

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTO-
STOMATOLOGIE



ANNEE 2013

N° 738

L'IMPACT DU PALUDISME SUR QUELQUES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES

MEMOIRE DE FIN DE CYCLE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES EN
BIOLOGIE CLINIQUE (DES-BC)

PRESENTE ET SOUTENU

Le 18 mai 2013

Par

Dr Kingnidé Annie Wassiatou ABIOLA
Pharmacienne

Née le 13 Mai 1982 à Porto-Novo (BENIN)

MEMBRES DU JURY

PRESIDENT : M. Niama Diop SALL : Professeur

MEMBRES : M. Omar Gaye : Professeur
: Mme. Awa O. TOURE FALL : Maître de Conférences Agrégé
: M. Babacar FAYE : Maître de Conférences Agrégé

DIRECTEUR DE MEMOIRE : M. Babacar FAYE : Maître de Conférences Agrégé

NOTE AUX LECTEURS

Ce document a été numérisé et mis en ligne par la Bibliothèque Centrale de l'Université Cheikh Anta DIOP de DAKAR



Bibliothèque Centrale UCAD

Site Web: www.bu.ucad.sn

Mail: bu@ucad.edu.sn

Tél: +221 33 824 69 81

BP 2006, Dakar Fann - Sénégal

LISTE DES ABREVIATIONS

ALAT : alanine amino-transférase

ASAT : aspartate amino-transférase

OAP : œdème aigu pulmonaire

CTA : Combinaison thérapeutique à base d'artémisinine

MGG : May-Grünwald Giemsa

GE : Goutte épaisse

GPT : Glutamate pyruvate transaminase

LDH : Lactate déshydrogénase

GOT : Glutamate oxaloacétate transaminase

MDH : Malate déshydrogénase

DMSO : Diméthylsulfoxyde

HB : Hémoglobine

Pf : *Plasmodium falciparum*

PQT : Plaquettes

BT : Bilirubine Totale

CREA : Créatinine

AL : Artéméther-Luméfantrine

DHA-PQ : Dihydroartémisinine-Pipéraquine

ASAQ : Artésunate-Amodiaquine

TPIe : Traitement Préventif Intermittent chez les enfants

TPIg : Traitement Préventif Intermittent chez les femmes
enceintes

SMC : Seasonnal Malaria Chemoprevention

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

Figure 1 : Cycle de développement de *Plasmodium falciparum*
.....10

Figure 2 : Principe du Sysmex XS 1000i26

Figure 3 : Répartition de la population en fonction de l'âge30

Figure 4 : Répartition de la population en fonction du sexe31

Figure 5 : Répartition de la population en fonction du type de
traitement31

Tableau I : Evaluation de la parasitémie à Pf en fonction de l'âge, du
sexe et du type de traitement32

Tableau II : Evaluation des paramètres hématologiques en fonction de
l'âge de J0 à J733

Tableau III : Evaluation des paramètres biochimiques en fonction de l'âge de J0 à J7	35
Tableau IV : Evaluation des paramètres biologiques en fonction du sexe de J0 à J7	36
Tableau V : Evaluation des paramètres biochimiques en fonction du sexe de J0 à J7	37
Tableau VI : Evaluation des paramètres hématologiques en fonction du type de traitement de J0 à J7	38
Tableau VII : Evaluation des paramètres biochimiques en fonction du type de traitement de J0 à J7	40

Sommaire

Sommaire

Introduction.....	9
I Le paludisme.....	12
1-Définition	12
2-Morphologie	12
3-Biologie du paludisme	13
4-Physiopathologie	15
4.1-L'anémie palustre	16
4.2-L'hémolyse au cours du paludisme	16
4.3- La thrombopénie au cours du paludisme	16
4.4- L'atteinte hépatique au cours du paludisme	17
4.5- L'atteinte rénale au cours du paludisme	17
4.6-Effets secondaires biologiques des médicaments antipaludiques	17
5-Clinique	18
6- Formes étiologiques du paludisme	20
II Diagnostic Biologique.....	21
1.1- Diagnostic direct :	21
➤ Prélèvements	21
➤ Goutte épaisse	21
➤ Frottis sanguin.....	22
➤ Q. B. C. test.....	23
➤ Polymerase Chain Reaction (P.C.R.)	23
1.2- Diagnostic indirect	23
➤ Tests de Diagnostic Rapide (TDR)	23
III Méthodologie	25
1 -Objectif Général	25
2- Objectifs spécifiques.....	25
3 -Description de l'étude	25
4 -Cadre d'étude	25
5 -Période d'étude	26
6 -Population d'étude	26
7-Déroulement de l'étude	27

8 -Paramètres étudiés.....	Erreur ! Signet non défini.
A Matériel et réactifs	27
1 -Prélèvements	27
2 -Goutte épaisse et frottis sanguin	27
3 -Numération des cellules du sang	28
4 -Détermination des paramètres biochimiques	28
B Méthode.....	28
1-Prélèvements.....	28
2-Méthode	28
2.1- Numération des globules rouge et des plaquettes	28
2 .2- Paramètres biochimique	30
IV- Résultats.....	34
V Discussion.....	47
Conclusions.....	52

Introduction

Introduction

Le paludisme est une maladie grave responsable d'une importante mortalité en Afrique Sub-saharienne.

Le nombre de décès dus au paludisme est estimé à 655 000 pour l'année 2010, dont 91% en Afrique. À l'échelle mondiale, 86% des décès imputables au paludisme ont frappé des enfants de moins de 5 ans (1).

L'espèce *Plasmodium falciparum* est responsable de plus de 75% des cas de paludisme dans le monde. Elle est également responsable de 80% de mortalité qui se produit en Afrique Sub-saharienne. Les enfants et les femmes enceintes sont les plus vulnérables (2).

Le paludisme est une endémie parasitaire majeure due à l'introduction et à la reproduction dans l'organisme d'un protozoaire sanguicole du genre *Plasmodium*. Chez l'homme, ce parasite est transmis par la femelle d'un moustique du genre *Anopheles* dont un certain nombre d'espèces seulement sont de bons vecteurs du paludisme (3).

Au cours du paludisme à *P. falciparum* on observe une variation au niveau de certains paramètres biologiques.

Des études ont montré que certains paramètres hématologiques (les globules rouges, les globules blancs, les plaquettes, le taux d'hémoglobine, l'hématocrite) étaient perturbés durant l'infection palustre à *P. falciparum* (4).

On peut aussi observer des changements au niveau de la formule leucocytaire concernant aussi bien les neutrophiles, les lymphocytes, les monocytes, que les éosinophiles. Ceci pouvant s'expliquer par la séquestration splénique des globules blancs durant l'infestation (5). Il existe une corrélation entre le niveau de la parasitémie et la modification de la formule sanguine (6).

L'anémie durant l'infection palustre est le résultat de la destruction des globules rouges parasités, de la courte durée de vie des autres hématies, et d'une dysérythropoïèse.

En général plus l'infection est sévère, plus l'anémie est importante. (7). Cette anémie est souvent associée à une thrombopénie qui s'explique par une destruction des plaquettes (8) par phagocytose et/ou par des anticorps (9).

Au cours de l'infestation, les sporozoïtes qui sont inoculés par l'anophèle femelle rentrent dans les hépatocytes où ils se divisent pour se transformer en mérozoïtes (10). Cette étape du cycle va créer des dommages au niveau du foie.

Le taux des radicaux d'hydroxyde et de peroxyde qui sont induits par le *Plasmodium falciparum* peut être responsable de l'élévation des enzymes hépatiques (transaminases) (11) qui sont des marqueurs importants en cas perturbations au niveau de foie (12).

Parmi les complications causées par le *Plasmodium falciparum* on note l'atteinte de la fonction rénale pouvant se traduire par une hématurie entre autre, due à l'élimination massive des globules rouges parasités risquant de mener à une nécrose tubulaire aiguë avec une augmentation de la clearance plasmatique de la créatinine (13).

Toutes ces manifestations peuvent également être induites par les médicaments antipaludiques utilisés pour le traitement de la maladie.

C'est ainsi que nous nous sommes proposés d'évaluer l'impact qu'avait le paludisme à *Plasmodium falciparum* sur ces différents marqueurs biologiques ainsi que les possibles effets secondaires pouvant être causés par l'utilisation des CTA dans la prise en charge de la maladie.

L'objectif spécifique était :

- d'évaluer les variations au cours du paludisme à *Pf* à J0 et J7 après traitements par les CTA du :
 - taux d'hémoglobine,
 - taux de plaquettes,
 - taux des enzymes sériques,
 - taux de bilirubine totale,
 - taux de créatinine.

Rappels

I Le paludisme

1-Définition

Le paludisme est une endémie parasitaire majeure due à la présence dans l'organisme d'un protozoaire sanguicole du genre *Plasmodium*. Chez l'homme, ce parasite est transmis par la femelle d'un moustique du genre *Anopheles* dont un certain nombre d'espèces seulement sont de bons vecteurs du paludisme (14).

Il existe cinq espèces de *Plasmodium* spécifiques de l'homme (15) :

- *Plasmodium falciparum* Welch, 1897
- *Plasmodium malariae* Laveran, 1881
- *Plasmodium vivax* Grassi et Felletti, 1890
- *Plasmodium ovale* Stephen, 1922
- *Plasmodium knowlesi* Knowles, 1930

Parmi ces espèces, *Plasmodium falciparum* est la plus redoutable car responsable des formes graves. Sa prévalence en Afrique est la plus élevée avec plus de 80%.

2-Morphologie (Cf annexe 1)

Les *Plasmodium* sont des protozoaires dont la forme et les dimensions sont très variables, allant de 1 micron à 60 microns, suivant les stades évolutifs. Certaines de ces formes sont multinucléées et constituent de véritables plasmodies, d'où dérive la dénomination du genre.

Formes asexuées :

- Trophozoïtes :

Ce sont les formes les plus jeunes qui ont l'aspect de bague à chaton ou encore d'anneaux de couleur bleu ou rouge avec une partie interne incolore (vésicule nutritive).

- Schizontes :

Ils commencent à se former au moment où la chromatine se divise. En vieillissant, les schizontes perdent leur mobilité, augmentent de taille et subissent des divisions nucléaires. A maturité, ils prennent la forme de rosaces.

- Rosaces :

La rosace occupe la totalité de l'hématie parasitée. Les noyaux sont rejetés à la périphérie, le pigment parasite est ramassé en amas central. À maturité complète, l'hématie éclate et libère un nombre variable de mérozoïtes.

- Mérozoïtes :

Ils sont de forme ovale ou arrondie ; ils possèdent un cytoplasme bleu et une masse de chromatine rouge ou violette après coloration (= noyau).

Formes sexuées (gamétocytes) :

Elles sont rondes ou ovalaires remplissant presque entièrement l'hématie.

Les microgamétocytes (mâles) ont un cytoplasme pâle, mauve ou rose. Les noyaux de *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*, sont en masses granuleuses colorées en rouge par le Giemsa. Les macrogamétocytes (femelles) possèdent un cytoplasme bleu sombre. *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae* ont noyau dense et sont colorés en rouge par le Giemsa.

3-Biologie du paludisme

➤ Cycle évolutif

Il se fait chez deux hôtes : chez l'homme où s'effectue la multiplication asexuée ou schizogonique et chez l'anophèle femelle où se déroule le cycle sexué ou sporogonique.

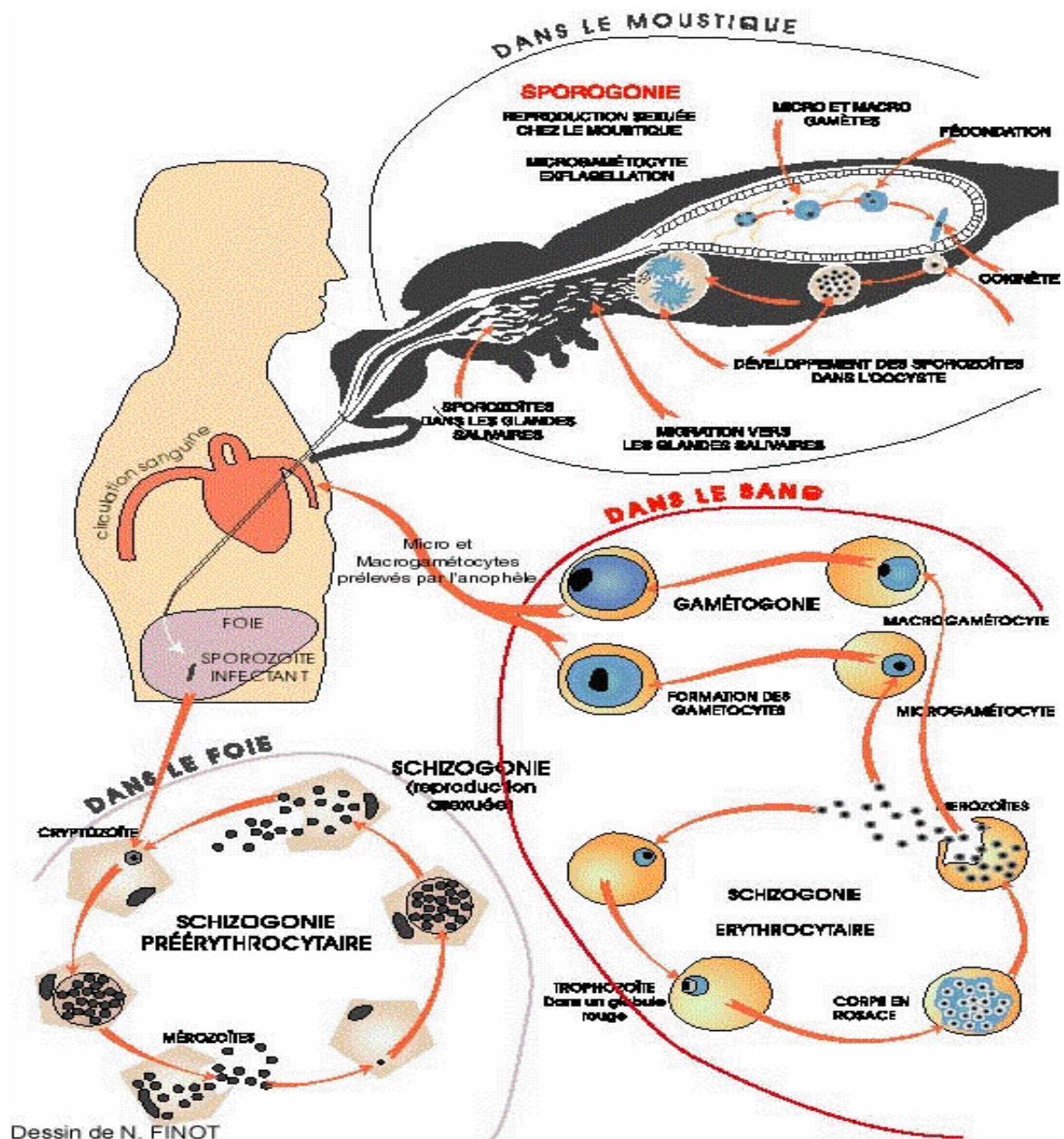


Figure 1 : Cycle de développement de *Plasmodium falciparum* (16)

➤ Mode de contamination

La contamination du paludisme peut se faire par trois voies :

- ✓ Contamination par l'anophèle femelle : c'est le mode habituel de transmission du paludisme.
- ✓ Contamination par transfusion de sang : elle est réalisée par injection de sang parasité contenant des plasmodiums résultant d'une simple schizogonie.
- ✓ Contamination par voie transplacentaire : c'est une transmission maternofoetale qui est d'autant plus fréquent que les plasmodiums sont particulièrement abondants dans le placenta.

➤ Le vecteur

La faune anophélienne au Sénégal est composée d'une vingtaine d'espèces (17). Mais comme dans la plupart des autres régions de l'Afrique sub-saharienne, l'essentiel de la transmission du paludisme est assurée par les espèces du complexe *Anopheles gambiae* et *Anopheles funestus* (18).

4-Physiopathologie (19)

L'infection palustre entraîne différents syndromes cliniques en fonction de l'espèce plasmodiale et de l'état immunitaire de l'hôte.

La physiopathologie est expliquée en partie par le cycle intraérythrocytaire au moment de l'éclatement synchrone des rosaces.

La rupture des rosaces va libérer des antigènes et des endotoxines parasitaires qui vont induire la production de cytokines par les cellules de l'homme. Ces cytokines, en particulier le TNF, jouent un rôle primordial dans les divers symptômes du paludisme.

Les parasites produisent une substance pyrogène qui est libérée lors de l'éclatement et est responsable de l'accès fébrile. Par ailleurs, l'éclatement des hématies parasitées entraîne une hémolyse avec subictère, anémie, splénomégalie par phagocytose importante des débris d'hématies.

4.1-L'anémie palustre

L'anémie est en relation avec la destruction des globules rouges parasités par les plasmodies et l'opsonisation d'hématies normales et par la présence d'éventuels auto-anticorps anti-érythrocytaires. Le développement intracellulaire du plasmodium modifie le métabolisme et les propriétés de la membrane érythrocytaire, entraînant ainsi la lyse des hématies au cours de l'accès palustre. De plus les globules rouges parasités présentent à leur surface des antigènes d'origine parasitaires permettant l'action des anticorps spécifiques ce qui explique l'intensité de l'anémie au cours du paludisme (25).

4.2-L'hémolyse au cours du paludisme

La bilirubine est un pigment jaune (produit de dégradation des globules rouges) dont l'accumulation anormale dans le sang et les tissus détermine un ictère (ou « jaunisse »), qui peut se relever de causes très diverses.

Une forte hausse de la bilirubinémie peut être causée par, une hémolyse ou une augmentation de la dégradation des globules rouges, donnant une augmentation de la bilirubine libre et conjuguée.

4.3- La thrombopénie au cours du paludisme

Le paludisme entraîne souvent une thrombopénie moyenne (la numération plaquettaire $< 150000/\text{mm}^3$) affectant entre 40-85 % de patients. Elle est modérée (entre 50000-100000/ mm^3) chez 30-50% des malades et sévère voir grave ($< 50000/\text{mm}^3$) dans 6-16 % des cas.

Les facteurs associés à la thrombopénie liée au paludisme concernent la splénomégalie, la séquestration splénique et la destruction des plaquettes par les macrophages.

Il a aussi été suggéré un rôle joué par des anticorps antiplaquettaires qui, n'est pas clairement défini.

4.4- L'atteinte hépatique au cours du paludisme

Quand l'anophèle femelle infecté prend un repas de sang elle inocule des sporozoïtes dans la circulation sanguine. Dans l'heure qui suit, les sporozoïtes entrent dans les hépatocytes et commencent à se diviser.

Les mérozoïtes issus de ces divisions vont alors quitter le foie, et envahir les érythrocytes. Le foie ainsi affecté va entraîner l'augmentation de l'activité de l'alanine amino-transférase (ALAT) et de l'aspartate amino-transférase (ASAT).

Ces derniers sont utilisés comme indicateurs de l'atteinte du foie au niveau des hépatocytes.

4.5- L'atteinte rénale au cours du paludisme

L'atteinte rénale se manifeste au cours du paludisme de différentes manières.

La symptomatologie d'insuffisance rénale aigue n'a aucune spécificité. En effet, on retrouve: vomissements, asthénie, hypertension artérielle, dyspnée voire OAP, troubles de conscience par œdème cérébral.

Les signes urinaires (protéinurie massive, hématurie macroscopique, pyurie, coliques néphrétiques...) sont retrouvés dans certaines étiologies (glomérulonéphrites rapidement progressive, maladies systémiques, obstruction...).

En fait, le signe le plus spécifique est l'oligo-anurie en sachant que l'oligurie est définie par une diurèse quotidienne < 400ml, l'anurie par une diurèse < 100ml. Elle manque dans la moitié des cas (insuffisance rénale aigue à diurèse conservée) et le diagnostic est alors biologique.

4.6-Effets secondaires biologiques des médicaments antipaludiques

Les CTA sont les antipaludiques donnant la réponse clinique la plus rapide contre le paludisme. Ils ont un large spectre d'activité contre les formes jeunes et préviennent leur maturation à la phase adulte.

L'artémisinine et ses dérivés sont des médicaments qui sont bien tolérés. Cependant certains auteurs ont rapporté des perturbations gastro-intestinales, des vertiges et céphalées, des bourdonnements au niveau des oreilles et une bradycardie qui sont relativement faibles.

Concernant les perturbations biologiques, les effets les plus constatés sont l'anémie, la neutropénie et l'élévation des enzymes hépatique.

Les effets secondaires les plus bruyants sont généralement dus aux antipaludiques associés aux dérivés de l'artémisinine : amodiaquine, luméfantrine, pipéraquine, sulfadoxine-pyriméthamine.

5-Clinique (15, 20, 21, 22, 23,24)

Les manifestations cliniques du paludisme sont diverses. Elles dépendent à la fois du parasite et de son hôte. Classiquement, on distingue :

- Les accès simples comprenant le paludisme de primo-invasion et les accès de reviviscence schizogonique à fièvre périodique communs à toutes les espèces ;
- Les formes graves dont l'accès pernicieux (neuropaludisme ou paludisme cérébral) dues essentiellement à *Plasmodium falciparum*.

5.1- L'accès de primo invasion

Il s'agit par définition d'un accès survenant chez un sujet non immun (« sujet neuf»). Chez ce sujet, la maladie survient après une incubation muette de 7 à 21 jours.

-La phase d'invasion est marquée par une fièvre progressivement croissante, puis continue, en plateau ou à grandes oscillations irrégulières avec plusieurs pics par jour, atteignant 39 voire 41°C. La fièvre est accompagnée de malaise général avec céphalées, myalgies, douleurs abdominales et troubles digestifs (nausées, vomissements bilieux, parfois diarrhée) qui peuvent être au premier plan.

- A la phase d'état, ces signes atteignent leur maximum.

- Evolution : elle est favorable en quelques jours après un traitement correct.

Sans traitement, la guérison spontanée est possible, après une évolution de 8 à 15 jours, la fièvre peut devenir intermittente, mais des complications sont à redouter, notamment l'accès pernicieux pour le paludisme à *Plasmodium falciparum*.

5.2-L'accès palustre simple à fièvre périodique du à *Plasmodium falciparum* de l'adulte jeune (accès intermittent)

- l'incubation dure neuf à douze jours après la piqûre infectante ;
- le début (ou phase prodromique) est marqué par la survenue de céphalées, d'anorexie, de nausées, d'asthénie, d'arthralgies, d'herpès labial. Cette phase dure une à deux heures, puis brutalement survient l'accès ;
- la phase d'état : elle est brutale, survenant souvent en fin de journée ou dans la nuit. L'accès se déroule en trois stades stéréotypés, facilement identifiables : frissons – fièvre – sueurs.
- Evolution : sous traitement précoce et adapté, l'évolution est souvent favorable.

En l'absence de traitement, la guérison est possible. Le plus souvent, les accès vont se répéter selon un rythme régulier qualifié de tierce maligne. Des complications redoutables peuvent survenir faisant toute la gravité du paludisme à *Plasmodium falciparum*.

5.3- Formes compliquées et formes graves du paludisme

5.3.1-Définition OMS du paludisme grave (cf annexe 2)

5.3.2-L'accès pernicieux palustre ou neuropaludisme

Apanage de *Plasmodium falciparum*, il survient surtout chez les sujets non immuns, soit brutalement, soit après des manifestations cliniques non reconnues comme palustres, ou dont le traitement est inadapté ou tardif.

5.3.3- Le paludisme viscéral évolutif

C'est une forme subaiguë ou chronique de l'infection palustre. Il survient en zone d'endémie chez les sujets soumis à des infestations massives et répétées et aux défenses immunitaires précaires ; il est plus fréquent chez les enfants de 2 à 5 ans, mais aussi chez les malades plus âgés vivant en zone de savane.

5.3.4- La fièvre bilieuse hémoglobinurique

C'est une forme rare, qui se manifeste par un début brutal avec lombalgies, fièvre, pâleur, rapidement suivi d'un ictère, d'une oligurie avec des urines rouge-porto témoignant de l'hémolyse intra vasculaire massive, d'une hypotension artérielle. L'utilisation de la quinine, pourrait en augmenter l'incidence.

6- Formes étiologiques du paludisme

6.1- Le paludisme à *P. malariae*

Il se caractérise par un accès de reviviscence avec fièvre périodique, survenant le premier et le quatrième jour appelé pour cette raison, fièvre quarte. Sans traitement, la parasitémie peut persister des années (20-30 ans). Cette parasitémie chronique peut être à l'origine de néphrite quartane (syndrome néphrotique avec œdème, hypo albuminémie et protéinurie massive), de pronostic réservé malgré un traitement.

6.2- Le paludisme à *P. vivax*

Il détermine des accès fébriles sans gravité. Des rechutes sont possibles plusieurs années après l'épisode initial, parfois 20 ans.

6.3- Le paludisme à *P. ovale*

Il est proche de celui à *Plasmodium vivax*, avec des rechutes tardives. L'accès de primo-invasion est frustré, voire absent. Les accès de reviviscence évoluent sur un rythme de fièvre tierce bénigne.

6.3- Le paludisme à *P. knowlesi*

P. knowlesi cause chez les hommes exposés au milieu forestier des accès de paludisme à cycle court (24h) avec une fièvre quotidienne et ne présente pas de récurrences. C'est une maladie humaine qui est rare mais grave.

II Diagnostic Biologique

1.1- Diagnostic direct :

➤ Prélèvements

Le prélèvement nécessite une petite quantité de sang qui peut se faire à différents niveaux :

- A la pulpe du doigt
- Au lobule de l'oreille
- Au talon ou au gros orteil (chez les nouveaux – nés)
- Prélèvement veineux

➤ Goutte épaisse

• Technique de réalisation

Deux microlitres de sang sont déposés au milieu d'une lame de verre. A l'aide du coin d'une seconde lame, on exécute un mouvement en spirale durant 2 minutes afin de favoriser la défibrination et d'obtenir un disque homogène de 5 mm de diamètre environ.

La goutte épaisse est ensuite séchée à la température ambiante pendant 30 minutes à 4 heures. On procède ensuite à la déshémoglobination de la goutte. Pour cela couvrir la lame d'eau distillée, attendre quelques minutes. Puis la goutte est colorée à l'aide d'une solution de Giemsa diluée à 10% pendant 3 à 5 minutes ou 3% pendant 30 minutes.

• Coloration au Giemsa

Principe : On distingue plusieurs types de coloration. La coloration au giemsa par dénaturation enzymatique par la trypsine met en évidence des bandes dites bandes G. La coloration par dénaturation thermique à 87 °C (ou *RHG banding*, pour *Reverse banding using Heat and Giemsa*) colore des bandes dites « bandes R ». Cette coloration permet d'identifier sur les frottis sanguins le parasite du paludisme dont l'espèce *Plasmodium falciparum*.

- ✓ Préparer dans une éprouvette graduée la solution de Giemsa diluée à 10% (Mettre dans une éprouvette de 100ml, 10ml de Giemsa pur et compléter à 100ml avec l'eau)
- ✓ Recouvrir entièrement la lame avec cette solution diluée de Giemsa.

- ✓ Laisser agir pendant 3 à 5 mns.
- ✓ Verser la solution de Giemsa.
- ✓ Laver modérément à l'eau.
- ✓ Sécher verticalement sur un râtelier ou avec un sèche cheveux.

- **Lecture de la goutte épaisse**

Faire la mise au point avec les objectifs 10X et 40X.

Mettre une goutte d'huile sur la préparation et observer à l'objectif 100X.

Examiner 100 champs microscopiques :

- S'il n'y a aucun parasite, la GE sera déclarée négative,
- Mais dès qu'un parasite est vu, il faut commencer le comptage,
- Utiliser 2 compteurs : un pour les parasites et un autre pour les leucocytes,
- Dès que l'on atteint 200 leucocytes, on arrête le comptage de ceux-ci.

$$\text{Densité Parasitaire (parasites /}\mu\text{l de sang)} = \frac{\text{nombre de parasites comptés} \times 8000}{\text{nombre de leucocytes comptés}}$$

➤ **Frottis sanguin**

- **Technique de réalisation**

Deux microlitres de sang sont déposés sur une lame de verre. Une seconde lame de verre est posée à environ 45° sur la première lame au niveau de la goutte de sang. Le sang doit diffuser le long du bord de la lame. Puis il est étalé par un geste rapide vers l'extrémité de la première lame.

Le frottis doit ensuite être séché rapidement afin de ne pas altérer les hématies qui doivent être jointives sans se chevaucher. Il est ensuite fixé à l'alcool méthylique quelques secondes.

Une fois sec, l'étalement peut être coloré ou conservé quelques jours à l'abri des mouches et de la poussière après fixation au méthanol.

- **Technique de coloration (voir pour la goutte épaisse)**
- **Lecture du frottis sanguin**

La lecture du frottis sera ensuite réalisée au microscope optique au grossissement 100X. L'examen du frottis sanguin, va permettre d'identifier l'espèce parasitaire en cause.

Choisir la queue où les globules rouges (GR) sont mieux étalés et non superposés.

- **Identification de l'espèce (Voir morphologie)**

Elle se fait en fonction de la ou des formes présentes sur la lame.

➤ **Q. B. C. test**

Le sang recueilli sur un tube à hématocrite contenant l'acridine orange, est centrifugé à 1200 tours par minute pendant 5 minutes, puis l'identification est faite par lecture au microscope à fluorescence.

➤ **Polymerase Chain Reaction (P.C.R.)**

Elle repose sur la recherche de l'ADN parasitaire par amplification du matériel génétique. Cependant son coût élevé limite sa diffusion pour un diagnostic de routine.

1.2- Diagnostic indirect

➤ **Tests de Diagnostic Rapide (TDR)**

Il s'agit de cassettes de détection prêtes à l'emploi qui permettent en quelques minutes et sans matériel particulier de mettre en évidence la présence de *Plasmodium*.

C'est une méthode immuno-chromatographique qui utilise des anticorps monoclonaux fixés sur des bandelettes de nitrocellulose dirigés contre les antigènes ou les enzymes du *Plasmodium* (comme HRP-2 ou Histidin Rich Protein 2, aldolase ou pLDH).

Le diagnostic est positif quand on a la présence de deux bandes au niveau de la cassette.

Méthodologie

III Méthodologie

1 -Objectif Général

Mesurer l'impact du paludisme à *P.falciparum* sur quelques paramètres hématologiques et biochimiques.

2-Objectifs spécifiques

- Evaluer le taux d'hémoglobine et de plaquettes au cours du paludisme à *Pf* à J0 et J7
- Evaluer les variations biologiques au niveau hépatique et rénal dues à *Pf* à J0 et J7
- Mesurer les effets des médicaments (CTA) sur les paramètres biologiques.

3 -Description de l'étude

Depuis 2006, le Sénégal a changé sa politique de prise en charge des cas de paludisme simple. La chloroquine, qui était le médicament de première intention pendant plusieurs décennies a été remplacée par une association à base de dérivés d'artémisinine (CTA).

Notre étude entre dans cette optique, il s'agit d'une étude randomisée où les patients étaient traités en fonction du bras dans lequel ils étaient par : l'ASAQ, l'AL ou la DHA-PQ. Elle était aussi prospective et effectuée sur des patients se présentant à la structure sanitaire avec un accès palustre simple confirmé.

Des prélèvements sont effectués sur les patients à J0, c'est-à-dire avant l'administration de médicament et à J7 après traitement antipaludique.

Les patients positifs au paludisme à *P.falciparum* sont traités par des CTA (ASAQ, AL ou DHA-PQ) conformément aux recommandations du programme national de lutte contre le paludisme (PNLP).

4 -Cadre d'étude

Les patients ont été recrutés au niveau du poste de santé de Deggo, district sanitaire de Pikine et les analyses ont été effectuées à l'hôpital Roi Baudoin de la ville de Guédiawaye située au Nord-Est de Dakar où le service de parasitologie dispose d'un laboratoire.

5 -Période d'étude

L'étude s'est déroulée du mois de novembre à celui de décembre 2012.

6 -Population d'étude

Toute personne fébrile de plus de 6 mois présentant une infestation par *P. falciparum* non compliquée, confirmée, venant en consultation à l'hôpital considéré.

Ces personnes sont incluses tenant compte de certains critères :

- Critères d'inclusion :

- âge supérieur à **6 mois** ;
- infestation monospécifique par *P. falciparum* détectée par examen microscopique ;
- parasitémie comprise entre **1000** et **100 000 parasites/μl** (formes parasitaires asexuées) ;
- température axillaire $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$;
- Consentement éclairé.

- Critères de non inclusion :

- présence de signes généraux de danger chez les enfants de moins de cinq ans ou de signes de paludisme à *P. falciparum* grave selon les définitions de l'OMS (appendice 1) ;
- infestation mixte ou infestation monospécifique par une autre espèce de *Plasmodium*, détectée par examen microscopique ;
- état fébrile dû à des maladies autres que le paludisme (par exemple rougeole, infection aiguë des voies respiratoires basses, maladie diarrhéique grave avec déshydratation) ou à d'autres maladies sous-jacentes chroniques ou graves connues (par exemple maladie cardiaque, rénale ou hépatique, VIH/sida) ;
- prise antérieure de médicaments, qui risquerait d'interférer avec la pharmacocinétique des antipaludiques utilisés ou modifier les marqueurs biologiques étudiés.

7-Déroulement de l'étude

Les prélèvements de sang ont été faits par ponction veineuse. Nous avons recueillis chez chaque patient environ 5ml de sang dans un tube EDTA (Ethylène Diamine Tétra Acétique) pour la détermination des paramètres de la NFS. Quelques gouttes du sang de ce tube seront utilisées pour la réalisation du frottis sanguin et de la goutte épaisse (colorée au MGG). La même quantité de sang a été prélevée dans un tube sec pour étudier les paramètres biochimiques.

8- Matériel et réactifs

a-Prélèvements

Pour effectués nos prélèvements nous avons utilisé le matériel suivant :

- Alcool à 70°
- Coton hydrophile
- Garrot
- Tube EDTA, Tube sec
- Aiguille simple
- Vacutainer
- Gants
- Portoir
- Poubelle
- Papier absorbant

b-Goutte épaisse et frottis sanguin

Le matériel nécessaire à la confection de la goutte épaisse était constitué par :

- Lames porte-objets dégraissées et sèches
- Colorants May-Grünwald pur
- Colorant Giemsa à 10%
- Eprouvette de 25 cc ou 100cc
- Pipette pasteur

- Bac à coloration
- Sèche cheveux
- Huile à immersion
- Microscope optique
- Eau minérale
- Compteur manuel
- Calculatrice
- Méthanol

c -Numération des cellules du sang

Nous avons utilisé un automate le Sysmex XS 1000i, des laboratoires Sysmex.

d -Détermination des paramètres biochimiques

L'automate A15 des laboratoires biosystems a été utilisé pour la détermination des paramètres biochimiques.

9- Méthodes

a-Prélèvements

Deux tubes de sang ont été prélevés par ponction veineuse chez chaque patient : un tube EDTA pour la détermination de la NFS (Sysmex XS 1000i) et un tube sec pour les paramètres biochimiques (A15, biosystems). Quelques gouttes de sang sont utilisées à partir du tube EDTA pour la réalisation du frottis sanguin et de la goutte épaisse (colorée au MGG).

b-Technique

b.1- Numération des globules rouge, des globules blancs et des plaquettes

Elle est effectuée par un automate qui est le Sysmex XS 1000i, des laboratoires Sysmex.

Le Sysmex XS 1000i fonctionne selon le principe de la variation d'impédance.

Le diagnostic de l'anémie sera posé selon les critères de l'OMS (*Nutritional anemias, WHO 1968*) définissant l'anémie en fonction de l'âge et du sexe à partir du taux d'hémoglobine (Hb) comme suit :

- ✓ Hb < 11,0 g/dl enfants âgés 5ans et moins
- ✓ Hb < 11,5 g/dl enfants âgés de 6 à 11 ans
- ✓ Hb < 12 g/dl adolescents âgés de 12 à 14 ans
- ✓ Hb < 12 g/dl femme, Hb < 11,0 g/dl femme enceinte
- ✓ Hb < 13 g/dl homme

La thrombopénie ou baisse du taux de plaquettes circulants est définie sur le plan biologique par un taux de plaquettes inférieur à 150000/mm³ (soit 150G/L).

Principe : Les globules rouges et les plaquettes sont dénombrés dans un canal spécifique en utilisant les méthodes de détection de l'impédance ou du courant continu groupé à la focalisation hydrodynamique.

La Focalisation Hydrodynamique (la Détection à Courant Continu) est une technique qui utilise la fluorescence. Elle permet aux analyseurs de classer de façon constante des populations normales de globules blancs (WBC), de globules rouges (RBC) et de plaquettes (PLT) par rapport à des populations anormales, diminuant ainsi le nombre d'interventions manuelles.

Les problèmes de numération cellulaire, tels que la coïncidence ou la recirculation, sont éludés et les discriminateurs automatiques séparent les deux populations cellulaires. Qu'il s'agisse d'échantillons avec des concentrations extrêmement faibles ou extrêmement élevées, le système analyse sans compromis les globules rouges et les plaquettes de façon précise et exacte.

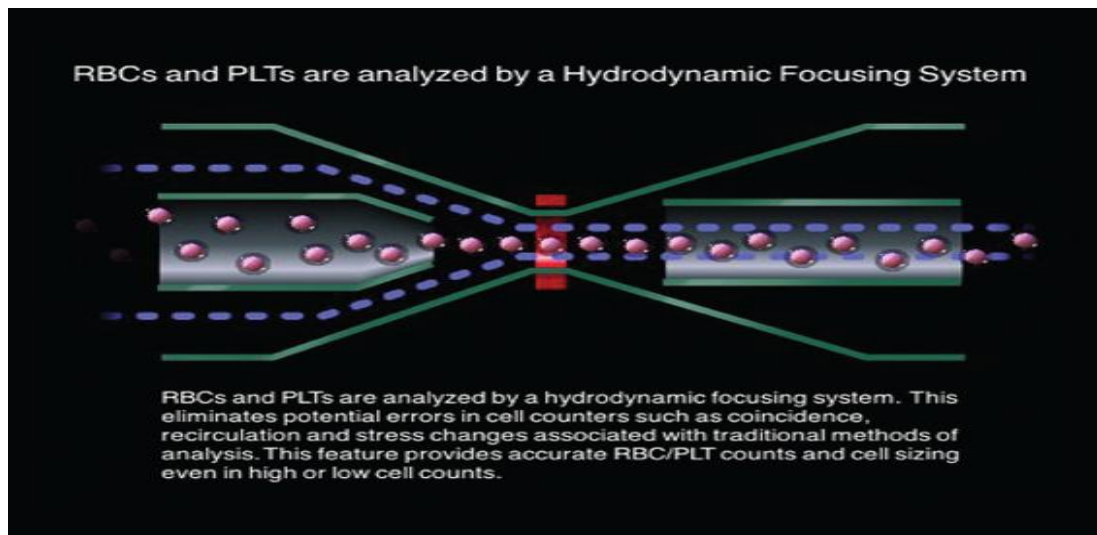


Figure 2 : Principe du Sysmex XS 1000i (Globules rouges et les plaquettes)

b .2- Paramètres biochimiques

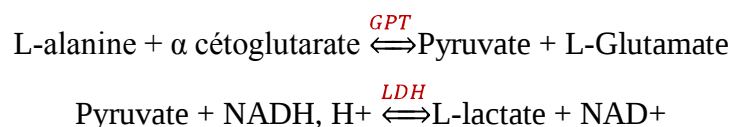
➤ L'alanine amino-transférase (ALAT) et l'aspartate amino-transférase (ASAT) :

L'insuffisance hépatique associe en général sur le plan biologique une hyperbilirubinémie et une augmentation des transaminases sériques (ASAT, ALAT).

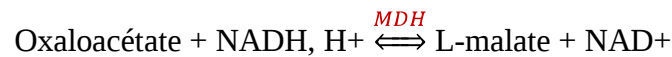
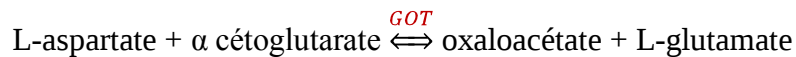
Les valeurs normales sont comprises entre :

- ASAT : 10 à 40 U/L
- ALAT : 10 à 45 U/L

Principe : Le dosage de l'ALAT sérique se fait par détermination cinétique de l'alanine aminotransférase avec couplage à une réaction indicatrice à NAD réduit, en présence d'un tampon Tris-HCL selon les réactions suivantes :



Celui de l'ASAT suit le même procédé mais selon les réactions ci-après :



Dans les deux cas on mesure la vitesse de disparition du NADH à 340 nm qui, est proportionnelle à l'activité catalytique de l'activité enzymatique.

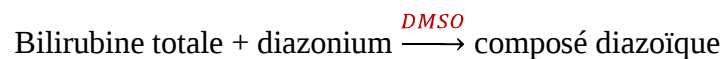
➤ La bilirubine totale :

La bilirubine non-conjuguée peut augmenter en cas de destruction accrue des globules rouges (hémolyse) et la bilirubine conjuguée augmente dans le sang lorsqu'il y a un syndrome d'inflammation ou d'obstruction hépatique (hépatite, cirrhose, calculs biliaires) qui empêche l'élimination normale de la bilirubine par la bile.

Dans les deux cas, l'accumulation de bilirubine est responsable d'un ictère ou jaunisse.

- Bilirubine totale : 0 à 1 mg/dL

Le dosage de la bilirubine totale se fait par colorimétrie en présence de diméthylsulfoxyde (DMSO), selon une réaction de diazotation avec l'acide sulfanilique diazoté.

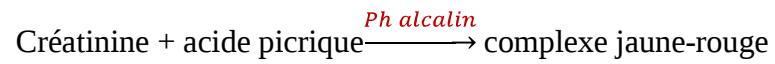


L'intensité de la coloration du composé diazoïque formé est proportionnelle à la quantité de bilirubine présente dans l'échantillon.

➤ La créatinine plasmatique :

Les critères biologiques de l'insuffisance rénale aigüe doivent associer entre autre, une augmentation des paramètres d'évaluation de la fonction rénale dont la créatininémie qui va être supérieure à 150µmol/L.

La créatinine plasmatique est déterminée par la réaction de Jaffé en point final. La créatinine réagit avec le picrate alcalin en donnant une coloration jaune orangé, mesurable à 520 nm, proportionnelle à la concentration de créatinine dans l'échantillon.



Résultats

IV- Résultats

Au cours de notre étude 312 patients présentant des signes suspects de paludisme ont été examinés parmi lesquels 269 se sont révélés porteurs de *P. falciparum* après lecture de la goutte épaisse. Parmi ces cas 152 patients ont répondu aux critères de sélection.

1 Caractéristiques générales des patients

1.1 Répartition de la population en fonction de l'âge

Un effectif de 152 patients souffrant d'accès palustre simple a été recruté au niveau du poste de santé de Deggo (Pikine). Parmi ces 152 patients, 84 (55%) étaient âgés de 5 à 15 ans et 68 (45%) avaient entre 15 et 65ans.

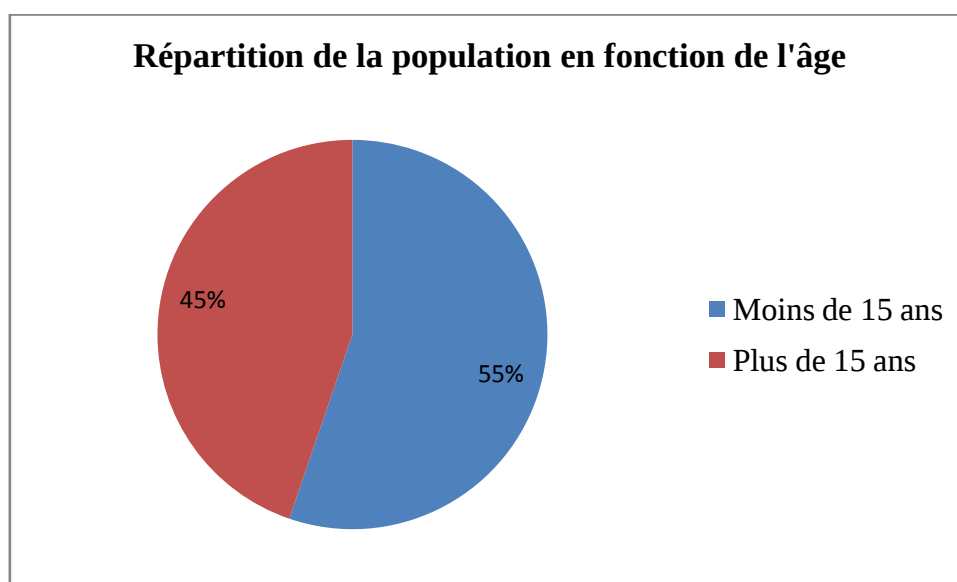


Figure 3 : Répartition de la population en fonction de l'âge

1.2 Répartition de la population en fonction du sexe

La population féminine était de 35%, tandis que les garçons représentaient 65% soit un sexe ratio (H/F) de 1,8.

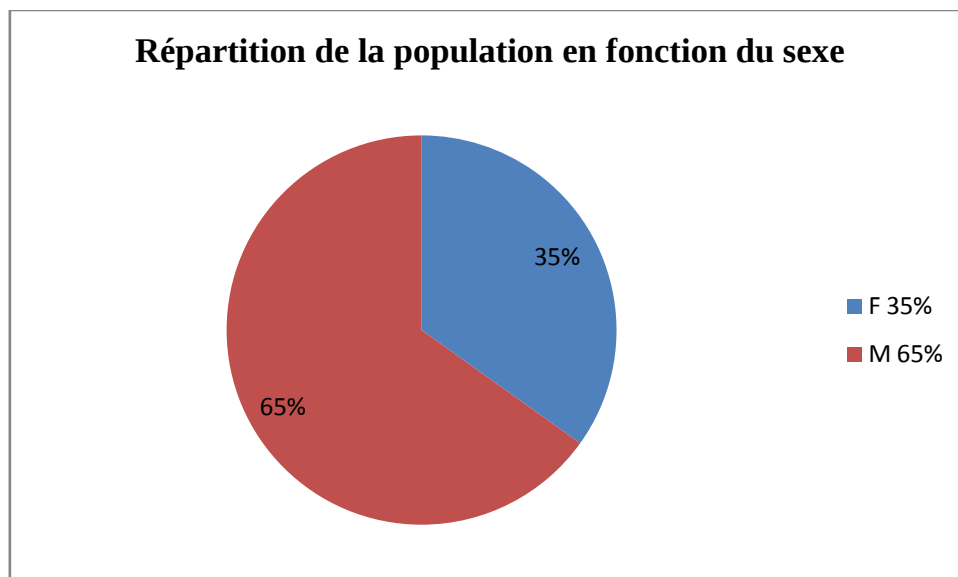


Figure 4 : Répartition de la population en fonction du sexe

1.3 Répartition des malades en fonction du type de traitement

Au cours de l'étude, une proportion de 45,70% (n=70) des patients avaient bénéficié d'un traitement à l'ASAQ ; 37,09% (n=56) au DHA-PQ et 17,22% (n=26) au AL.

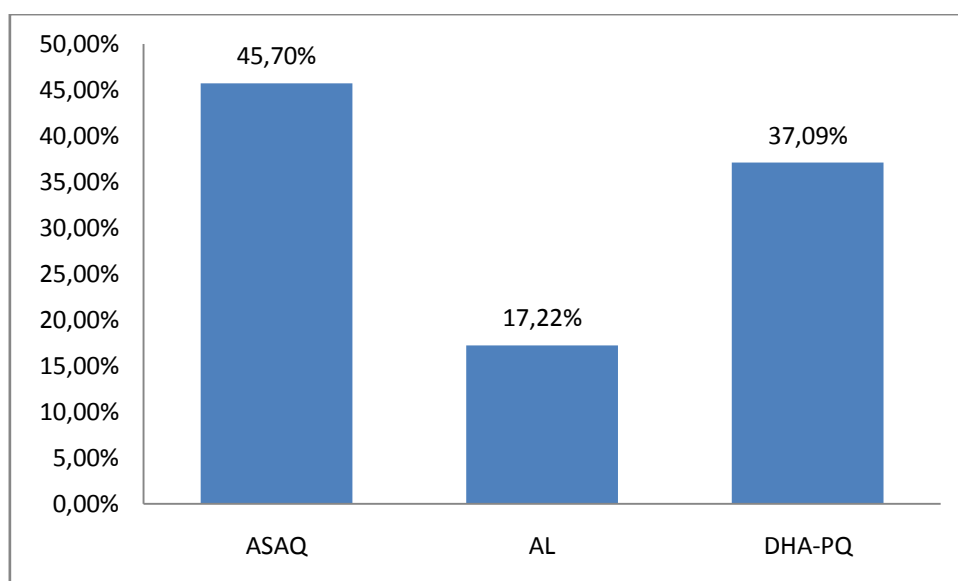


Figure 5 : Répartition de la population en fonction du type de traitement

2 Evaluation de la positivité de Pf en fonction de l'âge, du sexe et du type de traitement

Tous les patients recrutés dans l'enquête avaient présenté une goutte épaisse positive. *Plasmodium falciparum* était la seule espèce identifiée sur 100% des frottis.

Les valeurs de parasitémie chez nos patients étaient comprises entre 1115 trophozoïtes / μ L de sang et 91187 trophozoïtes / μ L de sang. La médiane était de l'ordre de 13132,5 trophozoïtes / μ L.

Le tableau 1 montre la répartition de la parasitémie à l'inclusion. On constate que la tranche des moins de 15 ans était la plus touchée avec une différence significative.

Tableau I : Evaluation de la parasitémie à Pf en fonction de l'âge, du sexe et du type de traitement

Parasitémie <i>P. falciparum</i> à l'inclusion (trophozoïtes / μ L)				
Variables	Effectif	Moyenne	IC 95%	P value
Catégorie d'âge				0,001
Moins de 15 ans	84	25626,9	20450,74-30803,07	
Plus de 15 ans	68	15425,68	11611,4-19239,94	
Sexe				0,334
Homme	99	22281,57	18222,61-26340,52	
Femme	53	18787,38	12534,86-25039,89	
Traitement				
ASAQ	69	22077,94	16342,15-27813,73	0,191
AL	27	30882,12	21008,99-40755,24	
DHA-PQ	56	15395,21	11852,69-18937,74	

3 Evaluation des paramètres biologiques en fonction de l'âge

3.1 Paramètres hématologiques

A l'inclusion le taux d'hémoglobine moyen était normal aussi bien chez les moins de 15ans que chez les plus de 15ans. Cependant 41,67% de la population des moins de 15ans souffraient d'anémie contre 55,88% chez les plus de 15ans (Tableau II).

Le taux de plaquettes moyen dans les deux populations était supérieur à 100000 / mm³ avec un taux de thrombopénie de 25% chez les enfants contre 35,29% chez les adultes (Tableau II).

Après le traitement on avait une augmentation de l'anémie dans la population d'étude avec 80,95% chez les moins de 15 ans contre 79,41% chez les plus de 15 ans. Les plaquettes se normalisaient chez la majorité des patients (Tableau II).

Tableau II : Evaluation des paramètres hématologiques en fonction de l'âge de J0 à J7

	A J0			A J7		
	Moins de 15ans	Plus de 15 ans	<i>p value</i>	Moins de 15ans	Plus de 15 ans	<i>p value</i>
Hémoglobine moyenne (g/dl)	11,46	12,66	<i>0,00</i>	10,28	11,28	<i>0,00</i>
Anémie (Hb<11g/dl) en %	41,67	55,88	<i>0,08</i>	80,95	79,41	<i>0,81</i>
Plaquettes moyenne (/mm³)	133672,4	108688,9	<i>0,09</i>	368619	300279,4	<i>0,00</i>
Thrombopénie (PQT<150000/mm³) en %	25,00	35,29	<i>0,16</i>	1,19	1,47	<i>0,88</i>

3.2 Paramètres biochimiques

Les transaminases sériques étaient élevées chez la majorité des patients à l'inclusion aussi bien chez les enfants que chez les adultes. La bilirubinémie était élevée dans 28,57% des cas chez les enfants contre 20,59% chez les adultes (Tableau III).

Tous les patients avaient présenté un taux de créatinine plasmatique normal (Tableau III).

On constate que 7 jours après les transaminases sériques se normalisaient dans la plupart des cas. Cette baisse était plus marquée chez les moins de 15 ans (Tableau III).

La bilirubine plasmatique chutait après le traitement dans les deux tranches d'âge avec 2,38% et 8,82% (Tableau III).

La créatinine n'avait pas subi de variation et restait normale (Tableau III).

Tableau III : Evaluation des paramètres biochimiques en fonction de l'âge de J0 à J7

Variables	J0			J7		
	Moins de 15ans	Plus de 15 ans	<i>p value</i>	Moins de 15ans	Plus de 15 ans	<i>p value</i>
ALAT moyenne (UI/l)	26,79	47,43	0,07	25,16	27,19	0,22
Patients avec ALAT anormal (%)	96,43	89,71	0,09	3,57	4,41	0,79
ASAT moyenne (UI/l)	46,47	57,65	0,48	33,75	32,69	0,62
Patients avec ASAT anormal (%)	38,10	20,59	0,01	10,71	4,41	0,15
Bilirubinémie moyenne (mg/dL)	1,24	1,23	0,94	0,59	0,65	0,15
Patients avec bilirubinémie anormale (%)	28,57	20,59	0,25	2,38	8,82	0,07
Créatininémie moyenne (μmol/L)	68,75	85,63	0,00	65,90	75,27	0,00
Patients avec créatininémie anormale (%)	00	00	-	00	00	-

4 Evaluation des paramètres biologiques en fonction du sexe

4.1 Paramètres hématologiques

A J0 les femmes étaient plus touchées par l'anémie avec 52,83% de cas contre 45,45% chez les hommes (Tableau IV).

La thrombopénie était présente chez 32,08% de femme et chez 28,28% d'homme (Tableau IV).

A J7 l'anémie a augmenté et était toujours plus importante chez les femmes avec une proportion de 92,45% contre 73,75% chez les hommes avec une différence significative ($p=0,00$) (Tableau IV).

Le nombre de patients avec une thrombopénie a baissé avec le traitement. Elle était entièrement absente chez les femmes soit 0% contre 2,02% chez les hommes ($p=0,00$) (Tableau IV).

Tableau IV : Evaluation des paramètres biologiques en fonction du sexe de J0 à J7

	A J0			A J7		
	Femme	Homme	<i>p value</i>	Femme	Homme	<i>p value</i>
Hémoglobine moyenne (g/dl)	12,09	11,93	0,57	10,46	10,87	0,15
Anémie (Hb<11g/dl) en %	52,83	45,45	0,38	92,45	73,74	0,00
Plaquettes moyenne (/mm³)	115742,9	126367,6	0,11	336717	300279,4	0,90
Thrombopénie (PQT<150000/mm³) en %	32,08	28,28	0,62	00	2,02	0,62

4.2 Paramètres biochimiques

Aucune modification statistiquement significative n'a été notée aussi bien à J0 qu'à J7 (Tableau V).

Après le traitement la majorité des patients redescendaient à des valeurs normales aussi bien les femmes que les hommes (Tableau V).

Tableau V : Evaluation des paramètres biochimiques en fonction du sexe de J0 à J7

Variables	J0			J7		
	Femme	Homme	<i>p value</i>	Femme	Homme	<i>p value</i>
ALAT moyenne (UI/l)	50,35	26,86	0,08	25,96	26,13	0,07
Patients avec ALAT anormal (%)	88,68	95,96	0,08	3,77	4,04	0,93
ASAT moyenne (UI/l)	62,55	45,21	0,29	31,60	26,13	0,48
Patients avec ASAT anormal (%)	20,75	35,35	0,06	5,66	9,09	0,45
Bilirubinémie moyenne (mg/dL)	1,19	1,26	0,78	0,59	0,63	0,94
Patients avec bilirubinémie anormale (%)	24,53	25,25	0,92	1,89	7,07	0,17
Créatininémie moyenne (μmol/L)	76,52	74,00	0,34	70,10	70,09	0,00
Patients avec créatininémie anormale (%)	00	00	-	00	00	-

5 Evaluation des paramètres biologiques en fonction du type de traitement

5.1 Paramètres hématologiques

Les patients sous DHA-PQ étaient plus anémiés que ceux qui étaient sous ASAQ ou AL (53,57%). Cependant la différence n'était pas significative (Tableau VI).

Il en est de même pour la thrombopénie soit 35,71% dans le bras DHA-PQ contre 28,99% pour l'ASAQ et 19,23% pour l'AL (Tableau VI).

Après traitement l'anémie était plus présente au niveau du bras AL soit 88,46% contre 86,96% pour le bras ASAQ et 69,64% pour le bras DHA-PQ ($p=0,02$) (Tableau VI).

La thrombopénie disparaissait sauf au niveau du bras DHA-PQ où elle était de 3,57% (Tableau VI).

Tableau VI : Evaluation des paramètres hématologiques en fonction du type de traitement de J0 à J7

	A J0				A J7			
	ASAQ	AL	DHA-PQ	<i>p value</i>	ASAQ	AL	DHA-PQ	<i>p value</i>
Hémoglobine moyenne (g/dl)	12,10	11,27	12,05	0,19	10,80	10,25	10,87	0,25
Anémie (Hb<11g/dl) en %	49,28	34,62	53,57	0,27	86,96	88,46	69,64	0,02
Plaquettes moyenne (/mm³)	121583,3	147083,3	117279,1	0,93	328971,4	375423,1	332035,7	0,93
Thrombopénie (PQT<150000/mm³) en %	28,99	19,23	35,71	0,30	00	00	3,57	0,30

5.2 Paramètres biochimiques

Les patients sous ASAQ présentaient un taux plus élevé d'ALAT que les autres soit 98,55% sans différence significative à l'inclusion (Tableau VII).

Pour l'ASAT et la bilirubinémie se sont ceux sous DHA-PQ qui avaient un taux plus élevé avec respectivement 39,29% et 42,86% avec des différences statistiquement significatives ($p=0,03$ et $p=0,00$) (Tableau VII).

Sept jours après la prise du traitement il y'avait une diminution du nombre de patients avec des paramètres anormaux dans tous les trois bras (ASAQ, AL et DHA-PQ) (Tableau VII).

Les médicaments n'entraînaient aucune variation au niveau de la créatinine plasmatique (Tableau VII).

Tableau VII : Evaluation des paramètres biochimiques en fonction du type de traitement de J0 à J7

Variables	J0				J7			
	ASAQ	AL	DHA-PQ	<i>p value</i>	ASAQ	AL	DHA-PQ	<i>p value</i>
ALAT moyenne (UI/l)	21,65	39,18	37,82	0,08	26,05	27	25,10	0,66
Patients avec ALAT anormal (%)	98,55	96,15	85,71	0,13	2,90	3,85	5,36	0,78
ASAT moyenne (UI/l)	32,7	70,36	53,22	0,03	32,87	35,19	32,89	0,92
Patients avec ASAT anormal (%)	21,74	34,62	39,29	0,09	2,90	7,69	14,29	0,06
Bilirubinémie moyenne (mg/dL)	1,23	1,43	1,18	0,69	0,59	0,7	0,6	0,39
Patients avec bilirubinémie anormale (%)	14,49	15,38	42,86	0,00	1,45	7,69	8,93	0,14
Créatininémie moyenne (μmol/L)	73,67	60,62	79,71	0,00	70,27	61,18	74,02	0,00
Patients avec créatininémie anormale (%)	00	00	00	-	00	00	00	-

6 Récapitulatif des variations biologiques au cours du paludisme à Pf

L'anémie à J0 était présente avec une fréquence de 48,03% soit un effectif de 73 patients/152. A J7 elle a augmenté jusqu'à 80,26% avec un effectif de 122 patients/152 ($p=0,000$) (Tableau VIII).

Sur notre population d'étude 45 patients/152 soient 29,61% ont présenté une thrombopénie à J0 contre 2 patients/152 soient 1,32% à J7 ($p=0,000$) (Tableau VIII).

Une atteinte hépatique possible était présente respectivement dans 93,42% des cas à J0 et dans 3,95% à J7 en ce qui concerne l'ALAT ($p=0,000$). Elle représente 30,26% de la population à J0 contre 7,89% à J7 pour l'ASAT ($p=0,30$) (Tableau VIII).

Nous avons aussi noté un taux de 25% de bilirubine totale anormale à J0 contre 5,26% à J7 ($p=0,000$) (Tableau VIII). Aucune atteinte rénale n'a été noté (Tableau VIII).

Tableau VIII : Récapitulatif des variations biologiques au cours du paludisme à Pf

Variables	J0	J7	P value
	Effectif (%)	Effectif (%)	
Anémie	73 (48,03)	122 (80,26)	0,000
Thrombopénie	45 (29,61)	2 (1,32)	0,000
Atteinte hépatique (ALAT)	142 (93,42)	6 (3,95)	0,000
Atteinte hépatique (ASAT)	46 (30,26)	12 (7,89)	0,30
Hémolyse (BT)	38 (25,00)	8 (5,26)	0,000
Atteinte rénale (CREA)	0 (0)	0 (0)	-

Discussion

V Discussion

Le paludisme est la maladie parasitaire la plus endémique au niveau des pays en voie de développement. Au cours du paludisme à *P. falciparum* les marqueurs biologiques font partis des principaux indicateurs subissant une variation.

Cette étude transversale a été réalisée dans le but d'évaluer l'impact du paludisme à *P.falciparum* sur les marqueurs biologiques (hématologiques et biochimiques).

Des prélèvements ont été effectués à J0, c'est-à-dire avant l'administration de médicament et à J7 après traitement antipaludique sur un échantillon de 152 patients.

Les patients inclus étaient traités par des CTA (ASAQ, AL ou DHA-PQ) conformément aux recommandations du programme national de lutte contre le paludisme (PNLP).

L'étude a permis de montrer que les populations les plus jeunes (< 15ans) étaient plus exposées au paludisme que les adultes soient 55% contre 45%. Ils présentent aussi une parasitémie plus élevée.

Nguyen *et al* ont montré que l'infection à *Plasmodium falciparum* touchait plus les enfants que les adultes avec un taux respectif de 32.5% contre 26,2% avec une différence statistiquement significative ($p < 0.005$) (26).

Le sexe masculin est plus représenté au niveau de la population d'étude avec un sexe ratio de 1,8.

Dans l'étude de Price *et al*, 66% de la population était féminine alors que seulement 34% été représenté par les hommes (7).

En regardant les proportions des patients touchés par l'anémie à l'inclusion les plus de 15 ans étaient les plus touchés et à J7 se sont les moins de 15 ans qui étaient plus atteints.

Les femmes étaient plus anémiées que les hommes et ces proportions augmentaient sept jours après le traitement. Ceci s'explique par leur cycle menstruel qui perturbe leur taux d'hémoglobine.

Balarajan *et al* ont montré que les enfants et les femmes en âge de procréer étaient la cible la plus touchée par l'anémie avec une prévalence de 47% chez les moins de 5 ans, 42% chez les femmes enceintes et 30% chez celles âgées de 15 à 49 ans (27).

Les patients sous DHA-PQ étaient plus touchés par l'anémie sans différence significative. Après sept jours se sont les patients dans le bras AL qui sont plus anémiés que les autres avec une différence significative de 0,02.

Zwang *et al* dans leur étude ont montré qu'à l'inclusion l'anémie était moins présente dans le bras ASAQ avec une différence non significative ($p = 0.800$). Sept jours après le traitement le taux d'hémoglobine était plus bas dans le groupe ASAQ comparé au groupe AL ($p = 0.001$). Quand on compare le bras DHA-PQ au bras ASAQ on constate que 9% soient 14/164 était toujours anémié à J7 pour le DHA-PQ contre 4% soit 6/160 pour l'ASAQ (28).

D'une façon générale on note une baisse du taux d'hémoglobine 7 jours après le traitement dans la population générale de l'étude aussi bien chez les moins de 15ans que chez les plus de 15ans, les femmes, les hommes ou le type de traitement. En effet, l'anémie est présente dans 48,03% de la population à J0 contre 80,26% à J7 avec une différence statistiquement significative.

Chez les enfants c'est la malnutrition qui est mise en cause et chez les femmes les menstruations.

Une étude menée en Afrique sud saharienne regroupant une dizaine de pays chez des enfants va dans le même sens que nos résultats avec une baisse du taux d'hémoglobine de J0 à J7 soit une moyenne de 8,9g/dl contre 8,7g/dl. Elle montre aussi que l'âge est un facteur modificateur du taux d'hémoglobine ce qui n'est pas le cas pour le type de traitement ou le sexe du patient (29).

Une autre étude menée dans le sud du Sénégal à Bonconto par Tine *et al* a montré que la densité parasitaire et les modifications génétiques au niveau de l'hémoglobine font partie des facteurs responsables de l'anémie (30).

L'anémie revenait à la normale seulement 6 semaines après un épisode palustre dans les travaux de Price *et al* en Thaïlande et ceci uniquement chez les patients sans aucun autre antécédent d'anémie. On note également un retour à la normale du taux d'hémoglobine qu'en l'absence de résistance au traitement ou d'échec thérapeutique (7).

Le nombre de plaquettes moyen reste dans les variables normales que ce soit en fonction de l'âge du patient, de son sexe ou du type de traitement qui lui a été administré. Ces valeurs sont sans différence statistiquement significative.

La thrombopénie était plus importante chez les plus de 15 ans soit 35,29% contre 25% chez les plus âgés.

La proportion de femmes avec une thrombopénie était plus importante que celle des hommes (32,08% vs 28,28%). Après une période de sept jours, elle était absente chez les femmes mais présente chez le sexe opposé à un faible taux. On a la même évolution selon le type de traitement qui est pris.

En effet si on regarde chez les moins de 15ans leur taux de plaquettes à la base était de 133672,4/mm³ contre 368619/mm³ à J7.

La thrombopénie était de 29,61% à l'inclusion des patients contre 1,32% sept jours après, la différence était significative avec une $p=0,00$.

L'étude d'Olliaro *et al* va dans le même sens avec un nombre de plaquettes à J0 à 178000/mm³ contre 321000/mm³ à J7 (29).

Une étude menée au Sénégal par Gérardin *et al* montre que la thrombopénie était un bon indicateur de pronostic dans la sévérité du paludisme à Pf. En effet, ils ont montré que la thrombopénie était plus fréquente et plus profonde chez les enfants qui avaient un paludisme grave que chez les enfants à accès palustre simple. Elle avait une valeur prédictive à 12% dans les cas de paludisme cérébral avec une thrombopénie inférieure à 150000/mm³ (9).

Les transaminases étaient plus élevées chez les adultes que chez les enfants, chez les femmes que les hommes et chez les patients qui sont sous AL à J0 sans différence significative.

A J0 on note que 93,42% de la population d'étude avaient un taux d'ALAT supérieure à 45U/L contre 3,95% à J7 (avec $p=0,00$). Pour l'ASAT nous avons 30,26% à J0 contre 7,89% à J7 sans différence statistiquement significative.

Au Nigéria, il a été montré chez des adultes de 20 à 50 ans que durant un syndrome palustre les enzymes sériques étaient plus élevées que la normale. Cette élévation s'expliquait par le

fait que le paludisme entraînait un dysfonctionnement au niveau du foie entraînant la libération de ces enzymes dans le sang (11).

En 2007 Nosten *et al* ont aussi montré que la prise des CTA pouvait entraîner une augmentation des transaminases sériques mais n'ayant pas de valeur cliniquement significatif (31).

La prise orale de l'amodiaquine (plus artésunate=ASAQ) par rapport aux autres CTA augmente la toxicité hépatique. Cet effet indésirable est cependant rare surtout avec la prise de l'artéméther-luméfantrine (AL) et du dihydroartémisinine-pipéraquine (DHA-PQ) (31).

Entre J0 et J7 on observe une légère baisse de la bilirubine totale moyenne qui reste toujours dans les valeurs normales au niveau de notre population d'étude. A l'inclusion 25% d'entre elle avait une bilirubine totale supérieure à 1mg/dL contre 5,26% sept jours après le traitement sans différence significative.

Une étude effectuée par Ayede *et al* va dans le même sens avec un taux moyen de bilirubine total à $0,62 \pm 0,27$ à J0 contre $0,59 \pm 0,26$ à J7 (32).

Le taux de créatinine plasmatique reste normal tout au long de notre étude et aucune atteinte rénale n'a été retrouvée aussi bien à l'inclusion qu'après traitement.

Une étude clinique menée en Inde en 2012 par Padhi *et al* où ils ont retrouvé une atteinte rénale de l'ordre de 62,7% chez les patients mais qui souffraient d'un paludisme grave à *Plasmodium falciparum* (13).

Conclusions

Conclusions

Cette étude menée au niveau du poste de santé de Deggo, était conçue dans le but d'évaluer l'impact du paludisme à *Plasmodium falciparum* sur les marqueurs biologiques.

En effet le paludisme est endémique dans la zone et entraine chez les malades une chute au niveau des éléments figurés du sang et une augmentation des enzymes sériques et autres paramètres biochimiques. Les enfants sont les cibles les plus vulnérables de cette maladie du fait de leur exposition.

Les principaux facteurs associés à l'accès palustre simple sont l'anémie pour la plus grande majorité, suivie de l'augmentation des transaminases sérique, la thrombopénie et enfin l'hémolyse des globules rouges.

On constate qu'une semaine après la prise du traitement la majorité des variables rentrent dans la normale et se stabilisent.

Cependant le taux d'hémoglobine met beaucoup plus de temps pour atteindre un seuil acceptable. Cette baisse pourrait s'expliquer par le fait que l'anémie ne peut pas être corrigée en un court laps de temps.

Il serait plus pertinent de doser le taux d'hémoglobine 1 mois après un épisode palustre pour donner le temps à l'organisme de se reconstituer. Il serait donc judicieux de toujours associer surtout chez les enfants au traitement palustre une supplémentation en fer et refaire un contrôle un mois après.

Le paludisme demeure un problème de santé publique et la lutte contre cette maladie doit être menée sur plusieurs axes.

C'est dans le but de réduire le nombre de décès liés au paludisme ainsi que les complications qu'il entraine que les décideurs de la santé ont mis en place plusieurs stratégies. Elles sont nombreuses parmi lesquelles on peut citer entre autres l'utilisation des moustiquaires imprégnées, le TPIe chez l'enfant de moins de cinq ans, le TPIg chez le femme enceinte, le SMC chez les enfants de plus de cinq ans ou la prise en charge du paludisme simple par les CTA.

Il serait donc judicieux de les appliquer afin de réduire le taux de mortalité lié à cette endémie et par la même veiller à garder les paramètres biologiques dans les valeurs physiologiques pour ainsi épargner le pronostic vital des malades.

Références bibliographiques

Références bibliographiques:

1 **OMS**, Rapport 2011 sur le paludisme dans le monde.

www.who.int/malaria/world_malaria_report_2011/fr/

2 **OMS**, Rapport 2011 sur le paludisme dans le monde.

www.who.int/malaria/world_malaria_report_2010/fr/

3 **Ripert C., Pajot F., Vincendeaux P., et Gomez F.** Epidémiologie des maladies parasitaires. P 78-88.

4 . **Erhart Laura M; Yingyuen Kritsanai, Chuanak Niphon, Buathong Nilawan, Laoboonthai Anintita, Miller R. Scott; Meshnick Steven R.; Gasser JR.Robert A.; and Wongsrichanalai Chansuda.** Hematologic and clinical indices of malaria in a semi-immune population of western Thailand. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 70(1), 2004, pp. 8–14
Copyright © 2004 by The American Society of Tropical Medicine and Hygiene

5 **Taylor Walter RJ, Widjaja1 Hendra, Basri1 Hasan, Ohrt Colin, Taufik Taufik, Tjitra Emiliana, Baso Samuel, Fryauff1 David, Hoffman Stephen L and Richie Thomas L.** Changes in the total leukocyte and platelet counts in Papuan and non Papuan adults from northeast Papua infected with acute *Plasmodium vivax* or uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Malaria Journal* 2008, 7:259

6 **Tangpukdee N , Yew HS , Krudsood S , Punyapradit N , Somwong W ,Looareesuwan S , Kano S , Wilairatana P.** Dynamic changes in white blood cell counts in uncomplicated *Plasmodium falciparum* and *P. vivax* malaria. 2008. *Parasitol Int* 57: 490 – 494

7 **Price Ric N., Simpson Julie A., Nosten François, Luxemberger Christine, Hkirjaroen Lili, Kuile Feiko Ter, Chongsuphajaisiddhi Tan, and White Nicholas J..** Factors contributing to anemia after uncomplicated *falciparum* malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 65(5), 2001, pp. 614–622

8 **Vinícius Marcus Lacerda Guimarães; Mourão Maria Paula Gomes; Coelho Helena Cristina Cardoso; Santos João Barberino.** Thrombocytopenia in malaria: who cares? April 2012. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Vol. 106, Special Issue, pp. 52-63

- 9 **Gérardin Patrick, Rogier Christophe, Ka Amadou S., Jouvencel Philippe, Brousse Valentine, and Imbert Patrick.** Pronostic value of thrombocytopenia in African children with falciparum malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 66(6), 2002, pp. 686–691
- 10 **Trampuz A, Matjaz J, Igomuzloric RP** (2003). Clinical review: Severe malaria. *Critical Care*, 7(4): 315-323.
- 11 **Nnodim J.K., Nwanjo H.U., and Opara A.U..** Blood glucose level and liver enzymes activities in malaria patients in Owerri. *Journal of Medical Laboratory Science Volume 1, No 1 (2010)*
- 12 **George, B. O., Osioma E., Okpoghono, J. and Aina, O. O.** Changes in liver and serum transaminases and alkaline phosphatase enzyme activities in *Plasmodium berghei* infected mice treated with aqueous extract of *Aframomum sceptrum*. *African Journal of Biochemistry Research Vol. 5(9), pp. 277-281, 9 September, 2011*
- 13 **Padhi Rajesh Kumar, Mishra Soumya.** Incidence of renal involvement in malaria in children in Odisha. 2012. *Hindawi Publishing Corporation*.
- 14 **Ripert C., Pajot F., Vincendeaux P., et Gomez F.** Epidémiologie des maladies parasitaires. P 78-88
- 15 **Bergal S., Nores J.M., Rosenheim M., Peignot J.F., Paraf F..** Paludisme: Préparation aux certificats et au concours de l'internat. Editions SPECIA, 6/1986 N° 5626
- 16 **<http://membres.multimania.fr/lfinot/maladie/palu3.html>**
- 17 **Thommas Ambroise P., Carneval P., Felix H., Mouchet J.** Le paludisme *Encycl. Med. Chir. (Paris), Maladies infectieuses 8089, 1984 ; 9 :A10 et A20*
- 18 **Danis M., Mouchet J.** Paludisme. Editions Marketing Ellipses/AUPELF, Paris, 1991.
- 19 **Saïssy J. M.** Paludisme Grave.PARIS. GROUPE LIAISONS S.A. 2001. p 262
- 20 **Pilly E..** Maladies infectieuses et tropicales 20^e édition 2006 p536

21 **Gentilini M.** Médecine tropicale. Médecine sciences, Flammarion, 5^e édition, Paris 1993.

22 **Nozais Jean Pierre, Datry Annick, Danis Martin.** Traité de parasitologie médicale
Edition pradel

23 **Marsh K.** A neglected disease Parasitology 104:S53-S69, 1992.

24 **Mohan K, Stevenson MM.** Acquired immunity to asexual blood stages; in Sherman IW. Parasite Biology, Pathogenesis and Protection. Washington, ASM Press, pp. 467-493, 1998.

25 **Pasvol G, Weatherall DJ, Wilson RJ.** The increased susceptibility of young red cells to invasion by the malarial parasite *Plasmodium falciparum*. *Br J Haematol.* 1980 Jun;45(2):285-95.

26 **Nguyen Hong Van, Van den Eede Peter, Overmeir Chantal van, Thang Ngo Duc, Hung Le Xuan, D'Alessandro Umberto, and Erhart Annette.** Marked Age-Dependent Prevalence of Symptomatic and Patent Infections and Complexity of Distribution of Human Plasmodium Species in Central Vietnam. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 87(6), 2012, pp. 989–995
doi:10.4269/ajtmh.2012.12-0047

Copyright © 2012 by The American Society of Tropical Medicine and Hygiene

27 **Balarajan Yarlini, Ramakrishnan Usha, Özaltin Emre, Shankar Anuraj H, Subramanian S V.** Anaemia in low-income and middle-income countries. *Lancet* 2011; 378: 2123–35 Published Online August 2, 2011 DOI:10.1016/S0140-6736(10)62304-5

28 **Zwang Julien, Ndiaye Jean-Louis, Djimdé Abdoulaye, Dorsey Grant, Mårtensson Andreas, Karema Corine and Olliaro Piero.** Comparing changes in haematologic parameters occurring in patients included in randomized controlled trials of artesunate-amodiaquine vs single and combination treatments of uncomplicated falciparum in sub-Saharan Africa. *Zwang et al. Malaria Journal* 2012, 11:25
<http://www.malariajournal.com/content/11/1/25>

29 **Olliaro Piero, Djimdé Abdoulaye, Dorsey Grant, Karema Corine, Mårtensson Andreas, Ndiaye Jean-Louis, Sirima Sodiomon B., Vaillant Michel, and Zwang Julien.** Hematologic Parameters in Pediatric Uncomplicated *Plasmodium falciparum* Malaria in Sub-Saharan Africa. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 85(4), 2011, pp. 619–625
doi:10.4269/ajtmh.2011.11-0154

Copyright © 2011 by The American Society of Tropical Medicine and Hygiene

30 **Tine Roger CK, Ndiaye Magatte, Hansson Helle Holm, Ndour Cheikh T, Faye Babacar, Alifrangis Michael, Sylla K, Ndiaye Jean L, Magnussen Pascal, Bygbjerg Ib C and Gaye Oumar.** The association between malaria parasitaemia, erythrocyte polymorphisms, malnutrition and anaemia in children less than 10 years in Senegal: a case control study. *Tine et al. BMC Research Notes* 2012, 5:565
<http://www.biomedcentral.com/1756-0500/5/565>

31 **Nosten François and White Nicholas J.** Artemisinin-Based Combination Treatment of Falciparum Malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 77(Suppl 6), 2007, pp. 181–192

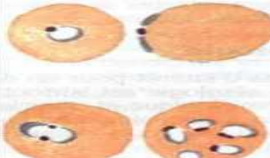
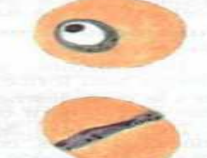
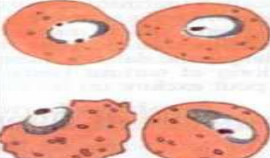
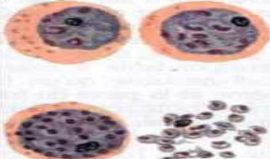
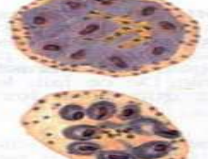
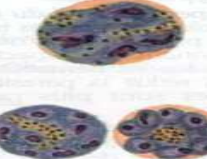
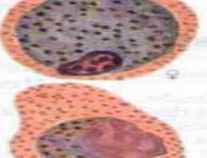
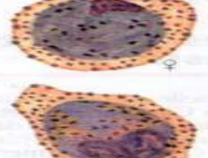
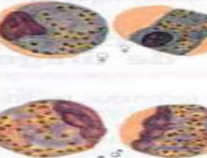
Copyright © 2007 by The American Society of Tropical Medicine and Hygiene

32 **Ayede Idowu Adejumo, Falade Adegoke Gbadegesin, Sowunmi Akintunde, Jansen Frans Herwig.** An open randomized clinical trial in comparing two artesunate-based combination treatments on *Plasmodium falciparum* malaria in Nigerian children: artesunate/sulphamethoxypyrazine/pyrimethamine (fixed dose over 24 hours) versus artesunate/ amodiaquine (fixed dose over 48 hours). *Ayede et al. Malaria Journal* 2010, 9:378
<http://www.malariajournal.com/content/9/1/378>

Annexes

Annexe 1 : *Plasmodium* à différents stades

Diagnostic du paludisme : *Plasmodium* à divers stades. Aspects sur frottis minces

	<i>Plasmodium falciparum</i>	<i>Plasmodium vivax</i>	<i>Plasmodium ovale</i>	<i>Plasmodium malariae</i>
Trophozoïtes jeunes				
Trophozoïtes âgés				
Schizontes rosaces				
Gamétocytes				

Annexe 2 : Définition d'un Paludisme à *P. falciparum* grave ou compliqué d'après l'OMS (2002)

Présence de formes sexuées de <i>Plasmodium falciparum</i> dans le sang (GE et frottis positifs) et d'une ou plusieurs des manifestations suivantes	
01	Neuropaludisme. (coma stade II ou plus)
02	Crises convulsives généralisées répétées (plus de 2 / 4 heures, plus de 15 mn de phase post-critique) Anémie grave (hémoglobine < 6g / dl. Et hématocrite < 20%)
03	Insuffisance rénale (diurèse < 400 ml ou 12 ml / kg / 24h ; créatininémie > 265 μ mol / l)
04	Œdème pulmonaire (ou syndrome de détresse respiratoire)
05	Hypoglycémie (< 2 mmol / l ou 0,4 g / l)
06	Collapsus respiratoire
07	Hémorragie diffuse (ou CIVD)
08	Hémoglobinurie massive
09	Acidose sanguine (pH artériel < 7,25 ou bicarbonates < 15 mmol / l)
10	Obnubilation ou prostration (coma stade I)
11	Parasitémie élevée (> 5% chez un sujet non immun)
12	Ictère clinique
13	Hyperthermie (> 41°C) ou hypothermie (< 36°C)

14		
	SIGNES GENERAUX DE DANGER CHEZ LES ENFANTS DE MOINS DE 5 ANS - Incapacité de boire ou de téter - Vomissements incoercibles - Léthargie ou inconscience	