

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR (UCAD)



FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTOLOGIE

Année : 2016

N°009

TITRE

***EVALUATION DU SD BIOLINE HIV/SYPHILIS DUO® DANS LA
DETECTION DES ANTICORPS ANTI-VIH 1/2 ET
ANTI-TREPONEMA PALLIDUM***

MEMOIRE

MASTER DE MICROBIOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE

Présenté et soutenu publiquement le 1^{er} février 2016 par :

M^{elle} SOUARE Mariam

Jury

Président :	Mr Cheikh Saad <i>BOUH BOYE</i>	Professeur
Membres :	Mme Ndèye Coumba <i>TOURE KANE</i>	Professeur
	Mme Halimatou <i>DIOP NDIAYE</i>	Maître de Conférences Agrégé
Directrices :	Mme Halimatou <i>DIOP NDIAYE</i>	Maître de Conférences Agrégé
	Mme Nafissatou <i>LEYE DIOUF</i>	Docteur

REMERCIEMENTS

Il m'est très agréable d'adresser mes remerciements à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Mes remerciements vont à l'endroit de tout le personnel permanent et stagiaire de l'unité de biologie moléculaire du laboratoire de bactériologie virologie de l'Hôpital Aristide le Dantec.

Particulièrement, j'adresse de chaleureux remerciements à l'endroit du Professeur N'deye Comba TOURE KANE pour m'avoir donné la possibilité d'intégrer le monde de la recherche scientifique et donc de faire ce mémoire. Votre personnalité exceptionnelle, vouée et travailleuse inspirent la passion de réussite.

Mes remerciements vont également à l'endroit du Pr Halimatou DIOP N'DIAYE, je vous remercie pour vos précieux avis scientifiques. Vous êtes un modèle de persévérance.

Aux Dr Amina SOW SALL, Nafissatou LEYE DIOUF et Ami DIA, pour votre disponibilité sans pareil.

A Ousseynou N'DIAYE, Mme Binéta SECK FALL, pour votre soutien sans pareil, votre écoute et la confiance que vous portez à mon égard.

A mes amis Fatoumata TOURE, Fatoumata KONTAO SANOGO, Amadou KANE et autres collègues de ma promotion, aux aînés et cadets du Master de Microbiologie.

Enfin comment ne pas remercier mes parents, particulièrement Mr Moussa et Mme Mariam SISSOKO KONATE avec toute ma gratitude.

REMERCIEMENT AUX MEMBRES DU JURY

Au Professeur Cheikh Saad BOUH BOYE

Cher Maître, vous nous faites un grand honneur d'accepter avec spontanéité de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Nous avons apprécié votre pragmatisme, votre détermination pour un travail scientifique mené à bien et la pertinence de vos travaux. Votre remarquable disponibilité témoigne de votre ouverture d'esprit et de votre engagement auprès des étudiants. Recevez à travers ce témoignage, l'expression de notre sincère gratitude.

Au Professeur Ndèye Coumba TOURE KANE

Cher Maître, vous nous faites honneur en nous confiant ce travail. Votre engouement pour la science est sans égal. Nous avons pu apprécier votre éloquence dans l'enseignement, tout devient clair et limpide. La pertinence de vos critiques et votre rigueur scientifique font de vous un Maître admirable ; votre souci de bonne formation fait de vous la maman de tous ceux qui ont soif de connaissance. Retrouvez à travers ces propos une véritable admiration et permettez-nous d'exprimer à votre endroit nos vives émotions pour vos encouragements et votre accompagnement.

Au Professeur Halimatou DIOP NDIAYE

Cher Maître, vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger notre travail. Votre simplicité et votre détermination nous ont beaucoup marqué. Vous vous fondez dans la masse sans distinction de hiérarchie. Vous êtes un Maître exemplaire par les conseils reçus et l'enseignement scientifique dispensé dans l'élaboration de notre travail. Veuillez accepter nos remerciements pour votre contribution, ô fort bénéfique.

Table des matières

REMERCIEMENTS	ii
LISTE DES ABREVIATIONS	vii
LISTE DES FIGURES	ix
LISTE DES TABLEAUX	x
INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	4
CHAPITRE I : GENERALITES SUR LE VIH	5
1. Historique	5
2. Classification et origine	5
3. Caractéristiques du VIH	6
3.1. La structure du VIH	6
3.2. La composition antigénique du VIH	7
3.3. Cycle de réplication	7
3.4. La variabilité génétique du VIH	10
3.5. Origine de la variabilité génétique du VIH	12
3.6. Les conséquences de la variabilité génétique	12
4. Pathogénèse et immunologie de l'infection au VIH	12
4.1. Les modes de transmission	12
4.2. L'histoire naturelle de l'infection à VIH	13
4.3. La réponse immunitaire spécifique contre le VIH	14
5. Diagnostic de l'infection à VIH	15
5.1. Le diagnostic sérologique	15
5.2. Le diagnostic direct	16
6. Traitement antirétroviral	16
7. Le VIH et les autres ISTs	17
CHAPITRE II : GENERALITE SUR <i>T. pallidum</i>	18
1. Historique	18
2. Classification	18
3. Origine	18
4. Les caractéristiques de <i>T. pallidum</i>	19
4.1. Structure de <i>T. pallidum</i>	19
4.2. La capacité métabolique de <i>T. pallidum</i>	22
4.3. La composition antigénique de <i>T. pallidum</i>	22
5. Pathogénèse et immunologie de l'infection à <i>T. pallidum</i>	22

5.1.	Les modes de transmission	22
5.2.	Histoire naturelle.....	23
5.3.	VIH et Syphilis.....	25
5.4.	Les réponses immunitaires.....	26
6.	Diagnostic de la syphilis.....	26
6.1.	Diagnostic direct.....	26
6.2.	Diagnostic indirect.....	27
6.3.	Interprétation.....	28
7.	Traitement de la syphilis	29
CHAPITRE III : LE PRINCIPE DE L’EVALUATION DE TESTS DE DIAGNOSTIC RAPIDES (TDRS)		30
1.	Les caractéristiques ou critères d’évaluation d’un TDR	30
1.1.	Les critères de performances	30
1.2.	Les critères opérationnels	32
2.	Evaluation de TDR	32
DEUXIEME PARTIE		33
CHAPITRE I : JUSTIFICATIFS ET OBJECTIFS DE L’ETUDE		34
1.	Justificatifs de l’étude.....	34
2.	Objectifs.....	34
2.1.	Objectif général	34
2.2.	Objectifs spécifiques.....	35
CHAPITRE II : LES APPROCHES METHODOLOGIQUES		36
1.	Cadre d’étude	36
2.	Population d’étude.....	36
3.	Echantillonnage	36
4.	Méthodes	37
4.1.	Les tests de référence	37
4.2.	Le kit SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo	41
4.3.	Evaluation de SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo	42
CHAPITRE III : RESULTATS		43
1.	La contingence des tests :	43
2.	Les analyses statistiques.....	44
3.	L’analyse opérationnelle :	44
CHAPITRE IV : DISCUSSION		46
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS		47

CONCLUSION	48
PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS	48
REFERENCES	49

LISTE DES ABREVIATIONS

Ab	antibodie
AES	Accident d'exposition au sang/sexe
Ag	Antigène
ADN	Acide désoxyribonucléiques
ARN	Acide Ribonucléique
ARNt^{lys3}	Acide Ribonucléique de transfert de la lysine
ARV	Antirétroviral
CA	Capside
CCR5	Cystéine-cystéine chemokine receptor type 5
CD4	Cluster of differentiation 4
CDC	Center for Disease Control
CFp	Cytoplasmic Filament Protein
CHU	Centre Hospitalier universitaire
CMIA	Chimiluminescent microparticules immunoassay
CNLS	Conseil National de Lutte contre le Sida
CNS	Central nervous system
CRF	Formes recombinantes circulantes
CTL	Cytotoxic T Lymphocyt
CXCR4	Cystéine-Xcystéine chemokine receptor type 4
DBS	Dried blood spot
DFA-TP	Direct fluorescent-antibody testing for <i>T. pallidum</i>
<i>env</i>	Gène codant pour les parties de l'enveloppe
FTA-ABS	Fluorescent treponemal antibody absorption
FlaA/B	Flagelin A/B
<i>gag</i>	Gène des antigènes de groupe
gp120 SU	Glycoprotéine de surface de 120 KDa
gp40 TM	Glycoprotéine transmembranaire de 41 KDa
HR1/2	Heptad Repeat Region 1/2
HSH	Hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes
HTLV III	Human T lymphotropic virus III,
IFN	Interféron
IgG	Immunoglobuline G
IgM	Immunoglobuline M
IL	Interleukine
IN	Intégrase
ISTs	Infections sexuellement transmissibles
KDa	Kilo-dalton
LAV	Lymphadenopathy associated virus, virus associé aux lymphadénopathies
LBV- HALD	Laboratoire de bactériologie-virologie de l'hôpital Aristide Le Dantec
LTR	Long Terminal Repeat
MA	Protéine de matrice
MHA-TP	micro-hemagglutination <i>T. pallidum</i>
NC	Nucléocapside
<i>nef</i>	Negative expression factor
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ONUSIDA	Organisation des Nations Unies pour le SIDA

ORFs	Open Reading Frames
p15	Protéine de 15 KDa
p17	Protéine de 17 KDa
p24	Protéine de 24 KDa
p55	Protéine de 55 KDa
p7	Protéine de 7 KDa
PCR	Polymerase Chain Reaction
pol	Polymérase
PR	Protéase
Pr160Gag-Pol	Polyprotéine Gag –Pol
Pr55^{Gag}	Polyprotéine Gag
PS	Professionnelles du sexe
RNase H	Ribonucléase H, enzyme de dégradation de l'ARN
RPR	Rapid plasma reagin
RT	Reverse Transcriptase
Se	Sensibilité
SIDA	Syndrome de l'Immunodéficience Acquise
SIV	Virus de l'immunodéficience simienne
SIVcpz	Virus de l'immunodéficience du chimpanzé
SIVgor	Virus de l'immunodéficience du gorille
SIVmm	Virus de l'immunodéficience des mangabeys enfumés
Sp	Spécificité
tat	Trans-activator of transcription
TDRs	Tests diagnostiques rapides
TFN-α	Tumor necrosis alpha
Th1/2	T-helper 1/2
TPHA	<i>Treponema pallidum</i> Hémagglutination Assay
Tpp	<i>T. pallidum</i> protein
TROMPs	treponemal rare outer membrane proteins
TS	Travailleuses de sexe
URF	Unique recombinant form (Formes uniques recombinantes)
URL	Unité relative de lumière
VDRL	Veneral Disease Research Laboratory
vif	Viral infectivity factor
VIH	Virus de l'immunodéficience humain
VPN	Valeur prédictive négative
VPP	Valeur prédictive positive
vpr	Viral protein r
vpu	Viral protein u
vpx	Viral protein x
WB	Western blot

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Représentation schématique du virion mature du VIH-1.	6
Figure 2: Attachement et fusion du VIH à la membrane de la cellule hôte.	8
Figure 3: Représentation schématique du cycle de réplication du VIH-1.....	10
Figure 4: Distribution géographique du VIH.....	11
Figure 5: La réponse immunitaire spécifique du VIH.....	15
Figure 6: Microscopie électronique à balayage de <i>T. pallidum</i>	19
Figure 7: Représentation schématique de l'architecture de l'enveloppe de <i>T. pallidum</i>	20
Figure 8: Les stades de développement clinique de la syphilis.....	23
Figure 9: Interprétation des résultats du test ImmunoComb® II HIV 1&2 BiSpot.....	39
Figure 10: Interprétation des résultats du test RPR.....	40
Figure 11: Interprétation des résultats de TPHA.....	40
Figure 12: Procédure et interprétation du test SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo.....	41

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Evolution des anticorps au cours des différents stades de la syphilis.....	28
Tableau 2: Les formules des critères intrinsèques et extrinsèques de performance d'un TDR.....	31
Tableau 3: Les degrés d'accord et les valeurs correspondant de Kappa	32
Tableau 4: La réactivité des échantillons VIH positif	43
Tableau 5: Contingence pour le VIH.....	43
Tableau 6: Contingence pour la syphilis	44
Tableau 7: Les analyses statistiques	44
Tableau 8: L'analyse opérationnelle	45

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Treponema pallidum pallidum est l'agent responsable de la syphilis, une maladie infectieuse à plusieurs stades, généralement sexuellement transmissible. La syphilis constitue aujourd'hui encore un problème de santé publique, avec 12 millions de personnes infectées chaque année dans le monde, bien qu'il existe des mesures de prévention efficaces (**OMS, 2009**). Le genre *Treponema* appartient à la famille des *Spirochaetaceae*, à l'ordre des *Spirochaetales* et à l'embranchement des *Spirochaetes*, dont les membres sont caractérisés par leur forme spiralée. Il comprend 3 espèces, dont *Treponema pallidum* ; ce dernier est reparti en trois sous-espèces, parmi eux la sous-espèce *pallidum*.

Découvert en 1905 par Schaudinn et Hoffman (**Nouguchi, 1912 ; Schutz, 1906**), *Treponema pallidum* a depuis lors fait l'objet de plusieurs études jusqu'à nos jours. Malgré cela, et l'avancé de la science, le spirochète reste incultivable.

La syphilis évolue en trois stades principaux. Durant ses premiers stades, elle peut être un facteur favorisant l'acquisition et la transmission du VIH, à cause des lésions syphilitiques.

Le syndrome de l'immunodéficience Acquis (SIDA) est une maladie infectieuse à plusieurs voies de transmission, dont la voie sexuelle. Les premiers cas de cette maladie ont été décrits en 1981. L'agent responsable de cette maladie n'a été identifié qu'en 1983 (**Barre Sinoussi et coll., 1983**), d'abord connu sous le nom de LAV pour Lymphadenopathy Associated Virus, qui est devenu VIH-1 pour Virus de l'Immunodéficience Humaine de type 1, en 1986, après la découverte d'un second virus similaire au premier : VIH-2 (**Sharp et coll., Clavel et coll., 1986**).

Le VIH pose encore un problème de santé publique. En fin 2014, ONUSIDA rapporte que 36,9 (34,3 -41,4) millions de personnes vivaient avec le VIH (**OMS, 2015**). Parmi celle-ci 36,9 millions de personnes, 17,1 million ne connaissent pas leur statut (**UNAIDS, 2015**). Au Sénégal, la prévalence du VIH est faible dans la population générale autour de 0,7% (**CNLS, 2014**) ainsi que dans la plupart des catégories socioprofessionnelles sauf chez les populations vulnérables, notamment les professionnelles du sexe (PS), les Hommes ayant des rapports sexuels avec d'autres hommes (HSH) et les usagers de drogues injectables (**CNLS, 2012**). Le rapport 2013 du CNLS montre une prévalence de 18,5% chez les HSH et 18,5% chez les PS (travailleuses du sexe) (**CNLS, 2014**).

La variabilité génétique est l'une des principales caractéristiques du VIH. Elle peut avoir des impacts sur la progression de l'infection, sur le traitement antirétroviral, sur la transmission de la maladie, sur le développement de vaccins et sur le diagnostic.

Dans la riposte pour mettre fin à l'épidémie de sida, des objectifs ont été fixés par l'ONUSIDA, parmi lesquels il existe un consensus mondial visant à faire connaître à 90% de

personnes vivant avec le VIH, leur statut ; en plus de faire recevoir un traitement à 90 % des personnes connaissant leur statut et aussi que 90 % des personnes sous traitement contre le VIH parviennent à un état de suppression virale (**ONUSIDA, 2014**). Le Sénégal, depuis 2000, a promu la prévention de la transmission mère enfant du VIH, et le dépistage volontaire comme compléments de la riposte nationale contre le VIH/SIDA, en plus de la prévention, de la prise en charge globale, et celle des AES (**CNLS, 2014**). Ce conseil de dépistage volontaire est d'une grande importance, car il ouvre l'accès aux autres services de prévention et de la prise en charge. Parmi les stratégies de prévention de la riposte nationale, figure la prise en charge des infections sexuellement transmissibles (STIs), qui contribue à la prévention de la transmission sexuelle du VIH. Un accent est mis sur le dépistage sérologique de la syphilis.

L'organisation mondiale de la santé (OMS) a recommandé la double élimination de la transmission mère-enfant de la syphilis et du VIH (**WHO, 2014**). Le dépistage des deux infections est donc recommandé chez les femmes.

En effet il existe plusieurs tests commerciaux pour le diagnostic de la syphilis comme le VIH, allant de tests sérologiques aux tests moléculaires. Classiquement, le diagnostic de ces deux infections nécessite deux modalités distinctes : un test sérologique pour le VIH chez les adultes, et pour la syphilis, un test sérologique non tréponémique en parallèle avec un test sérologique tréponémique. Récemment développé, SD Bioline Syphilis/HIV Duo est un test sérologique qui permet de détecter à la fois le VIH et la syphilis. En plus de combiner deux tests, SD Bioline Syphilis/HIV Duo donne des avantages comme de l'économie en temps, en matériel, mais aussi la baisse du coût de diagnostic. Avant son utilisation à grande échelle, il est nécessaire d'évaluer les performances de ce test au plan local. De plus, il est à retenir que les performances d'un test peuvent être influencées par certains facteurs comme le stade de l'infection, et la diversité génétique des agents pathogènes. Il est donc nécessaire de vérifier la fiabilité de SD Bioline Syphilis/HIV Duo dans différents régions géographiques.

C'est donc ce contexte qui justifie ce présent travail de mémoire, dont l'objectif est d'évaluer les performances du test SD Bioline Syphilis/HIV Duo au Sénégal.

Ce travail de mémoire rend compte en :

- Une première partie retraçant les caractéristiques du VIH et de *T. pallidum*, l'histoire naturelle de leurs infections respectives, et les évaluations de tests de diagnostic.
- Une deuxième partie qui porte sur la méthodologie adoptée, les résultats obtenus, la discussion et la conclusion.

**PREMIERE PARTIE : REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE**

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ
ΠΡΩΤΗ ΜΕΡΟΣ : ΕΡΕΥΝΑ**

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LE VIH

1. Historique

Les premiers cas du syndrome de l'immunodéficience acquis ont été décrits en 1981, chez des jeunes homosexuels américains, comme une infection opportuniste immunosupresseur (**Center for Disease C., 1981**). Il a donc attiré l'attention des chercheurs, c'est ainsi qu'en 1983, l'équipe de Luc Montagnier de l'institut Pasteur découvre l'agent responsable du SIDA, et le nom de lymphadenopathy associated virus (LAV) lui est accordé. Robert C. Gallo l'isole la même année et le nomme HTLV III à cause de sa spécificité de cible : TCD4 (**Gallo et coll., 2003**). Un autre virus morphologiquement similaire, mais antigéniquement et génétiquement distinct du LAV a été découvert, chez un patient d'origine ouest africaine, en 1985 et il prend le nom de LAV-2 (**Barin et coll., 1985**). En 1986, LAV et HTLV III ont été nommé VIH.

2. Classification et origine

Le virus de l'immunodéficience humaine est un lentivirus. Le genre lentivirus appartient à la famille des *Retroviridae*. Le génome des *Retroviridae* est constitué d'ARN, et la rétrotranscription de l'ARN viral en ADN complémentaire grâce à une enzyme contenue dans le virus (la rétrotranscriptase), qui est une caractéristique de cette famille. Les *Retroviridae* sont repartis en deux (2) sous-familles : les *Spumaretrovirinae* et les *Orthoretrovirinae*. Le genre *Spumavirus* est le seul représentant des *Spumaretrovirinae*.

Les *Orthoretrovirinae* sont repartis en 6 genres : *Alpharetrovirus*, *Betaretrovirus*, *Deltaretrovirus*, *Epsilonretrovirus*, *Gamaretrovirus* et *Lentivirus*. Les *Lentivirus* sont distingués par une évolution lente de la maladie et ils sont cytopathogènes. Ils renferment plusieurs espèces dont le VIH de type 1 (VIH-1) et le VIH de type 2 (VIH-2).

Le VIH-1 est le plus répandu sur l'ensemble des continents, donc responsable de la pandémie actuelle, tandis que le VIH-2 est surtout rencontré en Afrique de l'Ouest. Des études phylogénétiques effectuées, ont permis d'établir des liens entre le VIH-1 et SIV du chimpanzé (Simian immunodeficiency virus), indiquant la possibilité que le SIVcpz soit à l'origine du VIH-1 (**Girard et coll., 2011**). Quant au VIH-2, il dériverait de la transmission de SIV de mangabé enfumé (SIVmm) à l'homme (**Sharp et coll., 2011**). Un variant du VIH-1 aurait été découvert au Cameroun, qui serait originaire du SIV de gorille (SIVgor) (**Girard et coll., 2011 ; Plantier et coll., 2009**).

3. Caractéristiques du VIH

3.1. La structure du VIH

Le virion VIH mature, qui résulte d'une libération par bourgeonnement, se présente sous la forme d'une particule sphérique de 80 nm de diamètre (**Girard et coll., 2011**). Il est constitué d'une enveloppe, d'une matrice, d'une capsid et d'un génome composé de 2 brins d'ARN (**figure 1**).

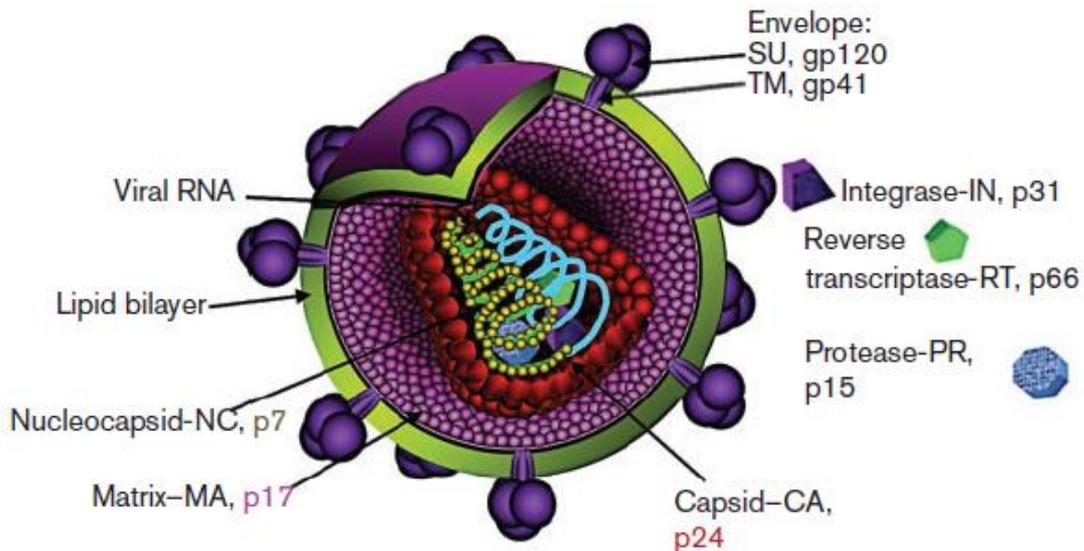


Figure 1: Représentation schématique du virion mature du VIH-1.

(Steckbeck et al., 2013).

L'**enveloppe** entoure la particule virale. C'est une bicouche lipidique qui dérive de la membrane de la cellule hôte, elle contient certaines protéines membranaires d'origine cellulaire et des protéines virales antigéniques. Elle expose sur sa surface, les glycoprotéines gp120 pour le VIH-1 et gp125 pour le VIH-2, qui sont ancrées à elle par les glycoprotéines transmembranaires gp41 pour le VIH-1 et gp36 pour le VIH-2 (**Turner et coll., 1999 ; Reeves et coll., 2002**). La glycoprotéine de surface (SU) gp125 du VIH-2 comme la gp120 du VIH-1 est constituée de 5 régions variables nommées de V1 à V5, et de 5 régions constantes nommées de C1 à C5 (**Reeves et coll., 2002**). Les glycoprotéines transmembranaires (TM) sont composées d'un domaine extracellulaire dit ectodomaine et d'un domaine inséré dans la membrane. L'ectodomaine comporte les régions HR1 et HR2 (N-hélice et C-hélice respectivement), qui constituent les déterminants de la fusion des membranes (**Steckbeck et coll., 2013**).

La matrice entoure la capsidie et tapisse la face interne de l'enveloppe, et est composée de protéine p17 pour le VIH-1 et du p16 pour le VIH-2.

La capsidie entourée par la matrice et l'enveloppe, elle est située au centre de la particule virale et renferme le génome viral, des enzymes nécessaires à la multiplication virale et la nucléocapsidie (NC, p7). Elle est constituée de protéine de la capsidie (CA), la p24.

Le génome est constitué de deux copies d'ARN monocaténares, de polarités positives et d'environ 10Kb de poids moléculaire.

3.2. La composition antigénique du VIH

Plusieurs protéines du VIH sont immunogènes, notamment les protéines de l'enveloppe (gp120 et gp41), de la capsidie (p24), de la matrice (p17), de l'intégrase (p34), la RT (p51-66) et certaines protéines accessoires (**Sarngadharan et coll., 1985 ; Allan et coll., 1987 ; Girard et al., 2011**). Les protéines de l'enveloppe, la p24, la p34, et la p66 sont utilisés à des fins diagnostiques. Ce sont des marqueurs immuno-virologiques (**Mboup et coll., 2015**). Ces protéines sont codées par les gènes de structure du VIH, comprenant les gènes *gag*, *pol* et *env*.

Les protéines de l'enveloppe sont le résultat du clivage d'un précurseur gp160^{env} (le gène *env*) en gp120 et gp41 (**Choisy et coll., 2004**). Les deux protéines jouent un rôle important dans la reconnaissance virus-cellule.

La RT et l'intégrase sont des enzymes nécessaires, respectivement, à la rétrotranscription et l'intégration au génome cellulaire du virus. Leur synthèse est codée par le gène *pol* (*polymerase*), le précurseur Pr160^{gag-pol} est clivé en protéines p10 ou PR (protéase), p51-66 ou RT (rétrotranscriptase) et en p34 ou IN (intégrase). Ces protéines constituent les enzymes indispensables à répllication virale (**Mouscadet et coll., 2007**).

Les p17 et p24 sont les protéines de la matrice et de la capsidie, respectivement. Ils proviennent du clivage du précurseur Pr55^{gag}, dont la synthèse est codée par le gène *gag* (*group antigen*) (**Muriaux et coll., 2001**).

3.3. Cycle de répllication

Le cycle de répllication du VIH se fait en une succession de plusieurs étapes distinctes pour la formation de nouveaux virus (**figure 3**).

L'adhésion et la fusion

Les cibles des VIH sont les cellules exprimant la molécule CD4 (les lymphocytes TCD4 ou TCD4+, les macrophages-monocytes et les cellules dendritiques). Ces récepteurs CD4,

outre des corécepteurs (CCR5 ou CXCR4) jouent un rôle essentiel, dans l'**attachement** et l'entrée du virus dans la cellule hôte. La glycoprotéine de surface SU gp120 du VIH-1 se lie à son récepteur, la molécule CD4 de la cellule cible, entraînant ainsi un changement de conformation de la SU gp120. Ce changement de conformation permet à la région V3 de la glycoprotéine de se **fixer** aux corécepteurs CCR5 ou CXCR4 situés sur la membrane cellulaire, mettant en contact la TM gp41 avec la membrane cellulaire. Cette glycoprotéine transmembranaire entraîne la **fusion** des membranes, par la formation d'un faisceau à 6 hélices énergiquement stables (**Pancera et coll., 2010 ; Gallo et coll., 2006**) (**figure 2**). Cette dernière étape permet la libération de la capside et son contenu dans le cytoplasme cellulaire.

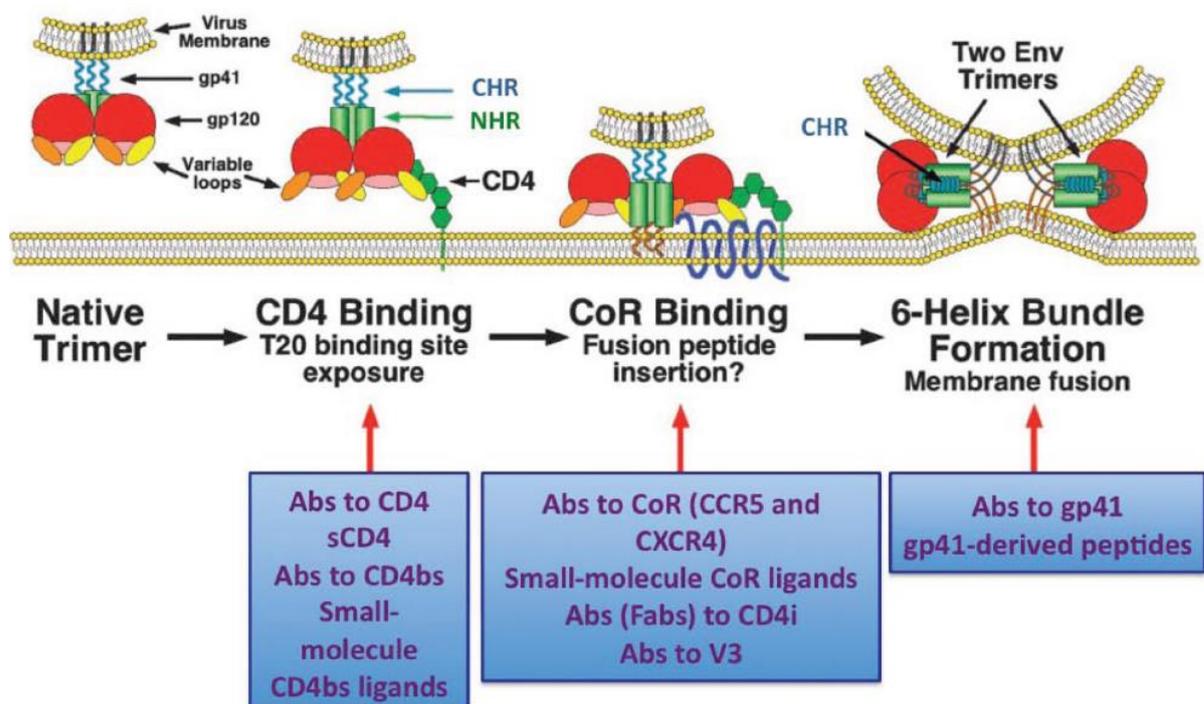


Figure 2: Attachement et fusion du VIH à la membrane de la cellule hôte.

(Klasse, 2012).

La transcription inverse

Suite à l'entrée du virus, le génome double copie d'ARN contenu dans la capside est libéré dans le cytoplasme cellulaire, et subit une rétrotranscription en ADN double brin par l'enzyme RT. C'est un processus qui s'effectue en trois (3) phases : une première phase qui consiste à synthétiser, à partir de l'ARN viral, un brin d'ADN en utilisant de l'ARNt₃^{lys} comme amorce (**Nielson et coll., 2005**) ; une seconde phase où l'activité de la RNase H est requis pour dégrader le brin d'ARN afin de synthétiser le brin d'ADN complémentaire, cette synthèse constitue la troisième phase. L'ADN synthétisé forme un complexe de pré-

intégration avec les protéines virales IN, MA, RT et *Vpr*, et des protéines cellulaires (Turner et al., 1999; Miller et al., 1997). Le complexe de pré-intégration est transporté vers le noyau cellulaire par la médiation de la protéine *vpr* (Turner et coll., 1999 ; Nielson et coll., 2005), pour être intégré dans le génome cellulaire.

L'intégration et la transcription

La formation de l'ADN proviral consiste à l'insertion du complexe de pré-intégration dans le génome cellulaire, qui requiert l'action de l'intégrase (IN). L'action de l'intégrase se fait en deux étapes : une étape de *3' processing* et un transfert de brin d'ADN (Engelman et coll., 2012 ; Mouscadet et coll., 2007). Le *3' processing* consiste à cliver l'ADN viral à chaque extrémité 3' de ses régions LTR par l'enzyme (IN), qui clive ensuite l'ADN chromosomique pour joindre les extrémités de l'ADN viral aux extrémités 5'P cibles de l'ADN chromosomique (transfert de brin) (Engelman et coll., 2012). Des enzymes de la cellule hôte interviennent pour compléter le processus d'intégration en réparant le brin aux niveaux des sites d'insertion (Engelman et coll., 2012).

Une fois intégré, l'ADN proviral est transcrit en pré-ARN messager polycistronique ; ce dernier est synthétisé par l'ARN polymérase II de la cellule hôte. Cette transcription est initiée par le promoteur U3 de la région 5'LTR, elle fait intervenir la protéine *tat* du VIH, et nécessite un état d'activation de la cellule. L'ARNm polycistronique est traduit dans le cytoplasme en polyprotéines *Pr55^{gag}*, *Pr160^{gag-pol}*, en *vpu*, *vif*, *vpr*, et en protéines *env*, suivant cet ordre (Engelman et coll., 2012). Le transfert de l'ARNm dans le cytoplasme est modulé par la protéine *rev* du VIH (Huraux et coll., 2003).

L'assemblage et la maturation

L'étape de l'assemblage des virions VIH, est indispensable pour la production de nouvelles particules infectieuses virales. Elle fait intervenir le précurseur de la polyprotéine *Pr55^{gag}*, qui joue un rôle important, voire essentiel dans cette étape. Le précurseur Gag p55 joue un rôle très important dans la morphogénèse des virions VIH (Boukrinskaya, 2004 ; Sundquist et coll., 2012 ; Briant et coll., 2011). Le *Pr55^{gag}*, par son domaine MA se fixe à la membrane plasmique et recrute le précurseur de la polyprotéine *env*. Le domaine CA intervient dans des interactions protéine-protéine requis pour l'assemblage du virion, et pour la formation de la capsid. Le domaine NC est impliqué dans la capture du génome viral, et enfin quant à la région p6, elle constitue un site d'attache pour les protéines virales accessoires et certaines protéines de la cellule hôte.

La maturation est caractérisée par la protéolyse de la polyprotéine *Pr55^{gag}* par la protéase virale, qui clive les *Pr55^{gag}* et *Pr160^{gag-pol}* en différentes protéines et enzymes virales.

Cette protéolyse génère tous les constituants nécessaires à la formation d'un virion mature et apte à infecter une nouvelle cellule.

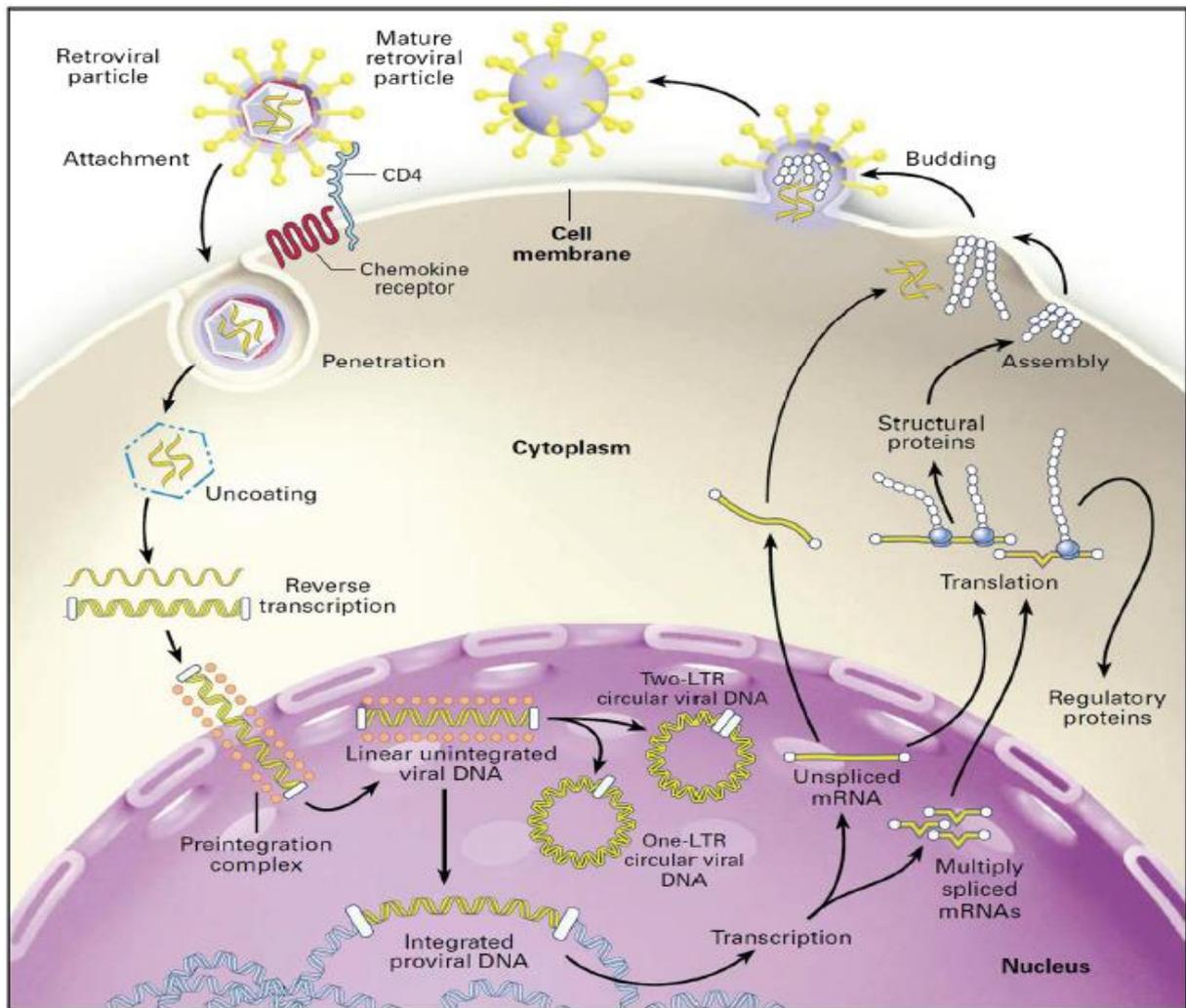


Figure 3: Représentation schématique du cycle de réplication du VIH-1

(Pasternak et al., 2013)

3.4. La variabilité génétique du VIH

L'agent étiologique du SIDA, le VIH, est caractérisé par une haute variabilité génétique. Deux types de virus sont identifiés : le VIH de type 1 et le VIH de type 2.

Le VIH-2 est moins répandu que le VIH-1. Il est restreint en Afrique de l'Ouest et est divisé en 9 groupes phylogéniques nommés de A à I (Avettand-Fenoel et coll., 2014), et une forme recombinante circulante (CRF). Parmi ces 9 groupes, les groupes A et B sont les plus répandus (Ayoub et coll., 2013).

Le VIH-1, sur des bases phylogéniques, est classé en 4 groupes : M (Majeur), O (Outlier), N (pour non-M, non-O) et le groupe P. le groupe Majeur (M) est le plus répandu avec 9 sous-types (A-D, F-H, J, et K) (Li et coll., 2015), 72 formes circulantes recombinantes

(CRFs) (**Los Amos HIV data base, consulté en juin 2015**), et certaines formes uniques recombinantes (pour URFs en anglais) (**Jacobs et coll., 2014**). A l'échelle mondiale, les sous-types les plus prévalent du groupe M sont les sous-types C, A, et B. Le sous-type C a une prévalence mondiale de 48%, le sous-type A est généralement prédominant en Afrique de l'Est et en Europe de l'Est, avec 12% de prévalence ; le sous-type B est surtout retrouvé en Europe et aux USA avec 11% de prévalence. Les sous-types G et D sont retrouvés dans des proportions de 5 et 2%, respectivement ; parmi les formes recombinantes, les CRF01_AE et CRF02_AG prédominent avec 5 et 8% d'infection. Les sous-types F, H, J, et K représentent une faible prévalence (**figure 4**) (**Hamelaar et coll., 2011 ; Abecasis et coll., 2013 ; Buonaguro et coll., 2007**).

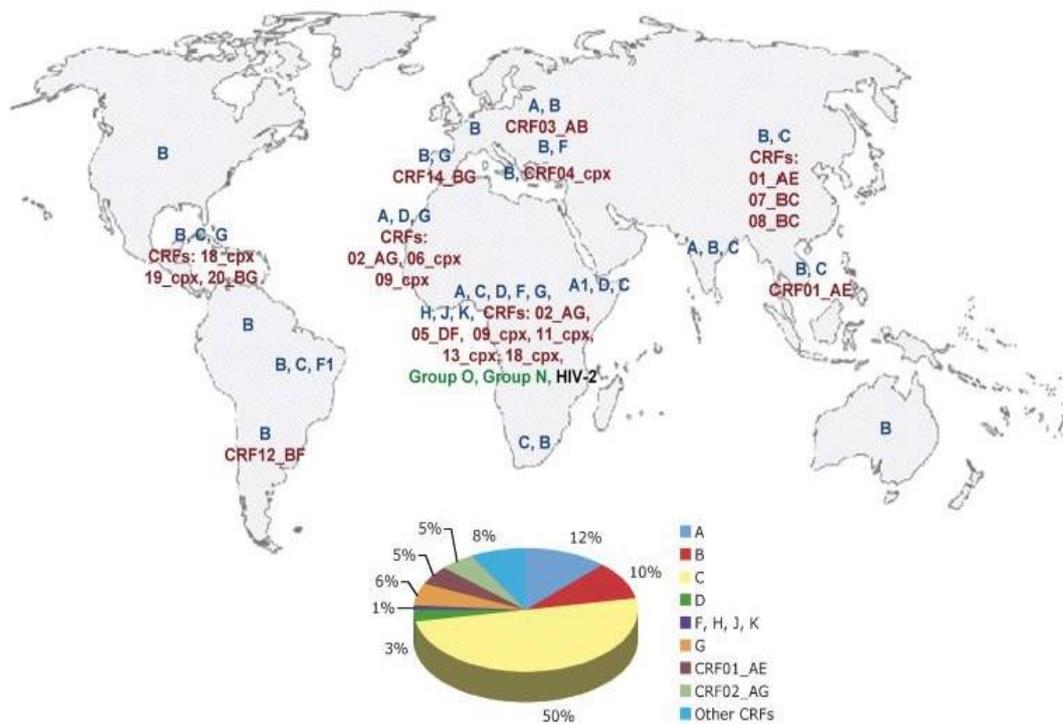


Figure 4: Distribution géographique du VIH

<https://tel.archives-ouvertes.fr/file/index/docid/999342/filename/These-Benjelloun-Fahd-2013.pdf> consulté en juin 2015.

Les groupes O, N, et P sont généralement identifiés en Afrique centrale et sont moins prévalent (**Peeters et coll., 2000**).

3.5. Origine de la variabilité génétique du VIH

La variabilité génétique résulte de plusieurs évènements, principalement, des mutations aléatoires, des recombinaisons génétiques et des taux élevés de réplication virale ; mais d'autres facteurs peuvent aussi être à l'origine de ce phénomène de variabilité, comme la vitesse de réplication (**Li et coll., 2015**).

Les mutations aléatoires et le taux élevé de réplication

Le manque de la fonction réparatrice chez la transcriptase inverse du VIH, contrairement à d'autres ADN polymérases, induit une faible fidélité de la transcription inverse, conduisant donc à une mutation aléatoire, par substitution, délétion ou insertion de nucléotides. Les erreurs de la TI et le taux élevé de réplication du VIH (production de 10 000 virions / jour), contribuent ensemble et fortement à la production de nouveaux variants du VIH (**Mboup et coll., 2015 ; Santoro et coll., 2013**).

Les recombinaisons génétiques

L'infection d'une même cellule hôte par deux ARN génétiquement différents peut entraîner une recombinaison génétique durant la transcription inverse. La RT peut utiliser une portion de génome provenant de chaque brin d'ARN comme modèle pour la polymérisation de l'ADN virale, et ce, en effectuant un saut pendant la transcription (**Rhodes et coll., 2005**). Cette recombinaison peut être intra sous-type ou encore inter sous-type (**Najera et coll., 2002**).

3.6. Les conséquences de la variabilité génétique

La variabilité élevée du VIH a des impacts considérables, notamment sur la progression de la maladie, le traitement antirétroviral, la transmission de la maladie, le développement de vaccin et sur le diagnostic. Dans ce dernier cas, le diagnostic des infections à sous-types non-B et des infections au groupe O présente des difficultés, car l'optimisation de la plupart des techniques de diagnostic et de suivi sont basées sur les sous-types B (**Peeter et coll., 2003**).

4. Pathogénèse et immunologie de l'infection au VIH

4.1. Les modes de transmission

Le VIH se transmet par plusieurs modes, on distingue entre autre la transmission par voie sexuelle (par les muqueuses), celle par voie sanguine (transfusion sanguine, matériel

d'injection) ou encore la transmission materno-fœtal in-utéro, pendant l'accouchement ou après la naissance par allaitement maternel.

4.2. L'histoire naturelle de l'infection à VIH

L'infection à VIH, en absence de traitement, évolue spontanément en trois phases : une phase aiguë correspondant à la primo-infection, une phase chronique à latence clinique et une phase symptomatique finale (SIDA).

La primo-infection est la phase qui succède au contagement. Elle peut présenter des manifestations cliniques ou être asymptomatique, et peut durer quelques semaines (3 à 6 semaines). Cette phase est caractérisée par une forte réplication virale, et une diminution du taux de CD4+ dans le sang. Ces caractéristiques sont accompagnées, dans le cas d'une primo-infection symptomatique, de manifestations cliniques comme la fièvre, des symptômes neurologiques ou des éruptions cutanées (**Nnoruka et coll., 2007**). Pendant cette phase apparaît une réponse immunitaire spécifique du VIH, permettant le diagnostic de l'infection par la recherche d'anticorps spécifiques (à partir de la 3^{ème} semaine) (**Rider et coll., 2011**), les antigènes p24 aussi sont détectables au bout de 15 jours. L'action de la réponse immunitaire (cellulaire et humorale) et l'épuisement des cellules cibles provoquent une diminution considérable de la virémie et la disparition des signes cliniques, indiquant donc la fin de la primo-infection.

La phase chronique à latence clinique est la phase qui suit celle de la primo-infection. Elle est caractérisée par la disparition des signes cliniques, la diminution lente des cellules TCD4, une baisse considérable de la charge virale, mais une persistance du virus dans l'organisme (**Holzemer et coll., 2003**). La phase chronique peut durer plusieurs années et elle est plus longue dans une infection à VIH-2 (**Whittle et coll., 1994**). La diminution continue du taux de TCD4+ (T-helper) conduit à l'affaiblissement du système immunitaire conduisant à l'apparition des symptômes du SIDA.

La phase symptomatique (SIDA)

En absence de traitement antirétroviral, la phase chronique évolue vers une phase dont les caractéristiques vont de la diminution du taux de TCD4 à la perte de la réponse immunitaire, donc à une immunodéficience. Le stade du syndrome de l'immunodéficience acquis (SIDA) correspond à un stade avec complications cliniques. Ce stade comprend une augmentation de la charge virale et l'effondrement du système immunitaire, donnant libre court à l'installation d'infections opportunistes.

4.3. La réponse immunitaire spécifique contre le VIH

La primo-infection et l'infection asymptomatique sont partiellement contrôlées par de puissantes réponses immunes spécifiques contre le VIH (**Girard et coll., 2011**). Ces réponses immunes sont humorales et à médiation cellulaire.

La réponse immune humorale

Elle est constituée d'anticorps dirigés contre toutes les protéines du VIH : les protéines d'enveloppe, les protéines de la capsid et bien d'autres. Ils apparaissent habituellement entre la 3^{ème} et 12^{ème} semaine après la contamination (**Mogensen et coll., 2010**). Les glycoprotéines de l'enveloppe (la gp120 et la gp41) sont les antigènes qui constituent les cibles des anticorps neutralisants, la majorité étant dirigée contre la gp120 (**Montefiori et coll., 2009**). Ils pourraient avoir un rôle protecteur pendant les phases de primo-infection et asymptomatique, mais leur rôle peut être influencé par la variabilité du virus (**Showa et coll., 2014**). La recherche des anticorps anti-VIH est déterminante dans le diagnostic de l'infection à VIH.

La réponse immune cellulaire

➤ Les lymphocytes TCD4+ spécifiques du VIH

Les cellules TCD4 sont indispensables au déroulement efficace de la réponse immune anti-VIH. Dans leur fonction auxiliaire, la réponse Th1, les CD4 produisent les cytokines IL-2 et l'IFN- γ en réponse au VIH. Ces lymphocytes amplifient les réponses cytotoxiques (lymphocytes T cytotoxiques) de façon à contrôler la réplication virale (**Girard et coll., 2011**). Ils exercent également un rôle auxiliaire important, voir critique, dans la production d'anticorps. Ces cellules disparaissent rapidement en absence de traitement, du fait de leur infection par le virus, ce sont des cibles privilégiés du VIH (**McMichael et coll., 2000**).

➤ La réponse TCD8

Les lymphocytes TCD8, notamment les lymphocytes cytotoxiques (CTL) représentent l'un des mécanismes effecteurs impliqués dans la lutte antivirale (**McMichael et coll., 2000**). Ces cellules jouent un rôle important dans la réduction de la charge virale pendant les phases aiguë et asymptomatique de l'infection (**figure 5**). Ces cellules reconnaissent des épitopes, des protéines du VIH, et détruisent des cellules dans lesquelles le virus se réplique activement. En détruisant ces cellules, les cellules TCD8 spécifiques du VIH, contribuent à limiter le réservoir des cellules infectées mais aussi à la déplétion des TCD4.

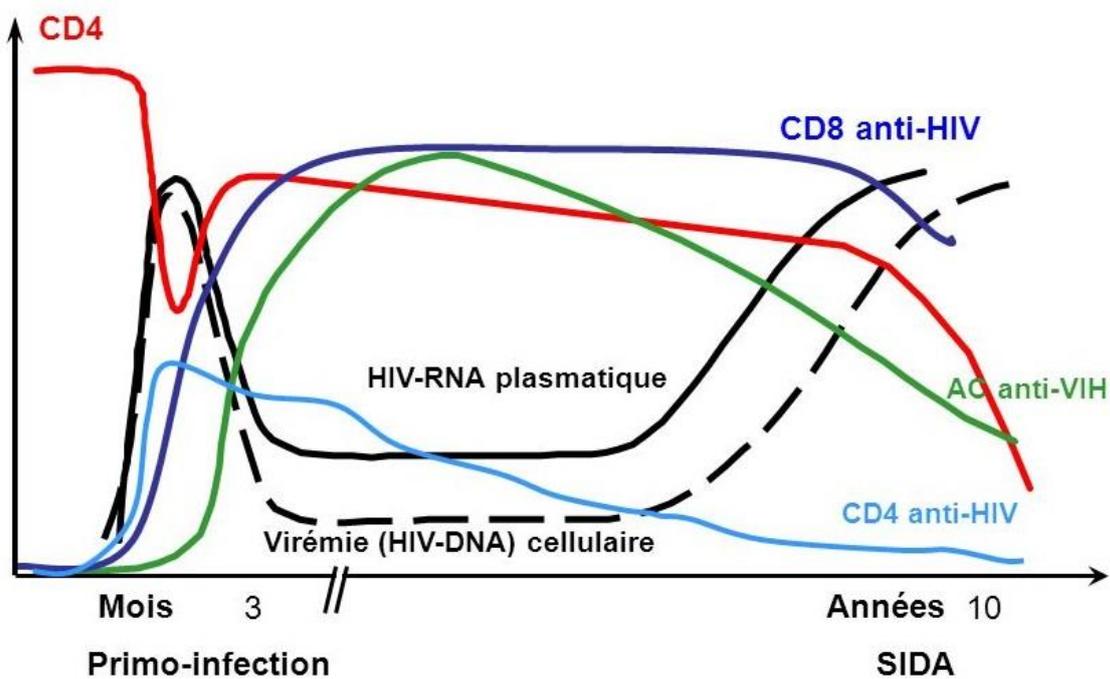


Figure 5: La réponse immunitaire spécifique du VIH

http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=vir%C3%A9mie&lang=4
consulté en octobre 2015.

5. Diagnostic de l'infection à VIH

Différents marqueurs sont utilisés pour le diagnostic de l'infection, et il existe deux types de méthodes : le diagnostic sérologique ou indirect, et le diagnostic direct.

5.1. Le diagnostic sérologique

Le diagnostic de l'infection chez l'adulte repose sur la détection des anticorps anti-VIH. Il consiste en l'utilisation des tests de dépistage, dont les résultats feront l'objet de confirmation.

Les tests de dépistage : ils sont constitués de test ELISA (Enzym linked Immuno Sorbent Assay) et de tests rapides. Le principe de tests ELISA repose sur la détection des anticorps anti-VIH à la suite d'une réaction antigène/anticorps. La réaction est visualisée par la fixation d'une anti-globuline couplée à une enzyme qui transforme son substrat incolore en un produit coloré. Ce produit est interprété par rapport à une valeur seuil calculée à partir des densités optiques d'échantillons témoins. Les progrès technologiques ont permis de faire passer les tests de dépistages détectant les anticorps anti-VIH, de la première génération à base de lysat viral à la quatrième génération détectant à la fois les anticorps et les antigènes. Les tests rapides sont aussi performants que les tests ELISA et permettent de réduire le délai

de disponibilité des résultats. Ce sont le plus souvent des tests immuno-chromatographiques, avec une filtration ou une migration du sérum sur une membrane ou un support recouvert d'antigènes recombinants du VIH-1 et VIH-2. La fiabilité des tests sérologiques est largement améliorée, toutefois une confirmation est requise en cas de positivité.

Les tests de confirmation : la séropositivité n'est établie que quand le test de confirmation est positif. La méthode de référence est le western-blot (WB) qui est performant pour affirmer un diagnostic définitif. L'OMS recommande aux pays à ressources limitées l'utilisation de combinaisons de tests rapides beaucoup plus spécifiques et/ou d'ELISA sans recourir au western blot, ce qui limite le coût du dépistage et le délai de remise des résultats (OMS, 2013).

L'algorithme diagnostique proposé au pays à ressources limitées est basé sur l'utilisation de tests rapides, ELISA et des tests de format *line immuno Assy* (Mboup et coll., 2015).

5.2. Le diagnostic direct

Le diagnostic direct consiste à la mise en évidence du virus, de ses composants, ou de son génome avec des techniques moléculaires. La mise en évidence se fait par identification au microscope électronique, cette méthode est de moins en moins pratiquée, car elle requiert un niveau de sécurité hautement élevé. La PCR (Polymerase Chain Reaction) ou encore la RT-PCR sont des méthodes de diagnostic direct qui consistent à détecter l'acide nucléique par amplification génétique de l'ARN viral plasmatique.

6. Traitement antirétroviral

Les antirétroviraux (ARVs) constituent l'arsenal thérapeutique utilisé contre le VIH. Les traitements antirétroviraux font baisser la charge virale dans le sang et les sécrétions génitales (Turbina et coll., 2002 ; Delaugerre et coll., 2003). Les molécules antirétrovirales agissent au niveau des enzymes nécessaires à la réplication et en inhibant les mécanismes d'entrée du virus. Ces molécules sont réparties en 6 classes selon leur domaine d'action : les inhibiteurs nucléosidiques/nucléotidiques de la transcriptase (exemple : AZT) ; les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (exemple : Efavirenz) ; les inhibiteurs de la protéase (exemple : Lopinavir) ; les inhibiteurs d'intégrase (exemple : Raltégravir) ; les inhibiteurs de fusion (exemple : enfuvirtide) ; et les inhibiteurs de CCR5.

7. Le VIH et les autres ISTs

En plus du mode de transmission commun, il existe des interactions entre le VIH et les autres ISTs (**Fleming et coll., 1999**). Les ISTs peuvent augmenter les risques d'acquisition et de transmission du VIH par la perturbation des muqueuses et le recrutement des cellules cibles du VIH, et donc occasionner l'augmentation de la charge virale (**Ward et coll., 2010**). L'infection à VIH aussi peut avoir des conséquences sur l'histoire naturelle de certaines ISTs, en modifiant leur évolution et/ou leur pronostic (**Ward et coll., 2010**). Il existe plusieurs ISTs, parmi lesquelles, on peut citer la syphilis. La syphilis est une infection à plusieurs stades causée par une bactérie nommée *Treponema pallidum*.

CHAPITRE II : GENERALITE SUR *T. pallidum*

1. Historique

La syphilis a été décrite pour la première fois en 1493, après le retour de Christophe Colomb, comme une maladie se manifestant par des éruptions généralisées sur le corps de soldats européens (**Baron, 1996**). Elle a été longtemps confondue avec la blennorragie et le chancre mou. Entre 1493 et 1900, la syphilis a fait l'objet de multiples études et donc la recherche de l'agent responsable de ce fléau. C'est en 1905, bien après avoir établi la différence entre la syphilis, la blennorragie, et le chancre mou que Schaudinn et Hoffman ont fait la découverte de l'agent étiologique de la syphilis dans des lésions syphilitique primaires et secondaires (**Nougochi, 1912**). Ils l'ont nommé *Spirochaeta pallida*, qui est devenu par la suite *Treponema pallidum*.

Dans les années qui ont suivi cette découverte, il y a eu des progrès dans la recherche sur la syphilis, avec le développement des moyens de diagnostic avec :

- l'application de la microscopie à fond noir à la détection du spirochète par Landsteiner en 1906 ;
- en 1910 vient le premier test sérologique développé par Wassermann (**Baron, 1996**);
- et en 1949 le premier test spécifique pour *T. pallidum*, test d'immobilisation de *T. pallidum*, conçu par Nelson et Mayer (**Nelson et coll., 1949**).

2. Classification

Le genre *Treponema* appartient à l'embranchement des *Spirochaete*, l'ordre des *Spirochaetales*, et à la famille des *Spirochaetaceae*. Les spirochètes sont des bactéries caractérisées par leur forme spiralée. Les tréponèmes peuvent être individualisés en 2 groupes : les tréponèmes non pathogènes et les tréponèmes pathogènes pour l'homme, qui sont responsables de tréponématoses humaines (**Freney, 2000**). Ces derniers recouvrent, en plus de *Treponema carateum*, et l'espèce *Treponema pallidum* qui est divisée en trois sous-espèces : *pallidum*, agent de la syphilis vénérienne, *pertenue*, agent du pian et *endemicum*, agent de la syphilis non vénérienne (**Freney, 2000**).

3. Origine

L'origine de la syphilis fait l'objet de controverses, elle oppose donc deux théories :

Une première théorie dite colombienne, qui établit la relation entre le premier retour de Christophe Colomb après la découverte du nouveau monde, et l'apparition du mal en Europe. Ainsi, cette théorie prétend que la syphilis a été introduite en Europe par l'équipage de Christophe Colomb (**Baron, 1996**).

La théorie précolombienne défend l'idée que la syphilis existait déjà en occident, avant la découverte de l'Amérique et le retour des navigateurs du nouveau monde (**Molez, 2006**). Son existence était inconnue du fait qu'elle était confondue avec d'autres maladies. Cette théorie repose sur des découvertes d'ossements portants des lésions osseuses, qui sont analogues à celles décrites dans la syphilis (**Freney, 2000**).

De nouvelles découvertes archéologiques, des lésions osseuses assez typiques ont été rencontrées sur des squelettes en France, en Italie et Angleterre, relançant l'existence d'une tréponématose vénérienne ou non Europe avant 1493 (**Molez, 2006 ; Freney 2000**).

4. Les caractéristiques de *T. pallidum*

4.1. Structure de *T. pallidum*

Treponema pallidum se présente sous une forme hélicoïdale (**figure 6**), avec une longueur comprise entre 6 et 15 μ m et un diamètre de 0,2 μ m à 0,1 μ m vers la fin de la cellule (**Lafond et coll., 2006 ; Liu et coll., 2010**).



Figure 6: Microscopie électronique à balayage de *T. pallidum*

(Bergey et coll., 1984)

Le corps spiralé de la bactérie comprend un cylindre protoplasmique recouvert d'une enveloppe cellulaire. Cette dernière est constituée d'une membrane cytoplasmique, qui est entourée par une membrane externe librement associée (voir **figure 7**) (**Liu et coll., 2010**). Une fine couche de peptidoglycane et les flagelles sont logés dans l'espace périplasmique, entre les membranes cytoplasmique et externe. Un trait morphologique inhabituel de *T. pallidum*, et de plusieurs autres membres du genre *Treponema*, est la présence de filaments

cytoplasmiques, situés juste sous la membrane cytoplasmique (Norris et coll., 2001). Le cylindre protoplasmique contient le génome et d'autres constituants de la cellule.

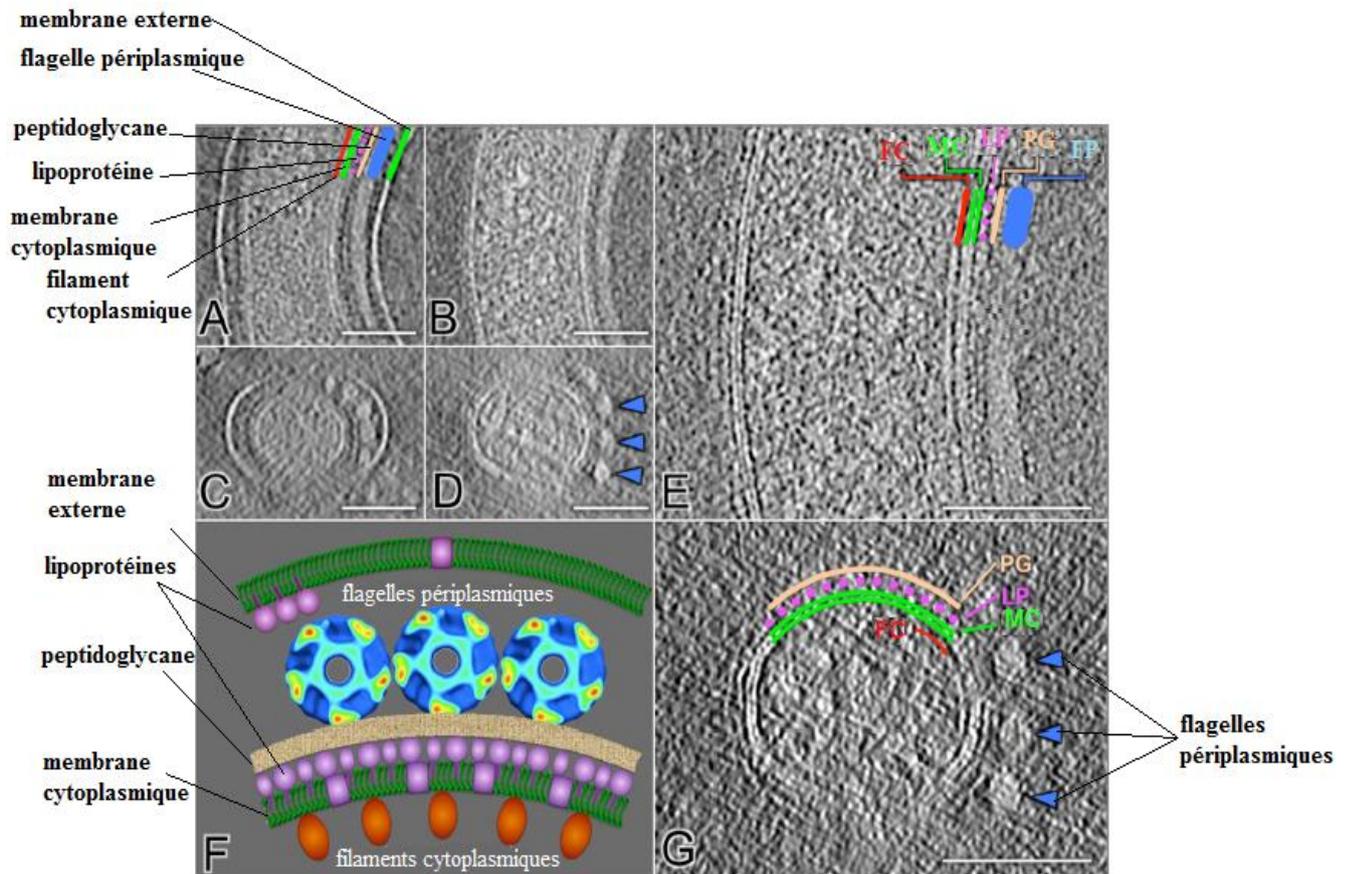


Figure 7: Représentation schématique de l'architecture de l'enveloppe de *T. pallidum*

(Liu et al, 2010)

Les A, B et E représentent des coupes longitudinales de *T. pallidum*. C, D et G illustrent des coupes transversales de la bactérie ; et enfin F représente un modèle de l'enveloppe cellulaire de *T. pallidum*.

L'espace intramembranaire est présenté dans les sections A et C ; les flagelles périplasmiques restent fermement associés à la membrane plasmique même après enlèvement de la membrane externe (sections B et C) ; les sections E et G indiquent la localisation des filaments cytoplasmiques, la couche de lipoprotéine et la couche de peptidoglycane.

La membrane externe : à cause de l'ultrastructure de la double membrane, *T. pallidum* a souvent été confondu à une bactérie gram-négatif, cependant il existe une différence substantielle entre les deux membranes externes. Comparée à la membrane externe des bactéries gram-négatif, celle de *T. pallidum* manque de lipopolysaccharide (Radolf et coll., 1995). Elle est formée d'une bicouche lipidique, qui est pauvre en protéines (Liu et coll.,

2010). Ces rares protéines de la membrane externe de *T. pallidum* sont appelées TROMPs (treponemal rare outer membrane proteins) (Norris et coll., 2001 ; Liu et coll., 2012).

Les flagelles périplasmiques ou endoflagelles : deux à quatre filaments flagellaires prennent origine à chaque extrémité de la cellule et s'étendent vers le milieu en enlaçant le corps cellulaire (Norris et coll., 1993). Ils sont clairement localisés dans l'espace périplasmique, entre la couche de peptidoglycane et la membrane externe. Chaque filament de flagelle comprend un moteur flagellaire, un crochet, et un filament ; et est constitué d'un noyau interne de 11nm de diamètre et d'une gaine externe (Norris et coll., 2001). Le filament est approximativement de 20nm de diamètre (Liu et coll., 2010). Liu et al. ont rapporté que de fins filaments flagellaires, de 13nm de diamètre étaient présent et que contrairement aux filaments épais, les fins n'étaient pas connectés à des moteurs flagellaires (Liu et coll., 2010). Deux classes de flagellines ou protéines flagellaires ont été identifiées : une première de classe A qui compose la gaine externe, correspondant au FlaA ; et une deuxième qui compose le noyau, classe B qui est subdivisée en FlaB1, FlaB2 et FlaB3 (Norris et coll., 2001 ; Norris et coll., 1993). L'importance des endoflagelles dérive de leur fonction dans la locomotion de la bactérie et de leur nature antigénique.

La membrane cytoplasmique : c'est une bicouche lipidique située sous la couche de peptidoglycane. Elle paraît former une double couche (figure 7 E et G), dont la face périplasmique est constituée de lipoprotéines, qui donne une abondance en lipoprotéine à *T. pallidum* (Liu et coll., 2010). Parmi ces lipoprotéines associées à la face périplasmique de la membrane cytoplasmique, nous avons les Tpp47, Tpp17 et le Tpp15, qui sont probablement associées à la virulence de la bactérie (Norris et coll., 2001).

Les filaments cytoplasmiques : logés dans le cylindre protoplasmique, les filaments cytoplasmiques forment un ruban sous la membrane cytoplasmique et de façon parallèle aux flagelles périplasmiques. Ils ont un diamètre variant entre 7,0 et 7,5nm et sont espacés de 13,0nm (Liu et coll., 2010 ; Norris et coll., 2001 ; You et coll., 1996). Ils sont composés de 4 à 8 filaments, ancrés sur la face interne de la membrane cytoplasmique (Liu et coll., 2010 ; You et coll., 1996). Ils sont constitués d'une majeure sous-unité de protéine : le 76KDa CfpA communément appelée le TpN83 (You et coll., 1996). Il est possible qu'ils soient impliqués dans la mobilité, le processus de la division cellulaire, l'intégrité de la morphologie hélicoïdale et/ou la structure du chromosome de *T. pallidum* (Liu et coll., 2010 ; Norris et coll., 2001 ; You et coll., 1996).

Le génome : c'est un ADN chromosomique circulaire d'une taille d'environ 1Mb, ou plus selon les souches (Girons et coll., 1992). Parmi les multiples souches, on compte celle

de Nichols, dont le génome est représentatif de la sous-espèce *pallidum*. Le génome de cette souche a une taille de 1 138 006 Pb, avec 1041 cadres de lecture (**Faser et coll., 1998**).

4.2. La capacité métabolique de *T. pallidum*

La bactérie présente une capacité métabolique réduite. L'organisme présente une capacité de glycolyse, mais il manque de chaîne de transporteur d'électrons et d'enzymes du cycle d'acide tricarboxylique (**Lafond et coll., 2006**). *T. pallidum* est incapable de synthétiser l'enzyme de cofacteur, des acides gras et des nucléotides de novo (**Faser et coll., 1998**). Cette capacité de biosynthèse limitée montre que *T. pallidum* tire les nutriments nécessaires à sa multiplication chez l'hôte (**Faser et coll., 1998 ; Lafond et coll., 2006**).

4.3. La composition antigénique de *T. pallidum*

La bactérie présente une composition antigénique complexe (**Freney, 2000**). De nombreux polypeptides ont été décrits comme des antigènes. Au moins neuf de ces polypeptides avec des masses moléculaires de 15 (TpN15), 17 (TpN17), 33, 37 (TpN37), 39, 43, 45 (TmpA), 47 (TpN47), 97 KDa ont été identifiés immunogènes (**Sambri et coll., 2001**). Parmi ces polypeptides, les 15, 17, 37, 45 et le 47KDa sont d'intérêt diagnostique (**Sambri et coll., 2001**). Le 47KDa est le polypeptide le plus séroréactif de *T. pallidum*, le 15KDa et le 17KDa induisent aussi une réponse humorale avec une production d'anticorps (**Sena et coll., 2010**).

Le cardiolipide, un phosphatidyl-glycérol localisé à la membrane plasmique de la bactérie, et commun à toutes les espèces de tréponèmes, lui aussi induit une production d'anticorps (les anticorps de Wassermann) (**Freney, 2000**).

5. Pathogénèse et immunologie de l'infection à *T. pallidum*

5.1. Les modes de transmission

La syphilis est une maladie à multiple stades de développement. L'agent étiologique de cette maladie est *Treponema pallidum* ssp *pallidum*. Sa transmission est généralement sexuelle, par contact avec des lésions syphilitiques primaires ou secondaires. Un autre commun mode de transmission, qui est celle verticale : in utero, ou encore pendant l'accouchement par contact du nouveau-né avec une lésion contagieuse. Outre ces deux principaux modes de transmission, la syphilis peut être transmise par transfusion sanguine ou encore par tout autre contact avec une lésion syphilitique.

5.2. Histoire naturelle

La syphilis est une maladie infectieuse qui évolue en 4 stades de développement : les syphilis primaire et secondaire, la syphilis latente et la syphilis tertiaire (**figure 8**).

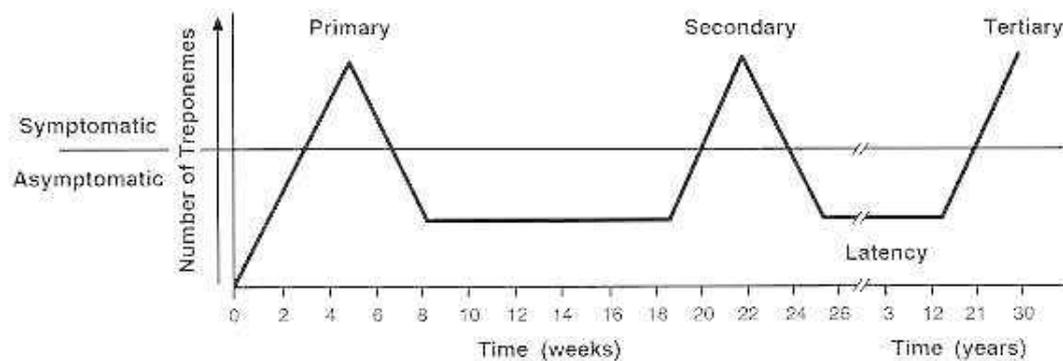


Figure 8: Les stades de développement clinique de la syphilis

(Baron, 1996)

➤ La syphilis primaire

Cette phase est séparée du moment de l'exposition par une période d'incubation de 10 à 90 jours. La syphilis primaire est caractérisée par l'apparition d'un chancre, une ulcération, au niveau du site de l'inoculation, approximativement deux à huit semaines après l'infection initial (**Ficarra et coll., 2009**). Généralement la lésion est unique, mais dans certains cas, de multiples lésions peuvent être observées. Une lymphadénopathie modérée et régionale est souvent associée à cette phase de la maladie. La localisation de la première lésion est en fonction du site exposé. Le chancre indolore guérit spontanément en 4 à 6 semaines, indiquant une clairance, pendant laquelle *T. pallidum* effectue une propagation systémique et se dissémine au niveau de plusieurs tissus et organes.

➤ La syphilis secondaire

Cette phase est celle disséminée de la maladie, le stade où *T. pallidum*, de par sa mobilité atteint le système sanguin et se propage dans l'organisme. Elle commence généralement 2 à 8 semaines après l'apparition du premier chancre. Elle se manifeste par des éruptions maculopapuleuses, qui impliquent les mains, les paumes, les flancs, les semelles et le scrotum (**Radolf et coll., 2006**). En plus de ces éruptions, la syphilis secondaire peut aussi se manifester par une lymphadénopathie généralisée, des éruptions cutanées, des implications oculaires, des lésions orales, et des symptômes comme la fièvre, une perte de poids ou encore

des malaises (**Manriquez et coll., 2015 ; Baughn et coll., 2005**). Des organes comme le foie ou le pancréas peuvent être atteints à ce stade de la maladie (**Singh et coll., 1999**).

La dissémination de la bactérie peut mener à l'invasion du système nerveux central (CNS) pendant les premiers stades de la maladie, pouvant conduire à la neurosyphilis (**Radolf et coll., 2006**). L'atteinte du système nerveux peut être asymptomatique, ou encore se manifester par une méningite chez 1 à 2% des individus atteints de syphilis (**Ahsan et coll., 2015**).

➤ **La syphilis latente**

La disparition spontanée des signes et manifestations de la syphilis secondaire marque le début de la syphilis latente. Cette dernière est caractérisée par la disparition des manifestations, mais la persistance des spirochètes au niveau de certains organes, ainsi que la présence d'anticorps. La syphilis latente est divisée en syphilis latente précoce et tardive. Pendant la phase tardive de la syphilis latente, *T. pallidum* peut infecter le fœtus durant la grossesse, mais la transmission sexuelle est rare (**Ho et coll., 2011**).

➤ **La syphilis tardive ou tertiaire**

La syphilis tertiaire apparaît, plus ou moins, 2 ans après l'infection, elle survient chez 1/3 des patients non traités. La syphilis symptomatique tardive (tertiaire) implique généralement 3 catégories de manifestations : la syphilis gommeuse, la syphilis cardiovasculaire, et la neurosyphilis. Cette dernière peut avoir diverses manifestations, dont la plus commune est la neurosyphilis méningovasculaire (**Mehrabian et coll., 2012**).

La syphilis cardiovasculaire implique une aortite dans 70% des cas, il est généralement asymptomatique (**Avelleira et coll., 2006**). Elle peut aboutir à des complications, principalement à un anévrisme, une sténose ostéale coronaire ou encore une insuffisance aortique (**Saraiva et coll., 2010**). Quant à la syphilis gommeuse, elle peut entraîner l'apparition de lésions granulomateuses sur la peau, les os et divers organes (le foie, le pancréas, l'iris, etc.) (**karnath et coll., 2009**).

➤ **L'invasion du système nerveux central par *T. pallidum***

L'invasion du système nerveux par cette bactérie conduit à la neurosyphilis. Elle peut se manifester pendant ou encore après les premiers stades de la syphilis, et elle se manifeste fréquemment chez les personnes atteintes de VIH (**Ho et coll., 2011 ; LaFond et coll., 2006**). La neurosyphilis peut affecter les méninges, le cerveau ou encore les parenchymes et peut être ou non symptomatique (**Li et coll., 2013**). Les symptômes de la neurosyphilis incluent la méningite donc des maux de tête, de la fièvre et raideur du cou ; ils incluent aussi des troubles visuels, des troubles auditifs (**Li et coll., 2013 ; LaFond et coll., 2006**). Des études

indiquent que les symptômes de la neurosyphilis peuvent être plus accentués chez un individu atteint de VIH (Ho et coll., 2011 ; LaFond et coll., 2006).

➤ **La syphilis congénitale**

La syphilis congénitale résulte de la transmission transplacentaire de *T. pallidum*. La transmission se fait généralement via le placenta, mais elle peut se faire pendant l'accouchement ; elle est possible pendant les stades primaire, secondaire, et latente de l'infection maternelle (Ficara et coll., 2009). La syphilis non traitée chez une femme enceinte peut avoir de lourdes conséquences, qui peuvent être un avortement, un accouchement prématuré, un mort-né, une mort néonatale ou encore une syphilis néonatale (la syphilis congénitale) (Arnold et coll., 2000 ; LaFond et coll., 2006). Cette dernière est divisée en 2 stades de développement : un stade précoce et un autre retardé.

Les manifestations du stade précoce de la syphilis congénitale apparaissent dans les 2 premières années de vie néonatale et sont semblables à celles de la syphilis secondaire chez un adulte (Singh et coll., 1999). Ces manifestations incluent une lymphadénopathie généralisée, des atteintes du système nerveux central, des atteintes cutanées, hépatique, splénique ou même osseuses (Singh et coll., 1999). Ce stade peut aussi être asymptomatique.

Non traité, le stade précoce d'une syphilis congénitale peut mener à un stade retardé de la maladie. Les manifestations cliniques de ce stade sont généralement des malformations ou des stigmates. Elles impliquent des anomalies nerveuses du crâne, des retards mentales, des atteintes osseuses et la triade de Hutchinson (De Santis et coll., 2012 ; Ficara et coll., 2009 ; Singh et coll., 1999), caractérisée par l'association de :

- Malformations dentaires : dents de Hutchinson
- Des atteintes oculaires se traduisant par une kératite interstitielle
- Survenu de surdité progressive

5.3. VIH et Syphilis

La syphilis constitue un facteur facilitant la transmission et l'acquisition du VIH, tandis que l'infection à VIH aussi est un facteur accélérant l'évolution de la syphilis, rendant la maladie plus sévère. L'afflux des cellules immunitaires aux lésions syphilitiques augmente le nombre de cibles pour le VIH, les TCD4, les macrophages et les cellules dendritiques qui expriment le CCR5, un corécepteur nécessaire à l'entrée du VIH dans une cellule (Carlson et coll., 2011). La décroissance du nombre de cellules TCD4 provoque la réduction de la production d'anticorps contre *T. pallidum*, suite à la réduction de la fonction T-helper (les réponses Th1) (Sadeghani et coll., 2014). L'infection à VIH peut conduire à l'apparition de

plus larges et nombreux chancres, accélère l'apparition de la syphilis secondaire et apparition rapide de la tardive syphilis dont les symptômes sont fréquemment neurologique, optique et otique mais aussi des granulomes (**Carlson et coll., 2011 ; Goh, 2005**).

5.4. Les réponses immunitaires

Une forte réponse immunitaire humorale et à médiation cellulaire est provoquée par l'infection à *T. pallidum*.

Les cellules dominantes sont celles inflammatoires, et parmi elles, les cellules T, les macrophages, et les neutrophiles sont retrouvées à tous les stades de la maladie (**Stary et coll., 2010**). Pendant la première phase de la maladie, une production des cytokines IL-2, IL-12 et IFN- γ indique une réponse Th1, donc une implication de cellules TCD4 (**Cruz et coll., 2012 ; Van Voorhis et coll., 1996**). Cette réponse Th1 évolue vers une réponse Th2 au cours du stade secondaire de la maladie, d'où une présence accrue de TCD8, en plus de TCD4 (**Peeling et coll., 2006**). Cette dernière est accompagnée de production de cytokines inflammatoires comme IL-1 β , IL-6, IL-12 et du TNF- α (**Ho et coll., 2011**). Les macrophages, stimulés par l'IFN- γ , phagocytent les tréponèmes opsonisés.

Outre la réponse immunitaire cellulaire, une réponse immunitaire humorale est déployée par une production d'anticorps, notamment, de l'IgM et de l'IgG, qui opsonisent les bactéries et occasionnent la phagocytose par les macrophages. Les TpN17 et TpN47 sont des antigènes de *T. pallidum* induisant qui induisent la production de hauts titres d'anticorps, et sont utilisées dans les tests de diagnostic de la syphilis pour détecter les anticorps anti-tréponémiques (**Ho et coll., 2011**). Ils apparaissent 2 à 4 semaines après l'exposition à la bactérie, et disparaissent progressivement après un traitement efficace (**Sena et coll., 2010**).

6. Diagnostic de la syphilis

Les méthodes de diagnostic de la syphilis peuvent être directes ou sérologiques.

6.1. Diagnostic direct

Cette méthode consiste à la recherche directe du microorganisme, elle se fait uniquement lors des lésions primaires et secondaires, et doit être pratiquée avant tout traitement antibiotique. On distingue trois principales méthodes :

Le microscope à fond noir : c'est une recherche du microorganisme à l'état frais, entre lame et lamelle. Les tréponèmes apparaissent comme des organismes au corps spiralé et mobiles sur le fond noir. Il permet de faire un diagnostic rapide, mais il est moins spécifique

notamment au niveau des muqueuses buccale, anale et rectale où l'on peut retrouver des spirochètes non pathogènes.

L'immunofluorescence directe : c'est une méthode utilisant un anticorps monoclonal réagissant avec l'antigène 47 kDa de *T. pallidum*, sur du frottis fixé et ne nécessitant pas de microscope. Elle est encore appelée DFA-TP (direct fluorescent-antibody testing for *T. pallidum*).

Les méthodes de coloration : par l'imprégnation argentique (Fontana-Tribondeau) ou encore la méthode de Giemsa. Les méthodes de coloration sont de moins en moins utilisées.

6.2. Diagnostic indirect

T. pallidum n'étant pas cultivable *in vitro*, le diagnostic biologique des tréponématoses est essentiellement sérologique. Le pilier du diagnostic sérologique de l'infection à *T. pallidum* est basé sur les tests sérologiques non tréponémique et tréponémique.

- **Les tests non tréponémiques, non spécifiques** : ces tests utilisent des antigènes non tréponémique, détectant les anticorps anti-phospholipides. On distingue :

VDRL (Venereal Disease Research Laboratory): utilise un antigène constitué d'une suspension de microcristaux de cholestérol sur lesquels sont adsorbées des molécules de cardiolipide. Ce test ne devient positif qu'une à deux semaines après la formation du premier chancre, quand les anticorps apparaissent. Des résultats faux positifs peuvent apparaître chez des personnes ayant des anticorps anti-phospholipides, ou dans différents syndromes inflammatoires. Le test VDRL peut être quantitatif, et est utilisé pour l'évaluation de la réponse au traitement.

Rapid plasma reagin (RPR) : utilise le même principe que le test VDRL, il est le test le plus utilisé. Il est aussi quantifiable, mais il n'est pas comparable au titre obtenu avec le VDRL quantitatif. Il se positive de 15 à 20 jours après l'apparition du premier chancre.

- **Les tests tréponémiques, spécifiques** : utilisent des antigènes tréponémiques pour la détection des anticorps spécifiques de tréponèmes pathogènes. Ils sont utilisés pour confirmer les tests non tréponémiques. On distingue :

Les tests d'hémagglutination et d'agglutination : le principe de ces tests est d'utiliser des érythrocytes animaux sensibilisés avec des antigènes tréponémiques pour la capture d'anticorps dans l'échantillon. Les tests TPHA (*Treponema pallidum* Hemagglutination Assay) et MHA-TP (micro-hémagglutination *T. pallidum*) sont des tests d'hémagglutination. Outre les tests d'hémagglutination, on distingue aussi des tests d'agglutination comme le TP-

PA, dont le principe est basé sur l'agglutination aux anticorps spécifiques, de particules de gel sensibilisés avec des antigènes tréponémiques.

Les tests d'anticorps tréponémiques fluorescents (FTA-ABS): l'antigène utilisé par ce test est constitué par une préparation de *T. pallidum* fixés sur une lame ; les anticorps du patients est mise en évidence par des anticorps anti-IgG ou anti-IgM humaines couplées à un fluorochrome. L'intérêt des IgM est de pouvoir mettre en évidence une infection active, une syphilis congénitale et une neurosyphilis. La présence d'IgM dans le LCR confirme le diagnostic de neurosyphilis. C'est la réaction la plus précoce et la plus durable en cas de syphilis non traitée ou traitée tardivement.

Autres tests tréponémiques : les techniques immuno-enzymatiques (enzymatic immuno-assay) et le western-blot utilisent aussi des antigènes tréponémiques.

Le diagnostic de la syphilis repose sur un algorithme à tests multiples, destinés à détecter des anticorps non tréponémiques et des anticorps tréponémiques (exemple : RPR et TPHA).

6.3. Interprétation

Les différentes situations auxquelles le biologiste peut être confronté en réalisant les tests tréponémiques de dépistage sont présentées dans le **tableau 1**. Si le diagnostic d'une infection active en phase secondaire est généralement facile du fait de titres très élevés d'anticorps, les problèmes d'interprétation se posent. Il est souvent difficile de différencier une syphilis latente, d'une cicatrice sérologique de syphilis anciennement traitée face à une sérologie modérément positive. Il est aussi difficile de détecter une syphilis primaire débutante avec un test RPR ou VDRL.

Tableau 1: Evolution des anticorps au cours des différents stades de la syphilis

Stade de l'infection	FTA-ABS	VDRL	TPHA
Primaire débutante	200 à 400	Négatif	Négatif
Primaire évoluée	800 à 3200	2 à 8	80 à 320
Secondaire	12 800 à 81 900	16 à 4 096	10240 à > 1 million
Latente non traitée	3 200 à 12 800	8 à 12	1 280 à 10 240
Tertiaire	3 200 à 51 200	16 à 28	10 240 à 655 360
Cicatrice	400 à 3 200	0 à 4	160 à 1 280

D'après Biomnis, *Precis De Biopathologie Analyses Médicales Spécialisées*.

7. Traitement de la syphilis

Un traitement efficace contre la syphilis est disponible, pour tous les stades. Un traitement antibiotique est indiqué, notamment de la pénicilline G, qui se trouve être efficace à tous les stades de la maladie. La principale contre-indication est l'hypersensibilité à la pénicilline (**Ficarra et coll., 2009**). La tétracycline, la doxycycline, la ceftriaxone et l'azythromycine sont aussi efficace contre l'infection à *T. pallidum*. Des cas de résistance à l'azythromycine ont été rapportés (**Ficarra et coll., 2009**).

CHAPITRE III : LE PRINCIPE DE L'ÉVALUATION DE TESTS DE DIAGNOSTIC RAPIDES (TDRS)

L'évaluation d'un test rapide de diagnostic consiste à vérifier les performances de ce test. Elle vise à déterminer la fiabilité et la précision du test à procurer un résultat dans les délais. Un test rapide de diagnostic est évalué sur des critères de performance intrinsèques, extrinsèques la reproductibilité, la précision et sur des critères opérationnels (**Banou et coll., 2010**).

1. Les caractéristiques ou critères d'évaluation d'un TDR

1.1. Les critères de performances

1.1.1. Les critères intrinsèques

Les critères de base d'un test à distinguer des individus infectés à des individus non infectés sont respectivement appelés la sensibilité et la spécificité.

La **sensibilité (Se)** est la probabilité qu'un individu réellement infectée soit testé positif à l'infection par le test évalué. Elle représente la proportion d'individus réellement infectés, sur une population ciblée, qui sont identifiées par le test comme étant infectés.

La **spécificité (Sp)** est la probabilité qu'un individu réellement non infecté soit testé négatif à l'infection par le test évalué. Elle représente la proportion d'individus réellement non infectés, sur une population ciblée, qui sont identifiées par le test comme étant non infectés.

Ces mesures (sensibilité et la spécificité) sont toutes les deux généralement exprimées en pourcentage et sont déterminées en comparaison avec un test standard de référence.

1.1.2. Les critères extrinsèques

Deux importantes autres mesures de performance de test s'ajoutent aux premiers : les valeurs prédictives positive et négative.

La **valeur prédictive positive (VPP)** est la probabilité que les individus testés positif par le test évalué, soient réellement infectés.

La **valeur prédictive négative (VPN)** est la probabilité que les individus testés négatif par le test évalué, ne soient réellement pas infectés.

Les deux valeurs sont exprimées en pourcentage. La VPP et la VPN dépendent non seulement de la sensibilité et la spécificité, mais aussi de la prévalence de l'infection dans la population étudiée.

Tableau 2: Les formules des critères intrinsèques et extrinsèques de performance d'un TDR

Résultats du test à évaluer	Résultats de test de référence		
	infectés	Non infectés	
Positifs	Vrai positifs (VP)	Faux positifs (FP)	$VPP = \frac{VP}{VP+FP}$; avec $N_1 = VP+FP$
Négatifs	Faux négatifs (FN)	Vrai négatifs (VN)	$VPN = \frac{VN}{VN+FN}$; avec $N_2 = FN+VN$
	$Se = \frac{VP}{VP+FN} \times 100$; avec $N' = VP+FN$	$Sp = \frac{VN}{VN+FP} \times 100$; avec $N'' = FP+VN$	$N = (N_1 + N_2) + (N' + N'')$

Un test rapide de diagnostic est dit performant quand il a une sensibilité $\geq 99\%$ et une spécificité $\geq 98\%$.

1.1.3. La reproductibilité

La reproductibilité d'un test évalue la mesure dans laquelle un même testeur obtient les mêmes résultats sur les mêmes échantillons, mais avec des tests différents. La concordance entre les deux tests est déterminée par le coefficient **Kappa (K)** de Cohen (**Banou et coll., 2010**).

$$K = \frac{P_o - P_a}{1 - P_a} ; \text{ avec:}$$

Pourcentage d'accord observé $P_o = \frac{VP+VN}{N}$ (N : le nombre total d'individu)

$$\text{Concordance attendu } P_a = \frac{a'+d'}{N}$$

$$a' = \frac{N1 \times N1'}{N}$$

$$d' = \frac{N2 \times N2'}{N}$$

Tableau 3: Les degrés d'accord et les valeurs correspondant de Kappa

Accord	Kappa
Excellent	>0,80
Bon	0,80 – 0,61
Modéré	0,60 – 0,41
Mediocre	0,40 – 0,21
Mauvais	0,20 – 0
Très mauvais	<0,0

1.1.4. La précision

La précision d'un test est mesurée par l'index de Youden (J). Il définit l'efficacité potentielle d'un test et dépend de la sensibilité et de la spécificité du test. Il a une valeur comprise entre 0 et 1 (**Ruopp et coll., 2008**).

$$J = (Se + Sp) - 1$$

1.2. Les critères opérationnels

Les caractéristiques opérationnelles incluent le temps d'exécution du test, la simplicité de la technique ou la facilité d'utilisation et les conditions d'exécution du test. La facilité d'utilisation dépendra de la facilité d'acquisition et de maintenance des équipements requis pour effectuer le test, de la difficulté de former le personnel à utiliser et à interpréter correctement les résultats du test (**Banou et coll., 2010**). Ils incluent aussi la stabilité du test dans les conditions d'utilisation prévues.

Chacune de ces caractéristiques sont importantes pour la détermination des contextes dans lesquels un test de diagnostic peut être utilisé et quels niveaux de formation sont nécessaires pour le personnel utilisent.

2. Evaluation de TDR

L'évaluation d'un TDR consiste à tester des échantillons, non seulement avec le TDR en cours d'évaluation, mais aussi avec une techniques de diagnostics, dites références, afin de comparer les résultats et de déterminer les caractéristiques de performances (**Banou et coll., 2008**). Tous les TDRs en cours d'évaluation doivent être comparés à une méthode de référence. La méthode de référence doit être une méthode validée, pour la légitimité de la comparaison.

DEUXIEME PARTIE

DEUXIEME PARTIE

CHAPITRE I : JUSTIFICATIFS ET OBJECTIFS DE L'ETUDE

1. Justificatifs de l'étude

En 2014, 36.9 millions de personnes vivaient avec le VIH dans le monde, selon le dernier rapport de l'ONUSIDA. Parmi ces 36.9 millions de personnes, 17.1 million ne connaissent pas leur statut (ONUSIDA, 2015). Des stratégies sont développées pour mettre fin à cette épidémie du sida, parmi lesquelles figure le dépistage du VIH, mais aussi la prise en charge des infections sexuellement transmissibles, pour prévenir la transmission sexuelle du VIH (CNLS, 2014). Le dépistage du VIH et des infections sexuellement transmissibles, est d'une grande importance pour une meilleure prise en charge d'une infection à VIH. Il permet l'accès à la prise en charge thérapeutique et le suivi biologique de l'infection. Un accent est mis sur le dépistage sérologique de la syphilis. De plus, l'organisation mondiale de la santé (OMS) recommande le dépistage prénatal de la syphilis et du VIH en vue d'éliminer la transmission mère-enfant des deux infections (WHO, 2014).

Tout comme le VIH, il existe en effet plusieurs tests commerciaux pour le diagnostic de la syphilis allant de tests sérologiques aux tests moléculaires. Classiquement, le diagnostic de ces deux infections nécessite deux algorithmes distincts. Le diagnostic de l'infection à VIH est basé sur l'utilisation de tests de dépistage, dont les résultats positifs doivent être confirmés (Mboup et coll., 2015). Quant au diagnostic de la syphilis, il demande l'utilisation de tests non tréponémiques et tréponémiques en parallèle (OMS, 2006). Le marché mondial des tests rapides ont évolué, SD Bioline Syphilis/HIV Duo®, récemment développé, est un test sérologique qui permet de détecter à la fois le VIH et la syphilis. En plus de combiner deux tests, SD Bioline Syphilis/HIV Duo® donne des avantages comme de l'économie en temps, en matériels, mais aussi la baisse du coût de diagnostic. Avant son utilisation à grande échelle, il est nécessaire d'évaluer les performances de ce test au plan local. De plus, il est à retenir que les performances d'un test peuvent être influencées par certains facteurs comme le stade de l'infection, et la diversité génétique des agents pathogènes (Banou et coll., 2010), d'où la nécessité d'évaluer les performances de ce nouveau test.

2. Objectifs

2.1. Objectif général

L'objectif général de cette étude est d'évaluer les performances du test rapide SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo®, à détecter les infections à VIH et à *T. pallidum*.

2.2. Objectifs spécifiques

- Evaluer la technique SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo® en comparaison avec les techniques de références pour la détection du VIH et de la syphilis;
- Evaluation opérationnelle de la trousse SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo®

CHAPITRE II : LES APPROCHES METHODOLOGIQUES

1. Cadre d'étude

Le laboratoire de bactériologie-virologie **de l'hôpital Aristide le Dantec de Dakar** (LBV-HALD) est le centre national de référence pour le diagnostic du VIH-SIDA et des IST. Il est également le laboratoire de référence de l'OMS pour le VIH-2 et du centre collaborateur ONUSIDA. Il assure le contrôle de qualité des laboratoires de la sous-région pour la sérologie VIH et constitue un centre de formation, de perfectionnement et d'expertise pour les autres laboratoires du Sénégal ainsi que ceux des pays limitrophes. Il est responsable du programme Afriqualab qui est chargé du contrôle de qualité hématologique, biochimique, sérologique, et moléculaire, en partenariat avec le CDC et l'OMS, dans la perspective d'accréditation des laboratoires de santé en Afrique. Il comprend les unités de Bactériologie, de Virologie, d'immunologie et de Biologie moléculaire. C'est dans cette dernière unité que nous avons réalisé l'évaluation du kit SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo.

2. Population d'étude

La population d'étude était constituée d'hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes (HSH) et des travailleuses du sexe provenant de différentes régions du Sénégal.

Il s'agit d'une étude rétrospective, dans laquelle nous avons utilisée :

- des échantillons ayant servi à une étude épidémiologique pour déterminer la prévalence des infections sexuellement transmissible chez les HSHs, conduite en 2014 au Sénégal : l'étude Elihos 2014.
- Et des échantillons provenant de l'étude HP-2 (VIH prévention dans les groupes vulnérables).

3. Echantillonnage

Cette étude est une évaluation rétrospective, qui utilise des échantillons caractérisés et conservés pour réaliser des tests avec le kit SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo. Les échantillons sont constitués de plasma et de sérums dont les résultats aux tests sérologiques à la syphilis et au VIH sont connus au préalable avec les tests RPR Span et TPHA Cypress pour la syphilis et pour le VIH les tests ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo Abbott et ImmunoComb® II HIV 1&2 BiSpot Orgenic. Le panel que nous avons utilisé est constitué de 136 échantillons.

Critères d'inclusions

- Echantillon confirmé positif au VIH-1 et/ou VIH-2
- Echantillon confirmé positif à la syphilis : RPR et TPHA positifs
- Echantillon confirmé positif aux deux infections à la fois
- Echantillon négatif au VIH et à la syphilis

Critères d'exclusion

- Echantillon ayant des discordances entre RPR et TPHA
- Echantillon ayant un volume inférieur à 10µl.

4. Méthodes

4.1. Les tests de référence

4.1.1. Le test ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo abbott

ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo utilise la technologie CMIA (chimiluminescent microparticules immunoassay) avec des protocoles de dosage flexibles (Chemiflex), c'est un dosage immunologique en 2 étapes pour la détermination de l'antigène p24 du VIH et des anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2.

L'échantillon est dans un premier temps, mis en présence de l'ARCHITECT *i* Wash Buffer, le diluant de dosage et les microparticules paramagnétiques. L'antigène p24 du VIH et les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 éventuellement présents dans le sérum ou le plasma se lient aux microparticules recouvertes d'antigène VIH-1/VIH-2 et anticorps anti-p24 du VIH. Après un premier lavage, l'antigène p24 et les anticorps se lient aux conjugués (antigènes recombinants VIH-1/VIH-2, peptides synthétiques et anticorps monoclonaux anti-p24) marqués à l'acridinium. Les solutions de pré-activation et d'activation sont ajoutées au mélange réactionnel après un second cycle de lavage. Une réaction chimiluminescente en résulte, celle-ci est mesurée en unité relative de lumière (URL) et détectée par le système optique ARCHITECT *i* système. Il existe une relation directe entre la quantité d'antigène du VIH, d'anticorps présent dans l'échantillon et les URL détectées. La détermination du résultat est basée sur le rapport de la valeur URL de l'échantillon (S) et celle de la valeur URL seuil (CO) déterminée lors d'une calibration ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo.

- Les échantillons dont la valeur S/CO est inférieure ou égale à 1, sont considérés comme non réactifs (NR),

- Les échantillons dont la valeur S/CO est supérieure ou égale à 1, sont considérés comme réactifs (R).

Tous échantillons réactifs doivent être ré-analysés.

4.1.2. Le test ImmunoComb® II HIV 1&2 BiSpot orgenic

En guise de confirmation, les échantillons positifs sont de nouveau testés avec la trousse ImmunoComb® II HIV 1&2 BiSpot. En plus de la confirmation de la présence ou non d'anticorps anti-VIH, cette trousse permet la différenciation des anticorps dirigés contre les virus de l'immunodéficience humain type 1 et 2 (VIH-1 et VIH-2).

La trousse ImmunoComb® II HIV 1&2 BiSpot est un test immunoenzymatique indirect en phase solide. Un peigne à 12 dents constitue la phase solide du test, chaque dent du peigne étant sensibilisée en trois points :

- **Le spot supérieur**, sensibilisé à l'anticorps de chèvre anti-immunoglobulines humaines sert de contrôle interne ;
- **Le spot médian**, est recouvert de peptides synthétiques du VIH-2 ;
- **Le spot inférieur**, est recouvert de peptides synthétiques du VIH-1.

Les réactifs nécessaires à la réalisation du test sont pré-distribués dans un bac à développement à 6 compartiments (A-F) de 12 puits chacun. Les échantillons de plasma ou de sérum (50µl) sont distribués dans les puits du compartiment A, puis le peigne y est introduit pour l'incuber ; les éventuelles anticorps anti VIH présent dans les échantillons se lient aux peptides synthétiques VIH fixés à la surface du peigne, tandis que les immunoglobulines humaines contenues dans les échantillons sont capturés par les anticorps de chèvre anti-immunoglobulines humaines. Les dents du peigne subissent ensuite un lavage dans le compartiment B pour éliminer tout anticorps non fixé de façon spécifique. Les immunoglobulines humaines fixées au peigne sont reconnues par des anticorps de chèvre anti-humains conjugués à la phosphatase alcaline dans les compartiments C et D. Dans le compartiment E, les dents du peigne subissent une nouvelle étape de lavage. Le compartiment F contient un composé chromogénique qui réagit avec la phosphatase alcaline, cette réaction permet la visualisation des résultats à la surface des dents du peigne, sous forme de spot gris-bleu (**figure 9**) :

- Une réaction positive au VIH-1 est caractérisée par l'apparition des spots supérieur et inférieur ;
- Une réaction positive au VIH-2 est caractérisée par l'apparition des spots supérieur et médian ;
- Et une réaction positive aux deux types de VIH est caractérisée par l'apparition des trois spots ;
- Les résultats invalides sont caractérisés par l'apparition des spots médian et inférieur ou encore par l'apparition d'aucun spot.

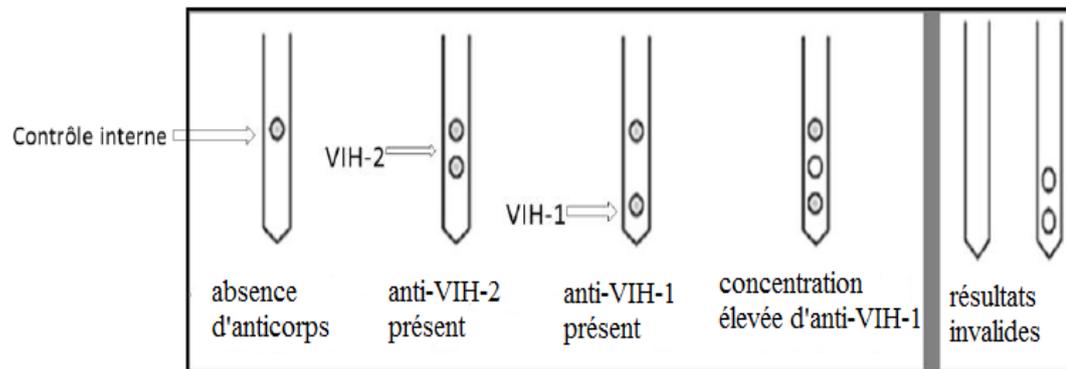


Figure 9: Interprétation des résultats du test ImmunoComb® II HIV 1&2 BiSpot

Chaque série de test nécessite l'inclusion d'un contrôle positif et d'un contrôle négatif, pour valider les résultats.

4.1.3. Le test Rapid Plasma Reagin (RPR) Span

Le RPR est un test sérologique rapide qui n'utilise pas d'antigènes tréponémiques. Son principe est basé sur la mise en évidence de la réagine (IgG et IgM) produite contre la substance lipoïde libérée par les cellules hôtes endommagées, ainsi que la substance lipoïde (qui peut être la cardiolipine) libérée par les tréponèmes. Cette mise en évidence se fait en mettant un réactif contenant l'antigène VDRL (Veneral Disease Recherche Laboratory) et des microparticules de charbon flocculant en présence de la réagine contenu dans 50µl de plasma. La présence de la réagine est indiquée par des agrégats noirs sur un fond blanc, et l'absence est indiquée par une couleur grise uniforme (**figure 10**).

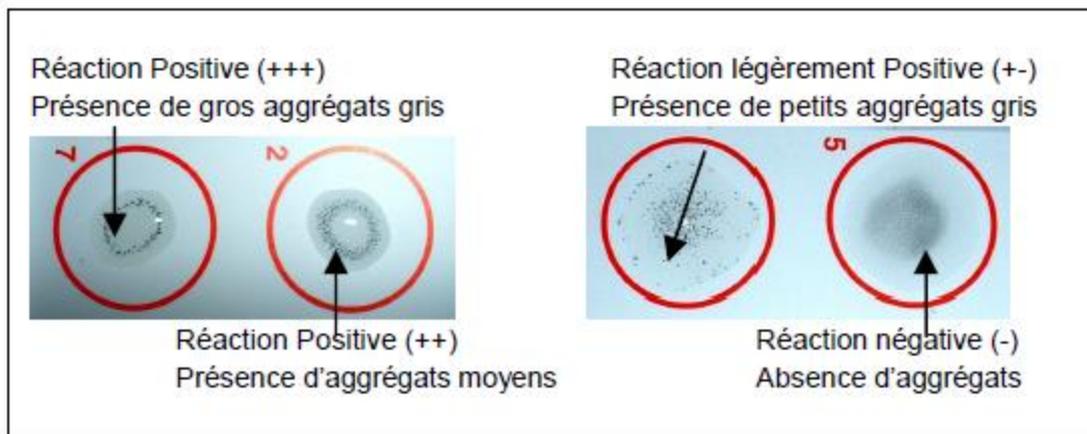


Figure 10: Interprétation des résultats du test RPR

4.1.4. *Treponema pallidum* Hémagglutination Assay (TPHA) Cypress

Des érythrocytes aviaires intacts recouverts d'antigènes de *T. pallidum* ssp *pallidum* (souche de Nichols) sont utilisés pour fixer des anticorps spécifiques éventuellement présents dans les échantillons de sérum ou de plasma. Toutes les réactions non spécifiques sont éliminées par des composants contenus dans un diluent, dans lequel les hématies sont en suspension.

L'échantillon (10 μ l) est dilué à 1/20 dans une solution saline absorbante (190 μ l), puis 25 μ l de ce mélange est distribué dans 2 cupules de microplaque. A l'un de ces puits sont ajoutés des hématies-tests (75 μ l) puis des hématies-témoins (75 μ l) à l'autre puits. Chaque série de test nécessite l'inclusion de témoins positif et négatif.

Les réactions positives sont caractérisées par une agglutination des hématies, qui se traduit par la formation d'un voile ; et les réactions négatives par la formation d'un précipité d'hématies en forme de petit bouton ou de petit anneau (**figure 11**).



Figure 11: Interprétation des résultats de TPHA

- La cupule 1 : une réaction positive ;
- La cupule 2 : une réaction positive ;
- La cupule 3 : une réaction plus ou moins positive ;
- La cupule 4 : une réaction négative.

4.2. Le kit SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo

La méthodologie du test SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo utilisé dans notre étude est décrite ci-dessous.

C'est un test immuno-chromatographique en phase solide, qui détecte les anticorps anti-VIH et/ou anti-*T. pallidum* dans le sérum ou le plasma. Le test SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo contient une bandelette de test recouverte d'une membrane enduite au niveau de la ligne de test 1, des antigènes de captures recombinants du VIH-1, VIH-2, et du sous-type O du VIH-1 conjugués d'or colloïdal ; puis au niveau de la ligne de test 2, la membrane est enduite d'antigènes recombinants de *Treponema pallidum* conjugués d'antigène-or colloïdal.

Procédure du test

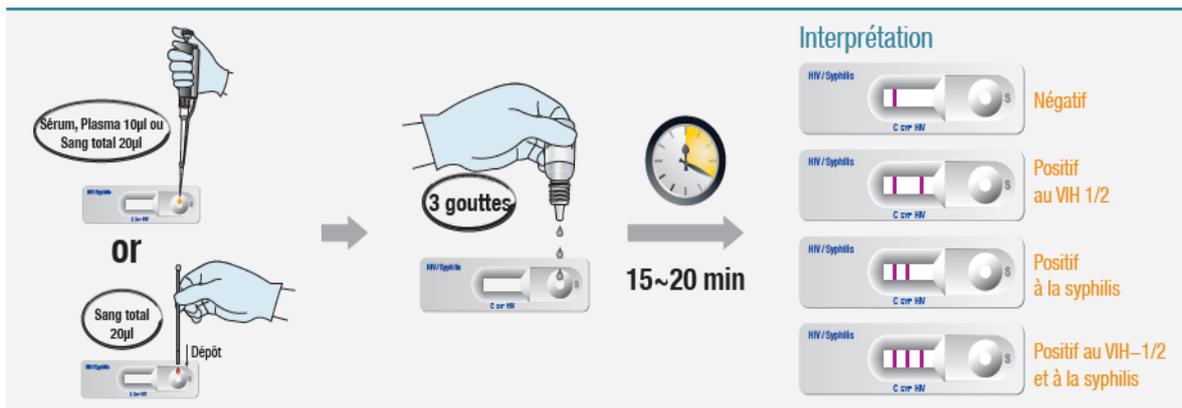


Figure 12: Procédure et interprétation du test SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo

Après avoir déposé 10µl de plasma et trois gouttes de diluant, le mélange se déplace le long de la membrane par migration chromatographique vers la zone de test, pendant que le complexe de particules d'or antigène-anticorps-antigène se forme.

La surface de la cassette-test comporte 3 lignes : une ligne de test VIH (HIV), une ligne de test syphilis (SYP) et une ligne de contrôle, qui ne sont visibles qu'au bout de 15 à 20 minutes de migration (**figure 12**).

- L'apparition de ligne de contrôle indique le bon fonctionnement du test, et l'apparition d'une ligne indique l'absence des anticorps anti-VIH et anti- *T. pallidum* ;
- L'apparition de ligne de test VIH en plus de la ligne de contrôle, indique la présence d'anticorps anti-VIH ;

- L'apparition de ligne de test SYP en plus de la ligne de contrôle, indique la présence d'anticorps anti-*T. pallidum* ;

La lecture des résultats est possible 15 à 20 minutes après le dépôt de l'échantillon et le diluant.

4.3. Evaluation de SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo

Les performances du test ont été évaluées par la détermination de sa sensibilité (Se), sa spécificité (Sp), ses valeurs prédictives positive (VPP) et négative (VPN) ; l'accord entre les techniques est apprécié par le coefficient Kappa de Cohen (K) et la précision est mesurée par le coefficient de Youden (J) :

$$Se = \frac{VP}{VP+FN} \times 100$$

$$Sp = \frac{VN}{VN+FP} \times 100$$

$$VPP = \frac{VP}{VP+FP}$$

$$VPN = \frac{VN}{VN+FN}$$

$$K = \frac{Po - Pa}{1 - Pa}$$

$$J = (Se + Sp) - 1$$

CHAPITRE III : RESULTATS

Cent trente-six échantillons comprenant 95 échantillons provenant de HSH, 41 échantillons provenant des TS. Les 136 échantillons sont composés de 63 échantillons positifs au VIH, 42 positifs à la syphilis, 37 négatifs et 6 échantillons positifs aux deux infections. L'évaluation portait sur la contingence des tests et les analyses statistiques.

Parmi les 63 échantillons positifs au VIH, 58 échantillons sont de réactivité VIH-1, 3 sont de réactivité VIH-2 et 2 échantillons sont de double réactivité VIH-1/2 (**Tableau 4**).

Tableau 4: La réactivité des échantillons VIH positif

Réactivité	ImmunoComb® II HIV1&2 BiSpot
HIV-1	58
HIV-2	03
HIV-1&2	02
Indéterminé	00

1. La contingence des tests :

Des 136 échantillons, avec SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo, 63 échantillons ont été décelés positifs au VIH (**Tableau 5**), 42 échantillons ont été positifs à la syphilis (**Tableau 6**). Le test a correctement détecté tous les échantillons VIH-2 et VIH-1&2 positifs, mais aussi les échantillons présentant une co-infection VIH-syphilis.

Tableau 5: Contingence pour le VIH

		ARCHITECT HIV Ag/Ab		
		Combo/ImmunoComb® II HIV- 1&2		
		Positif	Négatif	Total
SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo	Positif	63	00	63
	Négatif	00	73	73
	Total	63	73	136

Tableau 6: Contingence pour la syphilis

		RPR/TPHA		
		Positif	Négatif	Total
SD BIOLINE	Positif	42	01	43
HIV/Syphilis	Négatif	00	93	93
Duo	Total	42	94	136

2. Les analyses statistiques

Le test détectait l'infection à VIH avec une sensibilité de 100% et avec une spécificité de 100%. Les valeurs prédictives positive et négative (VPP et VPN) pour l'infection sont, respectivement, 100 et 100% (**Tableau 7**). Le degré d'accord entre le test et les méthodes de référence était de $\kappa= 1$.

La sensibilité et la spécificité du test Duo à détecter la syphilis étaient de 100% et 98,93%, respectivement. La valeur prédictive positive (VPP) pour la syphilis est de 97%, et la valeur prédictive négative (VPN) de 100% (**Tableau 7**). Le degré d'accord entre le test et les méthodes de référence était de $\kappa= 0,97$.

Le test détecte avec une précision de 1 pour le VIH et de 0,98 pour la syphilis.

Tableau 7: Les analyses statistiques

	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
VIH (%)	100	100	100	100
Syphilis (%)	100	98,93	97	100

3. L'analyse opérationnelle :

L'exécution du test duo et la disponibilité des résultats ont pris approximativement 20 minutes. La lecture des résultats et l'exécution du test ne nécessitaient pas une formation spécialisée, ni un contexte de laboratoire équipé. Il a une prise d'essai de 10 μ l pour le plasma ou le sérum (**tableau 8**).

Le test est conservable à la température ambiante avec une fourchette située entre 1° et 30° C. il a un cout de 1715 FCFA par kit (kit de 25 tests) contre 7873FCFA par kit de 100 pour le test RPR (pour le dépistage de la syphilis) et 73 450 FCFA pour le test DETERMINE (100 tests), qui sont les tests généralement utilisés au Sénégal pour le diagnostic séparé des deux infections (**tableau 8**).

Tableau 8: L'analyse opérationnelle

	SD BIOLINE		ARCHITECT		
	HIV/SYPHILIS DUO ®	DETERMINE®	HIV Ag/Ab Combo	RPR	TPHA
Prise d'essai	10µl	50µl	150µl	50µl	10µl
Temps d'analyse	15-20min	15-20min	2-2h30min	10-15min	50-60min
Conservation	1-30°C	2-30°C	2-8°C	2-8°C	2-8°C
Coût	60,56 F	734,5 F	1591F	78,73 F	178,42F

CHAPITRE IV : DISCUSSION

Nous avons procédé, dans la présente étude, à une évaluation rétrospective dans le but de déterminer les performances du test SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo, qui est conçu pour détecter la syphilis et l'infection à VIH. Ce travail a été réalisé avec un total de 136 échantillons provenant d'hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes et des travailleuses du sexe sénégalais ; et analysés en mars 2015. Le choix de ces populations est lié au fait qu'elles sont des populations clés, les plus exposées aux ISTs.

Le test SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo détectait les anticorps anti-VIH avec une sensibilité de 98,43% et une spécificité de 100% ; avec la syphilis, le test était sensible de 100% et spécifique de 98,93% aux anticorps anti-*T. pallidum*. Des études similaires menées, en 2013 au sud-Ouest de l'Ouganda, par Omoding et al., qui rapportent des valeurs de sensibilité et de spécificité de 100% pour la syphilis et de 100% et 99,5% pour le VIH, respectivement ; de même que Shimelis et al. en Ethiopie où le test détectait le VIH et la syphilis avec des sensibilités de 100% et de 97,6%, et des valeurs de spécificités de 99,5% et 96%, respectivement (**Omoding et coll., 2014 ; Shimelis et coll., 2014**). Aussi, récemment, une étude multinational menée par Yue et al., en 2015, rapporte des valeurs de sensibilités de 99% et 96,6% pour le VIH et la syphilis respectivement, et des valeurs de spécificités de 99% et 99,1% (**Yue-Ping et coll., 2015**). Cependant, comparé à ces études, nous avons utilisé un nombre d'échantillons plus faible. Toutes ces études citées ci-dessus, ont utilisé des échantillons provenant de femmes enceintes, notre population d'étude était constitué de populations clés les plus exposées : les professionnels du sexe et les HSH. Malgré la diversité génétique du VIH, nos résultats de performance sont comparables aux études antérieures. Cependant le résultat faux positif avec la syphilis indique l'importance de confirmer les résultats positifs avec d'autres tests plus spécifiques.

Le test SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo présente des avantages d'utilisation, notamment sa simplicité d'utilisation, l'interprétation facile des résultats et leur disponibilité en un temps réduit (15 à 20 minutes) par rapport aux méthodes de référence. Il utilise peu de volume sanguin (10µl), une large variété d'échantillon (sang total, plasma ou sérum), mais aussi il n'exige pas un contexte de laboratoire, des équipements ou encore de l'électricité. Ces caractéristiques, peu coûteux et peu exigeant, peuvent favoriser l'utilisation du test dans un contexte de ressources limitées.

**CONCLUSION ET
RECOMMENDATIONS**

RECOMMENDATIONS
CONCLUSION ET

CONCLUSION

Le but de l'étude était de déterminer les performances du test SDBIOLINE HIV/Syphilis Duo pour la détection d'infection à VIH et de la syphilis. Des échantillons caractérisés ont été analysés avec le test SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo, puis les résultats ont été comparés avec ceux des méthodes de référence, (les tests ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo et la trousse ImmunoComb® II HIV- 1&2 pour la détection du VIH, et les tests RPR et TPHA pour la détection de la syphilis). L'analyse statistique des résultats de l'évaluation ont montré une sensibilité, une spécificité et des valeurs prédictives positive et négative de 100%, avec une précision et une valeur κ égales à 1 dans la détection du VIH ; il détecte la syphilis avec une sensibilité, spécificité et des valeurs prédictives positive et négative de 100%, 98,93%, 97% et 100%, avec une précision et une valeur κ de 0,98 et 0,97. Malgré le nombre limité d'échantillon, nos résultats montrent d'aussi bonnes performances que les études antérieures.

Les avantages du test à détecter à la fois la syphilis et l'infection à VIH en plus de son coût faible et de sa précision améliorent l'accessibilité du dépistage et permet de faciliter l'intégration et l'expansion des programmes d'intervention du VIH et de la syphilis. De plus ce test permet aux pays à ressource limitée qui se sont engagés dans le plan d'élimination de la transmission mère-enfant du VIH et de la syphilis de faciliter l'exécution de ce plan.

PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS

Il serait important d'envisager, une étude de terrain, avec un échantillonnage plus large, ainsi qu'avec plusieurs matrices d'échantillons comme le sang total, les DBS et les prises capillaires pour confirmer ces résultats.

A l'issue de ce travail, certaines recommandations peuvent être formulées à l'endroit :

- Des autorités sanitaires, pour l'incorporation du test SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo dans l'algorithme de dépistage des structures de santé ;
- Des laboratoires nationaux de référence pour la formation du personnel, la délégation des tâches et le contrôle de qualité.

REFERENCES

REFERENCES

- 1- **Abecasis, A. B.; A. M. Wensing; D. Paraskevis; J. Vercauteren; K. Theys; D. A. Van de Vijver; J. Albert; B. Asjo; C. Balotta; D. Beshkov, et al.** 2013. "Hiv-1 Subtype Distribution and Its Demographic Determinants in Newly Diagnosed Patients in Europe Suggest Highly Compartmentalized Epidemics." *Retrovirology*, 10, 7.
- 2- **Ahsan, S. and J. Burrascano.** 2015. "Neurosyphilis: An Unresolved Case of Meningitis." *Case Rep Infect Dis*, 2015, 634259.
- 3- **Allan, J.S. ; J.E. Coligan; T-H. Lee; F. Barin; P.J. Kanki; S. M'Boup; M.F. McLane; J.E. Groopman and M. Essex.** 1987. "Immunogenic Nature of a Pol Gene Product of Htlv-Iit/Lav." *Blood*, 69(1), 33 1-333
- 4- **Arnold, S. R. and E. L. Ford-Jones.** 2000. "Congenital Syphilis: A Guide to Diagnosis and Management." *Paediatr Child Health*, 5(8), 463-9.
- 5- **Avelleira, J. C. R. and G. Bottino.** 2006. "Syphilis: Diagnosis, Treatment and Control." *An Bras Dermatol*, 81(2), 111-26.
- 6- **Avettand-Fenoel, V.; F. Damond; M. Gueudin; S. Matheron; A. Melard; G. Collin; D. Descamps; M. L. Chaix; C. Rouzioux and J. C. Plantier.** 2014. "New Sensitive One-Step Real-Time Duplex Pcr Method for Group a and B Hiv-2 Rna Load." *J Clin Microbiol*, 52(8), 3017-22.
- 7- **Ayoub, A.; C. Akoua-Koffi; S. Calvignac-Spencer; A. Esteban; S. Locatelli; H. Li; Y. Li; B. H. Hahn; E. Delaporte; F. H. Leendertz, et al.** 2013. "Evidence for Continuing Cross-Species Transmission of Sivsmm to Humans: Characterization of a New Hiv-2 Lineage in Rural Cote D'ivoire." *AIDS*, 27(15), 2488-91.
- 8- **Banoo, S.; D. Bell; P. Bossuyt; A. Herring; D. Mabey; F. Poole; P. G. Smith; N. Sriram; C. Wongsrichanalai; R. Linke, et al.** 2010. "Evaluation of Diagnostic Tests for Infectious Diseases: General Principles." *Nat Rev Microbiol*, 8(12 Suppl), S17-29.
- 9- **Barin, F.; S. M'Boup; F. Denis; P. Kanki; J. S. Allan; T. H. Lee and M. Essex.** 1985. "Serological Evidence for Virus Related to Simian T-Lymphotropic Retrovirus Iii in Residents of West Africa." *Lancet*, 2(8469-70), 1387-9.
- 10- **Baron, S.** 1996. *Medical Microbiology*.
- 11- **Barre-Sinoussi, F.; J. C. Chermann; F. Rey; M. T. Nugeyre; S. Chamaret; J. Gruest; C. Dauguet; C. Axler-Blin; F. Vezinet-Brun; C. Rouzioux, et al.** 1983. "Isolation of a T-Lymphotropic Retrovirus from a Patient at Risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (Aids)." *Science*, 220(4599), 868-71
- 12- **Baughn, R. E. and D. M. Musher.** 2005. "Secondary Syphilitic Lesions." *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, 18(1), 205–16.
- 13- **Biomnis.** 2008. *Precis De Biopathologie Analyses Médicales Spécialisées*.
- 14- **Briant, L. ; B. Gay; C. Devaux and N. Chazal.** 2011. "Hiv-1 Assembly, Release and Maturation." *World Journal of AIDS*, 1, 111-30.
- 15- **Bukrinskaya, A. G. .** 2004. "Hiv-1 Assembly and Maturation." *Arch Virol* 149, 1067–82.
- 16- **Buonaguro, L.; M. L. Tornesello and F. M. Buonaguro.** 2007. "Human Immunodeficiency Virus Type 1 Subtype Distribution in the Worldwide Epidemic: Pathogenetic and Therapeutic Implications." *J Virol*, 81(19), 10209-19.
- 17- **Carlson, J. A.; G. Dabiri; B. Cribier and S. Sell.** 2011. "The Immunopathobiology of Syphilis: The Manifestations and Course of Syphilis Are Determined by the Level of Delayed-Type Hypersensitivity." *Am J Dermatopathol*, 33(5), 433-60.
- 18- **CNLS.** 2012. "Rapport De Situation Sur La Riposte National À L'épidémie Du Vih/Sida Sénégal: 2010-2011 "
- 19- **CNLS.** 2014. "Rapport De Situation Sur La Riposte À L'épidémie De Vih/Sida Sénégal: 2012-2013,"

- 20- Cruz, A. R.; L. G. Ramirez; A. V. Zuluaga; A. Pillay; C. Abreu; C. A. Valencia; C. La Vake; J. L. Cervantes; S. Dunham-Ems; R. Cartun, et al. 2012. "Immune Evasion and Recognition of the Syphilis Spirochete in Blood and Skin of Secondary Syphilis Patients: Two Immunologically Distinct Compartments." *PLoS Negl Trop Dis*, 6(7), e1717.
- 21- De Santis, M.; C. De Luca; I. Mappa; T. Spagnuolo; A. Licameli; G. Straface and G. Scambia. 2012. "Syphilis Infection During Pregnancy: Fetal Risks and Clinical Management." *Infect Dis Obstet Gynecol*, 2012, 430585.
- 22- Delaugerre, C.; K. Gourlain; R. Tubiana; G. Carcelain; A. G. Marcelin; C. Chouquet; M. Mouroux; C. Duvivier; B. Autran; D. Costagliola, et al. 2003. "Increase of Hiv-1 Pro-Viral DNA Per Million Peripheral Blood Mononuclear Cells in Patients with Advanced Hiv Disease (Cd4<200 Cells/Mm3) Receiving Interleukin 2 Combined with Haart Versus Haart Alone (Anrs-082 Trial)." *Antivir Ther*, 8(3), 233-7.
- 23- Engelman, A. and P. Cherepanov. 2012. "The Structural Biology of Hiv-1: Mechanistic and Therapeutic Insights." *Nat Rev Microbiol*, 10(4), 279-90.
- 24- Ficarra, G. and R. Carlos. 2009. "Syphilis: The Renaissance of an Old Disease with Oral Implications." *Head Neck Pathol*, 3(3), 195-206.
- 25- Fleming, D. T. and J. N. Wasserheit. 1999. "From Epidemiological Synergy to Public Health Policy and Practice: The Contribution of Other Sexually Transmitted Diseases to Sexual Transmission of Hiv Infection." *Sex Transm Infect*, 75(1), 3-17.
- 26- Fraser, C. M.; S. J. Norris; G. M. Weinstock; O. White; G. G. Sutton; R. Dodson; M. Gwinn; E. K. Hickey; R. Clayton; K. A. Ketchum, et al. 1998. "Complete Genome Sequence of Treponema Pallidum, the Syphilis Spirochete." *Science*, 281(5375), 375-88.
- 27- Freney, J. 2000. *Précis De Bactériologie Clinique*. Eska.
- 28- Gallo, R. C. and L. Montagnier. 2003. "The Discovery of Hiv as the Cause of Aids." *N Engl J Med*, 349(24), 2283-5.
- 29- Gallo, S. A.; J. D. Reeves; H. Garg; B. Foley; R. W. Doms and R. Blumenthal. 2006. "Kinetic Studies of Hiv-1 and Hiv-2 Envelope Glycoprotein-Mediated Fusion." *Retrovirology*, 3, 90.
- 30- Girard, P.M.; C. Katlama and G. Pialoux. 2011. *Vih. Doin*.
- 31- Girons, I. S. ; S. J. Norris; U. Göbel; J. Meyer; E.M. Walker and R. Zuerner. 1992. "Genome Structure of Spirochetes." *Research in microbiology*, 143(6), 615-21.
- 32- Goh, B. T. 2005. "Syphilis in Adults." *Sex Transm Infect*, 81, 448-52.
- 33- Hemelaar, J.; E. Gouws; P. D. Ghys and S. Osmanov. 2011. "Global Trends in Molecular Epidemiology of Hiv-1 During 2000-2007." *AIDS*, 25(5), 679-89.
- 34- Ho, E. L. and S. A. Lukehart. 2011. "Syphilis: Using Modern Approaches to Understand an Old Disease." *J Clin Invest*, 121(12), 4584-92.
- 35- Holzemer, W. L. 2003. "[Hiv and Aids: Experiencing the Symptoms. What Cell Count and Viral Burden Do Not Tell Us]." *Servir*, 51(3), 127-32.
- 36- Hureau, J-M.; H. Agut; Nicolas J-C. and H. Peigue-Lafeuille. 2003. *Traité De Virologie Médicale*.
- 37- Jacobs, G. B.; E. Wilkinson; S. Isaacs; G. Spies; T. de Oliveira; S. Seedat and S. Engelbrecht. 2014. "Hiv-1 Subtypes B and C Unique Recombinant Forms (Urfs) and Transmitted Drug Resistance Identified in the Western Cape Province, South Africa." *PLoS One*, 9(6), e90845.
- 38- Karnath, B. M. . 2009. "Manifestations of Syphilis," B. M. Karnath, 43-48.
- 39- Klasse, J. 2012. "The Molecular Basis of Hiv Entry." *Cell Microbiol.*, 14(8), 1183-92.
- 40- LaFond, R. E. and S. A. Lukehart. 2006. "Biological Basis for Syphilis." *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS* 19(1), 29-49.

- 41- **Li, G.; S. Piampongsant; N. R. Faria; A. Voet; A. C. Pineda-Pena; R. Khouri; P. Lemey; A. M. Vandamme and K. Theys.** 2015. "An Integrated Map of Hiv Genome-Wide Variation from a Population Perspective." *Retrovirology*, 12, 18.
- 42- **Li, K.; C. Wang; H. Lu; X. Gu; Z. Guan and P. Zhou.** 2013. "Regulatory T Cells in Peripheral Blood and Cerebrospinal Fluid of Syphilis Patients with and without Neurological Involvement." *PLoS Negl Trop Dis*, 7(11), e2528.
- 43- **Liu, J. ; J. K. Howell; S. D. Bradley; Y. Zheng; Z. H. Zhou and S. J. Norris.** 2010. "Cellular Architecture of Treponema Pallidum: Novel Flagellum, Periplasmic Cone, and Cell Envelope as Revealed by Cryo-Electron Tomography." *J Mol Biol* 403 (4), 546–61.
- 44- **Manríquez, J.; R. Andino-Navarrete and C. Andrighetti.** 2015. "Skin Rash, Dyspnea and Bone Pain: Secondary Syphilis." *Braz J infect dis* 19(1), 96–97.
- 45- **Mboup, S.** 2015. *Biologie Appliquée De L'infection à Vih E De Ses Comorbidités En Afrique.*
- 46- **McMichael, A. J.; M. Callan; V. Appay; T. Hanke; G. Ogg and S. Rowland-Jones.** 2000. "The Dynamics of the Cellular Immune Response to Hiv Infection: Implications for Vaccination." *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 355(1400), 1007-11.
- 47- **Mehrabian, S.; M. Raycheva; M. Traykova; T. Stankova; L. Penev; O. Grigorova and L. Traykov.** 2012. "Neurosyphilis with Dementia and Bilateral Hippocampal Atrophy on Brain Magnetic Resonance Imaging." *BMC Neurol*, 12, 96.
- 48- **Miller, M. D.; C. M. Farnet and F. D. Bushman.** 1997. "Human Immunodeficiency Virus Type 1 Preintegration Complexes: Studies of Organization and Composition." *J Virol*, 71(7), 5382-90.
- 49- **Mogensen, T. H.; J. Melchjorsen; C. S. Larsen and S. R. Paludan.** 2010. "Innate Immune Recognition and Activation During Hiv Infection." *Retrovirology*, 7, 54.
- 50- **Molez, J. F.** 2006. "Étude Comparée Sur L'origine Et L'émergence De La Syphilis Et Du Sida." *Cahiers Santé*, 16(4), 215-23.
- 51- **Montefiori, D. C. and J. R. Mascola.** 2009. "Neutralizing Antibodies against Hiv-1: Can We Elicit Them with Vaccines and How Much Do We Need?" *Curr Opin HIV AIDS*, 4(5), 347-51.
- 52- **Mouscadet, J-F. ; L. Tchertanov and E. Deprez.** 2007. "Structures Et Rôles De L'intégrase Du Vih Dans Le Cycle Viral." *Virologie*, 11(35), 143-52.
- 53- **Najera, R.; E. Delgado; L. Perez-Alvarez and M. M. Thomson.** 2002. "Genetic Recombination and Its Role in the Development of the Hiv-1 Pandemic." *AIDS*, 16 Suppl 4, S3-16.
- 54- **Nelson, R. A., Jr. and M. M. Mayer.** 1949. "Immobilization of Treponema Pallidum in Vitro by Antibody Produced in Syphilitic Infection." *J Exp Med*, 89(4), 369-93.
- 55- **Nielsen, M. H.; F. S. Pedersen and J. Kjems.** 2005. "Molecular Strategies to Inhibit Hiv-1 Replication." *Retrovirology*, 2, 10.
- 56- **Nnoruka, E. N.; J. C. Chukwuka and B. Anisuibia.** 2007. "Correlation of Mucocutaneous Manifestations of Hiv/Aids Infection with Cd4 Counts and Disease Progression." *Int J Dermatol*, 46 Suppl 2, 14-8.
- 57- **Noguchi, H. .** 1912. "The Establishment of Treponema Pallidum as the Causative Agent of Syphilis, and the Cultural Differentiation between This Organism and Certain Morphologically Allied Spirochaetae " *The canadian medical association journal*, 2(4), 269-76.
- 58- **Norris, S. J.** and the treponema pallidum polypeptide research group. 1993. "Polypeptides of Treponema Pallidum: Progress toward Understanding Their Structural, Functional, and Immunologic Roles." *MICROBIOLOGICAL REVIEWS*, 57(3), 750-79
- 59- **Norris, S. J. ; D. L. Cox and G. M. Weinstock.** 2001. "Biology of Treponema Pallidum: Correlation of Functional Activities with Genome Sequence Data." *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, 3(1), 37-62.

- 60- **Omoding, D.; V. Katawera; M. Siedner and Y. Boum, 2nd.** 2014. "Evaluation of the Sd Bioline Hiv/Syphilis Duo Assay at a Rural Health Center in Southwestern Uganda." *BMC Res Notes*, 7, 746.
- 61- **OMS.** 2006. "Utilisation Des Tests Diagnostiques Rapides De La Syphilis"
- 62- **OMS.** 2009. "L'élimination Mondiale De La Syphilis Congénitale : Raison D'être Et Stratégie,"
- 63- **ONUSIDA.** 2014. "Objectifs De L'accélération De La Riposte"
- 64- **ONUSIDA.** 2015. "Le Sida En Chiffres"
- 65- **Pancera, M.; S. Majeed; Y. E. Ban; L. Chen; C. C. Huang; L. Kong; Y. D. Kwon; J. Stuckey; T. Zhou; J. E. Robinson, et al.** 2010. "Structure of Hiv-1 Gp120 with Gp41-Interactive Region Reveals Layered Envelope Architecture and Basis of Conformational Mobility." *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107(3), 1166-71.
- 66- **Pasternak, A. O.; V. V. Lukashov and B. Berkhout.** 2013. "Cell-Associated Hiv Rna: A Dynamic Biomarker of Viral Persistence." *Retrovirology*, 10, 41.
- 67- **Peeling, R. W. and E. W. Hook, 3rd.** 2006. "The Pathogenesis of Syphilis: The Great Mimicker, Revisited." *J Pathol*, 208(2), 224-32.
- 68- **Peeters, M.; C. Mulanga-Kabeya and E. Delaporte.** 2000. "La Diversité Génétique Du Vih-1." *Virologie*, 4(5), 371-81.
- 69- **Peeters, M.; C. Toure-Kane and J. N. Nkengasong.** 2003. "Genetic Diversity of Hiv in Africa: Impact on Diagnosis, Treatment, Vaccine Development and Trials." *AIDS*, 17(18), 2547-60.
- 70- **Plantier, J. C.; M. Leoz; J. E. Dickerson; F. De Oliveira; F. Cordonnier; V. Lemee; F. Damond; D. L. Robertson and F. Simon.** 2009. "A New Human Immunodeficiency Virus Derived from Gorillas." *Nat Med*, 15(8), 871-2.
- 71- **Radof, J. D. ; E. J. Robinson; K. W. Bourell; D. R. Akins; S. F. Porcella; L. M. Weigel; J. D. Jones and M. V. Norgard.** 1995 "Characterization of Outer Membranes Isolated from *Treponema Pallidum*, the Syphilis Spirochete." *INFECTION AND IMMUNITY*, 63(11), 4244-52.
- 72- **Radolf, J. D. and S. A. Lukehart.** 2006. *Pathogenic Treponema : Molecular and Cellular Biology.*
- 73- **Reeves, J. D. and R. W. Doms.** 2002. "Human Immunodeficiency Virus Type 2." *Journal of General Virology*, 83, 1253-65.
- 74- **Rhodes, T. D.; O. Nikolaitchik; J. Chen; D. Powell and W. S. Hu.** 2005. "Genetic Recombination of Human Immunodeficiency Virus Type 1 in One Round of Viral Replication: Effects of Genetic Distance, Target Cells, Accessory Genes, and Lack of High Negative Interference in Crossover Events." *J Virol*, 79(3), 1666-77.
- 75- **Rieder, P.; B. Joos; A. U. Scherrer; H. Kuster; D. Braun; C. Grube; B. Niederost; C. Leemann; S. Gianella; K. J. Metzner, et al.** 2011. "Characterization of Human Immunodeficiency Virus Type 1 (Hiv-1) Diversity and Tropism in 145 Patients with Primary Hiv-1 Infection." *Clin Infect Dis*, 53(12), 1271-9.
- 76- **Ruopp, M. D.; N. J. Perkins; B. W. Whitcomb and E. F. Schisterman.** 2008. "Youden Index and Optimal Cut-Point Estimated from Observations Affected by a Lower Limit of Detection." *Biom J*, 50(3), 419-30.
- 77- **Sadeghani, K.; J. R. Kallini and A. Khachemoune.** 2014. "Neurosyphilis in a Man with Human Immunodeficiency Virus." *J Clin Aesthet Dermatol*, 7(8), 35-40.
- 78- **Sambri, V.; A. Marangoni; C. Eyer; C. Reichhuber; E. Soutschek; M. Negosanti; A. D'Antuono and R. Cevenini.** 2001. "Western Immunoblotting with Five *Treponema Pallidum* Recombinant Antigens for Serologic Diagnosis of Syphilis." *Clin Diagn Lab Immunol*, 8(3), 534-9.

- 79- **Santoro, M. M. and C. F. Perno.** 2013. "Hiv-1 Genetic Variability and Clinical Implications." *ISRN Microbiol*, 2013, 481314.
- 80- **Saraiva, R. S.; C. A. Cesar and M. A. Mello.** 2010. "Syphilitic Aortitis: Diagnosis and Treatment. Case Report." *Rev Bras Cir Cardiovasc*, 25(3), 415-8.
- 81- **Sarngadharan, M. G.; F. diMarzo Veronese; S. Lee and R. C. Gallo.** 1985. "Immunological Properties of Htlv-Iii Antigens Recognized by Sera of Patients with Aids and Aids-Related Complex and of Asymptomatic Carriers of Htlv-Iii Infection." *Cancer Res*, 45(9 Suppl), 4574s-77s.
- 82- **Schultz, O. T.** 1906. "The Distribution of Treponema Pallidum, Schaudinn (Spirochaeta Pallida), in the Tissues in Congenital Syphilis." *J Med Res*, 15(3), 363-82.
- 83- **Sena, A. C.; B. L. White and P. F. Sparling.** 2010. "Novel Treponema Pallidum Serologic Tests: A Paradigm Shift in Syphilis Screening for the 21st Century." *Clin Infect Dis*, 51(6), 700-8.
- 84- **Sharp, P. M. and B. H. Hahn.** 2011. "Origins of Hiv and the Aids Pandemic." *Cold Spring Harb Perspect Med*, 1, 1-22.
- 85- **Shimelis, T. and E. Tadesse.** 2015. "The Diagnostic Performance Evaluation of the Sd Bioline Hiv/Syphilis Duo Rapid Test in Southern Ethiopia: A Cross-Sectional Study." *BMJ Open*, 5(4), e007371.
- 86- **Showa, S. P.; F. Nyabadza; S. D. Hove-Musekwa and G. Magombedze.** 2014. "A Comparison of Elasticities of Viral Levels to Specific Immune Response Mechanisms in Human Immunodeficiency Virus Infection." *BMC Res Notes*, 7, 737.
- 87- **Singh, A. E. and B. Romanowski.** 1999. "Syphilis: Review with Emphasis on Clinical, Epidemiologic, and Some Biologic Features." *Clin Microbiol Rev*, 12(2), 187-209.
- 88- **Smith, S. M.; D. Christian; V. de Lame; U. Shah; L. Austin; R. Gautam; A. Gautam; C. Apetrei and P. A. Marx.** 2008. "Isolation of a New Hiv-2 Group in the Us." *Retrovirology*, 5, 103.
- 89- **Stary, G.; I. Klein; M. C. Bruggen; S. Kohlhofer; P. M. Brunner; D. Spazierer; L. Mullauer; P. Petzelbauer and G. Stingl.** 2010. "Host Defense Mechanisms in Secondary Syphilitic Lesions: A Role for Ifn-Gamma- II-17 -Producing Cd8+ T Cells?" *Am J Pathol*, 177(5), 2421-32.
- 90- **Steckbeck, J. D.; A. S. Kuhlmann and R. C. Montelaro.** 2013. "C-Terminal Tail of Human Immunodeficiency Virus Gp41: Functionally Rich and Structurally Enigmatic." *J Gen Virol*, 94(Pt 1), 1-19.
- 91- **Sundquist, W. I. and H-G. Krausslich.** 2012. "Hiv-1 Assembly, Budding, and Maturation." *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2, 1-24.
- 92- **Tubiana, R.; J. Ghosn; M. De-Sa; M. Wirden; A. Gautheret-Dejean; F. Bricaire and C. Katlama.** 2002. "Warning: Antiretroviral Treatment Interruption Could Lead to an Increased Risk of Hiv Transmission." *AIDS*, 16(7), 1083-4.
- 93- **Turner, B. G. and M. F. Summers.** 1999. "Structural Biology of Hiv." *J. Mol. Biol.*, 285, 1-32.
- 94- **UNAIDS.** 2013. "The Gap Report,"
- 95- **Ward, Helen and Minttu Rönn.** 2010. "Contribution of Sexually Transmitted Infections to the Sexual Transmission of Hiv." *Current Opinion in HIV and AIDS*, 5(4), 305-10.
- 96- **Whittle, H.; J. Morris; J. Todd; T. Corrah; S. Sabally; J. Bangali; P. T. Ngom; M. Rolfe and A. Wilkins.** 1994. "Hiv-2-Infected Patients Survive Longer Than Hiv-1-Infected Patients." *AIDS*, 8(11), 1617-20.
- 97- **WHO.** 2014. "Global Guidance on Criteria and Processes for Validation: Elimination of Mother-to-Child Transmission of Hiv and Syphilis,"

- 98- Yin, Y. P.; E. Ngige; C. Anyaike; G. Ijaodola; T. A. Oyelade; R. G. Vaz; L. M. Newman and X. S. Chen.** 2015. "Laboratory Evaluation of Three Dual Rapid Diagnostic Tests for Hiv and Syphilis in China and Nigeria." *Int J Gynaecol Obstet*, 130 Suppl 1, S22-6.
- 99- You, S. Y.; Eimore, L. L. Colton; C. Mackenzie; J. K. Stoops; G. M. Weinstock and S. J. Norris.** 1996. "Characterization of the Cytoplasmic Filament Protein Gene (Cfpa) of *Treponema Pallidum* Subsp. *Pallidum*." *JOURNAL OF BACTERIOLOGY*, 178(11), 3177–87.