de transport liquide, ou
 - rompre la vésicule avec une aiguille stérile et collecter le liquide à l'aide d'un écouvillon, puis frotter la région vigoureusement afin de prélever les cellules infectées à la base de l'ulcère.
- Si plusieurs vésicules ou lésions sont présentes, effectuer un prélèvement sur plusieurs sites afin d'augmenter les chances de retrouver le virus. Comme les différents milieux de transport sont adaptés pour recevoir un seul écouvillon, utiliser un tube de milieu de transport pour chaque échantillon prélevé. Autrement, si plusieurs écouvillons sont insérés dans un seul tube, le bouchon risque de ne pas fermer hermétiquement et entraîner une perte de liquide.
- Pour les lésions non vésiculeuses ou non pustuleuses, prélever les cellules à la base de la lésion avec un écouvillon humidifié avec de la saline physiologique stérile. Les monographies des milieux de transport indiquent clairement qu'il n'est pas recommandé d'utiliser le liquide contenu dans le tube pour humidifier l'écouvillon avant d'effectuer le prélèvement (10,17,18).
- Une fois le prélèvement effectué :
 - enlever le bouchon du tube de transport en évitant de le contaminer;
 - insérer l'écouvillon dans le tube;
 - casser l'écouvillon dans le milieu de transport (voir tableau 1). Si un milieu de transport ne figurant pas dans le tableau est utilisé, vérifier auprès du laboratoire serveur si l'écouvillon doit demeurer dans le tube ou s'il doit être retiré une fois l'émulsion faite;
 - remettre le bouchon sur le tube en le serrant fermement;
 - identifier correctement le tube et inscrire les informations requises par le laboratoire serveur;
 - conserver le spécimen selon les recommandations ci-dessous.

Le manuel de référence en microbiologie Garcia et le CLSI recommandent que le spécimen soit réfrigéré ou placé sur glace avant son transport au laboratoire. Si on prévoit un délai de plus de 48 heures avant l'arrivée au laboratoire, il est préférable de congeler le spécimen à -70°C et d'éviter la congélation à plus haute température mais surtout d'éviter le cycle congélation-décongélation (8,9). Des études ont démontré que, pour les virus en général, la perte d'infectiosité est supérieure quand la conservation est à -20°C plutôt que -70°C ou plus

froid (12,29). Le document de l'OMS précise que la culture est recommandée dans les situations où il est possible d'expédier le spécimen au laboratoire dans les 4 heures suivant le prélèvement. Au-delà de ce délai, le spécimen doit être réfrigéré et acheminé au laboratoire sur glace, au maximum 48 heures après avoir effectué le prélèvement (15).

Le VHS étant sensible aux variations de température, il a toujours été véhiculé effectivement, dans la littérature, qu'il était important de conserver la chaîne du froid dans toutes les étapes précédant l'arrivée au laboratoire. Il est cependant indiqué dans les monographies du *Universal Transport Medium* (UTM-RT de Copan, BD et Millipore) que ce milieu de transport universel est stable à la température de la pièce (d'où le RT, signifiant *Room Temperature*) et qu'il peut maintenir la viabilité des virus durant le transit au laboratoire, sans mentionner cependant la durée de la viabilité virale à la température de la pièce. Les compagnies recommandent tout de même que les spécimens soient réfrigérés (2 à 8°C) ou gardés sur glace suivant le prélèvement et durant le transport au laboratoire dans le meilleur délai possible (10,12,17,18).

Une étude de viabilité décrite dans ces monographies a été effectuée afin de comparer le nombre de cellules infectées par le VHS lorsque le milieu UTM-RT était conservé au froid ou à la température de la pièce, et ce, durant 24 et 48 heures avant l'ensemencement sur les lignées cellulaires. Cette étude a démontré une baisse de viabilité variable selon l'inoculum viral de départ pour les spécimens conservés à la température de la pièce, comparativement à ceux conservés au froid (baisse de l'ordre de 30 à 85 %). Malheureusement, aucune donnée n'était disponible pour une conservation à la température de la pièce de moins de 24 heures (annexe 2) (10). D'autres études ont démontré des résultats comparables (17, 18, 30, 31).

Sur la base de ces données, le CALI recommande, dans la mesure du possible, de :

- Réfrigérer le spécimen dès que le prélèvement est effectué. Autrement, si un milieu de transport universel avec la mention RT est utilisé (UTM-RT), il est possible de conserver le spécimen à la température de la pièce en attendant qu'il soit réfrigéré, en sachant que ceci peut affecter le résultat de la culture virale si l'inoculum de départ est faible.
- Expédier au laboratoire serveur le plus rapidement possible et dans les 48 heures suivant le prélèvement.
- Si un délai de plus de 48 heures est attendu avant l'expédition au laboratoire serveur, congeler le spécimen à -70°C.
- Transporter le spécimen dans une glacière à l'aide d'un bloc réfrigérant (*Ice pack*) ou avec de la glace sèche si congelé à -70°C.
- Indiquer sur la requête le site de prélèvement et la recherche spécifique du VHS et identifier l'échantillon selon les normes requises par le centre serveur.

7.2 EXAMEN CYTOLOGIQUE ET DÉTECTION ANTIGÉNIQUE

La détection antigénique peut se faire via le milieu de transport liquide contenant le spécimen, ceci permettant une culture virale ou un TAAN en parallèle si la détection directe est négative.

Toutefois, cette façon de faire n'est pas à privilégier puisque qu'une étape de centrifugation au laboratoire est nécessaire afin de récupérer les cellules infectées et la sensibilité du test effectué à partir du milieu de transport est moindre que lorsque le spécimen est directement inoculé sur une lame au chevet du patient.

Les étapes pour effectuer un prélèvement sur lame de qualité sont les suivantes :

- Utiliser une lame spécifiée par le centre serveur, par exemple une lame contenant des puits pour effectuer l'immunofluorescence ou un frottis de Tzanck (voir figure 1).
- Prélever les cellules à la base de l'ulcère ou de la lésion en pressant fermement et en roulant l'écouvillon sur la lésion. Essayer d'éviter le plus possible la contamination avec le sang, ce qui pourrait diminuer la sensibilité de l'analyse.
- Déposer les cellules en roulant l'écouvillon sur les puits. Les cellules doivent être étalées adéquatement pour permettre de bien les distinguer au laboratoire et diminuer ainsi le taux de frottis non-interprétables.
- Identifier adéquatement la lame et l'insérer dans un porte-lame, par exemple un étui en carton utilisé pour acheminer les frottis cervicaux en cytologie (test de Pap) ou tel que spécifié par le centre serveur.
- Il est important de vérifier auprès du laboratoire serveur si le spécimen doit être fixé sur la lame (avec de l'acétone froid ou autre fixatif recommandé par le manufacturier) ou réfrigéré avant l'arrivée au laboratoire (32).

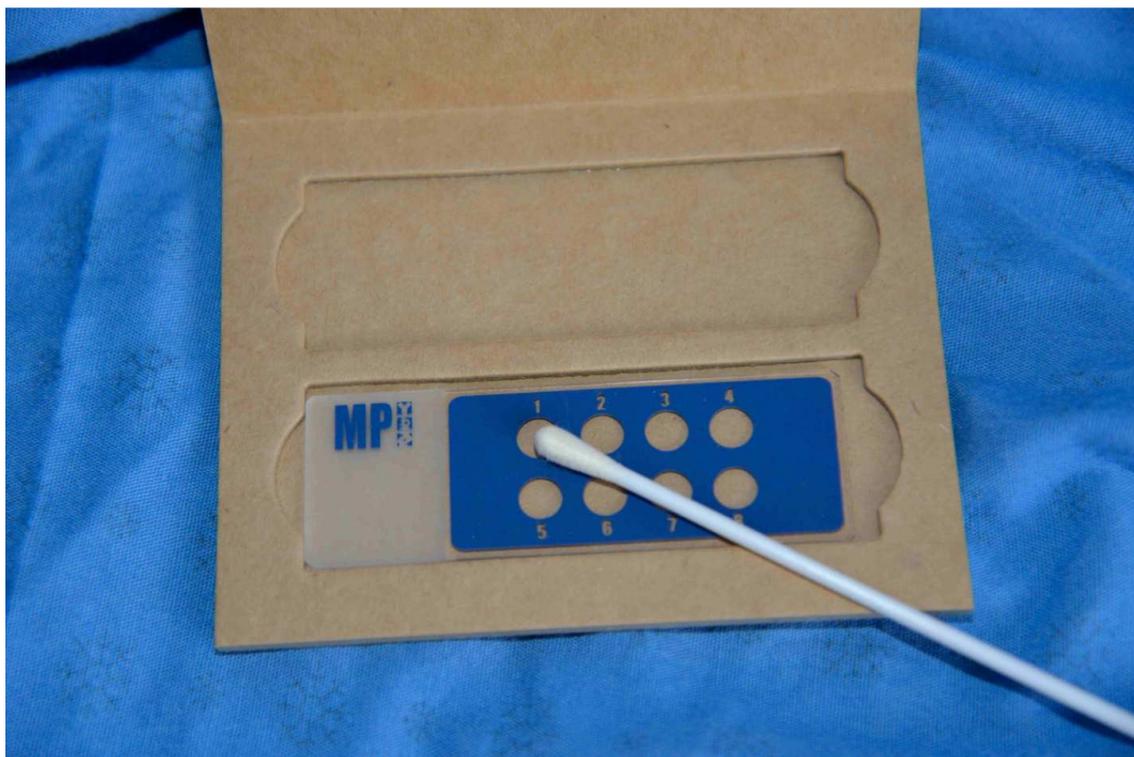


Figure 1 Exemple de lame pour effectuer l'immunofluorescence directe
(Source : Pierre Lebel, Hôpital Général de Montréal)

7.3 TAAN

Selon l'appareil et la trousse utilisée, le TAAN peut être effectué à partir du milieu de transport liquide contenant le spécimen ou à partir d'un écouvillon sec qui sera mis directement dans un tampon de lyse au laboratoire.

La détection virale par TAAN est moins affectée par les conditions de température, de conservation et de transport de l'échantillon. En effet, l'ADN du VHS est stable 30 jours à la température ambiante et 16 mois à -70°C (7). Il est recommandé de vérifier auprès du laboratoire serveur dans quelles conditions le spécimen doit être conservé et transporté selon le type de trousse et d'appareil utilisé.

8 SÉCURITÉ

- Porter une blouse de laboratoire et des gants lors de la manipulation des échantillons et en effectuant les techniques.
- Confinement de biosécurité de niveau 2.
- Éviter la production d'aérosols.

9 ÉQUIPEMENT ET MATÉRIEL

Spécifique à chaque technique.

10 CONTRÔLE DE QUALITÉ

Spécifique à chaque technique.

11 PROCÉDURE

11.1 EXAMEN CYTOLOGIQUE ET DÉTECTION ANTIGÉNIQUE

Ces méthodes visent la détection directe du VHS par des changements caractéristiques des cellules infectées (frottis de Tzanck) ou par détection d'antigènes communs ou spécifiques aux VHS-1 et VHS-2 par immunofluorescence. Ces méthodes demandent moins d'expertise que la culture. Elles peuvent être pratiques pour les laboratoires qui ne peuvent maintenir des lignées cellulaires, pour les laboratoires éloignés pour lesquels les conditions et délais de transport des spécimens seraient sous-optimaux pour la culture virale ou lorsqu'un résultat rapide est nécessaire. Bien que leur sensibilité soit moindre, ils demeurent une alternative à la culture virale ou au TAAN (13,15,32).

11.1.1 Examen cytologique : frottis de Tzanck, coloration Papanicolaou ou Romanovsky

Ces tests consistent en une coloration des cellules épithéliales et sont effectués par le laboratoire de pathologie. Des changements caractéristiques causés par le VHS sont parfois visibles, à savoir la présence de cellules géantes multinucléées avec inclusions virales. Ces tests manquent toutefois de sensibilité et de spécificité et ne peuvent différencier les 2 types de VHS (33, 34). Ils ne sont donc pas recommandés de routine comme tests diagnostiques d'une infection génitale herpétique. Ils peuvent toutefois être utiles dans certaines circonstances selon le jugement du clinicien ou être émis sur un rapport de pathologie lorsqu'une biopsie cutanée ou d'une muqueuse est effectuée.

11.1.2 Détection antigénique

11.1.2.1 Immunofluorescence directe

Ce test consiste en la détection d'un antigène du VHS par des anticorps spécifiques de type liés à un fluorophore. Il permet de détecter et de différencier les 2 types de VHS. Le sondage effectué auprès des laboratoires de la province de Québec en 2012 a démontré que ce test est offert dans 13 laboratoires de la province. Dix d'entre eux effectuent une culture virale (35).

La sensibilité des tests d'immunofluorescence comparativement à la culture virale est variable (10 % à 87 %). Elle dépend de la qualité du prélèvement et du stade de la lésion (70 % à 90 % pour un ulcère génital). Elle est supérieure lorsque le test est effectué sur des lésions vésiculeuses et est moindre sur des lésions croûtées. L'étalement du frottis au chevet diminue les frottis non-interprétables et les rejets de prélèvements par manque de cellules. La spécificité est toutefois excellente (supérieure à 95 %) (13,36).

Un des avantages de l'immunofluorescence directe est de permettre un diagnostic rapide de l'infection herpétique, indépendamment du maintien de la chaîne du froid. Il est également possible de faire en parallèle, sur demande, la détection antigénique du virus varicella-zoster si le médecin traitant le juge pertinent.

Les principales limitations, outre la sensibilité, sont la disponibilité de la lame auprès du clinicien, la nécessité d'avoir l'équipement requis (réactifs et microscope à fluorescence), la qualité du frottis prélevé au chevet du patient et le temps technique nécessaire pour effectuer l'analyse.

Le code d'analyse du répertoire québécois et système de mesures des procédures de biologie médicale 2014-2015 est le 41282 (valeur pondérée 22) (37).

11.2 CULTURE VIRALE

La culture du virus demeure le test diagnostique le plus accessible et disponible dans les laboratoires au Québec. Le sondage effectué auprès des laboratoires de la province de Québec en 2012 a démontré que 17 laboratoires offraient la culture virale du VHS (35).

La culture virale consiste à inoculer le spécimen sur des lignées cellulaires permissives pour le virus Herpes simplex, soient : A-549 (*human epidermoid lung carcinoma*), RK (*rabbit kidney*), ML (*mink lung*), HNK (*human neonatal kidney*), Vero cells (*monkey kidney*) et Hep2 (*laryngeal squamous cell carcinoma*). Selon plusieurs références, les lignées cellulaires provenant de fibroblastes humains (MRC-5 et WI-38) sont moins permissives pour le VHS : l'effet cytopathogène (ECP) peut s'y développer plus lentement et être moins caractéristique (9,13,38,39). Toutefois, d'autres références ne semblent pas corroborer ces différences et l'accès aux cellules MRC-5 est plus facile que pour certaines autres lignées (40)^B. Lors du Contrôle externe de qualité du LSPQ de juin 2014, parmi les 12 laboratoires participants réalisant la culture cellulaire, 9 lignées cellulaires ont été utilisées : AGMK, FEH, FPH, MRC-5, MRHF, HFL, A-549, VERO et BGМК^C. Huit laboratoires utilisent de routine une seule lignée, trois en utilisent deux et un en utilise trois. Les lignées les plus utilisées sont MRC-5 (4 laboratoires), AGMK et A-549 (3 laboratoires) (41).

Une lecture quotidienne du tapis cellulaire est effectuée à la recherche d'un ECP. Près de 90 % des spécimens positifs pour le VHS auront présenté un tel effet à 72 heures (deux à sept jours). Les cultures sont incubées durant sept jours avant de rapporter un résultat négatif (7, 38).

Tout ECP doit être confirmé par des anticorps monoclonaux dirigés contre des antigènes spécifiques au VHS. Cette confirmation se fait par un test d'immunofluorescence directe et permet de différencier l'infection par le VHS type 1 et type 2 (13,38).

La sensibilité de la culture virale est dépendante de la qualité du prélèvement, du maintien de la chaîne de froid lors de la conservation et du transport du spécimen, des lignées cellulaires utilisées, mais aussi du type de lésion prélevée et du stade de l'infection. En effet, la sensibilité d'une culture virale effectuée sur les vésicules est de 94 %, comparativement à 87 % sur les lésions pustuleuses, 70 % sur les ulcères et 27 % sur les lésions croûtées. La sensibilité est également supérieure pour les lésions prélevées lors de l'épisode primaire (80 %) comparativement aux récurrences (25 % à 50 %) (4,36,42).

La spécificité est près de 100 % si un test de confirmation est effectué (13). En raison de la forte positivité de certains échantillons, le risque de contamination croisée en culture cellulaire existe. Les bonnes pratiques de travail et de décontamination sont essentielles afin de minimiser ce risque.

Le code d'analyse du répertoire québécois et système de mesures des procédures de biologie médicale 2014-2015 est le 41281 (valeur pondérée 46) (37).

Ce test permet d'effectuer, si requis, un test de sensibilité aux antiviraux par méthode phénotypique ou génotypique (identification de mutations génétiques UL23 et UL30) (7).

^B Communication personnelle, Éric Frost, 29 septembre 2014.

^C AGMK = cellules de rein de singe vert africain; FEH = fibroblastes embryonnaires humains; FPH = fibroblastes de prépuce humain; MRC-5 = cellules fibroblastiques de poumon humain; MRHF = fibroblastes de l'épiderme humain; HFL = fibroblastes fœtaux de poumon humain; A-549 = cellules de carcinome pulmonaire humain; VERO = cellules épithéliales de rein de singe vert africain; BGМК = cellules de rein de singe vert Buffalo.

11.2.1 Méthodes de détection rapide en culture cellulaire

La culture par centrifugation sur lamelle (*Shell via*) peut favoriser la détection du VHS sur les spécimens comportant un inoculum faible ou lorsqu'ensemencés sur des lignées cellulaires moins permissives. Un des avantages de la culture par centrifugation sur lamelle, comparativement à la culture virale conventionnelle, est la détection plus précoce d'un ECP (18 à 36 heures). Comme l'ECP du VHS se produit rapidement sur les tapis cellulaires conventionnels (24 à 72 heures), cette technique est moins utile pour la détection du VHS, comparativement à d'autres virus dont la croissance est plus lente. Les étapes de cette technique sont schématisées à l'annexe 4 (38).

Le système ELVIS (*Enzyme-Linked Virus-Inducible System, Diagnostic Hybrid*) est un système qui emploie des cellules BHK (*baby hamster kidney*) modifiées génétiquement dans lesquelles les protéines du VHS induisent l'accumulation de l'enzyme β -galactosidase qui est détectée par colorimétrie. L'avantage principal de ce système est la rapidité de détection du VHS (24 heures). Plusieurs études publiées ayant comparé les TAAN à la culture virale pour la détection du VHS ont utilisé le système ELVIS (33,38,43). À notre connaissance, aucun laboratoire de la province n'utilise ces cellules actuellement.

11.3 TAAN

11.3.1 Principes généraux

Cette technique consiste à détecter le VHS par l'amplification d'une région génétique propre au virus (ADN polymérase, thymidine kinase, glycoprotéine B, C, D, G) et caractérisation du type par digestion enzymatique, par sonde spécifique ou par détermination de la température de fusion (T_m) (13,33,44). Les TAAN VHS nécessitent un équipement de pointe et une expertise technique. Ils sont actuellement utilisés de routine dans peu de laboratoires au Québec. Le sondage effectué à l'automne 2012 auprès des laboratoires a démontré que seulement quatre laboratoires de la province effectuent un TAAN VHS, trois d'entre eux par une technique maison et l'autre en utilisant une trousse commerciale d'amorces sur un appareil PCR en temps réel. Il est probable que le nombre de laboratoires offrant un TAAN pour les échantillons génitaux ait augmenté au cours des deux dernières années.

Les principaux avantages clairement établis du TAAN, comparativement à la culture virale, sont :

- Sensibilité supérieure;
- Détection de particules virales non viables (la stabilité des acides nucléiques facilite le transport des échantillons);
- Possibilité de détecter une co-infection par les deux types de VHS;
- Rapidité de la technique qui permet l'émission d'un résultat la journée même où le test est effectué.

Le TAAN demeure la méthode de détection virale la plus sensible, et ce, à tous les stades de l'infection. Des études ont démontré que le taux de détection du VHS par TAAN dans des prélèvements mucocutanés était supérieur à la culture virale de l'ordre de 11 % à 41 %. D'autres études ont fait état que le TAAN était quatre à neuf fois plus sensible que la culture virale et ce, particulièrement l'été, alors que la labilité du virus est plus importante due à la température ambiante plus élevée (44-48).

Tout comme la culture virale, la sensibilité du TAAN est affectée par l'âge des lésions et leur morphologie lors du prélèvement. Une étude comparant la culture virale au TAAN effectuée chez des patients avec clinique suggestive d'herpès génital a démontré un taux de détection global du VHS par TAAN 24 % supérieur à celui par culture. Plus précisément, les auteurs ont noté une augmentation de la sensibilité du TAAN comparativement à la culture de 13 % pour les lésions vésiculeuses, de 27 % pour les ulcères et de 20 % pour les lésions croûtées (49).

Les causes d'un résultat faussement négatif par le TAAN sont la présence d'inhibiteurs dans le spécimen, un prélèvement de mauvaise qualité, une faible quantité de particules virales ou des variations de séquences dans les régions ciblées par les amorces.

La cause principale d'un résultat faussement positif par le TAAN est la contamination exogène par de l'ADN viral. Un tel résultat semble moins à risque avec les plates-formes en temps réel qui sont des systèmes fermés, donc avec moins de manipulations post-amplification. Toutefois, certains experts demeurent préoccupés par le risque de contamination et suggèrent en effet d'éviter de faire la recherche du VHS par TAAN sur les liquides céphalorachidiens dans le même environnement que celui utilisé pour le TAAN à partir de lésions génitales^D.

11.3.2 Trousses disponibles sur le marché (en date de juin 2014)

Il existe actuellement un seul appareil de TAAN automatisé commercial approuvé par Santé Canada pour la détection qualitative du VHS type 1 et 2. Il s'agit du système ProbeTecTM HSV Qx Amplified DNA Assay de la compagnie Becton Dickinson sur l'instrument ViperTM, utilisant une technologie d'amplification iso thermique brevetée. Une étude multicentrique américaine comparant la performance de cet appareil avec la culture virale et un TAAN maison (*University of Washington*) pour la détection du VHS sur des lésions ano-génitales a démontré les résultats suivants (50,51) :

- Sensibilité de 97,6 % pour la détection du VHS-2 comparativement à 79,7 % pour la culture.
- Sensibilité de 97,3 % pour la détection du VHS-1 comparativement à 90,2 % pour la culture.
- Sensibilité comparable à celle du TAAN de référence (maison).
- Limite de détection pour le VHS-1 : 85 particules virales/mL de milieu de transport liquide.
- Limite de détection pour le VHS-2 : 635 particules virales/mL de milieu de transport liquide.

^D Communication personnelle; Dr Christian Renaud, 5 juin 2014.

Les caractéristiques et avantages de ce TAAN commercial sont les suivants :

- Approuvé pour la détection du VHS sur des lésions ano-génitales externes chez des patients âgés de plus de 17 ans.
 - non approuvé pour la détection sur des lésions cervicales ni sur l'urine;
 - non approuvé pour la détection lors d'excrétion asymptomatique.
- Permet d'utiliser un écouvillon cassé dans un milieu de transport universel ou celui fourni par la compagnie.
- Conservation du spécimen à la température de la pièce jusqu'à 48 heures après le prélèvement et 14 jours si le spécimen est réfrigéré.
- Pas d'interférence observée avec le sang.

Plusieurs trousse commerciale de TAAN sont aussi disponibles sans toutefois être complètement automatisées. Ces trousse contiennent des amorces et/ou des réactifs nécessaires à l'amplification sur un appareil en temps réel. Le statut d'approbation réglementaire par Santé Canada et la FDA est variable selon les trousse disponibles commercialement. Le détail des trousse disponibles et les caractéristiques propres à chacune sont présentés au tableau 2.

Comme les technologies moléculaires évoluent très rapidement, il faut demeurer à l'affût des nouveaux tests et des nouvelles plates-formes disponibles. La plupart des compagnies de diagnostic moléculaire incluront le TAAN dans leur menu, à court ou moyen terme, sur leur plate-forme automatisée en temps réel. **Les membres du CALI sont d'avis que l'offre de TAAN par les laboratoires régionaux devrait être majorée afin d'optimiser le diagnostic de l'infection herpétique, et ce, dans des temps-réponse acceptables.**

Le code d'analyse du répertoire québécois et système de mesures des procédures de biologie médicale 2014-2015 est le 41283 pour les trousse non homologuées ou tests développés par le laboratoire (valeur pondérée 25) et le 41287 pour les trousse homologuées (valeur pondérée 45) (37).

Tableau 2 Caractéristiques des trousse de TAAN commerciales non automatisées disponibles sur le marché (en date de juin 2014)

Trousses	Caractéristiques
RealStar® HSV PCR Kit 1.0 et Kit 1.1 (Altona Diagnostics) (52) (53)	<p>PCR quantitatif en temps réel et différentiel pour VHS 1 et 2</p> <p>Approuvé en Europe, CE-IVD</p> <p>Trousse de réactifs seulement</p> <p>La version 1.0 peut être utilisée sur m2000rt (Abbott), Light Cycler® 480 (Roche), Mx 3005P™ QPCR System (Stratagene), VERSANT™ kPCR Molecular System AD (Siemens), ABI Prism® 7500 SDS et 7500 Fast SDS (Applied Biosystems), Rotor-Gene™ 3000/6000 (Corbett Research), Rotor-Gene Q5/6 plex Platform (QUIAGEN)</p> <p>La version 1.1 peut être utilisée sur LightCycler 1.2/1.5/2.0</p>
RealStar®alphaHerpesvirus PCR kit 1.0 (Altona diagnostics) (54)	<p>PCR quantitatif en temps réel et différentiel pour VHS 1 et 2 et VZV</p> <p>Approuvé CE-IVD</p> <p>Sur appareils m2000rt, Mx 3005P™ QPCR System, VERSANT™kPCR Molecular System AD, ABI Prism®7500 SDS et 7500 Fast SDS, Rotor-Gene™ 3000/6000, Rotor-Gene™ Q 5/6 plex Platform, CFX96™/Dx Real-Time System.</p>
Simplexa HSV1/HSV2 (Focus Diagnostics)^E	<p>PCR qualitatif en temps réel et différentiel pour VHS 1 et 2</p> <p>Utilisé sur la plate-forme en temps réel 3M Integrated Cycler</p> <p>Plate-forme et réactifs approuvés par Santé-Canada, IVD</p> <p>Kit d'amorces : extraction requise pour la technologie de Disc Universel (plaque de 96 puits)</p> <p>Trousse VHS-1 – VHS-2 : aucune extraction requise pour la technologie Direct Amplification Disc (8 puits). Sera éventuellement disponible</p>
MultiCode®- RTx HSV1 et 2 kit (Luminex) (55)	<p>PCR qualitatif en temps réel et différentiel pour VHS 1 et 2</p> <p>Approuvé pour écouvillonnage vaginal chez les femmes symptomatiques</p> <p>Plate-forme en temps réel</p> <p>Approuvé par la FDA, IVD</p>

^E Communication personnelle; Ivana Mastilo, représentante de Focus Diagnostics, 13 juin 2014.

Tableau 2 Caractéristiques des trousse de TAAN commerciales non automatisées disponibles sur le marché (en date de juin 2014) (suite)

Trousse	Caractéristiques
<i>Cepheid HSV typing analyte-specific reagent (ASR)</i> (56)	PCR qualitatif en temps réel et différentiel pour VHS 1 et 2 Approuvé ASR <i>PCR TaqMan® multiplex</i> en temps réel Sur appareil <i>Smart Cycler® II (Cepheid)</i>
<i>LightCycler® HSV 1/2 qualitative Kit (Roche Molecular Systems)</i> (57)	PCR qualitatif en temps réel et différentiel pour VHS 1 et 2 Approuvé ASR Sur appareil <i>Light Cycler®</i>
<i>ARTUS® HSV ½ TM PCR kit (Qiagen)</i> (58)	PCR quantitatif en temps réel et différentiel pour VHS 1 et 2 Approuvé en Europe Approuvé RUO en Amérique du Nord Utilisé sur <i>ABI PRISM® 7000 et 7900HT sequence detection</i>
<i>AmpliVue HSV1 + 2 Assay (Quidel)</i> (59)	Amplification isothermale de l'ADN qualitative et différentielle pour VHS 1 et 2 Technologie « amplification isothermale de l'ADN » ne nécessitant pas d'extraction d'ADN ni de thermocycleur Détection colorimétrique Approuvé sur des lésions cutanées et mucocutanées chez les hommes et les femmes Pas approuvé pour le dépistage prénatal Approuvé FDA, IVD

Un tableau extrait d'une publication de 2007 (avec autorisation de l'auteur) et résumant les caractéristiques des différents tests de détection virale disponibles se retrouve à l'annexe 5 (33). Ce tableau présente également les avantages, désavantages, sensibilité et spécificité propres à chacun.

Compte tenu de leur coût, il est important d'utiliser ces tests de façon rationnelle et d'éviter de les répéter lorsqu'un résultat positif a déjà été obtenu à partir d'une lésion au même site anatomique (sauf si l'on désire exclure une résistance antivirale ou lorsque le résultat du typage obtenu ne correspond pas à l'histoire clinique). Le laboratoire devrait être en mesure de vérifier dans les données informatiques le résultat antérieur et d'indiquer sur le rapport que l'analyse n'a pas été effectuée puisqu'un résultat positif a déjà été émis pour ce patient à telle date et à tel site.

11.4 SÉROLOGIE SPÉCIFIQUE DE TYPE

11.4.1 Principes généraux

Comme aide au diagnostic chez les patients dont les tests de détection virale sont négatifs ou n'ont pu être faits faute de lésions au moment de la visite médicale, la sérologie spécifique de type est disponible, permettant de détecter la présence d'anticorps contre le VHS de type 1 et 2. **Ce test ne remplace toutefois pas les tests de détection virale qui prouvent hors de tout doute la présence du virus dans les lésions génitales.** De plus, des problèmes de spécificité et de réactions croisées ont été rapportés (voir le tableau 3). L'interprétation des résultats et le counseling pré et post test s'y rattachant peuvent être complexes (voir tableau 5) et les coûts sont non négligeables, limitant l'utilité de ces analyses.

Il existe depuis plusieurs années des tests sérologiques ciblant des antigènes communs aux deux types de VHS. Ces tests ne peuvent différencier les deux types et ne sont donc pas utiles pour le diagnostic d'une infection génitale, puisqu'une grande partie de la population possède des anticorps contre le VHS-1, reflétant le plus souvent une infection orolabiale (qui peut être asymptomatique) acquise dans l'enfance. En effet, une étude de séroprévalence du VHS-1 effectuée aux États-Unis entre 1999 et 2004, dans une population âgée de 14 à 49 ans, a démontré une prévalence d'infection par le VHS-1 de 58 % (1). Comme presque toutes les protéines structurales du VHS ont une réactivité croisée entre le type 1 et 2, **seuls les tests détectant les anticorps contre la glycoprotéine G1(gG1) ou G2(gG2) sont fiables pour distinguer les 2 types** (60).

Le test de référence *gold standard* contre lequel les tests commerciaux ont été étudiés est le *Western Blot*, élaboré à l'Université de Washington. Détectant les IgG contre les glycoprotéines G1 et G2, il permet de bien différencier la présence d'anticorps contre les 2 types de VHS. Par contre, la technique est laborieuse, onéreuse et sujette à une interprétation subjective. Ce test n'est donc pas applicable dans les laboratoires généraux et demeure un test de référence (7). Il est offert au Laboratoire national de microbiologie de Winnipeg (61).

Il existe depuis plus d'une décennie des tests sérologiques commerciaux spécifiques de type approuvés par la *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) aux États-Unis et par Santé Canada. Ces tests sont basés sur la détection des IgG contre des glycoprotéines G1 et G2 recombinantes. Il n'existe pas de tests commerciaux détectant les IgM contre les glycoprotéines G. En fait, il n'y a pas d'avantages à détecter les IgM pour diagnostiquer une infection primaire puisque les IgM sont présents autant en infection primaire qu'en infection récidivante et que la montée des anticorps IgG se fait assez précocement lors de l'acquisition d'une infection par le VHS.

La littérature fait état **d'une période fenêtre sérologique se situant, dans la grande majorité des cas, entre deux semaines et trois mois après l'acquisition de l'infection** (15,62,63). Une étude utilisant la trousse *HerpeSelect ELISA (Focus Diagnostics)* a évalué le nombre de semaines avant d'obtenir une séroconversion chez 113 patients après leur premier épisode d'herpès génital prouvé par culture. Cette étude a démontré les résultats suivants : un temps médian de séroconversion de 25 jours pour une infection primaire au VHS-1, 21 jours pour une infection primaire au VHS-2 et 23 jours pour une infection non-primaire au VHS-2. À trois mois, 73 % des patients présentant une infection primaire au VHS-1 ou une infection non primaire au VHS-2 avaient démontré une séroconversion, contre 93 % des patients présentant une infection primaire au VHS-2 (64). Aucune étude n'a été publiée sur le temps de séroconversion en utilisant les autres trousse disponibles sur le marché (tableau 4).

La période d'incubation de l'infection herpétique varie généralement de deux à dix jours, et peut s'étendre jusqu'à quatre semaines dans certains cas. La période fenêtre sérologique étant plus longue, un résultat faussement négatif peut survenir, pour tous les tests sérologiques, si la séroconversion est en cours. Il est généralement recommandé de tester un sérum tardif six à douze semaines après avoir prélevé un sérum précoce. Toutefois, devant un résultat sérologique négatif à trois mois, il peut être indiqué, selon le contexte clinique, de répéter une sérologie six mois suivant le premier épisode clinique de lésion génitale.

La littérature fait aussi état de séroréversion possible après plusieurs années d'acquisition d'infection (passage d'un statut séropositif à un statut séronégatif).

La sensibilité des différentes trousse disponibles est variable selon la population étudiée. Elle varie de 75 à 100 % (voir tableau 4).

Les spécificités citées dans la littérature proviennent de tests effectués chez des populations à haute prévalence d'herpès génital. Elles varient de 94 % à 98 %. Dans les populations à faible prévalence, la valeur prédictive positive s'abaisse et les risques de résultat faussement positif augmentent. **Il est donc important de cibler les populations à haut risque d'herpès génital, car il n'y a pas de test de confirmation facilement accessible** (tableaux 3 et 4) (65,66).

Tableau 3 Effets de la prévalence du VHS sur la performance des tests de sérologie spécifique de type du VHS

(tiré de la publication de Schoular et coll. (66) avec autorisation de l'auteur)

Prevalence	PPV (%)	NPV (%)	% False positive tests	% False negative tests
5%	71%	100%	29%	0%
10%	83%	100%	17%	0%
15%	88%	99%	12%	0%
20%	90%	99%	10%	1%

* Assumes test sensitivity of 95% and specificity of 98%.²²
PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value.

11.4.2 Trousses utilisées au Québec

En date de juillet 2013, onze laboratoires du réseau public québécois offraient la sérologie spécifique de type^F. Au cours de l'année 2013-2014, 33 853 analyses ont été réalisées au Québec^{G, H}.

Cinq trousse sont actuellement utilisées au Québec par les laboratoires offrant la sérologie spécifique de type du VHS (communications personnelles). Il s'agit de :

- **Captia** HSV 1 IgG et HSV 2 IgG (Trinity Biotech);
- **HerpeSelect** 1 et 2 ELISA IgG (Focus Diagnostics);
- Anti-HSV-1 type specific glycoprotein C1 ELISA (IgG) et Anti-HSV-2 type specific glycoprotein G2 ELISA (IgG) (**EuroImmune**);
- **BioPlex 2200** HSV-1 & HSV -2 IgG (BioRad);
- **Platelia** HSV 1 IgG et HSV 2 IgG (BioRad).

La monographie de chacune de ces trousse a été consultée ainsi que les études publiées, le cas échéant. Le tableau 4 présente un résumé des différentes caractéristiques de ces trousse.

^F Communication personnelle, Jasmine Perron DGSSMU, 25 novembre 2013

^G Code d'analyse du répertoire québécois et système de mesures des procédures de biologie médicale 2014-2015 : 40695 (valeur pondérée 6) (37).

^H Communication personnelle Johanne Nicole, DGSSMU, 2 juin 2014

Tableau 4 Caractéristiques des cinq troupes utilisées au Québec par les laboratoires offrant la sérologie spécifique de type du VHS

Source : (67-75)

	CAPTIA Trinity Biotech		HERPESELECT Focus Diagnostics		ANTI-HSV-1/2 TYPE SPECIFIC GLYCOPROTEIN C1/G2 ELISA EuroImmun		BIOPLEX 2200 Biorad		PLATELIA Biorad	
	VHS 1	VHS 2	VHS 1	VHS 2	VHS 1	VHS 2	VHS 1	VHS 2	VHS 1	VHS 2
ELISA	√		√		√		Automatisé : Random access magnetic bead multiplex method		√	
Ag ciblés	gG1	gG2	gG1	gG2	gC1	gG2	gG1	gG2	gG1	gG2
Réactions croisées	VHS -2 (3,6 %) Ø CMV-VZ- EBV	VHS -1 (8 %) Ø CMV-VZ- EBV	VHS -2 (8,9 %) Ø CMV-VZ- EBV-HHV6	VHS -1 (3,5 %) CMV/EBV/HHV6- VZ (9 %)	Aucune réaction croisée entre VHS 1 et 2 selon la monographie		Aucune réaction croisée entre VHS 1 et 2 selon la monographie		Ø CMV-VZ-EBV- HHV6-HIV-FR-ANA- HAMA-oreillons- rougeole	
Panel CDC concordance	93 % pos 100 % nég	94 % pos 91 % nég	93% pos 100% nég	100% pos 100% nég	Panel allemand : 100 % S / Sp		100 % pos 96 % nég	100 % pos et nég		
Études (banque de sérums : nombre variable)	Versus WB	Versus WB	Versus WB	Étude clinique : sur 93 sérums, 23 équivoques avec HerpeSelect (tous nég avec WB et Euroimmun) : 20/23 HSV1+ = réactions croisées	Versus Focus 98 % concordance	Étude clinique : 194 prostituées, spécificité 89 %, sensibilité 100 %	Versus immune- blot	Versus immune- blot	Versus ELISA	Versus ELISA
Sensibilité *	Pas de chiffre de sensibilité et de spécificité, mais plutôt % concordance		75 – 100 %	96 – 100 %	100 %	WB : 100 %	93,3 – 97,6 %	90,7 - 96,9 %	98,8 %	99,5 %
Spécificité *			91 – 98,2 %	96,5 - 98,7 % (↓ sérums africains VIH+)	100 %	WB : 89 – 98 %	94,5 – 99 %	97,8 – 100 %	99,3 %	96,9 %

* Populations diverses : haute et faible prévalence, femmes enceintes.

11.4.3 Indications

Les indications publiées dans la littérature pour effectuer une sérologie spécifique de type reposit, pour la plupart, sur l'opinion d'experts et varient selon la littérature consultée. Plusieurs groupes d'experts de différentes organisations ont formulé des recommandations, dont des extraits sont présentés ici-bas :

11.4.3.1 Indications de sérologie spécifique de type du VHS : extraits tirés de la revue de littérature

CDC (lignes directrices sur les ITSS 2010) (76)

Type-specific HSV serologic assays might be useful in the following scenarios: 1) recurrent genital symptoms or atypical symptoms with negative HSV cultures; 2) a clinical diagnosis of genital herpes without laboratory confirmation; or 3) a partner with genital herpes. HSV serologic testing should be considered for persons presenting for an STD evaluation (especially for those persons with multiple sex partners), persons with HIV infection, and MSM at increased risk for HIV acquisition. Screening for HSV-1 and HSV-2 in the general population is not indicated.

Lignes directrices canadiennes 2010 (chapitre en révision) (77)

- La sérologie d'anticorps spécifique de type permet aux professionnels de la santé de diagnostiquer une infection primaire et de déterminer si l'infection est due au VHS-1 ou au VHS-2. Ces informations leur permettront également d'offrir le counselling aux patients atteints du VHS et à leurs partenaires. La meilleure façon de déceler des anticorps spécifiques de type est par une analyse Western Blot, même s'il existe de nouveaux essais commerciaux immuno-enzymatiques dont la sensibilité et la spécificité sont améliorés³¹. Les résultats des essais immuno-enzymatiques ne doivent pas systématiquement être confirmés par une analyse Western Blot. Pour le moment, les épreuves décelant des anticorps spécifiques de type au VHS ne sont disponibles que dans quelques laboratoires au Canada (voir la section « *Considérations spéciales* »).
- Les patients devraient informer leurs partenaires sexuels qu'ils ont l'herpès génital. Il conviendrait de conseiller à ces derniers de recevoir simultanément du counselling afin de s'informer et, possiblement, de passer des tests sérologiques des anticorps anti-VHS-1 et anti-VHS-2.
- Les tests sérologiques spécifiques de type aux anticorps anti-VHS-1/VHS-2 permettent de savoir si un couple est concordant ou discordant quant à l'infection au VHS-1/ VHS 2. Ces renseignements seront utiles pour préparer le counselling du couple sur le risque de transmission de l'herpès génital.

Sexually transmitted infections: UK national screening and testing guidelines (BASHH 2006) (62)

Screening of asymptomatic GU attendees by either HSV antibody testing (C IV)²⁰⁻²⁴ or HSV detection in genital specimens (B IIa)^{18,20} is not recommended at present, although this area is under active review.

i) HSV antibody testing:

- Testing for HSV type-specific antibodies can be used to diagnose HSV infection in asymptomatic persons.^{18,20}
- HSV-2 antibodies are indicative of GH. HSV-1 antibodies do not differentiate between genital and oropharyngeal infection.¹⁸
- Arguments in favour of serological screening include:
 - a) HSV-2 infection rates are as high as or higher than those of other STIs for which screening is in place.^{18,25}
 - b) Persons with asymptomatic or undiagnosed infection may transmit HSV to sexual partners or neonates.^{20,26,27}
 - c) Behavioural changes, condom use and suppressive antiviral therapy reduce the risk of HSV transmission.²⁸⁻³⁰
 - d) Vaccines may soon become available to protect HSV seronegative persons from infection and disease.³¹
 - e) HSV-2 seropositive persons who engage in high-risk sexual behaviour can be counselled about the increased risk of HIV acquisition (A Ia).¹⁷
- Arguments against screening include:
 - a) The specificity and sensitivity of current antibody assays are <100%.^{32,33}
 - b) False-positive results generate unnecessary psychological morbidity.
 - c) False-positive and false-negative results lead to inappropriate counselling.
 - d) Counselling of HSV-2 seronegative HSV-1 seropositive persons is problematic, given the large proportion of GH due to HSV-1.²⁻⁷

National Guideline for the management of Genital Herpes. Clinical Effectiveness Group (BASHH 2007) (78)

- The value of routine screening of all genitourinary medicine clinic attendees or antenatal patients and their partners for HSV antibodies remains to be established. Serology may be helpful in the following situations (III, B):
 - recurrent genital disease of unknown cause
 - counselling patients with initial episodes of disease, including pregnant women
 - investigating asymptomatic partners of patients with genital herpes, including pregnant women
- Identifying women susceptible to acquiring genital herpes in pregnancy by means of type-specific screening for HSV antibodies in pregnancy has not been shown to be cost-effective and is not currently indicated in the UK.

Recommandations d'experts canadiens

A. Publication de Ratnam, Severini, Zahariadis, Petric, Romanowski. CJIDMM 2007 (3)

TABLE 2	
Herpes simplex virus (HSV) type-specific serology for genital herpes	
HSV serology should be performed only with glycoprotein G-based tests. HSV type-specific serology is considered beneficial in selected populations who meet specific clinical criteria as outlined below	
HSV-2 serology is indicated for diagnosing genital herpes in:	
• Patients with recurrent or atypical genital lesions in whom a diagnosis has not been confirmed by antigen detection, culture or PCR.	
• Asymptomatic patients who have a history suggestive of genital herpes.	
• Patients diagnosed with HIV infection.	
HSV-2 serology, with HSV-1 serology as appropriate, is indicated for evaluating infection and or immune status in:	
• Couples discordant for genital herpes.	Faire HSV 1 et 2
• Women who develop their first clinical episode of genital herpes during pregnancy.	
• Asymptomatic pregnant women whose partners have a history of genital herpes or HIV infection.	Faire HSV 1 et 2
• Women contemplating pregnancy or considering sexual partnership with an individual with a history of genital herpes.	« May also be considered »
Universal screening of pregnant women for HSV is not recommended.	
<i>The above testing should be offered in conjunction with education on HSV and preventive counselling. Although the tests are highly specific, there is potential for false-positive results. Results should be interpreted in the context of clinical presentation and patient history. PCR Polymerase chain reaction</i>	

B. Éditorial de T. Hachette suite à la publication de Ratnam et coll. (59) CJIDMM 2007 (79)

- Femmes enceintes avec une faible prévalence d'herpès génital : la VPP de la sérologie spécifique de type sera sous-optimale avec risque d'émission d'un résultat faussement positif. Ceci peut entraîner un faux sentiment de sécurité et la cliente demeure susceptible d'acquérir l'infection durant la grossesse.
- PVVIH : Est-ce que le fait de savoir qu'ils sont séropositifs au VHS-2 va modifier leurs comportements à risque s'ils ne l'ont pas déjà fait en connaissant leur statut VIH?
- Les cliniciens doivent connaître les limitations des tests et déterminer si le résultat va modifier la conduite (traitement, counseling pré et post test, etc).

Recommandations d'experts américains (California Sexually Transmitted Disease (STD) Controllers Association and the California Department of Health Services (CA DHS) 2005 (80)

Ces recommandations sont basées sur une revue de littérature extensive ciblant des articles portant sur : la prévalence et l'impact d'une infection génitale par le VHS-2, les effets néfastes potentiels d'une infection non reconnue incluant la transmission à un partenaire, la disponibilité de tests diagnostiques fiables, la réduction des complications, l'amélioration de la santé individuelle et populationnelle suivant la détection précoce d'une infection et les interventions qui s'en suivent, les conséquences négatives d'un dépistage, et finalement, le coût-efficacité.

Table 1. System for rating strength of recommendations regarding serological testing for herpes simplex virus type 2.

Rating	Strength of the recommendation and rationale
A	Should always be offered; both strong evidence for efficacy and substantial benefit supports recommendation for use
B	Should generally be offered; moderate evidence of efficacy, or limited evidence with expert consensus, supports a general recommendation for use
C	Should be offered to select patients; evidence for efficacy is insufficient to support a general recommendation for use
D	Should generally not be offered; moderate evidence for lack of efficacy or for adverse outcome supports a recommendation against use
E	Should never be offered; strong evidence for lack of efficacy or for adverse outcome supports a recommendation against use

Table 2 Summary of recommended uses for serological tests for herpes simplex virus type 2 for diagnosis and screening.

<p>Recommended for <u>diagnostic</u> evaluation of:</p> <ul style="list-style-type: none"> A culture-negative, recurrent lesion A history suggestive of herpes without visible lesions A first presentation of genital lesions when culture or antigen test results are negative or unavailable and acquisition was likely to have been ≥ 6 weeks earlier. <p>Recommended for screening of (rating):^a</p> <ul style="list-style-type: none"> Patients at risk for sexually transmitted disease/HIV (C) HIV-infected patients (B) Patients with a partner with genital herpes (B) Pregnant women (D) <p>^a See table 1 for definitions of ratings.</p>

DIAGNOSTIC
Sérologie VHS-1 peut être utile si sérologie VHS-2 négative et haute suspicion d'herpès génital

DÉPISTAGE
Patients à risque : seulement ceux TRÈS motivés à réduire leurs comportements à risque si statut sérologique VHS +(C). VIH : prévalence VHS élevée, morbide, accélère progression et ↑ transmission VIH (si symptomatique). Buts = traitement suppressif pour ↓ transmission VIH, reconnaître des symptômes atypiques et identifier ceux qui sont VHS-2 négatif pour ↓ comportements à risque.
Partenaire + : si sérodiscordance prouvée : traitement suppressif/condoms pour ↓ risques de transmission au partenaire sain.
Femmes enceintes : risque si infection primaire au 3^e trimestre (pas séroconversion). Dépistage universel (D) mais (B) si partenaire + ou ♀ VIH.

Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including immunodeficiency virus (OMS 2013) (15)

Serological testing for HSV is not routinely recommended in asymptomatic patients, but is indicated in the following groups:

- History of recurrent or atypical genital disease when direct virus detection methods have been negative. HSV-2 antibodies are supportive of a diagnosis of genital herpes; HSV-1 antibodies do not differentiate between genital and oropharyngeal infection. Counselling of HSV-2 IgG-negative; HSV-1 IgG-positive patients should take into account that HSV-1 is a relatively uncommon cause of recurrent genital disease.
- First-episode genital herpes, where differentiating between primary and established infection guides counselling and management. At the onset of symptoms, the absence of HSV IgG against the virus type detected in the genital lesion is consistent with a primary infection. Seroconversion should be demonstrated at follow-up.
- Sexual partners of patients with genital herpes, where concerns are raised about transmission. Serodiscordant couples can be counselled about strategies to reduce the risk of infection and disease.

HSV serology and pregnancy:

- Testing of asymptomatic pregnant women is not routinely recommended, but is indicated when there is a history of genital herpes in the partner.
- HSV-1 and/or HSV-2 seronegative women should be counselled about strategies to prevent a new infection with either virus type during pregnancy.

HSV serology in the context of HIV infection:

- Testing of HIV-infected patients is not routinely recommended. Although HSV-2 seropositivity increases the risk of HIV transmission and frequent HSV recurrences augment HIV replication, there is limited evidence to inform the management of HSV-2 coinfection in HIV-infected patients without symptoms of genital herpes.
- Limited data suggest an increased risk of perinatal HIV transmission among HSV-2 seropositive HIV-infected women. As evidence is not consistent, testing of HIV-positive pregnant women is not routinely recommended.
- HSV-2 carriers who engage in high-risk sexual behavior should be counselled about the increased risk for HIV acquisition.

11.4.4 Recommandations du CALI

Sur la base de cette revue de littérature et en tenant compte des éléments suivants :

- Le test de détection virale demeure l'analyse à privilégier en présence de lésions;
- Le counseling pré et post test adéquat est essentiel;
- Les cliniciens ont particulièrement besoin d'être outillés et soutenus, notamment quant aux indications et à l'interprétation des résultats de la sérologie spécifique de type;

Les membres du CALI retiennent les situations suivantes comme étant des indications acceptables pour effectuer une sérologie spécifique de type :

- Contribuer à établir ou exclure le diagnostic d'herpès génital chez les patients ayant des symptômes récurrents, des lésions atypiques ou des lésions en voie de guérison et un test de détection virale négatif ou n'ayant pu être effectué faute de lésion au moment de la visiteⁱ.
- Vérifier le statut sérologique d'un partenaire sexuel régulier d'une personne chez qui l'infection (herpès génital) a été prouvée par test de détection virale et le conseiller si sérodiscordance.
- Dans certaines situations chez la femme enceinte, telles que précisées ci-après :

Considérations chez la femme enceinte :

- La Société des obstétriciens et gynécologues du Canada recommande que les femmes enceintes qui ne présentent pas d'antécédent d'infection au VHS mais qui ont connu un partenaire présentant une infection génitale au VHS devraient faire l'objet d'un dépistage sérologique afin de déterminer leur risque de contracter une infection génitale au VHS pendant la grossesse (81). Les membres du CALI sont d'accord avec cet énoncé, mais soulèvent la mise en garde suivante : la prévalence d'infection génitale chez les femmes enceintes étant variable et parfois faible selon la population étudiée, la valeur prédictive positive du test sérologique peut être abaissée (voir tableau 3) avec risque d'émission d'un résultat faussement positif, entraînant un sentiment de fausse sécurité. La femme enceinte et son partenaire doivent être avisés de cette possibilité et conseillés sur les pratiques sexuelles sécuritaires afin de diminuer les risques d'acquisition du VHS durant la grossesse.
- Devant un **premier épisode d'herpès génital durant la grossesse**, idéalement confirmé par un test de détection virale, il est recommandé d'effectuer une sérologie spécifique de type afin de documenter la séroconversion et l'immunité avant l'accouchement. L'identification d'un premier épisode d'infection herpétique, particulièrement pendant le troisième trimestre, pourrait influencer la prise en charge du nourrisson après l'accouchement.
- Si la femme présente des lésions génitales actives à l'accouchement :
 - **sans diagnostic d'herpès génital au préalable** : il est recommandé d'effectuer un test de détection virale sur les lésions et idéalement, une sérologie spécifique de type chez la mère si le laboratoire est en mesure d'émettre un résultat rapidement. Ceci permettra de classer l'infection herpétique en primaire, non primaire ou récurrente^j et ainsi préciser le risque de transmission néonatale et orienter la prise en charge de l'enfant à la naissance (76,77).

ⁱ Puisqu'il est important de confirmer le diagnostic d'herpès génital avec un test de détection virale sur la lésion, demander au patient de consulter à nouveau lors du prochain épisode d'ulcération génitale

^j Pour plus d'informations, consulter le tableau 2 de la publication de Kimberlin et Baley (Pediatrics 2013) qui donne de l'information concernant la classification de l'infection herpétique chez la femme enceinte (sans antécédent d'herpès génital) qui présente des lésions génitales actives à l'accouchement. L'article est accessible au lien suivant : <http://pediatrics.aappublications.org/content/131/2/e635.full>.

- **avec antécédent d'herpès génital avant la grossesse** : il est recommandé d'effectuer seulement un test de détection virale sur les lésions. Ceci représente fort probablement une réactivation virale (infection récurrente) avec un risque de transmission néonatale faible (76,77).

Les membres du CALI ne retiennent pas les situations suivantes comme étant des indications d'effectuer une sérologie spécifique de type du VHS :

- Déterminer si l'infection herpétique est nouvellement acquise ou s'il s'agit d'une réactivation pour guider le counseling pré et post test et la conduite (en dehors des contextes mentionnés ici-haut lors d'une grossesse).
- Dépister les populations à risque d'ITSS telles que les HARSAH et les personnes ayant des partenaires multiples^K.
- Dépister systématiquement la femme enceinte.
- Dépister les personnes de la population générale.

Le dépistage de l'infection par le VHS chez les PVVIH à l'aide de la sérologie spécifique de type ne fait pas l'unanimité dans la littérature :

- Dans le guide de traitement des ITSS des CDC, section herpès génital, on mentionne que la sérologie spécifique de type du VHS doit être considérée chez les patients infectés par le VIH (76).
- Dans le guide de l'OMS portant sur le diagnostic de laboratoire des ITSS, le dépistage de l'herpès par sérologie spécifique de type chez les PVVIH n'est pas recommandé de routine (15).
- Selon des experts canadiens, auteurs d'un guide sur le diagnostic de l'herpès génital, la sérologie spécifique de type 2 du VHS est indiquée chez les patients infectés par le VIH (3).
- Selon des experts américains, auteurs de recommandations sur l'utilisation de la sérologie spécifique du type 2 du VHS, cette dernière doit généralement être offerte aux patients infectés par le VIH (recommandation B) (80).
- Les guides de prise en charge du VIH américain (84) et européen (85,86) ne recommandent pas de faire une sérologie spécifique de type du VHS chez cette clientèle.
- Le guide québécois sur l'examen médical périodique de l'adulte vivant avec le VIH n'inclut pas la sérologie spécifique de type dans le bilan de base (87).

En accord avec les auteurs du guide québécois sur l'examen médical périodique de l'adulte vivant avec le VIH, les membres du CALI ne recommandent pas d'effectuer une sérologie spécifique de type du VHS dans un contexte de dépistage lors de la prise en charge de personnes vivant avec le VIH (PVVIH). En effet, bien qu'il soit démontré que l'infection par le VHS-2 augmente le risque de transmission du VIH et que des

^K À titre informatif, on retrouve, sur le site des CDC (<http://www.cdc.gov/std/herpes/screening.htm>), la mention suivante : «Two large, well-done studies (randomized controlled trials) found that, for people with HSV-2 infection, taking daily treatment to suppress herpes infection did not lower the chances of getting HIV infection. So, unfortunately, testing for genital herpes and treating with herpes medications will not diminish the potential risk of HIV acquisition due to HSV-2 infection ». Ces essais ont été réalisés en comparant acyclovir 400 mg BID versus un placebo (82,83).

récidives fréquentes augmentent la réplication du VIH, il n'existe pas d'évidence suggérant qu'une prise en charge particulière des PVVIH séropositifs pour le VHS-2 sans histoire d'herpès génital diminue le risque de transmission ou modifie l'évolution de l'infection par le VIH, surtout dans le contexte actuel où le traitement antirétroviral est recommandé précocement.

Compte tenu que la majorité des laboratoires offre de façon simultanée la recherche d'anticorps spécifiques contre le VHS type 1 et 2 (sans égard à ce qui est demandé, et ce, pour des raisons pratiques), les membres du CALI entérinent cette façon de faire, en considérant les réserves suivantes :

- Il est recommandé d'effectuer la sérologie spécifique de type seulement si le résultat modifiera la conduite, en reconnaissant les limites de performance du test ainsi que l'importance du counseling pré et post test.
- Les membres du CALI reconnaissent que le fait d'effectuer une sérologie spécifique de type pour le VHS de type 1 et de type 2 peut être utile (lorsqu'indiqué tel que mentionné précédemment) afin d'exclure le diagnostic d'infection herpétique génitale devant un résultat négatif aux VHS-1 et VHS-2 (sauf dans un contexte de lésion récente ou d'exposition récente, où une séroconversion peut être en cours).
- Devant un résultat positif de sérologie VHS-1 isolée (sérologie VHS-2 négative et aucune confirmation par un test de détection virale), il est impossible de différencier une infection oro-labiale d'une infection génitale. **Les membres du CALI recommandent que le laboratoire inclue le commentaire suivant lors de l'émission du rapport afin de guider le clinicien dans l'interprétation du résultat :** « *Ce profil sérologique doit être interprété selon le contexte clinique. Bien qu'il puisse être associé à une infection génitale par le VHS-1, il est possible qu'il soit causé par une infection oro-labiale. En présence de manifestations cliniques de primo-infection génitale, il est à noter que la période fenêtre pour la détection des anticorps anti-VHS-2 peut s'étendre jusqu'à 12 semaines. Un test de détection virale à partir d'un prélèvement de lésions est toujours à privilégier* ».

Il importe d'utiliser ce test de façon rationnelle et d'éviter de le répéter lorsqu'un résultat positif a déjà été obtenu pour l'un ou l'autre type de VHS. Le laboratoire devrait être en mesure de vérifier dans les données informatiques le résultat antérieur et d'indiquer sur le rapport que l'analyse n'a pas été effectuée puisqu'un résultat positif a déjà été émis pour ce patient à telle date et pour tel type de VHS.

11.4.5 Interprétation des résultats de la sérologie spécifique de type du VHS

Les tableaux 5 et 6 sont une aide à l'interprétation des résultats de la sérologie. Compte tenu du fait que la majorité des laboratoires effectuant la sérologie spécifique de type au Québec émettent un résultat pour VHS-1 et VHS-2 simultanément, les scénarios les plus probables de résultats positifs ou négatifs à l'un ou à l'autre type de VHS ont été pris en compte et peuvent contribuer à classer l'infection en primaire, non primaire ou récidivante.

Tableau 5 Interprétation des résultats de la sérologie spécifique de type chez une personne avec histoire de lésion génitale mais test de détection virale négatif

(Sources : Informations tirées de la publication de Singh et coll. (88) et de la publication de l'OMS de 2013 (15))

Clinique	Sérum précoce	Sérum tardif ¹	Sérum au hasard ²	Interprétation ³
Lésion génitale ⁴ 1^{er} épisode	VHS-1 Nég VHS-2 Nég	VHS-1 Pos VHS-2 Nég		Infection primaire VHS-1 À risque d'infection VHS-2
	VHS-1 Nég VHS-2 Pos	VHS-1 Pos VHS-2 Pos		Infection non primaire VHS-1 Infection antérieure VHS-2
	VHS-1 Nég VHS-2 Nég	VHS-1 Nég VHS-2 Pos		Infection primaire VHS-2 À risque d'infection VHS-1
	VHS-1 Pos VHS-2 Nég	VHS-1 Pos VHS-2 Pos		Infection non primaire VHS-2 Infection antérieure VHS-1
	VHS-1 Pos VHS-2 Nég	VHS-1 Pos VHS-2 Nég		Premiers symptômes d'une infection récurrente VHS-1 À risque d'infection VHS-2
	VHS-1 Nég VHS-2 Pos	VHS-1 Nég VHS-2 Pos		Premiers symptômes d'une infection récurrente VHS-2 À risque d'infection VHS-1
	VHS-1 Pos VHS-2 Pos	VHS-1 Pos VHS-2 Pos		Probablement premiers symptômes d'une infection récurrente VHS-2 Infection antérieure VHS-1
Lésion génitale ⁴ récurrente			VHS-1 Nég VHS-2 Nég	Absence d'infection herpétique Rechercher une autre cause
			VHS-1 Pos VHS-2 Pos	Probable infection génitale VHS-2
			VHS-1 Nég VHS-2 Pos	Probable infection génitale VHS-2
			VHS-1 Pos VHS-2 Nég	Probable infection oro-labiale Possible infection génitale VHS-1

1 À prélever généralement 6 à 12 semaines après avoir prélevé le sérum précoce. Devant un résultat sérologique négatif à 3 mois, il peut être indiqué, selon le contexte clinique, de répéter une sérologie 6 mois suivant le premier épisode de lésion génitale.

2 Sérum à prélever plus de 12 semaines après le premier épisode de lésion génitale.

3 Devant un résultat de sérologie positif aux types 1 et 2, considérer la possibilité d'une réaction croisée entre les 2 types dans l'interprétation des résultats.

4 Un test de détection virale DOIT être effectué sur la lésion génitale, minimalement une fois. Advenant le cas où le résultat du premier test est négatif, un deuxième test de détection virale devrait être répété lors du prochain épisode.

Tableau 6 Interprétation des résultats de la sérologie spécifique de type chez une personne qui ne présente pas de lésion génitale au moment de la visite et chez qui aucun test de détection virale n'a pu être effectué

(Sources : Informations tirées de la publication de Singh et coll. (88) et de la publication de l'OMS de 2013 (15))

Clinique	Sérum au hasard ¹	Interprétation ²
Absence de lésion génitale ³	VHS-1 Nég VHS-2 Nég	À risque d'infection VHS-1 et VHS-2
	VHS-1 Pos VHS-2 Nég	Infection antérieure VHS-1 (oro-labiale probable et/ou génitale possible) À risque d'infection VHS-2
	VHS-1 Nég VHS-2 Pos	Infection antérieure VHS-2 À risque d'infection VHS-1
	VHS-1 Pos VHS-2 Pos	Infection antérieure VHS-1 et VHS-2

1 Sérum à prélever plus de 12 semaines après le premier épisode de lésion génitale.

2 Devant un résultat de sérologie positif aux types 1 et 2, considérer la possibilité d'une réaction croisée entre les 2 types dans l'interprétation des résultats.

3 Absence de lésion génitale au moment de la visite : puisqu'il est important de confirmer le diagnostic d'herpès génital avec un test de détection virale sur la lésion, demander au patient de consulter à nouveau lors du prochain épisode d'ulcération génitale. Dans le cas de couples discordants, procéder d'emblée à la sérologie spécifique de type.

12 CONCLUSION

Le diagnostic de laboratoire de l'herpès génital est primordial et permet de différencier les 2 types de VHS, influençant le pronostic et le counseling pré et post test au patient infecté, en tenant compte des aspects psychologiques liés au diagnostic et à la prise d'une thérapie antivirale à long terme. La sensibilité des tests de détection virale est grandement dépendante de la qualité du spécimen, de sa conservation et de son transport au laboratoire, mais aussi du stade et de l'âge de la lésion. La culture virale demeure un test diagnostic abordable, mais nécessite du personnel expérimenté et n'est pas toujours facilement accessible pour les laboratoires périphériques. Pour les laboratoires offrant le TAAN VHS, ce test est à privilégier compte tenu d'une sensibilité accrue comparativement à la culture virale. Les membres du CALI sont d'avis que cette analyse devrait être plus largement disponible au Québec.

En dehors des tests de détection virale, la sérologie spécifique de type peut être utile pour le diagnostic d'herpès génital, à condition d'être accompagnée d'un counseling pré et post test adéquat auprès des patients et de leurs partenaires. Les membres du CALI, en accord avec les membres du CITSS proposent ici des balises pour la sérologie spécifique de type (situations où cette analyse pourrait être indiquée versus où elle ne le serait pas; interprétation des résultats). Comme pour les autres ITSS, le counseling pré et post test est un aspect important de la prévention et la prise en charge de l'herpès génital. Compte tenu de la complexité de cette ITSS, les cliniciens ont particulièrement besoin d'être outillés et soutenus, notamment pour transmettre de façon adéquate les informations concernant la transmission du virus ainsi que sur les forces et limites des analyses de détection virale et de la sérologie spécifique de type (notamment quant aux indications et à l'interprétation des résultats).

RÉFÉRENCES

- (1) Xu F, Sternberg MR, Kottiri BJ, McQuillan GM, Lee FK, Nahmias AJ, et al. Trends in herpes simplex virus type 1 and type 2 seroprevalence in the United States. *JAMA* 2006 Aug 23;296(8):964-73.
- (2) Xu F. Seroprevalence of herpes simplex virus type 2 among persons aged 14-49 years--United States, 2005-2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010 Apr 23;59(15):456-9.
- (3) Ratnam S, Severini A, Zahariadis G, Petric M, Romanowski B. The diagnosis of genital herpes - beyond culture: An evidence-based guide for the utilization of polymerase chain reaction and herpes simplex virus type-specific serology. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2007 Jul;18(4):233-40.
- (4) Gupta R, Warren T, Wald A. Genital herpes. *Lancet* 2007 Dec 22;370(9605):2127-37.
- (5) Stellrecht KA. Nucleic acid amplification technology for the diagnosis of genital herpes infection. *Expert Rev Mol Diagn* 2004 Jul;4(4):485-93.
- (6) INESSS. Guide de traitement pharmacologique ITSS - Herpès génital. 2012.
- (7) Ryan C, Kinghorn G. Clinical assessment of assays for diagnosis of herpes simplex infection. *Expert Rev Mol Diagn* 2006 Sep;6(5):767-75.
- (8) Garcia LS, Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3e édition, volume 3, chapitre 10.4 Specimen collection and processing. In: American Society for Microbiology., editor. Washington, D.C.: ASM Press; 2010.
- (9) CLSI. Viral Culture; Approved Guideline. Clinical and Laboratory Standards Institute, document M41-A, volume 26. 2006.
- (10) Copan. Monographie Copan Universal Transport Medium (UTM-RT) System. 2004.
- (11) Copan. Monographie Mswab. 2013.
- (12) Johnson FB. Transport of viral specimens. *Clin Microbiol Rev* 1990 Apr;3(2):120-31.
- (13) Versalovic J. Manual of clinical microbiology, 10e édition, volume 2. Washington, DC: ASM Press; 2011.
- (14) Crane LR, Gutterman PA, Chapel T, Lerner AM. Incubation of swab materials with herpes simplex virus. *J Infect Dis* 1980 Apr;141(4):531.
- (15) WHO. Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus. 2013.
- (16) Bettoli EJ, Brewer PM, Oxtoby MJ, Zaidi AA, Guinan ME. The role of temperature and swab materials in the recovery of herpes simplex virus from lesions. *J Infect Dis* 1982 Mar;145(3):399.

- (17) Millipore. Monographie Universal Transport Medium (UTM-RT). 2008.
- (18) Becton Dickinson. Monographie BD Universal Viral Transport. 2010.
- (19) Mwe medical wire. Monographie Universal Transport: -VCM™. Mwe medical wire 2010 Available from: URL: <http://www.mwe.co.uk/microbiology-lab-supplies/viral-transport/>
- (20) Mwe medical wire. Monographie Virocult® and -Virocult®. Mwe medical wire 2010 Available from: URL: <http://www.mwe.co.uk/microbiology-lab-supplies/viral-transport-medium/>
- (21) Remel - Thermo Fisher Scientific. Monographie MicroTest M4RT. 2005.
- (22) Remel - Thermo Fisher Scientific. Monographie MicroTest M4® M5® M6®. 2009.
- (23) Trinity Biotech. Monographie Bartels ViraTrans™ Viral Transport Medium. 2009.
- (24) Hardy Diagnostics. Monographie CMV Transport Media. Hardy Diagnostics 2014 Available from: URL: https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/content/hugo/CVMTransportMedia.htm
- (25) Meridian. Monographie Meridian Viral Transport. 2010.
- (26) Starplex scientific inc. Monographie Multitrans™. 2014.
- (27) Puritan diagnostics. Monographie Puritan Unitranz-RT™ Transport System. 2013.
- (28) Life Technologies Sigma Aldrich. Monographie Milieu Hank's Balanced Salt (HBSS). Sigma Aldrich 2014 Available from: URL: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?interface=All&term=HBSS&N=0+9628444&focus=product&lang=fr®ion=CA>
- (29) Yeager AS, Morris JE, Prober CG. Storage and transport of cultures for Herpes simplex virus, type 2. Am J Clin Pathol 1979 Dec;72(6):977-9.
- (30) Dunn JJ, Biletdeaux E, Skodack-Jones L, Carroll KC. Evaluation of three Copan viral transport systems for the recovery of cultivatable, clinical virus isolates. Diagn Microbiol Infect Dis 2003 Mar;45(3):191-7.
- (31) Jensen C, Johnson FB. Comparison of various transport media for viability maintenance of herpes simplex virus, respiratory syncytial virus, and adenovirus. Diagn Microbiol Infect Dis 1994 Jul;19(3):137-42.
- (32) Garcia LS, Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3e édition, volume 3, chapitre 10.7 Direct detection of virus and Chlamydia in clinical samples. Washington, D.C.: ASM Press; 2010.
- (33) Costello MT, Sabatini L, Yungbluth P. Herpes simplex virus infections and current methods for laboratory detection. Clinical Microbiology Newsletter 2006 Dec 15;28(24):185-92.

- (34) Solomon AR, Rasmussen JE, Varani J, Pierson CL. The Tzanck smear in the diagnosis of cutaneous herpes simplex. *JAMA* 1984 Feb 3;251(5):633-5.
- (35) Labbé AC, Lefebvre B, Tremblay C. 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.
- (36) Moseley RC, Corey L, Benjamin D, Winter C, Remington ML. Comparison of viral isolation, direct immunofluorescence, and indirect immunoperoxidase techniques for detection of genital herpes simplex virus infection. *J Clin Microbiol* 1981 May;13(5):913-8.
- (37) Nicole J, Perron J. Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale 2014-2015 - Les annexes. MSSS 2013 Available from: URL: <http://publications.msss.gouv.qc.ca/acrobat/f/documentation/2013/13-922-03W.pdf>
- (38) Garcia LS, Isenberg HD. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 3e édition, volume 3, chapitre 10.5 Viral culture: isolation of virus in cell cultures. Washington, D.C.: ASM Press; 2010.
- (39) Garcia LS, Isenberg HD. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 3e édition, volume 3, chapitre 10.2 Selection, maintenance and observation of uninoculated monolayer cell cultures. Washington, D.C.: ASM Press; 2010.
- (40) LeGoff J, Pere H, Belec L. Diagnosis of genital herpes simplex virus infection in the clinical laboratory. *Virology* 2014;11:83.
- (41) Therrien C, Vallée M, Béliveau C. Rapport du contrôle externe de la qualité LSPQ - Recherche des virus Herpès simplex (VHS). 2014.
- (42) Corey L, Holmes KK. Genital herpes simplex virus infections: current concepts in diagnosis, therapy, and prevention. *Ann Intern Med* 1983 Jun;98(6):973-83.
- (43) Proffitt MR, Schindler SA. Rapid detection of HSV with an enzyme-linked virus inducible system (ELVIS) employing a genetically modified cell line. *Clin Diagn Virol* 1995 Aug;4(2):175-82.
- (44) Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM, Buckwalter SP, Jones MF, Vetter EA, et al. Real-time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing. *Clin Microbiol Rev* 2006 Jan;19(1):165-256.
- (45) Koenig M, Reynolds KS, Aldous W, Hickman M. Comparison of Light-Cycler PCR, enzyme immunoassay, and tissue culture for detection of herpes simplex virus. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001 Jul;40(3):107-10.
- (46) Ramaswamy M, McDonald C, Smith M, Thomas D, Maxwell S, Tenant-Flowers M, et al. Diagnosis of genital herpes by real time PCR in routine clinical practice. *Sex Transm Infect* 2004 Oct;80(5):406-10.

- (47) Rose L, Herra CM, Crowley B. Evaluation of real-time polymerase chain reaction assays for the detection of herpes simplex virus in swab specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008 Sep;27(9):857-61.
- (48) Wald A, Huang ML, Carrell D, Selke S, Corey L. Polymerase chain reaction for detection of herpes simplex virus (HSV) DNA on mucosal surfaces: comparison with HSV isolation in cell culture. *J Infect Dis* 2003 Nov 1;188(9):1345-51.
- (49) Scoular A, Gillespie G, Carman WF. Polymerase chain reaction for diagnosis of genital herpes in a genitourinary medicine clinic. *Sex Transm Infect* 2002 Feb;78(1):21-5.
- (50) Van Der PB, Warren T, Taylor SN, Martens M, Jerome KR, Mena L, et al. Type-specific identification of anogenital herpes simplex virus infections by use of a commercially available nucleic acid amplification test. *J Clin Microbiol* 2012 Nov;50(11):3466-71.
- (51) Becton Dickinson. Monographie BD ProbeTec HSV Qx. 2011.
- (52) Altona Diagnostics. Monographie RealStar HSV PCR kit 1.0. 2012.
- (53) Altona Diagnostics. Monographie RealStar HSV PCR kit 1.1. 2013.
- (54) Altona Diagnostics. Monographie RealStar@*alphaHerpesvirus* PCR kit 1.0. 2013.
- (55) Luminex. Monographie MultiCode-RTx HSV 1&2 kit. 2013.
- (56) Podzorski RP. Evaluation of the Cepheid herpes simplex virus typing real-time PCR assay using dermal and genital specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006 Oct;56(2):173-7.
- (57) Roche Molecular Systems. Monographie LightCycler HSV 1/2 qualitative Kit. Roche Molecular Systems 2014 Available from: URL: <http://molecular.roche.com/assays/Pages/LightCyclerHSV12QualitativeKit.aspx>
- (58) Qiagen. Monographie artus HSV-1/2 TM PCR kit. 2007.
- (59) Quidel. Monographie Amplivue HSV 1+2 Assay. 2014.
- (60) Ashley RL. Sorting out the new HSV type specific antibody tests. *Sex Transm Infect* 2001 Aug;77(4):232-7.
- (61) ASPC. *Western blot* pour le virus Herpes simplex au Laboratoire national de microbiologie. ASPC 2014 Available from: URL: https://www.nml-inm.gc.ca/guide2/profpanelview_fra.php?profpanelID=15
- (62) BASHH. Sexually Transmitted Infections: UK National Screening and Testing Guidelines. BASHH 2006 August Available from: URL: <http://www.bashh.org/documents/59/59.pdf>
- (63) Ashley RL. Performance and use of HSV type-specific serology test kits. *Herpes* 2002 Jul;9(2):38-45.

- (64) Ashley-Morrow R, Krantz E, Wald A. Time course of seroconversion by HerpeSelect ELISA after acquisition of genital herpes simplex virus type 1 (HSV-1) or HSV-2. *Sex Transm Dis* 2003 Apr;30(4):310-4.
- (65) Reddy SM, Balakrishnan P, Uma S, Thyagarajan SP, Solomon S. Performance of two commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits using recombinant glycoprotein G2 antigen for detection of herpes simplex virus type 2 specific antibodies. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005 Feb;12(2):359-60.
- (66) Scoular A. Using the evidence base on genital herpes: optimising the use of diagnostic tests and information provision. *Sex Transm Infect* 2002 Jun;78(3):160-5.
- (67) LeGoff J, Mayaud P, Gresenguet G, Weiss HA, Nzambi K, Frost E, et al. Performance of HerpeSelect and Kalon assays in detection of antibodies to herpes simplex virus type 2. *J Clin Microbiol* 2008 Jun;46(6):1914-8.
- (68) Biraro S, Mayaud P, Morrow RA, Grosskurth H, Weiss HA. Performance of commercial herpes simplex virus type-2 antibody tests using serum samples from Sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Dis* 2011 Feb;38(2):140-7.
- (69) Focus Diagnostics. Monographie HerpeSelect 1 et 2 ELISA IgG. 2011.
- (70) Trinity Biotech. Monographie Captia HSV 2 type specific IgG. 2011.
- (71) Trinity Biotech. Monographie Captia HSV 1 type specific IgG. 2009.
- (72) BioRad. Monographie BioPlex 2200 HSV-1 & HSV-2 IgG. 2009.
- (73) BioRad. Monographie Platelia HSV 1 et 2 IgG. 2008.
- (74) Euroimmun. Monographie Anti-HSV-1 type-specific glycoprotein C1 ELISA (IgG). 2010.
- (75) Euroimmun. Monographie Anti-HSV-2 type-specific glycoprotein G2 ELISA (IgG). 2005.
- (76) CDC. MMWR Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2010. CDC 2010 December 17/Vol. 59 / No. RR-12 Available from: URL: <http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/rr/rr5912.pdf>
- (77) ASPC. Lignes directrices canadiennes sur les infections transmissibles sexuellement - mise à jour 2010. Ottawa: ASPC; 2008.
- (78) BASHH. 2007 National Guideline for the Management of Genital Herpes. BASHH 2007 Available from: URL: <http://www.bashh.org/documents/115/115.pdf>
- (79) Hatchette TF. Herpes simplex virus type-specific serology: Where does it fit in the diagnostic armamentarium? *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2007 Jul;18(4):225-7.

- (80) Guerry SL, Bauer HM, Klausner JD, Branagan B, Kerndt PR, Allen BG, et al. Recommendations for the selective use of herpes simplex virus type 2 serological tests. *Clin Infect Dis* 2005 Jan 1;40(1):38-45.
- (81) Money D, Steben M. Directive clinique sur la prise en charge du virus de l'herpès simplex pendant la grossesse. *SOGC* 2008 Jun;208.
- (82) Celum C, Wald A, Hughes J, Sanchez J, Reid S, any-Moretlwe S, et al. Effect of aciclovir on HIV-1 acquisition in herpes simplex virus 2 seropositive women and men who have sex with men: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008 Jun 21;371(9630):2109-19.
- (83) Watson-Jones D, Weiss HA, Rusizoka M, Chagalucha J, Baisley K, Mugeye K, et al. Effect of herpes simplex suppression on incidence of HIV among women in Tanzania. *N Engl J Med* 2008 Apr 10;358(15):1560-71.
- (84) Aberg JA, Gallant JE, Ghanem KG, Emmanuel P, Zingman BS, Horberg MA, et al. Primary care guidelines for the management of persons infected with HIV: 2013 update by the HIV medicine association of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2014 Jan;58(1):e1-34.
- (85) Patel R, Alderson S, Geretti A, Nilsen A, Foley E, Lautenschlager S, et al. European guideline for the management of genital herpes, 2010 - Uptade 2013. *Int J STD AIDS* 2013 May;22(1):1-10.
- (86) EACS. *Recommandations de l'European AIDS Clinical Society (EACS) version 7.01*. 2013.
- (87) Baril J-G. *L'examen médical périodique de l'adulte vivant avec le virus de l'immunodéficience humaine (VIH)*. 2014.
- (88) Singh A, Preiksaitis J, Ferenczy A, Romanowski B. The laboratory diagnosis of herpes simplex virus infections. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2005 Mar;16(2):92-8.

ANNEXE 1
LISTE DES MEMBRES DU CALI

Liste des membres du CALI^L (en ordre alphabétique de nom de famille)

Docteure Isabelle Alarie <i>Médecin microbiologiste-infectiologue</i> CHUS Hôpital Fleurimont	Docteure Louise Charest <i>Omnipraticienne</i> Clinique médicale l'Actuel
Docteur Marc Dionne (membre d'office) <i>Directeur scientifique</i> Institut national de santé publique du Québec	Docteur Patrick Dolcé <i>Médecin microbiologiste-infectiologue</i> Hôpital régional de Rimouski
Docteur Claude Fortin <i>Médecin microbiologiste-infectiologue</i> CHUM Hôpital Notre-Dame	Monsieur Éric Frost, Ph.D. <i>Microbiologiste</i> Université de Sherbrooke
Madame Lise Guérard (membre d'office) <i>Chef de service</i> Service de lutte contre les ITSS, Ministère de la Santé et des Services sociaux	Docteure Annie-Claude Labbé <i>Médecin microbiologiste-infectiologue, présidente du CALI</i> Hôpital Maisonneuve-Rosemont
Docteure Diane Lambert <i>Médecin-conseil</i> Direction de santé publique des Laurentides	Docteur Gilles Lambert <i>Médecin-conseil</i> Institut national de santé publique du Québec
Docteur Pierre Lebel <i>Médecin microbiologiste-infectiologue</i> Hôpital Général de Montréal	Madame Brigitte Lefebvre, Ph.D. <i>Microbiologiste</i> LSPQ, Institut national de santé publique du Québec
Docteure France Morin <i>Omnipraticienne</i> CLSC la Pommeraie	Monsieur Donald Murphy, Ph.D. <i>Microbiologiste</i> LSPQ, Institut national de santé publique du Québec
Monsieur Raymond Parent (membre d'office) <i>Chef d'unité scientifique</i> Institut national de santé publique du Québec	Docteur Marc Steben <i>Médecin-conseil</i> Institut national de santé publique du Québec
Docteure Isabelle Tétrault <i>Médecin microbiologiste-infectiologue</i> CHA Hôpital Enfant-Jésus	Docteure Cécile Tremblay (membre d'office) <i>Directrice scientifique</i> LSPQ, Institut national de santé publique du Québec
Madame Annick Trudelle, M.Sc. <i>Conseillère scientifique, coordonnatrice du CALI</i> Institut national de santé publique du Québec	Docteure Sylvie Venne <i>Médecin-conseil</i> Service de lutte contre les ITSS, Ministère de la Santé et des Services sociaux
Docteur Karl Weiss (membre d'office) <i>Président de l'AMMIQ</i>	

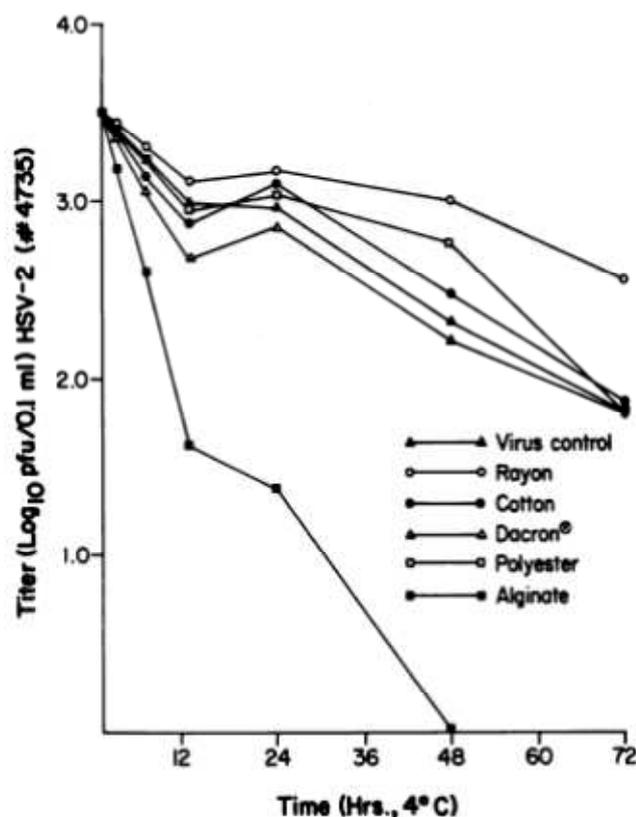
^L Le comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS (CALI) est un comité permanent d'experts formé avec l'accord du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) et de l'Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec (AMMIQ). Il relève de l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ) et 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.

ANNEXE 2
CONSERVATION DU VIRUS HERPES SIMPLEX AVEC DES FIBRES
D'ÉCOUVILLON : EFFET SUR LE DECOMPTE VIRAL

Conservation du virus Herpes simplex avec des fibres d'écouvillon: effet sur le décompte viral

(Source : Extrait de la publication de Crane et coll. (14) avec autorisation de l'auteur)

Incubation of Swab Materials with Herpes Simplex Virus



Data Base

Legend. Swab materials (rayon, cotton, Dacron®, polyester, and calcium alginate) were finely shredded, and 1.0 g of each was mixed with 4 ml of Eagle's medium. Then 0.1 ml of herpes simplex virus type 2 (HSV-2) containing $8.4 \times 10^{4.3}$ – 1.97×10^5 pfu/ml was added to each suspension. Suspensions were agitated with a magnetic stirrer, and at intervals 0.3-ml aliquots were taken and centrifuged at 1,000 g for 15 min at 4 C before residual virus was quantitated in Vero renal cells in tissue culture microtiter plates. Each point is the mean of eight experiments.

ANNEXE 3
ÉTUDE DE VIABILITÉ DU VIRUS HERPES SIMPLEX
A TEMPÉRATURE PIÈCE ET À 4° CELSIUS

Étude de viabilité du virus Herpes simplex à température pièce et à 4° Celsius

(10,17,18)

Organism	Organism Concentration	Holding Time (hours)	Incubation Time Before Reading (hours)	Viability Challenge at 4°C Foci of infected cells/200 µl ²	Viability Challenge at RT Foci of infected cells/200 µl ²
Herpes Simplex Virus Type 1	10 ⁻¹ Neat Virus Stock Suspension* (dilution produces infectivity of 100% of cells)	0	24	491	412
		24	24	387	301
		48	24	282	164
	10 ⁻² Neat Virus Stock Suspension* (dilution produces infectivity of 100% of cells)	0	24	98	100
		24	24	68	10
		48	24	21	1
Herpes Simplex Virus Type 2	10 ⁻¹ Neat Virus Stock Suspension* (dilution produces infectivity of 90% of cells)	0	24	TNTC ¹	TNTC ¹
		24	24	615	437
		48	24	525	58
	10 ⁻² Neat Virus Stock Suspension* (dilution produces infectivity of 40% of cells)	0	24	228	315
		24	24	170	73
		48	24	75	7

ANNEXE 4
ÉTAPES DE LA CULTURE PAR CENTRIFUGATION SUR LAMELLE
(« SHELL VIAL »)

Étapes de la culture par centrifugation sur lamelle (« *Shell vial* »)

(Source : Annie-Claude Labbé, Hôpital Maisonneuve-Rosemont, adapté de Garcia LS., Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3e édition (38))



Inoculer avec l'échantillon

Lamelle au fond du récipient recouverte d'une couche de culture cellulaire



Transférer la lamelle sur une gaze et ajouter une goutte d'anticorps-monoclonal



Centrifuger afin d'augmenter l'infection des cellules



Incuber à 35°C pendant 24-48h



Incuber à l'étuve



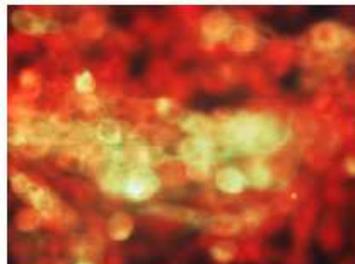
Retirer le milieu de culture



Monter la lamelle sur une lame



Rincer avec le PBS et avec de l'acétone et à nouveau avec du PBS



Lire au microscope à fluorescence

ANNEXE 5
CARACTÉRISTIQUES DES DIFFÉRENTS TESTS DE DÉTECTION
VIRALE DISPONIBLES

Caractéristiques des différents tests de détection virale disponibles

(Source : Extrait de la publication de Costello et coll. (33) avec autorisation de l'auteur)

Table 2. Laboratory methods for diagnosis of herpes simplex virus infections

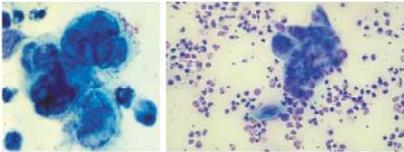
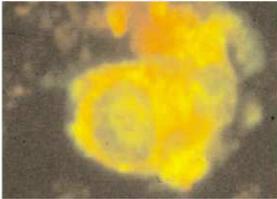
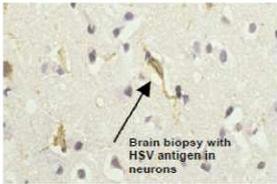
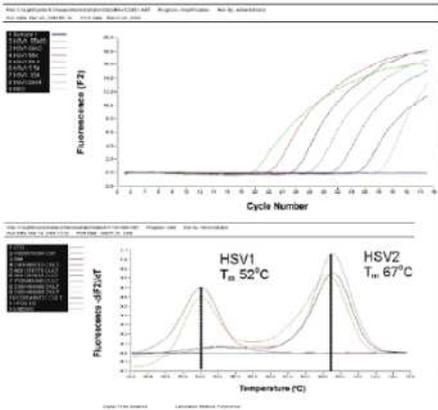
Test	Properties
<p>Antigen detection</p> <p>Tzanck smear</p>  <p>Multinucleated giant cells</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Wright-Giemsa stain • Rapid, inexpensive, easy • Requires intact infected cells with distinct inclusion or fused giant cells • ~60% sensitive with vesicle lesions • Very poor sensitivity with ulcer lesions
<p>Direct fluorescent antibody (DFA) stain</p>  <p>Multinucleated giant cell staining positive with FITC anti-HSV antibody</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Requires intact infected cells (skin, genital, etc.) • Sensitivity varies with stage of lesion: <ul style="list-style-type: none"> 85% (vesicles) 60% (pustules) 20% (ulcers) <10% crusted lesions • Monoclonal antibodies differentiate HSV-1- and HSV-2-infected cells.
<p>Immunohistochemistry – immunoperoxidase stain</p>  <p>Brain biopsy with HSV antigen in neurons</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Performed on formalin fixed, paraffin embedded biopsy tissue sections to detect HSV antigen • In situ hybridization methods can also identify HSV DNA in tissue biopsy specimens.
<p>Cell culture</p> <p>Tube culture</p>  <p>Tube cell cultures containing Cells that support growth of HSV (fibroblasts, rabbit kidney, etc).</p>  <p>HSV CPE (rounding) in Fibroblast monolayer</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Characteristic CPE pattern in 1 to 7 days of incubation (mean, 1.5 days) • Cell lines may support growth of other viruses • CPE suspicious for HSV should be confirmed with DFA stain of cells
<p>Shell vial culture</p> <p>Single cell line</p>  <p>Stained coverslip</p> <p>Shell Vial Culture</p>  <p>Culture monolayer positive for HSV</p>	<ul style="list-style-type: none"> • More rapid than tube culture • Specimen inoculated by centrifugation onto the cell monolayer • Inoculated vial incubated for 1-2 days • Cells on monolayer coverslip stained for HSV • Positive and negative results in 1-2 days

Table 2 continued next page

Table 2. Laboratory methods for diagnosis of herpes simplex virus infections (continued)

Test	Properties
<p>Cell culture (continued)</p> <p>ELVIS (Enzyme linked virus inducible system) culture</p>  <p>Courtesy of Diagnostic Hybrids</p>	<ul style="list-style-type: none"> Genetically engineered cell line; HSV growth detected by blue color change in monolayer from HSV inducing galactosidase production in cells Easy to perform and interpret
<p>Cell mixture</p>  <p>Courtesy of Diagnostic Hybrids</p> <p>CV-1 and MRC-5 cells</p>	<ul style="list-style-type: none"> Added sensitivity with two cell lines Can support growth of other viruses (varicella-zoster virus, cytomegalovirus, enteroviruses, etc.) Viable virus required
<p>Nucleic Acid Amplification</p> 	<ul style="list-style-type: none"> New "gold standard" for detection of HSV Not dependent on viability HSV DNA stable in specimen transport HSV DNA extraction, amplification, and detection steps can be accomplished in a few hours. Automated user-friendly methods under development Cost competitive with culture HSV-1 and HSV-2 easily differentiated by melting-curve (T_m) analysis