

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique.

République du Mali
Un Peuple – Un But – Une Foi



Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie (FMPOS)

Année Universitaire 2009 - 2010

Thèse N°...../P

TITRE

Sérodiagnostic de la syphilis vénérienne au laboratoire du
CHU Gabriel TOURE de janvier 2007 à décembre 2008

THESE

Présentée et soutenue publiquement le __/__/2009

devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie

PAR

M. TRAORE Ousmane Oumar Madani

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

JURY

Président

Professeur Soukalo DAO

Juge

Docteur Niani MOUNKORO

Co- directeur de thèse

Docteur Souleymane DIALLO

Directeur de thèse

Professeur Flabou BOUGOUDOGO

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

Je dédie ce modeste travail :

- A DIEU le tout Puissant, le Miséricordieux, de m’ avoir donné la chance, la santé, le courage de venir about de ce travail.

Que sa bénédiction et sa protection soient sur tous

AMEN !

A son prophète MOHAMED paix et salut à son âme

AMEN !

- A mon père Oumar Madani TRAORE

Tu nous as montré le chemin du travail et du courage, ta rigueur dans l’éducation a toujours guidé nos pas, ta sagesse, tes critiques et ta culture d’une famille unie resteront à jamais dans notre mémoire. Ton amour particulier pour nous m’a illuminé le chemin du savoir.

Puisse ALLAH le tout Puissant te garder encore longtemps au près de nous pour que tu puisses profiter des fruits de nos efforts.

Trouve en ce modeste travail un début de récompense à tes nombreux sacrifices. Je suis sûre que tes vœux seront exhaussés par le tout puissant et que tes conseils ne seront pas vains.

- A ma mère feu Fanta KOUYATE Chère mère ce travail modeste est le témoignage de ma promesse faite depuis le début de cette étude pharmaceutique que DIEU ne t’a pas donné la chance d’ assister. Certes un fils de toi héritera de cette science grâce à tes sacrifices et nombreuses prières.

Yaye merci pour ton amour maternelle qu’une mère a de mieux pour son enfant. Puisse DIEU t’accorder sa grâce divine, le paradis et te bénisse pour les beaux fruits que tu as laissés parmi les Hommes pour qu’ ils en profitent.

- A ma tante Awa KOUYATE

La mère qui donne naissance n'est pas la seule à aimer son enfant. Ma tante, ma mère les mots me manquent pour essuyer tes larmes mais je souhaite que tu trouves dans ce travail de quoi t'en jouir.

- A mes tantes Fanta CAMARA, Néné Badian KOUYATE, Lala KOUYATE
voici le fruit de vos bénédictions et de vos conseils. Trouvez dans ce travail l'expression de toute ma gratitude.

Que DIEU vous garde longtemps auprès de nous.

- A mes Oncles Baba BALLO, Moctar TAMBADOU, Moussa CAMARA,
Moussa SIDIBE, Dikarim DRABA.

Je ne cesserai jamais de vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour nous.

- A mes frères et sœurs

Du plus grand au plus petit, merci pour vos soutiens. Ce travail est également le votre.

- A ma petite fille chérie Absatou SY, ce travail est également le tien.

Que DIEU renforce d'avantage ce lien d'amour qui nous unit.

- A mes camarades de promotion de la FMPOS « PHARMAHOME »

- A mes camarades du Lycée Bah Aminata Diallo (LBAD)

- A mes camarades du laboratoire du CHU Gabriel TOURE

Vous avez été très nombreux à m'encourager, me féliciter, me conseiller et me guider partout où je suis passé. Merci pour vos soutiens.

- A mes amis les plus chers

Comme on a l'habitude de le dire « C'est dans les moments difficiles qu'on reconnaît les vrais amis » moi je vous ai reconnu car vous étiez toujours là pour me soutenir pendant les moments difficiles.

Sachez qu'aucun instant je n'ai regretté votre compagnie. Merci pour votre affection et votre sincère fidélité.

Que DIEU renforce davantage ce lien sacré qui nous unit.

- A mes aines du laboratoire

Dr Aliou TOURE, Dr Tenin SAMAKE, Dr Modibo SADESSI, Dr Alphady CISSE, Dr Cheik DIABATE, Dr Samba SANGARE, Dr Boubacar O CISSE, Dr Mohamed MAIGA, Dr Corneille DIARRA. Vous avez tous contribué à la belle réalisation de ce travail et merci sincèrement pour tout.

- Au personnel de l'hôpital et plus particulièrement au personnel du laboratoire. Merci pour votre collaboration, votre contribution et votre esprit d'équipe.

- A tout le corps professoral de la FMPOS

Je vous témoigne toute ma reconnaissance et mes remerciements pour l'enseignement et les encadrements reçus.

A tous mes enseignants depuis le primaire

Vous avez toutes mes considérations et je vous suis parfaitement reconnaissant pour toute la formation que vous m'avez donnée.

- A tous les étudiants de la FMPOS et plus particulièrement ceux de la deuxième promotion du numerus clausus

Merci pour les nombreux souvenirs des années passées ensemble.

- A toutes les personnes de bonne volonté de près ou de loin qui ont contribué à la bonne réussite de ce travail.

Merci !

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A NOTRE MAÎTRE ET PRESIDENT DU JURY

Professeur Soukalo DAO

Maître de Conférence à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie ;

Président de la Société Malienne de Pathologie infectieuse (SOMAPiT) ;

Membre de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue française (SPILF) ;

Investigateur Clinique au CeReFo sur la tuberculose /VIH.

Homme aux qualités scientifiques importantes, nous avons été séduits par la simplicité, la clarté et la rigueur de vos enseignements ; en plus de vos connaissances scientifiques, votre sens social de la vie mérite le respect.

Nous vous exprimons cher Maître, toute notre reconnaissance.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Docteur Niani MOUNKORO

Spécialiste en gynéco- obstétrique en fonction au CHU Gabriel TOURE ;

Praticien hospitalier ;

**Maître Assistant à la Faculté de Médecine de Pharmacie et
d'Odontostomatologie,**

Cher Maître, c'est un plaisir et un honneur de vous avoir parmi nos juges.

Votre disponibilité, votre goût du travail bien fait, et votre rigueur scientifique font de vous un Maître admiré de tous.

Veillez trouver ici l'expression de toute notre admiration, notre reconnaissance et notre profond respect.

A NOTRE MAÎTRE ET CO- DIRECTEUR DE THESE

Docteur Souleymane DIALLO

Pharmacien biologiste, Colonel des forces armées du Mali ;

Chef du laboratoire d'analyses médicales du CHU Gabriel TOURE ;

Maître Assistant en bactériologie et virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie.

Honorable Maître, votre appui a été d'un grand apport dans l'élaboration de ce document.

Votre simplicité, votre sérénité, votre disponibilité, et votre esprit communicatif font de vous un Maître admiré de tous.

Soyez rassuré, cher Maître de notre profond attachement aux valeurs qui vous sont chères tel que le travail bien fait.

Cher Maître veuillez trouver ici notre profond respect et nos sincères remerciements.

A NOTRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE THESE

Professeur Flabou BOUGOUDOGO ;

Maître de conférence agrégé en Bactériologie et Virologie à la

Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie ;

Directeur Général de l'Institut National de Recherche en Santé Publique ;

Responsable des cours de bactériologie et virologie à la Faculté de

Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie.

Cher Maître, nous vous sommes infiniment reconnaissants d'avoir accepté de siéger dans ce jury ; vous nous avez toujours montré un grand intérêt pour tout ce qui touche notre formation.

Homme de principe, votre rigueur scientifique fait de vous un Maître exemplaire et reconnu de tous.

Veillez agréer cher Maître l'expression de notre grande admiration et de notre profonde reconnaissance.

1. INTRODUCTION ET OBJECTIFS

2. GENERALITES SUR LA SYPHILIS

3. METHODOLOGIE

4. RESULTATS

5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

6. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

7. REFERENCES

8. ANNEXES

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION ET OBJECTIFS	1
2. GENERALITES SUR LA SYPHILIS	3
2.1. Définition	3
2.2. Historique	3
2.3. Conception Actuelle	5
2.4. Epidémiologie	5
2.5. Agent pathogène	9
2.5.1. Vu au microscope ordinaire	9
2.5.2. Vu au microscope électronique	10
2.5.3. Caractères bactériologiques et immunologiques	10
2.5.4. Virulence et pouvoir pathogène	11
2.5.5. Cultures	12
2.6. Immunité	12
2.6.1. Les faits expérimentaux chez l’homme	12
2.6.2. Interprétation des faits	12
2.7. Maladie humaine – clinique	13
2.7.1. La phase primaire	14
2.7.2. La phase secondaire	15
2.7.3. La phase tertiaire	17
2.7.4. La syphilis congénitale	18
2.7.5. Les tréponématoses non vénériennes	21
2.8. Méthodes de diagnostic biologique	22
2.8.1. Le diagnostic bactériologique	22
2.8.2. Diagnostic sérologique	24
2.8.3. Courbe d’évolution des anticorps au cours de la syphilis	31
2.8.4. Cas particuliers	37
2.8.5. Diagnostic sérologique de la syphilis et pratique courante actuelle....	38
3. METHODOLOGIE	40

3.1 cadre d'étude	40
3.2. Type et durée de l'étude	41
3.3. Population étudiée	41
3.3.1. Critères d'inclusion	41
3.3.2. Critères de non inclusion	41
3.4. Echantillonnage	41
3.4.1. Méthode et techniques d'échantillonnage	41
3.4.2. Variables étudiées	42
3.5.3. Condition de sécurité au laboratoire	42
3.6. Méthodes de diagnostic au laboratoire	43
3.6.1. Principe du VDRL	43
4. RESULTATS	47
5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION	53
5.1. Méthodologie suivie	53
5.2. Analyse des résultats	53
5.2.1. Répartition de l'ensemble des patients selon le sexe	53
5.2.2. Répartition de l'ensemble des patients selon l'âge	53
5.2.3. Répartition des femmes enceintes selon l'âge de la grossesse	54
5.2.4. Répartition des femmes selon leur état physiologique	54
5.2.5. Répartition de l'ensemble des patients selon le service demandeur ...	54
5.2.6. Répartition de l'ensemble des patients selon la profession	54
5.2.7. Répartition des patients selon l'ethnie	55
5.2.8. Répartition des patients selon la positivité du VDRL	55
5.2.9. Répartition des patients selon le nombre de variables	55
6. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	57
7. REFERENCES	58
8. ANNEXES	61

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Méthodes d'observation au microscope à fond noir.

Recherche de bactéries spiralées à la mobilité caractéristique.

Figure 2 : Chancre induré plus adénopathie satellite siégeant au point d'inoculation génitale

Figure 3 : La phase secondaire dénommée la grande simulatrice se caractérisant par des lésions cutané- muqueuses très contagieuses

Figure 4 : Syphilides papuleuses

Figure 5 : Syphilides palmaires

Figure 6 : Roséole (chez une dame à Mopti (Photo Dr Malick TRAORE)

Figure 7 : Syphilis tertiaire du palais

Figure 8 : Schéma d'évolution de la syphilis selon le syphiligraphe français PH-RICORD

Figure 9 : Manifestations cutané muqueuses de la syphilis congénitale (Clichés Pr. GENDREL D. hôpital Saint Vincent de Paul)

Figure 10 : Atteinte métaphysaire, périostite et nécrose palmo- plantaire chez un enfant de 4 mois d'origine africaine (Clichés Pr. D. GENDREL, hôpital Saint Vincent de Paul)

Figure 11 : Représentation schématique de la réaction de fixation du complément

Figure 12 : Courbe d'évolution des anticorps dans la syphilis primaire correctement traitée

Figure 13 : Evolution des anticorps au cours d'une syphilis ancienne peu ou pas traitée

Figure 14 : Evolution des anticorps transmis passivement par la mère au nouveau né

Figure 15 : Evolution des IgM et IgG au cours de la syphilis congénitale

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Prévalence des anticorps antisyphilitiques chez les femmes enceintes dans certains pays d'Afrique

Tableau II : Les différentes réactions utilisées pour le diagnostic sérologique de la syphilis

Tableau III : Réaction qualitative sur une plaque de Kline.

Tableau IV : Répartition de l'ensemble des patients selon le sexe

Tableau V : Répartition de l'ensemble des patients selon le sexe

Tableau VI : Répartition des femmes enceintes selon l'âge de la grossesse

Tableau VII : Répartition des femmes selon leur état physiologique

Tableau VIII : Répartition de l'ensemble des patients selon la positivité du VDRL LATEX

Tableau IX : Répartition de l'ensemble des patients selon le service demandeur

Tableau X : Répartition de l'ensemble des patients selon l'ethnie

Tableau XI : Répartition de l'ensemble des patients selon la profession

Tableau XII : Répartition de l'ensemble des patients selon le nombre de variables qu'ils possèdent

Tableau XIII : Mode opératoire du test de Nelson Mayer

LISTE DES ABREVIATIONS ET SIGLES

1-	A.R.T.	Automatic Reagin Test
2-	B.W	Bordet Wassermann
3-	CDC	"Center for Disease Control"
4-	CNTS	Centre National de Transfusion Sanguine
5-	CRMT	Centre de Recherche en Médecine Traditionnelle
6-	E.D.T.A	Acide Ethylène-Diamino-Tetra-Acétique
7-	Fc	Fraction du Complément
8-	Ig	Immunoglobuline
9-	INRSP	Institut National de Recherche en Santé Publique
10-	FTA abs	Fluorescence Treponema Anti body absorbent
11-	FTA	Fluorescence Treponema Anti body
12-	MU	Million d'Unités
13-	RPR	Rapid Plasma Reagin Test
14-	TIT	Test d'Immobilisation des tréponèmes
15-	TPHA	Treponema Pallidum Hemagglutination Assay
16-	TPI	Treponema Pallidum Immobilisation
17-	VDRL	Venereal Disease Research Laboratory

1. INTRODUCTION ET OBJECTIFS

Les tréponématoses sont des maladies bactériennes en voie de disparition dans les pays développés. [1]. Par contre dans les pays en développement, elles constituent un problème de santé publique.

Elles se présentent sous deux (2) formes : la forme vénérienne et la forme endémique.

La forme vénérienne est de loin la plus redoutable de par ses complications. En effet, 40% des grossesses syphilitiques se terminent par un avortement spontané, l'accouchement d'un enfant mort- né ou une mort périnatale. [2, 3, 4, 5]

A long terme, la syphilis vénérienne est responsable des lésions multi- viscérales à savoir, les atteintes neuropsychiatriques, cardio-vasculaires et ostéo-articulaires.

Au Mali, les enquêtes jusqu'ici menées ont été des enquêtes épidémiologiques ponctuelles. Ces enquêtes ont concerné quelques groupes sociaux et certaines zones géographiques comme l'illustrent l'enquête menée en 1979 par le Professeur Philippe RANQUE, celle menée au service de psychiatrie de l'hôpital du Point G en 1985, celle menée par l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) dans la région du Gourma en 1986, l'étude menée par le Docteur Mahamadou IDRISSE en 1988 et enfin celle menée par Zakaria TRAORE en 1999. [6, 7, 8, 9, 10, 11, 12]

Ainsi, nous constatons que :

Aucune de ces enquêtes n'a pris en compte la population en général.

Malgré la bonne sensibilité et la grande spécificité des tests actuellement disponibles, la grande majorité de ces enquêtes n'ont fait appel qu'à un seul test sérologique, celui utilisant l'antigène VDRL ou le RPR.

Seules les enquêtes menées par le Professeur Philippe RANQUE en 1979 [8] et Zakaria TRAORE en 1999 [12] ont fait appel à un antigène tréponémique.

Dans ces cas, le Professeur RANQUE avait envoyé des échantillons à Marseille où le VDRL et le TPHA avaient été utilisés. En ce qui concerne Zakaria

TRAORE, il avait fait sa confirmation au Centre National de Transfusion Sanguine. Cependant, une interprétation isolée de ces tests peut entraîner des erreurs soit par excès, soit par défaut dans le diagnostic et la surveillance de cette affection. [10]

Dans le cadre de notre étude nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

Objectif général :

Déterminer la prévalence de la syphilis vénérienne au sein de la population générale.

Objectifs spécifiques :

1. Donner les caractéristiques socio- démographiques de la population étudiée.
2. Déterminer les périodes de la grossesse au cours desquelles les femmes ont fait le dépistage au laboratoire.
3. Proposer des améliorations dans la technique du sérodiagnostic.
4. Améliorer la qualité des informations recueillies chez les patients.

2. GENERALITES SUR LA SYPHILIS

2.1. Définition

La syphilis est une maladie générale contagieuse inoculable et sexuellement transmissible dont l'agent pathogène est le *Treponema pallidum* de Schaudinn, microbe exclusif de l'homme.

Espèce bactérienne de la famille des SPIROCHOETACEAE, c'est un microorganisme de 6 à 14 µm de long, dont le corps spiralé très grêle, cylindrique, présente environ 10 tours de spires réguliers et dont les extrémités pointues sont parfois munies d'un prolongement grêle. [13]

Les manifestations cliniques au cours de son évolution sont polymorphes. Les Infections Sexuellement Transmissibles (IST) anciennement appelées Maladies Sexuellement Transmissibles (MST) constituent une priorité indiscutable. Si la très grande fréquence des IST classiques (syphilis, gonococcies, chlamydomonas, trichomonas) ainsi que leurs complications propres, suffisent à en faire un problème de santé publique à part entière, les interactions remarquables de ces IST avec le VIH leur confèrent de plus aujourd'hui une place de choix dans les stratégies de lutte contre l'expansion du Sida. [14]

2.2. Historique

C'est du latin varius (tacheté) en raison de l'éruption de la période secondaire qu'est venu le terme de grande vérole ancienne dénomination de la maladie dont l'origine historique est toujours source de discussion : Les partisans de la thèse préhistorique (la syphilis serait aussi vieille que l'homme) s'oppose toujours à ceux de la thèse colombienne RABELLO F. E en 1973 a fait le point sur cette polémique [15] réfutant un à un les arguments de ceux qui tentent de prouver qu'avant l'expédition de Christophe COLOMB, la syphilis existait déjà en Europe. Toujours est-il qu'après le retour de COLOMB en 1493 ou de Antonio DE TORRES en 1494 du nouveau monde quel que fut le contenu exact de ses

caravelles, un fléau nouveau s'abattit sur l'Europe favorisé par les guerres et ses brassages de populations.

C'est ainsi qu'en 1494, les troupes de CHARLES VIII roi de France vont rejoindre l'Italie pour combattre le roi de Naples soutenu par l'armée Espagnole avec aussi son cortège de mercenaires et de prostituées. En 1495 en même temps que la prise de Naples par l'armée Française, l'épidémie de syphilis fait son apparition et se dissémine dans toute l'Europe au gré de la dispersion des mercenaires des armées Françaises et Espagnoles.

Ainsi la syphilis était dénommée mal de Naples par les Français et mal Français (Morbus GALLICUS) par les Italiens. [16]

A la fin du XV^e siècle la syphilis est une maladie sévère dont la forme clinique la plus fréquente évoque la syphilis maligne actuelle.

Au cours des siècles l'expression sémiologique de la syphilis et son évolution naturelle se sont modifiées pour aboutir à un état d'équilibre entre l'hôte et la bactérie.

Le nom de syphilis n'apparut qu'en 1530 par analogie au berger SYPHILUS, protagoniste d'un poème de Jérôme FRACASTOR, médecin et philosophe Italien (SYPHILUS sine Morbus GALLICUS, 1530).

Jusqu'au XX^e siècle, la syphilis a dominé la pathologie et les préoccupations médico-sociales de l'époque avec son cortège moralisateur et culpabilisant. [17]

L'année 1905, marque le début de l'étude étiologique de la maladie et le 5 Mars de cette même année fut découvert l'agent causal de la syphilis par Frits SCHAUDINN et Eric HOFFMAN.

En 1905 Auguste WASSERMAN, Albert NEISSER, Carl BRUCK appliquaient au sérodiagnostic de la syphilis, la réaction de fixation du complément, mise au point par BORDET. C'est pourquoi ce test diagnostique a été appelé réaction de BORDET et WASSERMAN ou B.W.

La même année 1905 Paul ERLICH introduisit la thérapeutique arsenicale contre la syphilis.

En 1921 LE VADETTE découvre les propriétés tréponémicides du bismuth.

En 1943, John MAHONEY entreprit une étude expérimentale de traitement de la syphilis par la pénicilline et obtint 90 à 97% de taux de guérison et ce fut le début d'une nouvelle ère de la thérapeutique contre la syphilis.

2.3. Conception actuelle

La syphilis a suscité d'innombrables études cliniques et expérimentales qui ont permis de dégager une conception d'ensemble de l'affection : Maladie infectieuse transmise par contagion.

La syphilis laissée à elle-même, détermine l'apparition d'immunité avec production d'anticorps. L'immunité après un traitement stérilisant tend à s'atténuer ce qui peut permettre une éventuelle réinfection. A ces phénomènes d'immunité s'intrique l'allergie syphilitique. Il existe des syphilis à transmission non vénérienne : le PIAN, le BEJEL et le PINTA.

2.4. Epidémiologie de la syphilis

2.4.1. Etude statistique : [18, 19, 20, 21, 9,1, 14, 22, 11,12]

Syphilis vénérienne :

Selon les enquêtes sérologiques récemment effectuées, la syphilis vénérienne est très inégalement fréquente parmi les femmes adultes africaines ; sur le versant oriental du continent, les prévalences sont faibles dans les sites étudiés au Nord-Est, le centre Ouest de l'Afrique est d'avantage plus touché que l'Afrique Occidentale. Partout les prostituées sont contaminées à un haut niveau. Cette prévalence est élevée de l'Ouganda à l'Afrique du Sud.

Les statistiques reflètent plus ou moins bien son incidence puisqu'à l'heure actuelle, aucune technique sérologique ne peut dissocier la syphilis vénérienne des tréponématoses endémiques.

Le tableau suivant donne la prévalence de la syphilis vénérienne dans certains pays d'Afrique.

Tableau I : Prévalence des anticorps antisyphilitiques chez les femmes enceintes dans certains pays d'Afrique. [23]

Pays	Sites	Dates	Taux de prévalence
Afrique du Sud	Soweto	1990	9,5%
	Durban	1990-1991	30,7%
Botswana	Maun	1985-1987	18%
Cameroun	Yaoundé	1991	14,6%
Centrafrique	Bangui	1982	12,9%
Congo	Brazzaville	1988	25,8%
Cote d'Ivoire	Abidjan	1992	0,7%
Ethiopie	Villes	1992	13,3%
Gabon	Libreville	1986	11,4%
Gambie	Site rural	1986	13%
Kenya	Nairobi	1992	6,2%
Malawi	Site urbain	1993	11,2%
Mozambique	Maputo	1982-1983	9,8%
Nigeria	Ilorin	1984	0,3%
Ouganda	Site urbain	1991	10%
Rwanda	Kigali	1999	4%
Somalie	Mogadiscio	1986	0%
Swaziland	Mbabane	1986	13,1%
Tanzanie	Dar- Es- Salam	1992	5,2%
Zaïre	Kinshasa	1992	0,8
	Lubumbashi	1989	5,4%
Zambie	Lusaka	1985	11,6%

Au Sénégal, on estime à 5 % Chez les femmes enceintes en 1997- 1998 et 6% chez les patients masculins. [14]

On estime à près de quatre (4) millions le nombre de cas de syphilis en Afrique subsaharienne.

Situation dans les pays développés :

L'épidémiologie de la syphilis est plus ou moins connue selon les pays. Les enquêtes prospectives ou rétrospectives sont d'efficacité variable.

Aux Etats Unis où le rapport des cas est correct et où l'incidence annuelle est suivie depuis de nombreuses années, on estime que moins de 50% des cas sont en fait rapportés. Aux Etats Unis, l'incidence de la syphilis précoce (primaire et secondaire) a régulièrement baissé de 1947(66,4 cas pour 100000 habitants) à 1956 (3,9 cas pour 100 000), probablement en grande partie du fait de l'utilisation de la pénicilline. A partir de 1956, l'incidence a subi des variations à la hausse et la baisse (avec cependant une tendance à la hausse). L'épidémie la plus récente s'est produite en 1990 (incidence 20 pour 100000), soit une augmentation de 59% depuis 1985. L'utilisation du crack semble rendre compte en partie de cette augmentation. [22]. On estime à près de 6 millions le nombre de cas de syphilis en Asie du Sud- Est.

En Russie et dans les pays de l'ancien bloc communiste, l'incidence a subi une augmentation explosive (280 cas pour 100000) en Russie en 1997, soit une augmentation d'un facteur 43 depuis 1989). [18]

Au Canada, parmi les Infections Transmissibles Sexuellement : la chlamydia, la gonorrhée et la syphilis, la syphilis infectieuse est la moins signalée .Depuis 1994, le taux national s'est maintenu entre 0,4 et 0,6/100000. Cependant, le taux prévu pour 2001, calculé d'après les données des neuf premiers mois, s'est élevé à 0,9/100000 le taux augmente tant chez les hommes que chez les femmes avec une prédominance masculine. [19]

En France, une enquête coordonnée par l'Institut de Veille Sanitaire (In VS), fait état d'une augmentation préoccupante du nombre de cas de syphilis égale à 33 cas de syphilis en 2000 et 140 cas en 2001.

Elle paraît pour l'instant, préférentiellement localisée en région parisienne.

De plus, elle présente des caractéristiques particulières puisqu'elle concerne presque exclusivement des sujets de sexe masculin, en majorité homosexuels dont plus de la moitié sont infectés par le VIH. [20, 21]

2.4.2. Contamination

L'agent causal de la syphilis, le tréponème pâle pénètre l'organisme humain à travers la peau et les muqueuses lésées. La porte d'entrée peut être si petite qu'elle passe inaperçue à l'examen. Un syphilitique est contagieux pour l'entourage, surtout dans la période de manifestation active de l'infection. Les tréponèmes pâles viennent alors à la sérosité à la surface des lésions depuis les tissus profonds lors du frottement (lors de la marche), les frictions (lors de l'acte sexuel), de l'irritation (mécanique ou chimique), ou bien avec la nourriture (quand les papules syphilitiques affectent la cavité buccale).

Nous ne nous étendons pas sur les syphilis à transmission extra-vénérienne imméritées transmises indirectement par des objets souillés, car elles sont pratiquement exceptionnelles, sinon inexistantes en raison de la fragilité du germe en dehors de l'organisme. Quant aux contaminations professionnelles, elles sont numériquement rares.

- La transmission vénérienne

Ainsi contracter aujourd'hui la syphilis, témoigne d'une sexualité à risque : partenaires sexuels multiples, usage de drogues dures, prostitution sauvage. Par contre en tropicale elle reste de transmission élevée.

La contamination sexuelle, plus fréquente, suppose le contact intime de deux muqueuses dont l'une est infectée. Les pratiques sexuelles expliquent qu'un chancre puisse être localisé ailleurs que sur les organes génitaux, par exemple dans la sphère bucco-orale ou dans la région anale.

La syphilis est très contagieuse pour le partenaire à certain stade de son évolution naturelle, principalement les lésions muqueuses : au stade primaire de chancre et au stade secondaire des syphilides muqueuses érosives.

- **Transmission materno- foetale**

Elle s'effectue durant la grossesse par passage transplacentaire du tréponème à partir du 4^{ème} au 5^{ème} mois.

2. 5. Agent pathogène

2. 5. 1. Vu au microscope ordinaire. [15]

Le *Treponema pallidum* de SCHODINN découvert en 1905 par SCHAUDINN et HOFFMAN est l'agent pathogène de la syphilis. Difficile à voir au microscope ordinaire en raison de sa faible réfringence (d'où le qualificatif de *pallidum*), ce spirochète doit être observé à l'ultramicroscope à fond noir : fin organisme hélicoïdal de 6 à 15 μ m de long, 0.05-0.18 μ m de large, à spire étroites, régulières, permanentes, en nombre variable (8 à 20). Il est animé de trois types de mouvement n'effaçant pas la forme spiralée : hélicoïdale (en pas de vis), ondulatoire et d'avant en arrière. Sa division est transversale.

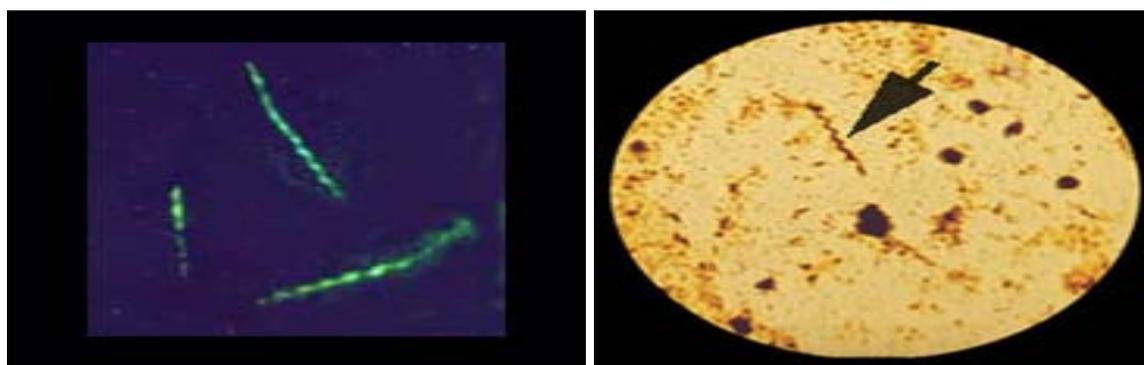


Figure 1 : Méthodes d'observation au microscope à fond noir.

Recherche de bactéries spirales à la mobilité caractéristique. [27]

2. 5. 2. Vu au microscope électronique. [15]

Le *Treponema pallidum* est d'épaisseur inégale, variable avec les mouvements de contraction. Il est composé d'un cylindre cytoplasmique central entouré d'une membrane (composé de trois couche) sépare d'une enveloppe externe de trois couches également, parfois irrégulière (protubérance). Le cytoplasme comporte certains organites : vacuole nucléaire, corps osmophiles (probablement desmosomes), formations laminées (mésosomes) et réseau de fines fibrilles profondes. Des séries parallèles de fibrilles très épaisses, rondes en nombre variable dans leur trajet (3 à 12), dont le rôle dans la locomotion du tréponème semble capitale, sont enroulées en spirales autour de la membrane cytoplasmique sous l'enveloppe externe. Ces fibrilles sont rattachées dans le cytoplasme aux deux extrémités de l'organisme : d'un côté, il existe une formation d'attache (Head structure), composée de granules banals bien mieux visibles dans les tréponèmes de culture que dans les tréponèmes pathogènes. Cette formation semble absente de l'autre côté. Enfin en cas de condition défavorable, mais non létale, on peut noter une enveloppe accessoire protectrice : la capsule mucoïde. Quant aux tréponèmes pâles intracellulaires (lymphocytes, polynucléaires, plasmocytes, fibroblastes), ils sont plus courts plus épais avec perte de fibrilles.

2. 5. 3. Caractères bactériologiques et immunologiques. [24]

Treponema pallidum est une bactérie très fragile, rapidement détruite en dehors de l'organisme, qui ne se colore pas par la technique de Gram. Son observation à l'état frais est possible par l'examen au microscope équipé d'un condensateur à fond noir. C'est une bactérie très fine hélicoïdale à spires serrées, régulières, au nombre de 6 à 12. La structure de sa paroi est celle de bactérie à Gram négatif. La mobilité de *Treponema pallidum* consiste à une rotation active et constante sur l'axe du corps bactérien, accompagnée de flexions sinusoïdales. La croissance de *Treponema pallidum* en culture pure in vitro, en milieu non cellulaire, est impossible actuellement. Quelques souches d'origine humaine

sont entretenues sur le lapin (injection intra- testiculaire) ; on obtient ainsi des suspensions bactériennes qui peuvent demeurer mobiles et pathogènes pendant près de 72 heures dans un milieu défini (milieu de Nelson).

Les tréponèmes pathogènes possèdent de nombreux antigènes capables de stimuler le système immunitaire, de susciter des réponses humorales et cellulaires intervenant dans l'évolution de la syphilis et d'offrir des moyens de diagnostic indirect. Une haptène lipidique (cardiolipide) est un phospholipide présent dans *Treponema pallidum* et dans le tissu cardiaque des mammifères. Des peptides ou glycopeptides de l'enveloppe externe sont les antigènes les plus spécifiques des tréponèmes pathogènes. D'autres antigènes protéiques sont communs aux autres tréponèmes pathogènes et à des tréponèmes non pathogènes.

2. 5. 4. Virulence et pouvoir pathogène. [25]

L'étude de la virulence et du pouvoir pathogène est limitée par l'échec des cultures au laboratoire (à l'exception des cultures sur testicules de lapin). Les tréponèmes pénètrent une peau intacte ou abrasée, ou une muqueuse, puis se multiplient localement en détruisant les tissus : c'est l'ulcère du **chancre primaire**. Celui-ci cicatrise alors que les germes disséminent dans l'organisme : c'est le **stade secondaire** avec fièvre, syndrome grippale, rash et adénopathies 2 à 6 semaines plus tard, 70 % des patients passent au stade latent asymptomatique pendant 3 à 30 ans, puis la syphilis tertiaire se développe. Il s'agit d'une vascularite et d'une inflammation chroniques, due à l'action directe du spirochète (formation de gomme) et une hypersensibilité cellulaire aux antigènes des spirochètes sans germes vivants. Les anticorps ne sont pas protecteurs, mais sont utiles au diagnostic.

2. 5. 5. Cultures. [15]

De très nombreuses tentatives de cultures du tréponème ont été effectuées : certaines récentes semblaient couronner de succès. Elles n'ont pas été confirmées par d'autres. En fait, il apparaît que l'on puisse obtenir des survies, mais les cultures ne sont pas repiquables en série : la virulence et la mobilité des germes sont altères. Tous ces échecs tiennent à un problème majeur : c'est l'absence de la connaissance du métabolisme du tréponème et de ses exigences. La co- incubation du tréponème virulent avec les cellules animales, en culture semble cependant un moyen d'approche intéressant. Il s'agit donc d'un germe fragile, détruit en quelques minutes dans l'eau, et 72 heures à la température ambiante. Il peut par contre être conserve virulent, pendant très longtemps, au froid (-80° C).

2. 6. Immunité. [26]

L'infection naturelle ou expérimentale par *Treponema pallidum* entraîne une réaction immunitaire à médiation à la fois cellulaire et humorale.

Pendant que l'infection évolue, il existe une immunité de surinfection protégeant contre une nouvelle contamination. Les anticorps élaborés ne sont pas suffisants pour éliminer les tréponèmes et empêcher la maladie de progresser.

Un sujet traité efficacement peut à nouveau contracter la syphilis.

La présence résiduelle d'anticorps ne protège pas contre une réinfection. Il n'existe pas de vaccin contre la syphilis.

2. 6. 1. Les faits expérimentaux chez l'homme. [15]

L'injection d'une suspension de tréponèmes pâles virulents (souches Nichols) à un homme sain ou à un ancien syphilitique traité précocement provoque un chancre.

- Chez les anciens syphilitiques non traités ou traités tardivement, il n'y a pas de réponse clinique mais par deux fois un aspect histologique gommeux fut observé au point d'injection.

2. 6. 2. Interprétation des faits : [15]

Pour l'école Allemande (KOLLE-EVERS, NEISSER, cités en 11) si à la suite d'un traitement tardif, la re- inoculation est négative, c'est que la stérilisation bactériologique n'a pas été totale. Il s'agit d'une immunité d'infection, véritable prémunition, due à la persistance des germes virulents d'où le dogme bien classique : le seul test de guérison de la syphilis est la possibilité d'obtenir un chancre de re- inoculation. Cette théorie est très critiquable car elle n'explique pas la positivité de la super- infection précoce et le fait que l'état réfractaire peut être forcé par une inoculation plus riche.

- Pour l'école Américaine (CHESNEY et KEMP cités en 11) il s'agirait d'une immunité post- infectieuse vraie acquise avant l'application du traitement et indépendante d'une stérilisation bactériologique.

- En fait on sait qu'un traitement massif tardif n'est pas capable de détruire les tréponèmes qui peuvent persister dans les frottis ganglionnaires et le liquide céphalorachidien, Mais il est difficile de reproduire la maladie avec un tel matériel qui peut toute fois expérimentalement récupérer une partie de sa virulence sous cortisone. Les spirochètes sont certes vivants mais ils ont perdu une partie de leur virulence et l'immunité syphilitique serait de ce fait une modification de la réceptivité tissulaire maintenue par la persistance de germes extra et surtout intra- cellulaire vergetant à l'état de commensalité

2.7. Maladie humaine- clinique : [27]

Transmis presque toujours par contact direct vénérien, *Treponema pallidum* traverse activement les muqueuses saines et, très rapidement (10 min) disparaît de la surface de la peau et diffuse dans le sang. La contagiosité immédiate forte (transmission directe au cours de rapports multiples) est donc très brève. Pour le mal Français ou Napolitain, l'incubation est le plus souvent de 2 à 3 semaine, mais peut être de 10 à 60 jours (selon la quantité de tréponèmes reçus).

On distingue plusieurs phases de la maladie :

2.7.1. La phase primaire

Elle est caractérisée par le chancre d'inoculation caractéristique : il s'agit d'une ulcération indolore à base indurée siégeant au point d'inoculation (génital, anal, accessoirement buccal ou cutané) et accompagne d'une adénopathie satellite qui apparaît vers le 5 à 6^{ème} jour du chancre, unilatérale (bilatérale si le chancre est médian), multi- ganglionnaire (pléiade de Ricord) : 3 à 5 ganglions, dont un plus gros, indolore, ferme, mobile sans péri- adénite. L'adénopathie persiste plus longtemps que le chancre et constitue alors le seul témoin posthume de l'accident primaire. Non traité le chancre guérit spontanément en 4- 6 semaines, traité il guérit en 1 à 3 semaines, mais l'induration pourra persister plus longtemps.



Figure 2 : Chancre induré plus adénopathie satellite siégeant au point d'inoculation génital. [27]

2.7.2. La phase secondaire correspond à la phase de dissémination des bactéries. Son expression clinique variée a fait dénommer la maladie la grande simulatrice. Elle débute environ 2 mois après le contagé et se caractérise par des lésions cutané- muqueuses très contagieuses (roséole, syphilides, plaques muqueuses, atteintes des ongles.) qui peuvent s'accompagner de micro- poly- adénopathies et d'un syndrome infectieux. Ces signes disparaissent spontanément en 1 à 2 ans.



Figure 3 : La phase secondaire dénommée la grande simulatrice se caractérisant par des lésions cutané- muqueuses très contagieuses. [27]



Figure 4 : Syphilides papuleuses. [28]



Figure 5 : Syphilides palmaires. [28]



Figure 6 : Roséole chez une dame à Mopti (Photo Dr Malick TRAORE). [23]

Survient alors une phase silencieuse, dite syphilis latente (pendant laquelle la syphilis est cliniquement asymptomatique et non contagieuse), suivi après 2 à 10 ans et dans 20 à 30% des cas d'une phase tertiaire.

2. 7. 3. La phase tertiaire est caractérisée par des atteintes viscérales cardiovasculaires (aortite, anévrisme de l'aorte) ou neurologiques (tabès, paralysie générale), associées à des lésions osseuses et cutanéomuqueuses (gomes).



Figure 7 : Syphilis tertiaire du palais. [28]

Enfin la syphilis **chez les sujets affectés par le VIH**, montre des chancres multiples et extensifs, avec une évolution plus rapide vers la neuro- syphilis (Possibilité d'encéphalite ou d'artérite cérébrale, uvéites)

2.7. 4. La syphilis congénitale. [27]

Le passage placentaire de *Treponema pallidum* entraîne une atteinte systémique du fœtus, responsable de mort fœtale, ou des manifestations cliniques de la syphilis congénitale. Elle associe des manifestations cutané- muqueuses (lésions bulleuses palmo- plantaires, coryza purulent, érosion buccale) et des manifestations viscérales avec une hépato- splénomégalie, de la fièvre, des lésions osseuses à type d'ostéite, d'arthrite (hanche) et de néphrite.

Il y'a également l'atteinte métaphysaire, la périostite et la nécrose palmo- plantaire chez un enfant de 4 mois d'origine Africaine.

Exemple : triade de Hutchinson (cécité, surdité, dent en bourse ou en tournevis).

Le schéma suivant montre l'évolution de la syphilis dans la forme acquise.

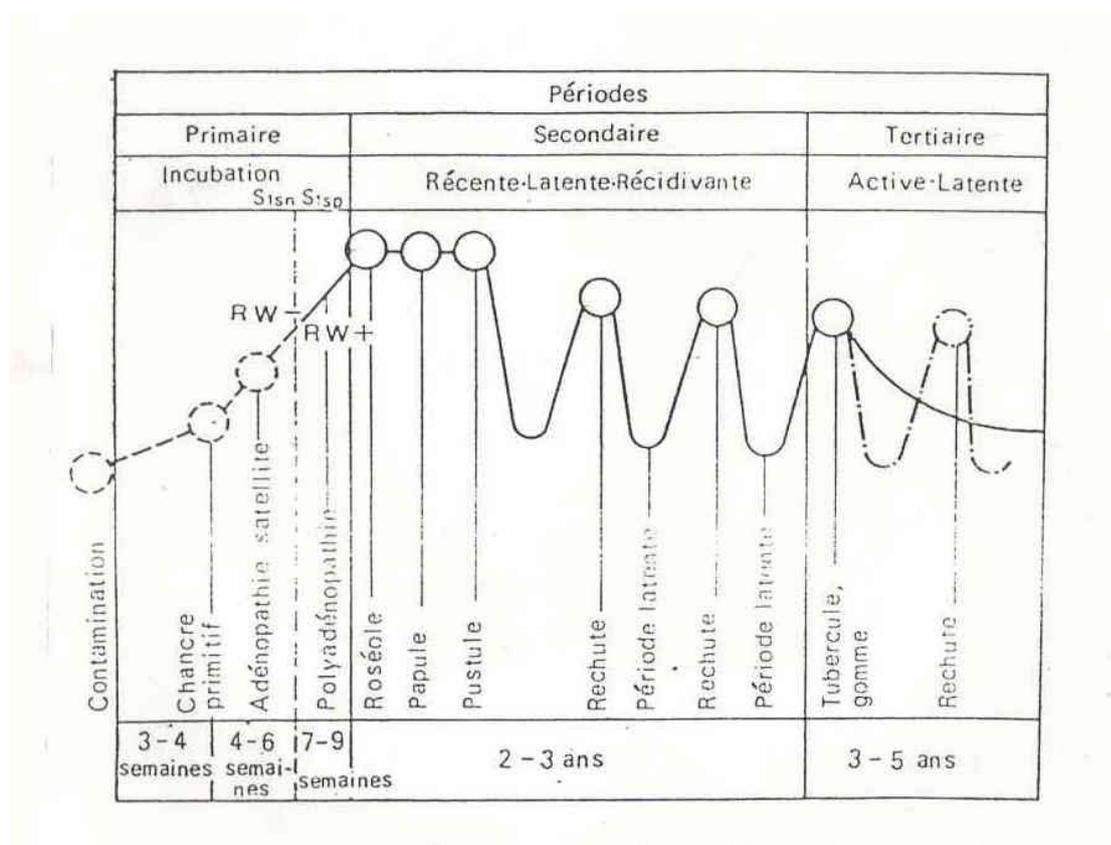


Figure 8 : Schéma d'évolution de syphilis selon le syphiligraphe français PH-RICORD. [29]



Figure 9 : Manifestations cutanéo- muqueuses de la syphilis congénitale (Clichés Pr. GENDREL D. hôpital Saint Vincent de Paul). [27]



Figure 10 : Atteinte métaphysaire, périostite et nécrose palmo- plantaire chez un enfant de 4 mois d'origine africaine (Clichés Pr. D. GENDREL, hôpital Saint Vincent de Paul). [27]

2.7.5. Les tréponématoses non vénériennes : [21, 30]

Elles sont endémiques dans de nombreuses régions du globe notamment dans le tiers- monde. Elles sont dues à trois bactéries du genre *Treponema* :

Treponema pallidum à l'origine du BEJEL ;

Treponema pertenue à l'origine du PIAN ;

Treponema carateum à l'origine du PINTA.

2.7.5.1. Le PIAN

Il est le plus répandu des tréponématoses endémiques et obéit à des conditions climatiques strictes, qui conditionnent sa répartition géographique. Une température de 44 ° C et une pluviométrie de 1500mm par an représentent les conditions idéales de son développement.

2.7.5.2. Le BEJEL

Il sévit dans les régions arides, désertiques, ou semi désertiques, à climat chaud et à degré hygrométrique bas.

Sous de divers noms on le retrouve en lisière de tous les déserts.

Au Mali, le gourma zone d'éleveurs nomades était déjà connue comme foyer de syphilis endémique (BEJEL). L'enquête sérologique (TPHA) de 1978 avait déjà montré 47% de positif avec un maximum chez les touareg noirs (Bellas) (55%) et un minimum de (18%) chez les sonrhais sédentaires. Le maximum a été retrouvé chez les enfants de 5 à 9 ans (85.7%).

En Afrique, il borde le Sahara (Sud de l'Afrique du Nord).

En Afrique du Sud, il borde le désert du Kalahari sous le nom de Dichuchwa, au Zimbabwe et au Botswana (Njowa). Le transval et la région du cap en Afrique du Sud, voient encore quelques foyers récents.

2.7.5.3. Le PINTA ou mal de Pinto

La caractéristique épidémiologique du PINTA coïncide avec celle du PIAN. Il n'est pas exclu que les insectes (moucheron, punaises) jouent un rôle dans la transmission inter- humaine.

La maladie est principalement répandue dans les pays tropicaux d'Amérique Latine.

Elle se rencontre en Afrique, dans certaines Iles méridionales du pacifique, en Indes et aux Philippines.

2.8. Méthodes de diagnostic biologique. [31]

Le diagnostic biologique de la syphilis se fait directement (diagnostic bactériologique) dans le sérum ou dans le LCR (c'est en cas de neuro- syphilis surtout).

2.8.1. Le diagnostic bactériologique

C'est le meilleur moyen de diagnostic, mais il est très limité car il n'est possible que durant les phases primaire et secondaire de la maladie et son exécution est délicate. Le diagnostic bactériologique se fait par :

Un examen à l'état frais ;

Un examen après coloration ;

Une immunofluorescence directe ou indirecte.

2.8.1.1. Prélèvement

Les prélèvements se font soit sur les chancres, soit sur les ganglions ou même les lésions cutané- muqueuses.

NB : Ne pas oublier le ou la partenaire

Le prélèvement doit se faire avant tout traitement antibiotique ou antiseptique locale.

Les modalités du prélèvement sont les suivantes : laver la lésion à l'eau physiologique stérile, gratter la surface érosive pour faire suinter abondamment.

Après prélèvement, stériliser tout le matériel de prélèvement.

2.8.1.2. Examen à l'état frais

Il se fait au microscope à fond noir (ultramicroscope). Il permet d'observer la mobilité, élément indispensable pour différencier le tréponème des autres spirochètes.

2.8.1.3. Examen après coloration

Les tréponèmes sont mis en évidence par le colorant de DIEMSA, par le bleu de victoria, par la coloration de Vago et en fin par l'imprégnation argentique.

2.8.1.4. Immunofluorescence directe ou indirecte

Ce sont des nouvelles techniques qui ont remplacé l'examen sur fond noir.

NB : Il est indispensable de faire un diagnostic différentiel de *Treponema pallidum* avec les autres tréponèmes pathogènes : aucun caractère microscopique (morphologie, mobilité etc.) ne permet de distinguer *Treponema pallidum* des autres tréponèmes pathogènes (*Treponema pertenue*, *Treponema carateum*). La différenciation sera faite sur l'aspect clinique des lésions chez l'homme et les localisations géographiques.

2.8.1.5. Les tréponèmes commensaux

Treponema pallidum présente des spires fines et régulières, extrémités effilées, faible mobilité (virile).

Devant un examen direct négatif : recommencer l'examen 2 à 3 jours après (suspendre tout traitement, demander une sérologie avec un deuxième examen 15 jours plus tard, ne pas instituer un traitement à l'aveugle. Le diagnostic de la syphilis repose uniquement sur l'examen direct puisque le *Treponema pallidum* n'est pas cultivable actuellement).

2.8.1.6. Amplification génique. [26]

La détection d'ADN par PCR (Polymerase by Chain Reaction) est particulièrement importante pour une bactérie comme *Treponema pallidum* qui ne se développe pas in vitro. La détection d'ADN de *Treponema pallidum* dans le PCR de liquide amniotique et les tissus est utile pour le diagnostic de la syphilis congénitale et de neuro-syphilis au cours desquelles l'interprétation de la sérologie peut être difficile. Dans tous les cas il est indispensable d'effectuer un examen sérologique avant de commencer le traitement.

2.8.2. Diagnostic sérologique. [26]

C'est la méthode de référence pour le diagnostic de la syphilis.

Le choix des techniques est fixé par la législation (J.O du 12- 10- 80, J.O du 27- 10- 94). Cette législation impose d'effectuer :

Pour un examen de dépistage

Une réaction qualitative choisie pour chacun des deux groupes ci-dessous

Groupe 1: Kline; VDRL (Veneral Disease Research Laboratory) charbon; RPR test.

Groupe 2 : FTA abs (Fluorescent Treponemal Antibody) ; TPHA (Treponema Pallidum Hemagglutination Assay) ; ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay).

Pour un examen de contrôle ou avant traitement

Une réaction quantitative de chacun des deux groupes

A côté de ces réactions usuelles, le test de Nelson ou test d'immobilisation des tréponèmes (TPI ou TIT) est une réaction hautement spécifique.

Son exécution est délicate ; aussi ce test est réservé à des laboratoires très spécialisés et tend à être abandonné.

2. 8. 2. 1. Historique du sérodiagnostic

C'est en 1906 que WASSERMAN utilisait comme antigène de l'extrait aqueux de tissus riches en tréponèmes (foie de fœtus hérédosyphilitique). Puis LEVADETTE et MARIE constatait peu après que des extraits d'organes sains sans tréponèmes donnaient des résultats identiques, et que de plus des extraits alcooliques d'organes sains en suspension étaient satisfaisant.

Ils mettaient en évidence la nature de l'antigène utilisé, qui était lipidique et hapténique et un véritable antigène complet d'origine microbienne.

Bien que la réaction proposée par WASSERMAN fut vivement critiquée, elle fut après certains perfectionnements, l'une des réactions de la syphilis.

En même temps en 1907 MICHAELIS, découvrit l'agglutination d'antigènes lipidiques, par les sérums syphilitiques alors que les sérums normaux ne

donnaient pas cette agglutination. Ce fut le point de départ, vers 1917 de la réaction de MEINIKÉ en Allemagne, de VERNIS en France, puis de KHAN aux U.S.A en 1926.

Puis la réaction de flocculation en agglutination lipidique telle que de EAGLE, HYNTON, KLINE, du VDRL furent proposées. Enfin vinrent des réactions tréponémiques plus spécifiques, telles que TPHA, TPI, FTA abs, FTA 200.

- Les réactions utilisées dans le sérodiagnostic de la syphilis

On peut les classer en deux groupes : celles utilisant un antigène non spécifique, et celle faisant appelle au tréponème pâle. [14]

2.8. 2. 2. Les antigènes utilisés dans le sérodiagnostic

Historiquement, on a eu à utiliser des extraits aqueux de foie d'enfants mort- nés ou des extraits alcooliques aqueux d'enfants mort- nés non syphilitiques, l'antigène de WASSERMAN (qui est un antigène hétérologue). Actuellement, on utilise deux types d'antigènes :

- les antigènes cardiolipidiques,
- les antigènes tréponémiques qui sont soit poly-osidiques, soit lipidiques ou le tréponème en entier (souche Reiter, souche Nichols).

2.8.2.2.1. Les anticorps

Un organisme infecté par *Treponema pallidum* élabore différents types d'anticorps.

2.8.2.2.2. Les réagines

Ce sont des anticorps anticardiolipidiques, ils sont de nature IgM ou IgG. Ils apparaissent 10 à 20 jours après le chancre.

2.8.2.2.3. Les anticorps antiprotéiques de groupe

C'est l'anticorps qui se combine avec la fraction protéique de souche Reiter

2.8.2.2.4. Les anticorps antitréponèmes (Tréponème pale tué)

Ce sont :

Les anticorps révélés par immunofluorescence (FTA abs) qui sont de type IgM ou IgG. Ce sont les premiers à apparaître après le chancre.

Les anticorps d'hemagglutination (TPHA).

2.8.2.2.5. Les immobilisines (tréponèmes pâles vivants)

Ce sont les seuls anticorps spécifiques d'une tréponématose (mais non de la syphilis seule). Ils appartiennent aux IgM ou aux IgG.

2.8.2.2.6. Autres anticorps non recherchés en pratique courante

On peut citer les anticorps anti- mitochondries, des anticorps provoquant l'Immuno- adhérence.

-Les réactions sérologiques

Nous n'envisageons que les réactions sérologiques les plus couramment pratiquées à l'heure actuelle. Elles peuvent être classées en deux groupes :
Les sérologies lipidiques et les sérologies tréponémiques.

Tableau II : Les différentes réactions utilisées pour le diagnostic sérologique de la syphilis. [19]

Sérologies lipidiques (en mettant en évidence les anticorps anti- lipidiques peu spécifiques)	Sérologies tréponémiques (mettant en évidence les anticorps tréponémiques spécifiques)
BW Kolmer (fixation du complément) Kline, VDRL (normal ou charbon ou latex, RPR, Card test ART.	TEST NELSON- MAYER(TIT), FTA200, FTA abs, TPHA

2.8.3.1. Sérologies lipidiques

La réaction de fixation du complément

a.1. Principe :

Les immunoglobulines (anticorps) IgM et IgG possèdent sur leur fragment Fc un site de fixation du complément. Ce site ne devient fonctionnel que si l'Ig est combinée avec l'antigène : soit changement de conformation de Fc (allostérie) soit la combinaison de l'antigène rapproche des sites fixant le complément (Juxtaposition de deux sites au moins). L'activation des composants du complément est séquentielle et dans un ordre fixe.

Les réactions de fixation du complément sont actuellement abandonnées au profit des épreuves de floculation à la fois plus simples, plus rapides et moins coûteuses.

a.2. Technique de la réaction de fixation du complément (Voir Annexes).

b. Réaction de micro- agglutination (KLINE, VDRL, RPR, ART)

C'est en 1941 que MARY PANGBORN prépare un haptène lipidique très pur qu'elle dénomma cardiolipide, et additionné de lécithine et de cholestérol permit d'obtenir les anticorps plus reproductibles, de sensibilité accrue ; quoi que de spécificité identique. Ce sont ces antigènes qui sont maintenant utilisés dans les réactions de micro- agglutination (appelées autre fois réactions de floculation) telles que KLINE, VDRL, RPR, ART. Le choix peut se faire donc parmi ces diverses réactions toutes basées sur le même principe et qui ne diffèrent que par quelques modalités de préparation de la suspension antigénique.

b.1. La réaction de KLINE

C'est une excellente réaction faite en 4 minutes et la lecture facile au microscope. La suspension antigénique est faite en deux temps : d'abord une suspension colloïdale dans l'eau formant des micelles de base inerte et ensuite addition du mélange antigénique cardiolipide lécithine qui vient enrober ces

micelles de cholestérol en leur donnant leur pouvoir d'agglutiner l'anticorps (Réagine).

b.2. La réaction du VDRL ("Venereal Disease Research Laboratory")

Les conditions d'exécution sont identiques à celle de KLINE mais s'en différencient par la préparation de la suspension antigénique. Ici le cholestérol, la lécithine et la cardiolipide sont dans une même solution alcoolique et les trois lipides organiques sont introduits dans un tampon physiologique pour donner une suspension colloïdale. Si cette préparation présente un avantage de faciliter, il en résulte cependant une bonne reproductibilité dans la suspension obtenue.

b.3. Le RPR (Rapid Plasma Reagin Test)

Il ne s'agit en fait qu'antigène de VDRL additionne de chlorhydrate de choline et de méthionine de sodium. Son exécution demande moins de techniques.

b.4. L'ART (Automatic Reagin Test)

PORTNEY et GARSON constatèrent en 1960 que la perte de stabilité du RPR était due à un processus d'oxydation catalysé par des cations, ce problème fut résolu par addition d'agent chélateur. (L'acide éthylène diamine tétra- acétique). La firme technicon construisit un auto- analyseur pouvant fonctionner avec un antigène et la réaction obtenue fut dénommée ART.

Actuellement, c'est la technique de micro- agglutination sur lame avec l'antigène stabilisé et additionné de charbon ou de latex qui est la méthode la plus simple, reproductible, la plus rapide et par conséquent la plus utilisée. Nous donnons une description détaillée de la méthode.

c. VDRL charbon ou VDRL LATEX

c.1. Antigène

Il s'agit d'un antigène VDRL préparé dans les conditions normales. Dès la préparation terminée, cet antigène est centrifugé à 5000 tours par minute pendant 15 minutes ; le liquide surnageant est décanté, jeté et le culot est repris par une solution de chlorhydrate de choline et l'EDTA, du tampon phosphate de pH 6.9 et de méthionine de sodium, de l'eau distillée et du charbon.

L'antigène est alors mis en ampoule scellée et conservée au frigidaire à + 4° C. Sa stabilité est excellente pendant plus de 10 mois.

c.2. Principe du VDRL LATEX

Le VDRL LATEX Pasteur est un antigène cardiolipidique associé à un latex stable et prêt à l'emploi, permettant la réalisation rapide d'une micro-agglutination sur lame à partir de sérum frais ou de complément pour le dépistage (réaction qualitative) diagnostic (réaction quantitative).

Le VDRL LATEX pasteur est conservé à basse température entre 2 et 8 ° C jusqu'à la date de péremption indiquée sur le conditionnement. La réaction peut être faite quantitativement. Pour cela il suffit de diluer le sérum ou le plasma en dilution géométrique de raison 2 avec de l'eau physiologique et de faire la réaction normalement sur chaque dilution. Le titre du sérum est exprimé en prenant l'inverse de la dilution la plus grande qui donne une réaction positive à une croix. C'est une réaction sensible mais qui donne des faux positifs ou faux négatifs comme avec toutes les réactions lipidiques.

On ne saurait terminer cette vue d'ensemble de la sérologie lipidique sans évoquer la présence des réactions faussement positives et faussement négatives dans ce domaine. En effet on connaît depuis longtemps l'existence des réactions positives qui interviennent avec des antigènes de nature lipidique, les plus couramment cités sont les dysproteinémies, la cirrhose, la mononucléose infectieuse, l'hépatite virale, le lupus érythémateux disséminé, les sclérodermies, certaines parasitoses, la lèpre et certains états physiologiques comme la grossesse (qui donne de fausse positivité transitoire).

La véracité de ces réactions doit être prouvée par la négativité de l'un des trois tests tréponémiques réalisable à ce jour (TPI. FTA abs; TPHA ceux-ci étant bien entendu répétés deux fois à un (1) mois d'intervalle, le patient n'ayant reçu aucun traitement entre les deux examens.

Les fausses réactions négatives de la sérologie lipidique existent également; et se rencontrent dans les syphilis latentes insuffisamment traitées ou pas traitées

du tout ; la confirmation sera faite par les tests tréponémiques : bien que la sérologie lipidique présente ce défaut de spécificité il ne faut pas cependant la négliger car la découverte d'une réaction faussement positive peut quelque fois mettre en garde et conduire à un diagnostic d'une autre infection pouvant être même plus grave que la syphilis.

2.8.3.2. Les sérologies tréponémiques

a. Réaction d'immunofluorescence (FTA abs)

a.1. Principe

Cette technique a été découverte en 1942 par COONS A H, qui a démontré les propriétés immunologiques d'un anticorps contenant un groupement fluorescent. La méthode de COONS découle de la propriété de marquer ainsi les globulines anticorps par des fluoro- chromes qui après s'être fixer sur l'antigène, formait avec lui un exemple repérable par la fluorescence élective qu'il émet sous l'influence d'un rayonnement excitateur. L'antigène est le tréponème pâle.

a.2. Technique de la réaction d'immunofluorescence (FTA abs) (Voir Annexes).

b. Le test de Nelson Mayer (TPI ou T I T)

C'est le test le plus spécifique. Il a été mis au point par Nelson et Mayer en 1949.

b.1. Principe

Les tréponèmes pâles (souches Nichols) vivants et virulents conservés en milieu de Nelson, sont immobilisés par action de l'anticorps (immobilisine) et du complément à partir de la 6^{ème} heure de contact.

b.2. Technique du test de Nelson Mayer (TPI ou T I T) (Voir Annexes).

c. Test d'hémagglutination passive des tréponèmes TPHA (*Treponema pallidum* Hemagglutination Assay)

c.1. Principe.

L'antigène constitué d'un extrait de tréponèmes pâles, est préalablement absorbé par des hématies de mouton (forme lyophilisée).

La présence de sérum contenant les antigènes correspondants entraîne l'agglutination des hématies. Dans le cas contraire les hématies sédimentent en anneaux.

c.2. Reconstitution des réactifs du Test d'hémagglutination passive des tréponèmes TPHA (*Treponema pallidum* Hemagglutination Assay) (Voir Annexes).

2.8.3. Courbe d'évolution des anticorps au cours de la syphilis

28.3.1. La syphilis primaire

La figure 11 montre la cinétique des anticorps décelés par sérologie d'une part (agglutination), mettant en évidence des réagines ou anticorps anti- lipidiques non spécifiques et d'autre part pour les anticorps réagissant avec TIT et le TPHA.

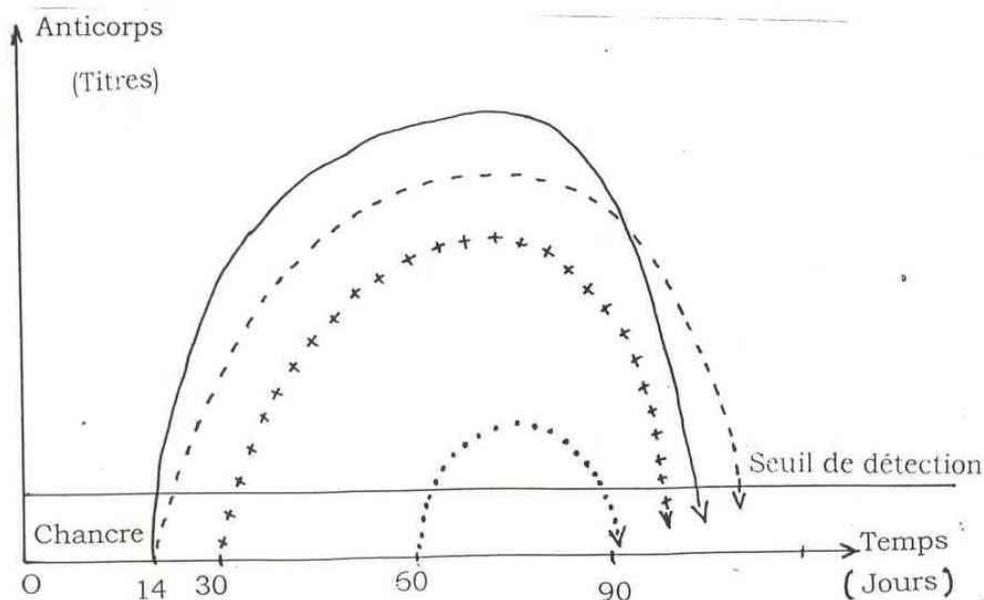


Figure 11 : Courbe d'évolution des anticorps dans la syphilis primaire correctement traitée [32]

Légende : _____ FTA
 - - - - - TPHA
 + + + + + Réagines
 - - - - - Test de Nelson

Cette figure montre que les premières réactions qui deviennent positives sont :
 L'immunofluorescence ou FTA abs (5 à 8 jours environ après l'apparition de la lésion).

L'hémagglutination passive tréponémique (TPHA) 10 à 12 jours après l'apparition du chancre.

La sérologie lipidique KLINE, VDRL, RPR (20 jours environ après l'apparition du chancre).

Le test de Nelson Mayer (TIT) est à ce stade toujours négatif, sauf exceptionnellement en cas de ré- infection, 2^{ème} ou 3^{ème} syphilis en fin de période primaire la courbe montre que dès le traitement institué, on observera

une régression de la lésion (qui guérit après 3 à 4 jours), une disparition plus ou moins rapide des anticorps.

Les premiers à disparaître étant les réagines, les derniers étant les anticorps tréponémiques décelés par le FTA abs et surtout le TPHA. En principe si le traitement a été institué rapidement, le TIT restera toujours négatif ou accusera tout au plus un léger crochet de positivité.

2.8.3.2. Au cours de la syphilis secondaire

C'est au cours de la phase secondaire que les sérologies lipidique et tréponémique sont le plus fortement positives.

Avant le début du traitement, il est conseillé de demander des examens quantitatifs pour évaluer de manière précise le taux d'anticorps sériques. Au cours du traitement, le médecin pourra mieux suivre l'évolution de ces anticorps avec une (1) ou deux (2) réactions qualitatives (VDRL et TPHA par exemple) car cette sérologie restera positive très longtemps et même dans 30% des cas environ ne se négativeront pas peut être jamais totalement. Les tests tréponémiques sont les plus tenaces et les plus irréductibles.

Toute fois l'ensemble des réactions démunie de positivité, reste en plateau et on peut quelques fois observer des oscillations du TPI.

2.8.3.3. Au cours de la syphilis latente sérologique et la syphilis viscérale tardive

Les accidents primo- secondaires peuvent passer inaperçus. La maladie est alors le plus souvent détectée par un examen sérologique systémique (prénatal, prénuptial, médecine du travail, immigration) ; mais la spécificité de l'examen systémique, le plus souvent réalisé avec des réactions qualitatives, doit être confirmée par des tests quantitatifs et éventuellement un test de Nelson. Un traitement s'impose mais souvent sans espoir de négativation de la sérologie dans son ensemble.

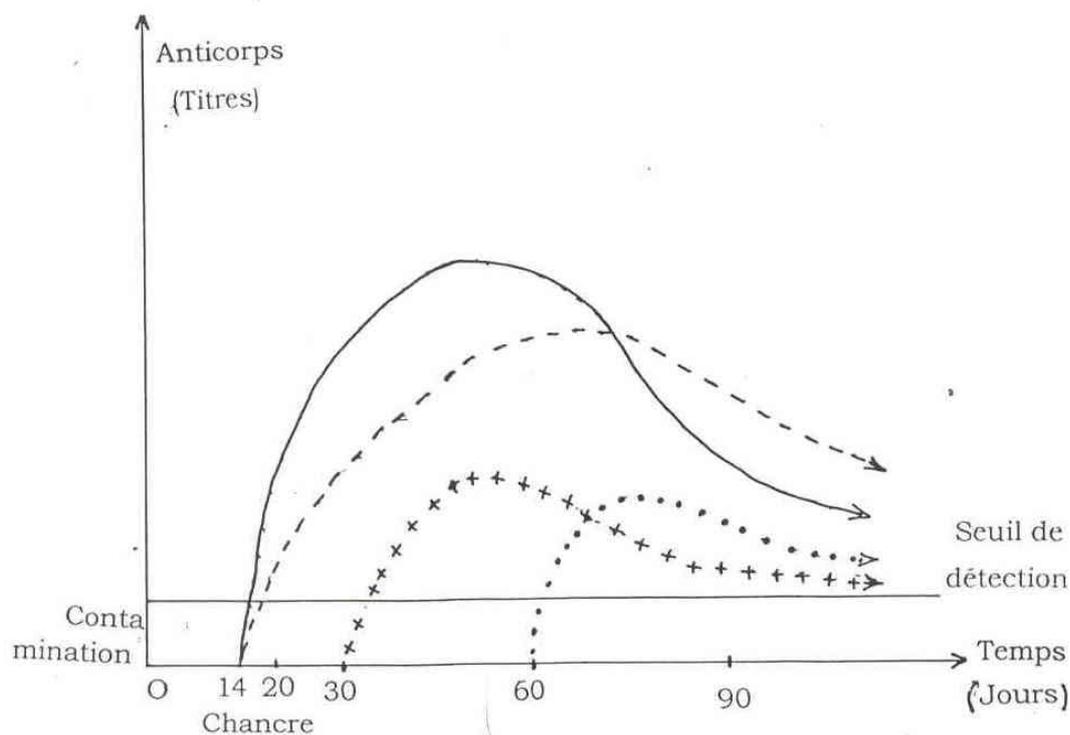


Figure 12 : Evolution des anticorps au cours d'une syphilis ancienne peu ou pas traitée. [5]

Légende : _____ FTA
 ----- TPHA
 + + + + + Réagines
 ----- Test de Nelson

2.8.3.4. Au cours de la syphilis congénitale. [33, 34, 4, 35]

Il s'agit habituellement de nouveau-nés contaminés par une mère qui, soit, à contracter la syphilis au cours de sa grossesse après le dépistage systématique, soit à échappée aux examens prénataux, soit encore d'une femme allergique à la pénicilline et dont la syphilis a été insuffisamment traitée par un macrolide. *Treponema pallidum* est infectant pour le fœtus à partir du 4^e mois après un cas de syphilis maternelle. Avant cette période *Treponema pallidum* ne franchit pas la paroi placentaire ; la mère et l'enfant doivent être traités.

On constate que l'examen prénatal obligatoire avant le 4^{ème} moi de la grossesse est insuffisante, car du 6^{ème} au 9^{ème} mois la gestante n'est soumise à aucun contrôle et peut parfaitement être contaminée au cours de cette période où la barrière placentaire est perméable aux tréponèmes.

Il serait souhaitable de faire une sérologie au 6^{ème} mois et à la naissance pour éliminer les syphilis récemment acquises et qui sont les plus dangereuses pour le fœtus.

A chaque fois qu'une gestante présente une sérologie positive, il faut contrôler au sang du cordon la nature des Ig pour différencier les IgG des IgM.

La présence d'IgM décelable par immunofluorescence spécifique est la preuve formelle d'une atteinte congénitale car ces anticorps ne passent pas la barrière placentaire. Ce sont donc des anticorps élaborés par l'enfant. Par contre les anticorps de type IgG sont souvent des anticorps maternels transmis passivement, car traversent le placenta. Ils s'élimineront spontanément sans aucun traitement dans les semaines ou les mois qui suivront la naissance.

Il importe donc d'interpréter avec prudence les sérologies trouvées positives à la naissance et bien exiger la recherche des IgM par immunofluorescence.

Il existe deux éventualités :

- La mère a une sérologie positive au moment de la naissance : si elle a été traitée pendant ou avant la grossesse, l'enfant héritera des anticorps maternels de types IgG. La surveillance quantitative régulière de la sérologie chez l'enfant montrera un abaissement progressif et une négativation spontanée sans aucun traitement (figure 9). On ne trouvera jamais d'IgM. Il ne s'agit donc pas de syphilis congénitale. L'enfant n'est pas atteint et tout traitement est inutile.

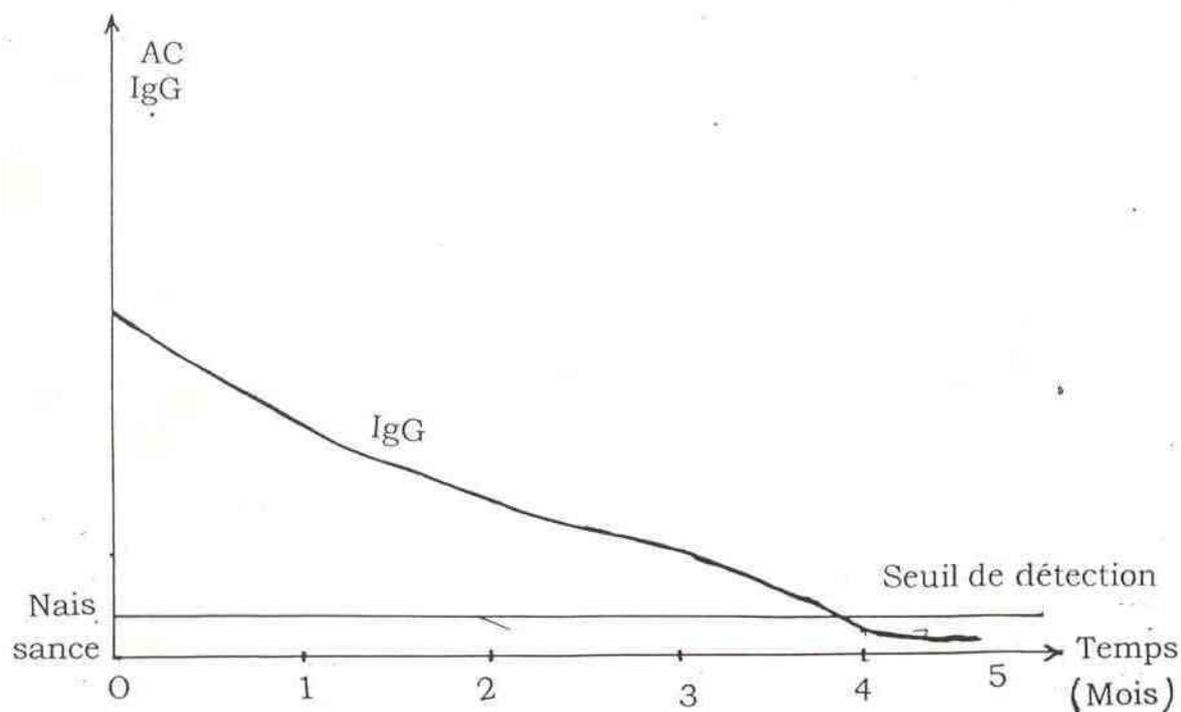


Figure 13 : Evolution des anticorps transmis passivement par la mère au nouveau-né. [32]

- La mère a une sérologie positive au moment de la naissance. Elle n'a pas été traitée pendant la grossesse, l'enfant héritera des anticorps de la mère de type IgG ; mais si l'on trouve en immunofluorescence des anticorps de type IgM, il s'agit des propres anticorps élaborés par le nouveau-né, en absence de tout traitement. On verra les IgM augmenter puis disparaître progressivement et définitivement alors que les IgG diminueront tout d'abord puis remonte pour atteindre un plateau (figure 10). On peut être sûr dans ce cas, grâce à la mise en évidence des IgM qu'il s'agit d'une syphilis congénitale d'où l'importance de l'examen sérologique à la naissance, suivi quantitativement et régulièrement toutes les deux semaines.

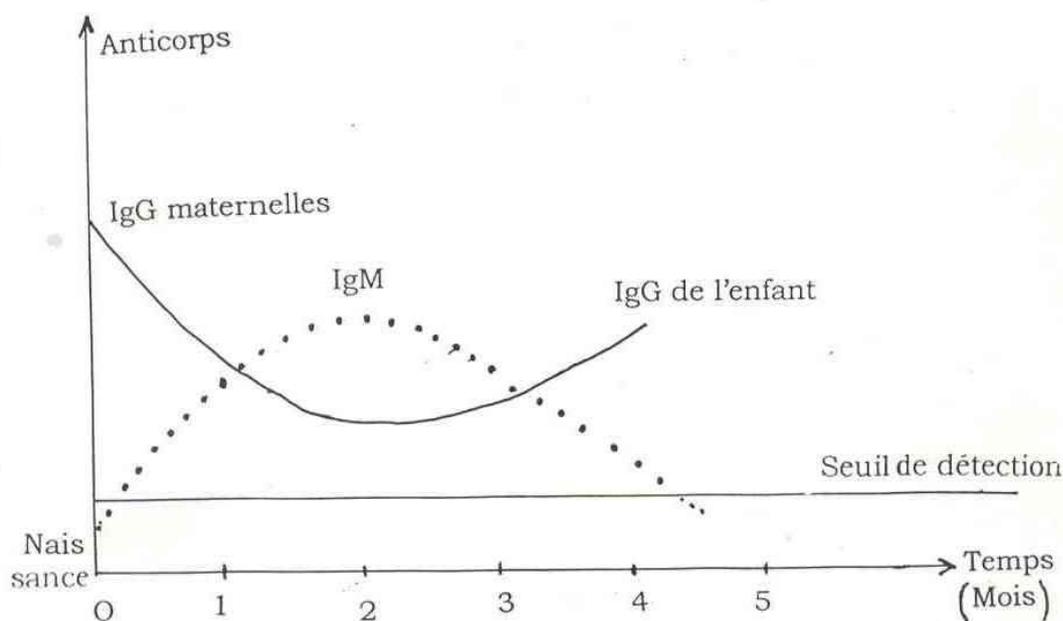


Figure 14 : Evolution des IgM et IgG au cours de la syphilis congénitale. [32]

2.8.4. Cas particuliers. [26]

2.8.4.1. Fausses réactions positives ou négatives

Elles peuvent s'observer avec les réactions du groupe 1, qui détectent les réagines et manquent de spécificité. Les réactions utilisant les antigènes tréponémiques (TPHA, FTA abs, Nelson) permettent de préciser le diagnostic. Il peut être utile de préciser ces examens après un (1) mois d'intervalle.

2.8.4.2. Sérologie des tréponématoses endémiques

La sérologie ne permet pas de distinguer entre elles les différentes tréponématoses.

Une sérologie positive est souvent en relation avec une tréponématose autochtone ancienne, qui ne présente aucune menace de complication ou de contamination. Dans ces conditions l'abstention thérapeutique se justifie, mais une surveillance sérologique et clinique régulière s'impose, une syphilis vénérienne récente est possible.

2.8.4.3. Syphilis congénitale

Les IgM ne franchissent pas la barrière placentaire, leur présence dans le sang du cordon est le témoin d'une syphilis congénitale.

Au contraire des IgG peuvent être des anticorps maternels transmis passivement. S'il n'y a pas de syphilis congénitale, ils disparaissent spontanément en quelques mois.

2.8.4.4. Recherche d'IgM spécifique antitreponémique

C'est le meilleur signe d'évolutivité de l'infection. Elle permet d'en situer l'ancienneté, surtout en l'absence des signes cliniques.

2.8.4.5. Syphilis et infection à VIH

Les titres du VDRL peuvent être élevés chez les patients VIH positif (stimule poly-clonale) que chez les patients VIH négatif et TPHA peut se négativer à mesure que l'infection progresse vers le Sida.

2.8.5. Diagnostic sérologique de la syphilis et pratique courante actuelle

Selon la législation Française. [9]

Le diagnostic sérologique de la syphilis se fait par au moins une réaction qualitative de chacune des deux sérologies lipidique et tréponémique et cela que se soit en vue d'examen systémique ou d'examen de contrôle.

Quand et quelles réactions syphilitiques demandées ?

1. Dans la pratique courante, la demande de VDRL ou RPR et TPHA suffit [9].

Il faut néanmoins savoir que ces réactions VDRL ou RPR et TPHA ne se positivent au plutôt qu'un (1) mois après le contage, et 2 semaines après l'apparition du chancre et le reste pendant la syphilis secundo- tertiaire.

2. Pour un diagnostic précoce, la demande de FTA abs (fluorescence Treponema anti- body) avec recherche d'IgM, permet de gagner 15 jours.

3. Au contraire en cas de syphilis tertiaire, la suspicion fera demander un TIT en plus car, il est très fortement positif dans ce cas alors que les autres tests peuvent être faiblement positifs, voire négatifs.

4. Chez un nouveau né, la suspicion de syphilis par les réactions standards, doit faire pratiquer en plus un FTA abs avec recherche d'IgM. La négativité de ce test ne retardera pas la mise en route d'une pénicillothérapie qui nécessite une surveillance sérologique mensuelle destinée à rechercher la persistance (affirmant l'infection congénitale) ou non des anticorps.

La surveillance d'une syphilis traitée se fera le plus souvent simplement à l'aide du RPR ou VDRL et du TPHA effectués les 3^{ème} et 6^{ème} mois après le début du traitement puis de façon annuelle. Une éventuelle ré- ascension du RPR ou du VDRL signerait une ré- infection.

3. METHODOLOGIE

3.1. CADRE D'ETUDE

Notre étude a été réalisée dans le laboratoire de l'Hôpital Gabriel TOURE situé dans le centre commercial de Bamako. En 1959, l'ancien Dispensaire Central de Bamako a été érigé en hôpital. Il sera baptisé «Hôpital Gabriel TOURE» en hommage au sacrifice d'un jeune Soudanais stagiaire en médecine mort lors d'une épidémie de peste, maladie qu'il contracta au cours de son stage en 1934. L'Hôpital Gabriel TOURE a été érigé en Etablissement Public à caractère Administratif (EPA) en 1992, doté de la personnalité morale et de l'autonomie de gestion. L'Hôpital Gabriel TOURE est l'un des onze (11) Etablissements Publics à caractère Hospitalier (EPH) institués par la loi n° 94- 009 du 22 mars 1994 modifiée par la loi n°02- 048 du 12 juillet 2002 portant création du Centre Hospitalier Universitaire (CHU). Le laboratoire comprend une salle d'hématologie, une salle de biochimie, une salle pour les prélèvements et la parasitologie, une salle de stérilisation équipée d'autoclaves et de fours, une salle de garde, un bureau du chef de service.

Le personnel comprend :

- 1 (un) pharmacien biologiste ;
- des pharmaciens ;
- des faisant fonction d'internes ;
- des techniciens supérieurs.
- des techniciens de laboratoire, repartis entre les différentes sections de biologie; dont deux de la section de bactériologie ont bénéficié d'un stage de formation à Baltimore (USA)
- 1 (Un) personnel de surface.

Les activités de bactériologie dans le cadre de la recherche sont supervisées par un Professeur de bactériologie- virologie responsable de L'Institut Nationale de Recherche en Santé Publique (INRSP).

3.2. TYPE ET DUREE DE L'ETUDE

Il s'agit d'une étude rétrospective sur le diagnostic sérologique de la syphilis chez les patients après consultation médicale durant deux ans (janvier 2007 à décembre 2008).

3.3. POPULATION ETUDIEE

Notre étude porte sur deux groupes de population

- Le premier groupe est constitué par les femmes enceintes,
- Le deuxième groupe est constitué par toutes personnes consultant pour des motifs divers (population générale : hommes et femmes non enceintes).

3.3.1. Critères d'inclusion

Sont inclus dans notre étude toute personne venant au laboratoire avec une demande de sérologie tréponématose, en interne (hospitalisés) ou en externe du CHU Gabriel TOURE.

3.3.2. Critères de non inclusion

N'est pas inclus dans notre étude toute personne n'ayant pas une demande de sérologie tréponématose.

3.4. ECHANTILLONNAGE

3.4.1. Méthodes et techniques d'échantillonnage

L'échantillonnage utilisé dans cette étude était exhaustif. Il concernait l'ensemble des personnes venant au laboratoire pour une demande sérologie tréponématose.

3.4.2. Taille de l'échantillon

Durant la période d'étude allant de janvier 2008 à décembre 2008, l'effectif des personnes dépistées au laboratoire a été de 816 patients qui ont constitué notre échantillon.

3.4.3. Variables étudiées

Les variables sélectionnées pour atteindre les objectifs fixés ont été les suivantes : sexe, âge, âge de la grossesse, état physiologique, service demandeur, profession, ethnie, la positivité du VDRL et le nombre de variable que les patients possèdent.

3.5. Aspects éthiques

3.5.1. Confidentialité

Les noms des patients ne figurant pas dans l'étude, l'anonymat a été respecté.

3.5.2. Respect des références bibliographiques

Les textes des références bibliographiques n'ont pas fait l'objet de modification. La propriété intellectuelle des auteurs de nos références bibliographiques a été respectée.

3.5.3. Les risques liés à l'étude : douleur et risque d'infection au point de piqûre.

3.5.4. Conditions de sécurité au laboratoire

- Port de gant et blouse.
- Lavage des mains après élimination des gants.
- L'eau de javel pour les effluents (sérum- lavage).
- Pas de contact des substrats avec la peau.
- Nettoyage des paillasses à l'eau de javel puis à l'alcool à 70°.
- Utilisation de 2 sortes de poubelles.
 - Une (1) pour cartons d'emballage et de papiers ;
 - Une (1) pour déchets contaminés pour incinération.
- Elimination des pipettes après une nuit en eau de javel (containers spéciaux).
- Lavage des mains avant de quitter le laboratoire.
- Toute plaie doit être protégée (pansement).
- En cas de blessure avec du sang :
 - Nettoyage à l'eau de javel et au savon ;
 - Rinçage ;

Désinfection à l'alcool à 70° pendant 3 minutes ou à l'eau de javel diluée au 1/10.

- En cas de projection dans les yeux (laver abondamment à l'eau ou au sérum physiologique).

3.6. Méthodes de diagnostic

Nous avons utilisé le réactif du VDRL LATEX.

3.6.1. Principe

VDRL LATEX, antigène cardiolipidique associé à un latex, permet d'observer rapidement une micro-agglutination sur lame en présence de sérum positif. Il peut être utilisé au dépistage (réaction qualitative) ou au diagnostic (réaction quantitative) de la syphilis. La limite de sensibilité est de 1UI/ml.

3.6.2. Présentation- conservation- validité

- **Présentation** : 2 flacons compte-gouttes de 3 ml
- **Conservation** : à + 2- +8° C.
- **Validité** : En l'absence de contamination jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret (y compris après ouverture).

3.6.3. Précaution d'utilisation

La qualité des résultats est dépendante du respect des bonnes pratiques de laboratoire suivantes :

- Avant utilisation, laisser tous les réactifs atteindre la température ambiante (+18- +30° C).
- Agiter le flacon de VDRL LATEX avant utilisation.
- Ne pas utiliser de réactif après la date d'expiration.
- Utiliser une verrerie parfaitement lavée et rincée à l'eau distillée ou de préférence du matériel à usage unique.
- Utiliser un cône de distribution neuf pour chaque échantillon.

Consignes d'hygiène et de sécurité

- Porter des gants à usage unique lors de la manipulation des réactifs.
- Ne pas pipeter à la bouche.

- Considérer le matériel directement en contact avec les échantillons comme des produits contaminés.
- Eviter les éclaboussures d'échantillons ou de solutions les contenant.

3.6.4. Echantillons

a. Les tests sont effectués sur des échantillons de sérum prélevés sur tube sec uniquement.

b. Respecter les consignes suivantes pour le prélèvement, le traitement et la conservation de ses échantillons :

- Prélever un échantillon de sang selon les pratiques en usage.
- Laisser le caillot se former complètement avant centrifugation.
- Conserver les tubes fermés.
- Après centrifugation, extraire le sérum et le conserver en tube fermé.
- Les échantillons seront conservés à +2 à +8° C si le test est effectué dans les 24 heures.
- Si le test n'est pas effectué dans les 24 heures, ou pour tout envoi, les échantillons seront de préférence congelés à -20° C (ou plus froid).
- Il est recommandé de ne congeler décongeler les échantillons qu'une fois. Les échantillons devront être soigneusement homogénéisés (vortex) après décongélation avant le test.

c. Les interférences liées à une surcharge en albumine, lipide, hémoglobine et bilirubine n'ont pas été testées.

d. Ne pas chauffer les échantillons.

3.6.5. Mode opératoire

A) Matériels nécessaires

- Une centrifugeuse sérologique,
- Un agitateur à carte,
- Un microscope (facultatif),
- Des tubes secs,
- Un agitateur de Kline,

- Une plaque de Kline,
- Micropipette (pour distribuer 30µl),
- Eau physiologique
- Sérum du malade.

B) Procédure

1. Réaction qualitative

- Tableau de la réaction qualitative sur une plaque de Kline.

Déposer :

	Puits n°1	Puits n°2	Puits n°3
	Témoin Antigène	Contrôle positif	Sérums
Eau physiologique	30µl		
Sérum positif titré		30µl	
Sérum			30µl
VDRL -latex	1 goutte (12.5µl)	1 goutte (12.5µl)	1 goutte (12.5µl)

- Agiter 6 minutes sur agitateur de Kline.
- Lire immédiatement à l'œil nu et (ou) au microscope et noter le résultat qualitatif en de +
- Réaction positif : particules de latex en amas, selon l'intensité de l'agglutination, noter : 1+, 2+, 3, 4+.
- Réaction négatif : particules de latex réparties uniformément.

2. Réaction quantitative

1. Préparer les séries de dilutions de raison 2 les sérums des patients et du sérum de contrôle positif titre en eau physiologique (exemple de 1/2 à 1/128).
2. Effectuer la réaction qualitative pour chacune des dilutions.
3. Lire et noter la dilution la plus élevée donnant encore une réaction positive (1+) pour le sérum positif titré et pour les sérums de patients.

Pour le sérum positif titré, cette dilution ne doit pas s'écarter de plus d'une dilution de celle indiquée sur l'étiquette du flacon ou sur la fiche technique.

C) résultats

Les résultats du test de dépistage sont exprimés qualitativement : négatifs (-) ; douteux (\pm) ; positifs (de 1+ à 4+).

3.7. Analyse des données : Les données ont été saisies sur Word 2003 et analysées sur Excel.

4. RESULTATS

Répartition de l'ensemble des patients selon les différentes variables :

L'âge, le sexe, l'âge de la grossesse, l'état physiologique des femmes, le service, la profession, l'ethnie, positivité du VDRL LATEX et le nombre de variable que possède chaque patient.

Tableau V : Répartition de l'ensemble des patients selon l'âge

Age des patients	Effectif	%
Adultes	678	83,09
Enfants	138	16,91
Total	816	100

Les adultes sont les plus nombreux avec 83,09%.

Tableau IV : Répartition de l'ensemble des patients selon le sexe

Sexe des patients	Effectif	%
Féminin	482	59,06
Masculin	334	40,93
Total	816	100

Le sexe ratio est en faveur du sexe féminin soit 1,44.

Tableau VI : Répartition des femmes enceintes selon l'âge de la grossesse

Femmes enceintes	Effectif	%
1 ^{er} trimestre	03	15
2^{ème} trimestre	13	65
3 ^{ème} trimestre	04	20
Total	20	100

Les femmes qui se présentent à leur 2^{ème} trimestre de grossesse constituent plus de la moitié avec 65%.

Tableau VII : Répartition des femmes selon leur état physiologique

Femmes testées	Femmes enceintes		Femmes non enceintes		Total	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
Moins de 18 ans	00	00	71	14,73	71	14,73
18 à 45 ans	20	4,15	362	75,10	382	79,25
Plus de 45 ans	00	00	29	6,02	29	6,02
Total					482	100

Les femmes de 18 à 45 ans constituent plus de la moitié avec 79,25% des femmes enceintes.

Tableau VIII : Répartition de l'ensemble des patients selon la positivité du VDRL LATEX

Patients testés	Masculins		Féminins		Total	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
Négatifs	334	40,93	477	58,46	811	99,39
Positifs	00	00	05	0.61	05	0,61
Total					816	100

Le taux de positivité dans l'échantillon est faible avec 0,61%.

Tableau IX : Répartition de l'ensemble des patients selon le service demandeur

Services	Masculins		Féminins		Total	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
Gynéco- Obstétrique	182	22,30	232	28,43	414	50,73
Urologie	03	0,37	01	0,13	04	0,50
Pédiatrie	02	0,25	04	0,49	06	0,74
Médecine générale	33	4,04	49	6,00	82	10,04
Gastro- entero- hépatologie	00	00	05	061	05	0,61
Autres	64	7,84	241	29,53	305	37,38
Total					816	100

La gynéco- obstétrique est la plus représenté 50,73% et autres avec (Oto-Rhino-Laryngologie, chirurgie générale, cardiologie, service des urgences, services externes et services non précisés) avec 37,38%.

Tableau X : Répartition de l'ensemble des patients selon l'ethnie

Ethnies	Masculins		Féminins		Total	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
Bambara	23	2,82	46	5,63	69	8,46
Dogon	03	0,37	05	0,61	08	0,99
Sarakolé	05	0,61	12	1,47	17	2,08
Peulh	09	1,10	34	4,17	43	5,27
Sonrhäï	02	0,24	13	1,59	15	1,83
Autres	255	31,25	409	50,10	664	81,37
Total					816	100

Les Bambara sont les plus représentés avec 8,46 et autres regroupant Sénoufo, Bozo, Gana, Malinké et ceux dont l'ethnie n'est pas précisée constituent 81,37%.

Tableau XI : Répartition de l'ensemble des patients selon la profession

Professions	Masculins		Féminins		Total	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
Ménagères	00	00	138	16,91	138	16,91
Fonctionnaires	09	1,10	17	2,08	26	3,18
Elèves	23	2,82	20	2,45	43	5,27
Etudiants	10	1,23	15	1,84	25	3,07
Autres	407	49,88	177	21,69	584	71,57
Total					816	100

Les femmes de ménage sont fortement représentées avec 16,91% et autres (Professions non précisées, artisans, commerçants) avec 71,57%.

5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Nous avons mené une enquête rétrospective sur le sérodiagnostic de la syphilis vénérienne au laboratoire du CHU Gabriel TOURE

- Nous avons utilisé la technique de dépistage : le VDRL LATEX.

Le TPHA (Voir Annexes) était réservé aux échantillons se révélant positifs avec le VDRL LATEX.

5.1. La méthodologie suivie

Elle a nécessité une maîtrise de la méthode de diagnostic.

Notre échantillon a été sélectionné selon une méthode aléatoire. Il a concerné une population venant au laboratoire avec une demande de sérologie tréponématose.

5.2. Analyse des résultats

5.2.1. Répartition de l'ensemble des patients selon le sexe

Parmi les patients qui ont effectué le sérodiagnostic de la syphilis dans notre laboratoire, le sexe féminin prédomine avec un taux de 59,06% contre 40,93% de sexe masculin. Cette prédominance du sexe féminin de l'ensemble de nos patients est également décrite par SANGARE S [39], qui dans une étude portant sur l'évaluation de la séroprévalence de la syphilis au centre urbain de Mopti à propos de 1067 cas trouve que 81,30% de ses patients était de sexe féminin, 18,07% de sexe masculin.

5.2.2. Répartition de l'ensemble des patients selon l'âge

Au terme de notre étude sur la syphilis au laboratoire du CHU Gabriel TOURE, on trouve que les adultes sont fortement représentés avec un taux de 83,09%, contre un taux de 16,91% pour les enfants. Ce résultat se rapproche de celui de SANGARE S [39], qui trouve que 53,5% figurait entre 21 à 30 ans. Le sexe féminin était majoritairement représenté.

5.2.3. Répartition des femmes enceintes selon l'âge de la grossesse

Les données de l'étude ont montré que 65% des femmes enceintes se sont présenté au laboratoire avec leur demande de sérologie syphilitique au cours du 2^{ème} trimestre de la grossesse, 20% au cours du 3^{ème} trimestre et 15% au cours du 1^{er} trimestre. Il est donc important de rappeler que les sérologies syphilitiques doivent être effectuées au 6^{ème} mois (2^{ème} trimestre) et à la naissance (3^{ème} trimestre) pour éliminer les syphilis récemment acquises et qui sont les plus dangereuses pour le fœtus.

5.2.4. Répartition des femmes selon leur état physiologique

Le tableau VII montre que les femmes enceintes représentent seulement 4,15% et elles se retrouvent toutes dans la tranches d'âge de 18 à 45 ans qui constitut plus de la moitié des femmes de notre échantillon avec 79,25%. Les femmes qui n'attendent pas d'enfant sont fortement représentées avec 75,10% de l'ensemble des patients.

5.2.5. Répartition de l'ensemble des patients selon le service demandeur

Le tableau IX nous montre que le service de la gynéco- obstétrique représente lui seul 50,73% suivi des autres services avec 37,34% et la médecine générale avec 10,04%. Les demandes de sérodiagnostic de la syphilis ne portant pas de service représentent 15,93% des demandes et sont classées dans autres services comprenant (Oto-rhino-laryngologie, chirurgie générale, cardiologie, service des urgences, services externes et services non précisés).

5.2.6. Répartition de l'ensemble des patients selon la profession

Selon la profession, nous constatons que les femmes de ménage avec 16,91% des patients sont plus représentées que les autres groupes professionnels (Tableau XI ; page 67). SANGARE S [39] décrit également cette prédominance des femmes au foyer dans l'étude intitulée l'évaluation de la séroprévalence de la syphilis au centre urbain de Mopti à propos de 1067 avec 70%, cette même remarque a été faite par TRAORE Z [36] qui a traité la séroprévalence de la syphilis au centre de santé de référence de la commune V et au Centre National

de Transfusion Sanguine de Bamako. Ceci s'explique par leur forte représentativité. Autres qui regroupent les patients à profession non précisée, les artisans et les commerçants constituent 71,57%.

5.2.7. Répartition des patients selon l'ethnie

Cette étude à montrer que l'analyse est plus demandée chez les Bambara que chez les autres groupements ethniques et représentent 8,45. Ce constat ressort de l'étude de TRAORE Z avec 42% de Bambara. Les autres regroupant les Sénoufo, les Bozo, les Gana, les Malinké et les sans ethnies représentent environ 81,35%.

NB : Il faut noter que ceux n'ayant pas la précision de leur ethnie dans le registre représentent environ 78,67% des patients.

5.2.8. Répartition des patients selon la positivité du VDRL LATEX

Le taux de prévalence des anticorps antisyphilitiques de la population étudiée est égal à celui des 5 (cinq) femmes positives qui regroupent 100% des sérums testés positifs, le taux chez les femmes est égale à 1,04% sur 482. Ce constat se rapproche de l'étude menée en 1999 par TRAORE Z (36) sur la séroprévalence de la syphilis au centre de santé de référence de la commune V et au CNTS de Bamako qui montre que la prévalence des anticorps antisyphilitiques des donneurs de sang (3,92%) était pratiquement égale à celle des femmes enceintes.

5.2.9. Répartition des patients selon le nombre de variables qu'ils possèdent

Au terme de cette étude nous n'avons eu que 19 (dix neuf) patients qui possèdent l'ensemble des variables ce qui correspond à 2,33% et sont toutes des femmes enceintes. Les patients qui ne possèdent que 3 (trois) variables constituent le plus grand nombre avec 29,04%, suivi par ceux qui ont 2 (deux) variables avec 21,32%, 4 (quatre) variables avec 20,10%, 5 (cinq) variables avec 19,73% et 1 (une) seule variable avec 7,23%. Les patients ne possédant aucune variable sont au nombre de 2 (deux) et représentent seulement 0,25%.

5.3. Points forts et points faibles de l'étude

Manque de certaines informations concernant les patients et les applications de la technique de diagnostic par les praticiens de laboratoire.

5.3.1. Point fort de l'étude

Les noms des patients ne figurant pas dans l'étude, l'anonymat a été respecté permettant de garder la confidentialité.

6. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Cette étude a porté sur 816 sérums de patients des deux sexes et de tous les âges.

Au terme de ce travail, nous avons constaté que :

La syphilis vénérienne est de plus en plus rare parmi les populations de Bamako avec 5 (cinq) cas positifs soit 0.61% tous de sexe féminin et dans la tranche d'âge de 18 à 45 ans qui était la plus représentée chez les femmes avec 382 patientes soit 79,25%. Ce faible taux peut être dû au fait qu'un seul test sérologique, le VDRL LATEX a été utilisé mais également à l'existence de réactions faussement négatives et des réactions faussement positives.

Le sexe ratio est en faveur du sexe féminin soit 1,44.

Le taux de positivité chez les femmes est de 1.04%.

L'échantillon était constitué seulement de 19 femmes soit 2,33% qui possédaient l'ensemble des variables étudiées.

Au vu de ces principaux résultats de notre étude, nous formulons les recommandations suivantes :

Au personnel du laboratoire

Insister auprès du personnel de laboratoire sur l'enregistrement de l'ensemble des renseignements (sexe, âge du patient ou de la patiente, âge de la grossesse, l'ethnie et la profession) concernant tous les patients venant avec une demande de sérologie tréponématose.

Réaliser au moins deux tests sérologiques de la syphilis au cours de la grossesse ; un test au deuxième trimestre et un second au troisième trimestre afin de dépister les cas d'infections survenant au cours des deuxième et troisième trimestres tout en effectuant à la fois un test cardiolipidique et un test tréponémique.

Promouvoir les messages de prévention contre la syphilis à l'endroit des populations.

7. REFERENCES

- [1]. **REMY G**, 1994. Syphilis vénérienne chez les femmes africaines un espace épidémiologique contrasté. *Medicine d'Afrique noire* tome 41 n°12.
- [2]. **COLES F B, HYPP S S, SILBERTEIN G S, CHEN TH**, 1995. Congenital syphilis surveillance in upstate NEW YORK 1989- 1992: Implications for prevention and clinical management. *Journal of infectious diseases* 171 (3): 732- 735 p.
- [3]. **PHARLIN M C, BOTTOMS B L**, 1996. In Maternal syphilis the next pregnancy *American journal of perinatology* 13 (8) 513- 518 p.
- [4]. **RISSER W L, HWANG LY**, 1999. Congenital syphilis in Harry conty, Texas, USA, 1990- 1992 incidences, causes and risk factors. *Int j STD AIDS*; 8: 95- 101 p.
- [5]. **THOULON J M, PUECH F, BOOG G**, 1995. *Obstétrique coordination*. Edition Marketing, ELLIPSES.
- [6]. INRSP (Institut National de Recherche en Santé Publique), 1986. Evaluation sanitaire de la région du Gourma. Mali. 99- 101 p.
- [7]. **IDRISSA M**, 1988. Contribution à l'étude de la prévalence sérologique de la syphilis chez les populations fréquentant les structures de Santé de Bamako. Thèse Pharm. Bamako Mali. N° 88- P- 23.
- [8]. **MAIGA D**, 1979. Contribution à l'étude sérologique et épidémiologique des Tréponématoses au Mali. Thèse méd. ENMP Bamako Mali. N° 79- M- 32.
- [9]. Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 1981. Urétrite gonococcique et autres maladies à transmission sexuelle choisies pour leur importance sanitaire Série de rapport technique n° 660.
- [10]. **TEMBELY A**, 1982. Contribution à l'étude des tréponématoses au Mali. Thèse méd. Bamako Mali. N° 82- M- 8.
- [11]. **TRAORE S**, 1985 Contribution à l'étude des MST dans le district de Bamako. Thèse méd. Bamako Mali. N° 85- M- 8.

- [12]. **TRAORE Z**, 1999. Séroprévalence de la syphilis au Centre de Santé de Référence de la commune V et au Centre National de transfusion Sanguine de Bamako Thèse méd. FMPOS Bamako Mali. N° 00- M- 5.
- [13]. **GARNIER DELAMARE**, 2002. Dictionnaire des termes de médecine 27^e édition, 826 p.
- [14]. **Service National des Grandes Endémies**, les Infections Sexuellement Transmissibles au Sénégal : Epidémiologie et modalités de lutte.
- [15]. **PIETTE F, BERGOEND H**. La syphilis. In **LAFFONT A, ALBEAUX-PERNET M, AZERAD E, BERNARD H et al**, 1980. Encycl. Méd. Chir. Maladies Infectieuses. 8039 A¹⁰, 7.
- [16]. **QUETEL. C**, 1986. Le mal de Naples. Histoire de la syphilis. In Médecine et histoire. Paris : Edition- Seghers.
- [17]. **JANIER M, SAADA V**, 1989. De la vénéréologie aux maladies sexuellement transmissibles. In Ann Dermatol Vénéreol; 116: 957- 964 p.
- [18]. **BORISENKO K K TICHONOVA L I, RENTON A M**, 1999. Syphilis and other sexually transmitted infections in the Russia Federation. Int j sid et AIDS; 10: 665- 668 p.
- [19]. Centre de prévention et de contrôles des maladies infectieuses (Direction générale de santé de la population et de la santé publique). La syphilis infectieuse au Canada (février 2002).
- [20]. **COUTURIER E, DUPIN N, JANIER M, HALIOUA B et al**, 2001. Résurgence de la syphilis en France 2000- 2001. Bull Epidemiol Hebdom ; 35- 36 : 168- 175 p.
- [21]. Direction générale de santé. La syphilis infectieuse en France ce qu'il faut savoir, ce qu'il faut faire (février 2002).
- [22]. **SINGH AE, ROMANOWSKI B**, 1999. Syphilis. Review with emphasis on clinical, epidemiologic and some biologic features. Clin Microbiol Rev; 12: 187- 209 p.

- [23]. **SANGARE S**, 2007. Evaluation de la séroprévalence de la syphilis au centre urbain de Mopti à propos de 1067 cas. Thèse Méd. Mopti Mali. N° 07-M- 190.
- [24]. **FLANDROIS J P**, 1997. Bactériologie Médicale. Collection azay. Presses Universitaires de Lyon, 245- 246 p.
- [25]. **SPICER W J**, 2003. Pratique clinique en bactériologie, mycologie et parasitologie. Flammarion Médecine- science, 52- 53 p.
- [26]. **FAUCHERE J L. AVRIL J L**, 2002. Bactériologie Générale et Médicale. Ellipses Edition Marketing S. A ; 332- 340 p.
- [27]. **PEROLAT P**, 2003. Cours de bactériologie médicale.
- [28]. **JANIER M, CAUMES E**, 2003. Syphilis. In Encycl. médhir (Elsevier SAS,) Maladies infectieuses, 8- 039. A. 10, 17 p.
- [29]. **SKRIPKINE Y, MILICH M**, 1985. Maladies cutanées et vénériennes Edition MIR.
- [30]. **HOOK EW, MARRA C M**, 1992 Acquired syphilis in adult. N Engl j med 1192; 326:1060- 1069 p.
- [31]. **TRAORE T**, 1985. Prévalence de la syphilis dans le service de psychiatrie de l'hôpital du Point G. Thèse pharm. Bamako Mali. N° 85- P- 4.
- [32]. **HAMELIN P A, VAISMAN A**, 1982. Microbiologie Dehring n° 13
- [33]. Anonymous, 1995. Evaluation of congenital syphilis surveillance system New Jersey. M.M.W.R. Morbidity and mortality weekly Report 1993; 44 (11): 225- 27 p.
- [34]. **MORILAT P, BROCHET P, ALLBERLIN J**, 1988. Praticien du Sud 33 Mars n° 16.
- [35]. **TIMBO M**, 1996. Les problèmes posés par la transfusion sanguine à l'hôpital Gabriel TOURE de Bamako. Thèse Méd. Bamako Mali. N° 96- M- 22.

8. ANNEXES

1. FICHE SIGNALÉTIQUE :

Nom : TRAORE
Prénom : Ousmane Oumar Madani
N° de téléphone : 76243563
Email : ousmane80traor@yahoo.fr
Titre de la thèse : Sérodiagnostic de la syphilis vénérienne au laboratoire du CHU Gabriel TOURE
Ville de soutenance : Bamako
Année universitaire : 2009- 2010
Pays d'origine : Mali
Lieu de dépôt : Bibliothèque de la FMPOS
Secteur d'intérêt : Microbiologie, santé publique, gynéco-obstétrique.

RESUME

De janvier 2007 à décembre 2008, nous avons effectué une étude rétrospective sur le sérodiagnostic de la syphilis au laboratoire du CHU Gabriel TOURE.

La syphilis est une infection sexuellement transmissible qui s'associe très souvent au VIH Sida et à d'autres IST. Les objectifs assignés à ce travail ont été

- Donner les caractéristiques sociodémographiques de la population étudiée,
- Déterminer les périodes de la grossesse au cours desquelles les femmes ont été au laboratoire.
- Améliorer la technique de la sérologie tréponématose dans notre laboratoire
- Améliorer la qualité des informations recueillies chez les patients

Notre étude a eu lieu au CHU Gabriel TOURE

Cette étude a porté sur 816 patients. L'échantillonnage a été constitué sur la base d'une demande de sérologie tréponématose apportée au laboratoire par le patient.

L'étude consistait à faire systématiquement le VDRL sur les sérums de l'ensemble de nos patients.

Cette étude, nous a permis de faire certaines évaluations de la prévalence de la syphilis dans les différents groupes de populations.

Une prévalence de 0,61% pour la population générale qui correspond également prévalence pour les femmes enceintes.

Mots clés : Syphilis, sérodiagnostic, hôpital Gabriel TOURE, Bamako (Mali).

FACTS

Name: TRAORE
First name: Ousmane Oumar Madani
Phone number: 76243563
Mail: ousmane80traor@yahoo.fr
Title of the thesis: serodiagnosis of venereal syphilis in the laboratory of medicals biology of CHU Gabriel TOURE
Academic year: 2009- 2010
City of countenance: Bamako
Country origin: Mali
Place of deposit: Library of the Faculty of Medicine, Pharmacy and Odonto- stomatology
Sectors of interests: Microbiology, Public health, gynecology- obstetrical

Summary

From January 2007 to December 2008, we carried out a retrospective study on the serodiagnostic of the syphilis in the laboratory of the CHU Gabriel TOURE;

The syphilis is the transmissible infection sexually which is associated very often with the AIDS HIV and with other STI. The aims of this work were:

- Give the sociodemographic characteristics of the studied population;
- Determine the periods of the pregnancy during which women were to the laboratory;
- Improve the technique of treponematoserology in our laboratory;
- Improve the quality of the information collected among patients.

Our study took place at the CHU Gabriel TOURE

This study covered 816 patients. Sampling was made up on the basis of a treponematoserology request brought to the laboratory by the patient.

The study consisted in making systematically the VDRL on the sera of all our patients;

0, 61% of the sera were positive in the VDRL.

This study, allowed us to make certain evaluation of the prevalence of the syphilis in the various sectors of the population.

Words key: Syphilis, serodiagnostic, hospital Gabriel TOURE, Bamako (Mali).

2. LES TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE

2.8.3.1. Sérologies lipidiques

a.2. Technique de la réaction de fixation du complément

Elle peut être schématisée comme l'indique la figure ci-dessous.

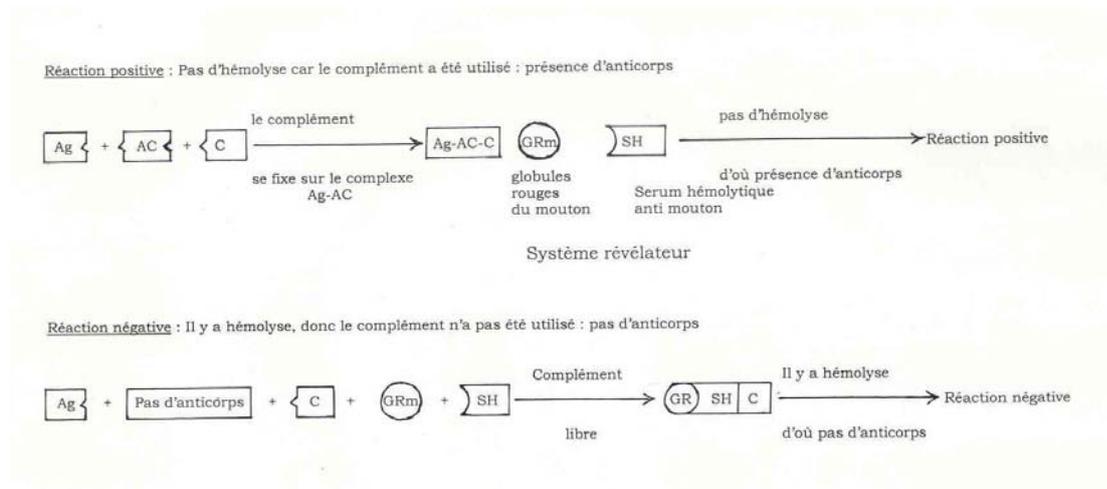


Figure 15 : Représentation schématique de la réaction de fixation du complément. [23]

2.8.3.2. Les sérologies tréponémiques

b.2. Technique de la réaction d'immunofluorescence (FTA abs)

On prépare un frottis de tréponème sur lame. Ce frottis séché est recouvert de sérum de malade au 1/5 dans un solvant qui a pour but de neutraliser les anticorps (non spécifiques) par un extrait de tréponème de Reiter.

- Après 30 min de contact et lavage pour éliminer l'excès de sérum on ajoute sur le frottis un sérum anti- globuline total ou mono spécifique anti- IgM, marqué à L'isothiocyanate de fluoresceine et également spécifique de l'espèce de sérum que l'on examine.

- Après 30 min de contact et lavage, le frottis est recouvert d'une lamelle et examiner au microscope épiscopique en lumière ultraviolette.

Lecture :

Si le sérum contient des anticorps tréponémiques, les tréponèmes du frottis apparaissent vert- brillants, alors qu'ils ne sont que peu ou pas visibles si le sérum est négatif. La réaction se lue quantitativement sur 4 croix selon l'intensité de fluorescence des tréponèmes.

Elle peut être faite quantitativement sur des dilutions en progression géométrique du sérum, dans ce cas non en solvant mais en tampon pH 7.3. Le résultat est exprimé par l'inverse de la dilution en sérum qui donne encore un aspect positif moyen. Ce test est très précoce, positif quelques jours après l'apparition du chancre ; bien spécifique, il devient négatif lentement après le traitement.

Exécuté avec un conjugué spécifique anti- IgM il permet de mettre facilement des anticorps anti- IgM, en cas de syphilis congénitale ou primaire.

b.2. Technique du test de Nelson Mayer (TPI ou T I T)

Les réactifs sont les suivants :

Antigène : souche Nichols en milieu de survie de Nelson plus de 70% des tréponèmes doivent être mobiles, si non la réaction sera ininterprétable.

Sérum du malade : stérile, limpide et décomplémenté pendant 30 min à 56 ° C.

Le complément : sérum frais de cobaye non dilué.

La réaction est exécutée stérilement comme suit.

Tableau XIII : Mode opératoire du test de Nelson Mayer

	Tubes réactifs	Tubes réactifs	Tubes témoins
Suspension de tréponèmes.		0,35 ml	0,35 ml
Sérum à analyser.		0,05 ml	0,05 ml
Complément.		0,10 ml	-
Complément chauffé à 56 ° C.		-	0,10 ml

On inocule à 56 ° C en atmosphère 965% N₂ + CO₂. La lecture se fait après 18-24 heures.

On réalisera également un témoin positif et un témoin négatif ; pour cela on fera adjonction de lysozyme ou trypsine permettant de raccourcir le temps d'incubation (6 heures) et d'augmenter la spécificité du test.

Lecture :

L'immobilisation des tréponèmes vers la 6^{ème} heure. On utilise un microscope à fond noir.

On calcule le pourcentage des tréponèmes mobiles dans le tube témoin et le tube à réaction.

L'interprétation des réactions se fait à partir du taux d'immobilisation dans le tube à réaction (IS).

- Pour 0 % < IS < 20 %, la réaction est négative
- Pour 20 % < IS < 50 %, la réaction est douteuse

- Pour $50 \% < IS < 100 \%$, la réaction est positive

La réaction qualitative se fait par des dilutions croissantes du sérum du malade.

Le TIT est d'une pratique très difficile, réservé aux laboratoires très spécialisés.

Son coût est également très élevé.

Mais c'est le test de référence qui s'impose en cas de :

Doute clinique : syphilis à sérologie négative,

Doute sérologique : réaction classique faussement positive,

Doute thérapeutique :

Même le test de Nelson négatif permet d'interrompre le traitement.

NB : Lorsqu'un résultat de TIT porte la mention sérum toxique et résultat interprétable cela signifie que l'on a observé, aussi bien dans le tube témoin que le tube à réaction, des tréponèmes immobiles. Cette immobilisation n'est pas due à des anticorps, mais à des substances médicamenteuses tréponémicides (antibiotiques et autres).

c.2. Reconstitution des réactifs du Test d'hémagglutination passive des tréponèmes TPHA (*Treponema pallidum* Hemagglutination Assay)

Test d'hémagglutination pour la détermination qualitative et quantitative d'anticorps de *Treponema pallidum*

Présentation

SYPHILIS TPHA liquid est un test d'hémagglutination indirect pour la détermination d'anticorps spécifiques à *Treponema pallidum*. En présence d'anticorps anti- *Treponema pallidum* les érythrocytes de volails enduites d'antigènes de *Treponema pallidum* réagissent dans les puits d'une plaque de micro- titration en formant des agglutinations aux aspects caractéristiques. Les anticorps contre les tréponèmes non pathogènes sont absorbés dans la suspension cellulaire par un extrait des tréponèmes de Reiter

Contenu :

2 fois 4 ml cellules de test TPHA (capuchon blanc) prêtes à l'usage, (cellules d'oiseaux)

2 fois 5 ml cellules de contrôle TPHA (capuchon bleu) prêtes à l'usage, (cellules d'oiseaux)

0.5ml sérum de contrôle TPHA (stabilisé, réactif aux cellules de test, (sérum humain)

0.5ml sérum de contrôle négatif TPHA (capuchon vert)

Contrôle liquide, stabilisé, non réactif aux cellules de test et de contrôle, (sérum bovin)

20 ml diluant TPHA (sérum de lapin)

Tous les réactifs et contrôles contiennent < 0.1 % d'azide de sodium

Matériels supplémentaires (non compris dans le kit) :

Micropipettes ou micro- diluteurs (25ul, 75ul, 100ul)

Plaque de micro- titration rigide (styrène avec les puits en U (par exemple Dynex M24A de Labsystems)

La stabilité :

Non ouvert et conserve à +2- +8° C, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée. Après l'ouverture, ils sont stables 6 semaines à +2- +8° C (éviter toute contamination).

Echantillons :

N'utiliser que du sérum, pas de plasma. Eviter la contamination et l'hémolyse.

Les échantillons frais peuvent être stockés jusqu'à 48 heures à +2- +8° C ou pour 4 semaines à -20° C

Mode opératoire

a. Détermination qualitative :

1. A l'aide d'une micropipette, pipeter 100µl DIL dans le puit 1 de la plaque et 25µl dans chacun des puits 2 et 3.

2. Ajouter 25µl d'échantillon de sérum ou PC, NC au puit 1. Mélanger le contenu du puit avec une micropipette et transférer 25µl au puit 2 (puit de contrôle). Mélanger et transférer 25µl au puit 3 (puit de test). Mélanger et jeter 25µl de liquide de puit 3.
3. Ajouter 75µl de SCC bien suspendu au puit 2 et 75µl de STC bien suspendu au puit 3.
4. En agitant la plaque doucement, soigneusement mélanger le liquide dans tous les puits.
5. Ensuite déposer la plaque sur une surface blanche et lisse, protéger contre le soleil et les vibrations. Lire le résultat après 45 à 60 min. La plaque peut bien rester en place pendant la nuit avant que le résultat soit lu.

Interprétation

Résultat négatif : bouton compact de cellules non agglutinées, sans aucune ou avec un très petit trou au centre.

Résultat indéfini : bouton de cellules avec un petit trou au milieu (ressemble à un anneau épais et serré au fond clair). Répéter le test avec un échantillon au résultat indéfini.

Résultat positif : agglutination partielle ou complète de cellules (ressemble à un film homogène, éventuellement entouré d'un cercle de cellules). Les échantillons faiblement positifs montrent un cercle avec une auréole étrange, entourée de cellules agglutinées. Appliquer un test de titrage supplémentaire à tous les sérums aux résultats positifs.

SCC dans les 2 puits devrait montrer un bouton étroit de cellules non agglutinées. Une agglutination dans le puit de contrôle indique des agglutinines non spécifiques dans l'échantillon, et le résultat doit être considéré non valable. De tels échantillons doivent être absorbés par SCC et testés de nouveau

b. Détermination Quantitative :

1. Comme décrit avant, pipeter le DIL, mais continuer de transférer 25µl aux puits 4 à 10.

2. Ne pas jeter les 25 μ l de liquide du puit 3, mais les transférer au puit 4, Mélanger, transférer 25 μ l de puit 4 au puit 5, etc. Finalement, jeter 25 μ l de la dernière dilution du puit 10.
3. Ajouter 75 μ l de SCC au puit 2 et 75 μ l de STC au puit 3 à 10.
4. Continuer le test en suivant la description de la détermination qualitative (A).

Interprétation :

Une agglutination dans le puit de test indique un résultat positif à condition qu'aucune agglutination ne soit présente dans le puit de contrôle. Le titre se définit comme la dilution maximale où l'on observe encore une agglutination (puit 3, 1 :80 ; puit 4, 1 :160 etc..). Les échantillons au titre $>$ ou $=$ 1 :80 doivent être considérés réactifs aux anticorps de *Treponema pallidum*.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la faculté des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

- d'exercer dans l'intérêt de la Santé Publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

- de ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ;

- en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

**Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle a mes promesses.
Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque.**

JE LE JURE