

Ecole Nationale de Medecine et de Pharmacie du Mali

ANNÉE 1983

N 10

**DOSAGE PAR COMPETITION DES FOLATES ET DE
LA VITAMINE B₁₂ SÉRIQUES
CHEZ LA FEMME ENCEINTE**

THESE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 5 MAI 1984
PAR Mlle BINTA KONATE
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Diplôme d'Etat)

EXAMINATEURS

Professeur : Philippe Ranque

Président

Docteur Hama Cissé

Docteur Issa Traoré

Professeur Yaya Fofana

JUGES

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI

ANNEE ACADEMIQUE 1982 -- 1983

Directeur Général	: Professeur Aliou BA
Directeur Général Adjoint	: Professeur Bocar SALL
Secrétaire Général	: Monsieur Sory COULIBALY
Econome	: Monsieur Dioncounda SISSOKO
Conseiller Technique	: Professeur Agr. Philippe RANQUE

PROFESSEURS MISSIONNAIRES

Professeur Sadio SYLLA	: Anatomie
" Francis MIRANDA	: Biochimie
" Michel QUILICI	: Immunologie
" Humbert GIONO-BARBER	: Pharmacodynamie
" Jacques JOSSELIN	: Biochimie
" Jean-Paul MARINEAUD	: Physiologie
" Michel POUSSET	: Matière médicale
Docteur Bernard LANDRIEU	: Biochimie
" Gérard TOURAME	: Psychiatrie
" Jean DELMONT	: Santé Publique
" Boubacar CISSE	: Toxicologie-hydrologie
Madame Paula GIONO-BARBER	: Anatomie -- Physiologie Humaines
" Thérèse FARES	: Anatomie -- Physiologie Humaines.

PROFESSEURS TITULAIRES RESIDANT A BAMAKO

Professeur Aliou BA	: Optalmologie
" Bocar SALL	: Anatomie -- orthopédie -- Traumatologie
" Mamadou DEMBELE	: Chirurgie général
" Mohamed TOURE	: Pédiatrie
" Souleymane SANGARE	: Pncumo -- Phtisiologie
" Mamadou KOUMARE	: Pharmacologie -- Matière médicale
" Mamadou - Lamine TRAORE	: Obstétrique -- Médecine légale
" Aly GUINDO	: Gastro-Entérologie
" Abdoulaye AG-Rhaly	: Médecine Interne
" Sidi Yaya SIMAGA	: Santé Publique
" Siné BAYO	: Histologie -- Embryologie -- Anatomie -- path
" Abdel Karim KOUMARE	: Anatomie -- Chirurgie générale
" Bréhima KOUMARE	: Bactériologie
" Mamadou Koréïssi TOURE	: Cardiologie
" Philippe RANQUE	: Parasitologie
" Bernard DUFLO	: Pathologie médicale -- Thérapeut. Hémato.
" Robert COLOMAR	: Gynécologie -- obstétrique
" Oumar COULIBALY	: Chimie organique
" Adama SISSOKO	: Zoologie
" Boubou DIARRA	: Microbiologie
" Salikou SANOGO	: Physique
" Niamanto	: Mathématiques.

ASSISTANTS CHÈRES DE CLINIQUE

: Parasitologie	Docteur Abderrahmane Sidéye MAIGA
: Microbiologie	Sory KEITA
: Hématologie	Yaya FOFANA
: Santé Publique	Sory Ibrahim KABA
: Seméiologie chirurgicale	Moctar DIOP
: Pédiatrie - Médecine du Travail	Balla GOULIBALY
: Obstétrique	Benitiéni FOFANA
: Dermatologie	Boubaar CISSE
: Pharmacie chimique	Souleymane DIA
: Stomatologie	Yaouba GOULIBALY
: Santé Publique	Sanoussi KONATE
: Gynécologie	Issa TRAORE
: Gynécologie	Mme SY (assistante) SOM
: Microbiologie	Docteur Gérard GAUCHOT
: Anatomie - Seméiologie chirurgicale	Gérard TRUSCHEL
: Galénique - Diététique	Boukassoum HAIDARA
: Urologie	Philippe JONGHERES
: Galénique - Chimie - analytique	Hamadi Mody DIAL
: Galénique	Alfon KEITA
: Galénique	Saïbou MAIGA
: Hygiène du milieu	Monsieur Cheick Tidiane LANDIA
: Gestion-Législation	Docteur Abdoulaye DIALLO
: Botanique - Cryptogamie - Biologie	Professeur N'Golo DIARRA
: Physiologie générale	Souleymane TRAORE

CHARGES DE COURS

Je ~~dé~~die ce travail.....

- A la mémoire de mon père.

La mort t'a cruellement arraché à
l'affection des tiens.

Toi qui de ton vivant nous a enseigné
de tes qualités exceptionnelles.

Toi dont les sages conseils continuent
à nous être utiles.

Toi qui demeure plus que jamais
un exemple de courage et de
persévérance à nos yeux.

Ton absence est amère certes, mais
tu nous a laissé un père : l'union.

Nous nous faisons un devoir de ne
pas décevoir tes espoirs.

Repose en paix, que la terre
te soit légère.

- A ma mère

Toi qui a su et continue de me
combler d'affection, de tendresse et
d'amour, tu es et resteras pour
moi les béquilles du paralytique,
le baton de l'aveugle, la boué du
naufragé.

Ce travail est l'issue de tes multiples
sacrifices, de tes soucis constants
quant, à l'avenir de ta fille.

Sois rassurée de mon
indéfectible attachement et
de ma piété filiale.

.../...

- A mes frères et soeurs.

Que dire, sinon que l'union a toujours
fait la force.

Que tous, nous puissions rester unis dans
un monde où le sens de la grande famille
a tendance à disparaître.

En témoignage de mon profond
amour fraternel.

- A mes neveux et nièces.

Toute mon affection

- A mes cousins et cousines

- A mes oncles

- A mes tantes

- A mes belle-soeurs

En témoignage de ma profonde
gratitude

- A tous mes camarades de promotion.

La réussite est au bout de l'effort
consenti.

Bon Courage.

- A tous mes amis (es)

Acceptez ce modeste travail
en témoignage de notre amitié.

.../...

-- A la famille Hambarké BOCOUM

En témoignage de toute ma
reconnaissance et de mon indéfectible
attachement.

-- A Ami BOCOUM

Plus qu'une amie, j'ai pu découvrir
en toi un autre moi-même.

Puisse la profondeur de l'estime
que tu m'accordes, contribue
davantage à la consolidation de
notre union.

Trouve dans ce travail qui est
également le tien, l'expression
de notre amitié.

- A mes beau-frères

Pour toute mon affection

- Au Professeur Bernard Duflo.

Nous avons apprécié votre courage et
votre abnégation.

Vos conseils et l'importante bibliographie
que vous m'avez apportée et que j'ai pu
exploitée avec intérêt, ont contribué
pour une large mesure
à l'élaboration de ce travail.

Soyez en remercié.

- Au Docteur LE DU.

Pour sa franche collaboration

- Au Docteur Mme Barry F.L.

et à tout le personnel de la P.M.I. centrale.

- A tout le personnel de la Médecine

Nucléaire de l'hôpital du Pt G.

- Docteur B. Sacko

- Melle BA CISSE

- Mme THIAM Astou SOW.

- A tout le personnel du laboratoire d'analyse
de l'E.N.M.P.

- Au Professeur JACQUES JOSSELIN

Le désir ardent que vous éprouvez chaque
année de venir parmi nous, pour dispenser des
cours, témoigne votre attachement à notre école.

La clarté et la profondeur de votre
enseignement, ont contribué pour une
large mesure à notre formation.

Votre gentillesse et votre soutien tant

.../...

moral que matériel ont été d'un apport fort
appréciable dans l'élaboration de ce travail.

Je regrette votre absence dans mon jury
pour présider et juger ce travail qui
est également le votre.

Soyez rassuré de ma profonde
gratitude.

Que son âme repose en paix

- Au Professeur R. WAHL

Vous avez su guider avec délicatesse les premiers pas
du laboratoire R.I.A. de la Médecine Nucléaire de
l'hôpital du Pt G.

Vos qualités humaines exceptionnelles, m'ont permis de vous
approcher et de vous connaître.

Le soutien matériel que vous m'avez
apporté, a contribué à la réussite de ce travail.

Trouvez-y, l'expression de toute ma reconnais-
sance et de mes sincères remerciements.

• A Mme Collo

Qui n'a ménagé ni son temps, ni
sa bonté pour dactylographier ce
travail.

Mes sincères remerciements.

A NOTRE JURY DE THESE

Docteur Hama CISSE

Vous avez été le Directeur de thèse, le Grand-frère, auprès de qui j'ai trouvé les conseils et le courage nécessaire pour en arriver là.

En toute circonstance vous m'avez réservé un accueil plein de bonté, de compréhension et d'indulgence.

Puisse ce travail qui est également le vôtre, vous témoigner de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

Tous mes remerciements à votre sympathique épouse.

Docteur Issa TRAORE

Vous m'avez reçu dans votre service de Médecine Nucléaire sans aucune formalité.

Votre ardeur au travail, votre enthousiasme, vos qualités d'homme conciliant, vos goûts pour le travail raffiné sont pour nous des exemples à suivre.

Trouvez dans ce travail l'expression de mon profond dévouement.

Docteur Yaya FOFANA

Nous nous rejouissons de la confiance que vous avez placée en nous ; en nous acceptant comme élève.

En classe, votre enseignement est des plus simples et des plus accessibles à la compréhension.

Vous nous faites un réel plaisir en acceptant de juger ce travail.

Soyez en remercié.

A notre président du Jury de thèse

Professeur Bréma KOUMARE

Vous nous faites un grand honneur en acceptant
de présider le jury de soutenance de cette thèse.

Soyez en remercié.

SOMMAIRE

	<u>Pages</u>
<u>INTRODUCTION</u>	1
CHAPITRE I	3
<u>METHODOLOGIE</u>	
CHAPITRE II	6
<u>RAPPEL SUR L'ACIDE</u>	
<u>FOLIQUE ET LA VITAMINE B12</u>	
1 - L'acide folique	
1.1. Structure	
1.2. Absorption - métabolisme	
1.3. Fonctions biochimiques et formes coenzymatiques	
2 - La vitamine B12	
2.1. Structure	
2.2. Absorption - métabolisme	
2.3. Fonctions biochimiques	
3 - Besoins et sources en folates et B12	
4 - Interrelations Acide - folique - B12.	
CHAPITRE III	12
<u>DIVERSES METHODES</u>	
<u>DE DOSAGES DE L'ACIDE</u>	
<u>FOLIQUE ET DE LA VITAMINE B12</u>	
1 - Tests indirects	
1.1. Test du FIGLU	
1.2. Autres tests	
1.2.1. Test à la Valine	
1.2.2. Test de la LDH	
1.2.3. Test de Schilling	
1.2.4. d.U Suppression	

- 2 - Dosages physico-chimiques
 - 2.1. Acide folique
 - 2.2. Vitamine B12
- 3 - Dosages microbiologiques
- 4 - Dosages radioisotopiques
 - 4.1. Généralités sur l'analyse par saturation
 - 4.1.1. Principe général
 - 4.1.2. Réactifs utilisés
 - 4.1.3. Méthodes de séparation F/B

CHAPITRE IV

ETUDE DE LA TECHNIQUE UTILISEE

20

- 1 - Principe
- 2 - Protocole
- 3 - Mode opératoire
- 4 - Comptage
- 5 - Particularités du dosage.

CHAPITRE V

RESULTATS ET DISCUSSIONS

25

CONCLUSIONS

36

BIBLIOGRAPHIE

39

ANNEXE

46

INTRODUCTION

Les anémies constituent un problème de santé publique particulièrement chez les populations défavorisées dans les pays pauvres.

Selon l'Organisation Mondiale de la santé, les carences en fer atteignent 700 millions d'individus dans le monde. Parmi cette population, les enfants (20 - 25 %) et les femmes (20 - 40 %) sont les plus touchés (38,40).

Il faut noter le rôle important des carences en fer dans le cas des anémies de la femme enceinte.

De nombreux travaux ont déjà été effectués sur les anémies au Mali (milieu urbain, rural, en quête femme enceinte) par l'équipe du Pr. B. Duflo à l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie (11,14,24,35,42,49).

Dans toutes ces études il n'a pas été possible d'effectuer les dosages sériques des folates et de la vitamine B12, pour évaluer leur place dans les anémies du fait de problèmes techniques (réfrigération poussée en cas de dosage différé, fragilité des deux vitamines) et financiers.

Nous nous proposons dans ce travail d'apporter une contribution à l'étude des anémies en procédant à un dosage radio-isotopique des folates et de la vitamine B12 dans le sérum chez les femmes enceintes.

Notre travail a été grandement facilité par l'installation d'un laboratoire de Médecine Nucléaire dirigé par le Dr. Issa TRAORE à l'hôpital du Point-G. (service de Radiologie).

Ce laboratoire a été installé et équipé grâce à la Coopération de l'Agence Internationale de l'Energie Atomique.

CHAPITRE I

// METHODOLOGIE

Notre enquête a eu pour cadre le Centre de Protection Maternelle et Infantile dénommé P.M.I. Centrale de Bamako-Coura.

- En effet c'est à la P.M.I. Centrale qu'a eu lieu l'enquête "femmes enceintes" de Mars 1981 à Septembre 1981 effectuée par l'équipe du Pr. B. Duflo, dont les résultats ont fait l'objet de thèses à l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie.

- Le personnel aussi bien que les femmes consultantes sont sensibilisés aux problèmes d'enquêtes et sont très coopératifs.

- Enfin par sa situation géographique dans le district de Bamako, cette P.M.I. jouit d'une affluence importante de femmes enceintes (et allaitantes).

L'enquête s'est déroulée du 9 Mai 1983 au 9 Janvier 1984.

1) EXAMENS :

Nous avons procédé à des examens cliniques et biologiques pour tous les sujets étudiés ; dont les détails sont mentionnés sur la fiche d'enquête (voir en annexe).

Malheureusement, il n'a pas été possible d'exploiter statistiquement l'ensemble des paramètres.

- Les bilans hématologiques et biochimiques (numération des globules rouges, et éventuellement des réticulocytes, dosage de l'hémoglobine, hématocrite, détermination du volume globulaire moyen : V G M, de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine C C H M) ont été effectués au Laboratoire de l'E.N.M.P.

- La lecture des gouttes-épaisses a été effectuée au Laboratoire du Pr. RANQUE avec la Coopération du Dr. LE DU.

- Le dosage des folates et de la vitamine B12 a eu lieu en Médecine Nucléaire (Laboratoire R.T.A.) à l'hôpital du P.T.G.

Les prélèvements sanguins ont été répartis sur deux sortes de tubes : un tube avec anticoagulant (E.D.T.A.) pour l'hématologie et un tube sec pour la sérologie.

2) SUJETS ETUDES

Les femmes enceintes ont été recrutées selon leur date d'arrivée à la P.M.I. pour des consultations prénatales.

Nous avons constitué 3 groupes

- 50 femmes enceintes du 1er trimestre (1 à 3 mois de grossesse)

- 50 femmes enceintes du 2^e trimestre (4 à 6 mois de grossesse)
- 50 femmes enceintes du 3^e trimestre (7 à 9 mois de grossesse).

En plus de ces 150 gestantes, a été formé parallèlement un groupe témoin de femmes non enceintes, parmi le personnel de l'hôpital du PT-G, les élèves et étudiantes de l'Ecole des Infirmiers du 1^{er} cycle du PT-G et de l'E.N.M.P.

CHAPITRE II

RAPPEL SUR L'ACIDE FOLIQUE

ET LA VITAMINE B12

1 - L'ACIDE FOLIQUE

1.1 STRUCTURE

Découvert pour la première fois en 1941 dans les feuilles d'épinards (spinacea oleracea, chenopodiacées), l'acide folique ou folacine ou acide ptéroyl-monoglutamique est formé par l'existence d'une liaison peptidique entre le groupe-carbonyle de l'acide 2 - amino - 4 hydroxyptéroïque ou acide ptéroïque et la fonction gamma-aminique de l'acide glutamique (fig.1).

Dans la nature, il existe surtout sous forme de polyglutamates dont les plus répandus sont les tri et tétra ptéroylglutamates.

1.2 ABSORPTION ET METABOLISME

Le siège de l'absorption des folates est électivement duodéno-jéjunal. Le mécanisme exact du transport et de l'absorption est encore controversé (7) Les polyglutamates alimentaires sont hydrolysés par une ptéroylglutamate hydrolase présente dans la salive, le suc pancréatique, la bile, le duodénum et la muqueuse jéjunale.

On n'exclut pas pour le moment les 2 mécanismes classiques de transport : actif et passif. La participation d'une protéine transporteuse localisée au niveau de la bordure en brosse des entérocytes n'est pas non plus exclue, mais sa présence n'est pas prouvée chez l'homme.

1.3 FONCTIONS BIOCHIMIQUES ET FORME COENZYMATIQUES DE L'ACIDE FOLIQUE (22,34)

L'acide folique, sous la forme de ses dérivés d'oxydo-réduction (fig.2) est indispensable dans plusieurs voies métaboliques où il intervient comme coenzyme dans le transfert des radicaux monocarbonés.

- a) La biosynthèse des purines où le N10-formyl T.H.F. fournit les 2è et 8è atome de carbone.
- b) La transformation de l'acide désoxyuridilique en acide thymidilique (composé nécessaire à la synthèse du D.N.A.) où le N 5 - 10 Méthylène - T.H.F. donne le groupement méthyle.
- c) Intervention de l'acide folique dans le métabolisme des acides aminés.
 - Conversion de l'acide formimino glutanique (FIGLU) en acide glutamique en présence de tétrahydrofolate (accepteur du groupement formiminique.).

- Formation de méthionine à partir de l'homocystéine (la vitamine B12 intervient également)
- Interconversion de la sérine et de la glycine.

Les figures 3 et 4 schématisent les différentes fonctions biochimiques et formes coenzymatiques de l'acide folique.

2 - LA VITAMINE B12

2.1 STRUCTURE

Connue sous le nom de cyanocobalamine, la vitamine B12 a une structure moléculaire complexe avec deux constituants particuliers (fig. 5 et 6).

- Le noyau corrine formé de 4 noyaux pyrroliques dont 2 noyaux sont reliés directement sans pont méthénique.

Un atome de cobalt est fixé par des liaisons de coordinance aux 4 atomes d'azote du noyau corrine.

- Un ribonucléotide contenant le 5,6-diméthylbenzimidazole uni par une liaison inhabituelle α -N-glycosyle à un D-ribose.

Ces deux constituants sont reliés entre eux par coordinance aux 4 atomes d'azote du nucléotide et l'atome de cobalt, et aussi par une liaison ester entre le groupement phosphate du ribonucléotide et une chaîne latérale substituée du noyau corrine.

2.2 ABSORPTION - METABOLISME

La vitamine B12 existe sous forme de complexes protéiques thermolabiles. Elle est libérée de ses complexes par l'acidité gastriques et sous l'action des enzymes gastrointestinales. Son absorption se fait par deux mécanismes (13.23)

- Par transport actif : le siège principal est l'iléon, sur 2 microgrammes de B12, 60 à 80 % sont absorbés à ce niveau. Il nécessite la formation préalable au niveau de l'estomac d'un complexe macromoléculaire : facteur intrinsèque - B12.

C'est ce complexe FI - B12 qui est absorbé au niveau de l'iléon puis libéré dans le courant portal.

Ensuite seulement la B12 est véhiculé par les transcobalamines dont deux sont bien connues : Transcobalamine I et transcobalamine II.

- L'absorption passive qui, elle, se fait par simple diffusion tout au long de l'intestin grêle.

Ce mécanisme d'absorption n'est notable que quand les apports en B12 sont importants.

La vitamine B12 subit un cycle entérohépatique, son élimination se fait principalement par les fecès et l'urine (32).

Les réserves au niveau du foie sont estimées à 3 - 4 mg.

3. SOURCES ET BESOINS EN FOLATES ET VITAMINE B12

3.1 SOURCES

3.1.1. Folates

Les sources alimentaires d'acide folique sont constituées par :

- les légumes :

Ils contiennent plus de 1 mg d'acide folique pour 100 g de poids sec, surtout sous forme de dérivés formylés, parfaitement assimilables.

- la levure
- le foie, le rein
- le lait : surtout le lait de vache qui en contient 55 microgrammes par litre, mais l'acide folique est détruit lors de l'ébullition.

3.1.2. La vitamine B12

La B12 alimentaire est fournie principalement par la viande des ruminants et les produits laitiers (lait, fromage,...). Les végétaux n'en contiennent pas.

3.2. BESOINS

3.2.1. En acide folique

Les tissus humains sont incapables de synthétiser l'acide folique. Le besoin quotidien d'environ 50 microgrammes doit être couvert par l'apport alimentaire.

Ce besoin est surtout accru pendant les périodes de grossesse et l'allaitement.

C'est ainsi que le N.R.C. recommande 0,8 mg/j, tandis que la F.A.O. et l'O.M.S. préconisent 0,4 mg/j en périodes de grossesse ou d'allaitement (39).

3.2.2. En vitamine B12

Les besoins quotidiens en vitamine B12 sont très minimes, de l'ordre de 1 à 3 mg/j pour un adulte normal. Seulement 50 % environ des quantités fournies par l'alimentation sont absorbées au niveau du tractus intestinal.

Pour la femme en période de grossesse ou de lactation, ces besoins sont assez importants.

4 -- INTERRELATIONS ACIDE FOLIQUE-VITAMINE B12

Des liens multiples existent entre les effets biochimiques, pathologiques et thérapeutiques de l'acide folique et de la vitamine B12.

La carence isolée ou associée en acide folique et ou en B12 entraîne une perturbation de la synthèse du D.N.A. pendant que celle du R N A n'est pas touchée.

Il en résulte au-niveau de l'érythropoïèse, un ralentissement de la maturation du noyau des érythrocytes alors que celle du cytoplasme se poursuit normalement.

Cet asynchronisme nucléocytoplasmique aboutit à une cellule de grande taille avec une chromatine "perlée" caractérisant le mégaloblaste (riche en R N A, cytoplasme basophile et une charge normale en hémoglobine).

Les mégaloblastes meurent pour la plupart dans la moelle (avortement médullaire) sans avoir pu donner naissance à un macrocyte.

La conséquence est une érythropoïèse inefficace aboutissant à l'anémie dite mégaloblastique.

Les anémies mégaloblastiques dues à des déficits en acide folique ou en vitamine B12 sont difficiles à distinguer sur le plan hématologique.

La mégaloblastose due à une anomalie de la division cellulaire (trouble de la biosynthèse du DNA replicatif) ne se limite pas à la série erythroblastique. On trouve en effet des anomalies comparables avec gigantisme cellulaire au niveau des lignées granulocytaire et mégacaryocytaire et de toutes les cellules à renouvellement rapide (muqueuses digestives, vaginales...) (9,19).

Un déficit isolé d'une des deux agents vitaminiques peut être corrigé par l'administration de doses importantes de l'autre.

Il n'a pas été possible de monter l'existence d'un rôle direct pour la vitamine B12 dans la synthèse du D N A.

En effet les cobalamines y interviendraient par l'intermédiaire des Coenzymes à acide folique.

Cette interrelation est expliquée par l'hypothèse du piège à méthyl tétrahydrofolate (fig. 7).

- Le méthyl THF ne peut être converti en d'autres dérivés de l'acide folique que par une méthyl - transférase dépendant de la présence de la vitamine B12.
 - L'activité de cette méthyl - transférase est diminuée dans les déficits en vitamine B12.
 - En conséquence, dans les déficits en vitamine B12, le pool total des folates devient exclusivement représenté par du méthyl THF.
 - Il en résulte une diminution des taux de THF, formyl THF et méthylène THF, d'où un ralentissement des réaction qui dépendent de ces coenzymes.
- Ces réactions sont avant tout celles impliquées dans la biosynthèse du

DNA (purine - thymine).

- La mégaloblastose résulte de cette anomalie de la biosynthèse du DNA.

Dans la carence en vitamine B12 il semble que soit également bloqué le transfert du groupement formimine de l'acide formiminoglutamique (FIGLU) sur l'acide tétrahydrofolique au cours de la conversion de l'histidine en acide glutamique.

La vitamine B12 pourrait contrôler la formimine - transférase qui catalyse la réaction.

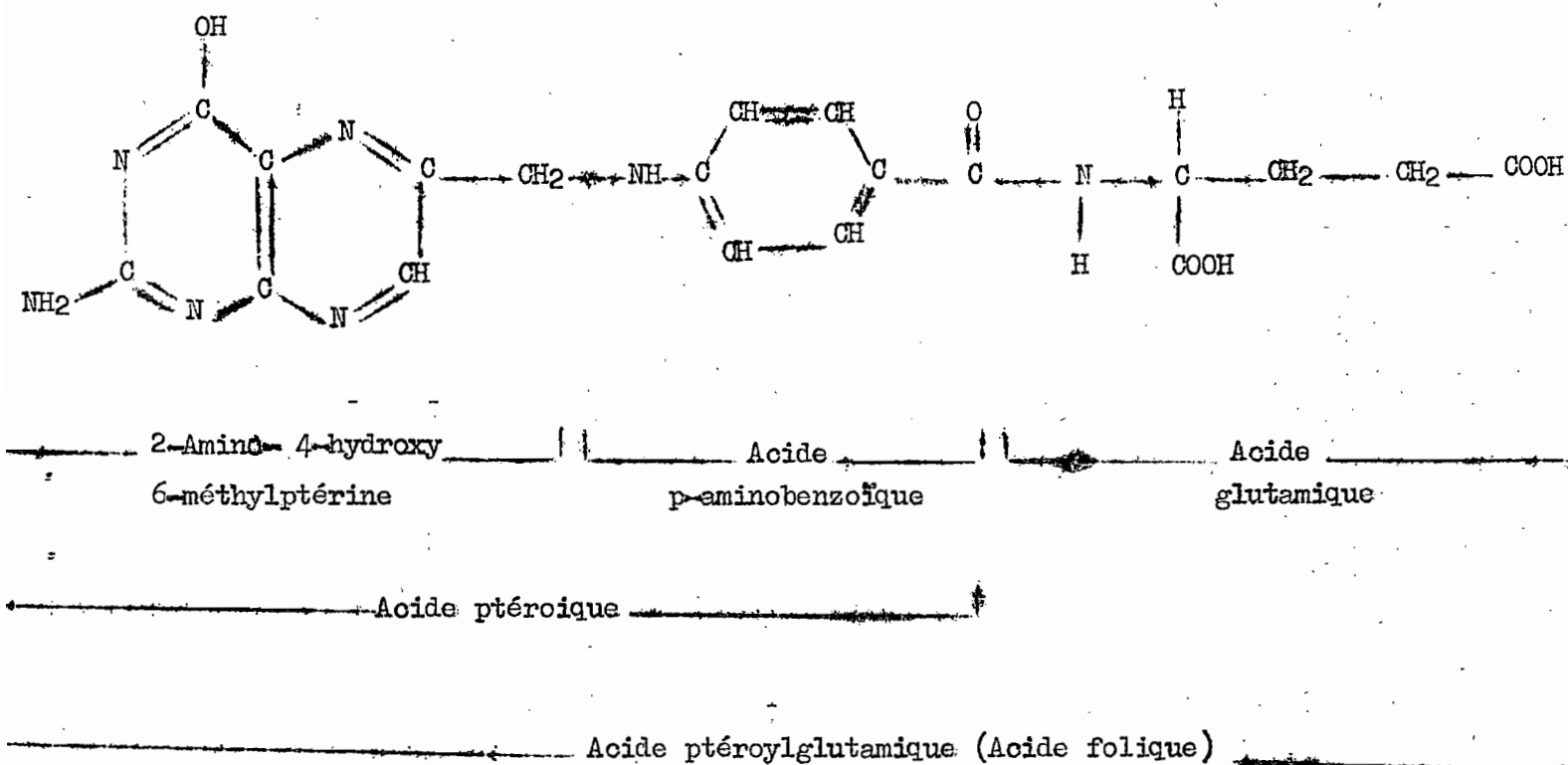


FIG. 1 STRUCTURE DE L'ACIDE FOLIQUE

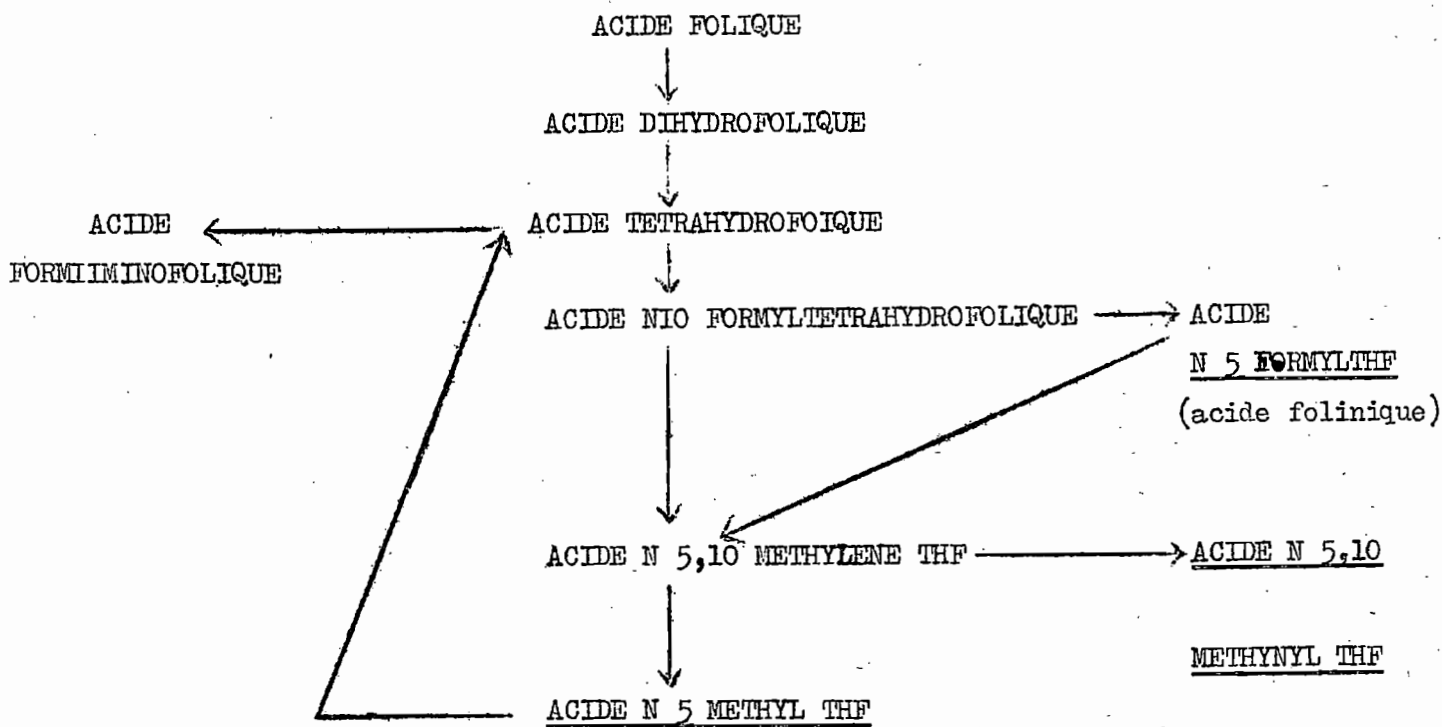


FIG. 2 LES DERIVES D'OXYDREDUCTION DE L'ACIDE FOLIQUE

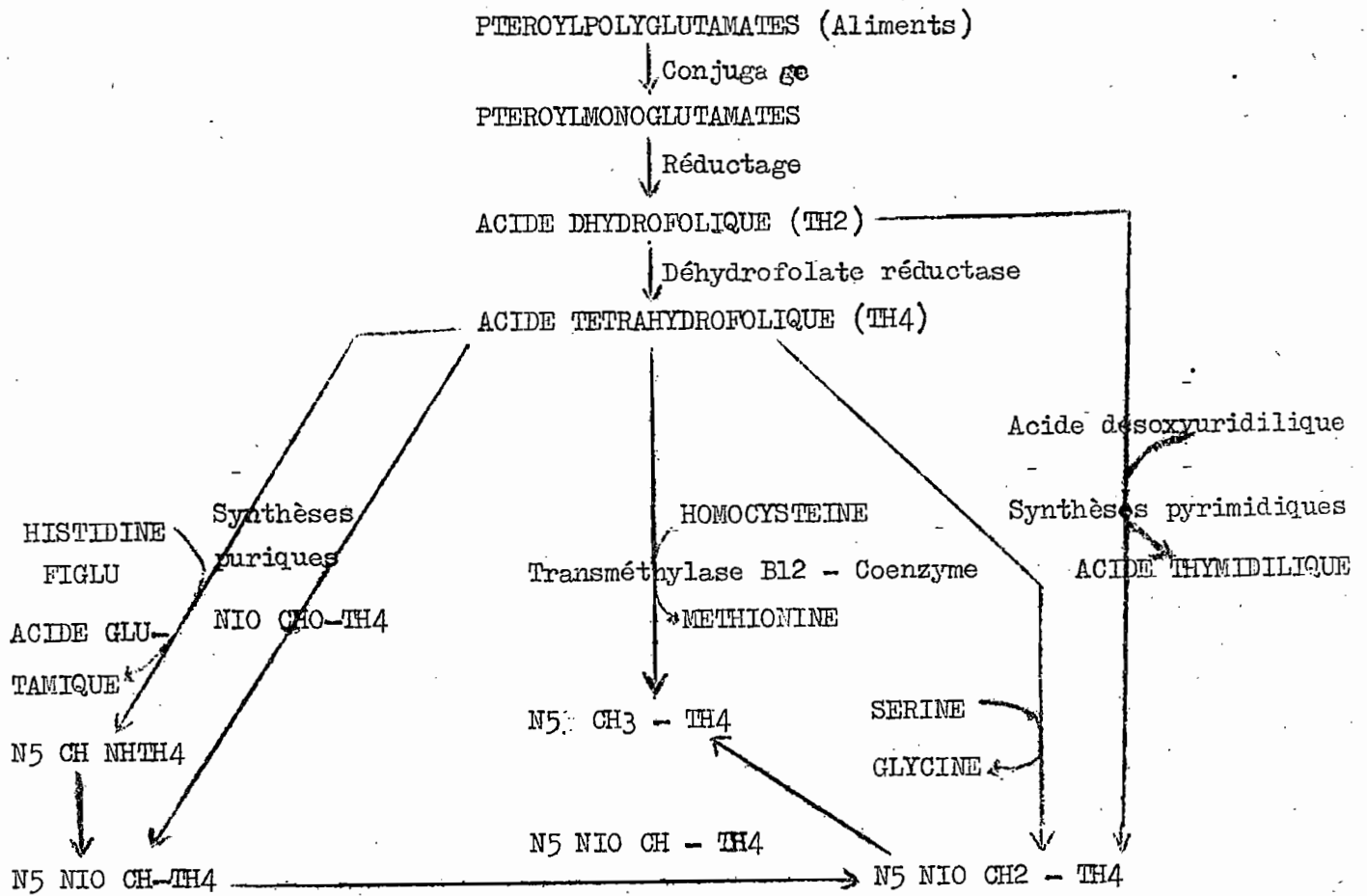


FIGURE 3

Substitution	: Coenzyme	: Activité métabolique impliquée
- CH ₃ en 5	: N ₅ - CH ₃ - FH ₄ : (méthyl)	: Synthèse de la méthionine
- CHO en 5 ou en 10	: N ₅ - Formyl (FH ₄) : (acide folinique) : N ₁₀ - Formyl FH ₄	: Synthèse des Purines
- CH ₂ entre 5 et 10	: N ₅ H ₁₀ CH ₂ = FH ₄ : (méthylène)	: Biosynthèse du thymidilate : interconversion Serine-glycine
- CH = NH en 5	: N ₅ Formimino FH ₄	: Catabolisme de l'histidine
- CH entre 5 et 10	: N ₅ - N ₁₀ = méthonyl : FH ₄	: Biosynthèse des Purines

FIGURE 4

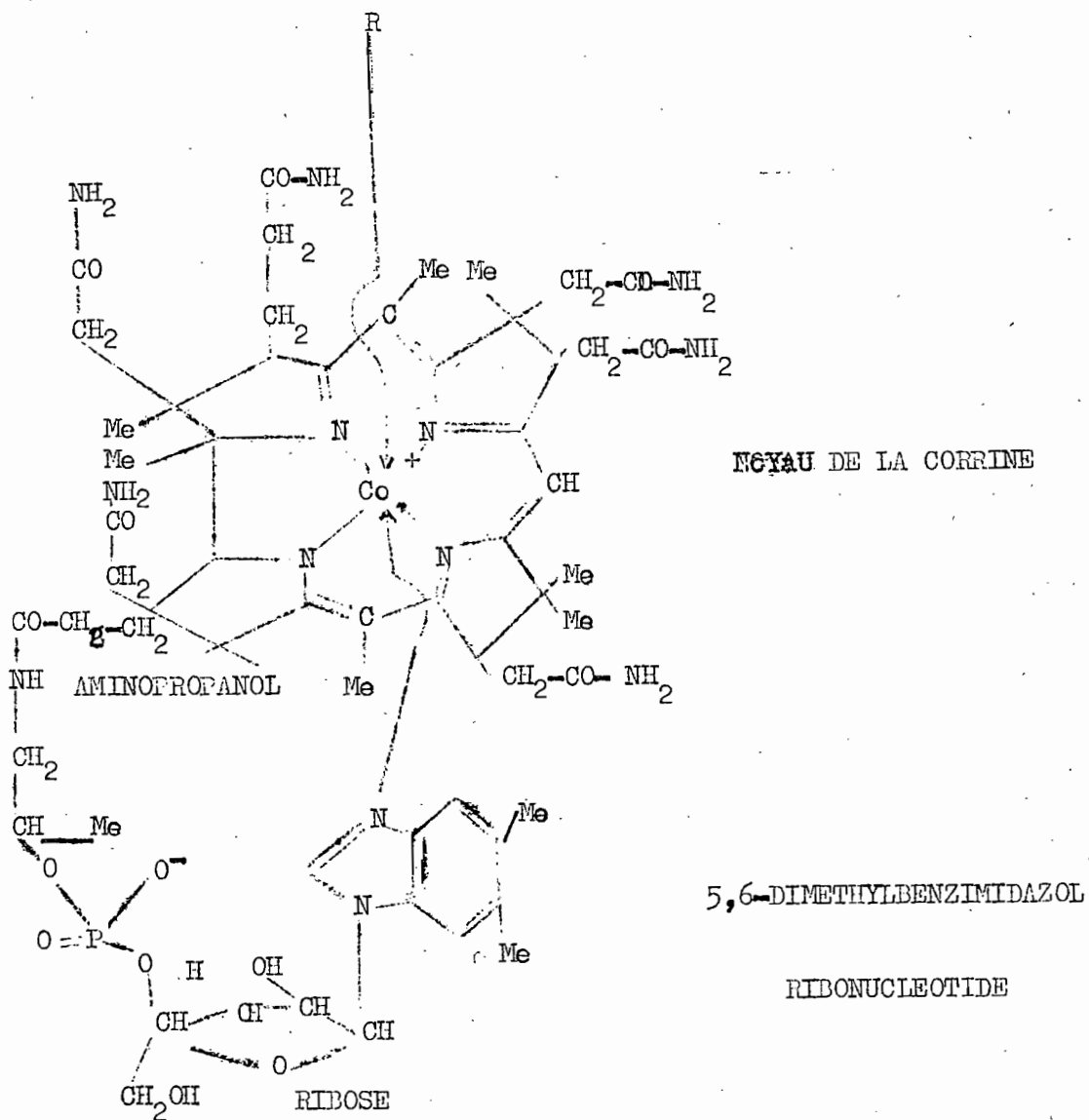


FIG. 5-6 : STRUCTURE DES DIVERSES COBALAMINES

COBALAMINE (COBALAMINE)

SUBSTITUTIONS (R =)	DENOMINATIONS
- CN	Cyanocobalamine
- OH	Hydroxycobalamine
- CH ₃	Methylcobalamine
	5' desoxyadenosyl - cobalamine

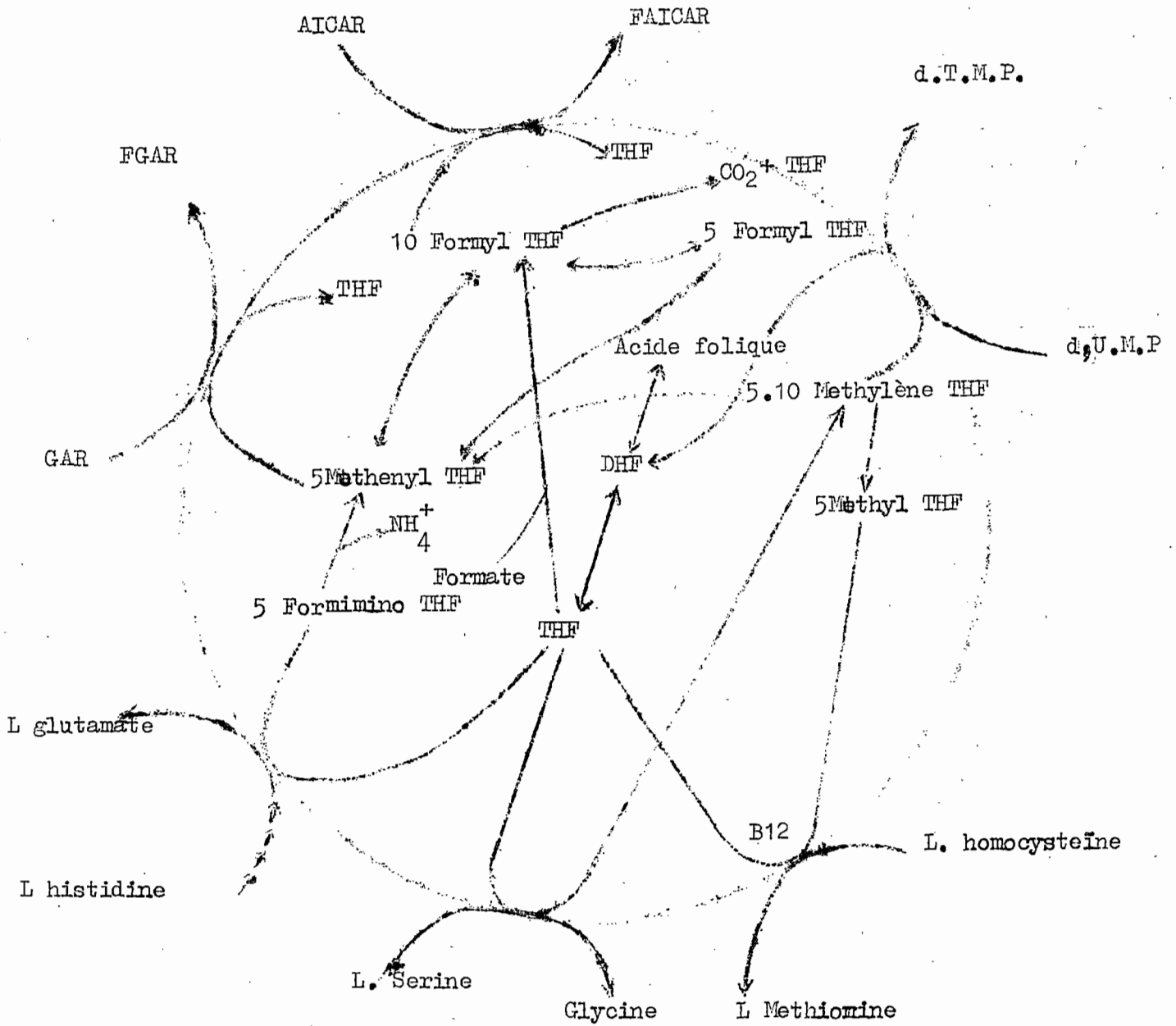


FIG. 7 INTERCONVERSIONS DES COENZYMES FOLIQUES

CHAPITRE III

DIVERSES METHODES DE DOSAGE

DES FOLATES ET DE LA

VITAMINE B12

1 - TESTS INDIRECTS

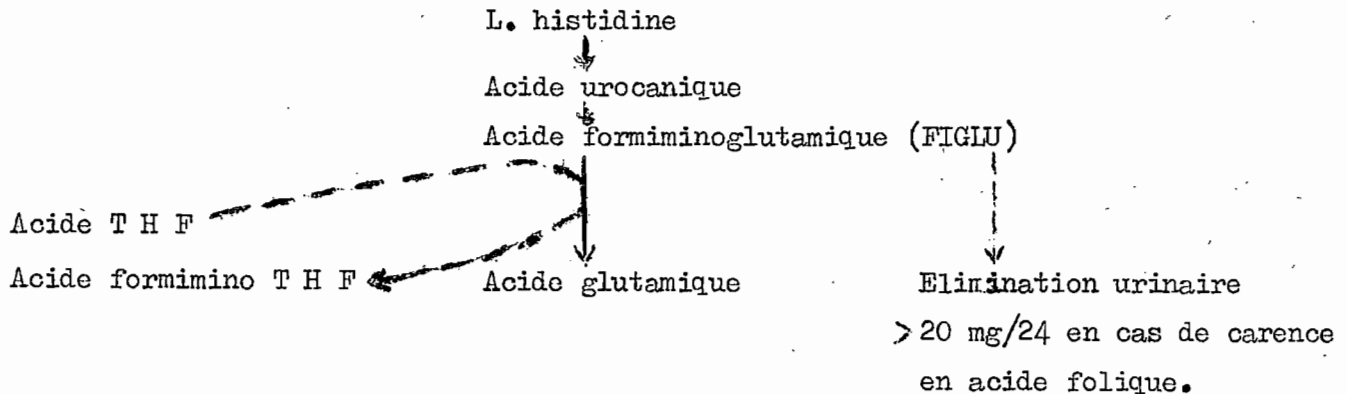
1.1. TEST DE CARENCE : Dosage du FIGLU (acide formiminoglutamique)

En clinique, le plus souvent on peut avoir une idée de la carence en acide folique.

Pendant longtemps, on a utilisé dans ce but le test du FIGLU qui permet de diagnostiquer de façon indirecte, une carence en folate.

L'acide folique étant nécessaire à la transformation de l'histidine en acide glutamique, on donne donc au sujet une charge de 15 g d'histidine et on effectue ensuite un dosage enzymatique du FIGLU dans les urines de 24 h de ce sujet.

(15 g)



Le test peut toutefois être perturbé par une carence en B12 et par une malnutrition protéique.

1.2. AUTRES TESTS INDIRECTS :

1.2.1. Le test à la valine : conduit à une augmentation de l'acide méthyl malonique urinaire en cas de carence en B12.

1.2.2. Le test de la Lactico - Dehydrogénase sérique :

La L D H est augmentée dans les anémies mégaloblastiques du fait de l'hémolyse intramédullaire.

1.2.3. Le test de schilling : ou test de traversée digestive de la vitamine B12. Ce test permet de déterminer une anémie mégaloblastique due à une malabsorption de la vitamine B12.

Il consiste à administrer au malade, une dose traceuse de vitamine B12 marquée au ⁵⁷Co per os. 2 h après, on lui administre 1 000 microgrammes de B12 non radio-active.

Ensuite on dose la radio-activité éliminée dans les urines de 48 h. En cas de

malabsorption, on doit trouver au moins 5 -- 10 % de la radio activité absorbée dans les urines de 48 h.

1.3. "LA DEOXYURIDINE SUPPRESSION" : du suppression

Ce test est basé sur le blocage de l'incorporation de la thymidine tritiée dans le DNA des cellules médullaires quand elles sont mises en préincubation in vitro avec de la déoxyuridine froide (dU).

Ce test a été proposé pour le diagnostic précoce et fonctionnel des carences en folates et en B12. C'est le seul test sensible à notre connaissance qui permette de rattacher de façon sûre une anémie à une carence vitaminique B12 et folates ; même en l'absence des anomalies morphologiques (6,50).

2 - LES DOSAGES PHYSICO-CHIMIQUES

2.1. ACIDE FOLIQUE

Dans les préparations médicamenteuses dont le principe actif est uniquement ou en grande partie constitué d'acide folique, les méthodes de dosage physico-chimiques sont encore utilisées.

L'acide folique présente trois pics d'absorption dans l'ultra-violet en solution alcaline 0,1 N (NaOH).

$$\lambda = 256 \text{ n.m}$$

1 %

$$E_{1 \text{ cm}} = 590$$

$$\lambda = 283 \text{ n.m}$$

1 %

$$E_{1 \text{ cm}} = 575$$

$$\lambda = 365 \text{ n.m}$$

1 %

$$E_{1 \text{ cm}} = 206.$$

L'acide folique est aisément dosé par des méthodes polarographiques ou par scission de la molécule suivie d'une diazotation et d'un dosage colorimétrique.

Les méthodes de dosage physico-chimiques nécessitent une extraction préalable, les solutions extractives doivent être exemptes d'amines aromatiques qui perturbent le dosage.

Dans les milieux biologiques complexes comme le sang, on reste limité principalement par :

- Les taux sériques faibles 5 - 25 mg/ml
- Les techniques d'extraction solvant/solvant
- La fragilité de la molécule qui est sensible à la chaleur et à la lumière.

2.2. VITAMINE B12

On peut doser le groupement - CN ou le diméthylbenzimidazole libéré par hydrolyse acide et transformé en diméthylène diamine (10).

3 - DOSAGES MICROBIOLOGIQUES :

Le dosage microbiologique de l'acide folique ou de la vitamine B12, consiste à utiliser des germes auxotrophes vis à vis de ces deux vitamines et à mesurer le taux de croissance des micro-organismes ; qui est fonction de la vitamine présente. (7,26).

Les souches microbiennes les plus utilisées sont : (tableau 1)

- Pour l'acide folique :

- *Lactobacillus casei* : permet le dosage de ptéroylglutamates oxydés et réduits jusqu'au stade de triglutamate. Il est le plus intéressant car c'est le seul qui permet de déterminer le taux de $N_5 CH_3 THF$ principal folate sérique.
- *Streptococcus faecalis* : sensible aux mono et diglutamates oxydés ou réduits mais insensible au $N_5 CH_3 THF$.
- *Pediococcus cerevisiae* : sensible à l'acide folique et à d'autres formes réduits excepté le $N_5 CH_3 THF$.

- Pour la vitamine B12

- *Lactobacillus leichmanii* : très utilisé
- *Eglena gracilis* : une algue, très sensible aux différentes cobalamines.

En fin du dosage, la lecture est effectuée par mesure photométrique du trouble obtenue, comparativement à des tubes standards contenant des quantités

connues d'acide folique ou de B12.

Toutefois, la méthode est perturbée par la présence des antibiotiques dans le milieu de dosage.

Cette technique microbiologique a été utilisée pendant plusieurs années, mais elle a tendance à être remplacée par les techniques radio-isotopiques moins longues, moins complexes et relativement spécifiques.

4 - DOSAGES RADIO - ISOTOPIQUES

La détermination radio - isotopique des folates et de la vitamine B12, peut être réalisée suivant la classique méthode par compétition qui fait partie d'une méthode d'analyse plus générale dite "analyse par saturation".

4.1. GENERALITES SUR L'ANALYSE PAR SATURATION

4.1.1. Principe général :

Il consiste à ajouter à une substance S à doser, un réactif spécifique R en quantité connue. Si au milieu réactionnel on ajoute une quantité déterminée de la substance S marquée à l'aide d'un radio - élément (S^*), la quantité de S^* qui réagira avec R sera fonction de la quantité de S présente dans le milieu.

En fin de réaction, le milieu contiendra un mélange de S, S^* , RS^* et RS.

- S et S^* sont appelées les fractions libres ou free (F)

- RS et RS^* sont appelées fractions liées ou bind (B).

Ainsi on peut distinguer les étapes suivantes (fig 9) :

- Mélange du composé à doser S et de son homologue marqué S^* .

- Addition de l'agent liant spécifique dans le milieu réactionnel.

- Mise en incubation du mélange ainsi obtenu pendant un temps convenablement choisi au cours duquel coexistent dans le milieu deux fractions différentes :

• la fraction liée au réactif spécifique = bind (B).

• la fraction dite fraction libre ou free (F).

- Séparation de ces deux fractions et la mesure de l'activité de l'une des fractions ainsi isolées.

Cette mesure permet de connaître la radio - activité liée au réactif spécifique ; celle-ci est exprimée en pourcentage de la radio - activité initiale introduite dans le milieu réactionnel.

L'utilisation de quantités connues du composé à doser permet de tracer une courbe standard à partir de laquelle la concentration de S dans l'échantillon est déterminée.

Selon le composé à doser, différents types d'agents liants spécifiques peuvent être utilisés.

Il peut s'agir de protéines tissulaires, ou présentes normalement dans le sérum ou dans tout autre milieu biologique ~~comme~~ le lait (exemple du lactoglobuline pour les folates) ou le suc gastrique (exemple du facteur intrinsèque pour la vitamine B12).

Il peut également s'agir d'anticorps, d'enzymes ou de micro-organismes.

Par conséquent, les différents domaines d'application de l'analyse par saturation sont fonction de la nature du réactif spécifique (fig. 10). La radio-immuno-assay ou les essais radio-enzymatiques ne sont que des cas particuliers nécessitant soit un anti-corps ou une enzyme comme réactif spécifique.

Toutes les méthodes dérivant de ce principe général ont en commun certains caractères qui ont trait aux réactifs utilisés (composé marqué S* et agent liant spécifique) ainsi qu'aux méthodes de séparation des fractions libres (F) et liées (B).

4.1.2. Réactifs utilisés :

Ce sont essentiellement :

- Le composé marqué S*

C'est la substance à doser marquée par un élément radio-actif tels que ^{125}I ou ^{57}Co ; encore appelée traceur du fait qu'elle possède une certaine radio-activité.

Le composé marqué S* doit avoir une grande pureté radio-chimique et une activité spécifique identique à celle de son homologue non marqué (S) vis à vis du réactif ou de l'agent liant. Cette activité doit être suffisante pour permettre la mesure convenable des différentes fractions, et d'autant plus élevée que la concentration de la substance S dans l'échantillon à doser est faible.

- L'agent liant spécifique

Généralement c'est la protéine véhiculant la substance à doser qui est utilisée comme agent liant. Cette protéine présente le plus souvent des sites de fixation plus ou moins polyvalents conférant au réactif R une spécificité relativement faible. C'est pour cette raison qu'une extraction et

une purification préalable de la substance à doser est nécessaire, contrairement à la protéine vectrice vis à vis de laquelle, les autres protéines sériques présentent généralement une capacité de liaison négligeable avec S devant celle de R. La nature de l'agent liant spécifique et de sa liaison avec le composé à doser est à la l'origine de méthodes dérivées de l'analyse par saturation.

4.1.3. Méthodes de Séparation de "F" et "B"

L'une des contraintes du système analytique est la séparation des fractions liées et libres.

En effet la méthode de séparation utilisée doit être rapide, totale afin d'éviter une perturbation de l'équilibre existant entre "F" et "B" dans le milieu réactionnel. Différentes méthodes de séparation peuvent être utilisées : (25;26)

4.1.3.1. Méthodes basées sur une migration différentielle de "F" et "B".

- dans un champ de gravitation : ultracentrifugation
- dans un champ électrique :
 - électrophorèse
 - chromato - électrophorèse
- dans un absorbant ou un gel

4.1.3.2. Méthodes basées sur l'insolubilisation et la précipitation de la fraction liée :

- par voie chimique
 - précipitation par action d'une solution saline.
 - précipitation par le dioxane.
- par voie immunologique :
 - précipitation par double anticorps.

4.1.3.3. Méthodes basées sur la fixation de la fraction liée.

- utilisation de résines échangeuses d'ions.
- adsorption sur poudre de cellulose, talc, Kaolin, silicates.
- adsorption sur charbon dextran.

4.1.3.4. Méthode basées sur la fixation de l'agent liant sur un support.

- adsorption sur la face interne des tubes spéciaux en plastique dits "tubes revêtus" ou "coated tubes" ; sur des particules de bentonite.
- fixation de façon covalentielle à un support polymérisé insoluble (billes de verre, P.E.G.)

TABLEAU N° 1

Glutamates	Lactobacillus Casei	Streptococcus foecalis	Saccharococcus cerevisiae
Pteroylmonoglutamate (1)	+	+	-
Pteroyldiglutamate	+	+	-
Pteroyltriglutamate	+	-	-
Pteroylheptaglutamate (2)	-	-	-
THF	+	+	+
5 Methyl THF	+	-	-
5 formyl THF (3)	+	+	+

(1) = forme physiologique

(2) = folate alimentaire

(3) = Acide folinique

+ : croissance

- : pas de croissance

LES DIFFERENTES SOUCHES MICROBIENNES

UTILISEES POUR LE DOSAGE DE

L'ACIDE FOLIQUE

Selon J. BELAICHE (7)

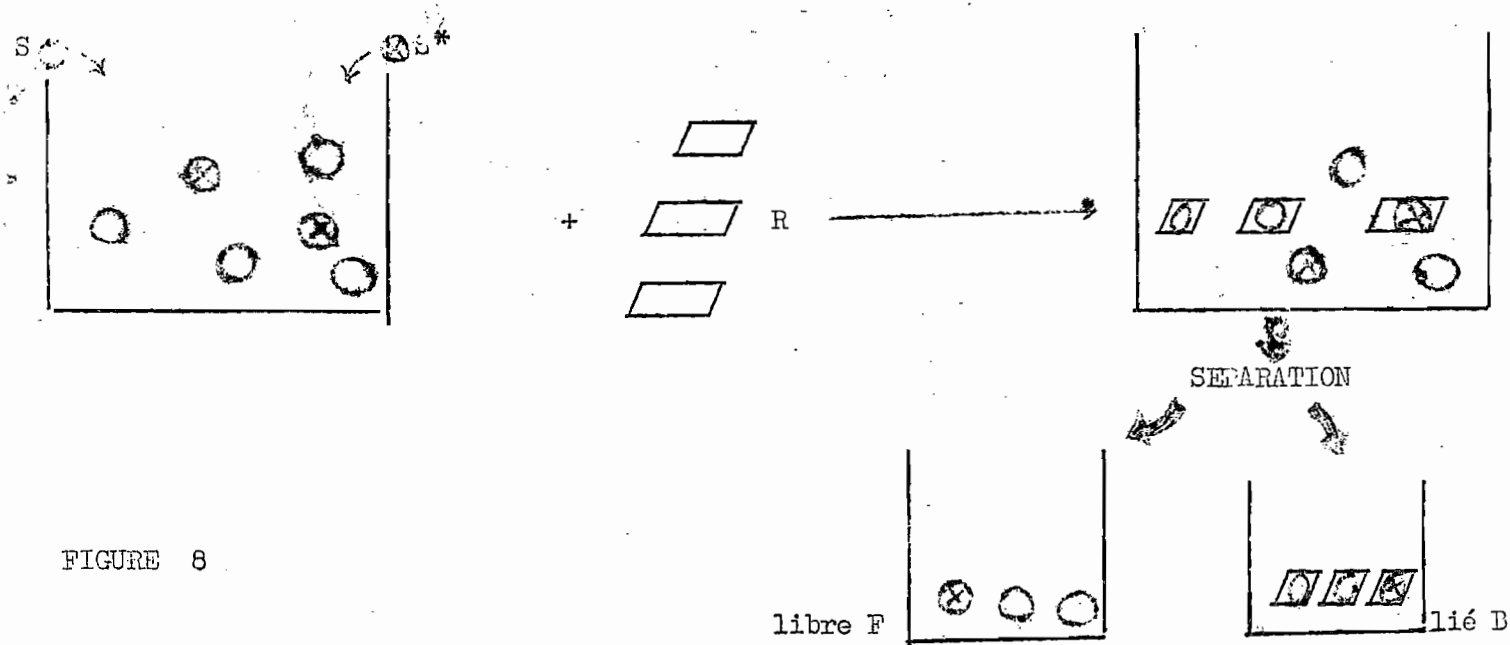


FIGURE 8

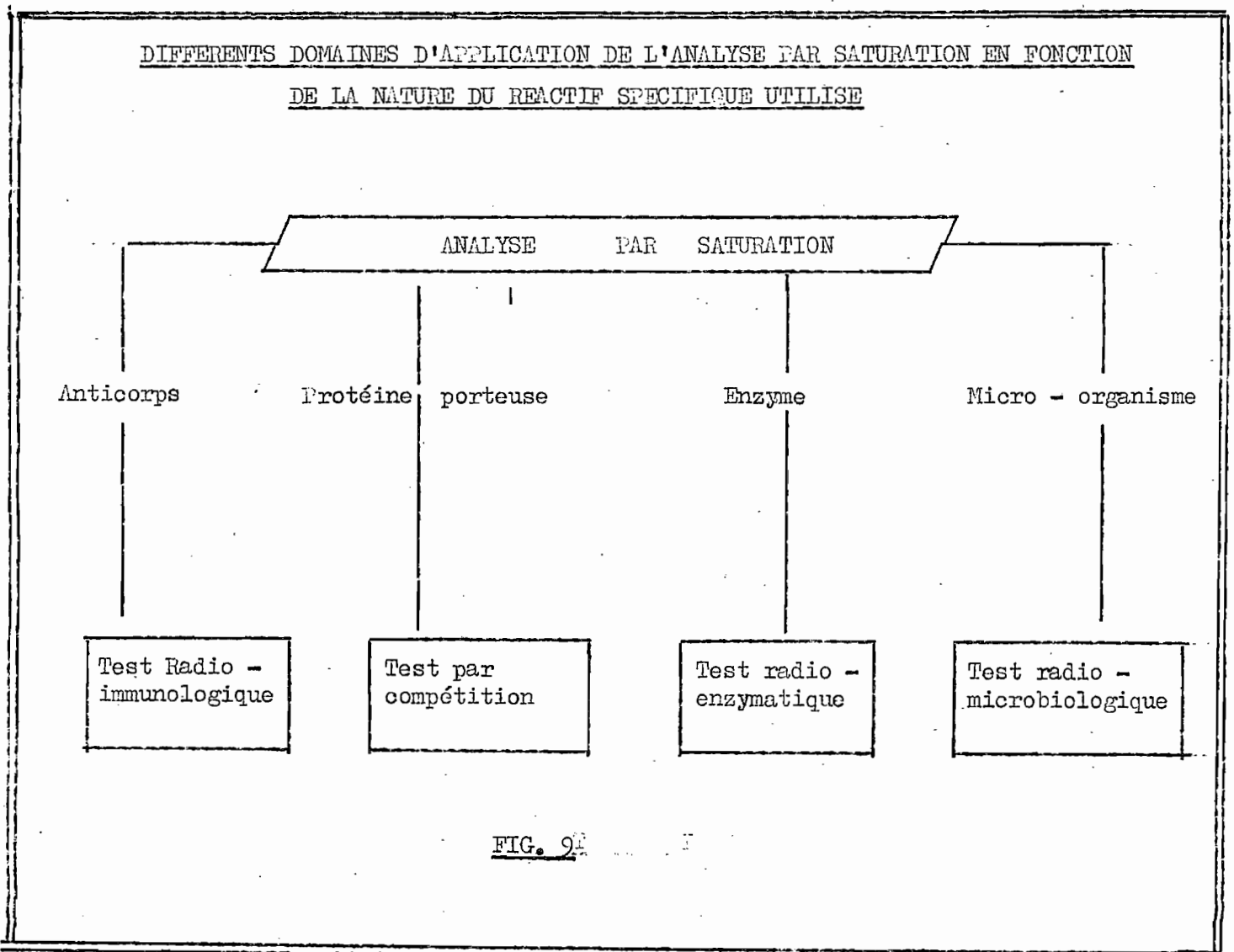


FIG. 9

CHAPITRE IV

ETUDE DE LA TECHNIQUE

UTILISEE

DOSAGE PAR COMPETITION DE VITAMINE B12 (^{57}Co) ET FOLATE (^{125}I)

Pour déterminer les taux de folates et de vitamine B12 sériques de nos sujets étudiés, nous avons utilisé une technique de dosage par compétition dite "Compétitive Protéine Binding Assay (CPBA) sans ébullition avec les réactifs de CORNING.

Cette méthode utilise comme réactif spécifique une protéine vectrice qui est :

- La protéine de liaison du folate extraite du lait de vache (lactoglobuline) pour l'acide folique.
- Le facteur intrinsèque purifié de porc pour la vitamine B12.

Ces protéines sont liées de façon covalente à des billes de verre qui leur confèrent une stabilité assez grande.

1 - PRINCIPE DU DOSAGE

Au sérum à étudier, on ajoute des quantités connues de B12 (^{57}Co) et d'acide folique (^{125}I).

Après incubation de ce mélange à température ambiante pendant un temps convenable ; on y ajoute une solution d'agent débloquent qui, en augmentant le PH du milieu à 12 - 13, sépare la B12 et les folates de leurs protéines de liaison endogènes réalisant ainsi une dénaturation alcaline de ces dernières.

Au milieu on ajoute des protéines de liaison immobilisées (lactoglobuline et facteur intrinsèque).

Après une incubation à température ambiante à PH 9,3, les ligands marqués et non marqués entrent en compétition pour leurs sites de liaison spécifique.

Plus le ligand non marqué est présent dans le milieu, moins le ligand marqué est lié aux protéines de liaison spécifique et vice-versa.

En gardant constantes les concentrations de molécules marquées et de protéines vectrices et en augmentant la concentration des molécules non marquées on obtient une courbe standard à partir de laquelle sont déterminées les concentrations inconnues des échantillons.

2 - PROTOCOLE

2.1. PREPARATION DES ECHANTILLONS

Le sang recueilli sur tube sec est centrifugé,

puis le sérum obtenu est transféré dans un tube de verre propre et congelé (40 ° C), car nous avons effectué nos dosages par séries.

Tout sérum hémolysé a été systématiquement rejeté puisque le taux des folates

globulaire est très élevé.

2.2. PREPARATION DES REACTIFS UTILISES

Avant leur utilisation tous nos réactifs ont été stockés à 2 - 8 °C.

- Les standards et contrôles

Six flacons de vitamine B12 et d'acide N5 CH3 THF sont fournis sous forme lyophilisée en solution (PBS) contenant de la sérum albumine humaine et de l'azide de sodium comme conservateur.

Après addition de 2 ml d'eau distillée à chaque flacon, les concentrations des différents standards seront :

+ pour l'acide N5 CH3 THF : 0nmol/l ; 2,27 nmol/l
5,67 nmol/l ; 11,35 nmol/l ; 22,7 nmol/l et 227 nmol/l.

+ pour la B12 : 0pmol/l ; 73,9 pmol/l ; 184,75 pmol/l
369,5 pmol/l ; 739 pmol/l et 1 478 pmol/l.

Deux flacons de contrôle de vitamine

B12/folate préparés à partir de plasma humain défibriné sont également fournis sous forme lyophilisée.

Pour les reconstituer, on ajoute au contenu de chaque flacon 2 ml d'eau distillée, les concentrations ainsi obtenues seront pour :

$$C1 = 406,45 \pm 100 \text{ pmol/l de B12}$$

• le contrôle 1 :

$$C1 = 4,09 \pm 0,6 \text{ nmol/l d'acide folique.}$$

$$C2 = 846,16 \pm 220 \text{ pmol/l de B12}$$

• le contrôle 2 :

$$C2 = 17,25 \pm 1,6 \text{ nmol/l d'acide folique.}$$

- Les protéines de liaison

Une bouteille (120 ml) de protéines de liaison (facteur intrinsèque purifié de porc et folate binding protéine extraite et purifiée à partir du lait de vache), liées de façon covalente à des billes de verre sont en suspension dans un tampon borate contenant de l'azide de sodium comme conservateur.

- Le dithiothréitol (D.T.T.)

Se trouve sous forme lyophilisé et rentre dans la préparation de la solution traceur. Pour le reconstituer on ajoute 1 ml d'eau distillée au flacon.

- Le traceur :

La vitamine B12 (^{57}Co) et le folate (^{125}I) sont dissous en tampon phosphate contenant 0,024 % de cyanure de potassium, un colorant rouge (comme aide au pipetage) et de l'azide de sodium (comme conservateur).

La bouteille (5 ml) contient moins de $8,5 \mu\text{Ci } ^{125}\text{I}$ et moins de $1,5 \mu\text{Ci } ^{57}\text{Co}$.

La solution traceur est obtenue par addition du dithiothreitol et du traceur dans les proportions de 1/5 (1 volume de traceur pour 5 volumes de D.T.T.).

- L'agent débloquent : 1 flacon (6 ml)

C'est de l'hydroxyde de sodium (Na OH) sous forme liquide.

Il permet de débarasser la vitamine B12 et le folate de leurs liaisons endogènes avec les protéines.

3 - MODE OPERATOIRE

Dans les tubes à essai en propylène introduire :

- 200 μl de standard ; contrôle ou échantillon à doser.
- Ajouter à chaque tube 50 μl de traceur (D.T.T. + traceur)
- Agiter sur vortex 3 à 4 secondes.
- Laisser incuber à température ambiante 15 mn à l'abri de la lumière.
- Ajouter 50 μl d'agent débloquent (Na OH).
- Agiter sur vortex 3 à 4 secondes
- Laisser incuber à température ambiante 15 mn à l'abri de la lumière.
- Ajouter 1000 μl (1ml) de protéines de liaison.
- Agiter sur vortex 3 à 4 secondes
- Laisser incuber à température ambiante 1 heure à l'abri de la lumière
- Centrifuger pendant 10 mn.
- Décanter en éliminant le surnageant de chaque tube.
- Compter les tubes dans un compteur gamma pouvant lire simultanément ou séquentiellement ^{57}Co et ^{125}I .

Les folates étant sensibles à la lumière, nous avons protégé les tubes avec du papier aluminium, lors des différentes phases d'incubation au cours du dosage.

4 - COMPTAGE DES ECHANTILLONS

Après centrifugation et élimination du surnageant, tous les tubes sont comptés au moyen d'un passeur d'échantillon .

Nous avons effectué un comptage séquentiel en utilisant successivement

le canal A (pour ^{125}I) et le canal B (pour ^{57}Co).

Les différentes concentrations des échantillons ont été déterminées par la calculatrice H.P. 41. C.V, à partir de la courbe standard qu'elle a établie elle-même.

5 - PARTICULARITES DU DOSAGE :

Tous nos dosages ont été effectués en double. Le résultat final retenu est la moyenne des deux comptages. Les résultats aberrants ou trop discordants sont imprimés avec 2 astérix, ceci en fonction de la courbe standard établie par la calculatrice H.P. 41. C.V.

REMARQUE : Nous avons rejeté systématiquement tous les résultats avec 2 astérix.

Les sérums de contrôle ont été traités comme des échantillons inconnus. Nous les avons introduits en début et en fin de série ~~de~~ chaque manipulation.

RESULTS AND DISCUSSIONS

CHAPTER V

Le tableau n° 2 regroupe les effectifs, moyennes et écart - types pour les 5 paramètres étudiés (hémoglobine, folates, V.G.M., B12, protéines).

Il en ressort que :

- 1) Le taux d'hémoglobine baisse d'une part en fonction de la grossesse : 8,22 mmol/l pour les témoins contre 6,99 mmol/l pour l'ensemble des femmes enceintes, soit une baisse de 14,96 %.
D'autre part, il baisse également en fonction de l'âge de la grossesse. Comparativement au taux d'hémoglobine du groupe témoin, la baisse est de 9,59 % pour le 1er trimestre, 17,45 % pour le 2e trimestre, et 18,03 % pour le 3e trimestre.

On remarque que la chute est beaucoup plus brutale au 2e trimestre (17,45 %) contre 9,59 % au 1er trimestre). Ceci nous permet de dire que l'anémie apparaît au 2e trimestre de grossesse. Cette constatation est en accord avec les travaux menés par Z. OUATTARA (49). Par contre des travaux menés en Mauritanie par A.M. N'DIAYE et coll (37) ont montré que la différence était beaucoup plus nette entre le 2e et 3e trimestre.

- 2) Le taux de folates : diminue aussi bien en fonction de la grossesse qu'en fonction de l'âge de la grossesse.
Si l'on compare les valeurs des moyennes obtenues pour le 1er trimestre (12,14 nmol/l) pour le 2e trimestre (7,72 nmol/l) et pour le 3e trimestre (5,99 nmol/l), on remarque une diminution du taux des folates au fur et à mesure qu'avance l'âge de la grossesse. Soit des baisses de 13,90 % pour le 1er trimestre, 45,25 % pour le 2e trimestre et 57,52 % pour le 3e trimestre, comparativement à la valeur moyenne des folates du groupe témoin.

La diminution relative est moins importante entre le 2e et 3e trimestre où elle atteint (36,41 %).

Nous retrouvons là la physionomie de l'évolution des folates au cours de la gestation signalée par la plupart des auteurs.

- 3) Le taux de vitamine B12 chez les gestantes, par rapport à celui du groupe témoin, subit une baisse de 11,22 % pour le 1er trimestre, 23,43 % pour le 2e trimestre, et 44,73 % pour le 3e trimestre. Dans l'ensemble la variation globale est de 26,5 %.

TABLEAU N° 2

	TEMOIN	1ER TRIMESTRE	2° TRIMESTRE	3° TRIMESTRE	TOTAL (GROSSESSE)
Hémoglobine en mmol	N : 36	38	47	46	131
	m : 8,22	7,43	6,79	6,73	6,99
	s : 0,38	0,86	0,99	1,01	1
Folates en nmol/l	N : 36	22	38	38	98
	m : 14,10	12,14	7,72	5,99	8,63
	s : 4,09	4,77	2,50	2,68	4,31
D12 en pmol	N : 36	31	47	46	124
	m : 541,99	480,84	415	299,56	398,35
	s : 201,64	227,86	249	155,39	216,92
V.G.M. en micron cube	N : 36	36	48	47	133
	m : 84	84	93	92	90
	s : 11	10	10	9	10
Protides en g/l	N : 36	38	47	46	131
	m : 66,89	60,18	57,30	57,37	58,28
	s : 9,32	11,60	6,70	13	10,72

TABLEAU DES

{ effectifs (N) }
 { moyennes (m) }
 { écart-types (s) }

Contrairement au taux de folates, la chute est beaucoup plus marquée entre le 2e et 3e trimestre (27,82 %) qu'entre le 1er et 2e trimestre (13,69 %).

- 4) Le volume globulaire moyen (V G M) comparativement à celui du groupe témoin, la variation du V G M des femmes enceintes est assez discrète.
- 5) Les protides totaux : Selon les valeurs moyennes de P.T. obtenues pour les différents trimestres, on constate une légère diminution du taux des protides. Dans l'ensemble la valeur moyenne du taux de protides chez les gestantes est inférieure à celle du groupe témoin (58,28 g/l)

Le tableau n° 3 résume pour chaque trimestre de grossesse, les écarts - réduits calculés comparativement au groupe témoin. On note que les différences sont toutes statistiquement significatives ($\alpha < 0,02$) à l'exception du taux de folates pour le 1er trimestre.

Le tableau n° 4 regroupe les valeurs des coefficients de corrélation entre les différents paramètres étudiés, tant pour le groupe témoin que pour l'ensemble des femmes enceintes.

1) Corrélation hémoglobine-folates

Aucune corrélation ne semble exister entre le taux de folates et le taux d'hémoglobine tant pour le groupe témoin (ddl 35, $r = 0,1568$, $\alpha > 0,10$) que pour le groupe grossesse (ddl 99, $r = 0,3265$, $\alpha > 0,01$).

2) Corrélation hémoglobine - protides

Pour le groupe témoin, il n'y a pas de corrélation entre le taux d'hémoglobine et le taux de protides, par contre il en existe une pour le groupe grossesse (ddl = 132, $\alpha > 0,01$)

3) Corrélation hémoglobine - B12

Il ne semble pas exister de corrélation tant pour le groupe témoin que pour le groupe grossesse.

4) Corrélation folates - B12

Une corrélation nette existe entre les taux de folates et de B12 pour les deux groupes.

- Groupe témoin (ddl = 35, $\alpha \leq 0,02$)

- Groupe grossesse (ddl = 98, $\alpha \leq 0,05$)

TABLERAU N° 3

	Total (Grossesse)	1er Trimestre	2° Trimestre	3° trimestre
Hémoglobine	5,2556	2,7605	4,9129	5,0403
Folates	4,8969	1,1539	5,8682	7,2643
B12	2,70558	0,7668	1,8160	4,7892
V.G.M.	2,2219	-	2,7467	2,5428
Protides	1,9534	3,7896	3,7896	2,7435

TABLERAU DES ECART - REDUITS

Comparaison des moyennes des différents trimestres et du total (grossesse) par rapport en groupe témoin.

TABEAU N° 4

		Témoins	Grossesse
Hémoglobine/folate	N	36	100
	r	0,1568	0,1760
Hémoglobine/vit. B12	N	36	126
	r	0,1329	0,1185
Hémoglobine /VGM	N	36	
	r	0,0997	
Folates/vit. B12	N	36	99
	r	0,4101	0,1947
Folates/VGM	N	36	100
	r	0,1023	0,0038
Folates/protides	N	36	100
	r	0,1660	0,0349
Vit. B12/VGM	N	126	126
	r	0,2848	0,0626
Vit. B12/Protides	N	36	125
	r	0,2985	0,0216
HB/Protides	N	36	N= 133 0,01
	r	0,1422	r= 0,3265

TABEAU DES COEFFICIENTS DE CORRELATION

(N = effectifs, r, coefficient de corrélation)

Cette corrélation est illustrée par les équations linéaires ajustées suivantes :

- Pour le groupe témoin : $y = 27 \cdot 10^{-4} X + 4,23$

- Pour le groupe grossesse : $y = 16 \cdot 10^{-4} X + 2,80$

Y = taux de folates en mmol/l

ou X = taux de B12 en pmol/l

5) Corrélation protides - folates

Il n'en existe pas pour les deux groupes étudiés

6) Corrélation Protides - B12 : Le taux de B12 chez les deux groupes étudiés ne semble pas être corrélié avec le taux de protides totaux chez les mêmes groupes.

7) Corrélation V G M/B12 et V G M/Folates :

Pour les deux groupes, il n'existe pas de corrélation entre le V G M et les taux de folates et de B12.

8) Corrélation entre la parité et le taux de folates et de B12

Dans le tableau n° 5, les différences entre les moyennes des taux de folates et de B12 en fonction du nombre de grossesse sont assez discrètes mais ne sont pas statistiquement significatives.

Donc il ne semble pas exister de corrélation entre la parité et les taux de folates et de B12, malgré qu'une baisse soit couramment admise surtout pour les folates, avec les grossesses multiples et rapprochées.

Le tableau récapitulatif des anémies (tableau n° 6) montre que sur 131 femmes enceintes, 30 ont un taux d'hémoglobine inférieur à 6,2 mmol/l soit 22,9 %.

Nous avons considéré comme anémiques, tous les sujets ayant un taux d'Hb < 6,2 mmol/l. Ce critère pour définir l'état anémique nous paraît raisonnable quand on sait qu'aucune de nos femmes enceintes ne présentaient un état clinique alarmant.

En effet si nous considérons la définition de l'anémie pronée par l'OMS au sujet de la femme enceinte (à savoir taux d'Hb < 8,83 mmol/l), nous aurons 36,4 % d'anémie, ce qui serait très-alarmant.

C'est donc compte tenu de l'état physique des sujets que nous avons retenu le chiffre de 6,2 mmol/l comme seuil.

Le pourcentage de 22,9 est assez élevé comparativement aux résultats des études antérieures (16 % pour l'enquête femmes enceintes (35,49) et 11,1 ± 1,7 % chez les femmes enceintes examinées lors de l'enquête K.B.K. (42).

Ce tableau montre aussi le caractère ambigu des anémies, ce qui évoque l'association de plusieurs facteurs étiologiques avec une prédominance des carences en fer.

Néanmoins sur 30 anémies, 11 sont macrocytaires dont 8 arégénératives qui peuvent répondre aux critères de carence en folates ou/et B12.

Sur les 8 anémies macrocytaires arégénératives seules 3 ont un taux des folates bas (< 9 nmol/l valeur habituelle limite préconisée par l'OMS) et un taux de B12 compris dans la fourchette des valeurs habituelles (150 à 740 nmol/l).

Il faut noter que le taux de folates n'a pas été déterminé pour 3 autres et les 2 dernières ont un taux normal en folates.

En ce qui concerne les autres anémies avec un taux de folates bas, on note qu'elles sont microcytaires ou normocytaires.

Ces résultats montrent donc la rareté des anémies par carence en folates et en B12 et vont dans le même sens que les travaux antérieurs :

- L'enquête femmes enceintes ne trouve que 4 anémies macrocytaires arégénératives probablement dues à une carence vitaminique sur 138 sujets étudiés (35).
- L'enquête KBK estime à moins de 3 % les carences probables en folates ou/et B12 sur l'ensemble de la population étudiée (3 000 sujets).

Une seule femme enceinte présente un taux de B12 inférieur aux valeurs habituelles, malheureusement son taux de folates sériques n'a pas été déterminé.

Tableau n° 5

Parité		1 à 2	3 à 4	5
Folates nmol/l	N	48	26	26
	M	8,42	7,67	9,06
	S	4,13	4,27	3,15
Vitamine B12 pmol /l	N	48	26	26
	M	519,88	580,98	561,62
	S	317,05	329,76	359,71

Correlation Parité et taux de folates et de B12

Pour des problèmes d'effectifs nous avons constitué 3 classes
selon la parité :

- 1 à 2 grossesses
- 3 à 4 grossesses
- 5 grossesses et plus.

.../...

TABLEAU N° 6

Observ. N°	Hb mmol/l	Mois	Folats mmol	B12 pmol/l	Fer sérique mol/l	GE	VGM	AGE (an)	Protides g/l	Reticul.	Parité
1	6,01	8	5,83	268,77	9,20	N	81	16	60	125	1
2	4,90	6	ND	1750,42	25,06	+ 40	97	15	52	54	1
3	5,89	6	5,74	477,01	7,4	-	94	20	41	46	4
4	5,95	7	5,29	286,36	7,06	-	94	21	37	63	1
5	6,01	8	3,70	332,99	8,9	-	92	18	37	56	1
6	4,71	6	6,67	336,19	12,5	+(16)	107	19	60	132	2
7	5,58	8	4,38	233,60	9,5	-	90	22	80	34	2
8	5,52	5	6,67	410,63	11,2	-	80	16	57	43,3	1
9	5,27	3	10,14	433,94	7,16	-	74	18	60	88	1
10	5,46	7	3,75	355,75	7,8	-	81	17	42	106	1
11	5,39	5	3,34	264,06	7,2	+(856)	70	23	52	39	2
12	5,83	7	4,90	217,27	8,04	-	100	18	53	196	1
13	5,89	4	9,81	273,61	19,6	+(416)	106	19	49	197	1
14	4,15	7	1,29	399,65	7,02	+(204)	93	18	44	141	1
15	4,53	9	5,58	254,44	11,8	-	103	21	56	52	3

GROSSESSE + ANEMIE

../..

GROSSESSE + ANEMIE (SUIITE)

16	5,83	8	3,09	174,26	8,75	-	106	ND	54	61	2
17	6,14	9	9,15	222,29	8,74	-	95	ND	56	41	6
18	5,89	8	ND	154,01	8,23	-	101	28	58	74	3
19	6,14	6	8,19	370,36	13,5	-	74	28	52	41	6
20	5,77	8	12,96	404,82	10,5	-	98	28	41	40	6
21	6,08	8	4,81	472,52	11,5	-	105	38	46	58	10
22	6,08	6	7,7	324,60	9,75	-	80	31	52	52	6
23	5,89	8	6,15	181,06	7,85	+(28)	89	28	31	113	9
24	5,39	6	6,24	235,50	10,07	+(2084)	91	31	60	48	7
25	5,33	5	13,62	343,46	11,7	-	130	25	52	60	3
26	4,71	5	10,94	698,70	9,8	-	76	29	74	34,1	3
27	5,95	5	5,79	773,46	12,5	-	95	29	62	53	4
28	6,08	4	13,39	249,35	ND	-	90	27	59	ND	3
29	6,01	3	ND	ND	ND	-	76	26	51	ND	5
30	5,39	6	ND	94,44	4,16	+(8)	108	25	64	57	3

CONCLUSIONS

Cette étude constitue une suite aux nombreux travaux effectués à l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie sur les anémies, particulièrement chez les femmes enceintes.

Nous avons pu mettre en oeuvre une technique performante, spécifique et précise de dosage des folates et de la vitamine B12, à savoir la méthode par radio - compétition. Il est tout à fait possible d'appliquer cette méthode de dosage dans un cadre hospitalier de routine. La seule contrainte majeure, reste les frais financiers. (un dosage coûte 4 000 FM.)

Lors de cette étude, il n'a pas été possible d'approfondir les investigations : Ainsi nous n'avons pas pu exploiter les habitudes alimentaires, la fréquence des grossesses chez nos sujets étudiés.

Ce fait noté dans de nombreux travaux d'enquête (49, 35) s'explique souvent par l'ignorance des femmes elles-mêmes de leurs régimes alimentaires et aussi du peu d'intérêt qu'elle y accordent.

Dans l'ensemble, les résultats confirment les données de la littérature à savoir que chez la femme enceinte, les taux de vitamine B12 et de folates surtout diminuent tant en fonction de la grossesse qu'en fonction de l'âge de la grossesse.

Chez l'ensemble des sujets étudiés, les taux de folates et de vitamine B12 ne semblent pas être corrélés avec les facteurs hématologiques comme l'hémoglobine et le VGM dont la simple détermination permet de diagnostiquer une anémie due à une carence en folates.

La seule corrélation intéressante est celle entre les taux de folates et de vitamine B12 chez le groupe témoin (femmes non enceintes) et le groupe de femmes enceintes.

Malgré donc la grossesse et le régime alimentaire en milieu urbain (régime souvent peu varié et pauvre en crudités) les anémies de la femme enceinte restent multifactorielles avec une prédominance des carences en fer.

Les anémies dues à une carence en B12 ou/et folates sont rares.

Cette rareté peut s'expliquer du fait que :

- 1) Les réserves hépatiques en B12 sont assez importantes (3 à 4 mg). On estime qu'il faut 4 à 5 ans pour les épuiser et entraîner une anémie mégaloblastique par suite d'une carence d'apport ou d'absorption.

- 2) Malgré les faibles réserves en folates et un turn-over important on peut supposer que l'apport reste correct avec une alimentation en milieu urbain.

BIBLIOGRAPHIE

1. ANONYME CORNING
Dosage de vitamine B12 (^{57}Co) et de Folate (^{125}I)
sans ébullition.
Immophase TM
2. ARCHIBALD (E.L) et al (1972)
Estimation of sérum folate level by
Compétitive protein - binding assay.
Clin. Biochem. 5 , p. 232 - 241.
3. BECK (W.D.).
The metabolic functions of vitamin B12
New Engl. J. Med. 1962, 266 , 708
4. BECK (W.S.)
The metabolic basis of metabolic
erythropoiesis.
Mdecine (Baltimore) 1964, 43 ; 715
5. BECK (W.S.)
Medical progress : the metabolic functions
of vitamin B12.
New Engl. J. Med., 1962, 266 : p. 708
6. BELAICHE (J.), ZITTOUN (J), cattan (D).
Recherche d'un trouble d'utilisation
intramedullaire de l'acide folique à l'aide
du test du suppression dans la macrocytose de l'alcoolisme chronique.
7. BELAICHE (J)
Physiologie de l'absorption des folates
Actualités digestives, 1979, 2, P. 46 - 50.
8. BERNARD (J) et coll.
Abrégé d'hématologie.
2e édition, Masson et Cie.
9. BOUSSA (J), BILISKI (G), ZITTOUN (R), HERMADOU (A).
Abrégé d'hématologie
Albert Rolland, 8A, 1970.

- 10 - BRUBACHER (G), VUILLEUMEI (J.P.)
Clinical biochemistry : Principles and Methods
II : , p. 983
- 11 - CISSE (N.B.)
Contribution à l'étude des principales causes d'anémies en milieu
pédiatrique à Bamako (A propos de 125 observations)
Thèse Med., Bamako, 1978
- 12 - CHANARIN (I)
"The megaloblastic anemias" second editions.
Blackwell scientific Publications.
London, 1969, p. 961 965.
- 13 - DEDIEN (P.)
Absorption de la vitamine B12 : physiologie et pathologie.
Arch. Fr Mal. app.Dig.1975, 64, p. 65 - 82.
- 14 - DEMBELE (P.O.S.)
Etude hématologique et étiologique des anémies en Médecine Interne
à Bamako.
Thèse Med., Bamako, 1980, n° 210.
- 15 - DIARRA (O)
Comparaison de deux techniques de dosage des folates sériques
par radio-compétition.
Thèse Med., Dakar, 1979, n° 44.
- 16 - DICKO (B.S.)
Intérêt de la Sérologie du paludisme à propos
de deux enquêtes épidémiologique
Thès Med., Bamako, 1980.
- 17 - DUNN (T.R.) and FOSTER (L.B.)
Radio - assay of sérum folate.
Clin. chem., 1973, 19, p. 1 101.

- 18 -- DUPIN (H.) et RAIMBALILT (A.M.)
Les troubles nutritionnels chez la mère et l'enfant ; épidémiologie et prévention.
Ed. Saint PAUL, 1978.
- 19 ERBE (E.W.)
Genetic aspect of folate metabolism.
Harvard méd School.
Boston, Massachusetts 02114, P. 301
- 20 -- FORD (J.E.), SALTER (D.N.) and scott (K.J.) (1969).
The folate binding protein in milk.
J. DARVY Res., 36 : , p. 435.
- 21 -- FRIEDKIN (M.) et WOOD (H) .
Conversion of uracile deoxyriboside to thymidine of déoxyribse nucléic acid.
J. Biol Chem., 1956, 220, p.645
- 22 -- GADJOS (A.)
Biochimie de l'acide folique
Presse Med., 79 , n° 48 p. 281 - 84
- 23 -- GHITIS (J.) (1967)
The folate binding in milk.
Amer. J. clin Nutr., 20, p. 1 015
- 24 -- HAIDARA (S)
Etude Epidémiologique des anémies en milieu rural.
Thèse Med., Bamako, 1980.
- 25 -- HEGESIPPE (H.) et MARCHAND (J.)
La radio immunologie parmi les techniques d'analyse biologique médicale.
Bull. d'Inform. Scient. et Tech. CEA
Mars -- Juin 1978, n° 228 - 229 ; p. 75 - 89.

- 26 -- HEGESIPPE (H.) et MARCHAND (J.)
Mise en oeuvre d'un dosage radio immunologique.
B.I.S.T. C E A, p. 91 - 101.
- 27 -- HELLEGOUARCH (R.) et GIORGI (G.)
Données biochimiques : place du fer, de l'acide folique, de l'albumine,
de l'acide ascorbique, dans les anémies de la femme enceinte et de l'enfant
au Sénégal.
Med. Af. Noire, 1974, 24, (5).
- 28 -- HERBERT (V.)
Absorption of vitamin B12 and folic acid.
Gastroentérolgy 54, 1 1968.
- 29 -- HERBERT (V.)
"Drugs Effective and Megaloblastic Anemias" in the pharmacological
basis of therapeutics.
Louis S. Goldman and Alfred Gilman eds , 1975.
- 30 -- HOLMES (J.M.)
Cerebral manifestations of vitamin B12 deficiency.
Br. Med. J. 1956, II :, p. 1 394 - 98.
- 31 -- JANET (P.)
Folate in Normal Diets.
British J. of hemat. , 1971, 21, p. 435.
- 32 -- LANGUILLAT (J.M.), BOULARD (M.), LANGUILLAT (N.).
Données récentes sur le métabolisme et le mode d'action de la
vitamine B12.
Concours Med., 7 - 14, 1973, p. 4 697 - 4707.
- 33 -- LEONARD (J.P.) et BECKERS (C.)
Vitamin B12 and folic acid studies by saturation analysis techniques.
A review (journal Nucl. Med, and biolo., 1975, 2 p. 89 - 96)

- 38-O.M.S. Les Anémies nutritionnelles
Ser. Rapp. Tech., 1968, n° 405.
- 39 -- O.M.S. Besoin en Acide ascorbique, vitamine D,
Vitamine B12, acide folique, et fer.
Ser. Rapp. Tech., 1970, n° 452.
- 40 -- O.M.S. Les Anémies nutritionnelles.
Ser. Rapp. Tech., 1972, n° 503.
- 41 -- O.R.A.N.A. -- DAKAR, HELLEGOUARCH (R.) et Coll
Enquête épidémiologique et étiologique sur les Anémies
de la grossesse à Dakar et sa banlieue (Etude sur 1318 femmes).
O.R.A.N.A. E₄₀ DAKAR.
- 42 -- Projet développement Sanitaire, Banque Mondiale IDA.P.108 MALI.
Evaluation sanitaire des Cercles de Kita, Bafoulabé, et Kéniéba.
(Mali 1981) p. 212.
- 43 -- RAIMBAULT (A.M.)
"Les maladies nutritionnelles"
La Recherche, Oct. 1980 ; n° 115
II : , p. 1 096 - 1 104.
- 44 -- SAID-DILOUYA (A. et al.
Dosage par radio-essai des folates sériques.
Nouv. Rev. Franç. d'hémat, 1975,
15, n° 6, p. 657 - 666.
- 45 -- SANKALE (M.) et coll.
Alimentation et pathologie nutritionnelle en
Afrique Noire.
Maloine S.A. ed.; 1974, p. 184 - 189.
- 46 -- SOULA (G.)
Etude hématologique et étiologique des anémies en milieu hospitalier.
Thèse Med., Marseille, 1979.

47 - WADDEL (C.C.) et al.

Serum folate levels : comparaison of Microbiologie assay and radioisotope kit methods.

A.J.C.P. Vol 66, Oct. 76 ; p. 746 - 752.

48 - MAXMAN (S), SCHREIBER (C.) and HERBERT (V.)

Radio-isotopic assay for measurement of serum folates levels.

Blood. 38, 1971, p. 219.

49 - ZANAFON (O.)

Contribution à l'étude des anémies de la femme enceinte dans le District de Bamako. (A propos de 138 cas).

Thèse Med., Bamako, 1981

50 - ZITTOUN (J.) et coll.

Anémies par carence en vitamine B12 ou en folates : valeur diagnostique du test de suppression par la déoxyuridine.

Norw. Presse. Med., 13 Mai 1978, 7, n° 19.

ANNEX

FICHE D'ENQUÊTE

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE DU MALI

Numero de l'enquete.....
N° P.M.I.....
Date.....

ENQUÊTE ANAMNESE - GROSSESSE

NOM : PRENOM : NOM DE JEUNE FILLE.....

AGE : EPHNIE : LIEU DE NAISSANCE.....

PROFESSION DU MARI : PROFESSION :

EXAMEN CLINIQUE

Examen general : Poids..... kg Taille..... m

O.M.I.....

Ongles.....

Perimetre brachial..... Temperature..... °C

Examen gynecologique : Age de la grossesse.....

D.R.N..... Nombre de grossesses.....

Metrorragie..... Frequence des grossesses.....

Foie.....

Rate.....

EXAMEN COMPLÉMENTAIRES

G.R.....

V.G.M.....

Réticulocytose.....

Goutte epaisse.....

Electrophorese de l'Hb.....

Electrophorese des protides.....

Protides totaux.....

Serologie syphillis.....

Her serique.....

Her.....

Antipaludiens.....

TRAIITEMENT EN COURS OU RECENT

Vitamines.....

HABITUDES ALIMENTAIRES (Frequence / semaine)

Riz.....

Fruits.....

Viande.....

Feuilles.....

Autres cereales.....

Mil.....

Poisson.....

lait.....

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la Santé Publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine

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

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

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

