

## SITUATIONS PARTICULIÈRES

### 1 - Syphilis et infection par le VIH

En 1987, une publication suggérait une possible interaction entre le VIH et l'histoire naturelle de la syphilis se manifestant soit par une résistance aux thérapeutiques classiques de la syphilis soit par une évolution plus rapide du stade primaire au stade de neuro-syphilis [2]. Depuis, des études contradictoires ont été publiées sans que des caractéristiques précises de la syphilis des malades infectés par le VIH ne soient clairement identifiées.

Bien que la présentation clinique soit très comparable entre les sujets infectés par le VIH et les sujets non infectés par le VIH, certaines caractéristiques inhabituelles ont été rapportées: chancres multiples et extensifs, évolution plus rapide vers la neuro-syphilis, manifestations cliniques inhabituelles de neuro-syphilis avec la possibilité d'encéphalite ou d'artérite cérébrale, atteinte ophtalmique avec principalement des uvéites [3].

Bien que l'interprétation des tests sérologiques soit à peu près comparable que les patients soient infectés ou non par le VIH, il faut signaler la possibilité de faux VDRL positif dans le contexte de l'infection par le VIH et possiblement une négativation plus rapide du VDRL sous traitement.

Du fait de la possibilité d'évolution vers une neuro-syphilis malgré un traitement adapté [2], certains auteurs préconisent l'analyse systématique du LCR chez les sujets infectés par le VIH et présentant une syphilis primo-secondaire. Cette attitude n'est cependant pas retenue par tous du fait du caractère invasif de ce geste et de l'interprétation délicate des données du LCR chez ces patients.

Le traitement de la syphilis primo-secondaire et de la syphilis latente précoce est le même que chez les patients non infectés par le VIH [1, 3]. En cas de neuro-syphilis ou de syphilis ophtalmique, le traitement repose sur 3 à 4 x 10<sup>6</sup> U de pénicilline G cristalline aqueuse toutes les 4 heures pendant 10 à 14 jours ou des injections quotidiennes intramusculaires de pénicilline procainée aqueuse de 2,4 x 10<sup>6</sup> U associées à du probénécide 500 mg x 4 fois par jour pendant la même durée [1, 3].

### 2 - Syphilis congénitale

Bien qu'en France, elle soit devenue exceptionnelle, il ne faut pas sous estimer le risque de voir réapparaître des cas de syphilis congénitale (SC) dans le contexte épidémique actuel. La SC résulte de l'infection fœtale, lorsque la syphilis active de la mère n'est pas reconnue ou insuffisamment ou trop tardivement traitée. L'infection massive peut être responsable de mort in utero ou d'avortements avec expulsion d'enfants morts nés.

Les manifestations cliniques surviennent après quelques semaines associant des manifestations cutané-muqueuses (lésions bulleuses

palmo-plantaires, rhagades des commissures des lèvres, éruption papuleuse du tronc, coryza purulent, érosions buccales) et des manifestations viscérales avec une hépato-splénomégalie, de la fièvre, des lésions osseuses à type d'ostéite, des arthrites notamment de la hanche, des atteintes rénales à type de néphrite.

Le diagnostic biologique repose sur la pratique d'un FTA-IgM qui n'est cependant pas toujours positif et qui ne doit pas retarder la mise en route du traitement en cas de suspicion clinique.

Le traitement repose sur la pénicilline G cristalline aqueuse, 50 000 U par Kg de poids corporel et par jour pendant 10 jours. On surveillera les tests sérologiques à 1, 2, 4, 6 et 12 mois ou jusqu'à négativation ainsi que le LCR tous les 6 mois jusqu'à normalisation [1].

Le traitement de la syphilis congénitale est, dans tous les cas, préventif. Les modalités thérapeutiques dépendent du stade de la syphilis chez la mère. Seule la pénicilline doit être utilisée car les tétracyclines sont interdites et l'érythromycine n'offre pas toutes les garanties. En cas d'allergie documentée à la pénicilline, une désensibilisation doit être effectuée. Un traitement débuté avant la 10<sup>e</sup> voire au plus tard la 18<sup>e</sup> semaine prévient le risque de contamination fœtale.

## CONCLUSION

Dans le contexte épidémique actuel, il nous paraît important de rappeler les principales caractéristiques cliniques et les grandes lignes du traitement de la syphilis. Il faut souligner que le diagnostic dans les formes précoces est souvent méconnu du fait de l'absence de chancre visible au stade primaire et du polymorphisme clinique au stade secondaire. L'évolution spontanément régressive des lésions précoces participe à la méconnaissance du diagnostic et au risque de la dissémination de l'infection chez les sujets infectés et de la diffusion de l'infection aux partenaires du fait du caractère hautement contagieux de cette maladie.

Compte tenu de l'importance de la diffusion de l'épidémie actuelle chez les patients infectés par le VIH [4], nous recommandons la pratique de tests sérologiques chez ces patients afin de dépister et traiter les patients asymptomatiques et susceptibles d'être infectés.

## RÉFÉRENCES

- [1] Centers of Disease Control and Prevention. 1998 Guidelines for the treatment of sexually transmitted diseases. MMWR 1998 ; 47(RR-1) : 1-116.
- [2] Johns DR, Tierney M, Felsenstein D. Alteration in the natural history of neurosyphilis by concurrent infection with the human immunodeficiency virus. N Engl J Med 1987 ; 316 : 1569-72.
- [3] Cselusta A, Yen-Moore A, Van der Straten M, Carrasco D, Tyring SK. An overview of sexually transmitted diseases. Part III. Sexually transmitted diseases in HIV-infected patients. J Am Acad Dermatol 2000 ; 43 : 409-33.
- [4] Dupin N, Jdid R, N'Guyen YT, et al. Syphilis and gonorrhoea in Paris : the return. AIDS 2001 ; 15 : 814-5.

## DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE LA SYPHILIS

Anne-Lise BASSE -GUÉRINEAU & Marc-Victor ASSOUS

Laboratoire de Microbiologie, CHU COCHIN-PORT ROYAL, rue du faubourg Saint-Jacques, Paris, 75014.

## INTRODUCTION

Le diagnostic microbiologique repose en routine sur les méthodes sérologiques qui sont disponibles dans de très nombreux laboratoires. Les méthodes directes, au contraire, restent l'apanage de structures très spécialisées. Quant aux méthodes moléculaires, elles gardent pour le moment un statut de recherche appliquée.

## DIAGNOSTIC DIRECT (1,2)

Le diagnostic direct de la syphilis s'effectue soit par la mise en évidence du micro-organisme ou de ses constituants, qui peuvent être des protéines ou des acides nucléiques.

### Les indications :

Le diagnostic de syphilis doit être évoqué devant toute ulcération ou érosion génitale, anale ou buccale chez un sujet en période d'activité sexuelle. Les examens doivent être pratiqués avant tout traitement antibiotique. En dehors des lésions/localisations primaires (chancre et ganglion satellite), le tréponème peut être retrouvé au niveau des lésions secondaires (plaques muqueuses, syphilides cutanées), mais aussi dans le LCR en cas de syphilis neurologique, dans le liquide amniotique pendant la grossesse et dans différents prélèvements en cas de forme congénitale (bulles de pemphigus, mucus nasal, LCR).

### Les méthodes :

#### Microscope à fond noir

Elle consiste à observer une préparation entre lame et lamelle à partir des différents sites de prélèvements à la recherche de bactéries spirales à la mobilité caractéristique.

Cependant, il est difficile de bien distinguer *T. pallidum* des tréponèmes saprophytes (surtout *T. denticola* et *refringens*) d'où un risque de faux positif pour certaines localisations de lésions (bouche, anus).

La sensibilité de ce test est variable en fonction de l'entraînement de l'observateur. Elle a été évaluée à 80 %, en sachant que la détection peut s'avérer négative s'il y a trop peu de tréponèmes présents dans le prélèvement, après traitement local ou général, ou à cause d'un problème technique (mauvais réglage du fond noir ou prélèvement contaminé par du sang etc...).

Ainsi malgré sa sensibilité modérée, cette technique demeure à juste titre très pratiquée dans les centres spécialisés parce qu'elle fournit un résultat rapide avec une bonne fiabilité ; elle est simple et peu coûteuse.

#### Immunofluorescence

La supériorité technique de l'immunofluorescence réside dans sa capacité à distinguer *T. pallidum* des tréponèmes saprophytes, qui sont morphologiquement indifférenciables au microscope à fond noir ; son premier avantage est donc une meilleure spécificité. En outre, l'utilisation de la fluorescence comme dans d'autres applications améliore la sensibilité. Par contre, elle nécessite un certain délai de préparation et l'utilisation de l'épifluorescence représente un équipement plus coûteux. Deux variantes existent : soit une méthode directe (le frottis est recouvert d'anticorps monoclonaux anti-*T. pallidum* marqués), soit une méthode indirecte (les anticorps anti-*T. pallidum* polyclonaux non marqués se fixent sur les tréponèmes et dans un second temps ils sont révélés par une antiglobuline spécifique d'espèce marquée à la fluoresceine).

#### Test d'infectivité du lapin

C'est la méthode directe la plus ancienne. Elle n'est pas praticable en routine de par sa réalisation technique fastidieuse, nécessitant un investissement lourd et très spécialisé (animaux, normes). C'est la technique directe la plus sensible et le seul test valable pour démontrer la présence de tréponèmes virulents. Mais elle n'apporte une réponse que dans un délai beaucoup trop long. Elle reste cependant très intéressante car elle permet d'évaluer, en raison de sa très grande sensibilité, d'autres techniques de diagnostic direct, actuellement en cours de mise au point, telles que la PCR. Le lapin est l'animal de choix car il développe une lésion locale au site d'inoculation. Les tissus restent infectants pendant toute la durée de vie de l'animal et l'infection peut être facilement transférée d'un animal à un autre, en utilisant de fins prélèvements de ganglion ou de testicule. La période d'incubation, de l'inoculation au développement de la lésion, est inversement proportionnelle à la taille de l'inoculum. Cette méthode a une sensibilité qui approche 100 % chez un patient n'ayant pas reçu d'antibiotique.

#### Méthodes moléculaires

##### À visée diagnostique :

Dès sa description, l'amplification génique a été proposée pour détecter la présence de l'ADN de *T. pallidum* dans les échantillons biologiques, compte tenu des limites des autres méthodes directes et de l'absence de culture *in vitro*. Différentes cibles ont été proposées, notamment, les gènes des protéines de membrane. Cette méthode, particulièrement sensible, pourrait être utile dans certaines circonstances

pathologiques où les autres méthodes directes ne sont pas satisfaisantes comme dans, la syphilis congénitale, la syphilis neurologique et les ré-infections. La PCR reste, pour le moment, du domaine de la recherche appliquée, mais elle pourrait prendre une place de choix par rapport à la technique directe de référence (le test d'infectivité du lapin, cf supra). Une PCR suivie d'une hybridation, a permis de mettre en évidence l'existence d'une bactériémie chez environ 30 % des patients, en phase secondaire.

##### À visée épidémiologique :

Plus récemment, plusieurs travaux ont mis en évidence des régions du génome de *T. pallidum*, suffisamment polymorphes d'une souche à l'autre, pour permettre d'envisager leur utilisation à des fins épidémiologiques (3). Elles nécessitent un prélèvement riche en tréponèmes (lésion primaire ou secondaire). Ce type d'approche en est encore à ses débuts, mais ils sont encourageants ; il donnerait la possibilité, en cas d'épidémie ou de cas groupés, de proposer un lien épidémiologique basé sur un critère biologique.

## DIAGNOSTIC INDIRECT : SÉROLOGIQUE

Le diagnostic indirect repose sur la mise en évidence des anticorps induits par l'infection et retrouvés dans le sérum (éventuellement dans le LCR). Même avec des méthodes très sensibles (ELISA IgM par exemple), il existe toujours une phase à sérologie négative, en début d'infection. Ceci implique la nécessité de contrôler tout résultat négatif en cas de notion de contact récent.

Remarque importante : il est impossible de faire la différence entre les anticorps dus aux tréponématoses non vénériennes (Pian, bejel, pinta) et ceux dus à la syphilis.

### I - LES RÉACTIONS SÉROLOGIQUES

Il existe de très nombreuses méthodes qui se divisent en deux grands groupes suivant l'origine de l'antigène utilisé (les avantages et les inconvénients sont récapitulés au tableau 1). On distingue :

- Les réactions à antigène non tréponémique, qui utilisent un antigène cardiolipidique.
- Les réactions à antigène tréponémique.

#### A - Les réactions à antigène non tréponémique : VDRL (Venereal Disease Reagent Laboratory), RPR (Rapid Plasma Reagin)

**Principe :** réactions d'agglutination passive. L'antigène utilisé est d'origine cardiolipidique. Les substances de type cardiolipidique sont retrouvées au niveau de nombreux organes animaux et sont classiquement des constituants de *T. pallidum*. Les résultats sont rendus en croix (de 1 à 4) en fonction de l'intensité de la réaction. En cas de dépistage positif, un titrage est effectué par dilutions du sérum de raison 2. Le titre correspond à la dernière dilution où l'on observe la présence d'agglutinats et est exprimé en unités.

**Cinétique des anticorps :** Classiquement, le VDRL se positive après le FTA et le TPHA et c'est la première technique à se négativer après traitement. C'est un bon marqueur de suivi de l'efficacité thérapeutique (recommandations des CDC).

#### Avantages et inconvénients (voir tableau 1)

#### B - Les réactions à antigène tréponémique (TPHA, FTA, NELSON, ELISA, Western Blot)

##### 1°) TPHA (Treponema Pallidum Haemagglutination Assay)

**Principe :** réaction d'hémagglutination passive. Elle consiste à mettre en présence le sérum du patient avec des hématies sensibilisées avec un antigène extrait à partir de *T. pallidum*. Le résultat peut être obtenu en 1 à 3 heures et ne nécessite aucun équipement particulier. Pour le dépistage, le sérum est testé à la dilution du 1/80. Des dilutions de raison 2 (1/80, 1/160, 1/320...) sont effectuées pour le titrage, en cas de positivité.

**Cinétique des anticorps :** Le TPHA se positive entre la 3<sup>e</sup> et la 4<sup>e</sup> semaine après le début de l'infection, c'est-à-dire environ 1 semaine après l'apparition du chancre. Il reste le plus souvent positif chez un malade guéri.

**2°) FTA (Fluorescent Treponemal Antibody Test)**

**Principe :** réaction d'immunofluorescence. Le sérum dilué du patient est déposé sur une lame recouverte de tréponèmes fixés. La présence des anticorps est révélée par l'addition d'une antiglobuline marquée avec un fluorochrome et la réaction lue en épifluorescence. Le sérum des patients est dilué au 1/200 d'où la dénomination de FTA 200. Le FTA est actuellement utilisé comme une technique de confirmation en cas de dépistage positif. Son titre est exprimé par l'inverse de la dernière dilution donnant une réaction fluorescente.

Pour éliminer les réactions faussement positives dues aux antigènes de groupe, on peut pratiquer un FTA absorbé (FTA-Abs) où les sérums sont préalablement absorbés par une suspension de tréponèmes saprophytes non pathogènes (souche Reiter).

**Cinétique des anticorps :** Cinétique superposable à celle du TPHA avant traitement. En revanche, il se négative après traitement dans la majorité des cas.

**3°) Test immuno-enzymatique ou ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay)**

**Principe :** Ces tests utilisent soit des antigènes purifiés à partir de *T. pallidum*, soit des protéines recombinantes. Le nombre de ces tests a augmenté considérablement ces dernières années, mais leur place précise par rapport aux méthodes classiques (VDRL, TPHA, FTA) reste à définir.

Tableau 1

Avantages et Inconvénients des différentes techniques de diagnostic de la syphilis		
Test	Avantages	Inconvénients
VDRL	Réaction simple, rapide et peu onéreuse.	Présence de faux négatifs (phénomène de zone) et de faux positifs (infections virales parasitaires ou bactériennes, grossesse, maladies auto-immunes...). Dans ce cas le TPHA et le FTA sont généralement négatifs.
TPHA	- Réalisation simple et lecture aisée. - Test peu onéreux, adaptable à de grandes comme à de petites séries.	- Présence de faux négatifs en excès d'anticorps (phénomène de zone). - Rares faux positifs (positivité faible), notamment chez la femme enceinte ou lors de maladies auto-immunes.
FTA	- Sensibilité élevée (86 à 96 % selon les stades). - Spécificité très élevée (92 à 99 %).	- Faux positifs possibles (réactions croisées avec autres spirochétoses, maladies auto-immunes...) - Nécessite un personnel expérimenté, lecture subjective, coût relativement élevé (appareillage adapté et réactifs).
ELISA	- Réalisation simple et rapide. - Applicables à de grandes séries. - Automatisables. - Lecture objective. - Ne présentent jamais de phénomène de zone.	- Il n'existe pas encore sur le marché de tests unitaires permettant de tester les sérums au coup par coup. - Coût élevé par rapport au prix du remboursement d'un dépistage sérologique de la syphilis.
Nelson	- Spécificité de 100 %.	- Difficulté de l'entretien de la souche. - Complexité et coût élevé du test.
Western Blot	- Pourrait remplacer le test de Nelson. - Applicable au diagnostic de la syphilis congénitale (recherche des IgM spécifiques).	- Faux positifs (autres spirochétoses ex : maladie de Lyme).
FTA-Abs IgM		- Mêmes inconvénients que pour le FTA. - Présence de faux positifs (dûs par exemple à la présence de facteur rhumatoïde) et de faux négatifs. (phénomène d'inhibition compétitive par les IgG dans les syphilis secondaires).
19S FTA-Abs IgM	Le fractionnement du sérum permet d'obtenir une meilleure spécificité par rapport au FTA-Abs IgM.	- Réalisation technique lourde. - Quantité importante de sérum nécessaire.
SPHA	- Très bonne sensibilité	- Réalisation et lecture délicate.

**Cinétique des anticorps :** L'ELISA constitue l'un des tests de dépistage le plus précoce.

**4°) Test d'immobilisation des tréponèmes (TPI) ou test de Nelson et Mayer**

Ce test a longtemps été considéré comme la technique de référence. Mais, il n'est quasiment plus réalisé étant donné la difficulté pour un laboratoire, d'entretenir des animaux vivants infectés.

**Principe :** La présence des anticorps spécifiques est mise en évidence par l'immobilisation de tréponèmes vivants, après addition de complément et en comparaison avec un tube témoin. Les résultats qualitatifs sont donc exprimés en pourcentage d'immobilisation spécifique.

**Cinétique des anticorps :** Les immobilisines sont décelées en moyenne un mois après l'apparition du chancre. Un traitement efficace entraîne la négativation de ce test chez la plupart des malades.

**5°) Test d'immunotransfert (Western-blot)**

**Principe :** Les protéines de *T. pallidum*, séparées par électrophorèse, sont transférées sur une membrane de nitrocellulose que l'on incube avec le sérum. Les bandes les plus importantes pour affirmer la spécificité des anticorps détectés se situeraient au niveau des antigènes de PM 15,5, 17 et 47 kDa.

**Cinétique des anticorps :** La cinétique d'apparition des bandes en fonction de l'évolution de la maladie est encore peu documentée ; la place de ce test reste à définir.

**6°) Recherche d'IgM spécifiques anti-tréponémiques**

**Généralités :** Les IgM sont les premiers anticorps à apparaître dès la deuxième semaine de l'infection, suivies rapidement par les IgG. Chez les patients non traités, les IgM sont aussi retrouvées au cours de la phase secondaire. Chez les patients traités correctement, les IgM diminuent rapidement et disparaissent généralement dans les premiers mois qui suivent le traitement.

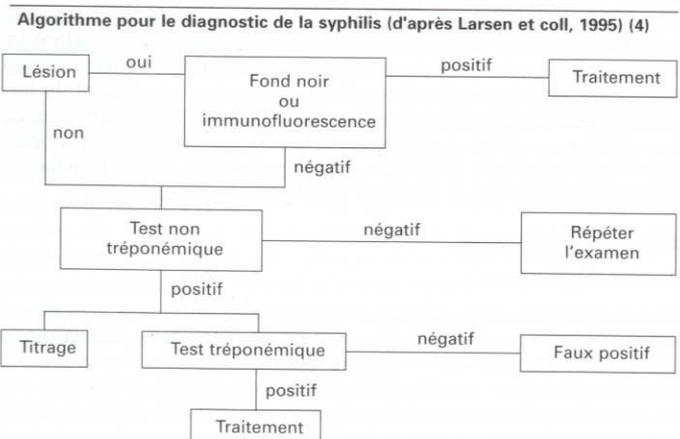
**Indications :**

L'indication majeure est la syphilis congénitale, mais cette recherche peut être utile en cas de contage récent, de ré-infection et en cas de syphilis neurologique.

**Méthodes de recherche des IgM spécifiques :**

- **FTA Abs IgM :** Les IgM sont recherchées par la même technique que pour le FTA-Abs mais avec comme révélateur un conjugué monospécifique anti-chaîne  $\mu$ .
- **19S FTA Abs-IgM :** Le principe est le même que celui du FTA Abs-IgM mais le sérum est initialement fractionné afin de retenir uniquement les anticorps sériques de classe IgM.
- **SPHA :** C'est une technique d'immunocapture et d'hémagglutination qui comporte 2 étapes ; d'abord, la fixation des IgM sériques sur un anticorps anti-chaîne  $\mu$  adsorbé sur un support solide (microplaque), ensuite, la révélation des IgM spécifiques par des hématies sensibilisées (réactif du TPHA).
- **ELISA et Western Blot :** Ces techniques plus récentes peuvent également être utilisées pour la recherche des IgM spécifiques de la syphilis.

Figure 1

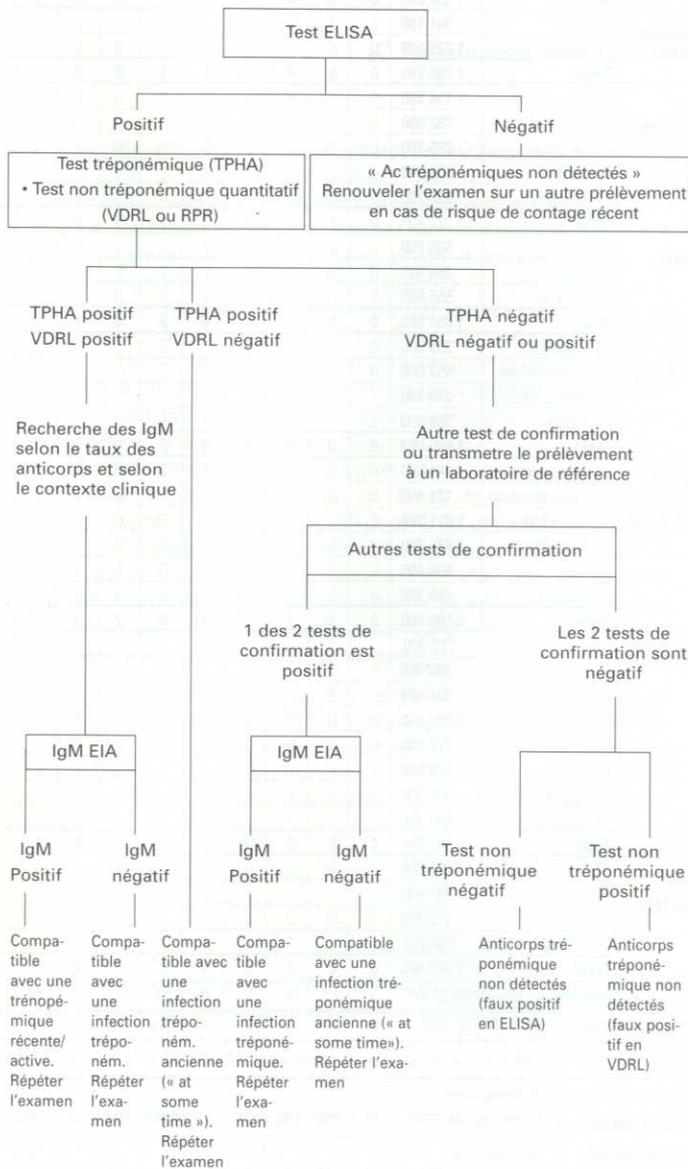


## II - LÉGISLATION ET ALGORITHMES

Il existe des démarches très différentes d'un pays à l'autre. Nous avons choisi de présenter tout d'abord deux démarches diamétralement opposées. La première est celle utilisée aux USA (figure 1), la seconde celle actuellement proposée au Royaume Uni (figure 2). Nous concluons par la démarche française (figure 3), basée sur un texte de 1994 qui mériterait d'être actualisé de façon à proposer une place aux méthodes immuno-enzymatiques et au western-blot. Il est intéressant de noter les différences très importantes entre ces approches. La démarche américaine répond plutôt à la question : Existe-t-il une syphilis « actuellement » évolutive ? Les démarches britannique et française répondent plutôt à celle : le patient est-il (ou a-t-il été) en contact avec des tréponèmes pathogènes ?

Figure 2

Algorithme pour le diagnostic de la syphilis basé sur l'ELISA (d'après Egglestone et coll, 2000) (5)



## CONCLUSION

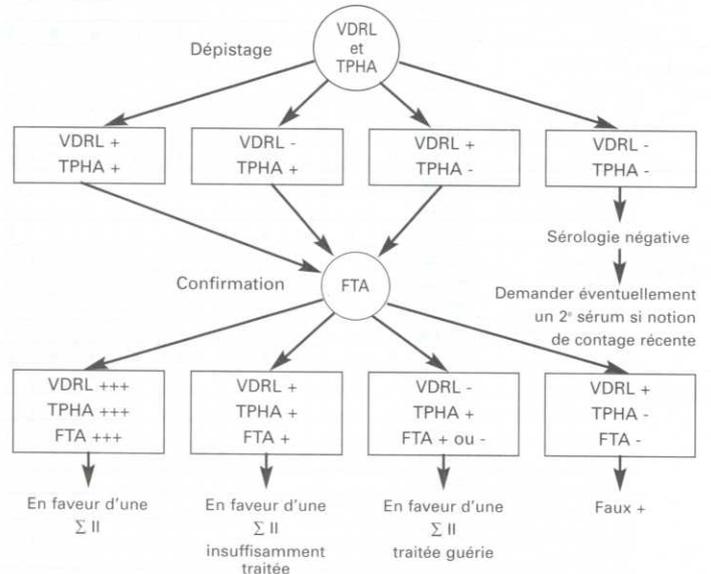
Le choix raisonné de la stratégie diagnostique la mieux adaptée, doit se fonder sur des études épidémiologiques, cliniques et sérologiques, à partir de séries de patients bien documentés. Ceci nécessite une approche multidisciplinaire, impliquant les différents partenaires. Cette démarche est d'autant plus justifiée que la sérologie de la syphilis demeure, et de loin, la plus prescrite parmi les sérologies bactériennes. Cette approche permettrait aussi de bien définir la place des méthodes moléculaires, actuellement en quête d'indications.

## RÉFÉRENCES

1. Soulié-Majidi M, Basse-Guérineau A, Assous M. La syphilis 2000 : 1<sup>re</sup> partie : aspects cliniques et thérapeutiques. Feuilles de Biologie 2000 ; 41 : 5-12
2. Soulié-Majidi M, Basse-Guérineau A, Assous M. La syphilis 2000 : 2<sup>e</sup> partie : diagnostic biologique. Feuilles de Biologie 2000 ; 41 : 5-18
3. Sutton M, Liu H, Steiner B, Pillay A, Mickey T, Finelli L, Morse S, Markovitz L, St Louis M. Molecular Subtyping of *Treponema pallidum* in an Arizona County with increasing syphilis morbidity : Use of specimen from ulcers and blood. Journal of Infectious Diseases. 2001 ; 183 : 1601-06
4. Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for Syphilis. Clinical Microbiology Reviews. 1995 ; 8 : 1-21
5. Egglestone S, Turner A, Group for the PHLS Syphilis Serology Working Group. Serological diagnosis of syphilis. Communicable Disease and Public Health. 2000 ; 3 : 158-162

Figure 3

Algorithme pour le diagnostic de la syphilis, d'après la législation et la pratique en France



### Indications de la recherche des IgM :

- 1 - Notion de contagie récent,
- 2 - Profil sérologique en faveur Σ II insuffisamment traitée
- 3 - Σ congénitale
- 4 - Neurosyphilis