III-TRAITEMENT DE LA SYPHILIS CONGENITALE

IV- PRISE EN CHARGE DE LA SYPHILIS ASSOCIEE AU VIH

> Syphilis primaire, secondaire et latente :

Traitement standard

- > Syphilis ophtalmologique ou neurologique :
 - **Pénicilline G IV** : 20 MUI par jour pendant 15 jours (5MUI toutes les 6 heures), <u>ou</u>
 - Benzathine pénicilline G = Extencilline® 2,4 M UI IM par jour pendant 15 jours

AVEC Probénicide 500 mg x 4 par jour pendant 15 jours.

V- AUTRES MESURES

- Dépistage d'autres IST : VIH
- Dépistage et traitement des partenaires
- Recherche d'une atteinte méningée chez les patients VIH+
- Le contrôle après le traitement se fera avec le test RPR quantitatif au: 3^{ème} mois, 6^{ème} mois, 12^{ème} mois et 24^{ème} mois. Ci-après les résultats éventuels :

MOIS	RESULTAT RPR QUANTITATIF
3 ^{ème} mois	Titre divisé par 4
6 ^{ème} mois	Diminution du titre
12 ^{ème} mois	Négatif pour la syphilis précoce
24 ^{ème} mois	Négatif pour la syphilis tardive

SESSION 5 TECHNIQUE D'UTILISATION DU RPR ET DU SD-BIOLINE

BUT:

Le but de la session est de fournir aux prestataires les bases techniques sur le dépistage de la syphilis, en particulier pour le test Bioline-Syphilis et le test RPR.



OBJECTIFS SPECIFIQUES:

A la fin de la session, le prestataire devrait être capable de :

- Expliquer selon la Fiche Opératoire Standard la technique d'utilisation du test RPR et le test SD Bioline-Syphilis.



TECHNIQUE UTILISEE:

Mini-exposé



DUREE: 60 minutes



SESSION 5: TECHNIQUE D'UTILISATION DU RPR ET DU SD-BIOLINE

I- CONSIDERATIONS GENERALES:

Le RPR est un test « non tréponémique », c'est-à-dire que les anticorps qu'il détecte ne sont pas spécifiques de T. Pallidum, bien qu'une relation entre la présence de ces anticorps dans le sérum ou le plasma d'un patient avec l'infection par cet agent ait été fortement établie. Ce type de test mesure les anticorps (IgG ou IgM) produits par l'organisme en réponse à la libération de substances lipoïdiques par les cellules de l'hôte endommagées ainsi qu'à celle de substances de types libérées par spirochètes. Ces anticorps disparaissent après l'éradication de l'infection.

Un deuxième test tréponémique comme TPHA ou FTA-ABS, un test qui détecte des anticorps spécifiques de T. Pallidum, est utilisé comme test de confirmation s'ils sont disponibles.

II- TECHNIQUE D'UTILISATION DES TESTS :

II-1. TEST RPR (Rapid Plasma Reagin)

II-1.1. Principe:

Les kits RPR font appel à des particules de charbon enduites d'un mélange d'antigène lipidiques qui se combinent aux anticorps présents dans le sérum ou le plasma du patient. Ces particules sont en suspension dans un milieu contenant des substances destinées à éliminer les réactions non spécifiques. Les réactions positives sont indiquées par l'agrégation des particules ou agglutination. L'interprétation de l'agglutination se fait à l'œil nu.

II-1.2. Conservation:

Conserver le kit entre 2 et 8°C lorsqu'il n'est pas utilisé. Stocker le flacon d'antigène verticalement. **Ne pas congeler**

Durée de conservation : kit utilisable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du Kit.

II-1.3. Echantillon:

- Sérum
- Plasma (sous EDTA ou Héparine)

Ces échantillons ne doivent pas contenir de cellules sanguines ni d'hémolyse, ni de turbidité et de lipémie importante.

Les échantillons peuvent être stockés entre 2 et 8°C au réfrigérateur jusqu'à 7 jours avant d'être testés. Ils peuvent être conservés plus longtemps à -20°C au congélateur. Les échantillons congelés devront être décongelés et bien mélangés avant le test.

II-1.4. Equipements requis:

a- Matériels

- Pipettes réglables automatiques 20μl-200μl ou micropipettes capables de distribuer un volume de 50μl. (ou des dispositifs de pipetage comme compte-gouttes jetables correctement étalonnés et entretenus capables de distribuer des volumes de 50μl).
- Portoirs pour cryotubes ou pour tubes vacutainer
- Conteneur de déchets contaminés
- Minuteur
- Agitateur rotateur pour la rotation des cartes de test à 100tours/mn

b- Consommables

- Embouts 200μl
- Gants
- Papiers absorbants

c- Contenu du kit pour 100 tests

R1	Antigène	1x2ml
R2	Contrôle positif	1x1ml
R3	Contrôle négatif	1X1ml
	Flacon distributeur 1	
Aiguille distributeur 1		1
Cartes de test (10 cercles) 10		10

II-1.5. Protocole opératoire :

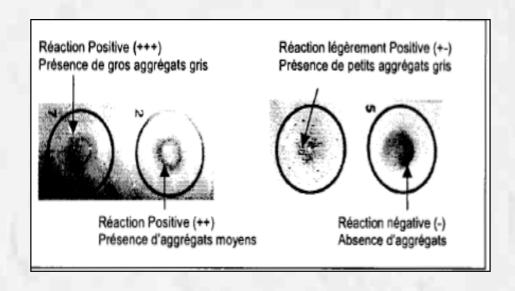
Avant utilisation, tous les réactifs, les contrôles et les échantillons doivent atteindre la température ambiante.

a- Test qualitatif:

- 1. Les contrôles positifs et négatifs du kit doivent être utilisés à chaque série de tests.
- 2. Placer 50μ l d'échantillon patient ou de contrôle dans un cercle sur la carte du test.
- 3. Etaler régulièrement l'échantillon sur la surface du cercle sur la carte.
- 4. Agiter le flacon d'antigène RPR pour bien mélanger.
- 5. Monter l'aiguille de distribution sur le flacon compte-gouttes en plastique et reprendre l'antigène RPR par aspiration.

- 6. Inverser le flacon compte-gouttes et presser légèrement pour chasser l'air de l'aiguille.
- 7. En maintenant verticalement le flacon compte-gouttes au dessus de l'échantillon (sur la carte), déposer une goutte d'antigène.
- 8. Placer la carte sur l'agitateur et agiter à 100t/mm pendant 8 minutes ou agiter manuellement en plaçant la carte sur la paume de la main.
- 9. Lire et interpréter visuellement les résultats sous un bon éclairage.

RESULTATS		AGGLUTINATION
Fortement réactif (positif)	+++	Larges amas de particules de char- bon sur le fond transparent
Réactif (positif)	+ +	Larges amas de particules de char- bon un peu plus dispersés que dans le cas fortement réactif
Faiblement réactif (positif)	+	Légère agrégation de particules de charbon apparaissant généralement sous forme d'un " bouton " d'amas au centre du cercle sur la carte ou amas dispersés le long du bord du cercle
Réactif – trace (positif- trace) +/		Aspect gris homogène, ou bouton de particules de charbon on agrégées au centre du cercle sur la carte ou amas dispersés le long du cercle
Non réactif (négatif)	V	Aspect gris homogène, ou bouton de particules de charbon non agré- gées au centre du cercle sur la carte



b- Test quantitatif:

On utilise des echantillons trouvés positifs au test qualitatif.

- 1. Préparer des dilutions avec de la solution saline
- 2. Préparer des dilutions avec de la solution saline à partir de l'échantillon pur jusqu'à la dilution 1/512.

Dilution

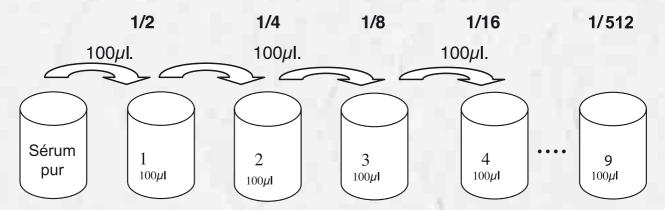
Mettre dans chaque tube N°1 à 9 une quantité égale de solution saline (exemple 100 μ I).

Déposer dans le tube N°1 la même quantité d'échantillon pur, bien mélanger,

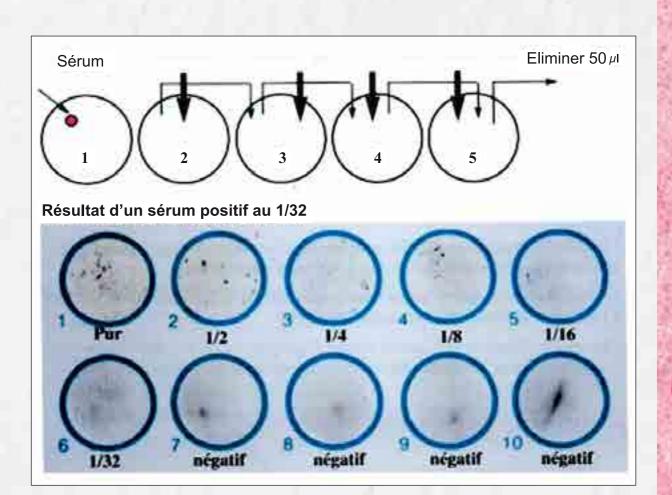
Transférer la même quantité dans le tube N°2, bien mélanger,

Transférer la même quantité dans le tube N°3, bien mélanger,

Transférer la même quantité dans le tube N°4, et ainsi de suite jusqu'au tube N°9.



- 3. Verser 50μ l du sérum pur et de chaque dilution dans un cercle séparé sur la carte de test.
- 4. Etaler régulièrement chaque dilution sur tout le cercle.
- 5. Agiter le flacon d'antigène RPR pour bien mélanger.
- 6. Monter l'aiguille de distribution sur le flacon compte-gouttes en plastique et reprendre l'antigène RPR par aspiration.
- 7. Inverser le flacon compte-goutte et presser légèrement pour chasser l'air de l'aiguille.
- 8. En maintenant verticalement le flacon compte-gouttes au dessus de l'échantillon (sur la carte), déposer une goutte d'antigène
- 9. Placer la carte sur l'agitateur et agiter 100t/mn pendant 8 minutes ou agiter manuellement en plaçant la carte sur la paume de la main.
- 10. Lire et interprêter visuellement les résultats sous un bon éclairage Même interprêtation, le titre est obtenu par la dernière dilution qui a donné une réaction d'agglutination.



Consignes

- Pour que le test qualitatif soit valide, le contrôle positif fourni doit donner un résultat nettement positif et le contrôle négatif nettement négatif.
- Numéroter chaque échantillon, chaque numéro est transcrit au dessus du cercle de la carte test.
- Les contrôles, la suspension antigénique et les prélèvements à analyser devront être à température ambiante (entre 23 et 29°C) lors de l'utilisation. Aussi sortir le kit RPR au moins 30 minutes du réfrigérateur avant usage.
- Avant l'utilisation, agiter vigoureusement l'ampoule pendant 10 à 15 secondes afin de remettre l'antigène en suspension et de distribuer toute particule de charbon qui se serait logée dans le goulot de l'ampoule. Si du charbon devait rester dans le goulot de l'ampoule après l'avoir agitée, ne pas insister, car cela pourrait produire un antigène granulaire.
- Lors de la manipulation, veiller à ne pas poser les doigts sur la surface des cartes, les dépôts graisseux des empreintes pouvant entraîner des résultats inexacts.
- Lors de l'étalement d'un échantillon à l'intérieur du cercle, éviter de rayer la carte.
- Si l'échantillon ne s'étale pas jusqu'au périmètre extérieur de la zone test, utiliser une autre zone test de la carte.

II-2.TEST RAPIDE SD BIOLINE SYPHILIS 3.0

II-2.1. Principes

Immuno chromatographie à flux latéral

II-2.2. Conservation

La conservation du kit se fait à la température ambiante

II-2.3. Echantillons

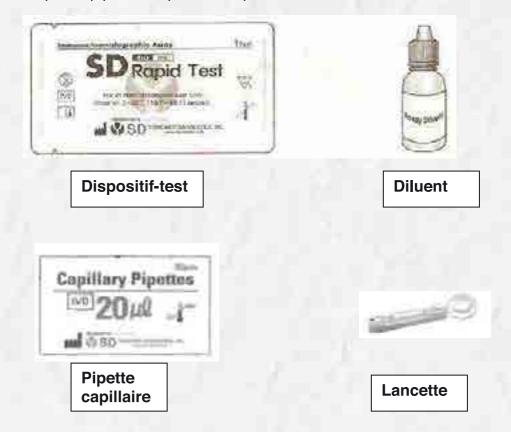
- plasma
- sérum
- sang total

II-2.4. Equipements requis

Aucun

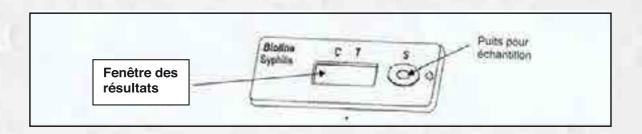
II-2-5. Contenu Du Kit pour 30 tests

Un kit **Bioline Syphilis 3.0** contient 30 tests, un flacon de diluent, 30 pipettes capillaires 20μ I, 30 pipettes capillaires 10μ I, 30 lancettes et un manuel d'utilisation.



II-2-6.PROTOCOLE OPERATOIRE

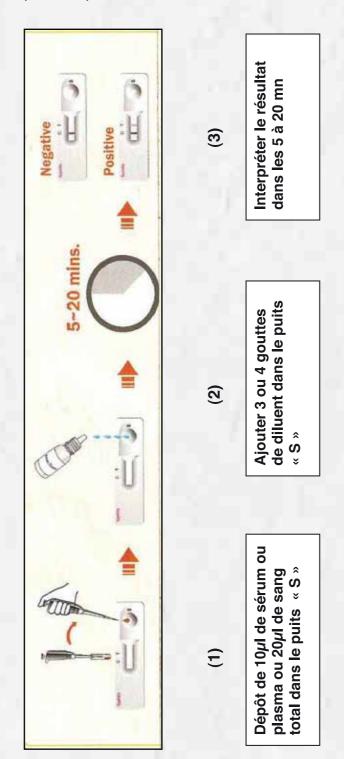
- Sortir le dispositif-test de son enveloppe. Chaque dispositif-test présente deux puits :
 - une fenêtre pour la lecture des résultats (rectangulaire), il y a deux lettres : C marque la ligne contrôle et T la ligne de test
 - un puits pour échantillon « S » (rond) pour déposer l'échantillon et le diluent.



 Transcrire le numéro ou nom d'identification du patient sur le dispositif-test avec un marker.

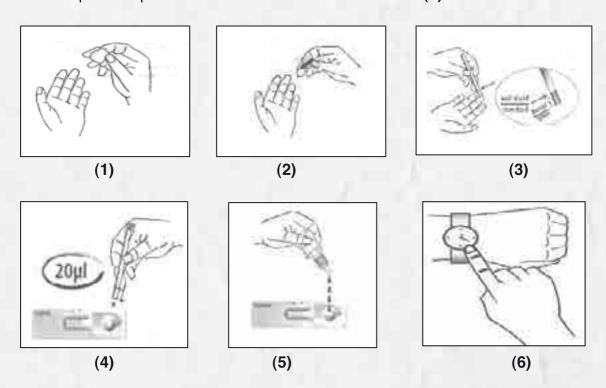
a- Option 1 : On utilise des prélèvements veineux : sérum, sang total, plasma

- A l'aide d'une micropipette, déposer dans le puits pour échantillon S
 10μl de sérum/ plasma ou 20μl de sang total. (1)
- Ajouter 4 gouttes de diluent ou Buffer dans le puits échantillon S.(2)
- Lire le résultat du test entre 5 et 20 minutes après le dépôt du diluent. Ne pas interpréter le résultat au-delà de 20 minutes (3)



b- Option 2 : On utilise le prélèvement au bout du doigt

- · Nettoyer la surface du bout du doigt à prélever à l'aide d'un tampon alcoolisé (1)
- · Piquer avec une lancette stérile fournie (2)
- · A l'aide de la pipette capillaire 20μ l fournie, immerger le bout avec une orifice dans la goutte de sang et relâcher la pression sur la pipette pour aspirer le sang jusqu'au niveau du trait noir (3)
- · Transférer 20µl dans le puits échantillon S (4)
- · Ajouter 4 gouttes de diluent dans le même puits (5)
- · Lire le résultat du test entre 5 et 20 minutes après le dépôt du diluent. Ne pas interpréter le résultat au-delà de 20 minutes (6)



II-2.7. INTERPRETATION DES RESULTATS

a- Résultat positif

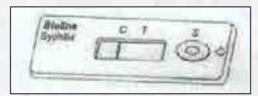
 Présence de deux bandes de couleur pourpre (bande « T » et bande « C ») dans la fenêtre de lecture des résultats.

N.B : L'intensité de la coloration de la bande n'est pas importante.



b- Résultat négatif

• Présence d'une seule bande de couleur pourpre (bande « C ») dans la fenêtre de lecture des résultats



c- Résultat invalide

• La bande au niveau de C est le contrôle interne du test, si aucune bande C n'apparaît, même si la bande T est présente, le test est invalide :

Il faut refaire le test avec un autre dispositif-test.



Impression : **WELLPRINT** - 033 12 201 35 - 1 800 ex













L'impression et la publication de ce document ont été appuyées par le : Projet de Renforcement du Programme de Prévention du VIH/sida Agence Japonaise de Coopération Internationale JICA