

BURKINA FASO

\*\*\*\*\*

UNITE - PROGRES - JUSTICE

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU



Unité de **F**ormation et de **R**echerche

**S**ciences de la **V**ie et de la **T**erre

(UFR-SVT)

Centre de **R**echerche **B**iomoléculaire

**CERBA/LABIOGENE**

## **MEMOIRE**

Présenté par

**ONADJA Mohamed Silvain**

Maître ès Microbiologie appliquée

Pour l'obtention du:

***Diplôme d'Etudes Approfondies en Biochimie/Biologie Moléculaire***

Sur le **THEME** :

**Co-infection de *Toxoplasma gondii* et du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) chez les femmes enceintes au Centre Médical Saint Camille de Ouagadougou.**

Soutenu le ..., devant le jury :

PRESIDENT : Pr Boukaré ZEBBA, Maître de Conférences, Université de Ouagadougou.

MEMBRES : Pr Jacques SIMPORE, Professeur Titulaire, Université de Ouagadougou

Dr Christelle W. M. NADEMBEGA.

## DEDICACES

*A ma Maman pour son énorme soutien, pour son encouragement et ses bénédictions.*

*A mon Papa pour sa compréhension et son assistance.*

*A mes Sœurs, frères, Parents et Amis pour leur accompagnement.*

## REMERCIEMENTS

*Ce travail a été réalisé dans les laboratoires d'immunologie et de biologie moléculaire du centre médical Saint Camille et du Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA/LABIOGENE).*

*Nous exprimons notre profonde gratitude :*

*Au Pr Odile Germaine NACOULMA, responsable de l'école Doctorale (Département de Biochimie/ Microbiologie) pour avoir accepté de présider notre jury,*

*Au Pr Jacques SIMPORE, directeur du laboratoire du CMSC et du CERBA/LABIOGENE pour avoir accepté la direction de ce DEA, pour le choix pertinent de ce thème, pour le support économique de cette étude et pour son encadrement exceptionnel.*

*Au Pr Boukaré ZEBA, chef du département de Biochimie/ Microbiologie pour avoir accepté d'évaluer notre travail,*

*Au Pr Jeanne MILOGO/RASOLODIMBY, pour sa disponibilité, ses conseils, ses encouragements, et son assistance morale,*

*Au Dr. W.M. Christelle NADEMBEGA pour ses conseils et pour l'aide qu'elle a apporté dans la réalisation de ce travail,*

*Au Dr. Charlemagne GNOULA pour ses conseils et pour nous avoir aidés dans nos recherches bibliographiques,*

*A Dr. Djeneba OUEYEMI notre aînée pour son aide et ses conseils,*

*A tous les enseignants-chercheurs du département de Biochimie/ Biologie Moléculaire Appliquée/ Substances Naturelles/ Plantes médicinales et Phytothérapie pour la qualité de la formation reçue,*

*A toute l'équipe du Laboratoire Saint Camille, en particulier mesdames Justine YARA, An gèle SANFO et monsieur Emmanuel BOUDA pour leurs précieux conseils et leur assistance apportée lors des manipulations.*

*A la Conférence épiscopale italienne (CEI), pour leur soutien financier dans la réalisation de nos travaux de mémoire de DEA.*

*A tous les étudiants de notre promotion pour la bonne ambiance, les conseils et les encouragements*

## RESUME

*Toxoplasma gondii* est un parasite responsable de la toxoplasmose, maladie très souvent inapparente mais qui a des conséquences graves chez la femme enceinte et l'immunodéprimé. Elle est cosmopolite et inégalement répandue dans le monde.

La présente étude réalisée au Centre Médical Saint Camille de Ouagadougou sur des femmes enceintes, concerne 182 femmes vues de Novembre 2008 en Juin 2009 en consultation prénatale dans le cadre du programme pour la prévention mère- enfant du VIH.

Toutes les femmes ont chacune une grossesse de moins de 32 semaines et sont âgées de 17 à 42 ans. Parmi ces femmes, 91 ont une sérologie positive au VIH et 91 une sérologie négative au VIH et toutes les classes d'âge sont concernées par *T. gondii* et le VIH.

Notre étude a révélé de ces femmes que 37,36% sont des illettrées ; 53,30% sont des ménagères et seulement 4,39% sont des femmes fonctionnaires. Les séroprévalences des anticorps spécifiques à *T. gondii*, IgM et IgG obtenues par la technique ELISA (Lecture sur spectrophotomètre) sont respectivement de 4,95% (9/182) et 26,37% (48/182). Nous avons trouvé une forte prévalence de *T. gondii* au sein des femmes enceintes à sérologie positive au VIH (30,77% versus 21,98%). Ce taux élevé de co-infection *T. gondii*/VIH indique que les femmes enceintes sont très exposées au toxoplasme parce qu'immunodéprimées.

Cependant, nous avons noté que l'utilisation de la lamivudine pourrait considérablement réduire la prévalence du toxoplasme au sein de la population des femmes enceintes à sérologie positive au VIH.

**Mots clés : *Toxoplasma gondii*, VIH, toxoplasmose, DETERMINE, TRI-DOT, ELISA, Transmission verticale, PTME**

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>AC:</b>	Anticorps.
<b>ADN:</b>	Acide désoxyribonucléique.
<b>ADNc:</b>	Acide désoxyribonucléique complémentaire.
<b>ARN:</b>	Acide ribonucléique.
<b>AZT :</b>	Zidovudine.
<b>CD :</b>	Cellule Dendritique.
<b>CMSC :</b>	Centre médical Saint Camille de Ouagadougou.
<b>DO:</b>	Densité Optique.
<b>ELISA:</b>	Enzyme linked immunosorbent assay
<b>HAART:</b>	Hight Active Anti- Retroviral Therapy.
<b>HTLV:</b>	Human T-Lymphotropic Virus.
<b>IFN:</b>	Interféron
<b>Ig:</b>	Immunoglobuline
<b>IL:</b>	Interleukine
<b>LAV:</b>	Lymphadenopathy-Associated Virus.
<b>PCR :</b>	Polymerase chain reaction
<b>PKR :</b>	Protein kinase R
<b>PPT:</b>	Poly Purine Tracts
<b>PTME:</b>	Programme de la Transmission Mère -Enfant du VIH.
<b>RE:</b>	Reticulum Endoplasmique
<b>SIDA :</b>	Syndrome d'Immuno Déficience Acquise.
<b>SMI :</b>	Soins Maternels et Infantiles.
<b><i>T.gondii</i> :</b>	<i>Toxoplasma gondii</i> .
<b>TI :</b>	Transcriptase Inverse.
<b>VIH :</b>	Virus de l'Immunodéficience Humaine.

## LISTE DES FIGURES

<a href="#"><u>Figure 1 : Structure du VIH</u></a> .....	6
<a href="#"><u>Figure 2 : Cycle de réplication du virus de l'immunodéficience humaine</u></a> .....	9
<a href="#"><u>Figure 3: Evolution de l'infection VIH/SIDA:Relation charge virale/nombre de LT<sub>4</sub></u></a> .....	11
<a href="#"><u>Figure 4 : Structure d'un tachyzoïte et d'un bradyzoïte</u></a> .....	14
<a href="#"><u>Figure 5 : Schéma d'un kyste tissulaire renfermant de nombreux bradyzoïtes</u></a> .....	15
<a href="#"><u>Figure 6 : Oocyste de toxoplasme</u></a> .....	15
<a href="#"><u>Figure 7 : Cycle de reproduction du toxoplasme</u></a> .....	16
<a href="#"><u>Figure 8: Evolution des IgM et IgG après infection toxoplasmique.</u></a> .....	22
<a href="#"><u>Figure 9 : Validation des résultats obtenus par le DETERMINE</u></a> .....	29
<a href="#"><u>Figure 10 : Validation des résultats obtenus par le TRI-DOT</u></a> .....	30
<a href="#"><u>Figure 11 : PRESENTATION DE LA MICROPLAQUE ELISA</u></a> .....	31
<a href="#"><u>Figure 12 : Distribution de la séroprévalence IgM, IgG antitoxoplasmique par classe d'âge.</u></a>	39
<a href="#"><u>Figure 13 : Distribution de la sérologie VIH+ par classe d'âge.</u></a> .....	39
<a href="#"><u>Figure 14 : Séroprévalences IgM et IgG antitoxoplasmiques chez les femmes enceintes.</u></a> .....	40

## LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau I : Répartition des femmes par classe d'âges.</u> .....	35
<u>Tableau II : Niveau scolaire et occupations sociales des femmes enceintes</u> .....	36
<u>Tableau III: Prévalence de <i>T.gondii</i> (IgM et IgG) et VIH par classe d'âges</u> .....	38
<u>Tableau IV:Co-infection du VIH avec <i>T. gondii</i> chez les femmes enceintes</u> .....	40
<u>Tableau V: Corrélation CD4/Moyenne des âges avec les sérologies de <i>T. gondii</i>.</u> .....	41



## SOMMAIRE

<i>DEDICACES</i> .....	I
<i>REMERCIEMENTS</i> .....	II
<b>RESUME</b> .....	IV
<b>LISTE DES ABREVIATIONS</b> .....	V
<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	3
<b>I: Historique sur le VIH</b> .....	4
<b>I-1: Classification</b> .....	5
<b>II- 2 : Structure du VIH</b> .....	6
<b>I-3: Mécanisme de réplication du VIH</b> .....	7
<b>I-4: Diversité génétique du VIH</b> .....	9
<b>I-5: Physiopathologie</b> .....	10
<b>I-6: Mode de transmission du VIH de la mère à l'enfant</b> .....	11
<b>II. Historique sur <i>Toxoplasma gondii</i></b> .....	12
<b>II-1: Présentation du parasite</b> .....	12
a) <b>Classification</b> .....	12
b) <b>Morphologie</b> .....	13
c) <b>Cycle de développement du toxoplasme</b> .....	16
<b>II-2: Diversité génétique de <i>T. gondii</i></b> .....	16
<b>II-3: Mécanisme d'invasion cellulaire</b> .....	17
<b>II-4: Infection des cellules dendritiques dans un modèle in vitro.</b> .....	18
<b>II-5: Evolution et pathologie chez l'hôte intermédiaire</b> .....	19
a) <b>Chez la femme</b> .....	19
b) <b>Chez l'enfant</b> .....	20
<b>II-6: Méthodes de diagnostic</b> .....	20
a) <b>Diagnostic direct</b> .....	20
b) <b>Diagnostic indirect</b> .....	21
<b>II-7: La toxoplasmose</b> .....	22
a) <b>La toxoplasmose acquise</b> .....	22
b) <b>La toxoplasmose congénitale</b> .....	22
c) <b>La toxoplasmose de l'immunodéprimé</b> .....	23
<b>II-8: Méthodes prophylactiques</b> .....	24

a) Mesures préventives ou prophylaxie primaire :	24
b) Mesures curatives ou prophylaxie secondaire	24
<b>CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES</b>	25
<b>I: Les objectifs</b>	26
<b>I-1: L'objectif général</b>	26
<b>I-2: Les objectifs spécifiques</b>	26
<b>II: Méthodologie</b>	26
<b>II-1: Présentation du cadre d'étude CMSC</b>	26
<b>II-2: Echantillonnage</b>	26
a) La population étudiée	26
b) Les prélèvements	27
<b>II-3: Matériels et Méthodes</b>	27
a) Matériels	27
a-1) les consommables :	27
a-2) Les équipements :	27
a-3) les solutions et réactifs :	28
b) Méthodes	28
b-1) Le DETERMINE™ VIH <sub>1/2</sub>	28
b-2) Le VIH TRI-DOT	30
b-3) Le test d'ELISA	31
<b>CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION</b>	34
<b>I. RESULTATS</b>	35
<b>I-1. Répartition des femmes par classe d'âges</b>	35
<b>I-2. Niveaux scolaires et occupations sociales des femmes enceintes</b>	36
<b>I-3. Prévalence de <i>T.gondii</i> (IgM et IgG) et VIH par classe d'âges.</b>	37
<b>I-4. Co-infection <i>T.gondii</i>/ VIH chez les femmes enceintes</b>	39
<b>II - DISCUSSION</b>	42
<b>III- CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES</b>	45
<b>III-1 Conclusion générale</b>	46
<b>III-2 Perspectives</b>	46
<b>- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	47
<b>- ANNEXE</b>	53

## INTRODUCTION

Alors que le VIH/SIDA constitue un défi pour l'humanité, l'incidence des maladies opportunistes recommande une adaptation des stratégies thérapeutiques dans les pays en voie de développement. Une de ces maladies est la toxoplasmose causée par *Toxoplasma gondii*, apparemment sans effet chez l'immunocompétent mais grave chez le sujet immunodéprimé et la femme enceinte (OMS ; 2007).

La toxoplasmose est l'une des plus importantes maladies opportunistes liées au VIH/SIDA pouvant entraîner des cas d'avortement chez la femme enceinte et des malformations de nouveaux nés. GRAS et collaborateurs en 2005 suggérèrent pour de telles raisons que toutes les femmes enceintes dépistées positives au VIH, devraient être prises en charge afin d'empêcher les infections congénitales.

Des études antérieures réalisées sur le continent ont établi que le taux de prévalence de la co-infection *T.gondii*/VIH est très variable d'un pays à l'autre. En effet, de 53,6% chez les femmes enceintes séropositives de Cotonou (RODIER et coll., 1995) il est de 40,2% chez les femmes en âge de procréer à Dakar (FAYE et coll., 1998), 60% chez les malades du SIDA en Côte d'Ivoire (ADOU, 2004) et 54% chez les personnes vivant avec le VIH en Ouganda (LINDSTROM et coll., 2006). Au Burkina Faso, des études ont aussi été réalisées afin de déterminer la fréquence de l'infection toxoplasmique. C'est ainsi que MILLOGO et coll., en 1999 trouvèrent une prévalence de 25,4% chez les patients à sérologie positive au VIH du Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou de Bobo Dioulasso (CHUSS) et 26,56% au sein des populations à risque au centre médical Saint Camille de Ouagadougou selon ZANGHRE en 2004.

Notre étude a pour cadre le Centre Médical Saint Camille de Ouagadougou. Ce centre est une Structure sanitaire à caractère social qui héberge un programme de Prévention de la Transmission Mère-Enfant du VIH (PTME), où l'affluence des femmes enceintes est importante.

Nous ne disposons pas de nouvelles informations appréciant la situation épidémiologique de la toxoplasmose chez les femmes enceintes à sérologie positive au VIH et négative au VIH. Notre hypothèse de travail est qu'il y a une différence de prévalence sérotoxoplasmique selon que les femmes soient à sérologie positive ou négative vis à vis du VIH. Pour étayer cette hypothèse, nous avons adopté un plan d'étude qui comprendra les étapes suivantes :

- Les généralités sur le VIH et sur *Toxoplasma gondii*.

- Les objectifs de notre étude.
- Les matériels et méthodes utilisés pour notre étude.
- Les résultats obtenus.
- Les commentaires et la discussion des résultats obtenus, suivis de la conclusion et les perspectives envisagées pour notre étude.

# **CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **I: Historique sur le VIH**

Le VIH a été découvert en 1980 par Luc Montagnier. En 1981, ce fut la découverte des premiers cas d'une infection immunitaire inhabituelle chez des homosexuels au USA. En 1982, le terme syndrome de l'immunodéficience acquise (SIDA) est défini pour la première fois et trois modes de transmission sont identifiés : la voie de la transfusion sanguine, la transmission de la mère à l'enfant et les rapports sexuels. En 1983, le VIH est reconnu responsable du SIDA, il fut isolé par Luc Montagnier et collaborateurs qui le nommèrent LAV à l'institut Pasteur de Paris. Ce fut également la révélation d'une épidémie de SIDA à transmission hétérosexuelle en Afrique. En 1985, l'étendue de l'épidémie devient manifeste ; chaque région du monde signale au moins un cas de VIH/SIDA . Il fut tenu la première conférence internationale sur le SIDA à Atlanta (OMS, 1985), les premiers tests diagnostics furent mis au point et c'est le début des premiers essais pharmacologiques. En 1986, la communauté scientifique adopte le sigle VIH pour désigner le virus responsable du SIDA chez l'homme. En 1987, la première molécule contre le SIDA, la zidovudine (AZT, inhibiteur de la transcriptase inverse) fut découverte. En 1988 pour la première fois, les ministères de la santé du monde entier se réunissent à Londres pour discuter de l'épidémie. De 1990 à 1995, le traitement contre le SIDA passa de la monothérapie à la bithérapie (zidovudine plus Saquinavir (inhibiteur de la protéase du VIH). Un premier succès contre l'épidémie fut noté en Ouganda par la diminution de la prévalence du VIH chez les femmes enceintes tandis qu'une flambée de l'infection est constatée chez les consommateurs de drogues injectables en Europe. En 1996, le programme commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA (ONUSIDA) fut créé et la communauté internationale opte pour la trithérapie avec le protocole HAART (Highly Active Anti-Retroviral Therapy). En 1998 fut annoncé le premier traitement de courte durée pour la réduction de la transmission du VIH de la mère à l'enfant. En 1999 en Thaïlande, débuta le premier test d'efficacité d'un vaccin potentiel. En 2001, le secrétariat général des Nations Unies lança un appel en faveur d'un plan d'action et la création d'un fond mondial contre le SIDA et la santé ([www.geocities.com/sosvx\\_online/fr.html](http://www.geocities.com/sosvx_online/fr.html)).

Organisées depuis 1986, les réponses du Burkina Faso à l'épidémie du VIH/SIDA ont d'abord prient la forme d'un plan à court terme (1987-1989) puis de deux plans à moyens terme (1987-1995). En 1994, un projet de recherche est lancé à Bobo -Dioulasso pour évaluer l'efficacité d'un schéma court de chimioprophylaxie de la mère à la zidovudine. A partir de 1996, le gouvernement entreprend une réforme de son système de santé par la décentralisation et la collaboration multisectorielle. En 1998 un processus de planification

stratégique est engagé. Le Burkina Faso aboutit à l'élaboration d'un cadre stratégique de lutte contre le VIH/SIDA pour la période 2001-2005. Un conseil national de lutte (CNLS-IST) est alors mis en place pour assurer la coordination nationale des actions de lutte.

En 2001, le gouvernement italien et l'OMS se lancent dans un partenariat innovant en vue de renforcer la réponse des systèmes de santé au VIH/SIDA en Afrique subsaharienne. Le Burkina Faso retenu par l'initiative OMS/Italie réalise le projet PTME au centre médical Saint Camille de Ouagadougou, un projet diligenté par les Pères Camilliens. Ainsi, depuis 2002, une série de mesures organisatrices telles des sensibilisations, des formations, des informations des prises en charge thérapeutique, psychosociales, économiques et des recherches sur le VIH/SIDA ont commencé au plan national ([bookorders@who.int](mailto:bookorders@who.int)).

Après de grands efforts, on a constaté une régression épidémiologique du VIH/SIDA au niveau général si bien que la prévalence de la maladie est passée de 7,17% en 1997 à 4,2% en 2002 puis de 1,8% en 2004 à 1,13% en 2006 selon ONUSIDA et environ 2% des femmes enceintes sont infectées par le VIH (ONUSIDA, 2008). Nonobstant une avancée notable enregistrée dans la lutte, le SIDA traîne derrière lui un lot de maladies dites opportunistes qui ne sont pas toujours maîtrisées.

### **I-1: Classification**

Le virus de l'immunodéficience humaine est un rétrovirus infectant l'homme et responsable du SIDA (syndrome de l'immunodéficience acquise) qui est un état affaibli du système immunitaire.

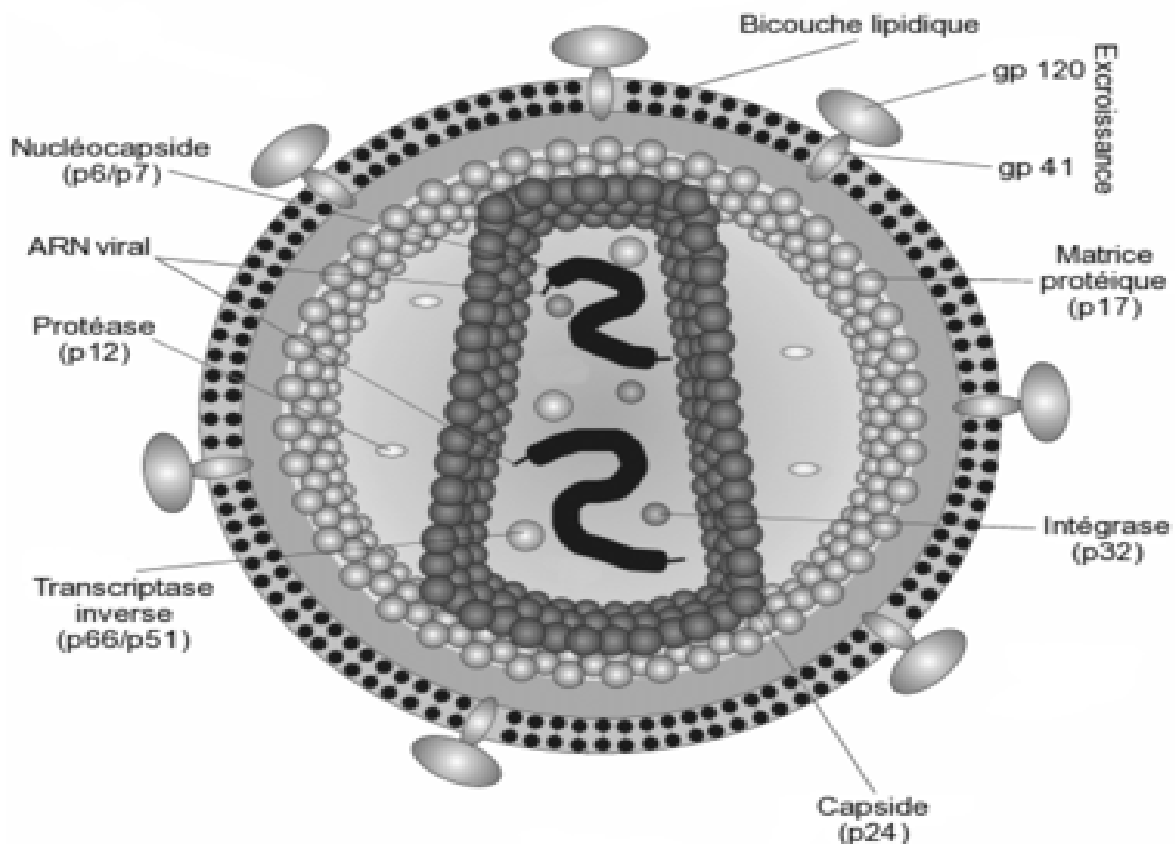
#### Classification classique

- Règne : Virus
- Groupe : Groupe VI
- Famille : Retroviridae
- Sous-famille : Orthoretrovirinae
- Genre : *Lentivirus*
  - Type 1 (*VIH-1*)
- Espèce : {
  - Type 2 (*VIH-2*)

## II- 2 : Structure du VIH

Le VIH a un aspect globalement sphérique pour un diamètre variant de 90 à 120 nanomètres. Il dispose d'une enveloppe composée des restes de la membrane plasmique de la cellule infectée. Cette enveloppe est recouverte de deux types de glycoprotéines : la première est la gp41 qui traverse la membrane; la seconde est la gp120 qui recouvre la gp41. Une très forte liaison existe entre la gp120 et le récepteur des marqueurs CD4 présents à la surface des cellules CD4+.

A l'intérieur de l'enveloppe, se trouve une matrice protéique composée des protéines p17, la capside composée des protéines p24. (p24, gp41, gp120 sont nécessaires dans les tests de détection du VIH). La nucléocapside est composée de protéines p6 et p7. Le génome du VIH contenu dans la capside est constitué d'un simple brin d'ARN en double exemplaire accompagné d'enzymes tel que la transcriptase inverse (p64), l'intégrase (p32), la protéase (p10).



**Figure 1 :** Structure du VIH

Source : [www.inrp.fr/Access/biotic/immuno/html](http://www.inrp.fr/Access/biotic/immuno/html)



### **I-3: Mécanisme de réplication du VIH**

Les cellules cibles du VIH sont celles présentant des récepteurs CD4 à leur surface. Ainsi les lymphocytes T CD4+, les macrophages, les cellules dendritiques et les microgliales cérébrales peuvent être infectées par le VIH (Institut Pasteur, 1983). La réplication du virus se déroule en plusieurs étapes:

➤ La fixation ou attachement à la cellule cible :

Cette étape repose sur une reconnaissance entre les protéines de la surface virale (gp120) et les récepteurs CD4 de la cellule. Après la fusion avec un récepteur CD4, la gp120 change de conformation et est attirée vers un co-récepteur (CXCR4 pour les lymphocytes et CCR5 pour les macrophages) également présent à côté de la molécule CD4.

➤ La fusion, la pénétration et la décapsidation :

C'est la seconde étape de l'infection intervenant juste après l'union de gp120 avec le co-récepteur. Cette union libère la gp41 qui se fixe sur la membrane cytoplasmique par repli sur elle-même. La gp41 attire l'enveloppe virale vers la membrane cytoplasmique puis la fusion des membranes cellulaire et virale a lieu grâce à un peptide de fusion présent dans gp41. La capsid du VIH pénètre alors dans le cytoplasme de la cellule. Une fois à l'intérieur, la capsid se désagrège libérant les deux brins d'ARN et les enzymes qu'elle contenait. Ainsi, la gp120 est responsable de l'attachement et la gp41 de la fusion, puis de la pénétration au sein de la cellule cible.

➤ La transcription inverse :

Cette étape est spécifique aux rétrovirus. Ces derniers ayant pour génome un ARN et non de l'ADN. Une opération de transcription convertissant l'ARN viral en ADN viral est nécessaire. Cette transcription est réalisée par la transcriptase inverse (TI). Elle parcourt l'ARN viral et le transcrit en une première molécule d'ADN simple brin ou ADN brin (-). Pendant cette synthèse, l'ARN matrice est dégradé par une RNase H portée par la TI. Cette dégradation est totale sauf pour deux courtes séquences riches en purines appelées séquences PPT (Poly purine Tracts). Ces PPT vont servir d'amorces à la TI pour la synthèse du second brin d'ADN, le brin (+) en utilisant l'ADN brin (-) comme matrice. L'ADN final est une molécule bicaténaire.

➤ L'intégration

L'ADN bicaténaire pénètre dans le noyau cellulaire selon un processus actif encore mal compris. Cet import nucléaire constitue une particularité propre aux lentivirus. Pour ce faire, l'ADN bicaténaire est étroitement associé à l'intégrase et d'autres composants

protéiques viraux et cellulaires, dans un complexe appelé complexe de pré intégration. Ce complexe possède la capacité d'interagir avec des éléments de la membrane nucléaire pour traverser cette membrane et accéder à la chromatine cellulaire. L'ADN s'intègre ensuite au hasard dans le génome de la cellule cible sous l'effet de l'intégrase.

➤ La formation de l'ARN messager (ARNm)

Les deux brins d'ADN de la cellule s'écartent localement sous l'effet de l'ARN polymérase. Des bases azotées libres du noyau viennent prendre la complémentarité de la séquence et se polymérisent en une chaîne monobrin: l'ARNm.

➤ l'épissage de l'ARNm

L'ARNm ainsi obtenu est hétérogène; constitué d'une succession d'introns (parties non codantes) et d'exons (parties codantes). Cet ARNm doit subir une maturation pour pouvoir être lu par les ribosomes. Se passe alors une excision des introns pour ne laisser que les exons.

➤ La traduction de l'ARNm

Une fois sorti du noyau, l'ARNm est lu par les ribosomes du RER. Il vient se glisser entre les deux sous unités du ribosome. A chaque codon de l'ARNm, le ribosome attribue un acide aminé. Les différents acides aminés se polymérisent au fur et à mesure de la lecture. Un codon initiateur (AUG) fera débiter la synthèse tandis qu'un codon stop (UAA, UGA, UAG) en marquera la fin.

➤ La maturation

Elle a lieu dans l'appareil de Golgi. Les polypeptides ainsi formés ne sont pas encore opérationnels. Ils doivent subir une maturation dans l'appareil de Golgi.

➤ L'assemblage

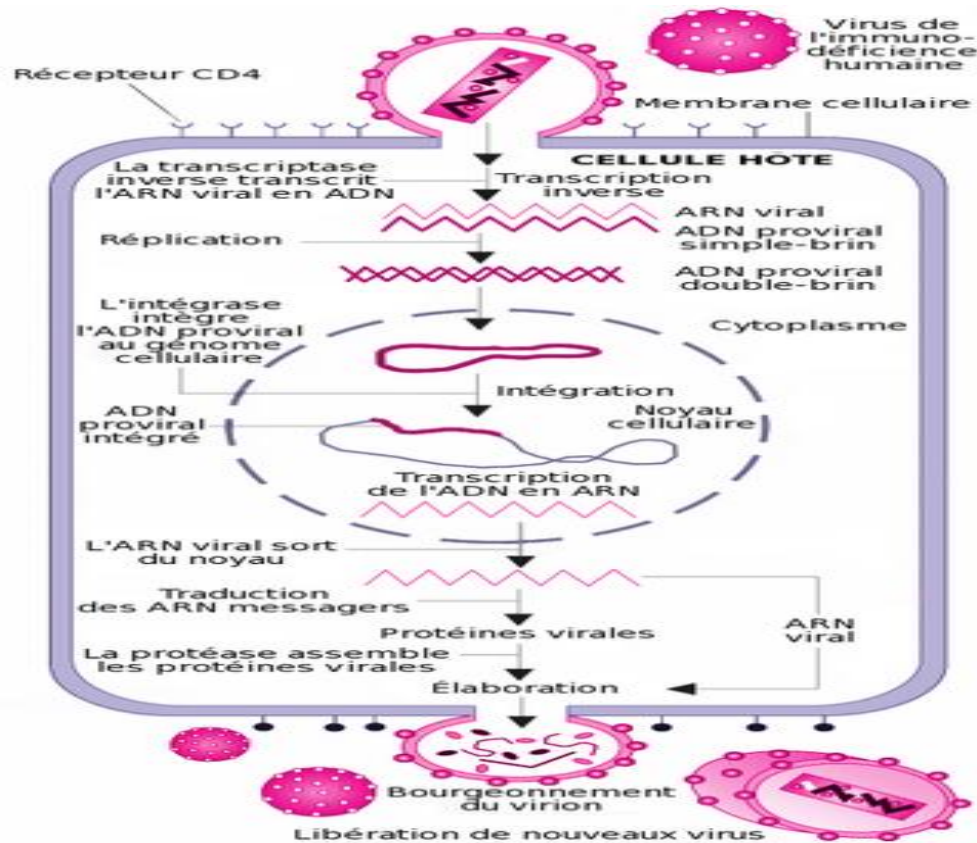
Les protéines de structure du virus (matrice, capsid, nucléocapsid) sont produites sous forme de poly protéines. Lorsqu'elles sortent de l'appareil de Golgi, les différentes protéines sont liées entre elles. Elles sont transportées vers la membrane où elles rejoignent les glycoprotéines virales membranaires. Les ARN viraux rejoignent les protéines virales. Les protéines de structure s'assemblent pour former la capsid et la matrice englobant cet ensemble.

➤ Le bourgeonnement

La capsid sort de la cellule infectée en arrachant une partie de la membrane cellulaire.

➤ La maturation des virus

Une protéase virale doit couper les liens qui unissent les différentes protéines de structure (matrice, capsid, et nucléocapsid) pour que les virions soient infectieux. Suite aux coupures, les virions deviennent prêts à infecter de nouvelles cellules.



**Figure 2 :** Cycle de réplication du virus de l'immunodéficience humaine  
 Source : <http://fr.wikipedia.org/wiki/virus>

#### **I-4: Diversité génétique du VIH**

Le VIH est un virus qui a une très importante variabilité génétique et présente ainsi une très large diversité. Deux types ont été découverts :

Le VIH-1, plus important dans le monde et classé en trois groupes par BRUN et coll. en 1999. Le groupe M (Major group), le groupe O (Outlier group) et le groupe N (Non-M, Non-O group). Le groupe M prédomine largement avec plus de 40 millions de personnes contaminées contre un peu plus de 500 pour le groupe O et seulement 7 pour le groupe N. O et N sont répandus en Afrique centrale selon JEAN en 2005.

Le groupe M comprend 9 sous-types ou clades (A; B; C; D; F; G; H; J et K). si bien que l'infection d'une cellule par des sous-types différents peut entraîner des mélanges de formes constituant des formes recombinantes. Les sous-types du groupe M ne sont pas

répartis uniformément sur toute la planète; ainsi le sous -type B est plus présent en Europe, Amérique, Australie; les sous-types A et C en Afrique et les sous-types C et E en Asie (OSMANOV et *coll.*, 2002).

Enfin, le VIH-2 plus répandu en Afrique de l'ouest. Il est subdivisé en sous -type A et B avec de nouveaux sous -types récemment découverts (C; D et E).

Le génome du VIH est composé de neuf gènes. Les trois principaux sont gag, pol et env qui définissent la structure du virus et sont communs à tous les rétrovirus. Les six autres gènes sont: tat, rev, nef, vif, vpr et vpu (ou vpx pour le VIH -2) qui codent des protéines régulatrices et dont les fonctions ne sont pas connues avec précision.

- gag (gène de l'antigène de groupe) code pour les protéines de la nucléocapside.
- pol (gène de la polymérase) code pour la synthèse de la transcriptase inverse, l'intégrase et la protéase.
- env (gène de l'enveloppe) code pour la synthèse des glycoprotéines d'enveloppe.
  - Origine de la variabilité génétique.

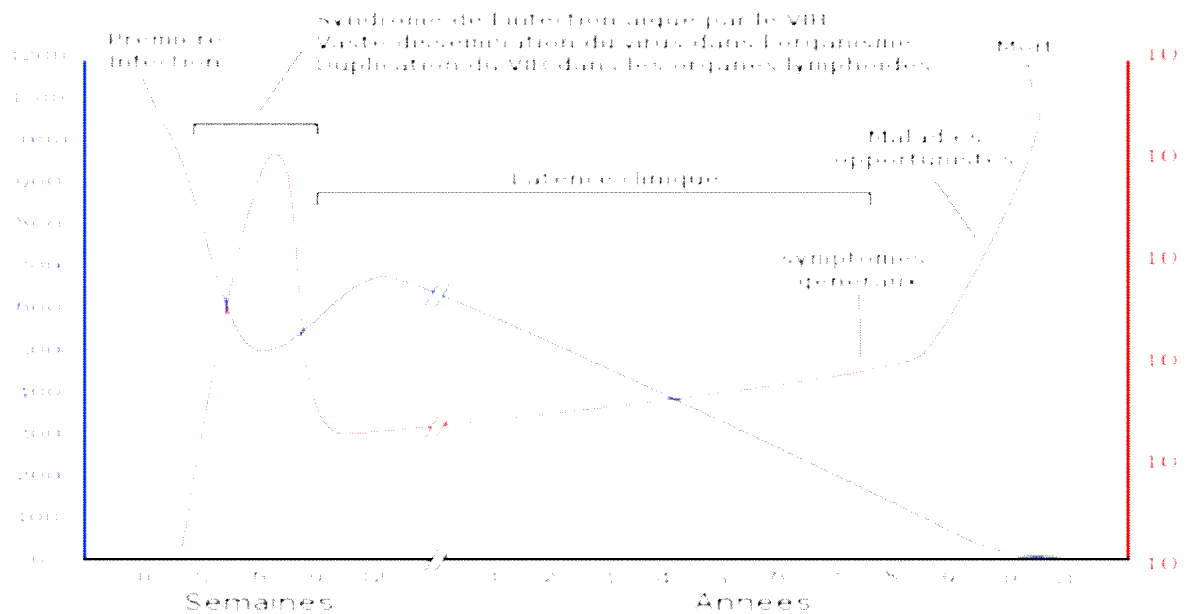
On explique la grande variabilité du VIH par plusieurs causes :

- Des mutations aléatoires dues à la transcriptase inverse incapable de détecter les erreurs de transcription (PRESTON et *coll.* en 1998).
- Les recombinaisons génétiques
- La sélection.

### **I-5: Physiopathologie**

L'infection par le VIH évolue en plusieurs phases :

- La primo-infection avec ou sans symptômes; c'est la phase de séroconversion qui suit la contamination.
- Une phase de latence parfois accompagnée d'un état de lymphadénopathie généralisée.
- Une phase de symptômes mineurs .
- Une phase d'immunodépression profonde ou stade de SIDA.



**Figure 3:** Evolution de l'infection VIH/SIDA:Relation charge virale/nombre de  $LT_4$

- Nombre de lymphocytes  $T_4$  par  $mm^3$  de plasma
- Nombre de copies de l'ARN viral par mL de plasma

Source : <http://www.wikipedia.fr/vih>.

### **I-6: Mode de transmission du VIH de la mère à l'enfant**

L'infection à VIH chez l'enfant selon J. GILLET et *coll.* en 1995, est essentiellement la conséquence d'une transmission dite verticale ou périnatale ; c'est-à-dire de la mère au fœtus ou au nouveau né. La contamination au cours de la grossesse est admise et plusieurs arguments plaident en faveur d'une contamination tardive au troisième trimestre et lors de l'accouchement.

Les facteurs favorisant la contamination materno-fœtale sont : le statut biologique et clinique de la mère, la diminution des  $CD4$  ( $< 200/mm^3$ ), la charge virale élevée selon ROUZIOUX en 1994, l'hypovitaminose A et le déficit en oligo-éléments selon SEMBA et *coll.* en 1999 ainsi que le stade évolutif de la maladie de la future mère.

#### ➤ Mécanisme de transmission et le moment de contamination

La transmission verticale du VIH survient à différents moments de la grossesse ; lors du travail de l'accouchement et de l'expulsion. L'infection transplacentaire peut survenir au cours d'une virémie maternelle ou par l'intermédiaire de cellules maternelles infectées. Le virus peut passer sous forme libre ou de complexe immun. Les systèmes cellulaires et hormonaux du placenta protègent normalement le fœtus ; mais la structure de la barrière trophoblastique évolue au cours de la grossesse et en particulier les dernières semaines de la

gestation où le passage de cellules maternelles est un phénomène quasi -physiologique. Enfin, les contractions utérines pourraient faciliter le passage du virus. La contamination est en général tardive (70% des cas). On peut néanmoins admettre la possibilité d'une contamination au deuxième trimestre et plus rarement au premier trimestre d'après les travaux COURGNAUD et BROSSARD en 1991. La contamination lors de l'accouchement par les voies naturelles relève de mécanismes différents : les micro transfusions materno-fœtales et le contact direct avec les sécrétions cervicales contenant le VIH.

- Les facteurs obstétricaux favorisant la transmission :
  - L'altération du placenta provoquée par l'évolution de la grossesse ou suite à des infections par CMV ou *Toxoplasma gondii* (HOFMAN et coll. 1994).
  - Les contractions utérines et la prématurité du fœtus ; la contamination à ce stade est facilitée par la faible immunocompétence du fœtus, le faible taux d'anticorps acquis et éventuellement par les infections responsables de la prématurité.
  - La rupture des membranes et du mode d'accouchement.

## **II. Historique sur *Toxoplasma gondii***

### **II-1: Présentation du parasite**

*Toxoplasma gondii* a été découvert par NICOLLE Charles et MANCEAUX Laveran en 1908 chez un petit rongeur du nom de *Ctenodactylus gondii* (DENIS en 2002). Initialement méconnu, la publication sur le cycle complet de *T.gondii* fut faite en 1965 par HUTCHINSON W., après que GIROUD et collaborateurs isolèrent en 1953 la toute première souche au Congo.

#### **a) Classification**

Pendant longtemps, la place de *T.gondii* dans l'échelle zoologique a été discutée. C'est un protozoaire à développement intracellulaire obligatoire appartenant au phylum des apicomplexa, à la famille des sarcocystidae selon DENIS en 2002.

- Règne : animal,
- Sous-règne : protistes (protozoaires),
- Embranchement : apicomplexa (sporozoaire),
- Classe : Coccidae

- Ordre : Eimeriidae
- Famille : Sarcocystidae
- Genre : *Toxoplasma*
- Espèce : *gondii*.

## **b) Morphologie**

Chez le chat comme chez les autres vertébrés à sang chaud, on ne peut observer que les stades de multiplication asexuée de *T. gondii* que sont le tachyzoïte et le bradyzoïte. Le sporozoïte se trouve dans l'oocyste sporulé constituant la forme de résistance extracellulaire.

Les stades de tachyzoïte et de bradyzoïte ne sont pas facilement discernables morphologiquement; ils se distinguent par leur vitesse de multiplication et par les modifications morphologiques de la cellule qui les abrite (BEUGNET et *coll.*, 2005).

### **b-1) Caractères communs au tachyzoïte et au bradyzoïte**

Ces stades sont réunis sous le terme de germes infectieux; il s'agit d'éléments en croissant («toxo» qui veut dire arc) mesurant 5-6 µm de long sur 2-3µm et présentant deux extrémités différentes : l'une amincie abritant le complexe apical comportant un conoïde, des rhoptries, des micronèmes et des granules denses, l'autre plus arrondie considérée comme postérieure et contenant le noyau.

Le conoïde est une structure fibrillaire intervenant dans la mobilité du parasite, notamment lors de la pénétration intracellulaire.

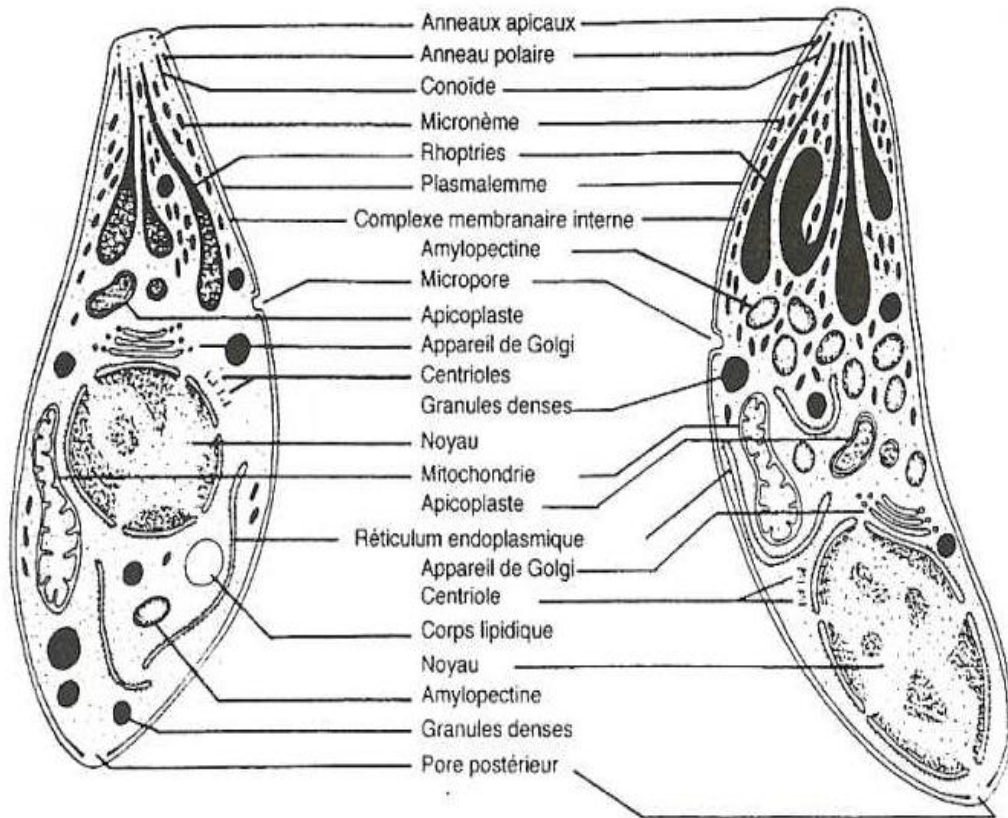
Les rhoptries, les micronèmes et les granules denses sont des organelles à activité sécrétoire.

Le toxoplasme présente en outre les structures classiques des protozoaires : noyau, RE, appareil de Golgi. Une nouvelle organelle de type plastide a été décrite récemment ; il s'agit de l'apicoplaste qui dériverait d'un chloroplaste ancestral provenant de l'endosymbiose avec une algue microscopique. L'apicoplaste a un rôle mal défini, mais constitue une cible intéressante pour les recherches thérapeutiques (FADDEN, 1999).

### **b-2) Caractères distinctifs**

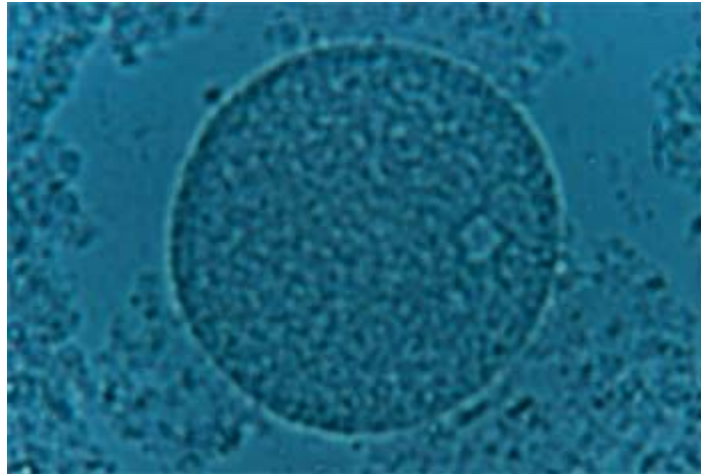
Le tachyzoïte est la forme de multiplication rapide du parasite. Il est observable dans une vacuole parasitophore de la cellule hôte infectée. Cette cellule n'est pas déformée ; elle présente un noyau bien net et constitue le pseudo kyste.

Le bradyzoïte ou cystozoïte est l'élément qui constitue la forme quiescente de multiplication ralentie au sein d'une cellule hôte déformée. Cette cellule représente le kyste qui est l'élément de résistance du parasite dans l'organisme. Il se distingue par un noyau plus postérieur, une plus grande richesse en grains d'amylopectine et en micronèmes.



**Figure 4 :** Structure d'un tachyzoïte (à gauche) et d'un bradyzoïte (à droite) (DENIS,2002).





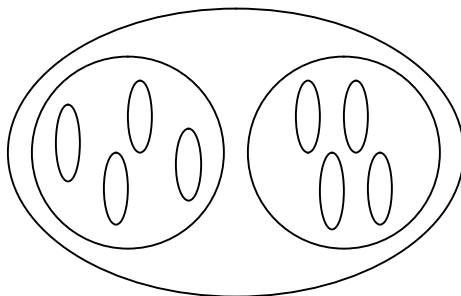
**Figure 5** : Schéma d'un kyste tissulaire renfermant de nombreux bradyzoïtes

Auteur : Dr Marie-Hélène Bessières, CHU de Rangueil, Toulouse, France.

(Source : <http://www.snof.org/maladies/toxoplasmose.html>)

➤ Stade de sporozoïte ou oocyste

Cette forme est l'élément infectant résultant de la reproduction sexuée du parasite. La maturation de l'oocyste se fait au sol et conduit à la formation de deux sporocystes contenant quatre sporozoïtes chacun. Le sporozoïte est peu différent des autres stades infectant ; la microscopie électronique révèle une abondance des micronèmes et de rhoptries. L'oocyste est très résistant sur le sol (BLACK et *coll.*, 2000).

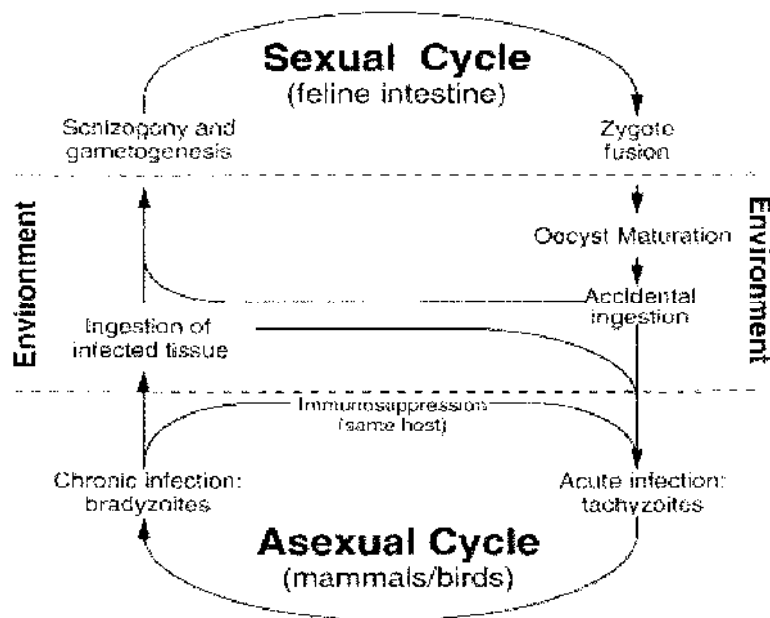


**Figure 6** : Oocyste de toxoplasme

### c) Cycle de développement du toxoplasme

De nos jours il est admis que l'évolution de *T. gondii* se déroule en deux phases :

- Une phase de multiplication asexuée ou cycle hétéroxène qui se déroule chez les hôtes intermédiaires aboutissant à la formation de kystes qui survivent dans certains tissus en particulier nerveux et musculaires.
- Une phase de multiplication sexuée ou cycle mon oxène qui se passe dans l'intestin de l'hôte définitif (chat). Cette phase aboutit à la dissémination par les excréments de l'animal des oocystes qui subissent une maturation dans le milieu extérieur les rendant infestant aux vertébrés supérieurs qui les ingèreraient selon GOLVAN en 1983.



**Figure 7 :** Cycle de reproduction du toxoplasme

Source: Microbiology and Molecular Biology reviews.

### II-2: Diversité génétique de *T. gondii*.

Depuis une quinzaine d'années, les outils techniques disponibles pour l'analyse de la diversité génétique se sont multipliés. Ainsi selon DARDE en 2002, les iso enzymes, tout en restant très informatifs sur le plan génétique ont fait place à diverses techniques d'analyse directe du génome; toutes basées sur la PCR. Pour ce qui concerne le toxoplasme, le décryptage de son génome a révélé vingt quatre mille (24000) séquences. Près de 50

marqueurs du polymorphisme des isolats de toxoplasme ont été décrits jusqu'à présent dont des iso enzymes, des gènes à fonction connue ou non, Internal Genetic Spacers et des microsatellites. Quelles que soient leurs insuffisances, les diverses études ont permis de conclure à une structure clonale de la population de toxoplasme avec trois lignées principales.

### **II-3: Mécanisme d'invasion cellulaire**

L'entrée dans la cellule hôte conditionne la survie du parasite. Ce qui fait de lui un parasite intracellulaire obligatoire. Le bradyzoïte ou le sporozoïte libéré dans la lumière intestinale pénètre dans une cellule hôte intestinale; il devient un tachyzoïte et se multiplie activement. Commence alors une phase d'invasion de l'organisme.

D'après CARRUTHERS et *coll.* en 1997, le tachyzoïte est capable de pénétrer dans n'importe quel type cellulaire en s'attachant dans un premier temps à la membrane de la cellule hôte. Le mécanisme d'attachement repose sur des interactions de type ligand - récepteur. Le caractère non spécifique de cet attachement évoque des récepteurs largement répandus à la surface des cellules hôtes (laminine, glycosaminoglycanes...). La pénétration est un phénomène actif, très rapide (moins de vingt secondes), favorisée d'une part par les mouvements de torsion et de contractions du parasite, d'autre part par diverses sécrétions dont celles prédominantes des rhoptries. Selon TZEN et *coll.* en 2002, les mécanismes entrant en jeu dans l'infectivité du parasite font intervenir différents facteurs dont les signaux MAP kinases (Mitogen Activated Proteins Kinases) fondamentaux dans la voie de signalisation des cellules eucaryotes. Ces signaux participent à la prolifération, à la différenciation et à l'invasion des parasites. Peu de choses sont connues quant à la signalisation de *T. gondii*. En clonant des MAPK du parasite, ils ont trouvé quatre nouvelles protéines ayant des homologies de séquences avec des kinases (présence de domaines très conservés des kinases); deux cyclines dépendantes kinases (CDK2 et CDK7), une MAPK ayant des analogies de structure avec ERK7 (Extra cellular Signal Regulated Kinases 7), et une autre ayant des analogies de structure avec des protéines kinases dépendantes du calcium (CDPK). Les CDPK1 et CDPK2 jouent un rôle dans la motilité et dans l'invasion du toxoplasme dans les cellules.

Après pénétration, le parasite est logé dans une vacuole parasitophore dont la membrane limitante est pratiquement dépourvue de protéine de la cellule hôte. La formation et l'accroissement de la membrane de la vacuole sont le résultat de la sécrétion des granules denses parasitaires. La nature biochimique particulière de cette membrane empêche la fusion avec les lysosomes et permet au toxoplasme de survivre même dans les cellules de type

macrophagique. Les produits de sécrétion des granules denses interviennent également pour former un réseau tubulaire intra vacuolaire qui assure les échanges entre les parasites et le cytoplasme de la cellule hôte.

La sortie de la vacuole parasitophore est également un phénomène actif de même que de la cellule.

La transformation des tachyzoïtes en bradyzoïtes est un phénomène qui intervient très rapidement; ainsi que la transformation de la vacuole parasitophore en kyste. Les premiers bradyzoïtes peuvent apparaître dès 48 heures en culture cellulaire (DENIS, 2002). En l'état actuel des connaissances, l'élément déclenchant de cette transformation est une inhibition de l'activité mitochondriale des parasites sous l'influence des protéines de stress du toxoplasme (Heat- Shock Protein) induites par différents stimuli (IFN  $\gamma$ , NO, élévation du PH (20).

Les kystes peuvent se former dans n'importe quel type cellulaire mais persisteront préférentiellement dans les neurones, astrocytes, les cellules musculaires et les cellules rétinienne. Ils peuvent persister toute la vie de l'hôte; mais à la mort de l'hôte, la paroi du kyste se rompt et les bradyzoïtes sont libérés dans le milieu extracellulaire avec des conséquences variables selon l'état immunitaire du sujet infecté. Si le système immunitaire est efficace, certains toxoplasmes seraient détruits et les autres pourraient se réfugier dans de nouvelles cellules et former de nouveaux kystes.

#### **II-4: Infection des cellules dendritiques dans un modèle in vitro.**

Les cellules dendritiques (DC) présentes dans les muqueuses jouent le rôle de sentinelles dans l'organisme. Elles permettent d'initier une réponse immune spécifique vis-à-vis de pathogènes et de molécules étrangères à l'hôte. Ce sont des cellules présentatrices d'antigènes professionnels qui, une fois l'antigène capté, seront activées et migreront vers les ganglions lymphatiques où elles iront à leur tour, activer les lymphocytes T naïfs.

PERSAT et *coll.* en 2002 se sont intéressés aux conséquences de l'infection de ces DC humaines par *T. gondii*. Un modèle d'étude in vitro a été mis au point en utilisant des DC dérivées de cellules sanguines de cordon dans les conditions expérimentales d'infection par des souches de virulence décroissante respectivement la souche RH et Pru. 48h après, les modifications de phénotype des DC infectées sont déterminées par analyse en cytométrie en flux par l'une ou l'autre souche. Les DC acquièrent un phénotype de DC activées après l'infection par les tachyzoïtes de la souche RH. Cette activation n'est pas retrouvée avec ceux

de la souche Pru ou les tachyzoïtes tués par la chaleur utilisés comme contrôles. La capacité de migration des DC infectées a été testée en chambre de Boyden.

L'infection des DC induit une migration dans tous les cas mais celle-ci est particulièrement importante avec la souche Pru. Ces résultats conduisent à l'hypothèse selon laquelle les tachyzoïtes de la souche Pru seraient capables d'inhiber l'activation des DC infectées. Celles-ci par leur migration pourraient assurer la diffusion des parasites alors que les tachyzoïtes de la souche RH incapables de générer ce blocage de la maturation pourraient induire une réponse immune.

## **II-5: Evolution et pathologie chez l'hôte intermédiaire**

Chez l'homme, l'infection toxoplasmique comprend trois phases:

- Une phase primaire au cours de laquelle le toxoplasme se multiplie au point d'inoculation dans les cellules histiomonocytaires. Il prend la forme de tachyzoïte et les cellules encombrées éclatent libérant les parasites. Il se forme ainsi des lésions inflammatoires, et les formes végétatives diffusent par voie sanguine ou lymphatique dans les viscères et surtout dans les organes riches en cellules du système réticulo-histiocytaire. L'organisme hôte réagit par la production d'anticorps tel que les IgM, IgG, IgA pour supprimer la parasitémie.

- Une phase secondaire au cours de laquelle le système s'immunise. Les formes végétatives sont lysées dès qu'elles sont libérées de leurs cellules hôtes. Cependant, la multiplication se poursuit dans les organes pauvres en anticorps tel que le cerveau et l'œil.

- Une phase tertiaire ou phase de toxoplasmose chronique où les parasites demeurent sous forme enkystée.

### **a) Chez la femme**

La primo-infection est cliniquement inapparente dans 80% des cas (Infections gravido-puerpérales). Cela explique la place prépondérante de la sérologie pour diagnostiquer et dater la contamination maternelle. Parfois, l'interrogation d'une mère ayant présenté une séro-conversion toxoplasmique révèle un épisode d'asthénie très difficile à interpréter en cours de grossesse. Une fièvre le plus souvent non contrôlée par la prise de température est également rapportée. Plus spécifique est la constatation d'adénopathies d'apparition récente, découvertes par la patiente et dont la localisation sous-occipitale est hautement évocatrice mais qui peuvent également intéresser d'autres aires ganglionnaires.

Ces adénopathies sont de taille variable, généralement peu inflammatoire. Sur un plan anatomo-pathologique, il s'agit d'une hyperplasie lymphoréticulaire sans nécrose. Leur date d'apparition confrontée aux résultats sérologiques peut être utile pour dater la séroconversion.

## **b) Chez l'enfant**

L'infection a une expression polymorphe et évolutive chez l'enfant. La gravité est fonction de l'âge de la grossesse au moment de la contamination maternelle. L'infection est généralisée mais persiste plus longtemps dans le cerveau et les yeux du fait de la réponse immunitaire retardée et de la faible capacité de régénération des tissus; il s'agit de la toxoplasmose congénitale (FRENKEL, 2000). La sévérité de l'infection fœtale dépend surtout de l'état de maturité immunitaire du fœtus au moment de la transmission.

Quand l'infection maternelle s'est produite dans les premières semaines, l'atteinte fœtale, rare, est généralement grave et peut conduire à une mort in utero.

Une infection maternelle survenue entre la dixième et la seizième semaine conjugue à la fois une transmission relative fréquente et une atteinte fœtale sévère car elle se produit sur un fœtus encore immature.

Si le risque de transmission s'accroît par la suite pour atteindre près de 100% à terme, la maturation du système immunitaire du fœtus permet de limiter les lésions toxoplasmiques; l'enfant naîtra alors avec une toxoplasmose congénitale bénigne ou totalement infra clinique. Au cours de la vie, un risque de réactivation des kystes en particulier dans rétine. Les risques de foetopathie patente et notamment des lésions cérébrales sont exceptionnels pour les infections survenant après la vingt-sixième semaine selon COUVREUR en 1999.

## **II-6: Méthodes de diagnostic**

Etant donné la difficulté à mettre en évidence le parasite, le diagnostic de la toxoplasmose est habituellement indirect par la détection des anticorps. La recherche du toxoplasme est réservée à quelques cas particuliers comme le diagnostic prénatal ou néonatal ou encore dans un autre contexte au diagnostic chez le patient immunodéprimé ou dans de rares formes sévères de toxoplasmose à l'adulte immunocompétent.

### **a) Diagnostic direct.**

- Recherche microscopique par coloration ou immunofluorescence directe:

La détection directe du toxoplasme par coloration de May Grunwald Giemsa ou mieux par immunofluorescence directe est possible dans des prélèvements tels que le liquide amniotique, le liquide céphalo-rachidien et les lavages broncho alvéolaires. Elles manquent toutefois de sensibilité étant donné le faible nombre de toxoplasmes habituellement présents.

➤ Inoculation à la souris:

Après inoculation des prélèvements pathologiques, les souris infectées ne développent que rarement des signes cliniques. Leur infection, témoin de la présence de toxoplasmes dans le produit inoculé, ne peut le plus souvent être détectée qu'après 3 à 4 semaines par la présence de kystes dans leur cerveau (DENIS, 2002). L'inoculation à la souris fournit donc des résultats tardifs, mais elle conserve des avantages majeurs: une bonne sensibilité (de l'ordre de 70%), une spécificité de 100%, une confirmation objective des résultats de la biologie moléculaire voire une complémentarité des résultats de la PCR et un isolement des souches pour une caractérisation ultérieure.

➤ Culture cellulaire:

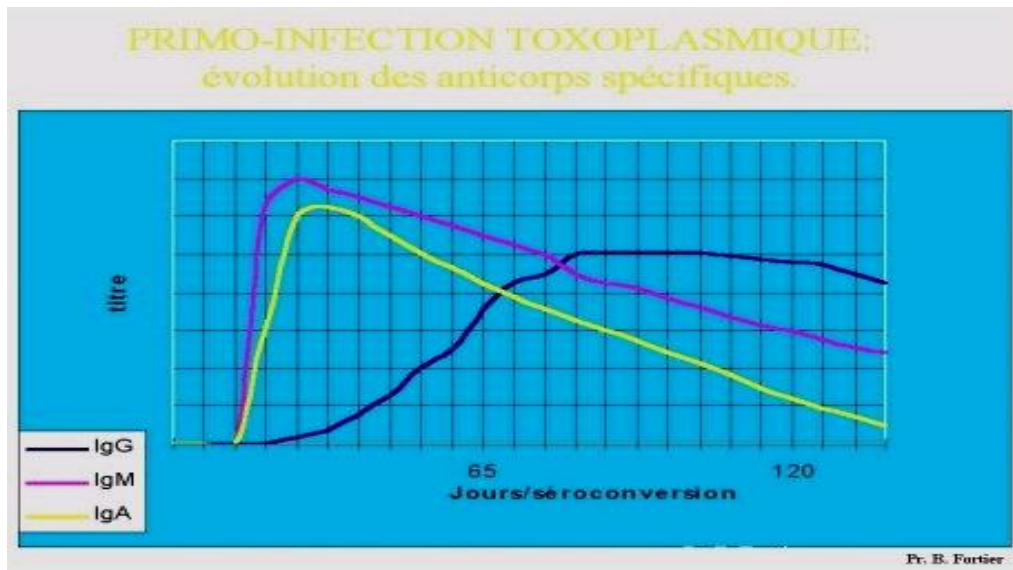
Elle s'applique sur des cellules fibroblastiques de type MRC5, mais d'autres types cellulaires peuvent être employées (cellules TG180). La recherche du toxoplasme en culture cellulaire est une technique rapide (3 à 5 jours); mais de sensibilité inférieure à celle de l'inoculation à la souris et à la PCR.

➤ PCR (réaction de polymérisation en chaîne):

Elle a constitué une avancée considérable pour le diagnostic de la toxoplasmose dans des cas tels que le diagnostic prénatal.

## **b) Diagnostic indirect**

Il s'agit de méthodes sérologiques reposant sur la connaissance de la cinétique et de la spécificité des différents anticorps. Les IgM apparaissent 7 à 15 jours après l'infection. Leur pic est atteint entre 1 et 4 semaines en moyenne, mais parfois beaucoup plus tardivement (18 semaines). Les IgG sont détectés dès la deuxième semaine après l'infection. Leur pic est atteint entre 4 et 8 semaines. L'apparition des anticorps de classe IgA est un peu plus tardive que celle des IgM. Elle est par ailleurs inconstante. Leur pic est généralement atteint entre 3 à 4 semaines et ils restent détectables pendant 4 à 7 mois, mais avec de fortes variations individuelles. Les IgE peuvent également apparaître lors des infections aiguës à des taux faibles. Ils disparaissent rapidement, mais peuvent persister lors de la toxoplasmose évolutive ou réapparaître lors des réactivations. Il n'existe pas de technique pour leur recherche.



**Figure 8:** Evolution des IgM et IgG après infection toxo plasmique.

(Source : <http://arachosia.univ.lille2.fr/labos/parasito/Internat/courspar/toxopl.html>.)

## **II-7: La toxoplasmose**

Il existe trois types de toxoplasmose selon l'origine de la manifestation infectieuse.

### **a) La toxoplasmose acquise**

Cette appellation indique que l'infection toxoplasmique a lieu après la naissance. Les formes cliniques sont inapparentes dans 80% des cas. Elle peut se manifester par des mononucléoses infectieuses caractérisées par une affection d'allure grippale avec un peu de fièvre, des chorioretinites et uvéites. L'examen du fond de l'œil montre une boursoufflure oedémateuse entourée d'un halo congestif avec au centre une nécrose grisâtre. La cicatrisation se fait par atrophie de la lésion et une prolifération du conjonctif donnant ainsi l'aspect d'une plage blanc-nacrée d'atrophie rétinienne. On observe aussi souvent des ganglions cervicaux, une asthénie, des lésions cardiaques, pulmonaires, des symptômes neurologiques tels que les méningo-encéphalites (FOULON et *coll.*, 1999).

### **b) La toxoplasmose congénitale**

Le risque de contamination du fœtus survient lorsque la femme enceinte est en phase septicémique; les parasites peuvent alors coloniser le placenta puis de là parvenir au fœtus. Ce type de contamination ne survient que lorsque la mère contracte la maladie en cours de



grossesse (on parle de toxoplasmose gravidique). Bien que exceptionnellement la réactivation des kystes puisse conduire à une transmission du parasite vers l'enfant. Le risque de passage de la barrière placentaire augmente au cours de la grossesse; il est faible jusqu'au quatrième mois et croît les mois suivants mais en parallèle, les conséquences sont d'autant plus graves que le fœtus est jeune (tant qu'il ne dispose pas de système immunitaire complet). La contamination vers la fin de la grossesse peut conduire à des formes bénignes ou à des formes latentes.

La toxoplasmose congénitale du nouveau né se traduit :

- Soit par la mort du fœtus in utero
- Soit par une encéphalopathie avec des crises convulsives
- Soit par un ictère précoce (DUPOUY et *coll.*, 1993).

### **c) La toxoplasmose de l'immunodéprimé**

Le mécanisme de contamination et les signes cliniques varient en fonction du type d'immunodépression dont souffre le patient.

Dans le cas d'un déficit immunitaire acquis (SIDA), il s'agira d'une réactivation de formes enkystées du parasite qui persistaient silencieuses chez l'hôte immunocompétent. Le risque de cette réactivation est important quand le taux de CD4 du patient devient inférieur à  $100/\text{mm}^3$ . Les signes cliniques se traduisent le plus souvent par des lésions cérébrales, des céphalées, des troubles du comportement et des lésions oculaires.

Dans le cas d'un déficit immunitaire médicamenteux (transplantés ou greffés), il s'agira d'une réactivation de kystes du receveur ou de kystes contenus dans le greffon. Les signes cliniques sont ceux d'une toxoplasmose aiguë disséminée.

La toxoplasmose provoque habituellement trois types de maladies (DUPOUY et *coll.*, 1993):

- La toxoplasmose cérébrale ou encéphalite toxoplasmique provenant de l'infection de la substance grise du cerveau par *T gondii*. Il s'agit de la forme la plus répandue chez les personnes vivant avec le VIH et dont le taux de CD4 est inférieur à  $100/\text{mm}^3$ .
- La toxoplasmose oculaire ou rétinophtalmite toxoplasmique.
- La toxoplasmose pulmonaire ou pneumonie toxoplasmique.

## **II-8: Méthodes prophylactiques**

C'est l'ensemble des moyens pour prévenir l'apparition, la propagation et pour éradiquer une maladie. Elle se fait par des messages de sensibilisation, des traitements médicamenteux et des tests de dépistage.

### **a) Mesures préventives ou prophylaxie primaire:**

Afin de prévenir une infection par *T. gondii*, il est conseillé de:

- Se laver les mains surtout après avoir manipulé de la viande crue, des crudités souillées par de la terre ou provenant du jardin.
- Porter des gants pour jardiner ou pour tout contact avec la terre.
- Faire laver chaque jour le bac à litière du chat avec de l'eau bouillante.
- Bien cuire tout type de viande.
- Laver à grande eau les légumes lors de la préparation.
- Eviter que votre chat ne se contamine en lui refusant de la viande ou du lait cru.
- Conseiller le sérodiagnostic prénatal chez toute femme enceinte.

### **b) Mesures curatives ou prophylaxie secondaire**

Il s'agit de traitements curatifs afin d'éviter toute aggravation ou rechute de la maladie. Le traitement le plus actif est réalisé par l'association Sulfamide plus Pyriméthamine durant 21 jours aux doses de :

- 0,05 à 0,1mg/Kg/24H de Sulfamides (Adiazine).
- 0,5mg/Kg/jour de Pyriméthamine (Malocide).

Ce traitement est réellement efficace mais la Pyriméthamine serait toxique pour l'homme car agissant sur les lignées hématopoïétiques. Il existe également un traitement par des antibiotiques dont la Spiromycine (Rovamycine). Il assure une meilleure protection et n'est nullement toxique si bien qu'il est indiqué pour la protection du fœtus.

## **CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES**

## **I: Les objectifs**

### **I-1: L'objectif général**

C'est l'évaluation de la prévalence de l'infection toxoplasmique chez des femmes enceintes en consultation prénatale au Centre Médical Saint Camille de Ouagadougou.

### **I-2: Les objectifs spécifiques**

- Evaluer la séroprévalence des anticorps antitoxoplasmiques (IgM et IgG) au sein de la population des femmes à sérologie VIH+ ;
- Evaluer la séroprévalence des anticorps antitoxoplasmiques (IgM et IgG) au sein de la population des femmes à sérologie VIH- ;
- Evaluer la prévalence de la co-infection *Toxoplasma gondii*/VIH chez les femmes enceintes à sérologie VIH positif.

## **II: Méthodologie**

### **II-1: Présentation du cadre d'étude : Centre Médical Saint Camille de Ouagadougou.**

C'est un établissement à caractère caritatif disposant d'une maternité, de services pour le diagnostic (radiologie, échographie, laboratoire), d'un service de Soins Maternels et Infantiles (SMI), d'un service de pathologies néonatales, d'un dispensaire pour adulte, d'une pédiatrie, d'une odontodiatrie et d'un dépôt pharmaceutique. Le CMSC héberge depuis 2001 un programme de suivi des personnes vivant avec le VIH/SIDA (PVVIH/SIDA). Il a été fondé en 1967 par des religieux camilliens et se situe dans l'arrondissement de Bogodogo dans le district sanitaire du secteur 30. L'affectation de ses agents reste la seule contribution de l'état burkinabé.

### **II-2: Echantillonnage**

#### **a) La population étudiée**

Si de gros efforts sont fournis pour empêcher la transmission du VIH Mère-Enfant, il revient de souligner l'existence de certaines maladies dont l'infectuosité pourrait avoir des

complications sévères chez les femmes enceintes. Pour ce faire, nous avons orienté notre étude sur les femmes enceintes à sérologie VIH+ et VIH-.

## **b) Les prélèvements**

Nos données ont été obtenues à partir des prélèvements réalisés au laboratoire (Immunologie) et en grande partie des registres du programme PTME. Nous avons ainsi recruté 182 femmes dont 91 à sérologie VIH+ et 91 à sérologie VIH-. Nous rappelons que ces examens ont été demandés par ces femmes pour un meilleur suivi de la grossesse.

Trois techniques de diagnostic ont été appliquées sur les femmes étudiées: les tests de DETERMINE et de TRI-DOT pour le dépistage du VIH ainsi que ELISA pour la détection et le dosage des anticorps anti *Toxoplasma gondii*.

## **II-3: Matériels et Méthodes**

### **a) Matériels**

#### **a-1) les consommables :**

- ✓ Eprouvette graduée de 100ml.
- ✓ Pipette de précision (micropipette à volume réglable).
- ✓ Embouts jaunes et bleus.
- ✓ Gants.
- ✓ Marqueur indélébile.
- ✓ Tubes EDTA.
- ✓ Portoires.
- ✓ Papier hygiénique.
- ✓ Chronomètre.
- ✓ Seringues stériles de 10ml, coton, alcool à 60°, garrot.
- ✓ Cahier, stylos.
- ✓ Poubelle de table.

#### **a-2) Les équipements :**

- ✓ Laveur semi-automatique.
- ✓ Vortex.
- ✓ Papier imprimable.
- ✓ Spectrophotomètre SEAC SIRIOS.

- ✓ Incubateur agitateur.

### a-3) les solutions et réactifs :

- ✓ Kit DETERMINE™.VIH<sup>1/2</sup>
- ✓ Kit VIH TRI-DOT.
- ✓ Eau distillée.
- ✓ Kit Toxo IgM GBC ELISA
- ✓ Kit Toxo IgG EIA

### b) Méthodes

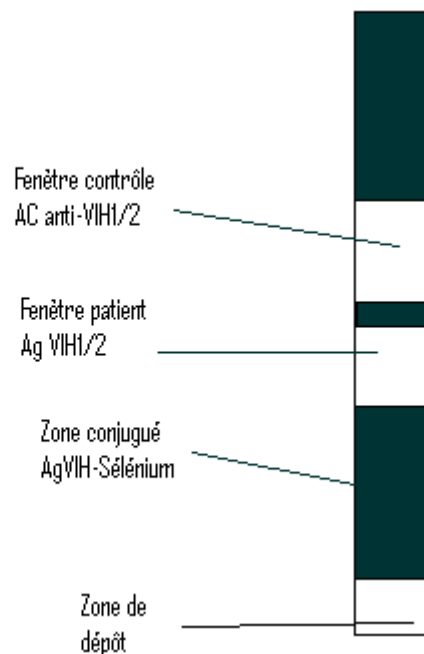
#### b-1) Le DETERMINE™ VIH<sup>1/2</sup>

##### b-1-a) Principe du DETERMINE

Le DETERMINE™ VIH-1/2 est un test immuno chromatographique pour la détection qualitative des anticorps anti VIH-1 et anti VIH-2.

Sur la bandelette (phase solide), est déposé un conjugué antigène colloïde de sélénium. Au cours de la migration de l'échantillon déposé sur la zone de dépôt, il se forme un mélange avec le conjugué et les probables anticorps anti VIH se lient aux antigènes recombinants préalablement immobilisés à la fenêtre - patient entraînant une coloration rouge (bande rouge). Une bande de contrôle de la procédure est incluse dans ce système de détection afin d'assurer la validité du test.

#### Présentation d'une bandelette de DETERMINE



### b-1-b) Procédure du DETERMINE

- Ramener réactifs et échantillons à la température ambiante 30mn avant utilisation.
- Enlever la protection plastique de chaque test.
- Distribuer 50µl d'échantillon à l'aide d'une micropipette sur la zone de dépôt de l'échantillon.
- Attendre 15mn.
- Lire le résultat.

### b-1-c) Interprétation et validation des résultats .

- Le test est validé lorsqu'une bande rouge apparaît dans la zone de contrôle.
- Le test est positif si deux bandes rouges apparaissent: une dans la fenêtre - patient et une autre dans la fenêtre- contrôle.
- Le test est négatif s'il n'apparaît pas de bande rouge dans la fenêtre - patient.

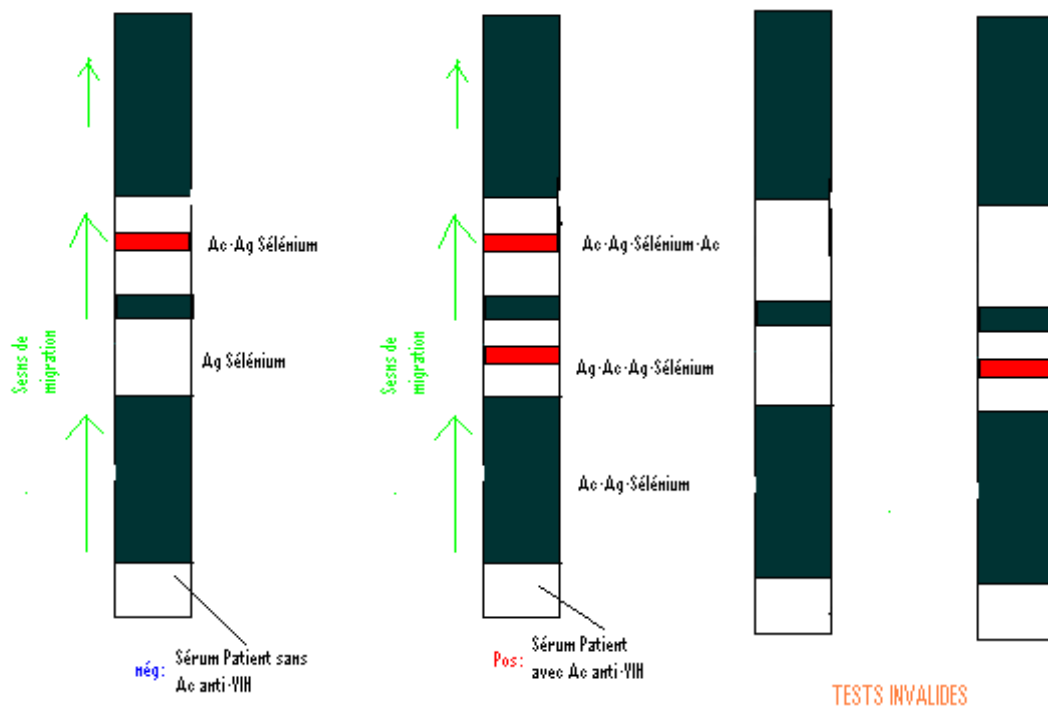


Figure 9 : Validation des résultats obtenus par le DETERMINE

## b-2) Le VIH TRI-DOT

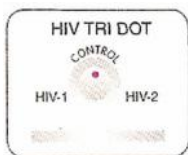
### b-2-a) Principe du TRI-DOT

Les antigènes du VIH sont immobilisés sur une membrane poreuse d'immuno filtration. Les réactifs et plasma passent à travers la membrane et sont absorbés. Dès que se trouvent dans le plasma du patient des anticorps anti VIH, ceux-ci se lient aux antigènes du VIH. Le conjugué protéine-A permet d'effectuer la révélation.

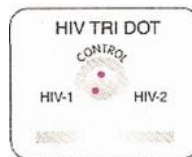
### b-2-b) Procédure du TRI-DOT

- Ramener réactifs et échantillons à la température ambiante 30mn avant utilisation.
- Introduire 3 gouttes de la solution tampon sur la membrane de la savonnette et laisser absorber.
- A l'aide d'une pipette Pasteur, mettre une goutte de plasma sur la membrane et laisser absorber.
- Ajouter 5 gouttes de la solution tampon et laisser absorber.
- Introduire 2 gouttes du conjugué (Protéine -A) et laisser absorber.
- Laver avec 5 gouttes de la solution tampon.
- Lire le résultat.

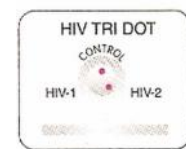
### b-2-c Interprétation des résultats



Test négatif



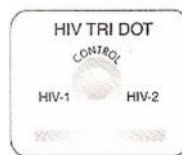
Test positif au VIH -1



Test positif au VIH-2



Test positif aux VIH-1/2



Test non - validé



Test non - validé

**Figure 10 :** Validation des résultats obtenus par le TRI-DOT



### b-3) Le test d'ELISA

#### b-3-a) Principe (IgM ; IgG)

Cette technique est un dosage immuno enzymatique sur phase solide dite technique ELISA indirecte, basée sur la spécificité du complexe antigène-anticorps. La phase solide (microplaque) est sensibilisée par un antigène recombinant de *T. gondii* auquel se fixera l'anticorps correspondant. Un second anticorps monoclonal marqué à la peroxydase, spécifique au premier anticorps est utilisé comme conjugué. La présence du complexe immunitaire (Ag toxoplasmique-Ac sérique-Conjugué) est révélée par addition d'un substrat de la peroxydase engendrant une coloration. L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotomètre et est proportionnelle à la concentration en anticorps sériques fixés.

#### b-3-b) Procédure

Peu avant l'emploi, les réactifs, les plasmas sont sortis de leurs emballages et ramenés à la température ambiante, puis vortexés.

- Préparer les solutions de lavage (au 1/20).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blanc	E- 4	E-12	E-20	E-28	E-36	E-44	E-52	E-60	E-68	E-76	E-84
B	Contrôle Négatif	E- 5	E-13	E-21	E-29	E-37	E-45	E-53	E-61	E-69	E-77	E-85
C	Standard 1	E-6	E-14	E-22	E-30	E-38	E-46	E-54	E-62	E-70	E-78	E-86
D	Standard 2	E-7	E-15	E-23	E-31	E-39	E-47	E-55	E-63	E-71	E-79	E-87
E	Contrôle Positif	E-8	E-16	E-24	E-32	E-40	E-48	E-56	E-64	E-72	E-80	E-88
F	E-1	E-9	E-17	E-25	E-33	E-41	E-49	E-57	E-65	E-73	E-81	E-89
G	E-2	E-10	E-18	E-26	E-34	E-42	E-50	E-58	E-66	E-74	E-82	E-90
H	E-3	E-11	E-19	E-27	E-35	E-43	E-51	E-59	E-67	E-75	E-83	E-91

**Figure 11 : PRESENTATION DE LA MICROPLAQUE ELISA**

### **b-3-b-1) Dosage des IgM avec le kit GBC Toxo IgM ELISA**

- Faire une dilution (1/40) des échantillons, contrôle négatif, les standards, contrôle positif en ajoutant 5µl de chacun dans 200µl du diluent.
- Déposer 100µl de la solution de dilution dans tous les puits selon le plan.
- Recouvrir la plaque avec du papier adhésif et incuber pendant 30mn à 37° c.
- Laver trois fois.
- Introduire 100µl du conjugué dans tous les puits.
- Recouvrir avec le papier adhésif et incuber 30mn.
- Laver trois fois.
- Introduire 100µl du substrat dans les puits .
- Recouvrir avec le papier adhésif et incuber 15mn.
- Introduire 100µl de la solution d'arrêt (HCl à 1N) .
- Lire au spectrophotomètre à 450nm.

### **b-3-b-2) Condition de validité du test :**

Blanc: DO < 0,250UI/ml

Standards: DO < 0,250UI/ml.

Pour chaque femme, le résultat du test est :

- ✓ Négatif si DO < 0,9
- ✓ Positif si DO > 1 et Douteux si 0,91 < DO < 0,99.

### **b-3-b-3) Dosage des IgG avec le kit Toxo IgG EIA :**

- Introduire 100µl de diluent dans tous les puits (coloration verte) .
- Introduire 100µl des contrôles négatif et positif et des standards .
- Introduire 5µl de chaque plasma et vortexer .
- Recouvrir la plaque avec du papier adhésif et incuber pendant 30mn à 37°c.
- Laver trois fois.
- Introduire 100µl du conjugué (coloration rouge) dans tous les puits.
- Recouvrir la plaque avec du papier adhésif et incuber pendant 30mn.
- Laver trois fois.
- Introduire 50µl du substrat A et 50µl de B dans tous les puits (coloration bleue dans les puits à plasma positif).
- Recouvrir avec du papier adhésif et incuber 10mn.

- Introduire 50µl de la solution d'arrêt (coloration devient jaune).
- Lire à 450/630nm.

#### **b-3-b-4) Conditions de validité du test**

Blanc :  $DO < 0,05$

Contrôle négatif :  $DO < 0,1$

Standard 1:  $DO < 0,1$

Standard 2:  $0,15 < DO < 0,450$

Contrôle positif:  $DO > 1$ .

Pour chaque femme, le résultat du test est :

- ✓ Négatif si  $DO < 9UI/ml$ .
- ✓ Positif si  $DO \geq 11UI/ml$ .
- ✓ Douteux si  $9 < DO < 11$ .

Les données ont été recueillies et analysées par SPSS16 ainsi que EpiInfo6 , et une valeur de  $p = 0,05$  a été considérée comme significative.

## **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

Au cours de cette étude, nous avons eu l'occasion de nous entretenir avec des médecins sur la situation épidémiologique de la toxoplasmose dans notre pays. Peu de choses sont connues là-dessus. La sérologie antitoxoplasmique n'est pas systématiquement demandée en consultation prénatale mais, conseillée chez les femmes présentant un risque d'infection en cours de grossesse. Le test de dépistage est coûteux de même que la prise en charge médicale. En ophtalmologie des cas (choriorétinites) de toxoplasmose sont souvent rencontrés de même que dans les maternités (malformations, avortements).

## **I. RESULTATS**

### **I-1. Répartition des femmes par classe d'âges**

Les femmes sont âgées de 17 à 43 ans avec un âge moyen de  $27,93 \pm 5,35$  ans. La classe d'âge de 24 à 28 ans est la plus représentée (28,57 %), suivie de celle dont les âges sont inférieurs à 24 (28,02%). Les femmes enceintes dont les âges sont compris entre 28 et 32 représentent 21,98%, et celle d'un âge supérieur à 32 ans représente 21,43%.

**Tableau I : Répartition des femmes par classe d'âges.**

Classes d'âges (en Années)	Effectifs	Pourcentages	Agés moyens
X < 24	51	28,08%	21,65±1,87
] 24 ; 28]	52	28,57%	26,36±1,05
] 28 ; 32]	40	21,98%	30,70±1,06
X > 32	39	21,43%	35,45±2,42
Total	182	100%	27,93±5,35

## I-2. Niveaux scolaires et occupations sociales des femmes enceintes

Soixante huit (68) femmes enceintes de notre échantillon sont illettrées soit 37,36% et quatre vingt dix sept (97) femmes enceintes soit 53,29% sont des ménagères. Soixante dix sept (77) soit 42,31% des femmes sont commerçantes et cinq (5) soit 2,75% ont intégré la fonction publique. Les nombres des illettrées et des ménagères croissent progressivement avec les classes d'âges; pour X < 24, nous avons respectivement 27,45% et 39,21% et pour X > 32, nous avons respectivement 53,85% et 79,49%. Cependant, le nombre des alphabétisées décroît avec les classes d'âges. Pour X < 24 ans, nous avons 72,55% d'alphabétisées; pour les âges compris entre 24 et 28 ans, il y a 69,23% d'alphabétisées; pour les âges compris entre 28 et 32 ans, il y a 57,50% et pour les âges supérieurs à 32ans, nous avons 46,15% de femmes alphabétisées.

**Tableau II : Niveau scolaire et occupations sociales des femmes enceintes**

	Classes d'âges	Nombre	Niveau scolaire des femmes		Fonctions sociales des femmes		
			Illettrées	Alphabétisées	Ménagères	Commerçantes	fonctionnaires
<b>I</b>	X<24	51	14 27,45%	37 72,55%	20 39,21%	30 58,82%	1 1,97%
<b>II</b>	24<X<28	52	16 30,77%	36 69,23%	22 42,31%	27 51,92%	3 5,77%
<b>III</b>	28<X<32	40	17 42,50%	23 57,50%	24 60%	14 35%	2 5%
<b>IV</b>	X>32	39	21 53,85%	18 46,15%	31 79,49%	6 15,38%	2 5,13%
	Total	182	68 37,36%	114 62,64%	97 53,30%	77 42,31%	8 4,39%

**Le t-test donne:**

	Illétrées	Alphabétisées	Ménagères	Commerçantes
<b>I II</b>	0,711 (NS)	0,711 (NS)	0,749 (NS)	0,481 (NS)
<b>I III</b>	0,133 (NS)	0,133 (NS)	0,049	0,024
<b>I IV</b>	0,011	0,011	0,001	0,001
<b>II III</b>	0,245 (NS)	0,245 (NS)	0,092 (NS)	0,105 (NS)
<b>II IV</b>	0,027	0,027	0,001	0,001
<b>III IV</b>	0,312 (NS)	0,312 (NS)	0,060 (NS)	0,045

**I-3. Prévalence de *T.gondii* (IgM et IgG) et VIH par classe d'âges.**

Le tableau III nous présente la prévalence de *T.gondii* (IgM; IgG) et du VIH par classe d'âges. Toutes les classes sont concernées par *T.gondii* et le VIH. La prévalence de *T.gondii* (IgG+) augmente avec l'âge de façon non significative de la classe1 (23,53%) à la classe2 (25%) et de la classe3 (25%) à la classe4 (33,33%).

La prévalence du VIH augmente de façon significative avec l'âge de la classe1 (33,33%) à la classe2 (51,92%).

**Tableau III: Prévalence de *T.gondii* (IgM et IgG) et VIH par classe d'âges**

N° classes	Classe d'âges	Nombre	Sérologie du <i>Toxoplasma gondii</i>				Sérologie du VIH	
			IgG-	IgG+	IgM-	IgM+	VIH-	VIH+
1	X<24	51	39 76,47%	12 23,53%	50 98,04%	1 1,96%	34 66,67%	17 33,33%
2	24<X<28	52	39 75%	13 25%	50 96,15%	2 3,85%	25 48,08%	27 51,92%
3	28<X<32	40	30 75%	10 25%	36 90%	4 10%	18 45%	22 55%
4	X>32	39	26 66,67%	13 33,33%	37 94,87%	2 5,13%	14 35,90%	25 64,10%
Total		182	134 73,6%	48 26,37%	173 95,06%	9 4,94%	91 50%	91 50,00%

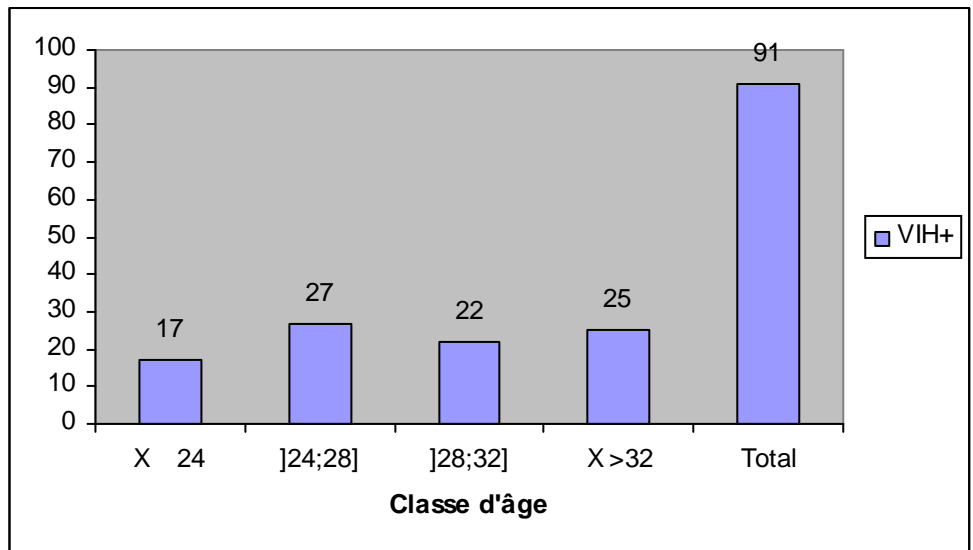
**Le t-test donne :**

	Sérologie IgG+	Sérologie VIH+
1→ 2	0,721 (NS)	0,282 (NS)
1→ 3	0,816 (NS)	0,231 (NS)
1→ 4	0,900 (NS)	0,067 (NS)
2→ 3	0,739 (NS)	0,850 (NS)
2→ 4	1,00 (NS)	0,375 (NS)
3→ 4	0,910 (NS)	0,509 (NS)





**Figure 12 :** Distribution de la séroprévalence IgM, IgG antitoxoplasmique par classe d'âge.



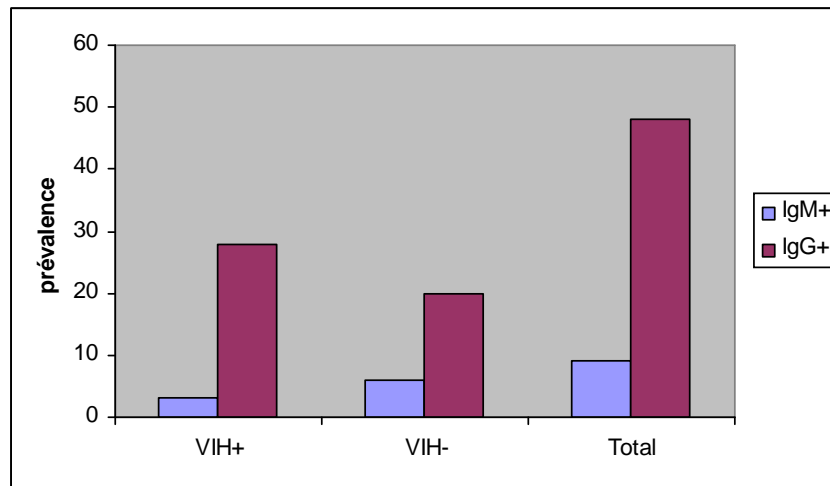
**Figure 13 :** Distribution de la sérologie VIH+ par classe d'âge.

**I-4. Co-infection *T.gondii*/ VIH chez les femmes enceintes**

Neuf femmes ont une sérologie toxoplasmique IgM+ soit 4,95% et 48 femmes soit 26,37% ont une sérologie toxoplasmique IgG+. Il n'existe aucune différence statistique significative des fréquences des IgM+ (P= 0,756) et IgG+ (P=0,179) entre les femmes à sérologie VIH+ et les femmes à sérologie VIH-.

**Tableau IV: Co-infection du VIH avec *T. gondii* chez les femmes enceintes**

		<i>Toxoplasma gondii</i>			
	Nombre	IgM-	IgM+	IgG-	IgG+
HIV-*	91	85/91 93,41%	6/91 6,59%	71/91 78,02%	20/91 21,98%
HIV+°	91	88/91 96,70%	3/91 3,30%	63/91 69,23%	28/91 30,77%
Total	182	173/182 95,05%	9/182 4,95%	134/182 73,63%	48/182 26,37%
		*→ ° P = 0,494	*→ ° p = 0,756	*→ ° P = 0,178	*→ ° p= 0,179



**Figure 14 : Séroprévalences IgM et IgG antitoxoplasmiques chez les femmes enceintes.**

Le T-test en terme d'âges ne révèle aucune différence statistique significative entre les femmes à sérologie toxoplasmique IgM+ ( $30 \pm 5,37$  ans) et IgM - ( $27,51 \pm 4,85$  ans).  $P = 0,137$  ainsi que entre les femmes à sérologie toxoplasmique IgG+ ( $28 \pm 6,03$  ans) et IgG- ( $27,52 \pm 5,20$  ans).  $P = 0,595$ . Par contre, nous avons une différence statistique significative des âges entre les femmes à sérologie VIH+ ( $28,52 \pm 5,66$  ans) et à sérologie VIH - ( $26,78 \pm 4,87$  ans).  $P = 0,027$ .

Enfin, le tableau V ne montre aucune différence statistique significative du nombre des CD4 entre les femmes VIH+ à sérologie toxoplasmique IgM+ (P = 0,378) et IgG+ (0,770).

**Tableau V: Corrélation CD4/Moyenne des âges avec les sérologies de *T. gondii*.**

	Age	P	CD4	P
IgM+	30,00±5,37	0.137 NS	493,3±214,8	0.378 NS
N	9		3	
IgM-	27.51±4,85	0.595 (NS)	382,6±213,2	0.770 NS
N	173		78	
IgG+	28.00±6,03	0.027	398<3±173,2	-
N	48		25	
IgG-	27.52±5,10	0.027	382,9±229,7	-
N	134		56	
HIV-	26.78±4,87	0.027	-	-
N	91		-	
HIV+	28.52±5,66	0.027	387,7±212,9	-
N	91		81	

## II - DISCUSSION

La présente étude effectuée sur les femmes enceintes du Centre Médical Saint Camille a consisté à détecter les anticorps IgM et IgG anti *Toxoplasma gondii*, à déterminer leur sérologie sur le VIH, afin de déterminer la co-infection *T.gondii* / VIH. Elle a concerné 182 femmes parmi lesquelles 91 qui ont une sérologie positive au VIH et 91 une sérologie négative au VIH. Toutes les femmes ont volontairement consenti au conseil ling ainsi qu'au programme du Centre Médical Saint Camille (CMSC) pour une consultation spécifique de leur sérologie afin d'éviter par l'adoption d'une stratégie préventive la transmission verticale du VIH de la mère à l'enfant.

Le toxoplasme est présent sous toutes les latitudes avec cependant des variations de prévalences selon les zones géographiques (climat) ainsi que selon les habitudes nutritionnelles (alimentation) (Darell, 2002).

Dans la population des femmes enceintes que nous avons étudiées, la séroprévalence des IgG antitoxoplasmiques obtenue par le système ELISA est de 26,37% (48/182). Ce résultat est similaire aux données de séroprévalence de certains pays africains : 27,00% en Ouganda (Zumla et coll., 1991); 25% au Sénégal (Dakar) selon Faye et coll.en 1998; 24,5% à Bobo Dioulasso (Millogo et coll., 2000); 21% chez les donneurs de sang au Mali (Maiga et coll., 2001) et 25,3% à Ouagadougou (Simpomé et coll., 2006).

Nous n'avons pas eu la possibilité de dater les infections par le toxoplasme chez ces femmes enceintes ; cela nous aurait permis d'estimer la prévalence toxoplasmique en fonction des saisons afin de déterminer la période de l'année où la contamination à l'homme est élevée.

Par ailleurs, nous avons trouvé une différence de prévalence sérotoxoplasmique entre les femmes enceintes à sérologie VIH positive et les femmes enceintes à sérologie VIH négative ; soit respectivement 30,77% et 21,98%. Une différence analogue a été constatée en Ouganda : 34% contre 27% (Zumla et coll., 1991) et à Bamako 60% contre 21% (Maiga et coll., 2001).

Cette observation ne surprend guerre car nous n'ignorons pas qu'une infection par le VIH entraîne une immunodéficience chez le patient, ce qui est favorable au toxoplasme responsable de la toxoplasmose, une maladie très fréquente chez les malades du VIH/SIDA (Gutierrez-Zufiaure et coll., 2004).

La similarité des résultats dans nos pays s'explique surtout par le fait qu'en Afrique de l'ouest, le climat chaud et sec est plus ou moins favorable à la survie des oocystes souillant le

sol, mais aussi par la consommation d'aliments, et dans une moindre mesure par le pelage des animaux (chat).

Une sérologie toxoplasmique positive avec une présence d'anticorps IgG uniquement, traduit une infection ancienne par le toxoplasme (séroconversion) (Darell, 2002). Cela signifie que la plupart des femmes enceintes concernées par notre étude et révélées positives aux IgG antitoxoplasmiques soit 26,37% souffrent d'une séroconversion, donc d'une infection probablement contractée avant la grossesse.

La séroprévalence des anticorps IgM anti toxoplasmiques est de 4,94% dans la population des femmes enceintes concernées par notre étude (9/182). Ce taux de prévalence croît avec l'âge de 1,96% pour les âges inférieurs à 24 ans à 10% pour les âges compris entre 28 et 32 ans mais il n'existe aucune différence statistique significative.

Une sérologie toxoplasmique positive avec seulement une présence d'anticorps IgM traduit une infection récente par *T.gondii*. Cette prévalence est faible chez les femmes à sérologie VIH positive soit 3,30% et de 6,59% chez les femmes enceintes à sérologie VIH négative. Cette faiblesse de la séroprévalence des IgM antitoxoplasmiques chez les femmes séropositives au VIH s'explique par le fait que les cas de primo infection sont pratiquement nuls chez ces femmes. En effet, le programme de prévention de la transmission mère enfant du VIH renferme des prises en charge médicamenteuse pour faire frein aux éventuelles infections opportunistes, mais également hygiéniques si bien que le taux de récentes infections est faible.

Selon nos résultats, plusieurs de ces femmes sont illettrées, pauvres et nombreuses ont vécu des avortements spontanés. Nous ignorons quelles raisons expliqueraient ces causes. Aussi, près de 74% des femmes enceintes de notre étude sont à sérologie anti IgG négative si bien qu'en l'absence de stratégies de prévention adéquates, ces femmes risqueraient de contracter le toxoplasme pendant la grossesse. Elles subiraient des avortements et dans le pire des cas engendreraient de bébés malformés. Dans certains pays, il est autorisé l'avortement thérapeutique dans de pareilles circonstances (Wallon et coll., 2002), mais au Burkina Faso, à l'exception des cas de viol, d'inceste ou dans le cas d'une menace de la santé maternelle, l'avortement est interdit (Sawadogo, 1999). A la différence de certaines pratiques traditionnelles africaines qui éliminaient systématiquement les enfants malformés dès la naissance, de nos jours l'enfant est considéré comme un cadeau divin et les parents se doivent de le garder (Simpomé et coll., 2002).

Selon Wallon et coll., en 2002, une éventuelle infection de la mère pendant les huit premières semaines de grossesse constitue un risque d'infection fœtale pouvant entraîner une

interruption spontanée de la grossesse. Il serait donc judicieux de recommander un diagnostic de toxoplasmose congénitale aux futurs parents, leur assurer un traitement immédiat avec la spiramycine, la pyriméthamine ainsi qu'aux sulfamides et une surveillance échographique mensuelle en cas d'infection de la mère. Aussi, il est recommandé d'inclure la lamivudine dans la poly thérapie contre le VIH afin de réduire simultanément les taux de transmission verticale du VIH et *T. gondii* de la mère à l'enfant.

### **III- CONCLUSION GENERALE ET PERPECTIVES**

### **III-1 Conclusion générale**

La toxoplasmose constitue une menace chez la femme enceinte et l'immunodéprimé à cause des risques de complications. Cette étude nous a révélé l'extrême vulnérabilité des femmes enceintes et leurs fœtus à *T. gondii* ainsi qu'au VIH. De plus, l'absence de données épidémiologiques précises ne permet pas de mesurer l'impact réel de cette co-infection sur la santé publique dans notre pays. La séroprévalence IgM estimée à 4,95% et celle de IgG à 26,37% montrent qu'un grand nombre de femmes enceintes sont exposées à une contamination par le toxoplasme.

Pour ces raisons, il est indispensable que les politiques de santé décident de la mise en place d'une surveillance systématique des femmes en cours de grossesse de sorte à empêcher la contamination au fœtus pour de meilleures attentes dans la lutte contre la transmission verticale de *T. gondii*. Dans cette même optique, n'est-il pas nécessaire de formuler des recommandations en matière d'hygiène quand nous savons que les oocystes peuvent être partout, surtout sur les légumes afin d'éviter la contamination alimentaire par le toxoplasme ?

### **III-2 Perspectives**

De notre étude, nous envisageons les perspectives suivantes :

- L'élargissement de cette étude au plan national,
- La détermination des génotypes du toxoplasme circulant dans notre pays.
- La détermination des souches les plus virulentes.
- Le séquençage de ces souches.
- L'étude de la recombinaison génétique entre variants.
- La recherche d'un vaccin anti-toxoplasmose.



**- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**ADOU-BRYN K. D., OUHON J., NEMER J., YAPO C. G. and ASSOUMOU A., 2004.**

Serological survey of acquired toxoplasmosis in woman of childbearing age in Yopougon (Abidjan, Côte d'Ivoire). *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 97: 345-348.

**BERGER F., GOULET V., LE-STRAT and DESENCLOS J. C., 2009.** Toxoplasmosis among pregnant women in France: Risk factors and change of prevalence between 1995 and 2003. *Rev. Epidemiol. Sante Publique*, 51: 241-248.

**BLACK M. W. and BROOTHROYD J., 2000.** Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. Microbiology and molecular biology reviews. Vol 64, n 3, pp: 607-623.

**COURGNAUD V., LAURE F. and BROSSARD A., 1991.** Frequent and early in utero HIV-1 infection. *AIDS Res. HUM. Retroviruses*, 7: 337-341.

**COUVREUR J., 1999.** Le problème de la toxoplasmose congénitale. L'évolution sur quatre décennies. *Presse Med*, 28: 753-757.

**DARRELL W., 2002.** Comprendre le VIH/SIDA: le guide de l'AmFAR. Nouveaux horizons, Paris, 409p.

**DELFRAISSY J. F., GOUJARD C. and BOUE F., 1992.** *Reprod. Hum et Hormones*, 5: 543-556.

**DENIS F., 2002.** Bactéries, Champignons et Parasites transmissibles de la mère à l'enfant. In: Toxoplasmose. Eurotext, Paris, pp 317-347.

**DEROUIN F., 2000.** Génotypage des souches de *Toxoplasma gondii*. *Pathologie et biologie*. Vol.48, N.6, pp : 541-547.

**DUBEY J.P. and LINDSAY D.S., 1998.** Structure of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin Microbiol Rev*, 11: 267-299.

**ELNAHAS A., GERAIS A.S., ELBASHIR M.I., ELDIEN E.S. and ADAM I., 2003.**

Toxoplasmosis in pregnant Sudanese women. *Saudi Med J* 24: 868-870.

**FABIEN B. and DAVID L., 2005.** Toxoplasma gondii: Microneme protein MIC2. *Journal of Biochemistry and Cell biology*, 57: 142-148.

**FADDEN M. G. and ROOS D., 1999.** Apicomplexan plastids as drug targets. *Trends Microbiol*, 7: 28-332.

**FAYE O., LEYE A., DIENG Y., RICHARD-LENOBLE D., & DIALLO S., 1998.** Toxoplasmose à Dakar : Sondage séroépidémiologique chez 353 femmes en âge de procréer. *Bulletin de la société de pathologie exotique* . Vol 91, n3, pp : 249-250.

**FOULON W., PINON J. M., STRAY P. B. and POLLACK A., 1999.** Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis: a multicenter evaluation of different diagnostic parameters. *Am J Obstet Gynecol*, 181: 843-847.

**FOULON W., VILLENA I., STRAY-PEDERSEN B., DECOSTER A. and LAPPALAINEN M., 1999.** Treatment of toxoplasmosis during pregnancy: a multicenter study of impact on fetal transmission and children's sequelae at age 1 year. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 180: 410-415.

**FRENKEL J. K., 2000.** Biology of Toxoplasma gondii. In: Ambroise T, Petersen E, eds. Congenital toxoplasmosis. Scientific background, clinical management and control. Paris: Springer Verlag, 9-25.

**GILBERT R., DUNN D., WALLON M., HAYDE M. and PRUSA A., 2001.** Ecological comparison of the risks of mother-to child transmission and clinical manifestations of congenital toxoplasmosis according to prenatal treatment protocol. *Epidemiol. Infect.*, 127: 113-120.

**GOLVAN Y. J., 1983.** Toxoplasmose. In: elements de parasitologie médicale. Edition Flammarion *Médecine Science*. pp: 320-334.

**GUTIERREZ-ZUFIAURE N., SANCHEZ-HERMANDEZ S., MUNOZ S., MARIN R., and DELGADO N. D., 2004.** Seroprevalence of antibodies against *Treponema pallidum*, *Toxoplasma gondii*, rubella virus, hepatitis B and C virus and HIV in pregnant women. *Enferm. Infect. Microbiol. Clin.*, 22: 512-516.

**HENRION R., 1994.** Le SIDA et le Gynécologue accoucheur. *Contracept. Fertil. Sex*, 22: 15-21.

**HOFMAN P., BONGAIN A. and MICHIELS J. F., 1994** . Histologie du placenta au cours de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine. In *SIDA and Reproduction*, Sauramps Ed, Gillet JY. Et Bongain A. Ed, Second International Symposium on AIDS and Reproduction, 97-102.

**HONORE S., COUVELARD A., GARIN Y.J.F., BEDEL C., HENIN D., DARDE M.L.,**

**JEAN C. P., 2005**. Informations virologiques [archive]. CHU Rouen - Unité de virologie, p5.

**JEAN C. P., 2005**. Informations virologiques [archive]. CHU Rouen - Unité de virologie, p7-8.

**LINDSTROM I., KADDU D. H., KIRONDE F. and LINDH J., 2006** . Prevalence of latent and reactivated *Toxoplasma gondii* parasites in HIV -patients from Uganda. *Acta Trop*,100(3): 218-22.

**MAIGA I., KIEMTORE P. and TOUNKARA A., 2001**. Prevalence of antitoxoplasma antibodies in patients with acquired immunodeficiency syndrome and blood donors in Bamako. *Bull. Exot.*, 94: 268-270.

**MILLOGO A.,KI-ZERBO G.-A.,TRAORE W.,SAWADOGO A.B.,OUEDRAOGO I. and PEGHINI M., 2000**.Sérologie toxoplasmique chez les patients infectés par le VIH et suspects de toxoplasmose cérébrale au centre hospitalier de Bobo -Dioulasso (Burkina Faso).*Bull.Soc. Pathol. Exot.* Vol **93**, n1, pp : 17-19.

**ONUSIDA, 2008**. Rapport sur l'épidémie mondiale de sida 2008.[ **en ligne**].Disponible sur : <http://www.unaids@unaids.org>.

**OSMANOV S., PATTOU C., SCHWARDLANDER B., ESPARZA J. and WHO -UNAIDS, 2002**. HIV Isolation and characterization. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* .

**PESSOA M. G., GAZZARD B., HUANG A. K., BRANDAO -MELLO C. E., CASSETI I. And MENDES-CORREA M. C., 2008**. Efficacy and Safety of entecavir for chronic HBV in HIV/HBV coinfecting patients receiving lamivudine as part of antiretroviral therapy. *Aids*, 22: 1779-1787.

**PRESTON B.D., POIESZ B. J. and LOEB L. A., 1998** . Fidelity of HIV-1 reverse transcriptase. *Science*, 242 (4882): 1168-1171.

**RODIER M. H., BERTHONNEAU J., BOURGOIN A., GIRAUDAU G., AGIUS G., BURUCOA C., HEKPAZO A. and JACQUEMIN J.L., 1995.** Seroprevalences of Toxoplasma, malaria, rubella, cytomegalovirus, HIV and Treponemal infections among pregnant women in Cotonou. *Repub Benin Acta Trop* 59: 271-277.

**ROQUEBERT B., DAMOND F., BRUN-VESINET F. and DESCAMPS D., 2009.** HIV genetic diversity and its consequences. *Pathol. Biol.* 57 : 142-148.

**ROUZIOUX C. H., 1994.** Transmission du VIH de la mère à l'enfant. *Viral.*, 5: 32-35.

**SAWADOGO M. F., 1999.** L'avortement: Ethique et Droit. In congrès de bioéthique in Burkina Faso. [http://www.cerbafaso.org/texts/congres/acte\\_congres99/avortement\\_filiga99.pdf](http://www.cerbafaso.org/texts/congres/acte_congres99/avortement_filiga99.pdf).

**SEMBA R. D. and MIOTTI P. G., 1994.** Maternal vitamin A deficiency and mother to child transmission of HIV. *Lancet.*, 143: 1593-1597.

**SHARENDA L., WILLIAM M. D. and ELIZABETH C., 2009.** Disseminated toxoplasmosis in a patient with undiagnosed AIDS. *Proc(Bayl. Univ. Med. Cent.)*, 22: 20-22.

**SIMPORE J., PIETRA V., PIGNATELLI S. and al., 2007.** Effective program against mother-to-child transmission of HIV at Saint Camille medical centre in Burkina Faso. *J. Med. Virol.*, 79:873-879.

**SIMPORE J., PIETRA V., SAVADOGO A. and al., 2006.** Reduction of mother-to-child transmission of HIV at Saint Camille medical centre in Burkina Faso. *J. Med. Virol.*, Vol., 78:148-152.

**SIMPORE J., SAVADOGO A., NADAMBEGA M. C., ESPOSITO M., 2006.** Toxoplasma gondii, HCV and HBV seroprevalence and co-infection among HIV-positive and negative pregnant women in Burkina Faso. *J. Med. Virol.*, 78: 730-733.

**SIMPORE J. and ILBOUDO M., 2002.** L'anthropologie des Mossi et Défis actuels du Droit à la vie. *Pontificia Academia Pro Vita, Libreria Editrice Vatican*, PP : 168-175.

**SURVEILLANCE, 2008.** Epidemiological fact sheet on HIV and AIDS: core data on epidemiology and response. Burkina Faso. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.unaids.org>.

**UNAIDS 2004, posting date, 2004.** Report on the global AIDS epidemic. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.unaids.org>.

**WALLON M., GAUCHERAND P., AL-KURDI M. and PEYRON F., 2002.** Toxoplasma infections in early pregnancy : consequences and management. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.*, 31 : 478-484.

**WHO, 2005.** La transmission du VIH par allaitement au sein : bilan des connaissances actuelles. [en ligne]. Disponible sur : [http://www.who.int/reproductive-health/docs/hiv\\_infantfeeding/decisionmakers\\_fr.pdf](http://www.who.int/reproductive-health/docs/hiv_infantfeeding/decisionmakers_fr.pdf)

**ZAGHRE W. E., 2005.** Evaluation de la séroprévalence des IgG antitoxoplasmiques au sein des populations à risque au Centre Médical Saint Camille (BF). Mémoire de DEA. Université de Ouagadougou. 59p

**ZUMLA A., SAVVA D., WHEELER R. B., HIRA S. K. and LUO N. P., 1991 .** Toxoplasma serology in Zambian and Uganda patients infected with the human immunodeficiency virus. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 85: 227-229.

**- ANNEXE**

## RESULTATS DES TESTS SEROLOGIQUES DU TOXOPLASME ET DU VIH .

Numéro d'ordre	Sexe	Age	Sérologie Toxoplasmose IgG	Concentration IgG : UI/ml	Sérologie Toxoplasmose IgM	Sérologie VIH
1	F	26	négatif	,	négatif	négatif
2	F	32	positif	29,8	positif	négatif
3	F	23	négatif	,	négatif	négatif
4	F	28	négatif	,	négatif	négatif
5	F	22	positif	200	positif	négatif
6	F	21	négatif	,	négatif	négatif
7	F	23	négatif	,	négatif	négatif
8	F	27	négatif	,	négatif	négatif
9	F	36	négatif	,	négatif	négatif
10	F	23	négatif	,	négatif	négatif
11	F	21	négatif	,	négatif	négatif
12	F	30	négatif	,	négatif	négatif
13	F	22	négatif	,	négatif	négatif
14	F	27	négatif	,	négatif	négatif
15	F	30	négatif	,	négatif	négatif
16	F	33	positif	200	négatif	négatif
17	F	30	négatif		négatif	négatif
18	F	30	positif	151,1	positif	négatif
19	F	32	positif	90,1	négatif	négatif
20	F	39	négatif		négatif	négatif
21	F	26	négatif		négatif	négatif
22	F	21	positif	154	négatif	négatif
23	F	23	négatif		négatif	négatif
24	F	30	négatif	,	négatif	négatif
25	F	25	négatif	,	négatif	négatif
26	F	32	négatif		négatif	négatif
27	F	36	positif	200	négatif	négatif
28	F	27	négatif	,	négatif	négatif
29	F	22	négatif	,	négatif	négatif
30	F	27	négatif	,	négatif	négatif
31	F	39	positif	200	négatif	négatif
32	F	24	négatif		négatif	négatif
33	F	24	négatif	,	négatif	négatif
34	F	31	négatif	,	négatif	négatif
35	F	26	indéterminé	10,4	négatif	négatif
36	F	20	positif	200	négatif	négatif
37	F	32	négatif	,	positif	négatif
38	F	39	négatif	,	négatif	négatif
39	F	32	négatif	,	négatif	négatif
40	F	25	négatif	,	négatif	négatif
41	F	25	négatif	,	négatif	négatif
42	F	32	négatif	,	négatif	négatif
43	F	21	négatif	,	négatif	négatif



44	F	22	négatif	,	négatif	négatif
45	F	25	négatif	,	négatif	négatif
46	F	18	positif	200	négatif	négatif
47	F	28	négatif		négatif	négatif
48	F	37	négatif	,	négatif	négatif
49	F	34	négatif		négatif	négatif
50	F	20	négatif	,	négatif	négatif
51	F	29	positif	152,1	négatif	négatif
52	F	27	négatif	,	négatif	négatif
53	F	34	positif	50,5	négatif	négatif
54	F	26	négatif	,	négatif	négatif
55	F	24	négatif	,	négatif	négatif
56	F	26	négatif	,	négatif	négatif
57	F	28	négatif	,	négatif	négatif
58	F	26	négatif	,	négatif	négatif
59	F	20	positif	105,1	négatif	négatif
60	F	20	positif	104,1	négatif	négatif
61	F	20	négatif	,	négatif	négatif
62	F	29	négatif	,	négatif	négatif
63	F	22	négatif	,	négatif	négatif
64	F	27	négatif	,	négatif	négatif
65	F	31	négatif		positif	négatif
66	F	32	négatif	,	négatif	négatif
67	F	22	négatif	,	négatif	négatif
68	F	25	négatif		négatif	négatif
69	F	32	négatif		négatif	négatif
70	F	23	négatif		négatif	négatif
71	F	23	négatif		négatif	négatif
72	F	21	négatif		négatif	négatif
73	F	34	négatif	,	négatif	négatif
74	F	28	négatif	,	négatif	négatif
75	F	25	positif	171,1	positif	négatif
76	F	21	négatif		négatif	négatif
77	F	26	positif	58,3	négatif	négatif
78	F	17	négatif	,	négatif	négatif
79	F	27	négatif	,	négatif	négatif
80	F	22	négatif	,	négatif	négatif
81	F	18	négatif	,	négatif	négatif
82	F	40	positif	74,1	négatif	négatif
83	F	34	positif	98,6	négatif	négatif
84	F	18	négatif	,	négatif	négatif
85	F	29	négatif	,	négatif	négatif
86	F	43	positif	125,1	négatif	négatif
87	F	33	négatif	,	négatif	négatif
88	F	24	négatif	,	négatif	négatif
89	F	22	positif	85,1	négatif	négatif
90	F	27	négatif	,	négatif	négatif
91	F	21	négatif	,	négatif	négatif
92	F	25	positif	126,6	négatif	positif

93	F	23	négatif	,	négatif	positif
94	F	33	négatif		négatif	positif
95	F	29	négatif	,	négatif	positif
96	F	33	négatif	,	négatif	positif
97	F	33	positif	200	négatif	positif
98	F	27	positif	200	négatif	positif
99	F	28	négatif	,	négatif	positif
100	F	22	négatif		négatif	positif
101	F	25	positif	200	négatif	positif
102	F	27	négatif		négatif	positif
103	F	37	négatif	,	positif	positif
104	F	23	positif	103,6	négatif	positif
105	F	27	négatif	,	négatif	positif
106	F	34	Négatif		négatif	positif
107	F	35	positif	175,1	négatif	positif
108	F	28	négatif	,	négatif	positif
109	F	30	positif	200	négatif	positif
110	F	35	négatif	,	positif	positif
111	F	31	négatif	,	négatif	positif
112	F	25	positif	145,1	négatif	positif
113	F	31	négatif	,	négatif	positif
114	F	31	négatif		négatif	positif
115	F	26	positif	154,1	négatif	positif
116	F	28	positif	75,6	négatif	positif
117	F	26	négatif	,	négatif	positif
118	F	25	négatif		négatif	positif
119	F	31	négatif	,	négatif	positif
120	F	30	négatif	,	négatif	positif
121	F	37	négatif		négatif	positif
122	F	21	positif	190,1	négatif	positif
123	F	23	négatif	,	négatif	positif
124	F	24	négatif	,	négatif	positif
125	F	27	positif	60,5	négatif	positif
126	F	25	positif	200	négatif	positif
127	F	23	négatif	,	négatif	positif
128	F	18	négatif	,	négatif	positif
129	F	32	négatif	,	négatif	positif
130	F	30	négatif		négatif	positif
131	F	32	positif	41,3	négatif	positif
132	F	20	positif	200	négatif	positif
133	F	26	négatif		négatif	positif
134	F	31	négatif	,	négatif	positif
135	F	23	négatif	,	négatif	positif
136	F	21	négatif	,	négatif	positif
137	F	34	négatif	,	négatif	positif
138	F	35	positif	200	négatif	positif
139	F	30	négatif	,	négatif	positif
140	F	37	négatif	,	négatif	positif
141	F	34	négatif	,	négatif	positif

142	F	27	négatif	,	négatif	positif
143	F	25	négatif	,	négatif	positif
144	F	31	positif	180,1	négatif	positif
145	F	27	négatif	,	négatif	positif
146	F	25	négatif		négatif	positif
147	F	29	négatif		négatif	positif
148	F	25	négatif	,	négatif	positif
149	F	26	positif	200	négatif	positif
150	F	26	négatif	,	négatif	positif
151	F	24	négatif	,	négatif	positif
152	F	33	négatif	,	négatif	positif
153	F	33	négatif		négatif	positif
154	F	25	positif	115,1	négatif	positif
155	F	20	positif	105,6	négatif	positif
156	F	27	positif	62,3	négatif	positif
157	F	36	positif	196,1	négatif	positif
158	F	26	négatif	,	négatif	positif
159	F	36	négatif	,	négatif	positif
160	F	30	positif	63,5	négatif	positif
161	F	32	négatif		négatif	positif
162	F	33	positif	200	négatif	positif
163	F	30	négatif	,	négatif	positif
164	F	32	positif	67,1	négatif	positif
165	F	40	négatif	,	négatif	positif
166	F	34	négatif	,	négatif	positif
167	F	36	positif	200	négatif	positif
168	F	35	négatif		négatif	positif
169	F	30	positif	136,1	négatif	positif
170	F	33	négatif	,	négatif	positif
171	F	29	négatif	,	négatif	positif
172	F	31	négatif	,	négatif	positif
173	F	37	négatif	,	négatif	positif
174	F	36	négatif		négatif	positif
175	F	34	négatif	,	négatif	positif
176	F	31	négatif	,	négatif	positif
177	F	26	négatif	,	négatif	positif
178	F	24	positif	200	négatif	positif
179	F	27	négatif	,	négatif	positif
180	F	28	négatif	,	négatif	positif
181	F	19	négatif	,	négatif	positif
182	F	24	négatif	,	négatif	positif