

Ministère de l'Education Nationale

Université de Bamako

Faculté de Médecine de Pharmacie
et d'Odonto-Stomatologie

République du Mali

Un Peuple – Un But – Une Foi

Thèse N° Année 2004-2005



Thèse

Présentée et soutenue publiquement le2005

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

par **Mlle EVE TANGARA**

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN PHARMACIE

(Diplôme d'Etat)

JURY

Président du Jury :

Professeur Boubacar Sidiki CISSE

Membres :

Docteur Souleymane DIALLO

Docteur Bakary CISSE

Directeur de Thèse :

Professeur Anatole TOUNKARA

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

ADMINISTRATION

DOYEN: **MOUSSA TRAORE** – PROFESSEUR

1^{er} ASSESSEUR: **MASSA SANOGO** – MAÎTRE DE CONFERENCES

2^{ème} ASSESSEUR: **GANGALY DIALLO** – MAÎTRE DE CONFERENCES AGREGE

SECRETAIRE PRINCIPAL: **YENIMEGUE ALBERT DEMBELE** – MAÎTRE DE CONFERENCES
AGREGE

AGENT COMPTABLE: MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL- CONTROLEUR DES FINANCES

PROFESSEURS HONORAIRES

| | |
|-----------------------|---------------------------------------|
| Mr Alou BA | Ophtalmologie |
| Mr Bocar SALL | Orthopédie Traumatologie – Secourisme |
| Mr Souleymane SANGARE | Pneumo-phtisiologie |
| Mr Yaya FOFANA | Hématologie |
| Mr Mamadou L. TRAORE | Chirurgie Générale |
| Mr Balla COULIBALY | Pédiatrie |
| Mr Mamadou DEMBELE | Chirurgie Générale |
| Mr Mamadou KOUMARE | Pharmacognosie |
| Mr Mohamed TOURE | Pédiatrie |
| Mr Ali Nouhoum DIALLO | Médecine interne |
| Mr Aly GUINDO | Gastro-entérologie |

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. & PAR GRADE

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

PROFESSEURS

| | |
|---------------------------|--|
| Mr Abdel Karim KOUMARE | Chirurgie Générale |
| Mr Sambou SOUMARE | Chirurgie Générale |
| Mr Abdou Alassane TOURE | Orthopédie-Traumatologie Chef de D.E.R. |
| Mr Kalilou OUATTARA | Urologie |
| Mr Amadou DOLO | Gynéco Obstétrique |
| Mr Alhousseini Ag MOHAMED | ORL |

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

| | |
|--------------------------------|--------------------------|
| Mr Abdoulaye DIALLO | Ophtalmologie |
| Mr Djibril SANGARE | Chirurgie Générale |
| Mr Abdel Kader TRAORE dit DIOP | Chirurgie Générale |
| Mr Abdoulaye DIALLO | Anesthésie – Réanimation |
| Mr Gangaly DIALLO | Chirurgie Viscérale |
| Mr Mamadou TRAORE | Gynéco-Obstétrique |

MAITRES DE CONFERENCES

| | |
|-----------------|--------------------|
| Mme SY Aïda SOW | Gynéco-Obstétrique |
|-----------------|--------------------|

Mr Salif DIAKITE

Gynéco-Obstétrique

MAÎTRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE

Gynéco-Obstétrique

Mr Sadio YENA

Chirurgie Générale

Mr Filifing SISSOKO

Chirurgie Générale

Mr Issa DIARRA

Gynéco-Obstétrique

ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Mamadou L. DIOMBANA

Stomatologie

Mr Sékou SIDIBE

Orthopédie - Traumatologie

Mr Abdoulaye DIALLO

Anesthésie - Réanimation

Mr Tiéman COULIBALY

Orthopédie - Traumatologie

Mme TRAORE J. THOMAS

Ophtalmologie

Mr Nouhoum ONGOÏBA

Anatomie & Chirurgie Générale

Mr Zanafon OUATTARA

Urologie

Mr Zimogo Zié SANOGO

Chirurgie Générale

Mr Adama SANGARE

Orthopédie - Traumatologie

Mr Youssouf COULIBALY

Anesthésie - Réanimation

Mr Samba Karim TIMBO

O.R.L.

Mme TOGOLA Fanta KONIPO

O.R.L.

Mr Sanoussi BAMANI

Ophtalmologie

Mr Doulaye SACKO

Ophtalmologie

Mr Ibrahim ALWATA

Orthopédie - Traumatologie

Mr Lamine TRAORE

Ophtalmologie

Mr Mady MAKALOU

Orthopédie/Traumatologie

Mr Aly TEMBELY

Urologie

Mr Niani MOUNKORO

Gynécologie/ Obstétrique

Mme Djénéba DOUMBIA

Anesthésie / Réanimation

Mr Tiémoko D. COULIBALY

Odontologie

Mr Souleymane TOGORA

Odontologie

Mr Mohamed KEITA

ORL

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO

Chimie Générale & Minérale

Mr Bréhima KOUMARE

Bactériologie - Virologie

Mr Siné BAYO

Anatomie-Pathologie-Histoembryologie

Mr Yéya T. TOURE

Biologie

Mr Amadou DIALLO

Biologie

Mr Moussa HARAMA

Chimie Organique

Mr Ogobara DOUMBO

Parasitologie-Mycologie

2. MAÎTRES DE CONFÉRENCES AGREGES

Mr Yénimégué Albert DEMBELE

Chimie Organique

Mr Anatole TOUNKARA

Immunologie-**Chef de D.E.R.**

Mr Amadou TOURE

Histoembryologie

Mr Flabou BOUGOUDOGO

Bactériologie – Virologie

Mr Amagana DOLO

Parasitologie

3. MAÎTRES DE CONFÉRENCES

Mr Bakary M. CISSE

Biochimie

Mr Abdrahamane S. MAÏGA

Parasitologie

Mr Adama DIARRA

Physiologie

Mr Mamadou KONE

Physiologie

Mr Massa SANOGO

Chimie Analytique

4. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE
Mr Sékou F. M. TRAORE
Mr Abdoulaye DABO
Mr Abdrahamane TOUNKARA
Mr Ibrahim I. MAÏGA
Mr Amagana DOLO
Mr Moussa Issa DIARRA
Mr Kaourou DOUCOURE
Mr Bouréma KOURIBA
Mr Souleymane DIALLO
Mr Cheick Bougadari TRAORE

Biologie
Entomologie médicale
Malacologie – Biologie Animale
Biochimie
Bactériologie – Virologie
Parasitologie
Biophysique
Biologie
Immunologie
Bactériologie/ Virologie
Anatomie pathologie

5. ASSISTANTS

Mr Mounirou BABY
Mr Mahamadou A. THERA
Mr Mangara M. BAGAYOKO
Mr Guimogo DOLO
Mr Abdoulaye TOURE
Mr Djbril SANGARE
Mr Mouctar DIALLO
Mr Boubacar TRAORE

Hématologie
Parasitologie
Entomologie-Moléculaire Médicale
Entomologie-Moléculaire Médicale
Entomologie-Moléculaire Médicale
Entomologie-Moléculaire Médicale
Biologie/ Parasitologie
Immunologie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY
Mr Mamadou K. TOURE
Mr Mahamane MAÏGA
Mr Baba KOUMARE
Mr Moussa TRAORE
Mr Issa TRAORE
Mr Mamadou M. KEITA
Mr Hamar A. TRAORE
Mr Dapa Aly DIALLO
Mr Moussa Y. MAIGA

Médecine Interne
Cardiologie
Néphrologie
Psychiatrie-**Chef de D.E.R.**
Neurologie
Radiologie
Pédiatrie
Médecine Interne
Hématologie
Gastro-entérologie hépatologie

2. MAÎTRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani SIDIBE
Mr Bah KEITA
Mr Boubacar DIALLO
Mr Somita KEITA
Mr Abdel Kader TRAORE
Mr Siaka SIDIBE
Mr Mamadou DEMBELE

Pédiatrie
Pneumo-Phtisiologie
Cardiologie
Dermato-Léprologie
Médecine Interne
Radiologie
Médecine Interne

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mamadou DEMBELE
Mr Mamady KANE
Mr Tatiana KEITA
Mr Diankiné KAYENTAO†
Mme TRAORE Mariam SYLLA
Mr Adama D. KEITA
Mme SIDIBE Assa TRAORE
Mme Habibatou DIAWARA

Médecine Interne
Radiologie
Pédiatrie
Pneumo-Phtisiologie
Pédiatrie
Radiologie
Endocrinologie
Dermatologie

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIAKITE

Psychiatrie

Mr Bougouzié SANOGO
Mr Saharé FONGORO
Mr Bakoroba COULIBALY
Mr Kassoum SANOGO
Mr Seydou DIAKITE
Mr Mahamadou B. CISSE
Mr Arouna TOGORA
Mme Diarra Assétou SOUCKO
Mr Boubacar TOGO
Mr Mahamadou B. TOURE
Mr Idrissa A. CISSE
Mr Mamadou B. DIARRA
Mr Anselme KONATE
Mr Moussa T. DIARRA
Mr Souleymane DIALLO
Mr Souleymane COULIBALY
Mr Daouda MINTA
Mr Soungalo DAO

5. ASSISTANT

Mr Cheick Oumar GUINTO

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR

Mr Boubacar Sidiki CISSE
Mr Gaoussou KANOUTE

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Arouna KEITA
Mr Ousmane DOUMBIA

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boulkassoum Haidara
Mr Eliman MARIKO
Mr Drissa DIALLO

4. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Benoît KOUMARE
Mr Alou KEITA
Mr Ababacar I. MAÏGA
Mr Yaya KANE

5. ASSISTANTS

Mme Rokia SANOGO
Mr Saibou MAIGA
Mr Ousmane KOITA

Gastro-entérologie
Néphrologie
Psychiatrie
Cardiologie
Cardiologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Médecine interne
Pédiatrie
Radiologie
Dermatologie
Cardiologie
Hépto-gastro-entérologie
Hépto-gastro-entérologie

Psychologie
Maladies infectieuses
Maladies infectieuses

Neurologie

Toxicologie
Chimie Analytique

Matières médicales
Pharmacie Chimique

Législation
Pharmacologie-**Chef de DER**
Matières Médicales

Chimie analytique
Galénique
Toxicologie
Galénique

Pharmacognosie
Législation
Parasitologie Moléculaire

D.E.R. SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA

Santé publique **chef de D.E.R**

2. MAÎTRE DE CONFERENCES AGREGÉ

Mr Moussa A. MAÏGA

Santé Publique

3. MAÎTRE DE CONFERENCES

Mr Sanoussi KONATE

Santé Publique

4. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Bocar G. TOURE

Santé Publique

Mr Adama DIAWARA

Santé Publique

Mr Hamadoun SANGHO

Santé Publique

Mr Massambou SACKO

Santé Publique

Mr Moussa A. DICKO

Santé Publique

5. ASSISTANTS

Mr Samba DIOP

Anthropologie Médicale

Mr Seydou DOUMBIA

Epidémiologie

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA

Botanique

Mr Bouba DIARRA

Bactériologie

Mr Salikou SANOGO

Physique

Mr Bocary Y. SACKO

Biochimie

Mr Boubacar KANTE

Galénique

Mr Souleymane GUINDO

Gestion

Mme DEMBELE Sira DIARRA

Mathématiques

Mr Modibo DIARRA

Nutrition

Mme MAÏGA Fatoumata SOKONA

Hygiène du Milieu

Mr Mahamadou TRAORE

Génétique

Mr Souleymane COULIBALY

Psychologie Médicale

Mr Yaya COULIBALY

Législation

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. Doudou BA

Bromatologie

Pr. Babacar FAYE

Pharmacodynamie

Pr. Eric PICHARD

Pathologie Infectieuse

Pr. Mounirou CISS

Hydrologie

DEDICACES

JE DEDIE CE TRAVAIL A

- Mon seigneur et sauveur **JESUS-CHRIST** à qui soit la gloire aux siècles des siècles. Je te dis infiniment merci **JESUS** pour le résultat de ces longues années. Tu as été au début et à la fin de ce travail me soutenant et me guidant jour après jour. Le chemin m'a paru long mais tu es resté fidèle jusqu'à la fin. Que la gloire te revienne en ce moment solennel.
- **Mon père Kary Tangara**
Tu as compris très tôt que la richesse pérenne que tu peux nous donner est une bonne éducation. Tu t'es donné pour atteindre cet objectif. Puisses-tu trouver en ce travail une source de satisfaction.
- **Ma mère Mariama Dembélé**
Tu es la meilleure des possessions que Dieu m'a offerte. Tu as toujours été une mère attentionnée dont la tendresse, l'affection, la rigueur et la bienveillance dans l'éducation m'ont été très utiles et ont constitué une source d'encouragement pour moi. Le seigneur exhausse ainsi une de tes prières. Maman, je t'aime. Trouve ici chère mère l'expression de toute ma reconnaissance.
- Mes frères et sœurs : **Elie, Elisabeth, Kanoufing dite Batoma, Ruth, Rachel** ce travail est le fruit de vos sacrifices, votre amour, vos mots d'encouragements et de vos prières. Restons toujours unis car la force d'une famille réside dans l'unité. Puisse chacun de vous faire plus que moi.
- **Mon Tonton Siaka Dembélé et ma Tante Jeanne Djoni**
Vous m'avez accueilli chez vous à bras ouvert et m'aidant à me sentir toujours en famille. Ce travail est le fruit de vos encouragements, vos conseils et vos soutiens moraux et matériels. Les mots me manquent aujourd'hui pour exprimer toute ma reconnaissance pour tout ce que vous avez fait pour moi. Que Dieu vous comble de sa bénédiction.
- **Mon beau frère Josué S Coulibaly et sa femme** vos conseils, vos encouragements m'ont beaucoup aidé dans la réalisation de ce travail. Je vous dis sincèrement merci.
- Mes cousins et cousines : **Jemima Malla, Jérémie Keita, Japhet, Elisé, Papa Silas, Benjamin Dembélé, et Marina Mounkoro** vous m'avez aidé à me sentir toujours en famille. Ce travail est aussi le vôtre.
- **Dr Ibrahim Dolo**
Je ne saurais suffisamment te remercier pour ton appui constant et ta disponibilité durant la réalisation de ce travail. Que Dieu te comble de sa bénédiction. Je te souhaite bonne carrière professionnelle.

➤ **Mon oncle feu Yohana Dembélé**

Louange à Dieu lui qui donne la vie et qui la reprend. Ce travail est le fruit de vos conseils, et de vos mots d'encouragements. J'aurai voulu que vous soyez présent aujourd'hui pour partager avec moi ma joie. Mais Dieu en a décidé autrement. Dors en paix.

➤ **Toutes les personnes infectées et affectées par le VIH /SIDA** ce travail est le fruit de votre bonne collaboration. Par ce travail, je voudrais vous apporter un tout petit peu de confort et vous prouver qu'à travers le monde des milliers de personnes luttent à vos côtés afin d'enrayer ce fléau. Ensemble, nous marchons vers la victoire.

REMERCIEMENTS

MES REMERCIEMENTS A

- Ma patrie, le Mali qui malgré la faiblesse des ressources arrive à assurer l'éducation de ses fils. Merci chère patrie pour m'avoir accordé la chance de bénéficier de la meilleure des richesses qu'un homme puisse posséder et de m'avoir faciliter en m'octroyant les moyens humains, matériels et financiers.
- **Professeur Anatole Tounkara**
Vous nous avez accepté dans votre service en mettant à notre disposition les outils nécessaires pour la réalisation de ce travail.
Cher maître nous avons appris de vous le sérieux, la créativité et la constance dans le travail. Merci pour tout.
- **Dr Bouréma Kouriba**
Grâce à votre disponibilité et vos conseils ce travail a pu être réalisé.
Ce modeste travail ne saurait suffire pour vous témoigner toute ma reconnaissance.
- **Ma tante Nyagaly Bagayogo et sa famille** ce travail ne suffit pas pour vous remercier de votre soutien moral, financier. Je vous serais infiniment reconnaissant.
- **Tonton Siaka Traoré et famille** à Ouaga j'ai trouvé en vous une seconde famille ; dans laquelle l'affection, le conseil et l'encouragement ne m'a pas fait défaut. Ce travail vous appartient, soyez sûre de mon respect.
- Tous les personnels de la pharmacie « Lassana Samaké » **Dr Abdou Doumbia et sa famille, Dr Zanké Diarra, Fatoumata Diarra, Issiaka Guindo** trouvez ici l'expression de ma profonde reconnaissance.
- **Les familles N'Diaye et Kanté** à Kouloubeni puisse vous retrouver dans ce modeste travail l'expression de ma reconnaissance.
- **Mohamed Kané, Siméon Dembélé et Jemima Tangara** ce modeste travail est le témoignage partiel de ma reconnaissance pour tous vos efforts.
- **Mes tontons Ladji, Datou et Yaya Tangara** ce travail est le fruit de vos conseils, vos aides matériels et vos bénédictions quotidiennes pour moi. Trouvez ici l'expression de ma reconnaissance.
- **Marie Sogoba et son époux Dr Yacouba Diallo** pour les bons moments que nous avons passés ensemble.
- A mes amis : **Esther Konaté, Ramata Mariko, Aguiratou Ouedrago, Awa Dougnon, Danaya Koné (grand frère), Amos Sidibé, Damissa Coulibaly, Nicodeme Ballo**, bonne carrière professionnelle.
- Au professeur **Aziz Cissé** pour la qualité de tes cours et ta sympathie. Thank you.

- A tous ceux qui m'ont inculqué le savoir, ce travail ne suffit pas pour vous remercier de vos multiples sacrifices et patiences, soyez sûre de ma reconnaissance.
- **Mme Yara, Elie Tessougue**, et tous les personnels du CNTS pour votre franche collaboration.
- A mes aînés du CNTS : **Moussa Ibrahim Maiga, Hassane Guiteye, Madani Mariko, Noumsi Ghislain, Moumine Sanogo, Oumar Tangara** pour m'avoir aidé et guidé dans la réalisation de ce travail.
- A la **promotion 1998-2003** pour les années inoubliables vécues ensemble, bonne carrière professionnelle à tous et à toutes.
- A mes camarades internes du CNTS : **Aguiratou Ouedrago, Hamadi Traoré, Moctar Djiguiba, Soumaila Guindo, Moussa Dombia, Oumar Dao, Bassirou Diarra, Amadou Diawara (ATT), Aboubacar Teketé, Hamane Ibrahim Touré, Dedé André Lallé, Abdramane Diarra, Abdoulaye Traoré, Hama Diallo** pour leur franche collaboration, bonne carrière professionnelle.
- A mes **cadets internes** du CNTS, courage et bonne chance pour la suite.
- **A toutes mes connaissances qui m'ont aidé dans la réalisation de cette thèse et qui ne verront pas leurs noms, ce travail est le vôtre !**

**HOMMAGE AUX
MEMBRES DU JURY**

A notre Maître et Président du jury

Professeur Boubacar Sidiki CISSE

- ❖ Professeur de Toxicologie et de Phytopharmacie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto - Stomatologie (FMPOS),**
- ❖ Recteur honoraire de l'Université de Bamako,**
- ❖ Conseiller technique au Ministère de la Santé,**

Cher Maître, vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations.

La clarté de votre enseignement, vos qualités humaines, sociales et scientifiques font de vous un Maître respectable et admiré. Votre souci constant pour l'amélioration de la qualité de l'enseignement de la pharmacie et votre engagement pour la valorisation de la profession de pharmacien au Mali, sont remarquables de tous.

Nous vous prions cher Maître, d'accepter nos sincères remerciements.

A notre Maître et Juge

Docteur Bakary CISSE

❖ Maître de conférence de Biochimie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto - Stomatologie (FMPOS),

❖ Responsable de la Division Recherche au Rectorat de l'Université de Bamako,

Cher Maître, nous sommes très honorés par votre présence dans ce jury de thèse.

Vos qualités humaines et sociales, surtout votre sens élevé de la responsabilité et la clarté de votre enseignement ont beaucoup attiré notre attention.

Veillez recevoir ici notre profonde gratitude.

A notre Maître et Juge

Docteur Souleymane Diallo

- ❖ **Maître Assistant de Bactériologie-Virologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto - Stomatologie (FMPOS),**
- ❖ **Chef du laboratoire d'analyses biomédicales de Hôpital Gabriel Touré (HGT),**

Cher Maître,

C'est un honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations. Votre disponibilité et votre simplicité nous ont beaucoup impressionnés.

Recevez cher Maître l'expression de notre profonde gratitude et nos sincères remerciements.

A notre Maître et Directeur de thèse

Professeur Anatole TOUNKARA.

- ❖ **Maître de conférence agrégé d'immunologie à Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto – Stomatologie (FMPOS)**
- ❖ **Chef de D.E.R des sciences fondamentales à la FMPOS,**
- ❖ **Directeur du Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS),**
- ❖ **Directeur du projet NIAID/NIH Tuberculose et VIH ;**

Cher Maître,

Nous sommes très honorés d'avoir été choisi pour effectuer ce travail. Pendant notre séjour dans votre service nous avons pu apprendre la rigueur scientifique, le sérieux dans le travail, le courage, la persévérance et l'esprit d'équipe. Toutes ces valeurs qui sont essentielles à l'accomplissement d'une carrière scientifique, nous les avons acquises à jamais. C'est pourquoi nous sommes fier d'être parmi vos élèves.

Recevez cher Maître, notre profonde gratitude et nos sincères remerciements.

ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

AEG : Altération de l'état général

ARN : Acide ribonucléique

ARV : Antirétroviraux

Ag-Ac : Complexe antigène- anticorps

CD4 : Cluster for differenciation 4

CD8 : Cluster for differenciation 8

CDC : Center for Diseases Control

CESAC : Centre d'écoute de soins, d'animation et de conseils

CMV : Cytomégalovirus

CMH II : Complexe majeur d'histocompatibilité de la classe II

CNTS : Centre National de Transfusion Sanguine

CRP : Protéine C réactive

CSCom : Centre de Santé Communautaire

EDSM III : Enquête Démographique de santé du Mali 3^{ème} édition

ELISA : Enzym Linked Immunosorbent Assay

ELP : Profil Electrophorétique

HGT : Hôpital Gabriel Touré

HPG : Hôpital Point G

IDR : Immunodifusion Radiale

IEC : Information, Education, communication

IgA : Immunoglobuline d'isotype Alpha

IgD : Immunoglobuline d'isotype Delta

IgE : Immunoglobuline d'isotype Epsilon

IgG : Immunoglobuline d'isotype Gamma

IgM : Immunoglobuline d'isotype M

LCR : Liquide Céphalo-rachidien

IST : Infection Sexuellement Transmissible

ONU/SIDA : Organisation des Nations Unies contre le SIDA

PCR : Polymerase Chain Reaction

PNLS : Programme National de Lutte contre le SIDA

SIDA : Syndrome de l'immunodéficience Acquise

SIV : Simian Immunodeficiency Virus

TCK : Temps de Céphalin Kaolin

TP : Taux de Prothrombine

VIH : Virus de l'immunodéficience Humaine

SOMMAIRE

| CHAPITRE I | Pages |
|--|--------------|
| INTRODUCTION | 1 |
| CHAPITRE II | |
| OBJECTIFS | 3 |
| Objectif général | 3 |
| Objectifs spécifiques | 3 |
| CHAPITRE III | |
| GENERALITES | 4 |
| III.1. Rappel sur le VIH | 4 |
| 1. 1. Définition | 4 |
| 1. 2. Classification | 4 |
| 1. 3. Structure du VIH | 4 |
| 1. 4. Caractère et niche écologique | 6 |
| 1. 5. Physiopathologie | 7 |
| 1. 6. Mode de transmission | 9 |
| 1. 7. Prévention | 9 |
| 1. 8. Epidémiologie | 11 |
| III. 2. Rappels sur les protéines | 15 |
| 2. 1. Définition | 15 |
| 2. 2. Rôles des protéines | 15 |
| 2. 3. Origine des protéines | 15 |
| 2. 4. Valeurs physiologiques de références des protéines | 16 |

| | |
|---|----|
| 2. 5. Variations pathologiques | 16 |
| 2. 6. Méthodes de dosage de la protéinémie totale | 16 |
| 2. 7. Fractionnement des protéines sériques | 16 |
| 2. 8. Le protidogramme | 19 |
| 2. 9. Variation pathologique du protidogramme | 20 |
| 2. 10. Etude sémiologique du protidogramme | 23 |
| CHAPITRE IV | |
| METHODOLOGIE | 32 |
| VI.1. Lieu d'étude | 32 |
| 1.1. Situation géographique du CNTS | 32 |
| 1.2. Création et mission du CNTS | 32 |
| 1. 3. Les locaux | 32 |
| 1.4. Organisation et fonctionnement du CNTS | 33 |
| IV.2. Type et période d'étude | 33 |
| IV. 3. Population d'étude | 33 |
| IV. 4. Echantillonnage | 34 |
| 4.1. Critères d'inclusion | 34 |
| 4. 2. Critères de non inclusion | 34 |
| IV. 5. Aspects éthiques | 35 |
| I.V. 6. Techniques utilisées | 35 |
| 6. 1. Collecte et analyse des données | 35 |
| 6. 2. Techniques de dépistage | 35 |
| 6.3. Réalisation du protidogramme | 45 |

| | |
|-----------------------------|----|
| 6. 4. Immunoélectrophorèse | 51 |
| CHAPITRE V | |
| RESULTATS | 58 |
| CHAPITRE VI | |
| DISCUSSIONS | 78 |
| CHAPITRE VII | |
| CONCLUSION | 83 |
| RECOMMANDATIONS | 84 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 85 |
| ANNEXES | |

I. INTRODUCTION

Après plus d'une vingtaine d'année de lutte contre le syndrome de l'immunodéficience humaine (le VIH/SIDA), cette affection demeure toujours pandémique. Son émergence a bouleversé les structures sanitaires partout dans le monde et plus particulièrement dans les régions défavorisées.

Bien que les modes de transmissions et leurs préventions aient été établis, le SIDA continue de progresser de façon significative à travers le monde et touche toutes les classes sociales : hommes, femmes et enfants.

En effet, le VIH/SIDA constitue aujourd'hui la première cause de mortalité, en Afrique subsaharienne et la quatrième dans le monde ; il est un problème majeur de santé publique dans le monde (53).

Après le paludisme et d'autres parasitoses, le SIDA est devenu pour les pays d'Afrique une calamité handicapante, puisque les plus touchés sont les jeunes qui constituent la population active (53).

En effet selon le rapport de l'ONU/SIDA de Décembre 2003, 40 millions de personnes vivaient avec le VIH à travers le monde, parmi lesquelles, 70 % étaient en Afrique. Pour l'année 2003 l'ONU/SIDA a estimé qu'il y a eu dans le monde 5 millions de personnes nouvellement infectées et 3 millions de décès (48, 49). Ce nombre de décès par le SIDA dépassera sans aucun doute dans quelques années les cinquante cinq millions si des efforts massifs de prévention, de traitement et de prise en charge ne sont pas déployés.

L'Afrique subsaharienne paye un lourd tribut à la maladie avec 26,6 millions de personnes vivant avec le VIH, soit 3,2 millions de nouveaux cas d'infections au cours de cette même année, et 2,3 millions de décès (48).

Selon les résultats de EDSM – III (enquête démographique de santé du Mali, 3^e édition) de Décembre 2001, le taux de l'infection au Mali est de 1,7 % dans la population générale (26).

L'infection par le VIH s'accompagne régulièrement de nombreuses modifications des paramètres biologiques de l'individu. Certains de ces paramètres ont fait l'objet d'études au Mali comme :

- Les sous populations cellulaires TCD4 et TCD8.

Oumar Kassogué en 2003 et Kama Sissoko en 2000 rapportent une diminution considérable du chiffre absolue des lymphocytes TCD4+ avec une augmentation des lymphocytes TCD8 (11, 31). Ceux-ci aboutissent à un abaissement du rapport des T4/T8 au cours de l'infection à VIH (47, 31).

➤ L'hémogramme et les paramètres de l'hémostase

Les modifications les plus retrouvées au cours de l'infection à VIH sont essentiellement : un déficit de sécrétion et d'agrégation plaquettaire (47, 24) ; un allongement du taux de prothrombine et du temps de céphalin kaolin (24, 10) et la présence d'anticorps anticoagulants circulants (28).

La dysprotéïnémie est aussi décrite en terme d'accélération de la vitesse de sédimentation des éléments figurés du sang (27, 24).

L'infection par le VIH s'accompagne de façon presque constante d'une hypergammaglobulinémie polyclonale (27, 1).

Akpona S.A. et son équipe ont trouvé au Bénin chez les malades du SIDA une modification des différentes fractions du protidogramme (1).

Une étude menée chez les sujets infectés par le VIH1 en Ouganda et en Norvège a montré que les taux des sous classes IgG, IgA et IgM étaient d'autant plus élevés que les taux des CD4 étaient bas (16).

Cette modification du protidogramme chez les personnes vivant avec le VIH n'a pas fait l'objet d'une étude au Mali.

Les modifications du protidogramme sont-elles associées à une ou plusieurs fractions des protéines sériques et plus particulièrement à une classe ou plusieurs classes d'immunoglobuline ? Une enquête chez les personnes vivant avec le VIH permettrait de répondre à cette question. Ce qui permettrait une meilleure connaissance de la pathologie et par conséquent une meilleure prise en charge des patients.

Notre hypothèse de travail est que le protidogramme chez les Maliens infectés par le VIH est modifié.

II. OBJECTIFS

II. 1. OBJECTIF GENERAL

- Evaluer le protidogramme chez les personnes infectées par le VIH au CNTS en 2004.

II. 2. OBJECTIFS SPECIFIQUES

1. Réaliser l'électrophorèse des protéines sériques chez les donneurs de sang séronégatifs et séropositifs au CNTS en 2004.
2. Faire le protidogramme également chez les patients séropositifs vus au CNTS en 2004.
3. Comparer les résultats du protidogramme obtenu chez les personnes séronégatives et séropositives.
4. Fractionner les immunoglobulines chez les sujets vivant avec le VIH par immunoélectrophorèse.

III. GENERALITES

III. 1. RAPPEL SUR LE VIH

1. 1. Définition de l'infection par le VIH

Le syndrome de l'immunodéficience acquise (SIDA) est une maladie infectieuse d'origine virale provoquée par un virus spécifique humain de la famille des rétrovirus appartenant à la sous famille des lentivirus ou virus lent qui porte le nom de VIH (virus de l'immuno déficience humaine) (4, 51, 52).

La première définition du SIDA fut publiée le 24 Septembre 1982 par le Centre de Contrôle des Maladies à Atlanta aux Etats-Unis (Center for Disease Control : CDC), et cela bien avant sa classification en stade clinique et l'isolement du VIH.

1. 2. Classification du virus de l'immunodéficience humaine (VIH)

Les rétrovirus constituent une famille de virus bien particulière au sein de laquelle on peut les classer en fonction de leur morphologie et leurs propriétés biologiques.

Trois familles peuvent être définies:

- Les oncovirus : qui se caractérisent par leur pouvoir oncogène, c'est à dire leur capacité à provoquer une prolifération tumorale. Ils sont responsables de leucémies, de lymphomes et de sarcomes chez un grand nombre d'espèces animales (chat, poule, singe, souris, etc ...)
- Les lentivirus : qui ont la propriété de détruire les cellules qu'ils infectent selon un processus relativement lent (d'où leur nom) c'est le groupe d'appartenance du VIH 1 du VIH 2 et du SIV (Simian Immunodeficiency Virus qui est responsable du SIDA chez le singe).
- Les sparnavirus : qui entraînent une dégénérescence des cultures cellulaires. Ils ne sont jusqu'à présent associés à aucune pathologie connue chez l'homme et l'animal (4, 53).

1. 3. Structure du VIH

Le VIH a une forme plus ou moins sphérique d'environ 120 nm de diamètre. Il est constitué d'une chaîne d'ARN (son génome) à laquelle est associée la transcriptase inverse et entourée de plusieurs protéines qui se condensent autour d'elle pour former

la capside. L'ensemble est situé dans une enveloppe formée d'une protéine spécifique du virus, insérée dans une couche de lipides qui constitue la membrane du virus. Le génome viral, c'est à dire la molécule d'ARN qui contient l'information génétique nécessaire à la synthèse des protéines virales est constitué de 9200 nucléotides (4, 29). Le génome viral est constitué de 3 principales régions appelées Gag, Pol et Env (20).

- La région Gag: il s'agit de gènes codant pour les protéines du nucléocapside
- La région Pol comporte les gènes codant pour les enzymes comme la transcriptase inverse, la protéase et l'intégrase.
- La région Env contient les gènes codant pour les protéines de surface du virion (gp 41, gp120)

La gp 41 est transmembranaire et gp 120 est fixée chimiquement à elle. Bien que sa fonction de reconnaissance du lymphocyte CD 4+ soit essentielle pour l'infection virale la gp120 possède cinq zones hypervariables (53, 52).

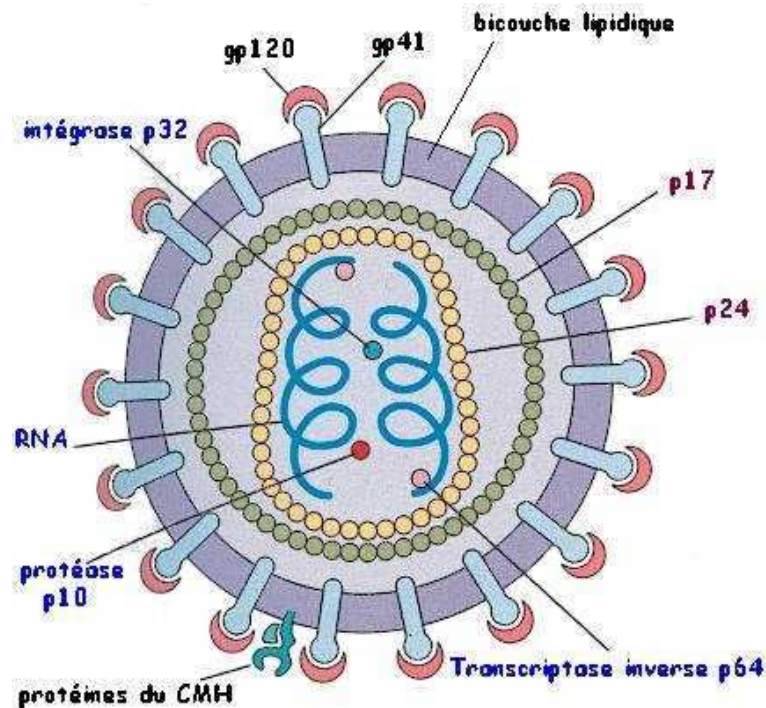


Fig. 1 : Structure du virus de l'immunodéficience humaine (54).

Source : Institut national de recherche pédagogique.

<http://www.inrp.fr/Acces/biotic/immuno/html/strucvih.htm>

1. 4. Caractère et niche écologique

Comme tout virus enveloppé, le VIH est sensible aux solvants des lipides et aux détergents (1 % Triton X100, 0,5 % désoxycholate de sodium). Il est sensible à la chaleur puisqu'il est inactivé par chauffage à 56°C pendant 30 minutes. Le virus VIH est également inactivé en 5 minutes par l'hypochlorite de sodium à 0,2 %, l'éthanol à 70 %, le glutaraldéhyde à 0,2 % (20).

Il est présent dans le sang, le sperme, le liquide céphalo- rachidien, les urines, la salive, le liquide lacrymal, les sécrétions vaginales, le lait maternel, les tissus nerveux et les ganglions lymphatiques (4).

1. 5. Physiopathologie

- L'atteinte élective des lymphocytes T CD4+ rend compte du déficit de l'immunité.
- L'absence d'anticorps spécifique facilite les infections (8, 29).

1. 5. 1. Le cycle de multiplication du virus

Le cycle de réplication du VIH fait appel aux enzymes virales lui permettant de s'intégrer dans le génome des cellules cibles et synthétiser de nouveaux virions.

Les cellules cibles sont les LT auxiliaires (helper) d'immunophénotype CD4+ (20, 45).

Les autres cellules cibles sont : les monocytes, les macrophages (réservoir viral), les cellules langerhans (à la surface de la peau et des muqueuses) les cellules porteuses de la molécule CD4+, la microglie du système nerveux central, les cellules folliculaires dendritiques, des ganglions, les cellules dendritiques du sang (52).

La multiplication se déroule de la même façon selon qu'il s'agisse du VIH1 ou du VIH2 même si elle est plus précoce pour le VIH2 (22).

➤ **Etape1 : fixation sur la cellule cible adsorption – pénétration-décapsidation**

Le VIH se fixe sur un récepteur membranaire le CD4 (récepteur des antigènes du CMH II) par une glycoprotéine dite gp120. Il lui faut l'aide d'un deuxième récepteur le CCR5 pour la suite des événements. La pénétration classique se fait par fusion de membrane. Enfin le virus subit une décapsidation et la libération du complexe ARN viral simple brin, transcriptase reverse, endonucléase.

➤ **Etape2 : synthèse de l'ADN**

La transcriptase inverse permet la synthèse d'une molécule d'ADN viral bicaténaire circulaire qui migre vers le noyau.

➤ **Multiplication**

Deux possibilités se présentent :

- L'ADN viral ne s'exprime pas: état latent
- L'ADN viral s'exprime sous l'action de facteurs inconnus:

- transcription de l'ADN en ARN messagers puis traduction en protéines virales,
- transcription de l'ADN en ARN génome,
- assemblage des particules virales,
- libération par bourgeonnement au niveau de la membrane plasmique du lymphocyte et libération.

➤ **Evolution du virus**

On peut constater dans un premier temps une très forte multiplication virale accompagnée d'une chute des lymphocytes TCD4+. Puis assez rapidement, l'infection est contrôlée puisque la virémie chute et le nombre des lymphocytes T CD4+ remonte à un taux normal. La réaction immunitaire semble donc protectrice avec l'installation d'un fort taux d'anticorps anti-HIV qui se maintient très longtemps.

Mais progressivement le taux de lymphocytes T CD4+ diminue traduisant l'attaque sournoise du virus qui augmente en nombre doucement. La chute des anticorps marque le début de l'immunodépression liée à la mort des lymphocytes T CD4+ : l'individu pourrait être séronégatif. La phase SIDA montre une reproduction virale intense avec une quasi disparition des lymphocytes T CD4+ et des anticorps, ce qui entraîne en général des infections opportunistes (53).

1. 5. 2. Signes biologiques

- effondrement du chiffre absolu des lymphocytes thymo-dépendants auxiliaires CD4+.
- abaissement du rapport T4/T8 (8, 47).
- une élévation sérique et urinaire de la bêta 2 microglobuline moléculaire dont la membrane des lymphocytes CD4+ est riches : la β 2 microglobuline augmente régulièrement et significativement au cours de l'infection par le VIH. Au cours de l'infection par le VIH le taux des β 2 microglobuline s'élève entre 2 et 3mg/l, voire plus chez les individus asymptomatiques pour atteindre 4 à 10mg/l chez les sujets atteints du SIDA. Le seuil de la valeur pronostique se situe à 3mg/l (22).

- hypergammaglobulinémie par hypersécrétion non spécifique d'anticorps liée à la réactivation du virus d'Epstein Barr dont la multiplication n'est plus contrôlée (8).

1. 6. Mode de transmission

Il est établi que le SIDA n'est pas transmis par l'eau, les aliments ou les piqûres d'insectes (moustiques en particulier).

Le virus du SIDA est transmis selon quatre modes majeurs par le sang ou ses dérivés et les sécrétions sexuelles.

On distingue :

- la transmission sexuelle (le SIDA est une IST).
- la transfusion sanguine et injection d'extraits sanguins.
- échange par les drogués d'aiguilles et d'accessoires contaminés par le sang.
- contamination du fœtus ou du nouveau-né par la mère infectée.

Essentiellement par la contamination lors de l'accouchement par les voies naturelles (contamination par les microtransferts de sang mère-enfant ou par les sécrétions de la mère) et l'allaitement (53, 8).

Les contacts de la vie courante ne transmettent absolument pas le SIDA.

Donner son sang ne peut en aucun cas transmettre le SIDA au donneur, le matériel utilisé pour prélever le sang étant stérile et jeté après utilisation. Les moustiques ne transmettent pas le HIV. Le SIDA est une maladie transmissible mais non contagieuse.

1. 7. Prévention

La prévention est fondamentale pour limiter la propagation du SIDA. Les voies et moyens pour y parvenir sont multiples et sont les suivants :

1. 7. 1. Prévention de la transmission sexuelle

Les recommandations essentielles sont :

- réduction du nombre de partenaires sexuels et la fidélité,
- usage de préservatif.

1. 7. 2. Prévention de la transmission par la voie sanguine

Il est essentiel que les personnes consommant des drogues actives par voie intraveineuse renoncent à échanger entre elles du matériel d'injection et utilisent des seringues et aiguilles stériles.

Les centres de transfusion doivent éviter de prélever du sang chez les personnes à risque (prisons, collectes de rues ...).

Pour éviter de se contaminer en tant que personnel de santé il suffit de :

- se désinfecter les mains après tout examen clinique
- porter des gants pour manipuler le sang, les sécrétions et excréments du malade.
- désinfecter les récipients ayant contenu les selles, les crachats, les urines d'un patient HIV+ avec de l'eau de Javel par exemple ; préférer l'utilisation du matériel à usage unique ; déposer tout instrument ou objet à usage multiple utilisé pour manipuler du sang dans l'eau de Javel, éthanol puis le nettoyer et le stériliser.
- désinfecter à l'éthanol à 70% pendant une minute toute lésion cutanée contractée auprès d'un sujet HIV+ ou non (53).

1. 7. 3. Prévention de la transmission mère-enfant

La prévention comporte :

- L'information de la mère sur les risques encourus par elle pendant la grossesse et les risques encourus par l'enfant ;
- Le dépistage sérologique des femmes à risque si elles souhaitent une grossesse ou si elles sont enceintes ;
- Un traitement avant l'accouchement : en Afrique on peut proposer un traitement «minute» à la néviparine. On recommande une surveillance attentive au cours du troisième trimestre et la fin de la grossesse et de prévoir un accouchement par césarienne si les conditions sanitaires le permettent avec perfusion d'AZT. Puis le bébé est traité à l'AZT pendant 6 semaines (53).

1. 8. Epidémiologie

En 2004, l'épidémie de SIDA a causé 3,1 millions de décès et on estime que 4,9 millions de personnes ont contracté le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) cette même année ce qui porte à 39,4 millions le nombre de personnes vivant avec le virus dans le monde.

La prévalence du VIH chez les adultes est restée à peu près stable ces dernières années, mais cette stabilité ne signifie pas que l'épidémie ralentit.

Parmi ces 39,4 millions en 2004 on notera que :

- 25,4 millions étaient en Afrique subsaharienne avec 2,3 millions décès,
- 8,2 millions étaient en Asie avec 540000 décès,
- 1,7 millions étaient en Amérique Latine avec 95000 décès,
- 1,6 millions étaient en Amérique du Nord, Europe Occidentale et Europe Centrale avec 23000 décès,
- 1,4 millions étaient en Europe Orientale et Asie Centrale avec 60000 décès,
- 540000 étaient en Afrique du Nord et Moyen Orient avec 28000 décès,
- 440000 étaient dans les Caraïbes avec 36000 décès,
- et 37000 étaient en Océanie avec 700 décès (50, 42).

Tableau I : Récapitulatif de l'épidémie de VIH/SIDA dans le monde, Décembre 2004 (50)

| | Genre | Effectif (en millions) | Mini – maxi (en millions) |
|--|-----------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| Nombre de personnes vivant avec le VIH/SIDA | Adultes | 37,2 | 33,8 - 41,7 |
| | Enfants< 15ans | 2,2 | 2,0 - 2,6 |
| | Total | 39,4 | 35,9 - 44,3 |
| | Femmes | 17,6 | 16,3 - 19,5 |
| Nouveaux cas d'infections à VIH | Adultes | 4,3 | 3,7 - 5,7 |
| | Enfants< 15 ans | 0,64 | 0,57 - 0,75 |
| | Total | 4,9 | 4,3 - 6,4 |
| Décès dus au SIDA | Adultes | 2,6 | 2,3 - 2,9 |
| | Enfants<15ans | 0,51 | 0,46 - 0,6 |
| | Total | 3,1 | 2,8 - 3,5 |

1. 8. 1. Afrique Subsaharienne

L'Afrique Subsaharienne abrite 60 % des personnes vivant avec le VIH. Environ 25,4 millions d'individus (23-28,4 millions). On estime qu'en 2004, 3,1 millions de personnes (2,7-3,8 millions) y ont été infectées pour la première fois et 2,3 millions (2,1-2,6) sont mortes du SIDA. Parmi les jeunes de 15-24 ans, on estime que 6,9 % (6,3-8,3 %) des femmes et 2,2 % (2,0-2,7 %) des hommes vivaient avec le VIH à la fin de 2004.

- L'Afrique Australe n'offre malheureusement que de faibles indications d'une baisse prévisible pour la prévalence du VIH. Chacun des pays de la sous région connaît une prévalence nationale d'au moins 10 %. L'Angola fait exception à la règle où ; le taux ne dépasse pas 5 % dans ce pays. Il en résulte que l'on estime 11,4 millions (10,5-12,6 millions) le nombre de personnes vivant avec le VIH dans cette région soit presque 30 % du totale mondiale, pour une zone qui ne regroupe que 2 % de la population mondiale. On note toujours des taux de prévalence très élevés souvent supérieurs à 30 % parmi les femmes enceintes dans quatre autres

pays de la sous région, tous de faible population : Botswana, Lesotho, Namibie, et Swaziland et la comparaison des taux de prévalence dans certaines consultations n'a mis en évidence aucune diminution.

L'Afrique du Sud continue à regrouper le nombre le plus élevé au monde de personnes vivant avec le VIH. On estime à 5,3 millions (4,5-6,2 millions) le nombre de personnes qui vivaient avec le VIH à la fin de 2003 dont 2,9 millions (2,5-3,3 millions) de femmes. L'épidémie ne montre malheureusement aucun signe de fléchissement dans ce pays.

- En Afrique Centrale et en Afrique de l'Ouest on observe guère de modification des taux de prévalence, lesquels restent stables à 5 % voir moins, à l'exception du Cameroun et de la Côte d'Ivoire où ces dernières années, les valeurs médianes de la prévalence du VIH parmi les femmes enceintes ont atteint les 10 % et s'y sont maintenues.
- L'Afrique de l'Est : quelques pays d'Afrique de l'Est montrent effectivement des signes d'une véritable chute des niveaux d'infection à VIH. En Ouganda le taux national de prévalence est passé de 13 % au début des années 1990 à 4,1 (2,8-6,6) à la fin de 2003. Madagascar constitue une exception, avec un accroissement apparent parmi les femmes enceintes 1,1 en 2003 contre 0,3 % à peine 2 ans auparavant.

1. 8. 2. Situation de l'infection à VIH au Mali

Pour lutter contre le VIH/SIDA, le gouvernement Malien a mis en place un programme national de lutte contre le SIDA (PNLS) et depuis le 30/11/2000 un plan stratégique national de lutte contre le SIDA dans le but de freiner l'avancée de la maladie et de réduire son impact sur les personnes infectées et affectées par le VIH et l'économie du pays.

Diverses études et informations tant qualitatives que quantitatives ont été réalisées de 1987 jusqu'à l'enquête démographique de santé publiée en 2000.

Selon les résultats de cette EDMS-III, le taux de prévalence au Mali est de 1,7 % dans la population générale, un nombre cumulé des décès qui pourrait se situer à près de 170 000 en 2010 (en cas d'évolution non maîtrisée) et une baisse de l'espérance de vie

à l'horizon. Les femmes sont les plus touchées par cette pandémie, avec un taux global de 2 % contre 1,3 % chez les hommes. Le groupe d'âge le plus touché est celui de 30-34 ans pour les deux sexes.

En outre il ressort des enquêtes effectuées en 2001 que les jeunes adoptent des comportements à risques : multiplicité des partenaires sexuelles, sexualité précoce, prostitution et rapports sexuels non protégés.

D'ores et déjà la mortalité imputable au SIDA au niveau des jeunes et des adultes (15-49 ans) qui constituent la force productive du pays se fait sentir ce qui exposerait notre pays à une explosion de la pandémie du VIH/SIDA dans les années à venir.

La sensibilisation sur la pandémie du SIDA dans notre pays est sans relâche et implique des personnes vivant avec le VIH, des dignitaires religieux et bien d'autres personnalités physiques et morales.

Les statistiques prouvent que du chemin reste à faire, car 90,3 % des femmes ont déclaré avoir entendu parler du SIDA, mais jusqu'à 45 % d'entre elles ignorent qu'il y a un moyen de l'éviter.

Mais l'espoir d'une maîtrise de la pandémie est permis, car avec l'engagement politique des plus hautes autorités et avec l'accélération de la sensibilisation par le PNLIS et le CESAC et de la prise de conscience grandissante des populations, notre pays aura le dernier mot (26, 55).

III. 2. Rappels sur les protéines

2. 1. Définition

Les protéines sont des grosses moléculaires non dialysables de poids moléculaire supérieure à 10000 daltons constituées par un enchaînement d'acides aminés dans un ordre spécifique qui est différent d'une protéine à une autre. Elles se caractérisent par leurs très grandes diversités fonctionnelles et leurs très hautes spécificités. Ce sont les constituants les plus abondants du plasma et du sérum, et occupent la première place dans la matière vivante sur le plan pondéral.

Elles sont surtout des glycoprotéines sauf l'albumine, la bêta 2 microglobuline, la protéine C réactive (CRP) (15).

2. 2. Rôles des protéines

Ces protéines assurent les rôles suivants :

- Le maintien de la pression osmotique (pression oncotique)
- Le transport
- Inhibition de la protéase
- La défense immunologique
- La coagulation
- Enzymatique (23, 18)

2. 3. Origine des protéines

Les protéines alimentaires sont successivement dégradées en polypeptides, puis en acides aminés à partir desquels, l'organisme compose ses propres protides. Dans les carences nutritionnelles, l'organisme puise les éléments aminés qui lui sont nécessaires dans ses propres réserves, constituées principalement par les muscles. Toutes les protéines, qu'elles proviennent de l'alimentation ou des réserves de l'organisme, subissent obligatoirement une série de dégradation et ce n'est que secondairement que s'effectue la synthèse de celles qui sont spécifiques du milieu sanguin.

2. 4. Valeurs physiologiques de référence des protéines

Chez l'adulte la valeur est de 72 ± 4 g /l dans le sérum

75 ± 4 g/l dans le plasma

Chez le nouveau-né la valeur est de 50g/l

2. 5. Variations pathologiques

Nous pouvons citer

- Des hypoprotéinémies : elles sont dues à un défaut d'apport (dénutrition, kwashiorkor), défaut de synthèse (insuffisance hépatique), fuite urinaire (néphrose lipidique).
- Des hyperprotéinémies dues à une augmentation des immunoglobulines et l'hémoconcentration par perte d'eau (état de déshydratation).

2. 6. Méthodes de dosage de la protéinémie totale

C'est la mesure de l'ensemble des protéines sériques. Plusieurs méthodes existent :

2. 6. 1. Réaction de Biuret

6. 1. 1. Principe

En milieu alcalin, les ions cuivriques donnent avec les liaisons peptidiques un complexe de coloration violet-pourpre. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des protéines. Cette coloration est mesurée par spectrophotométrie en lumière visible. C'est une méthode simple, rapide et fiable mais peu sensible.

2. 7. Fractionnement des protéines sériques

2. 7. 1. Méthodes électrophorétiques

Elles se fondent sur la charge électrique des protéines en solution et sur leur mobilité. Les protéines, substances amphotères, possèdent à la fois des charges positives et négatives et selon le pH de la solution, elles se comportent comme possédant soit plus de charges positives, soit plus de charges négatives. La migration des protéines sous l'influence du champ électrique sera donc fonction du pH.

2. 7. 2. Méthode d'immunodiffusion

➤ Méthode de Oudin ou d'immunodiffusion simple

On incorpore l'anticorps à la gélose dans un tube; à la surface on dépose l'antigène, celui-ci diffuse.

Le contact antigène-anticorps s'effectue et une ligne de précipitation s'établit. C'est la première méthode immunologique en milieu solide.

➤ Méthode d'Ouchterlony ou de double diffusion

On utilise un bloc de gélose dans lequel on perce trois godets. Dans l'un on place une préparation contenant un antisérum et dans les deux autres on place deux antigènes. Les molécules diffusent dans la gélose en fonction de leur taille et forment des lignes de précipitation pour chaque système antigène-anticorps correspondant à leur zone d'équivalence respective c'est à dire à la formation d'un réseau Ag-Ac.

➤ Méthode d'immunodiffusion radiale ou de Mancini

Elle sert à l'estimation quantitative d'un antigène. Elle fait appel à une immunoprécipitation en gel d'agarose entre l'antigène et un anticorps connu.

2. 7. 3. Méthodes d'immunoélectrophorèse

➤ Définition

L'immunoélectrophorèse, aussi appelée gammaglobuline électrophorèse ou immunoglobuline électrophorèse (46) est une méthode mettant en jeu une séparation électrophorétique des protéines dans un gel d'agarose suivie d'une double diffusion selon une direction perpendiculaire à l'axe de migration électrophorétique contre un antisérum. Chaque zone d'équivalence correspondant à un précipité Ag-Ac se traduit par un arc de précipitation. On peut utiliser des antisérums globaux reconnaissant toutes les protéines majeures du sérum ou des antisérums spécifiques (18).

➤ **Principe**

Les protéines sériques sont fractionnées par électrophorèse en gel d'agarose, puis un antisérum est déposé dans une rigole parallèle à l'axe de migration. Les protéines diffusent dans le gel à partir de leur zone de migration, les anticorps à partir de la rigole. Des lignes de précipitations se forment au niveau des zones d'équivalences. Selon sa migration, sa concentration et sa diffusion dans la gélose, et selon la spécificité de l'antisérum utilisé chaque protéine donne lieu à un arc de précipitation dont la forme et la position sont caractéristique.

➤ **Intérêt**

L'immunoélectrophorèse est une méthode permettant d'étudier toutes les protéines, une catégorie de protéines ou une protéine particulière, si on utilise respectivement un antisérum, un anticorps spécifique d'un mélange de protéines ou d'une protéine. Elle est surtout utilisée pour les immunoglobulines. Elle est utilisée dans le diagnostic des myélomes multiples et dans le diagnostic de beaucoup de maladies du système immunitaire et dans l'évolution des réponses thérapeutiques (40).

Les différentes méthodes utilisées sont :

➤ **Méthode de Williams et Grabar**

C'est une combinaison de l'électrophorèse en gélose ou en agarose, avec une réaction de précipitation spécifique antigène-anticorps: on réalise d'abord une électrophorèse en milieu gélifié à pH 8,2 sur une plaque recouverte d'un gel d'agarose, puis on dépose dans une gouttière centrale un immuno sérum antiprotéine humaine et on laisse diffuser. On observe alors des arcs de précipitations, très nets, correspondant chacun à une fraction protéique particulière.

La migration électrophorétique sépare particulièrement les protéines. Le sérum de cheval antiprotéiques humains mis dans la gouttière contient des anticorps spécifiques; ceux ci mis au contact du même antigène ayant migré par électrophorèse dans le gel, donnent après diffusion un arc local.

➤ **Méthode de Laurel**

On dépose différentes dilutions de protéines antigéniques dans des puits creusés dans un gel d'acrylamide agarose contenant l'antisérum. Le courant électrique est appliqué perpendiculairement à la ligne des godets. Les précipités triangulaires sont proportionnels à la quantité d'antigène.

2. 8. Le protidogramme

2. 8. 1. Technique électrophorétique

Les techniques de fractionnement des protéines sériques sont multiples : elles sont toutes basées sur les caractères physico-chimiques des protéines, mais chaque méthode met en œuvre une propriété particulière. C'est ainsi que l'électrophorèse de zone est étudiée, dans des conditions bien définies de pH, de pouvoir tampon et force ionique: la migration des protéines dans un champ électrique.

L'électrophorèse des protéines sériques effectue un tri entre ces constituants qu'elle groupe en cinq fractions. Il est évident que chaque fraction n'est nécessairement pas pure du point de vue chimique. La méthode employée nous donne une estimation relativement grossière de la composition protéique d'un Antisérum. Elle est cependant suffisante pour nous permettre d'observer et d'interpréter les modifications physiologiques et pathologiques.

En déposant un échantillon de sérum sur un gel soumis à un champ électrique, les protéines vont migrer: vers l'anode si elles sont chargées négativement, vers la cathode si elles sont chargées positivement. Cependant les protéines vont migrer différemment suivant leur taille et leur charge: plus une protéine est grosse, plus elle va avoir du mal à se faufiler à travers les mailles du gel. De même plus une protéine est chargée plus elle va migrer rapidement. On peut ainsi séparer les différentes protéines contenues dans un sérum. On obtient un tracé électrophorétique sur lequel apparaissent plusieurs bandes après coloration. Ces bandes correspondent aux différentes fractions protéiques. On fait lire le tracé à une machine qui le convertit en une courbe et il est ainsi plus facile de visualiser la quantité et la proportion de telle ou telle protéine.

Après migration dans un champ électrique, les protéines sériques se distribuent en cinq fractions: l'albumine, les globulines alpha1, alpha 2, les bêta globulines et les gammaglobulines.

2. 9. Variation pathologique du Protidogramme

Le diagramme électrophorétique peut être caractéristique d'un syndrome bien spécifique. En cas de maladie, certaines fractions augmentent, d'autres diminuent, ce qui donne un Protidogramme caractéristique. Parmi ces variations pathologiques on peut citer les hyperprotéinémies, les hypoprotéinémies et les protéinémies peu modifiées.

2. 9. 1. Les hyperprotéinémies

➤ Hypergammaglobulinémie polyclonale

Elle correspond à une augmentation de toutes les classes d'immunoglobulines suite à une réponse immunitaire. L'albumine, l'alpha1, l'alpha2, les bêta globulines restent normales. Elle a pour étiologie les maladies auto-immunes, maladies infectieuses d'origine bactérienne, fongique virale ou parasitaire, les maladies allergiques.

➤ Hypergammaglobulinémie monoclonale

Elle correspond à la synthèse par une clone de cellules d'un seul type d'immunoglobuline. L'albumine, l'alpha1, l'alpha2, et les bêta globulines restent normales. Elle est observée dans le cas de myélome multiple des os ou maladie de Kahler, maladie de Waldenström.

2. 9. 2. Hypoprotéinémie

➤ Syndrome de malnutrition ou d'insuffisance hépatique

Ce syndrome est caractérisé par une diminution du taux de l'albumine, des alpha globulines et des bêta globulines. L'hypoprotéinémie est rencontrée dans les cas de kwashiorkor, dénutrition, insuffisance hépatique.

➤ **Syndrome néphrotique chronique**

Ce syndrome est caractérisé par une diminution des taux d'albumine, d'alpha 1 et de gammaglobulines. L'alpha2 et les bêta globulines sont par contre élevées.

➤ **Hypogammaglobulinémie**

L'albumine, l'alpha1, l'alpha2, les bêta globulines sont normales ; par contre les gammaglobulines sont diminués. On la rencontre dans les cas de déficit immunitaire (agammaglobulinémie héréditaire).

2.9.3. Protéïnémie peu modifiées

➤ **Syndrome inflammatoire aiguë**

L'albumine, les bêta et les gammaglobulines globulines sont normales. L'alpha1 et l'alpha2 globuline sont augmentées. Les alpha1 et alpha2 appartiennent à la phase aiguë de l'inflammation.

➤ **Syndrome inflammatoire chronique**

L'albumine diminue, l'alpha1 et l'alpha2 et les gamma globuline augmentent, par contre les bêta globulines sont normales. Ce syndrome est surtout provoqué par des maladies infectieuses chroniques, allergiques, malignes.

➤ **Syndrome Cirrhotique décompensé**

Les taux de l'albumine, des alpha1, et alpha2 globulines diminuent. Les gamma et les bêta globulines sont augmentés et soudés. Cette soudure qui est caractéristique des cirrhoses provient de la synthèse d'une IgA qui à l'électrophorèse se place entre les fractions gamma bêta globulines.

Tableau II : Les variations du protidogramme dans différentes pathologies humaines (40).

| Maladies | Albumine | Alpha1 | Alpha2 | Bêta | Gamma |
|---|----------|--------|--------|------|-------|
| Allergie | N | N | N | N | + |
| Artherosclerose | N | N | + | ++ | N |
| Brûlures 3 ^{ème} degré | -- | N | ++ | N | ++ |
| Cancer | -- | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Choc opératoire | - | + | + | N | + |
| Cirrhose avec ascite | -- | - | - | ++ | +++ |
| Endocardite bactérienne | N | N | N | N | ++ |
| Endocardite rhumatismale | N | N | ++ | N | N |
| Hépatites infectieuses | - | N | + | N | ++ |
| Hypertension maligne | - | N | + | ++ | + |
| Ictères hémolytiques | N | N | - | - | + |
| Ictères par hépatite | - | N | N | + | + |
| Ictères par rétention | - | N | + | + | N |
| Infarctus du myocarde (2 ^{ème} et 4 ^{ème} jour) | N | N | +++ | ++ | + |
| Kala-Azar | - | N | N | N | ++++ |
| Leucémies aiguës | - | N | N | N | + |
| Leucémies Myéloïdes Chroniques | N | N | N | N | + |
| Lupus érythémateux | - | N | + | - | ++ |
| Mononucléose infectieuse | - | N | + | + | ++ |
| Myxoedème | N | N | N | ++ | + |
| Néphrite plus néphrose | - | N | ++ | + | + |
| Paludisme | N | N | N | N | + |
| Pneumonie aiguë | N | N | ++ | N | + |
| Polyarthrite chronique évolutive | -- | + | + | + | +++ |
| Rhumatisme articulaire aigu | - | + | +++ | N | + |
| Syphilis | N | N | + | N | ++ |
| Thromboses veineuses | N | N | N | N | ++ |
| Toxicoses | - | N | + | N | N |
| Tuberculose aiguë | - | + | +++ | - | + |
| Tuberculose fibreuse | N | N | + | + | ++ |

N= normal

Les signes « - » sont d'autant plus nombreux que la diminution est accentuée.

Les signes «+» sont d'autant plus nombreux que l'augmentation est marquée.

2. 10. Etude sémiologique du protidogramme

L'étude sémiologique des protéines sériques permet de distribuer les protéines en cinq fractions (23).

2. 10. 1. Albumine

C'est une grosse molécule de poids moléculaire 67000 daltons formé d'une seule chaîne polypeptidique repliée sur elle même pour former des boucles qui sont maintenues par des ponts de sulfures. Sa structure varie en fonction des substances qu'elle fixe. L'albumine est dépourvue de glucide. Elle est synthétisée par le foie sous forme d'un précurseur à longue chaîne polypeptidique appelé pré albumine.

Le catabolisme se fait dans la plupart des tissus en particulier les tissus qui sont les sièges d'une inflammation. Sa demi vie est de 20 jours. Le rôle de l'albumine est (36) :

- Le maintien de la pression osmotique: l'albumine intervient pour plus de $\frac{3}{4}$ dans la pression oncotique du plasma.
- Le transport non spécifique: le transport se fait sur des sites de fixations, le nombre de sites est limité d'où l'existence d'une compétition pour ces sites.

On peut citer entre autre comme substances transportées: les acides gras libres, la bilirubine non conjuguée, les hormones (10% de la thyroxine), les métaux (cuivre, et calcium), les médicaments. Le taux normal est de 60 à 65 % . On peut observer une augmentation relative de ce taux par rapport à la diminution des globulines :

- Il existe des cas de bisalbuminemies, le plus souvent congénitale, héréditaire, parfois acquise et bien tolérée.
- Il existe des cas d'analbuminémies, (absence totale de l'albumine) est compatible avec la vie, mais le sujet présentera des œdèmes chroniques; c'est le taux de globulines qui va compenser en parti l'absence d'albumine.

2. 10. 2. Les alphas globulines

❖ Les alpha 1 globulines

Les alpha 1 globulines sont :

- **Les prés albumines** : elles comprennent des molécules comme:

- La thyroxine binding globulin» pour le transport de la thyroxine;
- La «retinol binding protein» pour le transport de la vitamine A ;
- La transcortine pour le transport du cortisol ;

Ces trois composés forment un complexe appelé alpha1 globuline de transport.

➤ **Alpha foetoprotéine**

Fabriqué par les cellules hépatiques pendant la vie fœtale et par certaines cellules cancéreuses (tumeur hépatique ou digestive). L'alpha foetoprotéine est un marqueur de carcinomes hépatocellulaires. Le taux normal est situé entre $4,5 \pm 2,5 \mu\text{g/l}$ avec des taux de $15\mu\text{g/l}$ on peut soupçonner un cancer hépatique.

➤ **Glucoprotéine alpha acide ou orosomucoïde**

Elle est synthétisée par les hépatocytes; très riche en glucide 41 %. Son acidité est due à la présence de l'acide cyanique. Elle a un rôle antithrombotique et antiprotéase.

➤ **Alpha 1 protéase**

Synthétisée par le foie, elle inhibe les protéases et de façon irréversible. Sa valeur normale est de 2 à 4 g / l.

➤ **Alpha 1 antitrypsine**

C'est la principale alpha 1 globuline du sérum et représente 20 % de cette activité.

❖ **Alpha 2 globulines**

➤ **Haptoglobuline**

Synthétisée par le foie, c'est une protéine qui fixe l'hémoglobine. Son dosage permet de suivre l'évolution d'un processus inflammatoire et dans les syndromes infectieux.

➤ **La céruloplasmine**

Synthétisée par le foie, c'est une glycoprotéine de couleur bleu, et cette couleur est due à la présence du cuivre. Son rôle est d'accroître le taux de fer par sa protéine de réserve (apoferritine). Les valeurs normales sont comprises entre 270-500mg /l.

➤ **Alpha 2 macroglobulines**

Synthétisée par le foie et les macrophages, elle a une action inhibitrice des protéases, des collagénoses bactériennes de même que les fibrinolyse.

Les valeurs normales comprises entre 2,2 à 3,8 g / l sont augmentées en cas d'inflammation aiguë, d'hépatite, d'acromégalie et diminuées en cas d'insuffisance hépatique.

2. 10. 3. Les bêtas globulines

➤ **L a transferrine ou sidérophiline**

C'est une glycoprotéine renfermant 6 % de glucides, ayant un rôle de transport de fer. La valeur normale comprise entre 2- 4,5g / l.

➤ **Hemopexine**

Elle est synthétisée par le foie et dosée dans le sérum par immunodiffusion radiale. Son rôle est de fixer l'hème quand celui-ci est séparé de la globine. Le taux normal est compris entre 0,8 et 1g / l.

➤ **Protéine C réactive CRP**

Synthétisée par le foie, elle précipite quand elle est en contact avec le polysaccharide C du pneumocoque d'où son nom. C'est la première protéine de l'inflammation aiguë parce que son taux augmente dans les deux heures qui suivent l'inflammation. Le taux normal est compris entre 0 et 12 g / l.

➤ **Fibrinogène**

Protéine destinée à assurer la polymérisation ou la formation d'un caillot au cours de la coagulation (hémostase). C'est une protéine de la phase aiguë du syndrome inflammatoire. On peut la doser par IDR. Sa valeur usuelle est de 2,5 – 3,5 g / l.

➤ **Bêta 2 microglobuline**

C'est une protéine retrouvée non seulement dans le sérum mais également dans tous les liquides biologiques (urine, LCR, salive, colostrum).

Synthétisée par toutes les cellules nucléées, son taux normal est compris entre 0,8 et 2,4 $\mu\text{g}/\text{m l}$.

2. 10. 4. Les immunoglobulines

➤ Définition

Une immunoglobuline ou un anticorps est une protéine complexe utilisée par le système immunitaire pour détecter et neutraliser les agents pathogènes comme les bactéries et les virus (38).

➤ Origine des immunoglobulines

Les immunoglobulines sont produites par les lymphocytes B et les plasmocytes. Chaque lymphocyte B issu de la moelle osseuse produit un anticorps de spécificité particulière, de sorte que les millions de lymphocytes B originaires de la moelle osseuse produisent des millions d'anticorps différents susceptibles de réagir avec la multitude des antigènes potentiels (38, 13).

Ces immunoglobulines représentent un constituant important des protéines sériques et apparaissent en électrophorèse des protéines en migrant dans les zones dite bêta et gamma. Cette migration dépend de la masse moléculaire et de la charge électrique des immunoglobulines.

➤ Structure de base des immunoglobulines

Le clivage des immunoglobulines par les enzymes protéolytiques (pepsine et papaine en particulier) ou par des substances réductrices qui rompent les ponts disulfures (composés sulfudriles telles que la mercapto-ethanol ou la cystéine) ont permis de fixer un schéma de la structure des molécules d'immunoglobulines.

Dans le premier cas (clivage enzymatique) la molécule est scindée en fragment: deux fragments Fab (fragment antigène binding) composé d'une chaîne légère et de la moitié amino-terminale (Fd) d'une chaîne lourde, reliée par un pont disulfure et qui ont une activité d'anticorps univalents. Le site anticorps est situé sur l'extrémité de fragment Fab et un fragment Fc (fragment cristallisable ou fragment fixant le complément) composé des moitiés carboxy-terminales des deux chaînes lourdes

également maintenues ensemble par un ou plusieurs ponts disulfures. Ils sont sans activité anticorps.

Dans le second cas (clivage réducteur) la molécule est scindée en plusieurs chaînes polypeptidiques.

Les immunoglobulines sont formées de quatre chaînes polypeptidiques :

- ✓ Deux chaînes lourdes (H pour heavy) identiques deux à deux comportent le déterminant antigénique caractéristique de la classe d'immunoglobuline. On les désigne par les lettres grecques correspondantes: gamma (γ), alpha (α), mu (μ), delta (δ). Leur poids moléculaire est de 53 000 daltons.
- ✓ Deux chaînes légères du type (L pour light ou K) identiques deux à deux. Leur poids moléculaire est de 22 000 daltons (6, 19).

➤ **Différentes classes des immunoglobulines**

Les immunoglobulines sont divisées en classes ou isotypes, selon la structure des domaines constants des chaînes lourdes: les chaînes γ , α , μ , ϵ , et δ correspondent respectivement aux immunoglobulines IgG, IgA, IgM, IgE, IgD (38, 40, 19).

✓ **Immunoglobuline G (IgG)**

Ce sont les mieux connues et les plus importantes sur le plan quantitatif. Sa valeur moyenne est de 12 g / l chez l'adulte. Son poids moléculaire est de 150000 daltons. Sa demi vie est de 21 jours. Sa constante de sédimentation est de 7 S. Elle est pauvre en glucide 3 %. Elle se subdivise en sous classe IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. Elle fixe le complément et c'est la seule immunoglobuline capable de traverser le placenta (19).

✓ **Immunoglobuline M (IgM)**

Le taux normal dans le sang est de 0,5 à 2 g / l. Sa demi vie est de 4-5 jours. Son poids moléculaire est de 900.000 daltons. Sa constante de sédimentation est 19 S. Sa teneur en glucide est 12 %. Elle fixe le complément. Leur apparition correspond à la phase la plus précoce de la réponse immunitaire.

✓ **Immunoglobuline A (IgA)**

Son taux chez l'adulte est de 1 – 4 g / l. Son poids moléculaire est de 160.000 daltons pour IgA sérique et 500000 daltons pour IgA sécrétoire. Leur constante de sédimentation est de 7 S pour IgA sérique, et 11S pour IgA sécrétoire.

Elle ne fixe pas le complément; sa teneur en glucide est 8 %.

✓ **Immunoglobuline D (IgD)**

Son taux est 30 - 400mg / l. Sa demi vie est de 2 à 8 jours. Sa teneur en sucre est 12 %.

Son poids moléculaire est de 170.000 daltons. Sa constante de sédimentation est 7 S.

Elle ne fixe pas le complément (18).

✓ **Immunoglobuline E (IgE)**

Elle ne fixe pas le complément, leur taux normal est de 0,15 à 0,50 mg/l. Les immunoglobulines IgE jouent un rôle dans la protection contre les parasites. Sa constante de sédimentation est 8 S et sa teneur en glucide est 11 %.

Tableau V : Propriétés des différents isotypes d'immunoglobulines (38).

| | IgG | IgA | IgM | IgE | IgD |
|--------------|--|--|---|---|-------------------------------|
| Localisation | Sang | Muqueuses Sécrétions | Lymphocytes B sang | Basophiles mastocytes | Lymphocytes B |
| Proportion | 70 % à 75 % | 15 % à 20 % des anticorps sériques | 10 % | Moins de 1 % | Moins de 1 % |
| Valence | 2 | 2 à 4 | 2 à 10 | 2 | 2 |
| Fonction | Neutralisation des toxines bactéries et virus | Agglutination neutralisation des bactéries et virus | Agglutination voie activation classique du complément | Allergies neutralisation de parasites | Activation du lymphocyte B |

➤ Pathologies des immunoglobulines

Parmi les immunoglobulinopathies on distingue :

Les hyp-immunoglobulinopathies ou déficits immunitaires,

Les hyper-immunoglobulinopathies de type monoclonale,

Les hyper-immunoglobulinopathies de type polyclonale.

❖ Les hyp-immunoglobulinopathies

a) Déficits immunitaires primitifs

Nous avons :

- ◆ La maladie de Bruton ou déficit de l'immunité humorale des lymphocytes B : C'est une affection congénitale à transmission récessive liée au sexe (observée chez les

garçons) se traduisant essentiellement par l'absence ou la forte diminution des immunoglobulines sériques et l'absence de lymphocytes B.

- ◆ Maladie de Suisse ou déficit de l'immunité cellulaire. A l'immunoélectrophorèse on constate l'absence des IgM et IgA ou seulement des IgM.

b) Déficits immunitaires secondaires

- ◆ catabolisme exagéré des immunoglobulines

Ce phénomène s'observe dans les affections fiévreuses au cours de certaines maladies comme les syndromes néphrotiques, les enteropathies de l'enfant, mais également dans les carences protidiques sévères pendant les premières années de la vie.

- ◆ Déperdition périphérique

L'hypogammaglobulinémie peut s'observer au cours des dermatoses exfoliatrices généralisées, des brûlures étendues, des eczémas.

- ◆ Secondaire à des proliférations tumorales touchant les centres médullaires et lymphoïdes. Il peut s'agir de la leucémie lymphoïde chronique, du myélome ou, à côté d'une immunoglobuline monoclonale très abondante, les immunoglobulines physiologiques sont fortement déprimées (18).

❖ Hyperimmunoglobulinopathies de type monoclonale

C'est une anomalie caractérisée par la présence dans le sérum ou les urines d'un individu d'une très grande quantité d'un type d'immunoglobuline particulière, élaborée par un seul clone cellulaire (44, 43, 39).

- ◆ Myélomes multiples (maladie de Kähler) : l'immunoglobuline sérique concernée est le plus souvent l'immunoglobuline IgG ou IgA plus rarement IgD, IgM exceptionnellement IgE.
- ◆ La macroglobulinémie de Waldenström : cette prolifération lymphocytaire B se caractérise par une infiltration des organes lymphoïdes périphériques et de la moelle osseuse par une population lymphoplasmocytaire polymorphe sécrétant presque toujours une IgM monoclonale mais IgG et IgA sont possibles (44, 39).

- ◆ Leucémie lymphoïde chronique : c'est une leucémie caractérisée, en particulier par une hypertrophie des ganglions lymphatiques avec prolifération monoclonale de lymphocytes B (43, 18).

❖ **Hypergammaglobulinémie polyclonale**

C'est une anomalie caractérisée par la présence dans le sérum ou les urines d'un individu d'une très grande quantité de plusieurs types d'immunoglobulines. On la rencontre dans les cas suivants :

- ◆ Les infections parasitaires :
 - La trypanosomiase : l'augmentation des IgM dans la trypanosomiase est importante, elle est associée à une élévation des IgG, par contre le taux des IgA reste normal.
 - Le paludisme : il y a une augmentation du taux des immunoglobulines IgA, et IgM (2).
 - Leshmanioses : on note une élévation du taux des IgG et particulièrement dans la maladie de Kala-Azar.
 - Les cirrhoses : les IgA, IgG et IgM sont augmentés. En électrophorèse, on observe généralement une hypergammaglobulinémie par une soudure des fractions β et γ globulines.
- ◆ Les infections à virus : on la rencontre dans la mononucléose infectieuse, hépatites infectieuses et surtout dans les infections à VIH.
- ◆ L'hypergammaglobulinémie est remarquée dans les maladies du collagène comme la polyarthrite chronique.

IV. MATERIELS ET METHODES

IV. 1. Lieu d'étude

L'étude s'est déroulée au Centre National de Transfusion sanguine (CNTS) de Bamako, structure nationale de référence en matière de transfusion sanguine.

1. 1. Situation géographique du CNTS

Le CNTS est situé en commune II dans le quartier de Quinzambougou au centre ville de Bamako. L'accès aux donneurs se trouve ainsi facilité. Egalement, il est proche des hôpitaux nationaux et autres centres utilisateurs de sang.

1. 2. Création et mission du CNTS

Le CNTS a été créé par l'ordonnance N°00041/ P- RM du 20 Septembre 2000.

Bien avant cette date, il existait déjà en Août 1960 la Banque de Sang de l'Hôpital du Point G, puis le 16 Décembre 1964 nous assistons à l'inauguration de la Banque Nationale de Sang et enfin le 5 Janvier 1990 par ordonnance N°90 – 38 / P – RM à la création du Centre National de Transfusion sanguine.

Le CNTS a pour mission de collecter, analyser, préparer, conditionner et conserver le sang humain et ses dérivés en vue de leur distribution aux établissements publics et privés agréés ainsi qu'aux particuliers.

A ce titre, il est chargé de :

- Sensibiliser, recruter et fidéliser les donneurs ;
- Effectuer des analyses biomédicales et des expertises médico-légales ;
- Réaliser des études et des recherches dans le domaine de sa compétence ;
- Participer à la formation universitaire des étudiants et stagiaires, ainsi qu'à la formation continue des cadres.

1. 3. Les locaux

Le bâtiment est composé des bureaux du Directeur, du responsable des laboratoires, du responsable de l'assurance qualité, du gestionnaire, de la comptable, du surveillant et de quatre laboratoires (groupage, sérologie, hématologie biochimie préparations des produits sanguins); d'une chambre froide, d'une salle de consultation et de prélèvement.

Les bureaux administratifs, les laboratoires, la salle de consultation et de prélèvement occupent chacun un bloc ce qui compartimente le bâtiment en deux ensembles; administratif et laboratoire.

Le centre dispose d'une salle de restauration, d'un incinérateur de déchets, d'un groupe électrogène et d'un logement pour le gardien.

1. 4. Organisation et fonctionnement du CNTS

Le CNTS est animé par un personnel constitué essentiellement :

- D'un directeur, spécialiste en immuno-hématologie, et en transfusion sanguine, chargé de la coordination de toutes les activités du centre ;
- Trois pharmaciens dont un est, immunologiste et responsable du Laboratoire de validation biologique des dons de sang ;
- De quatre médecins, l'un est adjoint au directeur et les autres, responsables de la collecte de sang ;
- De trois techniciens supérieures de santé, cinq techniciens de santé, affectés aux analyses biologiques.
- De deux gestionnaires, d'un comptable et de trois secrétaires de direction ;
- D'une cuisinière;
- D'un manœuvre et deux gardiens;

IV. 2. Type et période d'étude

C'est une étude prospective qui s'est déroulée au Centre National de Transfusion Sanguine de Bamako, de Janvier à Décembre 2004.

IV. 3. Population d'étude

Notre étude a porté sur trois groupes d'individus

- Le premier groupe est composé de donateurs de sang au CNTS ayant une sérologie HIV négative (VIH-)
- Le deuxième groupe est composé de donateurs de sang au CNTS ayant une sérologie HIV positive (VIH+).

- Le troisième groupe est composé de patients ayant une sérologie HIV positive (VIH+).

IV. 4. Echantillonnage

Nous avons effectué un échantillonnage de type aléatoire. L'échantillon a été constitué à partir d'une part de tous les patients infectés par le VIH, venus au CNTS pour des analyses biomédicales et d'autre part de l'ensemble des donneurs de sang séropositifs auxquels ont été associés en nombre égal des donneurs séronégatifs.

Pour notre étude nous avons pu inclure 220 individus dont 110 séropositifs (patients et donneurs de sang) et 110 séronégatifs (tous des donneurs de sang)

4. 1. Critères d'inclusion

- Etre donneur de sang au CNTS pendant la période d'étude.
- Etre âgé de 18 à 60 ans.
- Avoir plus de 55 kg de poids.
- Etre une femme qui n'est pas en période de règle, ni d'allaitement ni enceinte.
- Etre un patient venant pour le dépistage et ayant une sérologie positive vis à vis du VIH.
- Etre un patient positif au VIH venant pour le bilan de suivi de traitement.
- Accepter de participer à l'étude.

4. 2. Critères de non inclusion

Ont été exclus de cette étude

- Les donneurs de sang ayant fait leur don en dehors de la période d'étude.
- Les patients venus au CNTS pour examen biologique et ayant une sérologie VIH négative.
- Les patients déclarés séropositifs en dehors de la période d'étude.
- Les donneurs et les patients ayant une sérologie positive à l'hépatite (B ou C) et la syphilis.
- Refuser de participer à l'étude.

IV.5. Aspects éthiques

Pendant les collectes, nous avons pris le soins d'expliquer à chaque personne les objectifs de notre étude. L'adhésion était libre et volontaire après l'entretien. Les prélèvements ont été effectués avec du matériel stérile. La confidentialité des résultats des différentes analyses effectuées était garantie.

IV.6. Les techniques utilisées

6. 1. Collecte et analyse des données

Les informations sur le sujet participant à l'étude ont été recensées sur une fiche d'enquête (voir annexe). L'analyse a été faite sur EPI INFO version 6.0 fr. Le test statistique utilisé a été le test χ^2 . La valeur de P significative a été retenue pour $P < 0,05$. Les données recueillies ont été saisies sur Word 98 et Excel.

6. 2. Techniques de dépistage

Les techniques utilisées au cours de notre étude ont été les suivantes :

6. 2. 1. Genscreen version 2

Le Genscreen version 2 est utilisé au CNTS chez les donneurs de sang à cause de sa grande sensibilité qui est nécessaire en transfusion sanguine. Il s'agit d'un test ELISA des laboratoires Bio-Rad.

➤ Principe

Genscreen HIV1/2 version 2 est une technique immuno-enzymatique basée sur le principe du sandwich en deux étapes pour la détection des différents anticorps associés aux virus HIV1 et HIV2, dans le sérum ou le plasma humain. Genscreen HIV1/2 version 2 repose sur l'utilisation d'une phase solide préparée avec des antigènes purifiés (protéines recombinantes gp160 et p25 du virus HIV1 et peptide mimant l'épitope immunodominant de la glycoprotéine d'enveloppe du virus HIV2) et d'un conjugué préparé avec des antigènes marqués à la peroxydase (protéine recombinante nucléocapside et peptides mimant les épitopes immunodominants des glycoprotéines d'enveloppe des virus HIV1 et HIV2).

➤ **Matériels et réactifs**

Les réactifs et matériels utilisés sont :

- Du papier absorbant;
- Des gants ;
- Des éprouvettes graduées de 10ml, 200ml, 1000 ml ;
- Des pipettes de 50µl, 100µl, 200µl, et 1000 ml;
- Des agitateurs;
- Un laveur automatique de micro plaque ;
- Un incubateur sec de micro plaques ;
- Des conteneurs de déchets contaminés;
- Un spectrophotomètre (PR 2100).

➤ **Mode opératoire**

- ✓ Suivre strictement le protocole proposé.
- ✓ Utiliser les sérums de contrôle négatif, positif et le sérum seuil à chaque mise en œuvre du test pour valider la qualité du test.
- ✓ Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons.
- ✓ Préparer la solution de lavage diluée.
- ✓ Sortir le cadre support et les barrettes (R1) de l'emballage protecteur.
- ✓ Déposer directement, sans prélavage de la plaque, successivement:
 - 25µl de diluant dans chaque cupule.
 - 75µl de sérum de contrôle négatif (R3) en A1.
 - 75µl de contrôle seuil (R4) en B1, C1, et D1.
 - 75µl de sérum de contrôle positif (R5) en E1.
 - 75µl de sérum du premier échantillon en F1.
 - 75µl de sérum du deuxième échantillon en G1, etc ...
- ✓ Homogénéiser le mélange par trois aspirations au minimum avec la pipette de 75µl ou en agitant la microplaque après l'étape de pipétage.

- ✓ Couvrir d'un film autocollant en appuyant bien sur les bords pour assurer l'étanchéité.
- ✓ Incuber la microplaque dans un incubateur sec de microplaques pendant 30 ± 5 minutes à $37^\circ \pm 1^\circ \text{C}$.
- ✓ Retirer le film adhésif, laver la plaque à l'aide du laveur automatique de microplaques jusqu'à 5 fois.
- ✓ Distribuer 100µl de conjugué dans toutes les cupules. Le conjugué doit être agité avant emploi.
- ✓ Recouvrir d'un film autocollant neuf et incuber 30 ± 5 minutes à la température ambiante ($18 - 30^\circ \text{C}$).
- ✓ Retirer le film adhésif; laver 5 fois à l'aide du laveur automatique.
- ✓ Distribuer rapidement dans toutes les cupules 80µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique préalablement préparée.
- ✓ Laisser la réaction se développer à l'obscurité pendant $30 \pm$ minutes à la température ambiante. Lors de cette incubation, ne pas utiliser de film adhésif.
- ✓ Ajouter 100µl de la solution d'arrêt (R10) dans les cupules.
- ✓ Essuyer soigneusement le dessous des plaques. Lire la densité optique à 450-620 nm à l'aide d'un lecteur de plaques, dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

Calculs et interprétations des résultats

La présence ou l'absence des anticorps anti-VIH1 et/ou VIH2 est déterminée en comparant pour chaque échantillon l'absorbante enregistrée à celle de la valeur seuil calculée.

Calcul de la moyenne des absorbantes du sérum de contrôle seuil

$$\text{DOR4} = \frac{\text{DO (B1)} + \text{DO (C1)} + \text{DO (D1)}}{3}$$

$$\text{Valeur seuil : } \text{VS} = \frac{\text{DOR4}}{10}$$

Validation de l'essai

Le sérum de contrôle négatif doit être inférieur à 70% de la valeur seuil : DOR3 inférieure à 0,7 VS.

La moyenne des sérums de contrôle seuil doit être supérieure ou égale à 0,8 : DOR4 supérieure ou égale à 0,8.

Facultatif : le rapport DOR5/DOR4 doit être supérieur ou égale à 1,3.

Les échantillons dont les absorbances sont égales ou supérieures à la valeur seuil sont considérés initialement positifs d'après le test Genscreen HIV1/2 version 2.

Toutes fois, les résultats situés juste au-dessous de la valeur seuil ($VS-10\% < D0 < VS$) doivent être interprétés avec prudence et les échantillons correspondants doivent être retestés en double.

➤ Limites du test

De très faibles taux d'anticorps peuvent ne pas être détectés lors d'infection récente, en conséquence un résultat négatif signifie que l'échantillon contrôlé ne contient pas d'anticorps détectables par le test Genscreen. Un tel résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une infection VIH1/VIH2. La variabilité des virus VIH1 (groupe M, groupe O) et VIH2 ne permet pas d'exclure la possibilité de réactions faussement négatives. Aucune méthode connue pour l'instant ne peut offrir l'assurance que le virus est absent. Toute technique ELISA hautement sensible peut produire des réactions faussement positives. Afin de spécifier la réaction, tout échantillon trouvé positif reproductible doit être soumis à un test de confirmation.

6.2.2. IMMUNOCOMB II

Le test utilisé pour le typage est l'IMMUNOCOMBII® VIH1 et VIH2 Bis pot de PBS ORGENICS.

➤ **Principe**

La trousse IMMUNOCOMBII® VIH-1 et VIH-2 Bis pot est un test immuno-enzymatique indirect en phase solide (EIA). La phase solide est un peigne de 12 dents, chaque dent étant sensibilisée à sa surface de trois points ou spots de réaction:

- Spot supérieur, anticorps de chèvre anti-immunoglobulines humaines servant de contrôle interne;
- Spot médian, peptides synthétiques VIH2,
- Spot inférieur, peptides synthétiques VIH1,

Tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test sont prêts à l'emploi et pré distribués dans le bac de développement qui est divisé en 6 compartiments (A-F) de 12 puits chacun, chaque compartiment correspondant à un réactif et à une étape du test.

➤ **Matériel**

- Pipette de précision avec embout à usage unique pour la distribution de 50µl
- Ciseaux
- Chronomètre de laboratoire ou montre
- Papier absorbant

➤ **Mode opératoire**

Avant d'entamer la distribution des sérums il est important de:

- Equilibrer réactifs et échantillons à tester à la température ambiante et exécuter le test à la température ambiante.
- Distribuer 50µl de chaque échantillon et contrôle dans les puits du compartiment A du bac de développement et homogénéiser; jeter l'embout dans un conteneur de déchets contaminés.
- Insérer le peigne dans le compartiment A et procéder comme indiqué dans le tableau suivant:

Tableau VII : Résumé du mode opératoire

| Etape | Compartiment | Opération |
|-----------------------------|--------------|---|
| Réaction antigène-anticorps | A | Homogénéiser; incuber 10 minutes ; absorber |
| Lavage | B | Agiter; incuber 2 minutes; absorber |
| Conjugué | C | Homogénéiser; incuber 10 minutes absorber |
| Conjuguer | D | Agiter; incuber 2 minutes; absorber |
| Lavage | E | Agiter; incuber 2 minutes absorber |
| Révélation | F | Homogénéiser incuber 10 minutes |
| Réaction d'arrêt | E | Incuber 1 minute; sécher à l'air |

➤ **Résultats et validation**

Pour confirmer le bon fonctionnement du test et valider les résultats, les conditions suivantes doivent être remplies:

- le contrôle positif doit présenter trois spots sur la dent ;
- le contrôle négatif doit présenter uniquement le spot supérieur ou spot de contrôle interne ;
- tout échantillon testé doit présenter le spot de contrôle interne confirmant un dépôt correct de l'échantillon.

Si une de ces conditions n'est pas remplie, les résultats ne peuvent être validés.

Dans ce cas, échantillons et contrôle doivent être rétestés

Lecture des résultats : lorsqu'une dent affiche uniquement le spot supérieur de contrôle interne, l'échantillon correspondant n'est pas réactif pour les anticorps anti-VIH1 et anti-VIH2

Un spot médian circulaire et uniformément coloré, indique la présence d'anticorps anti-VIH2

Un spot inférieur, circulaire et uniformément coloré, indique la présence d'anticorps anti-VIH1

Certains échantillons contenant des concentrations élevées en anticorps anti-VIH1 ou anti-VIH2 peuvent occasionner des réactions croisées en affichant un spot secondaire faible associé à un spot principal plus intense correspondant à l'antigène homologue. Tout résultat indiquant la présence d'anticorps anti-VIH1 ou anti-VIH2 doit être confirmé par un test de confirmation.

6.2.3. NEW LAV BLOT (I ou II)

Le test de NEW LAV BLOT des laboratoires Bio-Rad a été utilisé comme test de confirmation.

➤ Principe du test

Le test repose sur le principe de l'ELISA indirect sur bandelette de nitrocellulose contenant toutes les protéines constitutives du virus HIV1 et un contrôle interne anti-IgG. La bande du contrôle interne est située du côté de l'extrémité non numérotée de la bandelette avant la réaction p18 et permet de valider l'addition de l'échantillon, des réactifs et le bon déroulement du protocole opératoire.

Les protéines du virus HIV1 inactivé sont séparées en fonction de leurs poids moléculaires par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en milieu dissociant et réducteur, puis électrotransférées sur membrane de nitrocellulose.

La mise en œuvre du test comprend les étapes suivantes:

- Réhydratation des bandelettes,
 - Incubation des échantillons à confirmer ou des sérums de contrôle,
- Si des anticorps anti-HIV1 sont présents, ils se lient aux protéines virales reconnues présentes sur la bandelette,
- Après lavage, on procède à l'incubation des anticorps anti IgG humaines marqués à la phosphatase alcaline. Le conjugué se lie aux anticorps anti-HIV1 retenus sur le support solide,
 - Après lavage et élimination du conjugué en excès, la solution de révélation permet de mettre en évidence l'activité enzymatique des complexes liés à la nitrocellulose.
- L'apparition de bandes colorées spécifiques permet de mettre en évidence la présence d'anticorps anti-HIV1 dans le sérum.

➤ **Matériels et réactifs**

- Eprouvettes graduées de 100ml, 250ml et 500ml
- Pipettes graduées de 2ml, 20 μ l
- Agitateur
- Gants à usage unique
- Hypochlorite de sodium (eau de Javel)
- Papier absorbant

➤ **Mode opératoire**

- Eliminer le couvercle transparent du rack utilisé.

S'assurer que la face des bandelettes comportant le trait de repère et la numérotation est visible, afin que les protéines virales présentes sur cette face soient recouvertes par les différents réactifs tout au long de la manipulation.

Les bandelettes doivent être manipulées précautionneusement à l'aide d'une pince en plastique.

- Ajouter 2ml de solution de lavage /diluant reconstituée dans chaque compartiment,
- Incuber 5 minutes sous agitation lente,
- Ajouter 20 μ l de chaque échantillon ou sérum de contrôle dans le compartiment correspondant.
- Incuber 2 heures à température ambiante sous agitation lente,
- Aspirer entièrement le contenu de chaque compartiment à l'aide d'une pipette de 1ml,
- Laver chaque bandelette avec 2ml de solution de lavage / diluant reconstituée et l'éliminer immédiatement par aspiration,
- Laver 2 fois pendant 5 minutes, sous agitation lente, chaque bande avec 2 ml de solution de lavage/diluant reconstituée (soit 3 lavages en tout). Eliminer la solution du dernier lavage,
- Distribuer 2ml de conjugué par compartiment, la solution de conjugué étant préalablement stabilisée à température ambiante,
- Incuber 1 heure à température ambiante, sous agitation lente,

- Laver comme précédemment,
- Distribuer 2ml de solution de révélation par compartiment,
- Incuber sous agitation lente et surveiller l'apparition de la coloration.

Toutes les bandes correspondant aux protéines virales doivent être visualisées avec le sérum de contrôle positif. (Temps de révélation : environ 5 minutes)

- Arrêter la réaction en éliminant la solution de révélation et en rinçant les bandelettes 3 fois à l'eau distillée,
- Sécher les bandelettes entre 2 feuilles de papier absorbant à température ambiante,
- Classer les bandelettes, les positionner parfaitement à l'aide du trait de repère et interpréter.

➤ **Validation et résultat**

La bande du contrôle interne anti-IgG doit être présente avec une coloration forte, elle permet de valider l'addition de l'échantillon, des réactifs et le bon déroulement du protocole opératoire. L'absence ou la faible intensité de coloration de la bande du contrôle interne anti-IgG traduit soit une absence de dépôt de l'échantillon ou de réactifs, soit un non-respect du protocole opératoire.

Les résultats:

La présence d'anticorps anti-protéines constitutives du virus HIV1 dans les échantillons contrôlés se traduit par l'apparition de bandes spécifiques colorées (bleu-violet). Leur position correspond aux masses moléculaires des protéines virales répertoriées dans le tableau suivant:

Tableau VIII : Les caractéristiques des différentes protéines du VIH

| Dénomination | Génome | Nature | Aspect en Western blot |
|--------------|--------|--|------------------------|
| Gp160 | ENV | Glycoprotéine précurseur de la Gp110/120 et de la Gp41 | Bande nette |
| Gp110/120 | ENV | Glycoprotéine d'enveloppe | Bande aux bords diffus |
| P68 | POL | Transcriptase inverse | Bande nette |
| P55 | GAG | Précurseur des protéines internes | Doublet |
| P52 | POL | Transcriptase inverse | Bande nette |
| Gp41 | ENV | Glycoprotéine transmembranaire | Bande diffuse |
| P40 | GAG | Précurseur des protéines internes | Bande nette |
| P34 | POL | Endonucléase | Bande nette |
| P24/25 | GAG | Protéine interne | Bande nette |
| P18 | GAG | Protéine | Parfois un doublet |

Interprétation

S'aider du contrôle positif pour identifier les anticorps révélés et vérifier la présence de la bande du contrôle interne sur chaque bandelette.

Tableau IX : Interprétation des résultats de Western-blot

| Interprétation | Profil |
|--------------------|--|
| Positif | 2 ENV ± GAG ± POL |
| Indéterminé | 1 ENV ± GAG ± POL GAG + POL GAG POL |
| Négatif | Aucune bande Bandes non répertoriées |

La rubrique «indéterminé » peut faire suspecter une des alternatives suivantes : séroconversion, HIV2 ou réaction croisée avec d'autres rétrovirus.

6.3. Réalisation du protidogramme

6.3.1. Dosage de la protéinémie totale

Nous avons utilisé la méthode colorimétrique dite de Biuret (sel de cuivre en milieu alcalin)

➤ Principe

Les ions cuivriques en milieu alcalin se combinent avec les chaînes polypeptidiques pour donner une coloration violette.

➤ Réactif et matériel

Nous avons réalisé cette méthode colorimétrique grâce à l'utilisation de **PROTEIN TOTAL liquicolor de Human.**

Les matériels utilisés sont :

- Gants
- Pipettes de 1ml et de 20 μ l
- Tubes secs
- Bain marie
- Portoir
- Marqueur
- Spectrophotomètre

➤ **Mode opératoire**

La solution de travail et l'étalon sont prêts à l'emploi.

Tableau X : mode opératoire de la protéinémie totale

| Tubes | Tube de blanc réactif | Tube d'étalonnage | Tube de dosage |
|---------------------|-----------------------|-------------------|----------------|
| Solution de travail | 1ml | 1ml | 1ml |
| Etalon | – | 20 μ l | – |
| Sérum (échantillon) | – | – | 20 μ l |

Mélanger, incuber 5 minutes au bain-marie et faire la lecture avec le programme 20 à l'aide d'un spectrophotomètre de longueur d'onde égale à 550nm. La stabilité de la réaction est de 30 minutes. La valeur normale dans le sérum est comprise entre 60-80g/l.

6.3.2. Electrophorèse des protéines sériques

➤ **Principe**

Le principe de l'Electrophorèse des protéines sériques est basé sur la séparation des protéines en tampon alcalin (pH 8,5) par un champ électrique sur un support solide. L'agarose a été choisie comme support, il donne une séparation des constituants sériques humains en cinq fractions majeures de mobilité différentes, à savoir : albumine, alpha1 globuline, alpha2 globuline, bêta globulines, et gammaglobulines.

Nous avons utilisé la technique HYDRAGEL PROTEIN (E) K20 .

Chaque gel d'agarose contenu dans le kit HYDRAGEL PROTEIN (E) K20 est prévu pour l'analyse de 7 échantillons.

➤ **Matériels**

- Générateur
- Cuve d'Electrophorèse
- Pipette de 10µl, 200µl, 1ml
- Bacs de fixation, de décoloration
- Applicateur hydragel K20 SEBIA, contenant le porte applicateur HYDRAGEL K20
- Densitomètre
- Incubateur-sécheur.
- Etuve

➤ **Réactifs**

Pour l'électrophorèse sur gel d'agarose des protéines sériques nous avons utilisé le **KIT HYDRAGEL Protein (E) K20** qui fournit tout le réactif nécessaire, à savoir:

- Gel d'agarose (prêts à l'emploi)
- Tampon tris-Barbital solution concentrée
- Colorant amidoschwarz solution concentrée
- Décolorant solution concentrée
- Applicateurs 7 dents prêts à l'emploi
- Papiers-filtres fins
- Autre nécessaire mais non fourni ; eau distillée

❖ **Mode opératoire**

- Préparation de la solution tampon

La cuve K20 est constituée de deux compartiments pouvant contenir chacun 150ml de solution tampon.

Ceux-ci étant 30ml de tris-barbital sont complétés à 300ml de l'eau distillée et partagés entre les deux compartiments de la cuve K20 de façon équitable.

➤ Migration

- Poser le porte-applicateur HYDRAGEL K20 à plat sur la paillasse et relever le chariot porte-applicateur.
- Déposer 120µl d'eau distillée ou déminéralisée sur le plateau du porte-applicateur dans le tiers inférieur du cadre sérigraphie.
- Sortir le gel de son emballage.
- Eliminer rapidement l'excès de liquide en surface, en effleurant le gel avec un papier-filtre fin.
- Placer le gel (face orientée vers le haut) sur le plateau du porte-applicateur contre la barrette, à l'intérieur du cadre sérigraphie.
- Donner une forme concave au gel et le dérouler sur le plateau jusqu'au contact de la goutte d'eau qui doit se répartir sur toute la largeur du gel.
- Relever légèrement le gel pour éliminer les bulles d'air éventuellement piégées, puis dérouler totalement le gel au contact du plateau. La goutte d'eau doit s'étaler sous toute la surface du film.
- Abaisser le chariot porte-applicateur jusqu'en position intermédiaire, la manette située sur le côté du porte –applicateur en position haute.
- Poser un applicateur à plat sur la paillasse, numérotation (puits) vers le haut.
- Déposer 10µl de sérum pur dans chaque puits. Le chargement de l'applicateur ne doit pas excéder 2minutes et doit être utilisé immédiatement après le chargement.
- Eliminer la protection des dents de l'applicateur.
- Placer l'applicateur en position n°5 sur le porte-applicateur.
- Abaisser le chariot porte-applicateur jusqu'en butée, à l'aide de la manette du porte-applicateur pour amener l'applicateur au contact du gel.
- Après 40 secondes d'application, tourner la manette du porte-applicateur pour relever l'applicateur et le jeter.

- Placer le gel dans la cuve d'électrophorèse, selon la polarité indiquée sur le gel, bas du gel coté cathodique. Le gel est plongé dans le tampon (face orientée vers le bas) sur une distance de 1cm de chaque côté.

- Brancher la cuve au générateur.

Les Conditions de migration sont les suivantes :

Tableau XI : Récapitulatif des conditions de migration du gel

| | |
|-----------------------------------|-----------|
| Volume de tampon par compartiment | 150ml |
| Volume total de tampon | 300ml |
| Temps de migration | 30minutes |
| Voltage constant | 90v |
| Ampérage de départ (par gel) | 12 ±3mA |

Après migration, débrancher la cuve et sortir le gel.

➤ **Fixation des protéines**

Nous avons adopté la fixation à la chaleur.

Sécher le gel sous air chaud à 80°C dans l'incubateur-sécheur jusqu'à séchage complet (pendant 10 minutes minimum).

➤ **Coloration et décoloration**

Immerger le gel sec et refroidi dans la solution colorante pendant quatre minutes.

Décolorer par trois bains successifs minimum de décolorant jusqu'à obtention d'un fond parfaitement clair. Le gel est ensuite séché dans une étuve.

❖ **Lecture –résultats**

La lecture est effectuée à l'aide d'un densitomètre à une longueur d'onde de 570nm permettant de définir les concentrations relatives (pourcentages) de chaque fraction.

Les valeurs normales pour chaque fraction dans la technique HYDRAGEL PROTEIN(E) K20, ont été établies à partir d'une population de 90 adultes (hommes et femmes), en bonne santé.

Tableau XII : Valeurs référentielles pour l'interprétation des résultats

| Fractions | Normes % des différentes fractions |
|--------------------|---|
| Albumines | 59,7 – 70,6 |
| Alpha 1 globulines | 1,4 – 2,7 |
| Alpha 2 globulines | 7,2 – 11,1 |
| Bêta 1 globulines | 6,0 – 9,3 |
| Bêta 2 globulines | 2,0 – 5,4 |
| Gamma globulines | 8,4 – 16,3 |

Interprétation des différentes valeurs

Les protides totaux ou protéinémie totale

Pour des valeurs inférieures à 60g /l = hypoprotidémie ;

Pour des valeurs comprises entre 60-80 g/l = protidémie normale ;

Pour des valeurs supérieures à 80g/l = hyperprotidémie.

Rapport albumine/globulines

Pour des valeurs inférieures à 1= bas

Pour des valeurs supérieures à 1= normale

Albumine %

Pour des valeurs inférieures à 59,7= hypoalbuminémie ;

Pour des valeurs comprises entre 59,7-70,6= normale ;

Pour des valeurs supérieures à 70,6 = hyperalbuminémie.

Alpha1 %

Valeurs inférieures à 1,4 = hypoalpha1 ;

Valeur comprise entre 1,4-2,7 = normale ;

Valeurs supérieures à 2,7= hyperalpha1.

Alpha2 %

Valeur inférieure à 7,2 = hypoalpha2 ;

Valeur comprise entre 7,2-11,1 = normale ;

Valeur supérieure à 11,1 = hyperalpha2.

Bêta1+ Bêta2 = Bêta %

Valeur inférieure à 8 = hypobêta ;

Valeur comprise entre 8-14,7 = normale ;

Valeur supérieure à 14,7 = hyperbêta.

Gammaglobulines %

Valeur inférieure à 8,4 = hypogamma ;

Valeur comprise entre 8,4-16,3 = normale ;

Valeur supérieure à 16,3 hypergamma

6. 4. Immunoélectrophorèse

❖ Principe

Les immunoglobulines monoclonales, marqueurs des gammopathies, sont détectées lors de l'électrophorèse des protéines.

Elle se présente sous forme de bandes anormales situées essentiellement dans les zones bêta ou gamma globulines.

L'immunofixation effectuée à l'aide d'antisérums monospécifiques permet l'identification des bandes monoclonales dépistées par électrophorèse.

Elle se réalise en quatre étapes:

- Séparation électrophorétique des protéines en gel d'agarose.
- Fixation et immunoprécipitation des protéines séparées par électrophorèse : application du fixateur et des antisérums sur le gel, au niveau des pistes de migration. Le fixateur et les antisérums diffusent dans le gel. Le fixateur

précipite toutes les protéines et les anticorps précipitent les antigènes correspondants.

- Elimination des protéines non précipitées par pompage et lavage. Les protéines précipitées restent piégées dans le gel.
- Coloration des protéines et comparaison de la position des bandes immunprécipitées avec celle des bandes anormales observées après électrophorèse des protéines.

Pour identifier de façon précise la nature de la bande monoclonale, l'échantillon est testé sur six pistes. Après électrophorèse, une piste (ELP) sert de référence grâce à la précipitation de toutes les protéines présentes; les cinq autres pistes permettent de caractériser la ou les bandes monoclonales à l'aide des anticorps spécifiques anti-chaines lourdes gamma (IgG), alpha (IgA) et mu (IgM) et anti-chaines légères kappa et lambda (libres et liées).

Cette technique simple et rapide donne une image claire et très facilement interprétable.

❖ Réactifs

Nous avons utilisé le réactif HYDRAGEL IF K20.

Chaque gel d'agarose contenu dans le kit HYDRAGEL IF K20 est prévu pour l'analyse d'un seul échantillon.

Le kit est composé de

- Gels d'agarose (prêt à l'emploi)
- Tampon tris Barbitol (solution concentrée)
- Colorant violet acide (solution concentrée)
- Décolorant (solution concentrée)
- Diluant prêt à l'emploi
- Fixateur prêt à l'emploi
- Immunoglobulines totales de mammifères anti-chaines lourdes gamma .
- Immunoglobulines totales de mammifères anti-chaîne lourdes alpha .
- Immunoglobulines totales de mammifères anti-chaines lourdes mu.

- Immunoglobulines totales de mammifères anti-chaines légères kappa (libres et liées)
- Immunoglobulines totales de mammifères anti-chaines légères lambda (libres et liées).
- Applicateurs six dents (prêt à l'emploi)
- Papiers filtres fins
- Peigne de papier-filtre
- Papiers-filtres épais

Réactif nécessaire mais non fourni eau distillée

❖ **Matériel**

Nous avons utilisé le même matériel que pour l'électrophorèse des protéines .

La technique a été effectuée sur les sérums à VIH positif.

❖ **Mode opératoire**

➤ Dépôt et migration

- Poser le porte applicateur HYDRAGEL K20 à plat sur la paillasse et relever le chariot porte-applicateur ;
- Déposer 120µl d'eau distillée ou déminéralisée sur le plateau du porte-applicateur dans le tiers inférieur du cadre sérigraphique ;
- Sortir le gel de son emballage ;
- Eliminer rapidement l'excès de liquide en surface, en effleurant le gel avec un papier-filtre fin ;
- Placer le gel (face orientée vers le haut) sur le plateau du porte-applicateur contre la barrette, à l'intérieur du cadre sérigraphie ;
- Donner une forme concave au gel et le dérouler sur le plateau jusqu'au contact de la goutte d'eau qui doit se répartir sur toute la largeur du gel ;
- Relever légèrement le gel pour éliminer les bulles d'air éventuellement piégées , puis dérouler totalement le gel au contact du plateau. La goutte d'eau doit s'étaler sous toute la surface du film ;

- Abaisser le chariot porte-applicateur jusqu'en position intermédiaire, la manette située sur le coté du porte-applicateur en position haute ;
- Poser un applicateur à plat sur la paillasse, numérotation (puits) vers le haut ;
- Déposer 10µl d'échantillon de sérum dilués dans chaque puits. Les échantillons de sérum doivent être dilués selon le tableau suivant :

Tableau XIII : Dilution du sérum pour l'immunofixation

| Piste | Sérum | Diluant |
|---|-------|---------|
| Piste immunologique G | 20µl | 100µl |
| Profil électrophorétique ELP et autres pistes | 30µl | 60µl |

- Eliminer la protection des dents de l'applicateur
- Placer l'applicateur en position n°6 sur le porte-applicateur.
- Abaisser le chariot porte-applicateur jusqu'en butée, à l'aide de la manette du porte-applicateur pour amener l'applicateur au contact du gel.
- Après 1 minute d'application, tourner la manette du porte-applicateur pour relever l'applicateur puis le jeter.
- Placer le gel dans la cuve d'électrophorèse, selon la polarité indiquée du gel .
- Positionner l'hydragel sur le portoir de la cuve K20. La face gel est orientée vers le bas, et le gel plongé dans le tampon sur une distance de 1cm de chaque coté.
- Brancher la cuve au générateur

Tableau XIV: Récapitulatif des conditions de migrations du gel

| Condition de migration | Sebia K20 |
|-----------------------------------|------------------|
| Volume de tampon par compartiment | 150 |
| Volume total de tampon | 300 |
| Temps de migration | 20 minutes |
| Voltage constant | 100V |
| Ampérage | 16 ± 3 mA |

- Après migration, débrancher la cuve et sortir le gel; le marqueur bleu doit se trouver à 5mm environ du bord anodique du cadre.

➤ **Immunofixation**

- Poser le porte-applicateur hydrogel K20 à plat sur la pailasse.
- Déposer 120µl d'eau distillée ou déminéralisée sur le plateau du porte-applicateur dans le tiers inférieur du cadre sérigraphie.
- Placer le gel face (orientée vers le haut) sur le plateau contre la barrette , à l'intérieur du cadre sérigraphié.
- Donner une forme concave au gel et le dérouler sur le plateau jusqu'au contact de la goutte d'eau qui doit se répartir sur toute la largeur du gel,
- Relever légèrement le gel pour éliminer les bulles d'air éventuellement piégées , puis dérouler totalement le gel au contact du plateau,
- La goutte d'eau doit s'étaler sous toute la surface du film,
- Mettre en place le masque 1IF de dépôt des réactifs sur le porte-applicateur comme suit:
 - Placer les encoches du masque sur les charnières du porte-applicateur en tenant le masque par la poignée,
 - Faire pivoter le masque pour l'appliquer sur le gel,

- S'assurer que les pistes du masque soient parfaitement centrées sur les empreintes, laissées par les dents de l'applicateur sur le gel,
- Déposer les réactifs en procédant comme suit :

Tableau XV: Les différentes immuns sérum pour l'immunofixation

| Piste | Volume (µl) | Désignation | Couleur |
|-------|-------------|---------------------------------------|------------|
| ELP | 40 | Solution de fixation | Jaune |
| G | 25 | Antisérum anti-chaînes lourdes gamma | Rose |
| A | 25 | Antisérum anti-chaînes lourdes alpha | Bleu foncé |
| M | 25 | Antisérum anti-chaînes lourdes mu | Jaune-vert |
| K | 25 | Antisérum anti-chaînes légères kappa | Vert-clair |
| L | 25 | Antisérum anti-chaînes légères lambda | Bleu-clair |

➤ **Elimination des réactifs**

- Eliminer les réactifs à l'aide d'un peigne de papier filtre,
- Le temps d'élimination des réactifs ne doit pas dépasser 30 secondes,
- Introduire le peigne dans la fente pratiquée dans la partie inférieure des pistes d'incubation selon le plan incliné de celle-ci,
- Faire glisser très délicatement les dents du peigne de papier-filtre, le long de la paroi verticale opposée de la fente; les dents viennent en contact avec les réactifs et les absorbent par capillarité, si le liquide ne progresse pas incliner davantage le peigne de papier-filtre en faisant levier sur son sommet pour amener les dents en contact avec le liquide,
- Retirer le peigne de papier-filtre,
- Contrôler la bonne absorption des différents réactifs,
- Retirer le masque de dépôt des réactifs,

- Appliquer parfaitement un papier-filtre épais sur toute la surface du gel et laisser absorber pendant 5 minutes,
- Retirer le papier-filtre et laver le gel verticalement en eau physiologique pendant 5 minutes en le plaçant de telle façon que la piste ELP soit positionnée vers le bas ;
- Poser le gel à plat sur la paillasse,
- Appliquer parfaitement un papier-filtre épais sur toute la surface du gel,
- Mettre dans l'incubateur sécheur jusqu'à séchage complet du papier-filtre,

➤ **Coloration – décoloration**

- Après séchage, immerger verticalement le gel sec en eau physiologique pendant trois minutes ;
- Immerger ensuite le gel dans la solution colorante pendant quatre minutes
- Décolorer par trois bains successifs de décolorants jusqu'à obtention d'un fond clair
- Sécher le gel sous air chaud à 80°C.

➤ **Résultats et interprétation**

Absence de bande monoclonale

Un sérum normal montre une zone colorée diffuse d'immunoglobulines polyclonales sur toutes les pistes.

Une hyper gammaglobuline est caractérisée par une zone diffuse très fortement colorée, avec absence de bande étroite.

Présence d'une bande monoclonale

- Une gammopathie (présence d'une immunoglobuline monoclonale) est caractérisée par une bande étroite détectée avec l'un des anti-chaînes lourdes (gamma, alpha, ou mu) et avec des anti-chaînes légères (kappa, lambda).
- L'absence de réaction avec l'une des anti chaînes-lourdes appliquées, mais avec présence d'une chaîne légère peut signifier:
 - La présence d'une gammopathie à IgD ou IgE qu'il conviendra de confirmer avec les anti-chaînes lourdes delta ou epsilon.
 - La présence d'une chaîne légère libre qu'il conviendra de confirmer avec les anti-sérums spécifiques anti-chaînes légères kappa ou lambda.

V.RESULTATS

V . 1. RESULTATS SOCIO-DEMOGRAPHIQUES

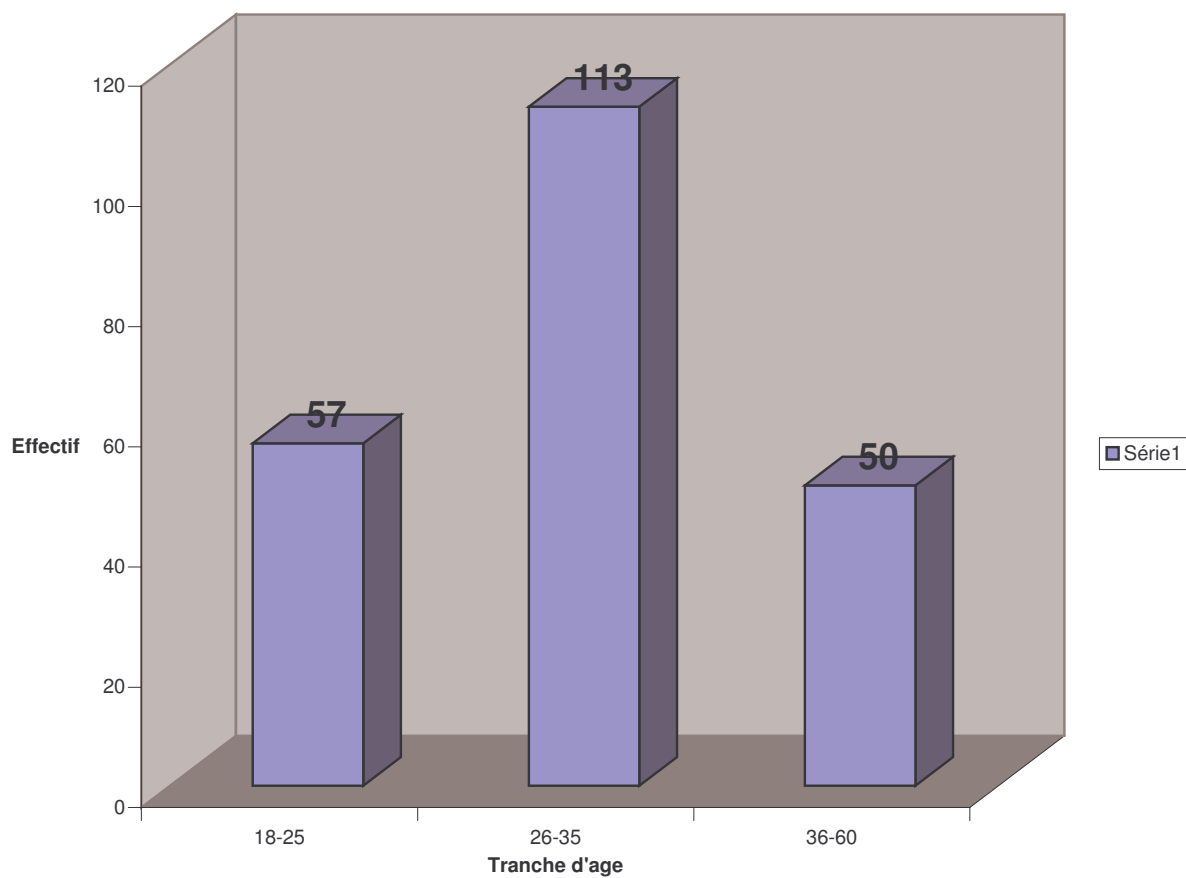


FIGURE 2: Répartition des enquêtés selon les tranches d'âge

La tranche d'âge de 26-35 ans a été la plus représentée (51,4 %). L'âge moyen de l'échantillon était de 30,9 ans avec un écart type de 7 ans. L'âge minimum était de 18 ans et l'âge maximum était de 50 ans avec une médiane de 30 ans.

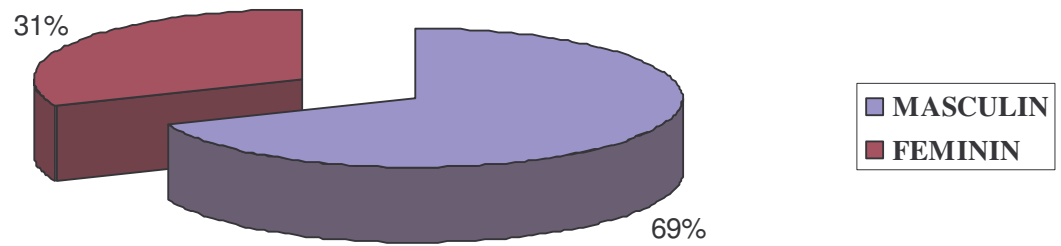


FIGURE 3 : Répartition des enquêtés selon le sexe

Les hommes représentaient 68,6 % (n = 151) de l'échantillon contre 31,4 % (n = 69) de femmes. Le sexe ratio a été de 2,18 en faveur du sexe masculin.

TABLEAU XVI : Répartition de l'échantillon selon la profession.

| PROFESSIONS | EFFECTIF | % |
|--------------------|------------|--------------|
| Commerçants | 42 | 19,1 |
| Autres professions | 38 | 17,3 |
| Elèves/Étudiants | 31 | 14,1 |
| Ménagères | 24 | 10,9 |
| Employé de bureau | 22 | 10 |
| Porteur d'uniforme | 22 | 10 |
| Chauffeur | 11 | 5 |
| Enseignants | 10 | 4,5 |
| Cultivateurs | 8 | 3,6 |
| Sans emploi | 7 | 3,2 |
| Agent santé | 5 | 2,3 |
| TOTAL | 220 | 100,0 |

Les commerçants représentaient 19,1 % dans notre échantillon d'étude. Les agents de santé était représenté par 2,3 %. Les autres professions qui ont représenté 17,3 % étaient constituées de : menuisiers, maçons, dessinateurs, forgerons, garagistes, gardiens, peintres, plombiers, teinturières et les coiffeuses.

TABLEAU XVII : Répartition de l'échantillon selon la provenance.

| PROVENANCE | EFFECTIF | % |
|-------------------|------------|--------------|
| Donneurs CNTS | 151 | 68,7 |
| CESAC * | 20 | 9,1 |
| HGT * | 17 | 7,7 |
| HPG * | 17 | 7,7 |
| CSCOM * | 8 | 3,6 |
| Cliniques privées | 7 | 3,2 |
| TOTAL | 220 | 100,0 |

Dans notre étude, 68,7 % des sujets étaient des donneurs de sang du CNTS, et 9,1 % étaient des malades HIV+ venant du CESAC. .

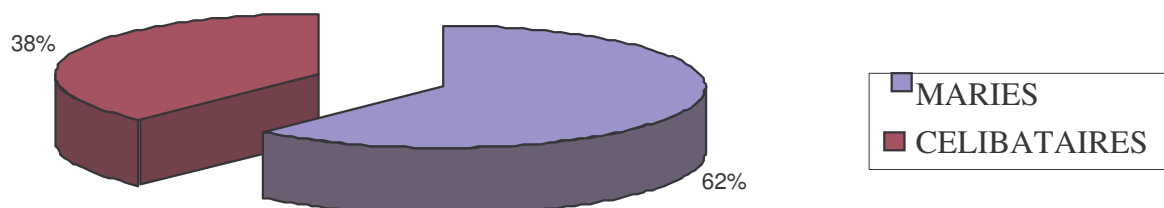


FIGURE 4 : Répartition selon la situation matrimoniale

Plus de la moitié 61,8 % (n = 136) étaient mariés contre 38,2 % (n = 84) de célibataires.

V.2. RESULTATS CLINIQUES

TABLEAU XVIII : Répartition de l'échantillon selon le motif de consultation.

| MOTIF CONSULTATION | DE | EFFECTIF | % |
|--------------------|----|------------|--------------|
| DON A PARENT | | 96 | 43,6 |
| DON BENEVOLE SANG | DE | 55 | 25 |
| BILAN DE SUIVI | | 25 | 11,4 |
| INFECTIONS | | 22 | 10 |
| DEPISTAGE DE VIH | | 15 | 6,8 |
| AEG | | 5 | 2,3 |
| DIARRHEE+AEG | | 2 | 1 |
| TOTAL | | 220 | 100,0 |

Les donneurs de sang, à des parents, ont représenté 43,6 % (n = 96) ;

25 % (n = 55) de l'échantillon étaient des donneurs volontaires de sang et 25 personnes soit 11,4 % ont consulté pour un bilan de santé.

TABLEAU XIX : Répartition des séropositifs selon les tranches d'âges.

| AGE | FREQUENCE | % |
|--------------|------------|------------|
| 18-25 | 23 | 20,9 |
| 26-35 | 64 | 50,8 |
| 36-60 | 23 | 20,9 |
| TOTAL | 110 | 100 |

La tranche d'âge de 26-35 était la plus représentée chez les séropositifs avec 50,8 % de l'effectif.

TABLEAU XX: Répartition des séropositifs selon le sexe.

| SEXE | FREQUENCE | % |
|--------------|------------|------------|
| MASCULIN | 63 | 57,3 |
| FEMININ | 47 | 42,7 |
| TOTAL | 110 | 100 |

Il y avait plus d'homme que de femmes dans notre échantillon de séropositifs. Le sexe ratio est de 1,3.

TABLEAU XXI : répartition de l'échantillon selon le stade de l'infection

| STADE DE L'INFECTION | EFFECTIF | % |
|----------------------|------------|--------------|
| ASYMPTOMATIQUES | 61 | 55,5 |
| SYMPTOMATIQUES | 49 | 44,5 |
| TOTAL | 110 | 100,0 |

Parmi les 110 séropositifs, 55,5 % étaient des asymptomatiques contre 44,5 % qui étaient en phase SIDA

V.3. RESULTATS BIOLOGIQUES

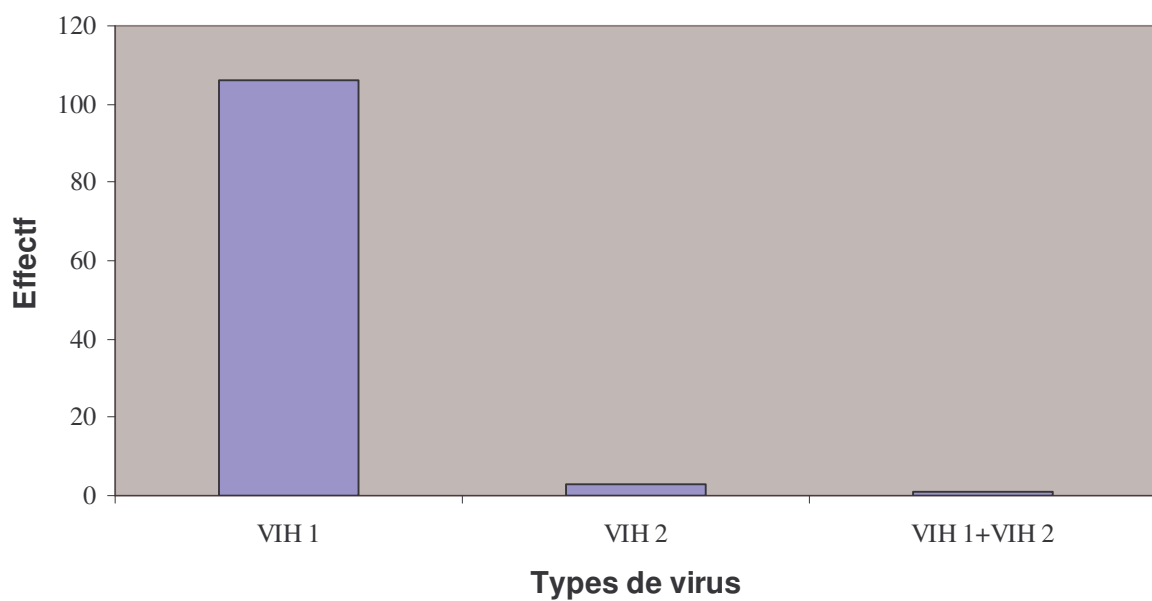


FIGURE 5 : Répartition selon le type de VIH.

L'infection à VIH 1 a été dominante soit 96,4 % (n = 106) contre 2,7 % (n = 3) à VIH 2 et 0,9 % (n = 1) d'association des deux virus le VIH 1 et VIH 2.

TABLEAU XXII : Répartition de l'échantillon selon le protidogramme.

| PROTIDOGRAMME | EFFECTIF | % |
|----------------------------|----------|-------|
| | 220 | 100,0 |
| PROTIDES TOTAUX | | |
| Hyperprotidémie | 127 | 57,7 |
| Hypoprotidémie | 6 | 2,7 |
| Normal | 87 | 39,5 |
| RAPPORT | | |
| Albumine/Globulines | | |
| Bas | 60 | 27,3 |
| Normal | 160 | 72,7 |
| ALBUMINE | | |
| Hyperalbuminémie | 2 | 0,9 |
| Hypoalbuminémie | 62 | 28,2 |
| Normal | 156 | 70,9 |
| ALPHA 1 | | |
| Hyperalpha 1 | 60 | 27,3 |
| Hypoalpha 1 | 1 | 0,5 |
| Normal | 159 | 72,2 |
| ALPHA 2 | | |
| Hyperalpha 2 | 16 | 7,3 |
| Hypoalpha 2 | 33 | 15 |
| Normal | 171 | 77,7 |
| BETA | | |
| Hyperbêta | 25 | 15,3 |
| Hypobêta | 12 | 5,5 |
| Normal | 183 | 83,2 |
| GAMMA | | |
| Hypergamma | 141 | 64,1 |
| Hypogamma | 1 | 0,5 |
| Normal | 78 | 35,5 |

Seulement 39,5 % de l'échantillon avaient une protidémie totale normale. Par contre 57,7 % et 2,7 % avaient respectivement une hyperprotidémie et une hypo protidémies. Le rapport albumine/globulines a été normal dans 72,7 % des cas dans notre échantillon.

Dans notre série, 62 personnes soit 28,2 % avaient une hypo albuminémie par contre 156 soit 70,9 % avaient une albuminémie normale.

Chez 72,2 % des individus étudiés ; les protides alpha 1 étaient normales par contre ils étaient supérieurs à la normale chez 27,3 %.

Par rapport aux protides alpha 2, 77,7 % avaient une valeur dans la fourchette de normalité contre 7,3 qui avaient des valeurs au dessus de la normale.

L'hyper bêta représentait 15,3 % (n = 25) ; 83 ,2 % avaient une valeur normale.

Ces protéines gamma étaient normales chez 35,5 % ; 141 personnes soit 64,1 % avaient une hypergammaglobulinémie. Seule une personne avait une hypogamma globulinémie dans notre échantillon.

TABLEAU XXIII: Répartition selon le statut sérologique et les protides totaux.

| STATUT SEROLOGIQUE | POSITIF | NEGATIF | χ^2 | p |
|------------------------|------------|------------|--------------|-------------------|
| PROTIDES TOTAUX | | | 34,47 | < 0,001 |
| Hyperprotidémie | 84 | 43 | | |
| Hypoprotidémie | 4 | 2 | | |
| Normal | 22 | 65 | | |
| TOTAL | 110 | 110 | | |

L'analyse du protidogramme dans les deux groupes de patients montre que l'hyperprotidémie est plus fréquente chez les séropositifs que chez les individus sains (p<0,001). Les séropositifs ont en effet 5,7 fois plus de risque d'avoir une hyperprotidémie que les séronégatifs OR = 5,7 IC [3,02-11,1].

TABLEAU XXIV: Répartition selon le statut sérologique et le rapport albumine/globulines.

| STATUT SEROLOGIQUE | POSITIF | NEGATIF | χ^2 | p |
|--------------------------------------|------------|------------|--------------|-------------------|
| RAPPORT (albumine/globulines) | | | 69,32 | < 0,001 |
| Bas | 58 | 2 | | |
| Normal | 52 | 108 | | |
| TOTAL | 110 | 110 | | |

La fréquence des faibles rapports albumine/globulines était plus élevée chez les séropositifs que chez les témoins (p= 0,001).

TABLEAU XXV: Répartition selon le statut sérologique et les protides (albumine, alpha1, alpha2, bêta et gamma).

| STATUT SEROLOGIQUE | POSITIF | NEGATIF | χ^2 | p |
|--------------------|---------|---------|--------------|-------------------|
| ALBUMINE | | | 66,78 | < 0,001 |
| Hyperalbuminémie | 0 | 2 | | |
| Hypoalbuminémie | 59 | 3 | | |
| Normal | 51 | 105 | | |
| ALPHA 1 | | | 12,92 | < 0,001 |
| Hyperalpha 1 | 42 | 18 | | |
| Hypoalpha 1 | 0 | 1 | | |
| Normal | 68 | 91 | | |
| ALPHA 2 | | | 6,15 | < 0,001 |
| Hyperalpha 2 | 14 | 2 | | |
| Hypoalpha 2 | 15 | 18 | | |
| Normal | 81 | 90 | | |
| BETA | | | - | 1 |
| Hyperbêta | 18 | 7 | | |
| Hypobêta | 3 | 9 | | |
| Normal | 89 | 94 | | |
| GAMMA | | | 67,81 | < 0,001 |
| Hypergamma | 100 | 41 | | |
| Hypogamma | 0 | 1 | | |
| Normal | 10 | 68 | | |

Parmi les 110 séropositifs, 53,6% (n = 59) ont eu une hypoalbuminémie contre 2,7% (n = 3) chez les séronégatifs. La différence est hautement significative ($\chi^2 = 66,78$ p< 0,001).

Trente huit pour cent (n = 42) des séropositifs avaient une hyperalpha 1 ; 16,5 % (n = 18) des séronégatifs avaient une hyperalpha 1. La différence entre ces deux fréquences est hautement significative ($\chi^2 = 12,92$ p< 0,001). Quand on est séropositif, on a 3,12 fois plus de risque d'avoir une hyperalpha 1 OR = 3,12 IC [1,58 – 6,20].

La fréquence de l' hyper alpha 2 chez les séropositifs (12,7 %, n= 14) est supérieure à celle des séronégatifs (1,8 %, n = 2) $\chi^2 = 6,15$ p< 0,001. Les séropositifs ont 6,67 fois plus de risque d'avoir une hyperalpha 2 que les séronégatifs OR = 6,67 IC [1,35 – 44,54].

Il n'y a pas de différence entre les deux groupes séropositifs et séronégatifs par rapport à l'hyperbêta (test de Fisher $p= 1,00$).

L'hypergammaglobulinémie était présente chez 90,9 % (n = 100) des séropositifs par contre il n'y avait que 37,6 % (n = 41) des séronégatifs qui avaient une hypergamma globulinémie. La différence entre ces deux groupes est statistiquement significative $\chi^2 = 67,81$ $p= 0,001$. La séropositivité a fait courir 16,59 fois le risque d'avoir une hypergammaglobulinémie OR = 16,59 IC [7,39 – 38,17].

TABLEAU XXVI : Tableau comparatif des valeurs moyennes du protidogramme selon le statut sérologique.

| STATUT SEROLOGIQUE | NEGATIF | POSITIF | χ^2 | p |
|------------------------------------|---------|---------|---------------|-------------------|
| VALEUR MOYENNE PROTIDOGRAMME | | | | |
| PROTIDES TOTAUX | | | 28,54 | < 0,001 |
| En g/l | 81,31 | 102,83 | | |
| RAPPORT albumine/globulines | | | 68,56 | < 0,001 |
| | 1,71 | 1,04 | | |
| ALBUMINE | | | 102,13 | < 0,001 |
| En % | 62,02 | 48,63 | | |
| ALPHA 1 | | | 15,08 | < 0,001 |
| En % | 2,65 | 3,05 | | |
| ALPHA 2 | | | 12,41 | < 0,001 |
| En % | 8,43 | 9,67 | | |
| BETA | | | - | 0,99 |
| En % | 10,45 | 10,79 | | |
| GAMMA | | | 109,83 | < 0,001 |
| En % | 16,14 | 29,17 | | |

La valeur moyenne des protides totaux chez les séropositifs (102,83 g/l) est supérieur à celle des sujets sains (81,31 g/l) $p< 0,001$. La valeur moyenne de rapport (albumine/globulines) chez les séropositifs était de 1,04 ; chez les séronégatifs cette

valeur est de 1,71. La différence entre ces deux moyennes est hautement significative $p < 0,001$.

La valeur moyenne de l'albumine chez les séropositifs était de 48,63 % des protides totaux; celle des séronégatifs 62,02 %; La différence entre ces deux moyennes est hautement significative $p < 0,001$.

La valeur moyenne d'alpha1 chez les séropositifs était de 3,05 % des protides totaux ; celle des séronégatifs 2,65 %. La différence entre ces deux valeurs est hautement significative $p < 0,001$.

La valeur moyenne d'alpha2 chez les séropositifs était de 9,67 % des protides totaux; celle des séronégatifs 8,43. La différence entre ces deux valeurs est hautement significative $p < 0,001$.

La valeur moyenne de bêta chez les séropositifs était de 10,79 % des protides totaux; celui des séronégatifs 10,45 %. La différence entre ces deux moyennes n'est pas significative $p = 0,995$.

La valeur moyenne de gamma chez les séropositifs était de 29,17 % des protides totaux ; celle des séronégatifs 16,14 %. La différence entre ces deux valeurs est hautement significative $p < 0,001$.

TABLEAU XXVII : Répartition des séropositifs selon l'évolution clinique de la maladie et le protidogramme.

| SYMPTOMES PROTIDOGRAMME | SYMPTOMA TIQUE | ASYMPTOM ATIQUE | χ^2 | p |
|----------------------------|-------------------|--------------------|--------------|--------------------|
| PROTIDES TOTAUX | | | 0,13 | 0,715 |
| Hyperprotidémie | 38 | 46 | | |
| Hypoprotidémie | 2 | 2 | | |
| Normal | 9 | 13 | | |
| RAPPORT | | | 10,06 | < 0,001 |
| Bas | 11 | 1 | | |
| Normal | 38 | 60 | | |
| ALBUMINE | | | 4,84 | < 0,0001 |
| Hypoalbuminémie | 32 | 27 | | |
| Normal | 17 | 34 | | |
| ALPHA 1 | | | 2,27 | 0,1 |
| Hyperalpha 1 | 29 | 28 | | |
| Hypoalpha 1 | 1 | 0 | | |
| Normal | 19 | 33 | | |
| ALPHA 2 | | | 3,70 | 0,05 |
| Hyperalpha 2 | 13 | 8 | | |
| Hypoalpha 2 | 6 | 5 | | |
| Normal | 30 | 48 | | |
| BETA | | | - | 1 |
| Hyperbêta | 8 | 8 | | |
| Hypobêta | 3 | 3 | | |
| Normal | 38 | 50 | | |
| GAMMA | | | - | 0,7 |
| Hypergamma | 46 | 56 | | |
| Normal | 3 | 5 | | |

Dans notre série, parmi les personnes qui avaient une hyperprotidémie (n = 84), 45 % avaient des signes cliniques de SIDA contre 55 % qui n'en avaient pas. Il n'y avait pas de relation entre l'évolution clinique et la protidémie p= 0,7

Le rapport albumine/globulines était bas chez 12 personnes, et parmi ceci 11 avaient des signes cliniques du SIDA. La relation entre signes cliniques du SIDA et le faible rapport est statistiquement significative (p= 0,001).

Nous avons recruté 54 % de sujets symptomatiques avec une albuminémie (n = 32/59), contre 46 % d'asymptomatiques. La différence est statistiquement significative $\chi^2 = 4,84$ p = 0,0278. Les séropositifs ont deux fois plus de risque d'avoir cette hypoalbuminémie IC [1,01 – 5,56].

Il n'y avait pas eu de différences entre les sujets symptomatiques et les sujets asymptomatiques quant à l'hyperalpha1 p = 0,1. Par rapport à l'hyperalpha 2, sur les 21 personnes qui en présentaient, 13/21 étaient symptomatiques et cela ne diffère pas des asymptomatiques (p = 0,05).

Il n'y avait pas de différence entre les deux groupes par rapport à l'hyper bêta et l'hyper gamma avec respectivement p = 1 et 0,7.

TABLEAU XXVIII: Tableau comparatif des moyennes du protidogramme selon l'évolution clinique de la maladie.

| STATUT SEROLOGIQUE | ASYMPTOMATIQUE | SYMPTOMATIQUE | χ^2 | p |
|------------------------------------|----------------|---------------|--------------|-------------------|
| VALEUR MOYENNE PROTIDOGRAMME | | | | |
| PROTIDES TOTAUX | | | 2,14 | 0,14 |
| En g/l | 99,15 | 107,43 | | |
| RAPPORT albumine/globulines | | | 11,65 | < 0,001 |
| | 1,19 | 0,86 | | |
| ALBUMINE | | | 18,49 | < 0,001 |
| En % | 53 | 43,2 | | |
| ALPHA 1 | | | 2,78 | 0,09 |
| En % | 2,79 | 3,36 | | |
| ALPHA 2 | | | 3,81 | 0,05 |
| En % | 9,15 | 10,33 | | |
| BETA | | | 0,22 | 0,59 |
| En % | 10,36 | 10,57 | | |
| GAMMA | | | 7,73 | < 0,001 |
| En % | 26,08 | 33,02 | | |

Il n'y a pas de différence significative entre la valeur moyenne des protides totaux chez les sujets asymptomatiques et les sujets symptomatiques $p = 0,14$.

La valeur moyenne du rapport albumine/globulines était plus basse chez les sujets symptomatiques (0,86) que chez les sujets asymptomatiques 1,19. Cette différence est significative avec $p < 0,001$.

La valeur moyenne de l'albumine chez les asymptomatiques était de 53 % des protides totaux; celle des symptomatiques étaient 43,2 %. La différence entre ces deux moyennes est hautement significative $p < 0,001$.

Les valeurs moyennes des globulines alpha1, alpha2 et bêta étaient presque identiques chez les asymptomatiques et les symptomatiques avec respectivement $p = 0,09$; $0,05$; $0,59$.

La valeur moyenne de gamma chez les asymptomatiques était de 26,08 % des protides totaux ; celle des sujets symptomatiques était de 33,02 %. La différence entre ces deux moyennes est hautement significative $p < 0,001$.

TABLEAU XXIX: Répartition des malades symptomatiques selon la prise ou non des ARV et le protidogramme.

| TRAITEMENT ARV | ARV+ | ARV- | χ^2 | p |
|------------------------------------|------|------|--------------|-------------------|
| PROTIDOGRAMME | | | | |
| PROTIDES TOTAUX | | | - | 0,01 |
| Hyperprotidémie | 23 | 15 | | |
| Hypoprotidémie | 1 | 1 | | |
| Normal | 1 | 8 | | |
| RAPPORT albumine/globulines | | | - | 0,03 |
| Bas | 2 | 9 | | |
| Normal | 23 | 15 | | |
| ALBUMINE | | | 22,0 | < 0,001 |
| Hypoalbuminémie | 8 | 24 | | |
| Normal | 17 | 0 | | |
| ALPHA 1 | | | 17,07 | 0,0001 |
| Hyperalpha 1 | 7 | 22 | | |
| Hypoalpha 1 | 1 | 0 | | |
| Normal | 17 | 2 | | |
| ALPHA 2 | | | - | 0,4 |
| Hyperalpha 2 | 5 | 8 | | |
| Hypoalpha 2 | 5 | 1 | | |
| Normal | 15 | 15 | | |
| BETA | | | - | 0,5 |
| Hyperbêta | 1 | 7 | | |
| Hypobêta | 1 | 2 | | |
| Normal | 23 | 15 | | |
| GAMMA | | | - | 1 |
| Hypergamma | 23 | 23 | | |
| Normal | 2 | 1 | | |

Parmi les malades symptomatiques, 38 présentaient une hyperprotidémie. Dans ce lot, 60,5 % (n = 23/38) étaient sous ARV contre 39,5 % qui n'étaient pas sous ARV. La différence est significative par le test de Fisher p = 0,010.

La fréquence de rapport albumine/globuline bas a été beaucoup plus observée chez les sujets qui n'étaient pas sous ARV que chez les sujets qui étaient sous traitement ARV (p= 0,03).

Parmi les 32 malades avec une hypo albuminémie, 75 % n'étaient pas sous un traitement ARV. Ainsi, le traitement ARV est un facteur protecteur contre une hypo albuminémie OR = 0,00 IC [0,00 – 0,13], cela veut dire que les malades qui sont soumis aux ARV courent moins de risque d'avoir une hypoalbuminémie.

Dans notre série des malades symptomatiques, seulement 24 % des hyper alpha 1 étaient sous ARV ($\chi^2=17,07$ $p < 0,001$). L'exposition aux ARV ici faire courir aux malades moins de risque de faire une hyper alpha1 OR = 0,04 IC [0,00 – 0,24].

Les variables comme les taux sériques d'alpha2 globulines ; de bêta globulines et de gamma globulines n'ont pas été influencés par l'exposition aux ARV p sont respectivement 0,4 ; 0,5 et 1.

TABLEAU XXX: Tableau comparatif des valeurs moyennes du protidogramme selon la prise ou non d'ARV.

| STATUT SEROLOGIQUE | ARV+ | ARV- | χ^2 | p |
|---|--------|--------|--------------|-------------------|
| VALEUR MOYENNE PROTIDOGRAMME PROTIDES TOTAUX | | | 2,19 | 0,1 |
| En g/l | 104,88 | 110,08 | | |
| RAPPORT albumine/globulines | | | 8,58 | < 0,001 |
| | 1,08 | 0,62 | | |
| ALBUMINE | | | 25,14 | < 0,001 |
| En % | 51,52 | 34,54 | | |
| ALPHA 1 | | | 18,74 | < 0 001 |
| En % | 2,56 | 4,20 | | |
| ALPHA 2 | | | 1,43 | 0,2 |
| En % | 9,64 | 11,04 | | |
| BETA | | | 1,29 | 0,2 |
| En % | 10,06 | 10,17 | | |
| GAMMA | | | 15,38 | < 0,001 |
| En % | 26,04 | 40,29 | | |

La différence entre les valeurs moyennes des protides totaux chez les séropositifs sous ARV et les séropositifs non sous ARV n'est pas significative avec $p = 0,138$

La valeur moyenne de rapport (albumine/globulines) chez les séropositifs sous ARV était de 1,08 ; celle des séropositifs non sous ARV était de 0,62. La différence entre ces deux moyennes est hautement significative $p < 0,001$.

La valeur moyenne de l'albumine chez les ARV+ était de 51,52 % des protides totaux; celle des ARV- était 34,54 %. La différence entre ces deux moyennes est hautement significative $p < 0,001$.

La différence entre les valeurs moyennes de alpha1 chez les ARV+ (2,56 % des protides totaux) et les ARV- étaient très significative avec $p < 0,001$. Les valeurs moyennes des globulines alpha2 et bêta étaient identiques dans les deux populations avec respectivement $p = 0,230$ et $0,254$. La valeur moyenne de gamma chez les ARV+ était de 26,04 % des protides totaux ; celle des ARV- était de 40,29 %. La différence entre ces deux moyennes est hautement significative $p < 0,001$.

V.4. Résultats de l'immunoélectrophorèse

L'immunoélectrophorèse chez les 100 séropositifs qui présentaient une hypergammaglobulinie a montré une augmentation des fractions IgG, IgA, IgM avec la présence de chaînes légères Kappa et Lambda.

Electrophorèse des protéines sériques

Gel 1 : sérums de malades du SIDA

Gel 2 : sérums de non malades

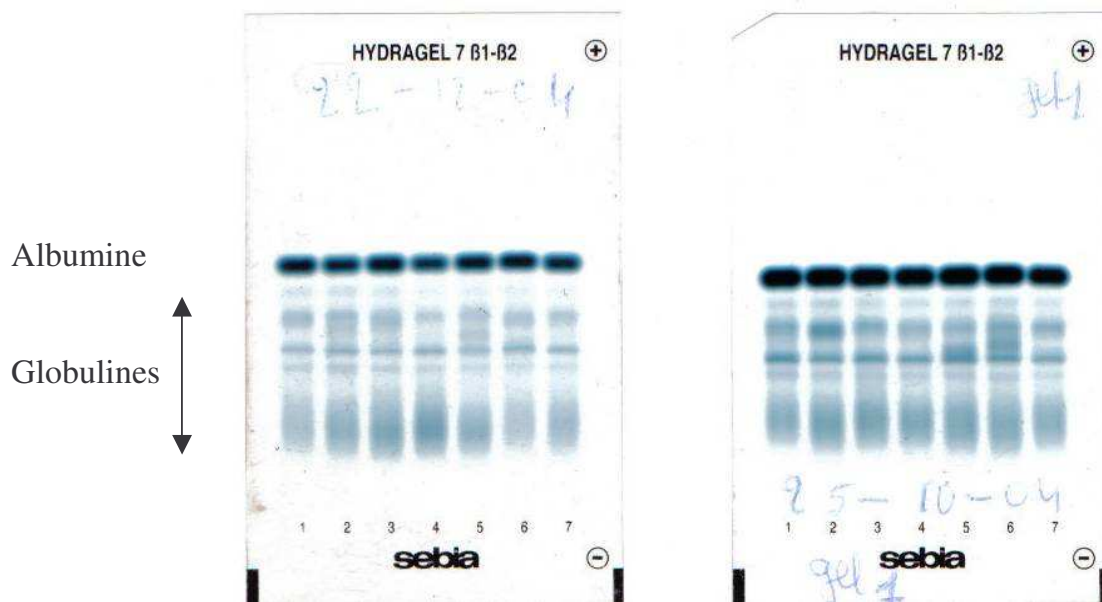


Fig 6: Résultat de l'électrophorèse des protéines sériques chez des séropositifs (Gel 1) et des donneurs de sang du CNTS (Gel 2). On peut observer une diminution des taux d'albumine chez les malades comparés aux non malades.

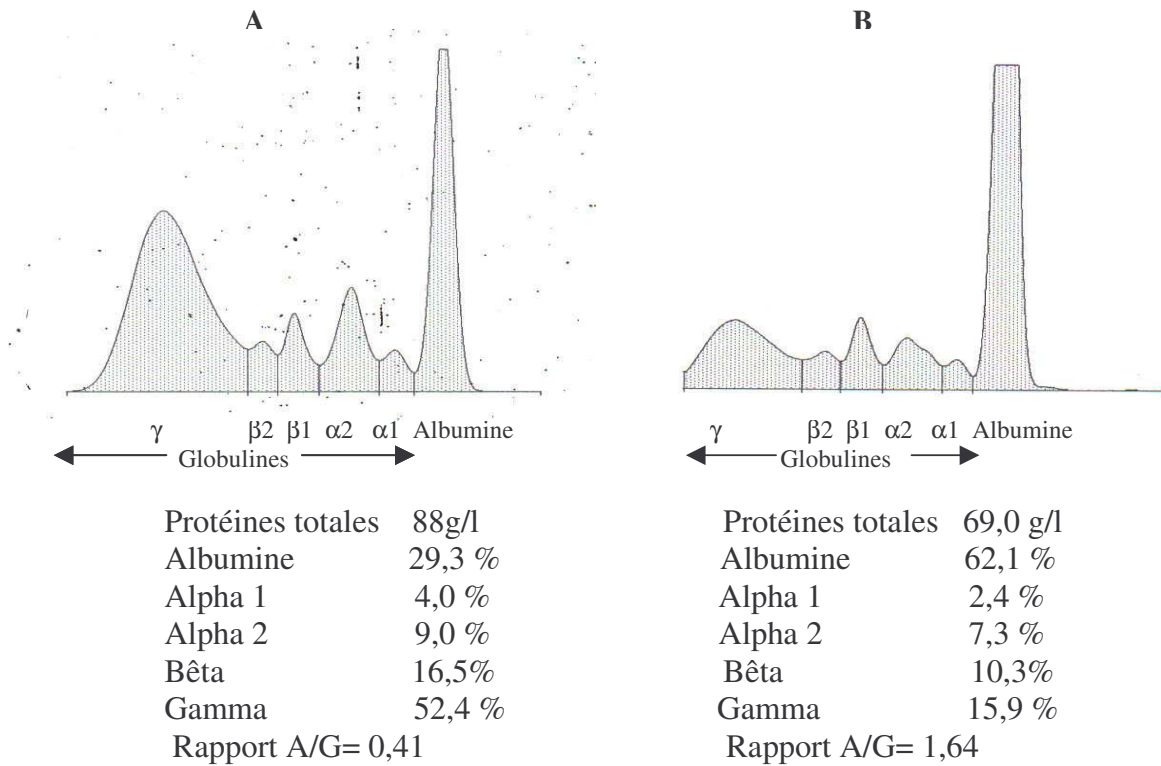


Fig 7 : Histogrammes d'électrophorèse des protéines sériques d'un individu malade du SIDA (A) et d'un individu non malade (B). On observe une augmentation du taux des gammaglobulines (>16 % de protéines totales) et une diminution du taux d'albumine chez le malades du SIDA (A) comparé au non malade (B).

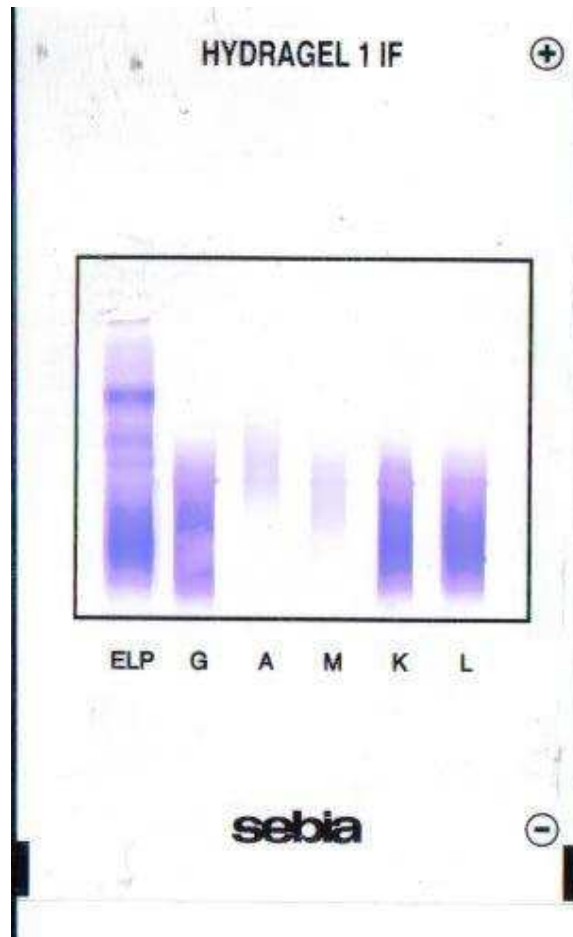


Fig 8: Résultat de l'immunoélectrophorèse des protéines sériques d'un malade du SIDA. On observe une hyper γ -globulinémie polyclonale par la présence de zone diffuse très fortement colorée sur toute la piste G. ELP = Profil électrophorétique ; G = Immunoglobuline γ ; A = Immunoglobuline α ; M = immunoglobuline μ ; K = Chaîne légère et L = chaîne légère λ .

VI. DISCUSSION

Le but de notre étude était d'analyser les modifications du protidogramme chez les personnes vivant avec le VIH afin de voir si les différentes fractions pouvaient servir comme marqueur d'évolution de l'infection. Pour atteindre nos objectifs nous avons décidé d'effectuer cette étude au Centre National de Transfusion Sanguine de Bamako (CNTS). Ce choix se justifiait par le fait que le CNTS effectue le dépistage de l'infection par le VIH chez environ 20000 donneurs de sang par an. Il effectue également des analyses biomédicales pour des patients. Ceci nous permettait d'avoir des personnes infectées et non infectées par le VIH et également des malades du SIDA.

L'étude a porté sur 220 individus dont 110 séropositifs au VIH et 110 séronégatifs. Ces individus ont été choisis au hasard et pour chaque cas sélectionné, nous avons pris un témoin venu donner du sang le même jour. L'âge et le sexe n'étant pas des facteurs confondants, nos témoins n'ont pas été appariés selon l'âge et le sexe. Les donneurs de sang constituaient la majorité de l'échantillon qui était composé de personnes âgées de 18-50 ans et la tranche d'âge majoritaire était de 26-35 ans (51,4 %). Ceci était attendu car la majorité des donneurs de sang du CNTS sont dans cette tranche d'âge comme décrit par d'autres auteurs (24, 18).

Bien que la fréquence des séropositifs dans la population générale soit plus élevée chez les femmes que chez les hommes, ces derniers étaient majoritairement représentés dans notre échantillon. Ceci a été également décrit dans de nombreux travaux du CNTS. En effet Sarro en 2002, Yerbanga en 1997 et Kiemtoré en 1998 et Maiga en 2003 ont respectivement trouvé des sexe ratios de 4, 5, 8 et 16,24 en faveur des hommes (12, 30, 35, 18). Cette prédominance des hommes s'expliquerait par le fait que la majorité des donneurs de sang sont des hommes à cause des contre indications multiples au don de sang chez les femmes (menstruations, grossesses, allaitement). Cependant d'autres travaux notamment ceux de Sanogo M. en 2004 (29) et Kassogué O, en 2003 (11) ont respectivement rapporté que 58,8 % et 61,9 %, des séropositifs qu'ils avaient dépistés étaient des femmes.

Parmi les personnes sélectionnées 61,8 % étaient mariés contre 38,2% qui étaient des célibataires.

L'échantillon comprenait majoritairement des donneurs parentaux ou donneurs familiaux (43,6%) qui sont ceux qui viennent donner du sang à condition d'en recevoir pour leurs parents malades, suivi des donneurs bénévoles (25%) qui sont ceux qui viennent au CNTS pour donner du sang dans le but de constituer le stock de sécurité ; le reste de l'échantillon était constitué des personnes venues pour un bilan biologique de suivi de traitement aux ARV (11,4%) et des personnes venues pour un dépistage volontaire ou pour une analyse de confirmation de leur séropositivité (6,8%).

Dix pour cent des sujets séropositifs présentaient déjà des infections comme les candidoses buccales ou vaginales et l'herpès, des fièvres récurrentes et le Sarcome de Kaposi. L'altération de l'état général (AEG) était présente chez 2,3% des sujets séropositifs. Ce symptôme était associé dans 1 % des cas à des diarrhées. Sanogo avait obtenu des résultats similaires car dans son étude, la diarrhée, l'AEG et la fièvre prolongée, étaient les plus souvent observées avec les fréquences respectives de 45,9 %, 60,8 %, 62,2 %.

Des 110 séropositifs du VIH qui constituaient notre échantillon, 55,5 % étaient des asymptomatiques et 44,5 % avaient développé des signes du SIDA.

La répartition selon le type de virus montrait que les infections par le VIH1 étaient plus fréquentes. En effet, nous avons détecté le VIH1 chez 96,4 % des séropositifs contre 2,7 % de VIH2. Il y avait 0,9 % des personnes qui portaient une co- infection par le VIH1 et le VIH2. Ces résultats sont en accord avec les résultats d'autres études effectuées au Mali qu'elles soit d'envergure nationale ou tout simplement géographiquement restreintes. Au Mali le VIH1 est prédominant et des coinfections VIH1+VIH2 sont fréquentes.

En effet dans une étude faite en 1993, Sissoko observa 69,4% de VIH1 chez les séropositifs au Mali (32). Des études plus récentes au CNTS donnaient les distributions suivantes : 84,9 % de VIH1, 5,8 % de VIH2 et 9,3 % de VIH1+ VIH2 en

2004 chez les séropositifs dépistés (29) et 89,1 % de VIH1, 3,1 % de VIH2 et 2,7 % de coinfections chez les malades (7). Au Mali le VIH1 est plus prévalent actuellement bien que la première enquête effectuée dans notre pays par Pichard et Col avait trouvé plutôt une prédominance du VIH2 (25). Donc depuis les premiers cas décrits au Mali, le VIH1 a supplanté le VIH2. Donc le fait que le VIH1 ait pu supplanter le VIH2 serait dû d'une part au faible taux de transmission verticale du VIH2 et aussi sa faible transmissibilité lorsque le porteur est asymptomatique (9).

L'étude de la relation entre les protéines sériques et l'infection par le VIH a porté premièrement sur l'observation des protides totaux puis des fractions protéiques après électrophorèse. Les séropositifs présentaient en moyenne un taux de protide totaux plus élevé que les séronégatifs, respectivement 102,3g/l et 81,3g/l ; $p < 0,001$ (Tableau XXVI). La répartition des deux groupes en fonction des classes de protidémie montre que les séropositifs ont 5 fois plus de risque de présenter une hyperprotidémie que les séronégatifs ; Odds ratio = 5,7 IC [3,02-11,1] (Tableau XXIII).

Nos résultats concordent avec ceux d'une étude sur le protidogramme incluant 29 séropositifs du VIH, effectuée au Bénin par Akpona S. A. *et al.* Ces auteurs ont montré dans cette étude que la protidémie était significativement plus élevée chez les sujets VIH positifs que chez les sujets sains (1). Cette hyperprotidémie chez les séropositifs pourrait s'expliquer par une augmentation des gammaglobulines au cours de l'infection à VIH comme l'ont décrit Montagnier et collaborateurs (22).

Cependant nous avons observé une hyperprotidémie chez 39,1% de séronégatifs, ceci pourrait s'expliquer soit par l'élévation du taux d'albumine qui a un pouvoir de rétention d'eau soit par l'augmentation des gammaglobulines due à d'autres infections. Maïga avait également observé comme nous une hyperprotidémie chez 39,2 % des donneurs sains (18). Il a été également décrit que la protéinémie totale est naturellement plus élevée chez l'Africain que chez l'Européen (23).

Nous avons examiné le rapport albumine/gammaglobulines et ce rapport est significativement plus faible chez les séropositifs que chez les séronégatifs avec une probabilité $p < 0,001$. Cette baisse de rapport est due à l'augmentation des gammaglobulines sériques et à la diminution de l'albumine sérique. Il faut rappeler

que physiologiquement ce rapport est en faveur de l'albumine car celle-ci est la protéine majoritaire du sérum (59,7-70,6% des protides totaux). Au niveau de l'albumine, plus de la moitié des séropositifs soit 53,6 % avaient une hypoalbuminémie. Par contre la plupart des séronégatifs avaient une albuminémie normale. Bien que nos valeurs observées soient plus élevées ; ce résultat est comparable à celui de l'étude effectuée au Bénin (1). Donc ces résultats suggèrent que l'infection par le VIH induirait une diminution de l'albumine sérique.

Au niveau des fractions de globulines sériques nous avons observé des différences entre séropositifs et séronégatifs principalement dans les α -globulines et les γ -globulines. Les β -globulines étaient par contre comparables entre les 2 groupes d'individus.

Les hyper α 1-globulinémie et hyper α 2-globulinémie étaient plus fréquentes chez les séropositifs (respectivement 38% et 12%) que chez les séronégatifs (respectivement 16,5% et 1%). Les sujets VIH+ présentaient 3 et 6 fois plus de chance d'avoir respectivement une hyper α 1-globulinémie et une hyper α 2-globulinémie que les témoins non infectés (VIH-).

Quant aux γ -globulines, elles sont modifiées chez les séropositifs comparés aux séronégatifs. En effet 90,9% des séropositifs avaient une hyper γ -globulinémie alors que 37,6% l'avaient chez les séronégatifs. Cette différence était statistiquement significative.

Nos résultats sur les α globulines ne concordent pas avec ceux de Akpona au Bénin qui a trouvé des taux d' α 1 et d' α 2 identiques dans les deux populations (1). Nos résultats sont cependant en accord avec la physiologie car l'augmentation des α 1 et α 2 globulines signe l'existence d'une réaction inflammatoire. Dans l'infection par le VIH les sujets sont fréquemment infectés par les germes les plus banaux dits opportunistes du SIDA. La présence de ces germes induirait une réaction inflammatoire.

La différence la plus remarquable se situe au niveau des γ -globulines. Ceci a été décrit par plusieurs auteurs qui ont trouvé une augmentation significative du taux moyen des

γ -globulines chez les séropositifs comparés aux sujets sains (3, 34, 21, 17, 16, 1). En effet l'hypergammaglobulinémie a été décrite comme constamment associée à l'infection par le VIH mais à des intensités variables selon la situation clinique. Certains auteurs expliquent ce phénomène par le déséquilibre de la proportion des lymphocytes en faveur des lymphocytes B et à leur stimulation polyclonale. Les lymphocytes B étant les cellules productrices d'anticorps, il y a par conséquent une augmentation du taux sérique des immunoglobulines.

Les résultats de l'immunoélectrophorèse montrent la présence d'une forte quantité des immunoglobulines IgA, IgG, IgM chez tous les séropositifs ayant une hypergammaglobulinémie. Cette augmentation des immunoglobulines semble être de type polyclonal, vue la taille des bandes correspondant aux Ig. Cependant nous ne pouvons pas affirmer l'absence des IgE et IgD car le kit que nous avons utilisé ne permet de séparer que les IgG, IgA et IgM.

Ce résultat concorde avec ceux d'autres auteurs notamment Lyamuya *et al* 1999 et Lugada *et al.* 2004, qui a montré que les taux des IgG, IgA et IgM des séropositifs étaient significativement plus élevés que ceux des séronégatifs avec une probabilité $p < 0,001$ (16,17). Akpona trouve qu'il existe une hypergammaglobulinémie polyclonale homogène sans commune mesure par rapport au sujet sain (1). Chess *et al*, en 1984 avaient montré que l'élévation des IgD et IgA étaient caractéristiques de l'infection par le VIH (3). L'élévation des IgG et IgA semble plus constamment observé dans la plus part des études et certains auteurs ont même proposé le dosage de ces classes comme méthode de suivi de l'évolution de l'infection par le VIH et de suivi de traitement par les Anti-Rétroviraux. Nos résultats montrent l'augmentation des gammaglobulines sériques au cours de l'infection par le VIH, avec une élévation des IgG, IgA et IgM, c'est pourquoi nous suggérons que cette étude soit poursuivie en incluant le comptage des lymphocytes T CD4 + et le suivi des patients.

VII. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

De Janvier 2004 à Décembre 2004 nous avons effectué une étude prospective chez 220 individus infectés et non infectés par le VIH, afin d'évaluer le profil électrophorétique de leurs protéines sériques.

Cette étude nous a permis d'obtenir les résultats suivants :

- L'infection par le VIH est relativement fréquente chez les donneurs de sang du CNTS.
- L'infection par le VIH1 était la plus fréquente 96,4 % contre 2,7 % de VIH2 et seulement 0,9 % de coinfections.
- Chez les personnes infectées par le VIH nous avons :
 - une hyperprotidémie totale,
 - une diminution de l'albumine,
 - une augmentation des alpha globulines,
 - une augmentation des gamma globulines qui est de type polyclonal,
 - aucune différence significative entre les séropositifs et les séronégatifs quant à la concentration sérique des bêtas globulines,
 - Nous n'avons pas rencontré de cas de gammopathie monoclonale,
 - le traitement par les ARV entraîne une diminution des alpha, des gamma globulines et une élévation de l'albumine.

Au terme de cette étude, il nous paraît nécessaire de formuler quelques recommandations :

1. Au CNTS

- Continuer cette étude notamment pour vérifier si la modification du protidogramme peut être utilisée pour suivre l'évolution du traitement anti rétroviral.
- Améliorer le plateau technique par l'introduction des techniques de dosage du taux de CD4+, la quantification de la charge virale, la PCR, et le taux des immunoglobulines.
- Renforcer le dépistage de l'infection par le VIH au CNTS de Bamako.
- Intensifier les campagnes de sensibilisation de la population pour renforcer la lutte contre le SIDA.

2. Au Ministère de la santé

- Augmenter la subvention de l'état au CNTS pour améliorer son plateau technique, et ses prestations.

VIII. REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. AKPONA S.A. ; LATOUNDJI S. ; *et al*

Etude analytique du profil électrophorétique des protéines sériques chez les sujets VIH positifs. (A propos de 29 cas).

J. Soc. Biol. Clin. Bénin, 1994, n°1 : pp. 20-23.

2. Blatt M. G.

Etude de l'évolution de la protidémie totale et de ses constituants électrophorétiques en milieu rural sénégalais chez les enfants d'âge préscolaire. Thèse Med. Dakar, 1967.

3. Chess Q.; Daniels J., North E.; Macris N.T.

Serum immunoglobulin elevations in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS): IgG, IgA, IgM, and IgD.

Diagn Immunol. 1984 ; 2(3) : 148-58.

4. Docteur Jossay M. ; Docteur Y. Donadieu M.

Le SIDA «étude prévention traitement » Pages (61, 66-67, 78).

5. Eriksson K.; Kilander A., Hagberg L.; Norkrans G., *et al*

Virus-specific antibody production and polyclonal B-cell activation in the intestinal mucosal of HIV-infected individuals. AIDS. 1995 jul ;(7) : 695-700.

6. Gajdos A.

Biochimie des immunoglobulines médecine et biochimie problème d'actualité 2^e série Masson éd. Paris. 1971.

7. Garba. B. K

L'hépatite C chez les donneurs de sang et les malades du SIDA à Bamako

Thèse de Pharmacie Bamako 2003.

8. Gentilini M.; Bernard D.

Médecine tropicale Flammarion médecine sciences VIH page 401

Université des réseaux d'expression française.

9. Girard P.M.; Ch. KATLAMA ; G. PIALOUX.

VIH Edition 2001

Doin ; Paris, pages 542.

10. Hémostase et infection par le virus de l'immunodéficience humaine

Annale de biologie clinique 1998 Mars-Avril 60-153

11. Kassogué O.

Etude de quelques paramètres biologiques de suivi des patients vivant avec le VIH.

Thèse Pharmacie Bamako 2003.

12. Kientore P. M.N.G

Les anticorps antitoxoplasmiques chez les donneurs de sang et les malades atteints du SIDA à Bamako
Thèse Pharmacie Bamako 1998.

13. Korganow A. S.; Martin T. ; Pasquali J. L.

Diagnostiquer une immunoglobuline monoclonale
Service d'immunologie clinique Faculté de médecine ULP Strasbourg France 2002.

14. Lamy J.

Dosage des immunoglobulines sériques au cours de la trypanosomiase Africaine par immunodiffusion simple
Thèse Pharmacie Dakar 1965.

15. Louisot P.

Biochimie structurale, protéines tome 3^e Ed revue, corrigée et augmentée.

16. Lugada. E.S.; Mermin J.; Asjo B. et al

Immunoglobulin levels amongst persons with and without human immunodeficiency virus type 1 infection in Uganda and Norway.
Scand J immunol. 2004 Feb; 59(2): 203-8.

17. Lyamuya E.F ; Matee M.I ; Kasubi M. ; Scheutz. F.

Immunoglobulin profile in HIV-1 infected children in Dares Salaam.
East Afr Med J. 1999 Jul; 76(7): 370-5.

18. Maiga M. I.

Le protidogramme chez les donneurs de sang à Bamako. Thèse pharmacie 2003.

19. Malinga M. P.

Evaluation des immunoglobulines au cours du Kwashiorkor. Thèse Méd. Dakar 1969 ; 3.

20. MAMMETTE A.

Virologie Médicale Collection AZY
Presses Universitaires de Lyon, 2002 pages 798 (569-594)

21. Meyer M.P; Latief Z.; Haworth C.; Salie S.; Van Dyk A.

Symptomatic HIV infection in infancy-clinical and laboratory markers of infection. S Afr Med J. 1997 Feb ; 87(2) : 158-62.

22. Montagnier L. ; Willy R. ; Baum J. C. ; Gluckinan.

SIDA et infection par le VIH
Médecine science flammariion Paris 1989.

23. Moyen E. N. J.

Recherches effectuées à Dakar sur la protidémie et ses variations chez l'Africain
Thèse Médecine 1962.

24. Noumsi T. G.

Les paramètres de l'hémostase chez les personnes vivants avec le VIH au Mali Thèse
méd. 2001.

25. Pichard E.; A. Guindo ; Grossetete ; Fofana ; Y.I Maiga ; B. Koumaré et Coll.

L'infection par le VIH au Mali Médecine Tropicale Octobre Décembre 1988 ; volume
48 ; N°4 pages 345-349.

26. Point sur la situation épidémiologique du VIH/SIDA au Mali

Résultats du test VIH/SIDA de L'EDSIII décembre 2001 CPS.

27. Professeur Eric H. ;Docteur Bernadette H. ; CHRU, 59037 Lille cedex

Vitesse de sédimentation élevée.

28. RAALF J. ; WYPKEMA E.M ; BAYNESRD

Haematological abnormalities in the acquired immunodeficiency syndrome.
Department of medicine Johannesburg hospital SAFR Med J 1988. Aug20 ; 74 (4);
157-160.

29. Sanogo M.

Enquête séro-épidémiologique sur l'infection par le VIH au CESACde Bamako de
2001 à 2003. Thèse pharmacie 2004.

30. Sarro Y. S.

Le bilan de l'hémostase chez les donneurs de sang à Bamako.
Thèse pharmacie Bamako 2002.

31. Sissoko K.

Etude des populations lymphocytaires T du sang périphérique au cours de l'infection
par le virus de l'immunodéficience humaine à Bamako. Thèse de médecine 2000.

32. Sissoko Z.

Etude de la séroprévalence des infections dues au VIH au Mali.
Thèse de Médecine, Bamako 1993.

33. Sombo-Mambo F. ; Seka-Seka J. ; Cabannes R.

Étude des protéines totales et du protidogramme dans deux populations de Côte
d'Ivoire publ. Med. Afrique 1988.

34. Uko G. P. ; Griffiths M ; Dawkins R. L. ; Cobain T ; *et al*
IgG2 associated hypergammaglobulinemia in some Nigerians with HIV infection. Afr J Med Sci. 1994 Dec ;23(4) : 385-9.

35. Yerbanga F. X.

Antigénémie HBs et paramètres hématologiques chez les donneurs de sang à Bamako.
Thèse Pharmacie Bamako 1997.

ANNONYMES

36. Analyses médicales albumines.htm

<http://www.doctissimo.fr/html/sante/analyses/anaproteines04>

37. Action traitement structure simplifié du VIH

<http://www.actions-traitements.org/article.php3> ?

38. Anticorps -Wikipedia

[http://www.anticorps % 20-%20 wikipedia.htm](http://www.anticorps%20-%20wikipedia.htm)

39. Diagnostic d'immunoglobulines monoclonales

[http:// www.esculape.com /fmc2gammopathies2.html](http://www.esculape.com/fmc2gammopathies2.html)

40. Doctissimo électrophorèse des protéines sériques

<http://www.dermato.org/html/sante/analyses anaproteines03htm>

41. Electrophorèse des protides

<http://coproweb.free.fr/inanabio/pyr.htm>

42. Epidémiologie du VIH/SIDA en Décembre 2004

www.pasteur.fr/actu/press/documentation/ONUSIDA.html

43. Gammopathies monoclonales bénignes

fmc2 source Dossier impact Médecin N° 3215-mai 1996

<http://www.esculape.com/fmc2/gammopathies.html>

44. Gammopathies monoclonales malignes

fmc2 source option/bio supplémentaire N°199-30 janvier 1998 A. Leger Groupe Hospitalier Necker-enfants malades Paris

<http://www.esculape.com/fmc2/gammopathies3.html>

45. Historique

<http://www.pasteur.fr/actu/presse/dossiers/sida/decouverte.html>

46. Immunoelectrophoresis

www.immunoelectrophoresis.htm

47. Numération formule sanguine chez 123 séropositifs

<http://www.123positives.org/french>

48. ONUSIDA

Le point sur l'épidémie de SIDA Décembre 2003

[http : www.unaids.org](http://www.unaids.org)

49. ONUSIDA 6 juillet 2004

Épidémiologie mondiale de SIDA 4è rapport mondial

<http://sidads.free.fr/pages/sida.html>

50. ONUSIDA

Le point sur l'épidémie de SIDA Décembre 2004

<http://www.unaids.org>

51. Qu'est ce que le SIDA ?

<http://www.france.com/sebIV/defin.htm>

52. Qu'est ce que le SIDA

[http://www.abbott.fr/pathologie/qu'est ce que le SIDA.htm](http://www.abbott.fr/pathologie/qu'est%20ce%20que%20le%20SIDA.htm)

53. SIDA et VIH un exemple de rétrovirus

<http://www.google.com/membres.lycos.fr/microbio/virologie/monogr8>

54. Structure du VIH

www.inpr.fr/acces/biotic/immuno/html/strucVIH.htm

55. Situation du VIH/SIDA au Mali

In www.santétropicale.com/actualites/1103/1103_10.htm

Fiche Signalétique

Nom : TANGARA

Prénom : EVE

Titre de la thèse Protidogramme et immunoélectrophorèse chez les personnes vivant avec le VIH au CNTS.

Année universitaire : 2004-2005

Pays d'origine : Mali

Ville de soutenance : Bamako

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie

Résumé

Nous avons réalisé une étude prospective au CNTS de Bamako dans le but de rechercher les modifications des protéines sériques associées à l'infection par le VIH. Pour cela, 220 personnes dont 110 séronégatifs et 110 séropositifs du VIH ont été incluses dans l'étude et chez lesquelles nous avons effectué le dosage des protides totaux, l'électrophorèse et l'immunoélectrophorèse des protéines sériques.

Les résultats obtenus montrent que l'infection par le VIH est associée à une augmentation des protides totaux, avec diminution de la fraction albumine et élévation des alpha et gamma globulines. Par contre aucune modification des bêta-globulines n'a été constatée. L'augmentation des gammaglobulines semblait polyclonale et spécifiquement liée à une modification des IgG, IgA et IgM.

Cette perturbation des fractions du protidogramme semble s'intensifier avec l'évolution de la maladie et diminuer avec le traitement par les ARV.

En conclusion nous trouvons que l'infection par le VIH induit une modification du protidogramme.

Mots clés : protidogramme, albumine, IgG, IgA, IgM, VIH/SIDA, CNTS.

IX. ANNEXES

Fiche d'enquête N°.....

Nom..... Prénom.....
Sexe..... Age.....
Profession.....
Adresse

Situation matrimoniale : M C D

Motif de consultation :

donneurs volontaires donneurs parents patients

Situation sérologique : négatif positif

Type de VIH : VIH1 VIH2 VIH1+ VIH2

Stade évolutifs de l'infection : asymptomatique symptomatique

Renseignements cliniques :

AEG Bilan de suivi de traitement
Diarrhée +AEG Dépistage de VIH
Don volontaire de sang Don de secours parentaux
Infections microbiennes Autres

Examens biologiques effectués aux laboratoires :

Dosage des protides totauxg/l

Electrophorèse des protéines sériques :

| Fractions | Pourcentage | Normes % |
|--------------------|-------------|-------------|
| Albumine | | 59,7 - 70,6 |
| Alpha1 globulines | | 1,4 - 2,7 |
| Alpha 2 globulines | | 7,2 - 11,1 |
| Beta1 globulines | | 6 - 9,3 |
| Beta2 globulines | | 2 - 5,4 |
| Gammaglobulines | | 8,4 - 16,3 |

Commentaire :.....

.....

Immunofixation :

Commentaire :.....

.....

Consentement éclairé

Le Centre National de Transfusion Sanguine effectue systématiquement le dépistage des maladies transmissibles par le sang sur tous les prélèvements de sang chez les donneurs afin d'assurer la sécurité transfusionnelle des receveurs de sang.

Le Centre National de Transfusion Sanguine voudrait aussi évaluer le protidogramme chez les personnes infectées par le VIH. La connaissance de cette modification du protidogramme chez les séropositifs permettrait une meilleure connaissance de la pathologie et par conséquent une meilleure prise en charge des patients.

Le prélèvement de sang ne vous soumet à aucun risque. Le désagrément de la piqûre de l'aiguille est le seul inconvénient. En cas d'incidents liés à cette piqûre comme enflément, douleurs le médecin du CNTS vous donnera les soins nécessaires.

Sachez que votre nom n'apparaîtra dans la thèse ou les documents publiés après. Vous êtes libre d'accepter.

Si vous acceptez ces conditions, veuillez signer en dessous votre consentement.

Lu et approuvé
Le..... /2004

Signature

SERMENT DE GALIEN

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

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- D'exercer dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ;

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

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure