

République Algérienne Démocratique et Populaire  
UNIVERSITE KASDI MERBAH –OUARGLA  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Biologiques



Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de  
**MASTER ACADEMIQUE**

**Domaine** : Science de la Nature et de la Vie

**Filière** : Biologie

**Spécialité** : Microbiologie Appliquée

**Présenté par** :

*MAHDJOUBI Chaima*

*MERZAIA Imane*

**Thème**

**Dépistage et prévalence de la Syphilis vénérienne (*Treponema pallidum*) au niveau de l'Hôpital Mohamed Boudiaf, Ouargla.**

Soutenu publiquement le : 21/06/2023.

Devant le jury

<b>BOUDERHEM A.</b>	<b>MCB</b>	<b>Président</b>	<b>U.K.M. Ouargla.</b>
<b>BELDI N.</b>	<b>MCA</b>	<b>Promoteur</b>	<b>U.K.M. Ouargla.</b>
<b>BOUKHANNOUF S.</b>	<b>MCB</b>	<b>Examineur</b>	<b>U.K.M. Ouargla.</b>

Année Universitaire : 2022/2023

# *Remerciements*

*Nous tenons d'abord à remercier Allah notre créateur qui nous a donné la force pour réussir dans nos modeste travail.*

*A **Mme. BOUDERHEM A.** qui nous a honoré d'avoir accepté de présider les membres de jury, merci infiniment. Vous êtes toujours un symbole de sagesse et de gentillesse.*

*Nous remercions aussi **Mme. BOUKHANNOUF S.** qui a accepté généreusement d'examiner ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier sincèrement **Mme. BELDI N.** qui en tant que Directeur de Mémoire, elle est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce travail. Les conseils qu'il nous a prodigué, la patience, la confiance qu'ils nous ont témoignés ont été déterminants dans la réalisation de notre travail de la recherche.*

*Nos remercies également à tous les enseignants de département de Sciences Biologiques Spécialité Microbiologie appliquée de l'Université KASDI MERBAH-Ouargla.*

Merci encore et encore...

*Chaima et Imane*



# *Dédicaces*

*Louange à Dieu, dont la grâce est pour les bonnes actions,*

*Je dédie mon succès et mon diplôme à mon premier modèle...  
à celui qui m'a donné et continue de me donner sans limites... à  
celui que j'ai élevé et levé la tête haute dans la fierté de... qui n'a  
jamais été un homme ordinaire (mon cher père)*

*A ma mère qui m'a vu avec son cœur devant les yeux... à  
mon arbre qui ne se fane pas... à l'ombre que je recoure à chaque  
fois à toi (ma chère mère)*

*A mes soeurs et frères... Mon soutien dans cette vie dans ses  
bons et mauvais moments...*

*A mes tantes et oncles, chacun en son nom...*

*Je remercie tous ceux qui ont contribué à mes études et mon  
éducation, ne serait-ce que par une lettre dans mon parcours  
universitaire*

*Et merci à ceux qui m'ont soutenu tout au long de mon  
parcours universitaire et merci à tous mes proches et amis de  
près ou de loin*

*Dieu soit loué jusqu'à ce que la louange touche à sa fin*



*Chaima*

# *Dédicaces*

*Dieu soit loué en premier et en dernier*

*"Ma réussite n'est due qu'à Allah*

*Je dédie mon diplôme*

*A celui à qui Dieu a confié prestige et dignité... A celui qui m'a appris à donner sans attendre... A celui dont je porte le nom avec fierté... Mon cher père Saleh*

*Et à mon ange dans la vie... au sens de l'amour et au sens de la tendresse... Ma chère maman Fatima*

*À ceux qui ont attendu pour récolter le fruit de mes longs efforts, ils ont donc été partenaires de chaque sourire, larme et chagrin (mes sœurs)*

*À l'étreinte chaleureuse qui accueille tout un univers... à la poitrine spacieuse... ma deuxième mère... (ma chère tante)*

*Et à ceux qui sont proches du coeur et supporteurs et supporteurs dans les bons et les mauvais moments, merci*

*Imane*





## Liste des abréviations

**Ac-Ag** : Anticorps-Antigène

**CDR** : Centre diagnostique référence

**CDV** : Centre diagnostique volontaire

**CD** : cellule dendritique

**CTS** : centre transfusion de sanguine

**(C)** : Contrôle

**EDTA** : Acide Ethylène diamine Tétracétique

**ELISA** : Enzyme -Linked - Immunosorbent Assay

**Foxp3** : Forkhead box P3

**FTAabs** : Fluorescent Treponemal Antibody test

**HBSAg** : Antigène de surface du virus de l'hépatite B

**HRP** : Hématome Rétroplacentaire

**IFN- $\gamma$**  : Interféron gamma

**IgM** : Immunoglobuline M

**IgG/IgM** : Immunoglobuline G /Immunoglobuline M

**IL-1 $\beta$**  : Interleukine-1

**IST** : Infection bactérienne sexuellement transmissible

**NLRP3** : NOD-like receptor pyrin 3

**NK** : Natural Killer

**TDR** : Test diagnostique rapide

**Th1** : Lymphocytes T auxiliaires (T helper)

**TGF- $\beta$**  : Transforming Growth Factor- $\beta$

**TP** : *Trépanoma pallidum*

**TPHA** : *Trépanoma pallidum* Hémagglutination Assay

**(T)** : Test

**PCR** : polymerase chain reaction

**VDRL** : Venereal Disease Research Laboratory

**VIH** : virus immunodéficience humaine

**WB** : Western blot

	<b>Liste des tableaux</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1 :</b>	Avantages et inconvénients des techniques de diagnostic de la syphilis	17
<b>Tableau 2 :</b>	Fréquence de positivité de syphilis à CDV et CDR	31
<b>Tableau 3 :</b>	Distribution de population par tranche d'Age selon le sexe	32
<b>Tableau 4 :</b>	Fréquence des malades selon les motifs de consultation	32
<b>Tableau 5 :</b>	Fréquence des malades selon la région des malades	33

	<b>Liste des figures</b>	Page
<b>Figure1 :</b>	Eruption maculopapulaire typique sur la poitrine à la syphilis primaire	6
<b>Figure2 :</b>	Manifestations cliniques lors d'une syphilis secondaire (a) manifestations mucocutanées (b) Éruption cutanée associée à la syphilis secondaire	7
<b>Figure3 :</b>	Gommes cutanées de la syphilis tertiaire	8
<b>Figure 4 :</b>	Syphilis congénitale	9
<b>Figure 5 :</b>	La réponse immunitaire lors d'une infection par la syphilis	11
<b>Figure6 :</b>	Le Spirochète <i>Treponema pallidum</i> . (300×130).	13
<b>Figure7 :</b>	la structure et les parois de spirochètes ( <i>T. pallidum</i> )	14
<b>Figure8 :</b>	Nombre de décès à la suite des infections de syphilis sur 100 000 habitants en 2004	16
<b>Figure9 :</b>	Carte géographique d'Ouargla	21
<b>Figure10 :</b>	Schéma générale de protocole de l'étude	22
<b>Figure11 :</b>	Bandelette de test rapide pour la syphilis (TP)	23
<b>Figure12 :</b>	Les possibilités des résultats obtenus de TDR	24
<b>Figure13 :</b>	Réactifs du test TPHA	24
<b>Figure14 :</b>	Résultats obtenus de TPHA	25
<b>Figure15 :</b>	Réactifs utilisés pour le diagnostic de <i>T. pallidum</i> : Kit ELISA+ sérums	26
<b>Figure16 :</b>	les étapes de technique ELISA	27
<b>Figure17 :</b>	Résultat du test ELISA	28
<b>Figure18 :</b>	Fréquence des malades selon le centre de prélèvement.	32
<b>Figure19 :</b>	Incidence de la syphilis à Ouargla dans la période	33



<b>Sommaire</b>		Page
Liste des abréviations		
Liste des tableaux		
Liste des figures		
Sommaire		
Introduction		1
<b>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</b>		
<b>CHAPITRE I : Généralités sur la syphilis</b>		
I -1. Définition de syphilis		5
I -2. Historique		5
I -3. Classification		5
I-3-1. Les stades selon la fonction clinique		5
I-3-1-1. Syphilis primaire		5
I-3-1-2. Syphilis secondaire		6
I-3-1-3. Syphilis latente		7
I-3-1-4. Syphilis tertiaire		7
I-3-2. Les phases selon la fonction du temps écoulé		8
I-3-2-1. La syphilis précoce		8
I-3-2-2. La syphilis tardive		8
I-3-3. Cas particuliers		8
I -3-3-1. Syphilis congénitale		8
I -3-3-2. Neurosyphilis		9
I-4. Immunité		9
I-4-1. La réponse immunitaire liée à l'infection par la syphilis		9
I-4-1-1. La réponse innée		10
I-4-1-2. Réponse adaptative		11
<b>CHAPITRE II : Généralités sur l'agent pathogène</b>		
II -1. Définition de <i>Treponema pallidum</i>		13
II -1-1. Caractères bactériologiques		13
II- 1-1-1. Morphologie		13
II- 1-1-2. Classification		13

II -1-1-3. Coloration	13
II -1-1-4. Structure antigénique	14
II -1-1-5. Culture	14
II -1-2. Pénétration	15
II -2. Épidémiologie	15
II -2-1. Épidémiologie de la syphilis dans le monde	16
II -2-2. Épidémiologie de syphilis en Afrique	16
II -2-3. Épidémiologie de syphilis en Algérie	17
II -4. Diagnostique biologique	17
II -5. Traitement	18
<b>PARTIE EXPERIMENTALE</b>	
<b>CHAPITRE III : Matériel et méthodes</b>	
<b>III. Matériel</b>	
III.1. Cadre de l'étude	20
III.2. Lieu d'étude (zone d'étude)	20
III.3. Présentation des deux centres d'étude	21
III.4. Type et période de l'étude	21
III.5. Population de l'étude	21
III.6. Aspects éthiques	21
III.7. Matériel utilisé	21
<b>III.8. Méthodologie</b>	
III.8.1. Le test de diagnostic rapide (TDR)	22
III.8.1.1. Principe	22
III.8.1.2. Préparation des échantillons (sérums)	23
III.8.1.3. Protocole du test (TDR)	23
III.8.1.4. Lecture interprétation des résultats	23
III.8.1.5. Limite de la technique	24
III.8.2. Test de TPHA	24
III.8.2.1. Principe	24
III.8.2.2. Procédure du test	24
III.8.2.3. Lecture et interprétation des résultats	25

III.8.3. Test ELISA	25
III.8.3.1. Principe	25
III.8.3.2. Lecture et interprétation des résultats	27
III.8.3.3. Limitations du test ELISA	28
<b>CHAPITRE IV : Résultats et discussion</b>	
<b>IV.1. Résultats</b>	31
IV -1.Résultats de l'étude épidémiologique	31
IV -1-1.Répartition des cas déclarés positifs	31
IV -1-2.Répartition des malades selon la tranche d'âge	31
IV -1-3.Répartition des patients et des résultats selon le genre	32
IV -1-4.Répartition des malades selon l'aspect clinique	32
IV -1-5.Répartition des malades selon les années d'études	33
IV -1-6.Répartition des malades selon Région	33
<b>IV.2. Discussion</b>	34
<b>IV.3. Conseil et perspectives</b>	37
<b>Conclusion</b>	39
<b>Références bibliographiques</b>	41
<b>Annexe</b>	46
<b>Résumé</b>	53
<b>Abstract</b>	54
<b>الملخص</b>	55





# Introduction

## Introduction

---

### Introduction :

La syphilis reste un problème mondial de santé publique (**Lin, 2010**). C'est une maladie infectieuse causée par la bactérie *Treponema pallidum* (*T. pallidum*). Caractérisée par son polymorphisme clinique, la syphilis est surnommée : "la grande simulatrice" (**Alberto et Toutous Trelu, 2019**). Elle est classée parmi les maladies sexuellement transmissibles. La transmission se fait par contact muqueux ou sanguin. L'infection peut être transmise aussi de la mère à enfant par voie transplacentaire ou par le canal de naissance lors de la naissance. L'évolution naturelle de la syphilis comporte quatre phases : primaire, secondaire, latente et tertiaire (**Raveloherintsoa, 2018**). La syphilis tertiaire survient chez un tiers des personnes infectées non traitées et peut causer des dommages cardiovasculaires ou neurologiques irréversibles. La neurosyphilis peut être présente à tous les stades de la maladie, y compris au début (**Bennami, 2011**).

Cette infection se caractérise par l'apparition d'un chancre suivi de symptômes puis systémiques et neurologique sans traitement. Il se développe en plusieurs étapes au fil des années ou voir des dizaines. Le traitement est simple, basé sur la pénicilline. En effet, le tréponème est l'une des rares bactéries qui n'a pas développé de résistance à cet antibiotique. Par conséquent, s'il est traité rapidement, le malade peut être facilement guérit sans séquelles (**Lacour, 2013**).

Sa résurgence est un phénomène mondial soutenu par la démographie, le tourisme, la prostitution, l'homosexualité masculine, l'insouciance et l'ignorance des patients et même des médecins qui ne pensent plus à évoquer la maladie, suscite des inquiétudes quant à sa prévalence croissante chez les femmes enceintes (**Bentarifet, 2009**).

La syphilis a balayé l'Europe vers la fin du XV siècle, provoquant des épidémies pour devenir un problème de santé publique. La situation s'est intensifiée avec l'évènement de la pandémie du VIH. La syphilis augmente le risque de transmission de l'infection par le VIH de 2 à 5 fois en cas de co-infection VIH/syphilis (**Raveloherintsoa, 2018**). Dès le milieu du XXe siècle et la production industrielle de pénicilline, la syphilis perd son funeste statut de fléau social (**Bonah, C et al ., 2022**).

La résurgence de la syphilis est constatée depuis le début des années 2000 (**Lefebvre et al., 2013**).

## Introduction

---

Dans la présente étude, nous avons fixé les objectifs suivants :

**L'objectif général :** est de déterminer la prévalence de la syphilis vénérienne au niveau de wilaya d'Ouargla.

Quant aux **Objectifs secondaires :**

- Dépistage de la maladie par différents techniques possibles
- Suivre l'évaluation du nombre de personnes adultes atteintes de syphilis récente dans les centres : CDR et CDV.
- Voir la situation épidémiologique de la population étudiée.
- Inspecter la possibilité d'une augmentation du nombre de cas et/ou en présence de cas diagnostiqués appartenant au même origine géographique.

Afin de répondre à nos objectif, nous avons scindé notre travail est en deux grandes parties :

La première partie est constituée de la partie bibliographique composée de deux chapitres :des généralités sur la syphilis ; des Généralités sur l'agent pathogène

La deuxième partie constitue l'étude expérimentale. Elle est présentée en deux chapitres : le matériel et les méthodes utilisées dans cette étude ; les résultats expérimentaux trouvés et leurs discussions.

***SYNTHESE***  
***BIBLIOGRAPHIQUE***



# **Chapitre I :**

## **Généralités sur la syphilis**

## I. GENERALITES SUR LA SYPHILIS

### I -1. Définition de syphilis

La syphilis est une infection bactérienne sexuellement transmissible (IST) causée par *T. pallidum*, bactérie de forme hélicoïdale mobile strictement humaine, connue depuis la fin du XVème siècle (**Keroui et al ., 2022**).

### I -3. Historique

L'origine de la syphilis n'a pas encore été identifiée et est controversée dans la littérature. De nombreux auteurs supposent maintenant que la maladie a été apportée par les marins de Christophe Colomb dans le nouveau monde (**Anteric et al., 2014**). Les premiers cas attestés sont d'ailleurs décrits à Barcelone en 1493, peu après le retour en Espagne des équipages de celui-ci. Il existe par ailleurs des arguments archéologiques plaçant pour l'existence d'une forme endémique de l'affection dans l'Ancien Monde et préexistant aux voyages de Colomb (**Jedidi et al., 2018**).

Le terme « syphilis » vient du nom de Syphilus Berger, héros du poème « syphilus sive morbus gallicus » écrit en 1530 par Hieronymus Frascatorius, Chirurgien à Vérone. L'agent causal de la syphilis n'a pourtant été identifié qu'en 1905 par Fritz Schaudinn et Erich Hoffmann à Berlin (**Raveloherintsoa, 2018**). Ils lui donnent le nom de *Spirocheta pallida* puis : *T. Pallidum* (**Caumes et Janier ., 2004**).

Le laboratoire de recherche sur les maladies vénériennes utilisé jusqu'à aujourd'hui pour le dépistage et le suivi de la syphilis un test qui est une modification du test de Wassermann développé à Berlin en 1906 (**Harris et al., 1964**). Le test d'hémagglutination a été introduit en 1968 et le dosage immuno-enzymatique en 1990 (**Maatouk et Moutran, 2014**).

### I-4. Classification

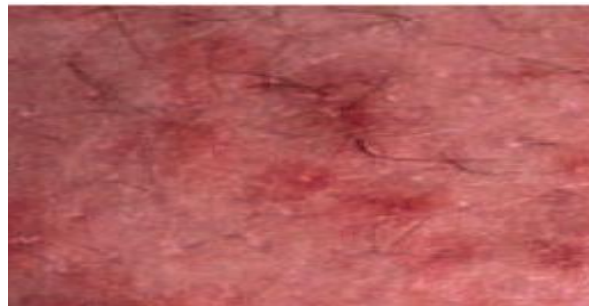
La syphilis est classée par clinique ou heure d'apparition :

#### I-4-1. Les stades de la maladie en fonction de la clinique

##### I-4-1-1. Syphilis primaire

Elle est associée à une diffusion bactérienne locorégionale lymphatique (Dupin, 2013). La syphilis primaire causée par se développe généralement après un contact sexuel sous la forme d'une sclérose solitaire initiale ou d'un chancre dur dans la région génitale (Fukuda et al., 2015).

Les patients peuvent présenter à leur médecin ce résultat s'ils le remarquent. Cependant, le site d'infection peut facilement passer inaperçu s'il se trouve dans une zone difficile à visualiser comme le col de l'utérus ou l'anus/rectum (Mattei et al., 2012).

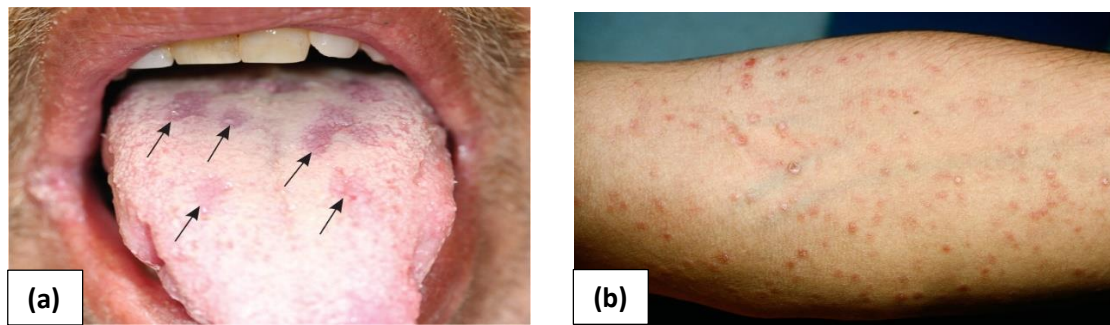


**Figure1** : éruption maculopapulaire typique sur la poitrine à la syphilis primaire (Nyatsanza et Tipple, 2016)

#### **I-4-1-2. Syphilis secondaire**

Elle est liée à une dissémination bactérienne systémique hémotogène. Elle est caractérisée par un exanthème roséoliforme, peu prurigineux, souvent discret. Elle peut passer inaperçue ou être confondue avec une virose ou une toxidermie (Dupin, 2013).

La syphilis secondaire résulte d'une multiplication généralisée de *T. pallidum* disséminé malgré des niveaux élevés d'anticorps anti-tréponémiques (Sparling et al., 2008). Cette étape, qui survient simultanément ou jusqu'à six mois après la cicatrisation du chancre, se caractérise généralement par un malaise, des maux de tête, une fièvre légère, une lymphadénopathie généralisée, une éruption cutanée localisée ou généralisée avec des lésions sur les paumes et la plante des pieds, des plaques muqueuses dans la cavité buccale ou le tractus génital (Stamm, 2016). La syphilis secondaire peut durer des semaines ou des mois. Des rechutes surviennent chez environ un quart des patients non traités (Stamm, 2015).



**Figure 2 :** Manifestations cliniques lors d'une syphilis secondaire

(a) manifestations mucocutanées (Mattei et al., 2012)

(b) Éruption cutanée associée à la syphilis secondaire (O'Byrne et MacPherson, 2019)

### I-4-1-3. Syphilis latente

La syphilis latente est la période allant de la disparition des manifestations du stade secondaire à l'apparition des manifestations du stade tertiaire (Sparling et al., 2008)

La syphilis latente est diagnostiquée chez les patients présentant des réactions sérologiques positives au tréponème pallidum, mais sans symptômes (Castro et al., 2007). En raison de l'absence des symptômes chez les patients, cela peut conduire à un retard dans le diagnostic et par conséquent, un retard de traitement aussi, des lésions au niveau du système nerveux, cardiovasculaire, squelettique, viscéral (Thami et al., 2001). La syphilis latente peut survenir lorsque le tréponème pallidum infecte initialement le corps humain ou lorsque les patients

atteints de syphilis reçoivent un traitement inapproprié (Liu et al., 2015).

### I-4-1-4. Syphilis tertiaire

La syphilis tertiaire, ou tardive, est un processus pathologique systémique multiviscéral. La syphilis tertiaire survient chez environ une personne sur trois non traitée mais infectée et peut être fatale. L'apparition des symptômes varie considérablement de quelques mois chez les personnes immunodéprimées ou de 3 à 30 ans chez les autres (Harmon et Robertson, 2019).

La maladie tertiaire est généralement divisée en maladie gommeuse (la plus courante), cardiovasculaire et neurologique. Des gommages profondes et destructrices peuvent

apparaître dans n'importe quel organe, mais affectent principalement la peau et les os (Nyatsanza F et Tipple, 2016)

La forme la plus courante de neurosyphilis actuellement diagnostiquée est la neurosyphilis asymptomatique. Les personnes atteintes de cette forme de neurosyphilis consultent un médecin en raison de preuves sérologiques de syphilis en l'absence de séquelles neurologiques (Berger et Dean, 2014).

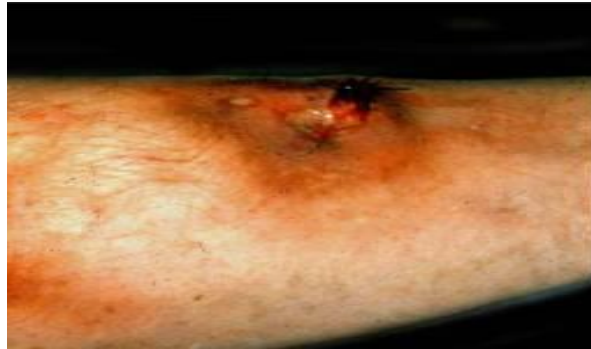


Figure3 : Gommages cutanées de la syphilis tertiaire (Carlson et *al.*, 2011)

#### **I-4-2. Les phases de la maladie selon le temps écoulé**

##### **I-4-2-1. La syphilis précoce**

La syphilis précoce comprend la syphilis primaire, secondaire et latente de moins d'un an (Delfosse, 2020). Elle est caractérisée par une forte contagiosité, un faible risque de séquelles neurologiques, un risque élevé de contamination materno-foetale et relève d'un traitement court (Cazanave, 2017).

##### **I-4-2-2. La syphilis tardive**

La syphilis tardive est d'une évolution supérieure à 1 an. Elle comprend la syphilis latente tardive et la syphilis tertiaire (Delfosse, 2020). Elle est caractérisée par une faible contagiosité, un fort risque de séquelles neurologiques, l'absence de risque de contamination materno-foetale et nécessitent une prise en charge plus longue (Cazanave, 2017).

#### **I-4-3. Cas particuliers**

##### **I-4-3-1. Syphilis congénitale**

La syphilis congénitale est une infection qui sévit chez les nourrissons ou les fœtus. Elle est contractée pendant la grossesse de mères non traitées ou insuffisamment traitées de la syphilis (Workowski et Bolan, 2015).

La syphilis congénitale peut provoquer une fausse couche, une mort in utero ou une mort précoce du nourrisson. Les nourrissons infectés peuvent éprouver des problèmes physiques et neurologiques tout au long de leur vie (Kimball et al., 2020) comme la paralysie cérébrale, l'hydrocéphalie, la surdité de perception, des déformations musculo-squelettiques, voire la mort (Choudhri et al., 2018).



**Figure 4 :** Syphilis congénitale (Lisa et al., 2007).

#### **I -4-3-2. Neurosyphilis**

Le terme neurosyphilis fait référence à une infection impliquant le système nerveux central (SNC) et contrairement à la syphilis primaire, secondaire et tertiaire, peut survenir à tout moment après l'infection. Ce dernier survient généralement des années ou des décennies après l'inoculation initiale (Ha et al., 2019).

La neurosyphilis a été divisée en stades précoces et tardifs. Les stades précoces comprennent L'infection par *T. pallidum* peut affecter les méninges, le cerveau, le tronc cérébral, la moelle épinière, les racines nerveuses et les vaisseaux sanguins cérébraux et rachidiens (Berger et Dean, 2014). Tandis que les stades avancés comprennent la démence paralytique et le tabès dorsal.

Le diagnostic de neurosyphilis symptomatique nécessite de répondre aux critères cliniques, sérologiques et de liquide céphalo-rachidien (LCR), tandis que le diagnostic de neurosyphilis asymptomatique repose sur la sérologie (Gonzalez et al., 2019).

#### **I -5. La réponse immunitaire contre l'infection à *T. pallidum***

L'infection naturelle ou expérimentale par *T. pallidum* induit des réponses immunitaires à médiation cellulaire et humorale. Au fur et à mesure que l'infection progresse, une immunité de surinfection existe pour protéger contre une nouvelle contamination (**Fauchere et Avril, 2002**). 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 (**Dao, 2008**).

### **I -5-1. La réponse innée**

La réponse immunitaire innée est une réponse non spécifique qui se met en place rapidement (**Kahi et karama, 2021**).

La réponse inflammatoire précoce à l'infection par *T. pallidum* est le plus souvent attribuée aux réponses immunitaires cellulaires innées et adaptatives locales. Les macrophages sont les principales cellules de la réponse immunitaire innée et jouent un rôle crucial dans la réaction inflammatoire précoce (**Lin et al., 2018**).

Après l'infection, la première réponse immunitaire humorale est la production d'anticorps de type Immunoglobuline M (IgM), mais ces immunoglobulines disparaissent rapidement après l'élimination de l'antigène (**RAVELOHERINTSOA, 2018**).

L'infection à *T. pallidum* active l'inflammasome NLRP3. Il est essentiel pour la médiation et la sécrétion de l'IL-1 $\beta$  par les macrophages (**Lin et al., 2018**).

Il a été démontré que l'IFN- $\gamma$  produit par les cellules NK activées par les cellules (DC) (et d'autres cellules) fournit un signal réciproque aux DC pour l'induction de l'IL-1 $\beta$ , générant finalement un milieu de cytokines qui favorise le développement d'une réponse type Th1 dans les cellules T lorsqu'elles sont amorcées dans les ganglions lymphatiques (**Martin-Fontecha et al., 2004**). Il a été démontré que l'IFN- $\gamma$  améliore les fonctions effectrices des monocytes en réponse aux constituants spirochètes et peut donc fonctionner pour accélérer le recrutement de cellules immunitaires clés sur le site de l'infection pendant les phases initiales de la maladie (**Moore et al., 2007**).

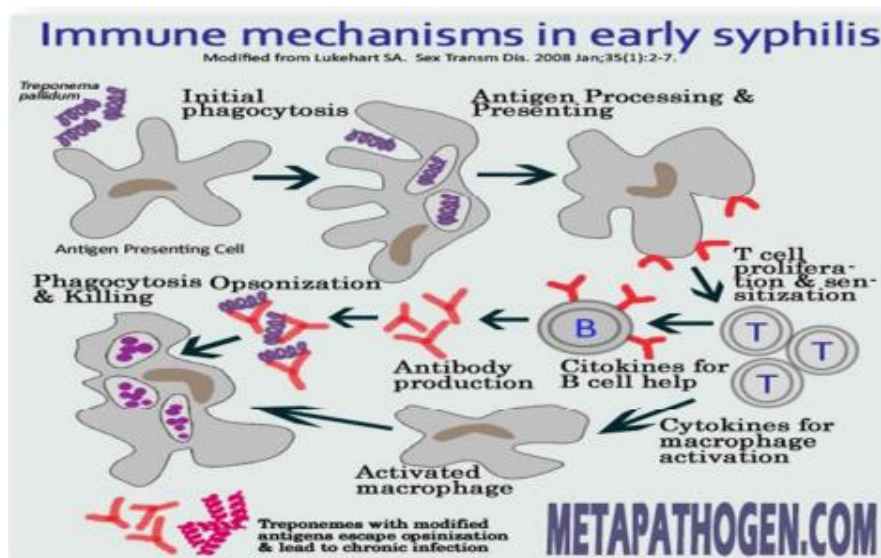
Ainsi, la phagocytose des spirochètes vivants initie des programmes d'activation cellulaire dans les monocytes et les DC qui sont qualitativement et quantitativement

distincts de celui induit à la surface cellulaire par les lysats riches en lipoprotéines (Salazar *et al.*, 2009).

### I-5-2. Réponse adaptatif

Nous avons constaté que le TpF1 induisait des réponses humorales et régulatrices chez les patients atteints de syphilis. Nous montrons que les cellules circulantes de patients atteints de syphilis comprennent une proportion de cellules CD4+, CD25+, Foxp3+, qui produisent du TGF- $\beta$  en réponse à TpF1. En outre, nous rapportons que la TpF1 est capable de stimuler les monocytes pour libérer les IL-10 et TGF- $\beta$ , les cytokines clés pour conduire la différenciation des cellules Treg (Babolin *et al.*, 2011).

Les lymphocytes T auxiliaires CD4+ sont impliqués dans la clairance bactérienne, principalement par la production de cytokines, telles que l'interféron gamma (IFN- $\gamma$ ), qui activent les macrophages. Les macrophages engloutissent et tuent ensuite les tréponèmes opsonisés. Il existe également des preuves que les cellules T cytolytiques activés par CD8+ sont impliqués dans les réponses immunitaires locales au sein des lésions (Leader *et al.*, 2007).



**Figure 5 :** La réponse immunitaire lors d'une infection par la syphilis (Benchetah, 2018).



## **Chapitre II :**

### **Généralités sur l'agent pathogène**

## II -1. L'agent causal

### I -2. Définition de l'agent causal

*T. pallidum* est responsable de la syphilis. C'est une bactérie microaérophile obligatoire qui convient parfaitement à l'invasion des tissus de mammifères par l'utilisation d'endoflagelles qui produisent des ondulations dans les ondes planaires progressives, entraînant ainsi son mouvement caractéristique en forme de tire-bouchon (Osbak et al., 2016).

#### II -1-1. Caractères bactériologiques

##### II- 1-1-1. Morphologie

Cette maladie est due à un spirochète hélicoïdal, de 6 à 15 microns de long et 0,2 micron de diamètre (Baranzelli, 2015).

Cette bactérie peut effectuer 3 types de mouvement : l'un est un mouvement sans vis, c'est-à-dire Mouvement de rotation, d'oscillation et d'ondulation autour d'un axe (Lacour, 2013).



Figure 6 : Le Spirochète *Treponema pallidum*. (300×130).

##### II- 1-1-2. Classification

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Spirochaetae</i>
Classe	<i>Spirochaetes</i>
Ordre	<i>Spirochaetales</i>
Famille	<i>Spirochaetaceae</i>
Genre	<i>Treponema</i>
Espèce	<i>T. pallidum</i> (Vandome ; 2010)

##### II -1-1-3. Coloration

Il est non colorable au Gram ; d'où la dénomination de tréponème pâle, mais possède les caractéristiques membranaires proches d'une bactérie Gram négative (Bing, 1907).

*T. pallidum* ne se colore pas bien par les colorants habituels. On l'observe habituellement à l'état frais au microscope à fond noir, ou après coloration spéciale (immunofluorescence, coloration argentique de Fontana-Tribondeau) (Freney et al., 1994).

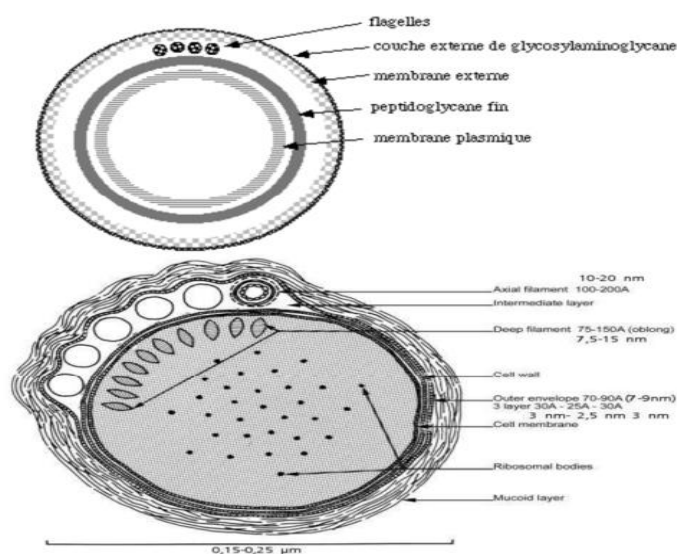
Il prend par contre le colorant de Giemsa et le violet de méthyle (Coloration de Vago).

#### II -1-1-4. Structure et Caractères antigéniques

La structure de *T. pallidum* est celle d'un spirochète, qui consiste en :

- Les trois couches externes sont enveloppées d'une couche de peptidoglycane,
- Sa forme est étroitement liée à celle des bactéries et elle est étroitement liée à la membrane plasmique sous-jacente de la cellule.
- Entre la membrane externe et le peptidoglycane se trouvent trois flagelles enroulés autour des bactéries, qui constituent les organes locomoteurs.

*T. pallidum* possède de nombreux antigènes, dont la plupart sont identiques aux autres antigènes Tréponèmes pathogènes.



**Figure7** : la structure et les parois de spirochètes (*T. pallidum*)

Les Tréponèmes pathogènes possèdent de nombreux antigènes, capables de susciter des réponses humorales et cellulaires intervenant dans l'évolution de la syphilis et autres tréponématoses

#### II -1-1-5. Culture

Tous les essais tentés pour obtenir la croissance de *T.pallidum* en milieu acellulaire in vitro ont échoué jusqu'à présent. Seulement les souches de Tréponèmes non pathogènes ont pu être régulièrement cultivées in vitro en anaérobiose (**David; Minor, 1989**).

### II -1-2. Pénétration

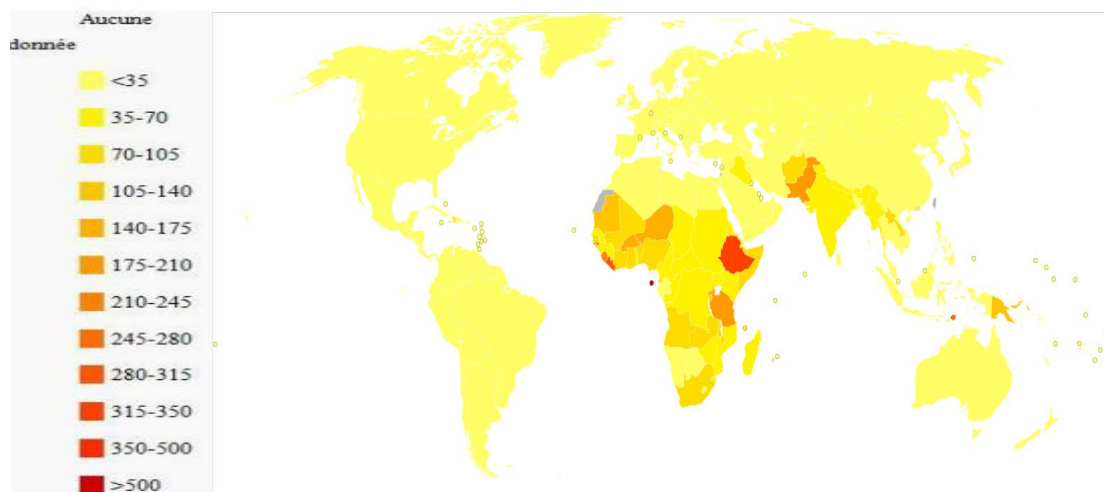
La transmission de *T. pallidum* à l'intérieur de l'organisme se fait par les muqueuses (couches de cellules qui recouvrent l'intérieur des organes creux qui entrent en contact avec l'air), peau lésée. Une fois que *T. pallidum* pénètre dans le corps, il commence à se reproduire : il envahit alors le système lymphatique. Dès quelques heures après l'inoculation (dans le corps), *T. pallidum* se propage et pénètre dans la circulation sanguine, puis il gagne d'autres organes et provoque l'apparition de la présentation clinique qui est généralement définie comme une syphilis secondaire (**Musher, 2005**).

Cependant, la manifestation la plus courante de la syphilis secondaire est mucocutanée. Elle provoque une éruption cutanée diffuse, une inflammation vasculaire et une augmentation de l'angiogenèse. Il est largement admis que l'angiogenèse peut être impliquée dans la syphilis à deux causes principales :

- Premièrement, les bactéries ont une capacité métabolique limitée, ce qui signifie que les agents pathogènes ont besoin du soutien de l'hôte pour obtenir les nutriments essentiels.
- Les microbes, d'autre part, peuvent exploiter les vaisseaux sanguins qui fuient pour pénétrer le sang circule et se propage à d'autres parties du corps du patient (**Young, 2002**).

### II -2. Épidémiologie

La syphilis est répandue dans le monde, mais son incidence varie selon les régions en relation avec la situation géographique et le groupe socio-économique. Elle est responsable d'un nombre important de mortalité dans le monde (**Figure 8**).



**Figure8 :** Nombre de décès à la suite des infections de syphilis sur 100 000 habitants en 2004 (Benloucif et Mahieddine., 2016)

### II -2-1. Épidémiologie de la syphilis dans le monde

En 1995, il y avait environ 12 millions de nouveaux cas de syphilis parmi la population adulte mondiale (**Gerbase, 1998**)

En Occident, la syphilis est devenue relativement rare, avec 200 000 cas enregistrés en 1999 (**OMS, 2001**). Il y a deux raisons à cela :

Après la période de liberté sexuelle des années après 1968, de grandes campagnes contre le SIDA ont veillé sur l'utilisation des préservatifs avec succès comme moyen de prévention du VIH depuis 1985. Il est en fait servi pour prévenir la syphilis aussi.

Alors, aujourd'hui, si quelqu'un contracte la syphilis, c'est une preuve de comportements sexuels à risque (homosexualité masculine avec plusieurs partenaires, consommation de drogues dures) (**Morell, 2001**).

### II -2-2. Épidémiologie de syphilis en Afrique

L'Afrique subsaharienne est la plus durement touchée avec 3,5 millions de cas en 1999 (**OMS, 2001**).

En 2008, le taux de séropositivité était estimé à 4,45% en Afrique centrale et 13,3% au Congo 19,4% dans les zones rurales et urbaines du Gabon. Le nombre estimé à près de 4 millions de cas de syphilis en Afrique subsaharienne (**Lewis, 2010**).

La prévalence de la syphilis chez certaines femmes enceintes dans les pays d'Afrique subsaharienne les plus touchés est : de 17,4% au Cameroun, de 8,4% en Afrique du Sud et de 7,14% au Mali (Nagalo, 2012).

### II -2-3. Épidémiologie de syphilis en Algérie

En 2006, le nombre de cas de syphilis représentait 0,53 % de ce pourcentage, soit une augmentation significative par rapport à ce qui avait été observé en 2005 : 0,44 % (TS Algerie, 2004)

Cinq régions sanitaires du pays ont participé à l'enquête transversale Surveillance sérologique de la syphilis en 2000, 2004 et 2007 Preuve de l'évolution de la dynamique épidémiologique en Algérie. L'enquête de séroprévalence du VIH et la syphilis a montré qu'ils ont presque doublé en 2007 par rapport à 2004 (Mokhtari et al., 2007).

### II -4.Diagnostic biologique

Le diagnostic repose sur des biomarqueurs qui détectent la présence de la bactérie et l'évolution biologique de la pathologie en mesurant les anticorps produits par le corps (IgG/IgM circulants) (Geneviève, 2010).

**Tableau 1** : Avantages et inconvénients des techniques de diagnostic de la syphilis (Caumes et Janier ., 2004) (Shah et Marfatia, 2019) (Le Pivert, 2015).

	Technique	Principes	avantages	Inconvénients
Des anticorps non tréponémiques	VDRL	Test d'agglutination utilisant un réactif lipidique en suspension colloïdale, qui est la seule qui soit encore pratiquée actuellement	Il est le plus utilisé, simple, peu coûteux et rapide	Sensibilité réduite dans la syphilis primaire et la syphilis latente tardive Résultats faussement positifs dus à une erreur technique et à des variations dans la population normale, dues aux auto-anticorps antiphospholipides (fausse positivité biologique)

Des anticorps tréponémiques	Test TPHA	Une réaction d'hémagglutination passive utilisant comme antigène des hématies animales sur lesquelles on a fixé un ultra-sonnât de tréponèmes.	Un test de routine, simple et peu coûteux	- Présence de faux négatifs - Rares faux positifs, notamment chez les femmes enceintes ou lors des maladies auto-immunes
	FTA abs	Il s'agit d'une réaction d'immunofluorescence indirecte sur lame. Réaction d'élimination Observation de sérums au microscope en raison de faux positifs d'anticorps non spécifiques (FTA-Abs) Suspension de Treponema non pathogène (souche Reiter).	Sensibilité élevée Lecture subjective Spécificité très élevée	Coût élevé Précocité de la positivation Possibles réactions croisées (assez rares)
	ELISA	permet de mettre en évidence des IgM, IgG ou anticorps totaux	Une sensibilité et une spécificité équivalente à celles du FTA, la possibilité de détecter les IgM. Elle est automatisable, peu coûteuse et quantitative	_Coût élevé par rapport au prix du remboursement d'un dépistage sérologique de la syphilis

**VDRL** : Venereal Disease Research Laboratory ; **TPHA** : *Treponema pallidum* Hémagglutination Assay ; **FTA abs** : Fluorescent Treponemal Antibody test ;

**ELISA** : Enzyme -Linked - Immunosorbent Assay

Traditionnellement, deux classes de tests sérologiques sont disponibles :

- Le test non tréponémique : détecte les anticorps dirigés contre les antigènes lipidiques non spécifiques présents chez l'hôte (réagine).
- Un test spirochète, qui détecte les anticorps contre les antigènes protéiques essentiellement spécifiques des spirochètes : ELISA (enzyme-linké immunoassay), une combinaison de test ELISA et TDR.

## II -5. Traitement

Après un diagnostic biologique de syphilis (*T. pallidum* et/ou preuve sérologique positive) un traitement doit être instauré. Il est basé sur l'antibiothérapie par la pénicilline benzathine (pénicilline G) (**Hosein, 2016**).



**Matériel  
et  
Méthodes**



### III. MATERIEL et METHODES

#### III-1-Cadre de l'étude

Notre étude a été réalisée à l'Hôpital Mohamed Boudiaf (Ouargla) plus précisément au sein du : Centre de Diagnostic Volontaire (CDV) et le Centre de Diagnostic Référence (CDR).

Le CDR a été ouvert le 24 mars 2020, mais le début de diagnostic sérologie était en septembre 2020, le CDV a été ouvert en 2020.

Les CDV et CDR s'occupent des analyses de routine et des analyses spécifiques. Des tests sérologiques sont réalisés sur des échantillons de sérums provenant d'individus cliniquement suspects de la syphilis à Ouargla.

Le CDV responsable de : les bilans prénuptiel ; Bénévoles participant au dépistage volontaire. Le CDR responsable des bilans préopératoires ; Patients hospitalisés par d'autres services de l'hôpital.

Pour les donneurs de sang, il existe un autre laboratoire du centre transfusion sanguine(CTS).

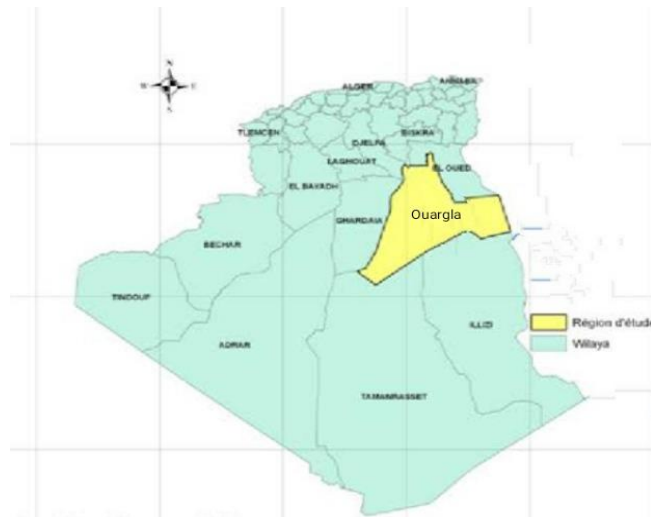
Les dossiers de CDV et de CDR enregistrés avec une demande de sérologie tréponématose sont étudiés.

Afin de détecter les anticorps dirigés contre la bactérie *T. pallidum*, deux types d'analyses sont effectués : le Test de Diagnostic Rapide (TDR) et la technique ELISA(Enzyme Linked Immunosorbent Assay).

#### III -2-Lieu d'étude (zone d'étude)

La wilaya d'Ouargla située au Sud-Est du pays. La wilaya d'Ouargla est marquée par un climat saharien, avec une pluviométrie qui s'est réduite et des températures élevées

(Idder et al.,2014)



**Figure9** : Carte géographique d'Ouargla ( Idder et al.,2014)

### III -3-Présentation des deux centres d'étude

Les deux centres de l'étude CDV et CDR sont composés de :

- Le CDV : contient une paillasse de Sérologie.
- Le CDR : avec une paillasse de Biochimie, bilan d'hémostase et une paillasse de sérologie.

### III -4-Type et période de l'étude

Il s'agit d'une étude prospective et rétrospective d'ordre de dépistage de la syphilis. L'étude prospective est déroulée du 01 Février 2023 au 31 Mars 2023 et l'étude rétrospective a été portée sur les données de diagnostic de la syphilis de la période allant de 17 Juin 2021 au 31 Janvier 2023.

### III -5-Population de l'étude

Cette étude inclus les patients dont la sérologie de syphilis a été demandée.

### III -6- Aspects éthiques

Cette étude a été réalisée après l'accord du directeur de l'Hôpital Mohamed Boudiaf (wilaya d'Ouargla) et les chefs services de CDV et CDR.

Le relevé des résultats sérologie de syphilis à partir des bases de données de laboratoire a été faite dans le respect de l'anonymat des patients et de la confidentialité de leurs données.

### III -7-Matériel utilisé

Le matériel et réactifs nécessaires pour réaliser cette étude a été citée dans **(l'annexe 3)**.

### III -8-Méthodes

Nous avons utilisé les méthodes : TDR et ELISA pour diagnostiquer la maladie de tréponématose (étude prospective et rétrospective). La troisième méthode est : TPHA concerne l'étude rétrospective (cette technique n'est plus pratiquée depuis l'an 2023).

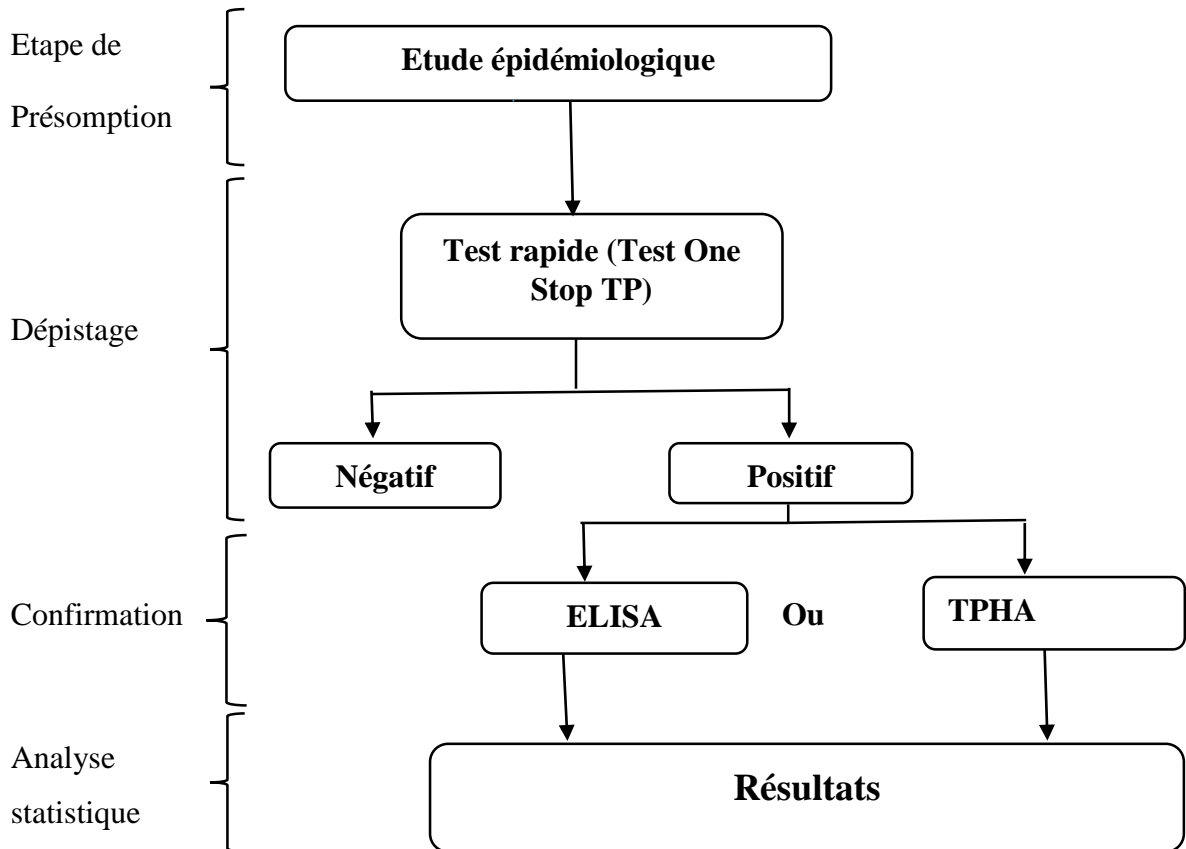


Figure10 : Schéma générale de protocole de l'étude

Nous peuvent faire TPHA ou ELISA bien que le test ELISA est plus spécifique.

#### III -8-1. Le Test de Diagnostic Rapide (TDR)

Le TDR est une technique qui permet un diagnostic clinique rapide au bout de 15 minutes pour avoir un traitement d'urgence adapté.

##### III -8-1-1. Principe

Le TDR « Test One Stop TP » est un test immuno-chromatographique de capture d'anticorps détectant la présence d'anticorps TP (anticorps dirigés contre *T. pallidum*) dans les échantillons de sang. Les antigènes TP spécifiques sont :

1. Conjugués avec de l'or colloïdal et déposés sur un tampon conjugué
2. Immobilisés sur la ligne de test sur membrane de nitrocellulose, lorsque le sérum ou le plasma l'échantillon est ajouté, il réhydrate le conjugué or-agent, et les anticorps TP s'il y en a dans les échantillons. Interagir avec l'antigène conjugué à l'or le complexe

antigène-anticorps-or migrera vers la fenêtre de test jusqu'à la zone de test (1) ou il sera capturé par l'antigène immobilisé, formant une ligne rouge visible (la bande de test indique des résultats positifs).

Si les anticorps TP sont absents de l'échantillon, aucune ligne rouge n'apparaîtra dans la zone de test (t).

### III -8-1-2.Préparation des échantillons (sérums)

Le sang est collecté dans des tubes EDTA. Après la décantation sanguine, les échantillons sont défibrés et centrifugés à 3000 tours/5 minutes pour récupérer le sérum/plasma utilisé dans la sérologie.

Le sang peut être conservé entre 2°C et 8°C jusqu'à trois jours si les tests ne peuvent pas être effectués immédiatement.

### III -8-1-3.Protocole du test TDR

1. Nous posons le testeur sur une surface Platte.
2. En tenant le compte-gouttes complet d'échantillon à la verticale, nous ajoutons trois gouttes (120µl) de sérum sans bulles d'air et les déposer dans le puits d'échantillon indiqué par une flèche sur le dispositif du test.

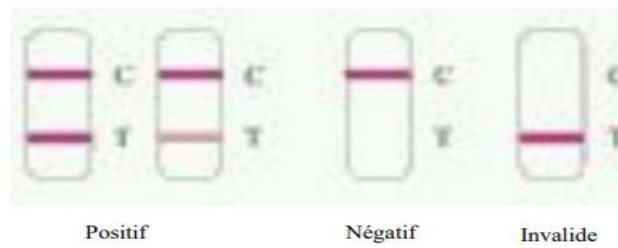


Figure11 : bandelette de test rapide pour la syphilis (TP)

### III -8-1-4. Lecture et interprétation des résultats

Les résultats sont interprétés en fonction de l'apparence de la ligne de contrôle (C) et de la ligne de test (figure12).

- **Le résultat est négatif** : apparence de la ligne rouge de contrôle (C) uniquement. Le test indique l'absence des Anticorps anti-*T. pallidum* dans l'échantillon.
- **Le résultat est positif** : s'il y a apparence de deux lignes rouges : ligne de contrôle (C) et ligne de test (T).
- **Les résultats sont invalides** : Aucune ligne n'apparaît ou bien seule la ligne de test (T) est visible.



**Figure12** : Les possibilités des résultats obtenus (Benloucif et Mahddieddine, 2016)

### III -8-1-5. Limites de la technique

- Le TDR ne peut pas faire la distinction entre la syphilis active et traitée.
- Parfois, le teste peut donner une fausse réaction.
- Les résultats positifs doivent être confirmés par une autre méthode disponible et interprétés conjointement avec les informations cliniques du patient.
- L'humidité et la température peuvent nuire aux résultats.

### 8-2- Test de TPHA

Le test TPHA est une technique qualitative de dépistage de la syphilis qui permet de connaître la positivité de l'échantillon (Raveloherintsoa ;2018)

#### III -8-2-1. Principe

Les cellules test s'agglutinent en présence d'anticorps spécifiques de *T.pallidum* et présentent des schémas de réticulation caractéristiques dans les puits des plaques de microtitration. Toutes les réactions non spécifiques se produisant sont détectées en utilisant les cellules témoins qui sont des érythrocytes aviaires non recouverts d'antigènes de *T.pallidum*. Les anticorps dirigés contre les tréponèmes non pathogènes sont absorbés par un extrait de tréponèmes de Reiter, inclus dans la suspension cellulaire testée.



**Figure13** : Réactifs du test TPHA

#### III -8-2-2.Procédure de test

1. Chaque échantillon nécessite 3 micro-puits.
2. Ajouté 190µL du diluant dans un puits.
3. Ajouter 10µL de l'échantillon dans un puits et bien mélanger.

4. Transférer 25µL du puit 1 aux puits 2 et 3.
5. Pour s'assurer que les cellules de test et de contrôle ont été bien homogénéisées, remettre en suspension avant utilisation.
6. Ajouter 75µL de cellules témoins au puits 2.
7. Ajouter 75µL de cellules test au puits 3.
8. Tapotez doucement la plaque pour bien mélanger le contenu.
9. Couvrir la plaque et incuber pendant 45 à 60 minutes.

### III -8-2-3. Lecture et interprétation des résultats

Les résultats sont observés sous 3 possibilités (voir : Figure 14):

- **Résultat négatif** :la formation d'anneaux très serrés aux arêtes vives (pas de voile) indique que c'est une réaction négative : Ag non identifié. Il n'y avait pas d'anticorps sériques.
- **Résultat positif** :le puits est entièrement recouvert d'un voile uniforme indique qu'il s'agit d'une réaction positive (réaction : Ac-Ag).
- **Résultat douteux** :est caractérisé par l'apparition d'un bouton cellulaire avec un petit trou au milieu. La répétition du test peut permettre de trouver un résultat concluant.



**Figure14** : Résultats obtenus du Test de TPHA(Benloucif et Mahddieddine, 2016)

**Remarque** : Cette méthode est ancienne et n'est plus utilisée dans le laboratoire CDR du fait de l'existence de méthodes avancées et rapides telles que : le test rapide et l'ELISA.

### III -8-3. Test ELISA

C'est une technique immuno-enzymatique qui nous permet de détecter et doser les antigènes ou anticorps présents dans le sérum.

#### III -8-3-1. Principe

La procédure est pour détecter les anticorps dirigés contre *T.pallidum* par ELISA « sandwich » (à double antigène). Elle est basée sur.

Employer une paire d'antigènes : l'un immobilisé au fond des puits de microtitration, et l'autre couplé à la peroxydase de raifort (HRP) comme solution de conjugué, pour capturer les anticorps anti-*Trepanoma pallidum* dans l'échantillon. Au cours du test, les anticorps TP existants dans l'échantillon réagiront avec ces antigènes pour former un immunocomplexe antigène-anticorps-antigène-HRP. Une fois que le matériau non lié a été lavé pendant la procédure de dosage, le substrat est appliqué pour indiquer le résultat du test. L'apparition d'une couleur bleue dans les puits de microtitration indique un résultat réactif au TP. L'absence de couleur indique un résultat non réactif dans l'échantillon.



**Figure15:** Réactifs utilisés pour le diagnostic de *T.pallidum* : Kit ELISA+ sérums

La technique ELISA comporte 12 étapes :

- 1- Préparer le nombre nécessaire de puits, y compris un puits pour le blanc, deux puits pour le contrôle négatif et le contrôle positif (sont utilisés pour s'assurer de la fiabilité du matériel) et un puits pour chaque échantillon.
- 2- Ajouter 100  $\mu$ l de contrôle positif, de contrôle négatif à chaque puits appropriés et d'échantillon dans leurs puits respectifs, à l'exception du blanc(**Figure16,b**)

**Remarque :** Utiliser un embout de pipette séparé pour chaque échantillon, control négatif, contrôle positif pour éviter la contamination croisée.

- 3- Couvrir la microplaque par film adhésif en appuyant bien sur les bords (**Figure16,d**).
- 4- Incuber la microplaque dans un incubateur sec de microplaque pendant 30 minutes à 37 C°.
- 5- A la fin de l'incubation, retirer et jeter le couvercle de la plaque. Laver chaque puits pendant 5 minutes avec un tampon de lavage dilué. A chaque fois, laisser les micro-puits s'immerger pendant 30 à 60 secondes. Après le dernier cycle de lavage, poser la plaque sur du papier buvard ou une serviette propre et tapotez-la pour éliminer tout résidu.
- 6- Distribuer 100  $\mu$ l de conjuguée HRP dans chaque puits, sauf le blanc (**Figure16,e**).
- 7- Recouvrir la microplaque par un film adhésif et incuber pendant 30 minutes à 37 C°.
- 8- A la fin de l'incubation, retirez et jetez le couvercle de la plaque. Lavez chaque puits pendant 5 minutes avec un tampon de lavage dilué. à chaque fois, laissez les micro-puits

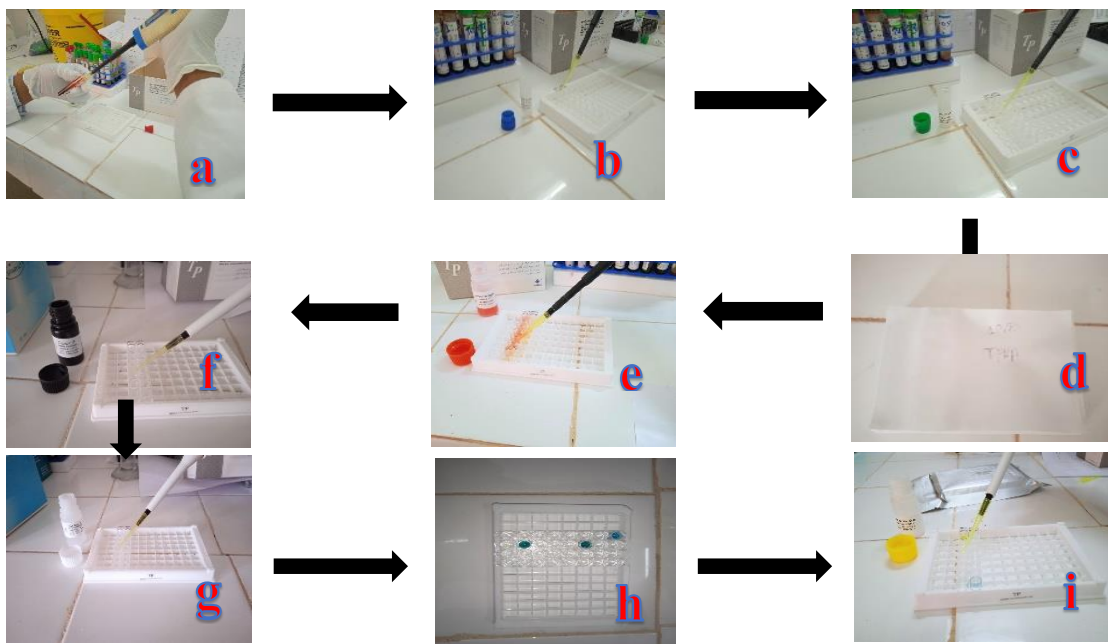
s'immerger pendant 30 à 60 secondes. Après le dernier cycle de lavage, posez la plaque sur du papier buvard ou une serviette propre et tapotez-la pour éliminer tout résidu.

9- Ajouter 50  $\mu\text{l}$  de solution de chromogène A et 50  $\mu\text{l}$  de solution de chromogène B dans chaque puits y compris le blanc (**Figure16,g**).

10- Incuber la plaque à 37 C° Pendant 15minutes en évitant la lumière, la réaction enzymatique entre la solution de chromogène et le conjugué HRP produit une couleur bleue dans les puits d'échantillons positifs.

11- A l'aide d'une pipette, ajouter 50  $\mu\text{l}$  de solution d'arrêt dans chaque puits (**Figure16,i**).

12- Lecture de la plaque à l'aide d'un lecteur de plaque (spectrophotomètre).



**Figure16** : les étapes de technique ELISA

13- **a ; b ; c** : Distribution des échantillons et contrôle négative et positive ; **d** : La microplaque couverte (Après l'ajoute d'échantillon) ; **e** : La distribution de conjuguées dans la microplaque ; **f ; g** : La distribution de la solution de chromogène A et chromogène B dans la microplaque ; **h** : La microplaque après l'incubation et lavage deux solution de chromogène ; **i** : L'ajoute de solution de stop dans la microplaque

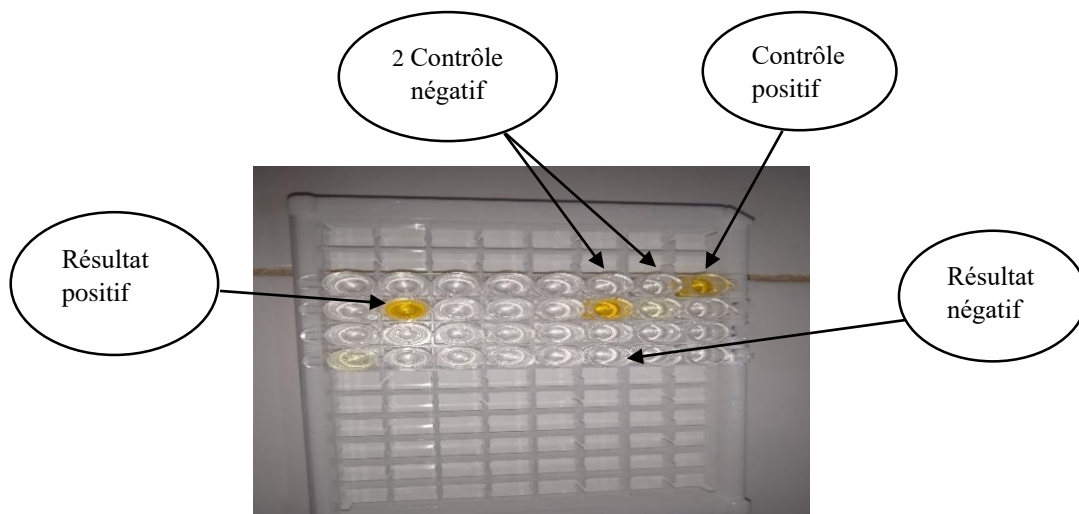
### III -8-3-2. Lecture et interprétation des résultats

La lecture de la densité optique à 450 nm à l'aide du spectrophotomètre est basée sur l'intensité de la couleur dans chaque puit.

L'intensité de la coloration(**Figure17**) est directement proportionnelle à la quantité d'enzyme présente et donc à la concentration d'anticorps (anticorps anti-TP) recherchée. Cependant,



l'inspection visuelle de la coloration du puits doit être déterminée par densité optique de chaque échantillon et le seuil pour une interprétation précise du soutien de la valeur des résultats.



**Figure17 : Résultat du test ELISA**

#### Calcul de valeur Cutt-off :

- $\text{Cutt-off} = 2,8 \times \text{NC}$
- $\text{NC} = (\text{NC1} + \text{NC 2}) / 2$
- NC c'est la valeur moyenne de l'absorbance de deux contrôles négatifs

#### Interprétation des résultats

- Les échantillons dont les valeurs d'absorbance sont supérieures ou égales à la valeur calculée à 450 nm à la valeur de Cutt-off sont considérés comme positifs.
- Les échantillons dont l'absorbance est inférieure à la valeur calculée à 450 nm à la valeur de Cutt-off sont considérés comme négatifs.
- Les échantillons positifs doit être confirmé par un autre test appelé : VDRL.

#### III -8-3-3. Limitations du test ELISA

- Les anticorps peuvent être pas détectables au stade précoce de la maladie et chez certains individus immunodéprimés
- La prévalence des marqueurs influence la valeur prédictive du test
- Les erreurs de test les plus courantes sont l'utilisation de kits périmés, des procédures de lavage inadéquates, des réactifs contaminés, des étapes de procédure de dosage incorrectes, une aspiration inadéquate pendant les lavages, une hémolyse sévère ou la chute d'échantillon contenant de la fibrine, d'échantillon de sérum incomplètement coagulé.

- Les résultats positifs doivent être confirmés par d'autres méthodes disponibles et interprétés conjointement avec les informations cliniques du patient
- Cet Anti-*T.pallidum* ELISA est un test qualitatif et les résultats ne peuvent pas être utilisés pour mesurer les concentrations d'anticorps.
- Ce test nécessite du temps pour collecter un grand nombre de patients.

**Résultats  
et  
Discussion**

## IV. RESULTATS

### IV -1.Résultats de l'étude épidémiologique

Des sérums provenant d'individus cliniquement suspects de la syphilis ont été analysés. Au total 600 patients ont été recensés, dont 386 de CDV et 214 de CDR. Les différentes caractéristiques des échantillons (cas déclaré, genre, âge, site, renseignements cliniques) sont décrites dans le tableau et la figure ci-dessous(**Tableau2**).

#### IV -1-1.Répartition des malades selon le cas déclaré

Parmi les patients analysés, 61 sont révélés positifs (10,2 %) (37 pour CDV et 24 pour CDR) en TDR ou en ELISA et 539 négatifs (89,3 %) (349 pour CDV et 190 pour CDR). Le taux de prévalence de syphilis active est de 10,2 % (**Tableau 2**).

**Tableau 2** : Fréquence de positivité de syphilis à CDV et CDR

Résultats	CDV	Taux(%)	CDR	Taux(%)
Positif	37	9,6%	24	11,2%
Négatif	349	90,4%	190	88,8%
Total	386	100%	214	100%

Tous les 539 sérums négatifs sont testés par la TDR. Aussi, les 61 sérums positifs sont tous testés par la TDR et 22 sérums parmi eux sont confirmés positifs par le test ELISA. Sur les 61 patients testés séropositifs, 7 (11,4%) présentent une co-infection avec le VIH. Le test de confirmation a été fait par le TDR et l'ELISA dans le laboratoire du CDR.

#### IV -1-2.Répartition des malades selon la tranche d'âge

Sur les 38 patients infectés par la syphilis diagnostiqué dans le CDV, la majorité des sujets infectés 23 (60,5 %) sont âgés de 28 à 37 ans, suivi de la tranche d'âge de 38 à 47 ans. Les sujets non infectés sont de la tranche d'âge moins de 20 ans et de 67 à 78 ans(**Tableau 3**).

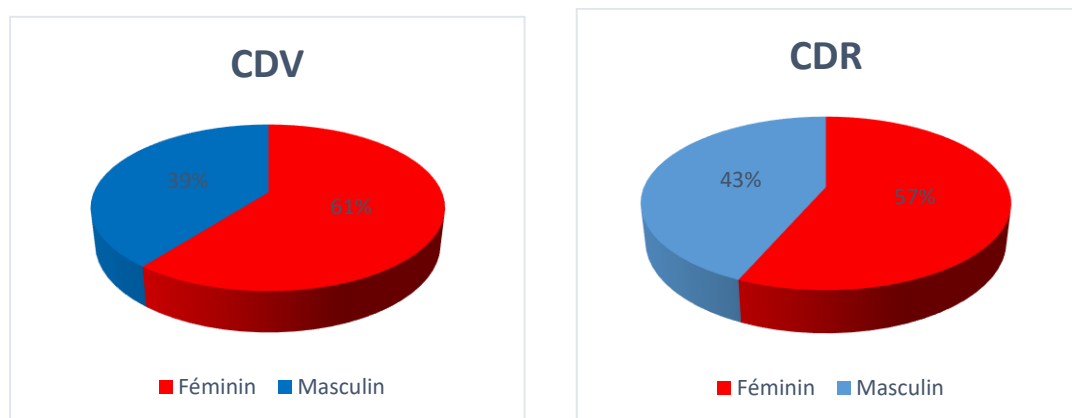
En CDR, sur les 23 patients infectés, 11 (47,8 %) sont aussi âgées de 28 à 37 ans. Les jeunes de moins de 20 ans et les patients âgés de 67 à 78 ans sont moins contaminés(**Tableau 3**).

**Tableau 3** : Distribution de population par tranche d'Age selon le sexe

Age / Genre	18-27		28-37		38-47		48-57		58-67	
	F	H	F	H	F	H	F	H	F	H
Nombre de patients	80	57	142	96	87	53	29	30	14	12

**IV -1-3.Répartition des patients et des résultats selon le genre**

Le genre féminin constitue la majorité des patients (36 patients, soit 59,01 %) (**Figure 3**).

**Figure 18** : Fréquence des malades selon le centre de prélèvement.**IV -1-4.Répartition des malades selon l'aspect clinique**

La grossesse est l'information clinique la plus signalée par les sujets examinés, soit 8%. Suivi par un pourcentage de 11% de cas présentant une co-infection avec le VIH

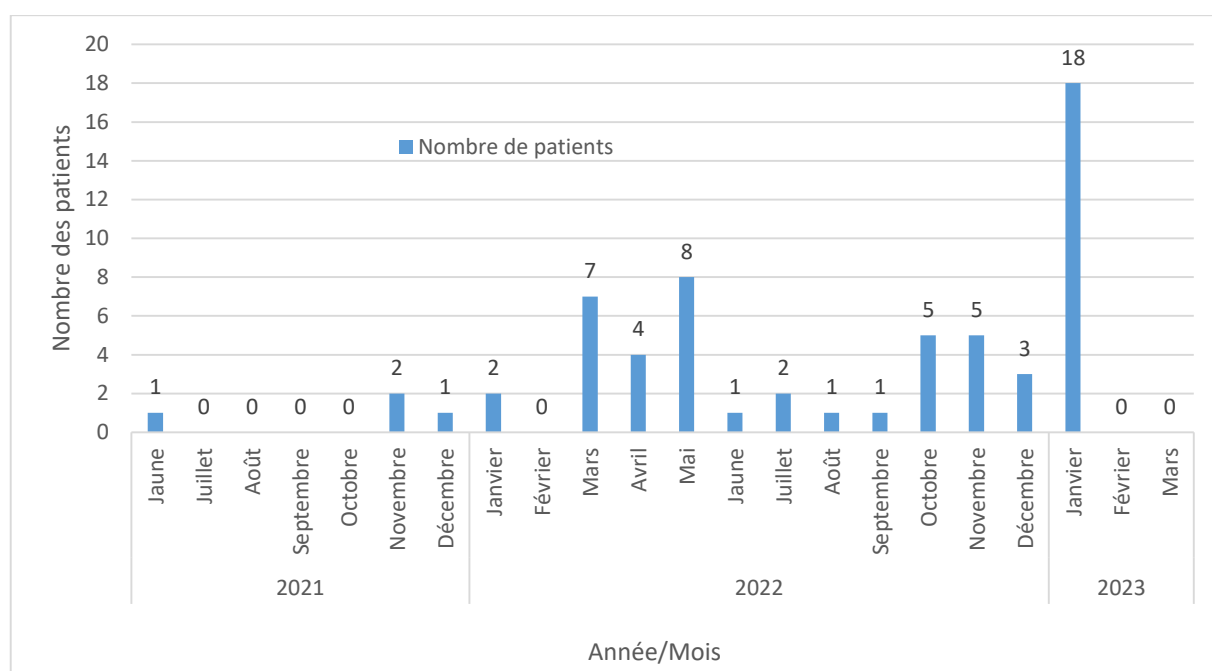
**Tableau 4** : Fréquence des malades selon les motifs de consultation

Renseignements cliniques	Cas positifs
Grossesse	5
Prurit vaginal	2
Infecté par VIH	7
Infecté par HBS	1
Aucun	46

#### IV -1-5.Répartition annuelle/mensuelle des malades enregistrés

Durant Presque deux ans de l'étude s'étalent du Juin 2021 à Mars 2023, et sur une totalité de 61 cas ayant diagnostiqués par la syphilis, nous avons remarqué que :

La valeur maximale de cas est enregistrée en Janvier 2023 (18 cas, soit 29,50%) et une valeur minimale (Aucun cas n'a été enregistré) en (Juillet, Aout, septembre, Octobre 2021 et Février, mars 2023.



**Figure19** : Incidence de la syphilis à Ouargla dans la période (Juin 2021 à Mars 2023)

#### IV -1-6.Répartition des malades selon Région

Il y a une augmentation de l'incidence de la syphilis dans la région de Ouargla de 32 cas. Les autres wilayas avec des taux élevés sont In Salah (14 cas) et Tamanrasset (12 cas). Les résultats de Tamanrasset et Ain Salah, ils ont été réalisés par l'équipe du Centre d'examen volontaire de la wilaya d'Ouargla, avec une campagne de volontariat à Tamanrasset et Ain Salah.

**Tableau 5** : Fréquence des malades selon la région des malades

Région de patients	Nombre de patients analysés			Taux (%)
	CDV	CDR	Total	
Ouargla	17	15	32	52,46 (%)
Tamanrasset	12	0	12	19,68 (%)
In Salah	14	0	14	22,96 (%)
Alger	2	0	2	3,27 (%)
Batna	1	0	1	1,63 (%)

## DISCUSSION

La population étudiée comprenait au total de 600 patients dont 334 femmes soit 55,7%. Le diagnostic de la syphilis a eu lieu au niveau de 2 centres : CDR et CDV en utilisant deux techniques immuno-sérologiques : ELISA et TDR. Dans notre étude, 61 des 600 sujets testés ont été testés positifs, 7 Parmi eux étaient infectés par le VIH, un patient était infecté par l'hépatite B et 5 sujets sont en grossesse.

Concernant les techniques de diagnostic, nous avons utilisé deux techniques selon la disponibilité des kits au laboratoire.

Alors que les techniques qui détectent les anticorps tréponémiques : ELISA a été utilisé pour 214 prélèvements, pour seulement 386 prélèvements par le TDR

Pour les deux technologies, les tests effectués ne peuvent pas être basés sur la localisation (neurosyphilis ou syphilis congénitale), mais ne détecte que la présence de la bactérie.

Préparation d'anticorps anti-antigène *T. pallidum* dans le sérum humanité.

Les méthodes immuno - enzymatiques telles que l'ELISA sont largement utilisées dans la recherche médicale Nous apprécions particulièrement la sensibilité et la simplicité de cette technique.

Le résultat des tests de dépistage montre que la fréquence de positivité de la syphilis dans l'Hôpital Mohamed Boudiaf de Ouargla est de 10,2%. En 1998, 64 cas notifiés à Oran, 7 cas à Tamanrasset, 3 cas à Biskra, Boumerdes, Tissemsilt et Tipaza, 2 cas à Sétif et Ouargla, (INSP) Ce taux enregistré à Oran est similaire à ce que nous avons trouvé. En Chine, pays considéré endémique, la prévalence totale de la syphilis varie de 0,5 à 40% selon les régions (**Strobel, 2004**). Donc, cette étude est proche en une partie à nos résultats.

Selon tranche d'âge, la population générale est âgée de 20 à 68ans avec un avec un pourcentage différent pour les deux sexes (44,3% d'hommes contre 55,7% de femmes).

La tranche d'âge le plus élevé (28-37 ans) représente 41,7% (25/61). Ce résultat est proche de celui de l'étude qui a trouvé que 53,5% des malades avaient entre 21 et 30 ans (**Boudghene – Stambouli et al., 1999**).

Les jeunes femmes dont l'âge est compris entre 28 ans et 37 ans sont fortement représentées avec un taux de 24,59% (15/61) contre 16,39% (10/61) de jeunes hommes. Ce résultat se

rapproche de celui d'une étude faite au Québec en 2013 qui a trouvé que 83% de femmes ont moins de 35 ans, contre 45 % des cas masculins.

Les personnes âgées de 50 à 59 ans et celles de plus de 70 ans sont les moins séropositives, probablement parce qu'elles s'exposent moins au risque d'attraper la maladie. Selon les données publiées par l'OMS, la syphilis est plus fréquente dans la tranche d'âge de 15 à 49 ans (**Dede, 2006**).

Concernant le genre, de notre population positive, le sexe féminin prédomine avec un taux de 59,02% (36/61) contre 40,98% (25/61) de sexe masculin. Cette prédominance du sexe féminin est également décrite par une étude portant sur le sérodiagnostic de la syphilis vénérienne aux laboratoires de CDV et CDR à propos de 600 cas, trouve que 55,7% de ces patients était de sexe féminin, 44,3% de sexe masculin. Au contraire, au (**INSP**) ; 635 cas de syphilis ont été déclarés en 2013, la presque totalité des cas (95 %) concerne des hommes ; un taux de 87,5% de sexe masculin contre 12,5% de sexe féminin.

Concernant l'aspect clinique, et d'après cette étude, la co-infection avec le VIH est la plus signalée chez les sujets examinés, soit 7 cas (11%) suivi par les cas de grossesse, soit 5 cas (8%), par contre, le moins indiqué est la co-infection avec l'hépatite B et le prurit vaginal, soit 2 (3 %) patients seulement.

Cependant, l'infection à *T. pallidum* n'était significativement associée qu'aux symptômes suivants : démangeaisons vaginales, céphalées et leucorrhée.

Des auteurs ont trouvé dans leur étude des antécédents de fausse couche chez 33,7%, d'IST chez 60,7% et de co-infection syphilis-VIH chez 12,4%. Ils ont trouvé une forte association entre la survenue de la syphilis pendant la grossesse et ces antécédents (**Gedeon, K et al ., 2017**).

En 2000, TRAORE, le centre de santé de référence de la ville de Mali, a trouvé un taux de séropositivité de 4% chez les femmes enceintes. L'interprétation de la sérologie de la syphilis chez les femmes enceintes peut être compliquée par la présence de réactions faussement positives liées à la grossesse (**Traore, 2009**). En effet, la dernière Enquête Nationale de Séroprévalence (ESN-2003) l'estimait à 8,2% (**Ministre de la Santé Publique, 2010**).

Les résultats obtenus de la co-infection syphilis/VIH est similaire à celles trouvés par en 2020 dans quatre déférentes provinces d'Algérie (Annaba, Oran, Tamanrasset, Alger) qui a une prévalence de 0,71% (**La Cartographie, 2020**).



En 2000, le taux de séropositivité pour le VIH chez les patients IST était de 0,75% (**Ministère De La Santé, 2000**).

En 2006, BROU a identifié cinq patients atteints de syphilis infectés par le VIH à Paris (**Brou, 2006**).

En effet, les résultats obtenus démontrent que la syphilis est présente en Algérie (Ouargla). Cette maladie devrait donc être suivie de près en mettant comme objectif la prévention de la syphilis pour minimiser l'incidence de la maladie.

### Conseils et Perspective

Ils sont basés sur :

- Dépistage systématique de la syphilis ;
- traitement précoce des lésions infectieuses ;
- Santé publique et éducation sociale (**Helene Et Odette, 1992**).

Vous devez également suivre les étapes suivantes :

- Utilisation de préservatifs en latex ou en polyisoprène (l'utilisation d'un préservatif n'élimine pas entièrement à risque de transmission, car les lésions syphilitiques peuvent se produire sur des parties du corps non couvertes par un préservatif, mais l'utilisation continue réduit les risques).
- Tests de dépistage et, si nécessaire, traitement nécessaire.
- Éviter de partager du matériel de consommation de drogue (HOSEIN, 2016).
- Dépistage régulier des infections sexuellement transmissibles pour détecter les personnes infectées, mais asymptomatique.
- Construire une relation à long terme avec un seul partenaire (**Brunswick, 2010**).

# **Conclusion**

### Conclusion

La syphilis est une IST en hausse dans le monde après les espoirs d'éradication, il y a un quart de siècle, grâce à la pénicilline.

Le tréponème reste incultivable et la sérologie par les méthodes indirectes représente la solution du problème de diagnostic. Nous dépistons la syphilis par le test rapide CDR et ELISA. Notre étude est menée dans les deux laboratoires CDR et CDV de l'EPH Mohammed Boudiaf Ouargla sur les échantillons de demandeurs ou des cas suspects.

Le but principal de la sérologie de la syphilis est de déterminer les Ag anti-*T. pallidum*. L'étude a porté sur 600 échantillons de sérum de patients adultes.

La plupart des patients infectés sont des femmes et appartiennent à la tranche d'âge de : 28 à 37 ans. Les personnes âgées de : 68 à 77 ans sont les moins touchées.

Cependant, les techniques sérologiques ne permettent pas de conclure définitivement l'existence de la maladie à cause des faux positifs. Ces situations peuvent être dues aux réactions croisées avec un autre virus (VIH).

En bref, l'éducation du public et les soins appropriés aux patients suspects sont de bonnes stratégies pour prévenir et éradiquer la syphilis.

Le taux faible de détection de la syphilis est dû au manque de sensibilité de la société contre cette maladie. Aussi le manque d'importance de diagnostic de la syphilis par rapport à d'autres maladies classées IST. Il faut noter le manque de dépistage volontaire de la syphilis en dehors de quelques situations comme le don du sang

Enfin, nous proposons comme perspectives de ce travail :

- Réaliser d'autres techniques comme le VDRL (Venereal Disease Research Laboratory): pour comprendre les stades de la maladie, la PCR (polymerase chain reaction), le Western blot
- Analyse microscopique pour recherche bactériologiques afin d'éviter toute suspicion.
- Extension de l'étude à d'autres régions d'Algérie en recrutant des sujets avec ou sans suspicion de syphilis.

*Références*  
*Bibliographiques*

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**Anteric I, Basic Z, Vilovic K, Kolic K, Andjelinovic S**, Which theory for the origin of syphilis is true? *J Sex Med.* 2014 Dec ; 11(12):3112-8. doi : 10.1111/jsm.12674. Epub 2014 Sep 4

**APPLIQUEE, M. B. F. E. (2018).** *SERODIAGNOSTIC DE LA SYPHILIS VENERIENNE «Treponema pallidum» DANS LES COMMUNES URBAINES D'ANTANANARIVO ET DE TOAMASINA* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE D'ANTANANARIVO).

**Babolin, C., Amedei, A., Ozoliņš, D., Žileviča, A., D'Elis, M. M., & de Bernard, M. (2011).** TpF1 from *Treponema pallidum* activates inflammasome and promotes the development of regulatory T cells. *The Journal of Immunology*, 187(3), 1377-1384.

**Baughn.R.E ; Musher, D.M ; 2005 ;** Secondary syphilitic lesions ; *Clin Microbiol Rev* 18 ;  
**Steven.A ; Lowe.J.S ; Young.B ; 2002 ;** Anatomiepathologique ; de Boeck ;

**BEAUDEUX. J.Louis ; DURAND ;** Geneviève ; 201 ; *Biochimie médicale*  
Marqueurs actuels et perspectives ; Lavoisier ;

**BENCHETAH, Z. (2018).** *Dépistage Sérologique, Syphilitique Et Etude Epidémiologique Comparative entre EPSP, EPH et Laboratoire de privé dans la wilaya de Médéa* (Doctoral dissertation).

**BENTARIFET L., 2009.** Syphilis et grossesse. [Thèse de doctorat : Médecine] Suisse : Faculté de Médecine et de Pharmacie-RABAT ; 158 p

**Berger, J. R., & Dean, D. (2014).** Neurosyphilis. *Handbook of clinical neurology*, 121, 1461-

**Bonah, C., Linte, G., & Wenger, A. C. (2022).** *Maladies infectieuses sans fin. Le cas de la syphilis pour penser la mobilisation-démobilisation prophylactique (20 e-21 e s.)*. Georg.

**Boudghene –Stambouli O, Mered –Boudia A, Tchouar S et Benmezroua M.** Sexually transmitted disease hospital environment : observations made over nine years in the departement of dermato-venereology of Tlemcen (Algeria). *Journal of PAN-ARAB of Dermatologists*1999 ; 2 :5761

**Caumes E et Janier M -** Syphilis. Editions Techniques, Encycl. Méd. Chir. (Paris-France), maladies infectieuses, 8-039-A-10, 14p

**Carlson, J. A., Dabiri, G., Cribier, B., & Sell, S. (2011).** The immunopathobiology of syphilis : the manifestations and course of syphilis are determined by the level of delayed-type hypersensitivity. *The American journal of dermatopathology*, 33(5), 433.

**Castro R, Prieto E, Aguas M. J, Manata M. J, Botas J, Santo I, Azevedo J, Pereira F. L.** Detection of *Treponema pallidum* sp *pallidum* DNA in latent syphilis. *Int J STD AIDS.* 2007 ; 18:842–5.<http://dx.doi.org/10.1258/095646207782716901>

**CAZANAVE C.,** Etude descriptive rétrospective des cas de syphilis diagnostiqués au Centre Hospitalier de Périgueux entre le 3 avril 2001 et le 31 décembre 2014 ( 2017). Thèse pour l'obtention du Diplôme d'Etat de Docteur en Médecine Générale

## Références Bibliographiques

---

- \_Choudhri, Y., Miller, J., Sandhu, J., Leon, A., & Aho, J. (2018). La syphilis infectieuse et la syphilis congénitale au Canada, de 2010 à 2015. *Relevé des maladies transmissibles au Canada*, 44(2), 47-53.
- \_DAO, P. P. S. (2008). Sérodiagnostic de la syphilis vénérienne au laboratoire du CHU Gabriel TOURE de janvier 2007 à décembre 2008.
- \_DEDE A., 2006. La syphilis chez les jeunes en milieu scolaire dans cinq localités de Mali. [Thèse de doctorat : Médecine] Bamako : Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie ; 89 p.
- \_ Delfosse A., Prévalence et facteurs associés aux infections à *Treponema pallidum* chez les patients consultant en centre de dépistage à La Réunion sur la période janvier 2017 à mars 2020(2020). THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE
- \_Delfosse, A. (2020). Prévalence et facteurs associés aux infections à *Treponema pallidum* chez les patients consultant en centre de dépistage à La Réunion sur la période janvier 2017 à mars 2020.
- \_Dupin, N. (2013). Actualité sur la syphilis. *La Lettre de l'Infectiologue*, 28(3), 88-92.
- \_FAUCHERE J L. AVRIL J L, 2002. Bactériologie Générale et Médicale. Ellipses Edition Marketing S. A ; 332- 340 p
- \_Frederic.P ; Miller ; Agnes.F ; Vandome ; 2010 ; Syphilis Infection sexuellement transmissible *Treponema* ; Broché ;
- \_Fukuda, H., Takahashi, M., Kato, K., Oharaseki, T., & Mukai, H. (2015). Multiple primary syphilis on the lip, nipple–areola and penis : An immunohistochemical examination of *Treponema pallidum* localization using an anti-*T. pallidum* antibody. *The Journal of Dermatology*, 42(5), 515-517.
- \_Gerbase.AC ; Rowley.J.T ; Heymann.D.H.L. Berkley.S.F.B ; Piot.P ; 1998 ; Global prevalence and incidence estimates of selected curable STDs ; Sex Trans Infection ;
- \_Gonzalez, H., Koralnik, I. J., &Marra, C. M. (2019, August). Neurosyphilis. In *Seminars in neurology* (Vol. 39, No. 04, pp. 448-455). Thieme Medical Publishers.
- \_Harmon, E. D., & Robertson, E. W. (2019). Syphilis : A growing concern. *The Nurse Practitioner*, 44(8), 21-28.
- \_ Harris A, Rosenberg AA, Riedel LM. A microflocculation test for syphilis using cardiolipin antigen. *J Vener Dis Inf* 1964 ; 27:169–74.
- \_Ha, T., Tadi, P., & Dubensky, L. (2019). Neurosyphilis
- \_HOSEIN S., 2016. La syphilis. Edition La source canadienne de renseignement sur le VIH et l'hépatite C ; 8 p
- Idder, Tahar & Idder, Abdelhak & Tankari Dan-Badjo, Abdourahamane & Benzida, Amina & Merabet, Soumia & Negais, Hamza & Serraye, Aicha.** (2014). Les oasis du Sahara algérien, entre excédents hydriques et salinité.. *Revue des sciences de l'eau*. 27. 155. 10.7202/1025565ar.

## Références Bibliographiques

---

- Institut National de Santé Publique du Québec.** Portrait des infections transmissibles sexuellement et par le sang (ITSS) au Québec. 2013 ; 289 :158-62.
- JEDIDI, H., LAVERDEUR, C., DEPIERREUX-HARDY, F., & BECKERS, A.** UNE PETITE HISTOIRE DE LA SYPHILIS
- Kahi N et karama R ., (2021).**Diagnostiques sérologiques du VIH par la technique ELISA.
- KEROUI, M., MESBAH, I., HAMIOUD, N., & GUEMINI, I. (2022).** Diagnostic au laboratoire de la syphilis
- Kimball, A., Torrone, E., Miele, K., Bachmann, L., Thorpe, P., Weinstock, H., & Bowen, V. (2020).** Missed opportunities for prevention of congenital syphilis—United States, 2018. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 69(22), 661.
- (La Transfusion Sanguine en Algérie ; rapport ; 2004) .**
- Leader, B. T., Godornes, C., VanVoorhis, W. C., & Lukehart, S. A. (2007).** CD4+ lymphocytes and gamma interferon predominate in local immune responses in early experimental syphilis. *Infection and immunity*, 75(6), 3021-3026.
- Liu, A. Y., Zang, W. J., Yuan, L. L., Chai, Y. L., & Wang, S. (2015).** Latent syphilis among inpatients in an urban area of China. *Global journal of health science*, 7(3), 249.
- Lin, L. R., Liu, W., Zhu, X. Z., Chen, Y. Y., Gao, Z. X., Gao, K., ... & Yang, T. C. (2018).** Treponema pallidum promotes macrophage polarization and activates the NLRP3 inflammasome pathway to induce interleukin-1 $\beta$  production. *BMC immunology*, 19(1), 1-9.
- Lin, L. R., Xiao, Y., Liu, W., Chen, Y. Y., Zhu, X. Z., Gao, Z. X., ... & Yang, T. C. (2018).** Development of tissue inflammation accompanied by NLRP3 inflammasome activation in rabbits infected with Treponema pallidum strain Nichols. *BMC Infectious Diseases*, 18(1), 1-8.
- Lisa, F., Soumia, B. A., & Meriem, S. E. (2007).** *Etude rétrospective et statistique de la syphilis en Algérie* (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).
- Marwa, B., & Hala, M.** Dépistage et prévalence de la Syphilis sur le don du sang au niveau du centre de transfusion sanguins Sidi Mabrouk Constantine.
- Maatouk, I., & Moutran, R. (2014).** History of syphilis : between poetry and medicine. *The journal of sexual medicine*, 11(1), 307-310.
- Martin-Fontecha, A., L. L. Thomsen, S. Brett, C. Gerard, M. Lipp, A. Lanzavecchia, and F. Sallusto. 2004.** Induced recruitment of NK cells to lymph nodes provides IFN- $\gamma$  for T(H) 1 priming. *Nat. Immunol.*5:1260-1265
- Mattei, P. L., Beachkofsky, T. M., Gilson, R. T., & Wisco, O. J. (2012).** Syphilis : a reemerging infection. *American family physician*, 86(5), 433-440.
- Mattei, P. L., Beachkofsky, T. M., Gilson, R. T., & Wisco, O. J. (2012).** Syphilis : a reemerging infection. *American family physician*, 86(5), 433-440.



## Références Bibliographiques

---

- \_Moore, M. W., Cruz, A. R., LaVake, C. J., Marzo, A. L., Eggers, C. H., Salazar, J. C., & Radolf, J. D. (2007). Phagocytosis of *Borrelia burgdorferi* and *Treponema pallidum* potentiates innate immune activation and induces gamma interferon production. *Infection and immunity*, 75(4), 2046-2062.
- \_ Nyatsanza, F., & Tipple, C. (2016). Syphilis : presentations in general medicine. *Clinical Medicine*, 16(2), 184.
- \_O'Byrne P et MacPherson P., (2019).Syphilis  
(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6598465/>)
- \_Osbak, K. K., Houston, S., Lithgow, K. V., Meehan, C. J., Strouhal, M., Šmajš, D., ...& Van Raemdonck, G. A. (2016). Characterizing the syphilis-causing *Treponema pallidum* ssp. *pallidum* proteome using complementary mass spectrometry. *PLoS neglected tropical diseases*, 10(9), e0004988
- \_Osioy, C., Giles, E., Trubnikov, M., Choudhri, Y., & Andonov, A. (2015). Characterization of acute and chronic hepatitis B virus genotypes in Canada. *PloS one*, 10(9), e0136074.
- \_ PIETTE F, BERGOEND H. La syphilis. In LAFFONT A, ALBEAUXPERNET M, AZERAD E, BERNARD H et al, 1980. Encycl. Méd. Chir. Maladies Infectieuses. 8039 A10, 7
- \_ Salazar, J. C., Duhnam-Ems, S., La Vake, C., Cruz, A. R., Moore, M. W., Caimano, M. J., ... & Radolf, J. D. (2009). Activation of human monocytes by live *Borrelia burgdorferi* generates TLR2-dependent and-independent responses which include induction of IFN- $\beta$ . *PLoS pathogens*, 5(5), e1000444
- \_Shah D, Marfatia YS. Serological tests for syphilis. **Indian J Sex Transm Dis AIDS**. 2019 Jul-Dec ; 40(2):186-191. doi : 10.4103/ijstd.IJSTD\_86\_19. PMID : 31922115 ; PMCID : PMC6896393.
- \_Sparling PF, Swartz MN, Musher DM, Healy BP. In : *Holmes KK, Sparling PF, Stamm WE, Piot P, Wasserheit JN, Corey L, Cohen MS, Watts DH, editors. Sexually Transmitted Diseases, 4th edition*. New York : McGraw Hill ; 2008. Chapter 37. Clinical manifestations of syphilis. pp. 661–684.
- \_Stamm, L. V. (2016). Syphilis : Re-emergence of an old foe. *Microbial Cell*, 3(9), 363
- \_Stamm, L. V. (2015). Syphilis : antibiotic treatment and resistance. *Epidemiology & Infection*, 143(8), 1567-1574.
- \_Terrab, Z., Hassar, I., Benchikhi, H., & Lakhdar, H. (2004). Diagnostic biologique de la syphilis. *MarocMédical*, 26(4).
- \_Thami G. P, Kaur S, Kanwar A. J. The changing face of syphilis : from mimic to disguise. *Arch Dermatol*. 2001 ; 137:1373–1374
- \_ Workowski KA, Bolan GA. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *MMWR Recomm Rep* 2015 ; 64(No. RR-3)

**Annexe**

## ANNEXE

## ANNEXE I : L'ensemble des résultats de l'étude

Date	Sites de prélèvement des patients	Age (ans)	Sexe	RC	Technique utilisé	Région	Résultats sérologiques
18-6-21	CDV	30	M	RC	TDR	Ouargla	Positif
2-11-21	CDR	34	M	RC (VIH)	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
23-11-21	CDV	46	M	RCA	TDR	Ouargla	Positif
27-1-22	CDV	31	M	RCA	TDR	Tammenrasset	Positif
29-1-22	CDV	38	F	RCA	TDR	Ouargla	Positif
1-3-22	CDR	32	M	RC (hbs)	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
2-3-22	CDV	65	M	RCA	TDR	Ouargla	Positif
18-3-22	CDV	50	M	RCA	TDR	Tammenrasset	Positif
18-3-22	CDV	35	F	RCA	TDR	Tammenrasset	Positif
18-3-22	CDV	38	F	RCA	TDR	Tammenrasset	Positif
19-3-22	CDV	50	M	RCA	TDR	Tammenrasset	Positif
21-3-22	CDV	60	F	RCA	TDR	Tammenrasset	Positif
19-4-22	CDR	39	F	RCA	ELISA	Ouargla	Positif
19-4-22	CDR	42	F	RCA	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
19-4-22	CDR	28	F	RCA	ELISA	Ouargla	Positif
19-4-22	CDR	29	F	RCA	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
11-5-22	CDR	32	F	RCA	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
23-5-22	CDR	34	F	RCA	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
24-5-22	CDV	26	F	RCA	TDR	Ouargla	Positif
24-5-22	CDR	31	F	RCA	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
24-5-22	CDV	40	M	RCA	TDR	Ouargla	Positif
30-5-22	CDR	50	M	RCA	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
30-5-22	CDR	40	M	RCA	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
30-5-22	CDR	31	F	RCA	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
23-6-22	CDR	45	M	RC (inf)	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
12-7-22	CDV	24	M	RCA	TDR	Tammenrasset	Positif
13-7-22	CDR	51	M	RCA	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
31-8-22	CDR	36	M	RCA	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
15-9-22	CDR	38	M	RC (VIH)	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
9-10-22	CDV	40	M	RCA	TDR	Batna	Positif
17-10-22	CDV	35	F	RCA	TDR	Ouargla	Positif
17-10-22	CDR	25	F	RCA	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
17-10-22	CDR	26	F	RCA	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
18-10-22	CDR	35	F	RCA	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
10-11-22	CDR	28	F	RC (VIH)	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
23-11-22	CDR	37	M	RC (VIH)	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
29-11-22	CDV	39	M	RCA	TDR	Tammenrasset	Positif
31-11-22	CDR	44	M	RCA	TDR/ELISA	Alger	Positif
31-11-22	CDR	32	F	RCA	TDR/ELISA	Ouargla	Positif
1-12-22	CDV	24	M	RCA	TDR	Alger	Positif
13-12-22	CDR	29	F	RC (inf)	TDR/ELISA	Ouargla	Positif

## Annexe

13-12-22	CDV	33	F	RCA	TDR	Ouargla	Positif
25-1-23	CDV	33	M	RCA	TDR	Tammenrasset	Positif
25-1-23	CDV	30	F	RCA	TDR	Ouargla	Positif
30-1-23	CDV	25	F	RCA	TDR	Tammenrasset	Positif
30-1-23	CDV	40	F	RC (HIV)	TDR	Tammenrasset	Positif
30-1-23	CDV	30	F	RCA	TDR	Ain Salah	Positif
30-1-23	CDV	50	F	RCA	TDR	Ain Salah	Positif
30-1-23	CDV	35	M	RCA	TDR	Ain Salah	Positif
30-1-23	CDV	30	F	RCA	TDR	Ain Salah	Positif
30-1-23	CDV	43	F	RCA	TDR	Ain Salah	Positif
30-1-23	CDV	42	M	RCA	TDR	Ain Salah	Positif
30-1-23	CDV	23	F	RCA	TDR	Ain Salah	Positif
30-1-23	CDV	50	M	RCA	TDR	Ain Salah	Positif
30-1-23	CDV	63	F	RCA	TDR	Ain Salah	Positif
30-1-23	CDV	51	F	RC (VIH)	TDR	Ain Salah	Positif
30-1-23	CDV	28	F	RCA	TDR	Ain Salah	Positif
30-1-23	CDV	31	F	RCA	TDR	Ain Salah	Positif
30-1-23	CDV	33	F	RCA	TDR	Ain Salah	Positif
30-1-23	CDV	40	F	RCA	TDR	Ain Salah	Positif

**M** : Masculin ; **F** : Féminin ; **RC** : Renseignement clinique ; **RCA** : Renseignement clinique absent.

### ANNEXE II : Les cas positif et négatif au niveau de wilaya de Tammenrasset en 2022

Mois	Cas positifs	Cas négatifs	Pourcentage (%)
Janvier	1	70	2,94
Février	5	60	14,71
Mars	2	109	5,88
Avril	0	51	0,00
Mai	5	93	14,71
Juin	1	70	2,94
Juillet	3	71	8,82
Aout	1	73	2,94
Septembre	3	139	8,82
Octobre	9	154	26,47
Novembre	1	68	2,94
Décembre	3	99	8,82
Total	34	1057	3,22

**ANNEXE III : Réactifs de la technique TPHA**

- Microplaque de 96 puits
- Contrôle positif
- Contrôle négatif
- Cellule d'essai
- Cellule de contrôle
  
- Diluant

**ANNEXE IV : Réactifs de la technique ELISA**

- Microplaque de 96 puits
- Solution de lavage
- Contrôle positif
- Contrôle négatif
- Chromogène A
- Chromogène B
- Conjugué HRP
- Solution de stop

**ANNEXE V : les appareils utilisés dans ELISA**



**Figure.** L'appareil de la centrifugation



**Figure.** L'incubateur



**Figure.** Un appareil de lavage



**Figure.** L'appareil de lecture







# One Step Strip Style Syphilis (TP) Serum/Plasma Test

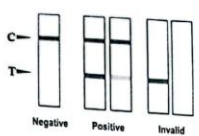
Catalogue no.TP331

Read the result in 10 minutes. Read results as shown under interpretation of Results

**NOTE** Specimens with high concentrations of TP antibodies may produce positive result in as little as 1 minute. Confirm negatives in 20 minutes

**DO NOT INTERPRET RESULTS AFTER 30 MINUTES**

### RESULT INTERPRETATIONS



**Negative**  
A pink colored band appears only at the control region (C), indicating a negative result for *Treponema pallidum* infection.

**Positive**  
A clear pink control band (C) and a detectable test band (T) appear, indicating a positive result for *Treponema pallidum* infection.

**Invalid**  
No visible band at the control region (C). Repeat with a new test device. If test still fails, please contact the distributor with the lot number

### QUALITY CONTROL

Although the testing device contains an internal quality control (pink colored band in the control region), good laboratory practice recommends the daily use of an outside control to ensure proper testing device performance. Quality control samples should be tested according to the standard quality control requirements established by your laboratory.

### STORAGE AND STABILITY

- Test device in the sealed pouch should be stored at 2-30°C. Do not freeze the test device.
- The bottle containing the buffer should be stored at 2-30°C.
- The test device should be kept away from direct sunlight, moisture and heat.

### LIMITATIONS

- This product is an *in vitro* diagnostic test designed for professional use only.
- Humidity and temperature can adversely affect results.
- The instructions for the use of the test should be followed during testing procedures.
- There is always a possibility that false results will occur due to the presence of interfering substances in the specimen or factors beyond the control of the manufacturer, such as technical or procedural errors associated with the testing.
- Although the test demonstrates superior accuracy in detecting HCV infections, a low incidence of false results can occur. Therefore, other clinically available tests are required in case of questionable results. As with all diagnostic tests, a definitive clinical diagnosis should not be based on the results of a single test, but should only be made by the physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

#### 1. Diagnostic Sensitivity and Specificity

The clinical performance of One Step TP Test has been evaluated by a comparison study with a currently marketed TP test device at external clinical sites. 320 clinic samples were studied, of them, only 2 samples showing discordant. The details of result are tabulated below

Results of One-step TP test	Results of commercial kits		Subtotal
	Positive	Negative	
Positive	151	1	152
Negative	1	167	168
Subtotal	152	168	320

Specificity: 167/168 = 99.4%  
Sensitivity: 151/152 = 99.3%  
Overall agreement: (151+167) / 320 = 99.4%

#### 2. Analytic Specificity

The effect of seromarkers associated with unrelated medical conditions on the specificity of the One Step TP Antibody Test was assessed using a panel of specimens. The seromarkers studied were: Human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis B virus seromarkers (HBsAg, anti-HBc IgG/IgM, and anti-HBs), hepatitis A virus IgM (anti-HAV), herpes simplex virus IgG (HSV), cytomegalovirus (CMV) IgG/IgM, Epstein-Barr Virus (EBV) IgG/IgM, human T-lymphotrophic virus (HTLV), rubella IgM, anti-E. Coli, *Helicobacter pylori* (HP) IgG/IgM, mycoplasma IgM, C-reactive protein (CRP), antistreptolysin O titre (ASOT), rheumatoid factor (RF). Two tests from each of the two lots of HCV Antibody Rapid tests were carried out for each of the panel samples. The test panel was comprised of 185 HCV antibody negative specimens. Of the 185 specimens, 85 contained one or more of the seromarkers while 100 were health negative specimens. The results demonstrated that One Step TP Antibody Test kits have no significant cross-reactivity with these specimens.

#### 3. Reactivity with Low Titre TP Antibody Performance Panel

A low titre TP antibody panel consisting of 6 specimens and a Performance panel consisting of 20 A low titre TP antibody panel consisting of 6 specimens and a Performance panel consisting of 20 members, obtained from a commercial source (Syphilis Qualification Panel QSS701, ACCURUN members, obtained from a commercial source (Syphilis Qualification Panel QSS701, ACCURUN 155 Anti-Treponema Positive control Series 5000), were tested in comparison with CE licensed anti-TP EIA tests. The results of the study demonstrated that One Step TP Antibody Test was capable of detecting antibodies against TP similarly to the licensed anti-TP EIA tests.

#### 4. Reactivity with National Reference of Anti-Syphilis Serum Control Panel (National Institute for the control of Pharmaceutical and Biological Product

Institute for the control of Pharmaceutical and Biological Product consist of very One Step TP Antibody test device has been test with SFDA standard panel consist of very One Step TP Antibody test device has been test with SFDA standard panel consist of very all specific 10 positive and 20 negative samples. For positive samples, TP device test positive for all specific 10 positive and 20 negative samples. For positive samples, TP device test positive for the 10 positive sample, For 20 negative samples, there is 1 samples tested very weak positive. The test results meet the requirement of panel. The detail results show as table below.

Sample No	Panel Positive Sample Test							
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8
Test Result	+	+	+	+	+	+	+	+

Sample No	Panel Negative Sample Test							
	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8
Test Result	-	-	-	-	-	-	-	-

### 5. Interference

The following substances and conditions were found not to interfere with the test. List of potentially interfering chemical analytes and concentrations tested are as follows:

Acetaminophen	20 mg/dl
Acetylsalicylic acid	20 mg/dl
Ascorbic acid	20 mg/dl
Caffeine	20 mg/dl
Genesic acid	20 mg/dl
Phenylpropanolamine	20 mg/dl
Salicylic acid	20 mg/dl
EDTA	80 mg/dl
Benzoylperoxide	10 mg/dl
Altoprin	20 mg/dl
Cannabitol	10 mg/dl
Ethanol	1%
Methanol	1%
Nagapan	1%
Citrate	3.2%
Albumin	2.000 mg/dl
Glucose	2.000 mg/dl
Bilirubin	2.000 mg/dl
Hemoglobin	2.000 mg/dl

### 6. Reproducibility

The precision was determined by replicate assays of both positive and negative samples with devices from three different production lots. The resultant data indicated no appreciable difference between lot variation when testing both positive and negative samples across three different lots.

### REFERENCES

1. Stoner B, Schmid G, Guralib M, Adam T, Broutet N. Use of maternal syphilis seroprevalence data to estimate the global morbidity of congenital syphilis. Amsterdam: Meeting of the International Society for Sexually Transmitted Diseases Research (ISSTD); July 10-13 2005
2. <http://www.aids.org/gaio/Global-HIV-News/HIV-STIs/HIV-co-infection-common-with-syphilis>
3. Evaluation of the Determine Syphilis TP assay for the detection of antibodies against *Treponema pallidum* for the serodiagnosis of syphilis. H. Zhuang & Y. Tian & Y. Chen & J. Tang
4. Wang & P. Li & Q. Li & Y.-Q. Jiang Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2011 Aug 25; 21:663-673.
5. Clinical evaluation of four recombinant *Treponema pallidum* antigen-based rapid diagnostic tests for syphilis. J Li, H-Y Zheng, L-N Wang, Y-X Liu, X-F Wang, X-R Liu Journal of the European Academy of Dermatology and Venerology, Volume 23, Issue 6, pages 648 - 650, June 2009.
6. Prospective, Multi-Centre Clinic-Based Evaluation of Four Rapid Diagnostic Tests for Syphilis. D Masey, R W Peeling, R Ballard, A S Benzaken, E Galban, J Changalucha, D Everett, R Balira, D Fitzgerald, P Joseph, S Nerette, J Li, and H Zheng STI. 2006;82(Suppl V):v13-v16.
7. Evaluation of the Determine Rapid Syphilis TP Assay Using Sera Theresa Diaz,1,2, Maria de Gloria Bonecini Almeida,2 Ingeborg Georg,3 Suely de Carvalho Maia,3 Rogério Valls de Souza,4 and Lauri E. Markowitz5 Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, January 2004, p. 98-101, Vol. 11, No. 1.
8. Rolfs RT et al. A randomized trial of enhanced therapy for early syphilis in patients with and without human immunodeficiency virus infection. The Syphilis and HIV Study Group. N Engl J Med 1997 Jul 31; 337:307-14.
9. Berger JR et al. Syphilitic cerebral gumma with HIV infection. Neurology 1992 Jul; 7:1282-7.
10. Gordon SM et al. The response of symptomatic neurosyphilis to high-dose intravenous penicillin G in patients with human immunodeficiency virus infection. N Engl J Med 1994 Dec 1; 331:1469-73.
11. Musher DM and Baughn RE. Neurosyphilis in HIV-infected persons. N Engl J Med 1994 Dec 1; 331:1516-7.
12. Horowitz HW et al. Cerebral syphilitic gumma confirmed by the polymerase chain reaction in a man with human immunodeficiency virus infection. N Engl J Med 1994 Dec 1; 331:1488-91.
13. Katz DA et al. Neurosyphilis. A comparative study of the effects of infection with human immunodeficiency virus. Arch Neurol 1993 Mar; 50:243-9.
14. Berry CD et al. Neurologic relapse after benzathine penicillin therapy for secondary syphilis in a patient with HIV infection. N Engl J Med 1987 Jun 18; 316:1587-9.
15. Diaz T, de Gloria Bonecini Almeida M, Georg I, et al. Evaluation of the Determine Rapid Syphilis TP assay using sera. Clin Diag Lab Immunol 2004; 11:98 - 101.
16. Bulletin of the World Health Organization 2004;82:439-446.
17. <http://whqlibdoc.who.int/publications/2007>

### INDEX OF SYMBOLS

- Do not reuse
- LOT Batch code
- In vitro diagnostic medical device
- Use by
- Temperature limitation
- Contains sufficient for <n> tests
- Caution
- REP Catalog number
- Manufacturer
- Consult instructions for use
- Authorized representative in the European community
- CE Mark

Doc No. A02-09-213

REVISION: June, 2013

## ANNEXE VI :Fiche technique de test TPHA

Prestige

## TREPONEMA PALLIDUM HAEMAGGLUTINATION ASSAY – TPHA ASSAY

CAT NO	DESCRIPTION	PACK SIZE
SYPTRN1	TPHA FULL KIT (Positive and Negative Control)	100 T
SYPTRN2	TPHA FULL KIT (Positive and Negative Control)	200 T

**Intended Use:**

The TPHA test is a sensitive and specific indirect haemagglutination test for the detection of antibodies to *Treponema pallidum* in human serum and plasma. For in-vitro diagnostic use by trained professionals only.

**Assay Principle:**

Preserved avian erythrocytes are coated with antigenic components of pathogenic *T. pallidum*. These test cells agglutinate in the presence of specific antibodies to *T. pallidum* and show characteristic cross-linkage patterns in the wells of microtitre plates. Any non-specific reactions occurring are detected using the control cells which are avian erythrocytes not coated with *T. pallidum* antigens. Antibodies to non-pathogenic treponemes are absorbed by an extract of Reiter's treponemes, included in the test cell suspension.

**Appearance, Preparation and Stability:**

Reagents must be stored upright at all times.

Discard any reagent that is contaminated or do not demonstrate correct activity with controls.

Unopened products are stable up to expiry when stored tightly capped at 2 - 8°C. Opened vials are also stable up to expiry when stored without contamination and tightly capped at 2 - 8°C. Do not freeze.

Bring all reagents and controls to room temperature before use. Kit controls must be run with each assay. Ensure that the test and the control cells are thoroughly re-suspended.

**Reagent Composition:**

Name	Description	100 tests	200 tests
TEST CELLS	Preserved avian erythrocytes sensitised with <i>T. pallidum</i> antigen.	8 ml	16 ml
CONTROL CELLS	Preserved avian erythrocytes.	8 ml	16 ml
DILUENT	Buffered solution	20 ml	40 ml
POSITIVE CONTROL	Human serum containing antibodies against <i>Treponema pallidum</i> . Prediluted 1/20. Will provide a titre of 1/640 to 1/2560 with the quantitative assay.	1x1ml	1x1ml
NEGATIVE CONTROL	Human serum free from antibodies against TP.	1x1ml	1x1ml

**Warnings and precautions:**

- Kit controls contains material of animal origin.
- All human samples should be handled and disposed of according to the local guidelines.
- Reagents contain Sodium azide (0.1%) which can accumulate in lead and copper pipes to form potentially explosive salts.

**Specimen Collection:**

Use fresh serum or plasma samples free of cells and microbial contamination. After the clear serum is separated it can be stored at 2 - 8°C for 7 days and at -20°C for longer periods.

**Materials required but not provided:**

Automatic pipettes (10ul, 25ul, 75ul and 190ul), U well microplates.

**Procedure:****Qualitative Assay:**

- Each sample requires 3 microwells.
- Add 190 µl of diluent to well 1.
- Add 10 µl of sample to well 1 and mix well. (Note that the Kit controls are provided pre-diluted)
- Transfer 25 µl from well 1 to wells 2 and 3.
- Ensure that the test and control cells have been thoroughly re-suspended before use.

- Add 75 µl of control cells to well 2.
- Add 75 µl of test cells to well 3.
- Tap the plate gently to mix the contents thoroughly.
- Cover the plate and incubate for 45-60 minutes or overnight in an area which is away from heat, direct sunlight and vibration at 15 - 30°C. Read the agglutination patterns. Patterns are stable if undisturbed.

**Semi-Quantitative assay:**

- Each sample requires 9 wells of a microtitre plate.
- Add 190 µl of diluent to well 1.
- Add 25 µl of diluent to wells 4 through to 9.
- Make a 1/20 dilution by adding 10 µl of serum to well 1. Mix well.
- Transfer 25 µl of the 1/20 dilution to wells 2,3 and 4.
- Mix the 1/40 dilution created in well 4 and transfer 25 µl to well 5.
- Repeat this step until the serial dilution has been completed discarding 25 µl from the last dilution well.
- Ensure that the test cells and control cells have been thoroughly re-suspended.
- Add 75 µl of Test cells to wells 3,4,5,6,7,8 and 9.
- Add 75 µl of Control cells to well 2.
- Tap the plate gently to mix the contents.
- Cover the plate and incubate for 45-60 minutes or overnight in an area which is away from heat, direct sunlight and vibration at 15 - 30°C.

**Non-Specific Absorption step:**

Very occasionally the presence of non-specific antibodies can result in agglutination of both the test cells and control cells. In this instance the sample should be re-tested once the following absorption step has been completed:

- Add 10 µl of sample to 190 µl of re-suspended control cells, mix thoroughly and leave for 30 minutes.
- Centrifuge to deposit the cells at a minimum of 1500g for 3 minutes.
- Add 25 µl of supernatant from step 2 to each of 2 wells.
- Ensure Test and Control cells are re-suspended.
- Add 75 µl of Test cells to the first well.
- Add 75 µl of Control cells to the second well.
- Mix wells thoroughly and incubate at 15 - 30°C on a vibration free surface for 45-60 minutes.
- Read and interpret patterns as above.

**Performance Characteristics:**

**Specificity:** A study on 300 donor serum showed 100% specificity. (95% confidence limits 98.8 - 100%)

A study on 300 donor EDTA plasma showed 100% specificity (95% confidence limits 98.8 - 100%)

**Sensitivity:** A study of 100 syphilis positive samples showed 100% sensitivity (95% confidence limits 96.6 - 100%).

**Analytical Sensitivity:** The TPHA reagents are prepared to a sensitivity between 0.025 and 0.1 IU/ml against the 1<sup>st</sup> International Standard for human syphilitic plasma IgG and IgM NIBSC code 05/132.

Prestige Diagnostics UK Ltd 40 Ballymena Business Centre, Galgorm, Co. Antrim, BT42 1FL, United Kingdom. Tel: +44 (0) 28 2564 2100

V4: rev Dec 2019

**READING AND INTERPRETATION:**

Kit controls must give a positive result for the Positive Control and a negative result for Negative Control. When the Positive Control (in the kit) is titrated the expected end point is 640 – 2560.



POSITIVE

EQUIVOCAL NEGATIVE

- A sample where the Test cell is non-reactive should be considered as negative for *T. pallidum*.
- A sample where the Test cell is reactive indicates presence of antibodies to *T. pallidum* resulting from a syphilis infection. The sample should be repeated in duplicate. Where 2 or more results are positive the sample should be considered as positive for *T. pallidum*.
- A repeated equivocal sample should be considered positive.
- Where a sample is reactive in both Test and Control cells, if the agglutination is greater in the Test cells then the sample is considered positive and should be repeated as above.
- Where a sample has greater or equal agglutination in the Control cells then the sample should be absorbed using the Non specific Adsorption step.
- The result from this test should not be used as the sole criteria for the diagnosis of Syphilis infection. Results should be confirmed using an alternative test method and confirmed diagnosis should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.

**References:**

1. Rathlev T – Haemagglutination tests utilising antigens from pathogenic and apathogenic *Treponema pallidum* WHO/VDT/RES 1965:77-65.
2. Tomizawa T., Kasamatsu S – Haemagglutination tests for the diagnosis of Syphilis: A preliminary report – Japan. J. Med Sci Biol 19, 305-308, 1966.
3. Wasley G.D & Wong H.H.Y: Syphilis Serology Principles and Practice: Oxford Medical Publications 104-105.

REF	Catalogue number	LOT	Temperature limitation
U	Consult instructions for use	Batch code	
IVD	In vitro diagnostic medical device	Use by Date	
M	Manufacturer		

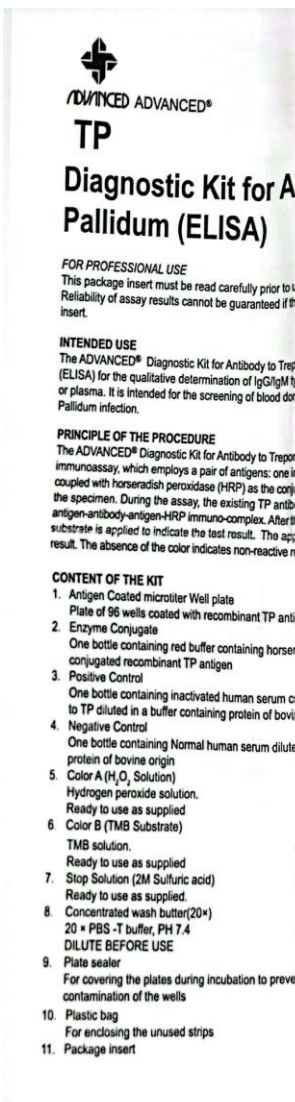


Prestige Diagnostics UK Ltd 40 Ballymena Business Centre, Galgorm, Co. Antrim, BT42 1FL, United Kingdom.

Tel: +44 (0) 28 2564 2100

V4: rev Dec 2019

## ANNEXE VII :Fiche technique de test ELISA



CAT. NO. ITP24003  
01.05.03.1007-170902

**ADVANCED ADVANCED®**  
**TP**  
**Diagnostic Kit for Antibody to Treponema Pallidum (ELISA)**

**FOR PROFESSIONAL USE**  
This package insert must be read carefully prior to use. Package insert instructions must be carefully followed. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

**INTENDED USE**  
The ADVANCED® Diagnostic Kit for Antibody to Treponema Pallidum is an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the qualitative determination of IgG/IgM type antibodies to Treponema Pallidum (TP) in human serum or plasma. It is intended for the screening of blood donors and for aid in the clinical diagnosis related to Treponema Pallidum infection.

**PRINCIPLE OF THE PROCEDURE**  
The ADVANCED® Diagnostic Kit for Antibody to Treponema Pallidum is an ELISA based, double antigen "sandwich" immunoassay, which employs a pair of antigens: one immobilized at the bottom of the microtiterwells, and the other coupled with horseradish peroxidase (HRP) as the conjugate solution, to capture antibodies to Treponema Pallidum in the specimen. During the assay, the existing TP antibodies in the sample will react with these antigens to form an antigen-antibody-antigen-HRP immuno-complex. After the unbound material is washed off during the assay procedure, a substrate is applied to indicate the test result. The appearance of blue color in microtiterwells indicates TP reactive result. The absence of the color indicates non-reactive result in the specimen.

**CONTENT OF THE KIT**

1. Antigen Coated microtiter Well plate Plate of 96 wells coated with recombinant TP antigen	1 plate(96 wells)
2. Enzyme Conjugate One bottle containing red buffer containing horseradish peroxidase conjugated recombinant TP antigen	1×15 ml
3. Positive Control One bottle containing inactivated human serum consisting of antibodies to TP diluted in a buffer containing protein of bovine origin	1×1 ml
4. Negative Control One bottle containing Normal human serum diluted in a buffer containing protein of bovine origin	1×1 ml
5. Color A (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Solution) Hydrogen peroxide solution. Ready to use as supplied	1×14 ml
6. Color B (TMB Substrate) TMB solution. Ready to use as supplied	1×14 ml
7. Stop Solution (2M Sulfuric acid) Ready to use as supplied	1×14 ml
8. Concentrated wash buffer(20×) 20 × PBS -T buffer, PH 7.4 DILUTE BEFORE USE	2×25ml
9. Plate sealer For covering the plates during incubation to prevent evaporation or contamination of the wells	3 pcs
10. Plastic bag For enclosing the unused strips	1 pc
11. Package insert	1 copy

**MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED**

1. Pipettes capable of delivering 1-1000µl
2. Pipette tips
3. 37°C incubator
4. Deionized or distilled water
5. Microtiter well plate washer
6. Microtiter well Plate or Strips reader with 450nm measuring wavelength and reference filter (615-690nm)

**WARNINGS AND PRECAUTIONS**

1. For professional use only.
2. The reagents are for in vitro diagnosis only.
3. Shake each liquid reagent gently before testing.
4. Do not use kit beyond the expiration date.
5. Do not mix reagents from different lots.
6. Avoid microbial contamination of reagents.
7. Avoid exposing Color B solution to strong light, metal, or oxidants. It should be colorless. Otherwise, it must be discarded.

**SAFETY INSTRUCTIONS**

1. Warning-potential biohazards material: this kit contains human blood components. Handle as if capable of transmitting infectious agents. No known test method can offer complete assurance that products derived from human source material will not transmit infection, therefore, all blood derivatives should be considered potentially infectious, it is recommended that these reagents and human specimens be handled using established good laboratory working practices. The Positive Control has been inactivated by heat treatment.
2. Do not smoke or eat in areas where specimens or kits are handled.
3. Do not pipette by mouth. Wear PVC disposable gloves when handling reagents or specimens, and wash hands thoroughly when finished.
4. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite. Non-acidic liquid waste can be diluted to a final concentration of 1.0%. Acidic liquid waste requires neutralization before similar treatment and should stand for 30 minutes to obtain effective disinfection.
5. Avoid contact sulfuric acid with skin or mucous membranes. If it comes in contact with skin, wash with tap water immediately.

**SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE**

1. Serum and plasma containing normal dosage of common anticoagulants, such as Sodium citrate plasma, EDTA plasma or citrate plasma samples may be used. Collect serum or plasma specimens following regular clinical laboratory procedures. Separate the serum from the clot or plasma from the red cells as soon as possible to avoid hemolysis.
2. Specimens containing sodium azide or particulate matter may give erroneous results.
3. Store samples at 2 to 8°C. Samples not required for assay within seven days should be removed from the clot or cell pellet and stored frozen (-15°C or colder). Avoid multiple freeze-thaw cycles. After thawing, ensure samples are thoroughly mixed before testing

**REAGENT STORAGE**

1. The reagent kit must be stored at 2-8°C. Use up the reagents as soon as possible after the kit is unpacked.
2. If the whole plate is not completely used, cover the unused wells with the plate sealer, take it into the plastics bag along with the desiccant and store it at 2-8°C.
3. Concentrated washing solution should be stored at room temperature to avoid crystallization. If the crystal has been precipitated before use, warm up the solution in a 37-40°C water bath till crystal dissolves.

**PREPARATION OF REAGENTS**

Wash Buffer:

- a. Dilute 1 part of concentrated wash buffer with 19 part of deionized or distilled water. Mix well
- b. Wash buffer may be stored at room temperature for 1 week.

**ASSAY PROCEDURES**

**SEMI AUTOMATED PROCESSING**

1. Bring all Reagents and Specimens to room temperature (18-25°C) for the assay. Swirl gently before use.
2. Prepare the needed number of wells, including one Well for Blank, two wells for Negative Control, two wells for Positive Control, and one well for each Specimen. Write down the serial numbers for the Controls and Specimens on the data sheet.

3. Add 100µl Specimen, Negative Control and Positive Control to each appropriate well according to the data sheet. (Reserve 1 well for blank)
4. Tap the plate to mix.
  - Note: Do not splash liquid onto the slip.
5. Incubate the plate in a 37°C incubator for 30minutes.
6. Wash each well five times with wash buffer by wash procedure:
  - a. Washing must be performed strictly according to the instructions, as incomplete washing will adversely affect the test outcome.
  - b. Aspirate the well contents completely into a waste flask. Then fill up the wells with wash buffer (350µl or more). Avoid overflow.
  - c. Make sure that no fluid remains on the strip holder and strips after the last aspiration (e.g., by blotting with absorbent tissue).
  - Note: Improper washing will cause false result.
7. Add 100µl Enzyme Conjugate working solution to each well.
  - Note: Do not touch the edge of well to avoid false result.
8. Incubate the plate in a 37°C incubator for 30minutes.
9. Wash each well five times with wash buffer by wash procedure.
10. Add 50µl Color A and 50µl Color B to each well in order, tap the plate to mix.
11. Incubate the plate in a 37°C incubator for 30 minutes in the dark.
12. Stop the reaction by adding 50µl Stopping Solution to each well (maintain the same pipetting sequence and time intervals used for color A/B). Tap the plate to mix.
13. Read the absorbance of the solution in each well at 450nm (single wavelength) or 450 and 630nm as reference (dual wavelength).
  - Note:
    - 1) Ensure the bottom of the plate clean and dry and no bubble in the well.
    - 2) Measure the OD value after adding the stop solution as soon as possible (reading the results in 10 minutes is recommended).
14. Calculation:
  - 1) Single wavelength(450nm):
 
$$OD = OD_{\text{sample}} - OD_{\text{blank}}$$

$$OD_{\text{cal}} = \text{the calibrated OD value}$$

$$OD_{\text{avg}} = \text{the original OD value of wells for samples or controls}$$

$$OD_{\text{max}} = \text{the OD value of the well for blank control}$$
  - 2) Dual wavelength(450nm/630nm):
 
$$OD = \frac{OD_{\text{sample}}}{OD_{\text{ref}}}$$

$$OD_{\text{cal}} = \text{the calibrated OD value}$$

$$OD_{\text{max}} = \text{the original OD value of wells for samples or controls}$$

#### FULLY AUTOMATED MICROPLATE PROCESSORS

Validated protocols for a range of automated instruments are available, contact your representative for details. For instrumentation without established validated protocols, the following guidelines are recommended.

1. For the first incubation, incubation times between 55 and 65 minutes (or 60 ± 5 minutes) may be programmed.
2. For the 30 minute incubations, incubation times between 28 and 32 minutes (or 30± 2minutes) may be programmed.

#### CALCULATIONS AND RESULTS

The presence or absence of antibodies to TP is determined by relating the absorbance of the specimen to the cut-off value.

1. A run is valid if:
  - 1) Substrate blank
    - The OD value of the blank control is less than 0.100. (The well for blank control only contains Chromogens and Stop solution).
  - 2) The OD value of the Negative control must be equal to or less than (≤) 0.100.
    - Eliminate any Negative control with OD value greater than (>) 0.100.
    - If two values are out of this range, the run is invalid and the assay should be repeated.
  - 3) The OD value of the Positive control must be equal to or greater than (≥) 0.500.
    - If the OD value is less than 0.500, the run is invalid and the assay should be repeated.
2. Calculation of Control
  - Mean of the Negative Controls (NCx)
$$NCx = (NC1 + NC2) / 2$$
  - Eliminate any NC greater than (>) 0.100
  - Determine the mean of Negative Controls as shown in the example below.

Negative Control Sample Number	Absorbance
1	0.019
2	0.021
Mean of Negative Controls (NCx)	0.020

3. Calculation of the Cut-off Value
  - Cut-off value (C.O.) = NCx \* 2.8 (if NCx ≤ 0.05, NCx should be calculated as 0.05)
  - Example
    - NCx = 0.019 + 0.021 / 2 = 0.020 (Calculated as 0.05 or NCx ≤ 0.05)
    - NCx = 0.05
    - Cut-off Value = 0.05 \* 2.8 = 0.140

#### INTERPRETATION OF RESULTS

1. Specimens with absorbance less than (<) the cut-off value are considered to be negative.
2. Specimens with absorbance values greater than or equal to (≥) the cut-off value are considered to be initially positive.

Repeat testing in duplicate of a specimen found reactive by the screening procedure will verify whether it is repeatedly reactive. If neither of the repeat tests is reactive, the specimen should be considered negative. If the specimen is reactive in either of the repeat tests, the sample should be considered repeatedly reactive and tested by a confirmatory test.

False reactive results may be caused by one of the following technical problems:

- a. Carryover of a highly reactive sample due to contamination with of equipment or pipette tips.
- b. Substrate contamination with metal ions.
- c. Cross contamination from reagent droplet.
- d. Inadequate wash or aspirations during wash procedure.
- e. Failure to remove excess moisture from the bottom of the well.

#### LIMITATIONS OF THE PROCEDURES

Although there is a close association between the antibodies of TP and the level of infectivity, currently available methods cannot make a definite diagnosis of TP infection. Also, the interpretation of a reactive result should not be based only on the result of the screening test. Repeatedly reactive samples should be retested with a confirmatory neutralization test to establish the specificity of the result.

#### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

##### Clinical Sensitivity and Specificity:

The clinical sensitivity and specificity of this assay were evaluated by testing 2500 specimens. In this study, the sensitivity and specificity of this assay were 100%(107/107), 99.92%(2391/2393) respectively.

##### Results of 2500 specimens

Specimens	Negative	Positive	Test Negative	Test Positive	Sensitivity	Specificity
2500	2393	107	2391	107	100%	99.92%

##### Analytical Sensitivity And Specificity

1. The ADVANCE<sup>®</sup> Diagnostic Kit for Antibody to *Treponema Pallidum*(ELISA) meet the inspection standard of National Institutes for Food and Drug Control, China (NIFDC).
2. No cross reactivity observed with samples from patients infected with HBV, HCV and RF.

#### BIBLIOGRAPHY

1. Purcell, B.K. et al., Infect. Immun. 57, 3707-3714 (1989)
2. Wegel, L.M. et al., Infect. Immun. 60, 1562-1576 (1992)
3. Atkins, D.R., et al., Infect. Immun. 61, 1202-1210 (1993)
4. Blarick, D.R., Emerging Infectious Diseases 3, 11-20 (1997)
5. Singh, A.E., Romanovski, B., Clin. Microbiol. Rev. 12, 167-209 (1999)
6. Abente-Grasse, J. et al., Transfusion 39, 206-211 (1999)
7. Young, H., Sex. Transm. Inf. 76, 403-405 (2000)
8. Genc, M., Leodep, W.J., Sex. Transm. Inf. 76, 73-79 (2000)

 **Intec PRODUCTS, INC.**  
 332 Xingzhang Road, Xinyang Ind. Area,  
 Haizang, Xiamen, 361022, P.R. China  
 Tel: +86 592 6807168  
 Email: intecproducts@asintec.com  
 www.intecsa.com

## Résumé

La syphilis est une maladie vénérienne, transmise par contact sexuel, et est causée par la bactérie *Treponema pallidum*. La lésion d'infection affecte la peau ou la muqueuse des organes génitaux. La plupart des cas peuvent être traités facilement, mais peuvent entraîner de graves complications.

Notre étude a été menée dans les deux centres d'examen volontaire (CDV) et d'examen de référence (CDR) au niveau de l'Hôpital Mohamed Boudiaf, Ouargla, du 01 Février au 31 Mars 2023 sur un échantillon de demandeurs d'analyse de sérums de tréponème. L'objectif principal est de déterminer la prévalence de la syphilis dans la région de Ouargla. Dans cette étude, nous nous sommes appuyés sur la sérologie effectuée sur 600 patients âgés de plus de 18 ans par différents techniques : TDR, TPHA, ELISA.

Le nombre de patients porteurs de la syphilis est de 61 (2,10%), dont l'âge moyen est de 53 ans, et le sexe ratio est en faveur des femmes (1,5%) .

La détection de la syphilis à un stade précoce et son traitement réduisent le risque de l'infection.

**Mots-clés :** syphilis, *T.pallidum*, TDR, TPHA, ELISA, Ouargla.

## **Abstract**

Syphilis is a venereal disease, transmitted through sexual contact, and is caused by the bacterium *Treponema pallidum*. The infection lesion affects the skin or lining of the genitals. Most cases can be treated easily, but can lead to serious complications.

Our study was conducted in the two voluntary examination centers (CDV) and reference examination (CDR) at the Mohamed Boudiaf Hospital, Ouargla, from February 01 to March 31, 2023 on a sample of applicants for analysis of treponema sera. The main objective is to determine the prevalence of syphilis in the region of Ouargla. In this study, we relied on the serology carried out on 600 patients aged over 18 by different techniques: TDR, TPHA, ELISA.

The number of patients with syphilis is 61 (2.10%), with an average age of 53 years, and the sex ratio is in favor of women (1.5%).

Detecting syphilis early and treating it reduces the risk of infection.

**Key words:** syphilis, *T.palludim*, TDR, TPHA, ELISA, Ouargla.

## الملخص

مرض الزهري هو مرض تناسلي ، ينتقل عن طريق الاتصال الجنسي ، وتسببه بكتيريا اللولبية الشاحبة. تصيب آفة العدوى الجلد أو بطانة الأعضاء التناسلية. يمكن معالجة معظم الحالات بسهولة ، ولكن يمكن أن تؤدي إلى مضاعفات خطيرة.

في مستشفى محمد بوضياف ، ورقلة (CDR) والفحص المرجعي (CDV) أجريت دراستنا في مركزي الفحص الطوعي ، من 1 فبراير إلى 31 مارس 2023 على عينة من المتقدمين لتحليل المصل اللولبي. الهدف الرئيسي هو تحديد مدى انتشار مرض الزهري في منطقة ورقلة. في هذه الدراسة ، ربطنا علم الأمصال الذي تم إجراؤه على 600 مريض تزيد ELISA و TPHA و TDR: أعمارهم عن 18 عامًا باستخدام تقنيات مختلفة

بلغ عدد مرضى الزهري 61 (2.10%) ، بمتوسط عمر 53 سنة ، ونسبة الجنس لصالح النساء (1.5%)

إن الكشف المبكر عن مرض الزهري وعلاجه يقلل من خطر الإصابة بالعدوى

الكلمات المفتاحية: TPHA , TDR, ELISA, الزهري, اللولبية الشاحبة, ورقلة