

MINISTRE DES ENSEIGNEMENTS
SECONDAIRE, SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE.

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple – Un But – Une Foi



UNIVERSITE DE BAMAKO

Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie

Année Universitaire 2007 – 2008

Thèse N° _____/P

**Place du diagnostic du paludisme dans les "Suspensions d'Infections
Bactériennes Invasives" (SIBI) chez les enfants de 0 à 15 ans reçus
dans le service pédiatrique du CHU Gabriel TOURE**

THESE

présentée et soutenue publiquement le ___ / ___ / 2008

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

Par Mr Mohamed Zekra DEMBELE.

Pour obtenir le Grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

JURY

Président : Professeur Sounkalo DAO

Membre : Professeur Amagana DOLO

Co- directeur : Docteur Souleymane DIALLO

Directeur : Professeur Flabou BOUGOUDOGO

DEDICACES

Je dédie ce travail

A DIEU

Le Tout puissant, le Miséricordieux, le Clément pour m'avoir donné la force et le courage de venir à bout de ce travail. Que sa Miséricorde soit sur nous tous.

A son PROPHETE MOHAMED paix et salut sur LUI.

A mon homonyme Zekra DEMBELE in memoriam

A mes grands parents paternels in memoriam

A mon cher père Yaya DEMBELE

Très cher papa, toi qui m'as appris à être humaniste et à accepter les gens tels qu'ils sont, tu nous as toujours montré le chemin du travail bien fait, de l'honneur, du respect de soi même et d'autrui. Ta rigueur dans l'éducation a guidé tous nos pas. Ta sagesse tes critiques et ta culture d'une famille unie resteront à jamais dans notre mémoire. Que L'ETERNEL te garde encore longtemps auprès de nous tes enfants et que tu puisses profiter du fruit de nos efforts qui sont en réalité les tiens. Trouves dans ce modeste travail la récompense de tes nombreux sacrifices.

A ma chère mère Maïmouna DEMBELE

Pour ton amour, tes encouragements constants ainsi que tes prières et bénédictions, toi qui me disais que pour réussir il faut accepter la souffrance. Le stoïcisme a pour toi une grande valeur. Ce travail est le modeste témoignage de toute mon affection et de profond respect. Que Dieu le tout puissant te garde encore très longtemps auprès de nous tes enfants;

Amen !

A ma tante Adiaratou SIDIBE

Très chère tante, toi qui m'as prouvé qu'une mère n'est pas seulement celle qui met au monde un enfant, je ne cesserai jamais de vous remercier pour votre sagesse, votre honnêteté et votre grande générosité. Ce travail est également le fruit de tes encouragements et de tes nombreuses prières et bénédictions. Ton dévouement et ton soutien efficaces de tous les jours ont permis d'atteindre notre objectif. Puisse ce modeste travail être un début de satisfaction de tes vœux les plus sincères.

Que Dieu te prête une longue vie pour que tu puisses partager avec nous le fruit de ce travail.

A mes frères et sœurs : Assetou, Dramane, Chata, Batouré, Mahamoud,

Restons unis et solidaires. Vous m'avez donné le goût de la vie familiale par votre assistance perpétuelle dans la vie. Voici le résultat de votre travail.

Trouvez ici l'expression de ma plus grande sympathie.

A mes parents Bakary, Diakaridja et toute la famille DEMBELE
à Kabala.

Merci infiniment.

A mes neveux et nièces

Je vous souhaite une longue vie pleine de santé et de succès. Que la bénédiction de Dieu soit avec vous.

A tous les enfants malades du paludisme ou tout simplement à tous les malades.

Que le tout puissant, le Miséricordieux vous donne la santé, le bonheur. Amen !

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

A ALLAH le tout puissant et son Prophète MOHAMED (paix et salut sur lui).

Aux familles

DEMBELE à Faladie, Koulouba, Niamakoro.

Allaye DIALLO à Faladie

Diakalia CAMARA à Niamakoro

A tous mes oncles et tantes

Pour leurs encouragements.

A tous mes cousins et cousines.

De peur d'en oublier je ne les citerais pas, je leur dis tout simplement merci.

Au Dr GUINDO Sabou DIAKITE

Vous m'avez promptement accepté dans votre officine et j'ai beaucoup bénéficié de votre savoir être et de votre expérience. Pour votre soutien recevez mes sentiments de reconnaissance.

Au personnel du CHU Gabriel TOURE, plus particulièrement au personnel du laboratoire d'analyse médicales.

Je vous remercie d'avoir contribué à ma formation.

Au personnel du Centre Hospitalier « MERE- ENFANT » Le Luxembourg, plus particulièrement celui du laboratoire d'analyse médicale

Pour sa contribution immense à la réalisation de ce travail. Je suis profondément reconnaissant.

A tous les étudiants de la FMPOS particulièrement à mes camarades de promotions pour le souvenir des années passées ensemble.

A mes amis Tiefing, Brahima COULIBALY, Nouhoum TOGOLA, Vieux, Sanoussy, Beny.

Pour leur soutien inestimable.

A mes aînés du laboratoire du CHU- Gabriel TOURE

Docteurs : Aliou TOURE, Mariam SAMAKE, Ténin SAMAKE, Nia Kadidia SAMAKE, Cheick Fanta Mady DIABATE, Modibo SADESSI, Makandjan DEMBELE, Hamadoun CISSE dit Alphady, Samba A. SANGARE et tous les autres que je n'ai pas oubliés

Vous avez tous contribué à la belle réalisation de ce travail et sincèrement merci.

A tout le personnel de la Pharmacie Samou DIAKITE à Niamakoro.

A tous ceux qui m'ont encadré dans les écoles.

Mes chers enseignants merci pour toute la formation reçue.

A toutes les personnes de bonne volonté de près ou de loin, qui ont contribué à la réussite de ce travail, qu'elles en soient remerciées.

***HOMMAGE AUX
MEMBRES DU JURY***

A notre Maître

Professeur Sounkalo DAO

Spécialiste des maladies infectieuses et tropicales ;

**Praticien Hospitalier au Service des Maladies
Infectieux ;**

Maître de Conférence agrégé à la FMPOS

**Investigateur Clinique au SeReFo sur le paludisme, la
tuberculose et VIH et SIDA.**

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

Homme aux qualités scientifiques immenses, nous avons été séduits par la simplicité, la clarté et la rigueur de vos enseignements.

En plus de vos connaissances scientifiques, votre sens social de la vie force le respect

A notre maître et juge

Professeur Amagana DOLO

***Professeur agrégé de parasitologie à la faculté de
Médecine de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie***

Chef de DER des Sciences fondamentales

Chercheur au M.R.T.C

Cher Maître vous nous faites un grand honneur en acceptant de siéger dans ce jury de thèse malgré vos immenses occupations. Nous avons apprécié la qualité de votre enseignement clair, simple tant précis. Par vos conseils et suggestions, vous avez beaucoup contribué à améliorer les qualités techniques de ce travail. Soyez assuré, cher maître, de notre profond respect.

A notre maître et co- directeur

Docteur Souleymane DIALLO

***Maître assistant de bactériologie et virologie à la
Faculté de Médecine de Pharmacie et D'odonto-
Stomatologie.***

***Pharmacien Biologiste Chef de Service du
laboratoire d'analyses médicales du CHU Gabriel
TOURE.***

Pharmacien- chef du service de santé des Armées.

Cher Maître, nous ne cesserons jamais de vous remercier pour la confiance que vous avez placée en nous pour effectuer ce travail. Les mots me manquent pour vous exprimer combien cela fut un plaisir de travailler avec vous. Votre simplicité, votre compétence et surtout votre rigueur scientifique sont des atouts qui nous ont fasciné et dont nous avons bénéficié tout au long de notre formation.

Votre apport pour la réalisation de ce travail fut plus que considérable : il est aussi le votre.

Cher Maître, trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude et de nos sincères reconnaissances.

A notre Maître et Directeur de thèse

Professeur Flabou BOUGOUDOGO

***Maître de conférence agrégé en Bactériologie et
Virologie***

***Directeur Général de l'Institut National de Recherche
en Santé Publique***

***Responsable des cours de bactériologie et virologie à
la FMPOS***

Chevalier de l'ordre du mérite de la santé

Cher Maître, vous nous avez fait honneur en acceptant la réalisation de cette thèse dans le service de Laboratoire d'Analyses Médicales du CHU Gabriel TOURE. En plus de votre statut de chercheur confirmé et aguerri, nous avons vite apprécié vos immenses qualités humaines et scientifiques. Vos remarques et suggestions ont sans doute contribué à l'amélioration de ce travail.

PLAN

INTRODUCTION

Objectif général

Objectifs spécifiques

1. GENERALITES

2. RAPPEL CLINIQUE ET EPIDEMIOLOGIQUE DE QUELQUES INFECTIONS BACTERIENNES INVASIVES

3. METHODOLOGIE

4. RESULTATS

5. DISCUSSIONS

6. CONCLUSION

7. RECOMMANDATIONS

8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

9. RESUME

SOMMAIRES

INTRODUCTION	1
1. GENERALITES	3
1.1. Historique	3
1.2. Définition	3
1.2.1. Classification des parasites du paludisme	4
1.2.2. Agents pathogènes	4
1.2.2.1. <i>Plasmodium falciparum</i>	4
1.2.2.2. <i>Plasmodium vivax</i>	5
1.2.2.3. <i>Plasmodium ovale</i>	5
1.2.2.4. <i>Plasmodium malariae</i>	6
1.2.3. Agent vecteur	6
1.2.4. Morphologie	7
1.3. Epidémiologie	8
1.4. Cycle biologique	10
1.4.1. Cycle chez l'homme	10
1.4.2. Cycle chez le moustique	10
1.5. Mode de transmission	11
1.6. Physiopathologie	13
1.7. Clinique	14
1.7.1. Le paludisme de primo invasion	14
1.7.1.1. Incubation	14
1.7.1.2. Invasion	14
1.7.2. Accès palustre à fièvre périodique	15
1.7.3. Complications	17
1.7.3.1. Accès pernicieux	17
1.7.3.1.1. Début	17
1.7.3.1.2. Etat	18

1.7.3.1.3. Evolution	21
1.7.3.1.4. Pronostic	21
1.7.3.2. Le paludisme viscéral évolutif	21
1.7.3.3. La fièvre bilieuse hémoglobinurique	22
1.7.3.4. La néphrite quartane	23
1.7.3.5 La malaria de la femme enceinte	24
1.7.3.6. Paludisme transfusionnelle	25
1.7.3.7. La malaria de l'enfant due à <i>P. falciparum</i>	25
1.8. Techniques de diagnostics biologiques	26
1.8.1. Examens microscopiques directs	26
1.8.1.1. Frottis mince (FM)	26
1.8.1.2. Goutte épaisse	27
1.8. 1.3. Microscopie et Fluorescence	28
1.8.2. Méthodes de détection d'antigène parasites : Tests Rapides	29
1.8.3. Méthodes moléculaires de diagnostic : P C R	30
1.9. Traitement et Prophylaxie	31
1.9.1. Prophylaxie	31
1.9.2. Traitement	
2. Rappel clinique et épidémiologique de quelques infections bactériennes invasives	34
2.1. Infections bactériennes invasives à <i>Streptococcus pneumoniae</i>	34
2.2. Infections bactériennes invasives à <i>Haemophilus influenzae</i> type b	36
2.3. Infections bactériennes invasives à <i>Neisseria meningitidis</i>	40
2.4. Infections bactériennes invasives à BGN (salmonellose majeur, <i>Escherichia coli</i>)	42

3. Méthodologie	51
3.1. Cadre de l'étude	50
3.2. Période d'étude	53
3.3. Type d'étude	53
3.4. Critères d'inclusion et de non inclusion	53
3.4.1. Critères d'inclusion	53
3.4.2. Critères de non- inclusion	54
3.5. Réalisation de la goutte épaisse	54
3.5.1. Principe	54
3.5.2. Matériels et Réactifs	54
3.5.3. Précaution de sécurité	55
3.5.4. Lieu de prélèvement	55
3.5.5. Confection de la goutte	56
3.5.6. Coloration de la goutte	57
3.5.7. Lecture de la goutte épaisse	57
3.5.8. Report des résultats	58
3.6. Protocole de techniques des hémocultures positives	58
3.7. Analyse des données	63
3.8. Aspect éthique	63
4. Présentation des résultats	65
5. Commentaires et discussion	75
6. Conclusion	78
7. Recommandations	79
8. Références bibliographiques	80
9. Résumé	86

LISTE DES ABREVIATIONS

CVD	Centre des Vaccins en Développement
TA	Tension Artérielle
FM	Frottis Mince
GE	Goutte Epaisse
AO	Acridine Orange
BCP	Benzothiocarboxypurine
QBC®	Quantitative Buffy Coat
HPR-2	Histidine Rich Protein 2
Optimal-IT	Optimal Individual Test
pLDH	Lactate Deshydrogenase Parasitaire
ACT	Artemisinin based Combination Therapy
CHU-GT	Centre Hospitalier Universitaire Gabriel Touré
FMPOS	Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

TABLEAUX

TABLEAU I : Répartition des patients selon le sexe.	67
TABLEAU II : Répartition des patients selon les mois de la période d'étude.	70
TABLEAU III : Résultat de la goutte épaisse selon la résidence.	72
TABLEAU IV : Résultat de la goutte épaisse selon le sexe.	73
TABLEAU V : Résultat des germes isolés chez les patients ayant une goutte épaisse positive.	74

FIGURES

Figure 1 : *Plasmodium* vu au microscope

Figure 2: Répartition du paludisme dans le monde

Figure 3: Cycle de développement du plasmodium

Figure 4 : technique d'étalement d'une goutte épaisse

Figure 5 : Méthode de coloration des prélèvements

Figure 6 : Répartition des patients selon la tranche d'âge

Figure 7 : Représentation des patients selon le lieu de résidence

Figure 8: Répartition des patients selon les résultats de la goutte épaisse.

INTRODUCTION

En 2001 il a été créé le Centre pour le Développement des Vaccins (CVD- Mali) dans le cadre d'un accord de partenariat entre le « Center for Vaccine Development » (CVD) de l'Université de Maryland, USA et le Ministère de la Santé du Mali. Ce centre assure un meilleur contrôle des maladies évitables par la vaccination. Le CVD- Mali, après avoir rénové, équipé le laboratoire de microbiologie clinique du CHU Gabriel TOURE et formé le personnel, a entrepris une surveillance hospitalière de base des infections bactériennes invasives chez les enfants âgés de 0 à 15 ans dans le service de pédiatrie.

Ce laboratoire était dès lors capable de poser les diagnostics des maladies bactériennes invasives et d'en assurer une surveillance hospitalière.

Les deux premières années de cette surveillance (juin 2002 à mai 2004) concernaient les enfants hospitalisés. Ainsi, 6468 enfants âgés de 0 à 15 ans ont été admis dans le service dont 3105 (88% des éligibles) inclus dans l'étude.

Par la suite il s'est avéré nécessaire d'étendre cette surveillance aux enfants suspects d'infections bactériennes invasives vus en ambulatoire.

L'un des critères majeurs d'inclusion dans cette étude est la température élevée supérieure ou égale à 39°C.

Il faut noter que les causes de fièvre en pays tropical à rechercher sont soit bactériennes (salmonellose, shigellose...), soit virales (hépatites virales, méningites virales...) ou parasitaire comme le paludisme.

La gravité potentielle du paludisme fait que ce diagnostic doit être évoqué en priorité devant toute fièvre en milieu d'endémie palustre.

L'examen en « goutte épaisse » permet de faire le diagnostic par la recherche de parasites dans le sang. Le résultat est rapide et fiable.

Il a donc été jugé nécessaire de le faire pour diagnostiquer tout cas de paludisme de façon systématique chez tous les patients inclus dans l'étude et cela depuis juin 2007. Ce qui justifie le choix de notre sujet.

Pour cela nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

Objectif général

Evaluer la co- infection avec le paludisme chez les enfants souffrant de "Suspensions d'Infections Bactériennes Invasives" (SIBI) reçus dans le service pédiatrique du CHU Gabriel Touré.

Objectifs spécifiques

- Identifier les cas de paludisme par la méthode de la goutte épaisse ;
- Décrire les caractéristiques socio- démographiques des patients ayant une goutte épaisse positive ;
- Déterminer les bactéries responsables de co- infections avec le plasmodium.

1. GENERALITES SUR LE PALUDISME

1.1. Historique

De toutes les maladies tropicales, le paludisme est certainement la plus ancienne de ces maladies, et on pense que l'homme préhistorique a du en souffrir.

En 1630, Don Francisco découvre les vertus de l'écorce de quinquina au Pérou et c'est en 1820 que Pelletier et Caventou découvrent le produit actif : la quinine.

En 1880, Laveran découvre l'agent pathogène dans le sang. De 1895 à 1897 Ross soupçonne le genre d'anophèles d'être responsable de la transmission, confirmé par Grassi une année plus tard ; et ce n'est qu'en 1948 que toutes les phases du cycle de développement ont été élucidées. L'espoir des années 50, faire disparaître le paludisme du globe, est aujourd'hui anéanti par l'apparition de souches résistantes dont les premiers cas signalés en Colombie en 1960 par Youg et Moore qui n'a pas cessé de se développer. [35].

1.2. Définitions

Le paludisme (palus=marais) ou malaria (=mauvais air) est une parasitose due à des protozoaires du genre **Plasmodium** transmis par des moustiques femelles du genre **Anopheles**. Il réalise une maladie fébrile, hémolysante, qui constitue un fléau mondial [1].

1.2.1. Classification des parasites du paludisme

Les parasites responsables du paludisme appartiennent

Au règne des Protistes,

A l'Embranchement des Apicomplexa (sporozoaires) caractérisés par la présence d'un complexe apical facilitant la pénétration dans la cellule hôte,

A la classe des Sporozoaires,

A l'Ordre des Eucoccidies,

A la famille des Plasmodidae,

Au genre ***Plasmodium***,

Aux espèces : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*.

1.2.2. Agents pathogènes : Il existe quatre espèces plasmodiales. Il s'agit de :

1.2.2.1. *Plasmodium falciparum* est le plus redoutable et le plus intensément implanté. Il est l'agent du paludisme « des tropiques » celui qui tue .Il sévit toute l'année dans les pays tropicaux ou il subit cependant des recrudescences saisonnières, mais il ne survient que dans la période chaude et humide, dans les régions subtropicales. Son incubation est de 7 à 12 jours. Il est responsable de la fièvre tierce maligne, de l'accès pernicieux et, indirectement, de la fièvre bilieuse hémoglobinurique. Il évolue d'une seule tenue, sans rechutes, avec seulement des reprises (ou recrudescences).La longévité de cet hématozoaire est inférieure à un an. Il est rare, en fait, de voir survenir un accès du à ***Plasmodium falciparum*** plus de deux mois après le départ d'une zone d'endémie [1].

1.2.2.2. *Plasmodium vivax*. Largement rependue, mais moins intensément que ***Plasmodium falciparum***, cette espèce se rencontre entre les 37^e degré de latitude Nord et 25^e degré de latitude sud. L'incubation chez l'homme est d'environ 15 jours, mais peut s'étendre jusqu'à 9 mois au plus. ***Plasmodium vivax*** est responsable de la fièvre tierce bénigne. Il évolue avec des rechutes (accès de reviviscence) a brève ou a longue échéance, suivant les souches [1].

1.2.2.3. *Plasmodium ovale*. Il sévit en Afrique intertropicale et provoque une fièvre tierce bénigne comme ***Plasmodium vivax***, dont il est très proche avec lequel il a été longtemps confondu. Son incubation peut être de 15 jours ou très longue, jusqu'à 4 ans. L'évolution du paludisme du à cette espèce est bénigne, mais les rechutes tardives (ou les incubations longues) sont possibles (5 ans).

Schématiquement, on peut dire que ***Plasmodium ovale*** remplace ***Plasmodium vivax*** là ou cette dernière espèce n'existe pas (Afrique noire) et que l'évolution du paludisme du a cette espèce est encore bénigne [1].

1.2.2.4. Plasmodium malariae : sa distribution géographique est clairsemée. Son incubation est plus longue, environ trois semaines.

Il est responsable de la fièvre quarte et, parfois de complications rénales.

Sa longévité est étendue : 3 ans au moins et jusqu'à 20 ans.

Même après un très long délai, il peut réapparaître dans le sang, par exemple après une splénectomie [1].

1.2.3. Agent vecteur

C'est un moustique culicidé du genre **Anopheles**. Les espèces vectrices sont nombreuses et d'autant plus redoutable qu'elles ont une affinité pour l'homme (espèces anthropophiles), se nourrissent et se reposent dans les maisons (espèces endophiles ou domiciliaires).

Parmi ces moustiques, seule la femelle, qui est hématophage, assure la transmission du paludisme. Elle ne pique que la nuit et le soir.

La répartition des anophèles à travers le monde est beaucoup plus étendue que celle du paludisme. Si les conditions favorables de réimplantations dans les foyers actuellement réaduqués survenaient la transmission s'y établirait de nouveau [1].

1.2.4. Morphologie du plasmodium

Le **plasmodium**, découvert par Laveran à Constantine en 1880, est un protozoaire très petit (1 à 2 μ selon les formes); la coloration au May-Grünwald-Giemsa montre qu'il est constitué d'un cytoplasme bleu pâle entourant une vacuole nutritive claire, et contenant un noyau rouge et du pigment brun doré ou noir (hémozoïne)

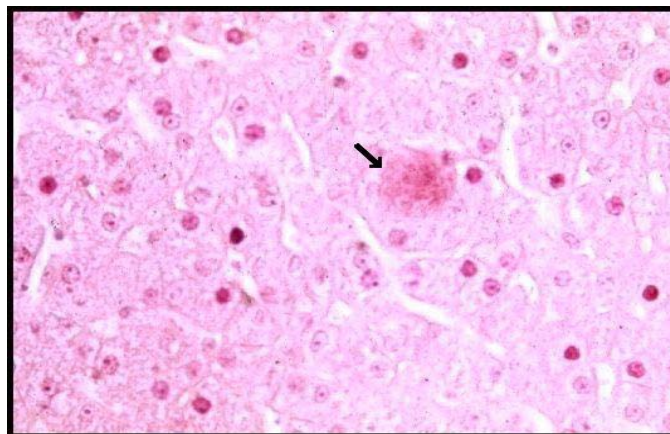


figure 1 : *Plasmodium* vu au microscope

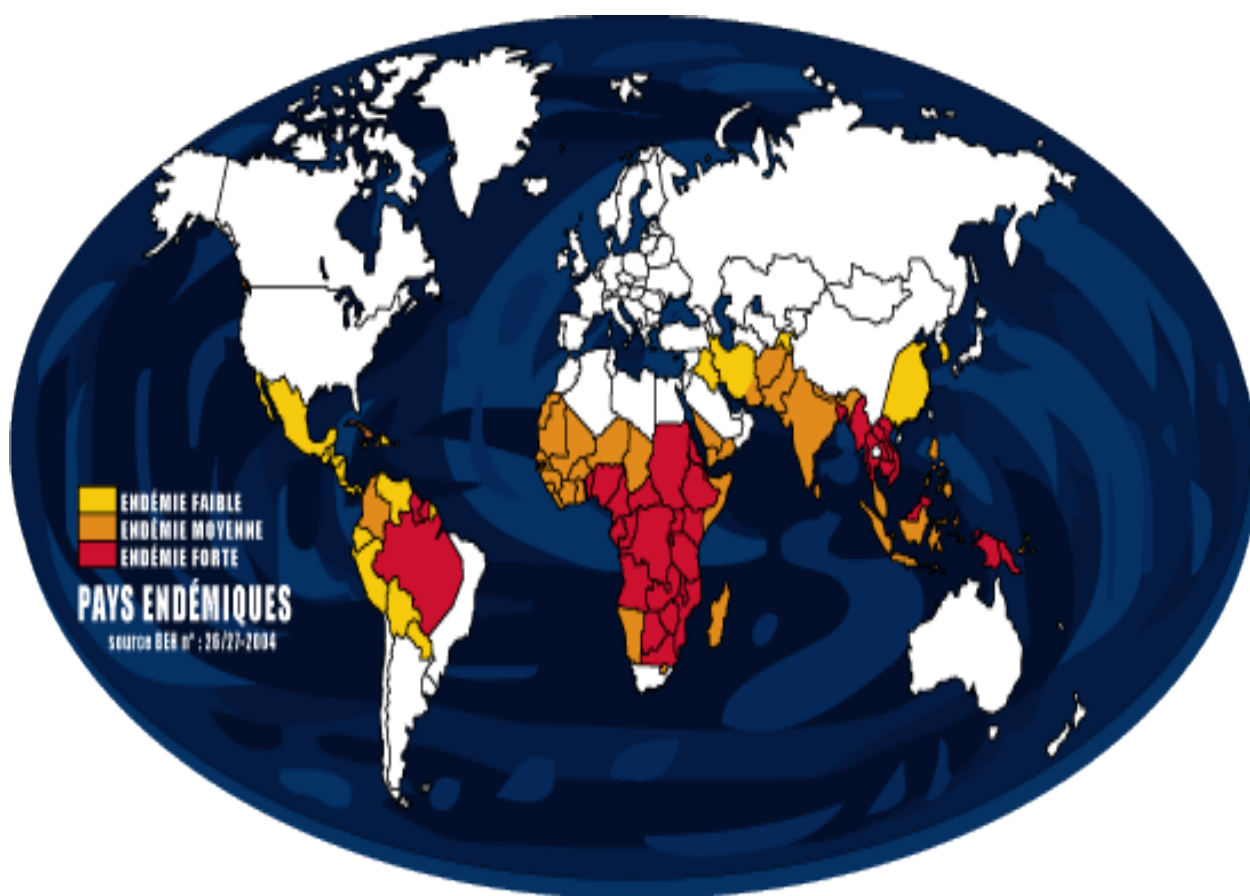
1.3. Épidémiologie

Le paludisme est la maladie parasitaire la plus répandue dans le monde (dans le sud) : les estimations du nombre de personnes contaminées varient entre 300 et 500 ou 660 millions et il tue plus d'un million de personnes par an, la plupart en Afrique. C'est la première cause de mortalité des enfants de moins de cinq ans en Afrique. Les femmes enceintes dans les zones endémiques, sont aussi particulièrement touchées par le paludisme car le placenta constitue une cible où les parasites (***Plasmodium falciparum***) peuvent s'accumuler. Le paludisme est encore la maladie mondiale la plus importante (priorité de 1er rang pour l'OMS) tant par ses ravages directs que par ses conséquences socio-économiques : une improductivité aboutissant à la sous-alimentation et au sous-développement

Il est à noter que l'être humain est loin d'être le seul hôte à subir le paludisme. Par exemple, nombreux sont les oiseaux, en Europe et à travers le monde, qui sont porteurs de ces parasites, notamment de ***Plasmodium relictum***.

AU MALI : le paludisme est la première cause de morbidité avec une incidence estimée à 40,9‰ selon l'annuaire statistique de 1997 [8]. Cette maladie existe presque sur tout le territoire malien avec un gradient d'endémicité décroissant du sud au nord. On y rencontre quatre espèces plasmodiales (***Plasmodium falciparum***, ***Plasmodium vivax***, ***Plasmodium ovale***, ***Plasmodium malariae***). Le ***Plasmodium vivax*** n'a été décrit qu'au nord du pays dans la population leucoderme. Le ***Plasmodium falciparum*** agent du paludisme perniciosus, est

l'espèce la plus représentée soit 85-95 % de la formule parasitaire [19].



Carte actualisée en Octobre 2004 - Source BEH

figure 2: Répartition du paludisme dans le monde [2].

1.4. Cycle biologique

1.4.1. Cycle chez l'homme : cycle schizogonique, ou asexué

Le moustique inocule le sporozoite, qui après le bref passage sanguin, pénètre dans l'hépatocyte (« corps bleu »). Après multiplication, les hépatocytes éclatent : les merozoites libérées passent dans la circulation : le cycle intra érythrocytaire ; pour ***Plasmodium vivax*** et ***Plasmodium ovale***, les hepatozoites peuvent rester quiescents pendant plusieurs mois (hypnozoites) avant de reprendre leur évolution vers le corps bleu (la théorie de reinfestation d'hépatocytes par les merozoites n'est plus admise).

Dans l'hématie, les trophozoites (se nourrissant d'hémoglobine) grandissent (schizontes). Les schizontes se chargent d'hemozoine (pigment parasite) et, selon l'espèce, de granulation de shuffner (*P. falciparum*). Puis ils se multiplient et forment le « corps en rosace ». A l'éclatement de celle-ci, les merozoites gagnent d'autres hématies. D'autres se transforment en gamétocytes. L'hemozoine est reprise par les leucocytes (« leucocytes mélanifères »), puis par les cellules du système réticulo-endothélial (foi, rate).

1.4.2. Chez le moustique : cycle sporogonique ou sexué :

Les gamétocytes, absorbés avec un repas sanguin, se transforment en gamètes. Le gamète male subit une exflagellation, et chaque élément issu de ce gamète peut féconder un gamète femelle (gamogonie). Ils fusionnent pour donner un œuf d'abord mobile (ookinète), puis fixé sur la paroi digestive (oocyste) ;

Après multiplication et transformation (sporogonie), les sporozoïtes gagnent les glandes salivaires et sont reinoculés chez l'homme lors d'un repas sanguin [3].

1.5. Mode de transmission :

Le paludisme est transmis par piqûre de l'anophèle femelle. Signalons la possibilité de transmission congénitale, en général sans conséquence, de transmissions par transfusion, ou de contamination accidentelle chez le personnel médical manipulant du sang parasité. Ces modalités ne jouent aucun rôle épidémiologique [1].

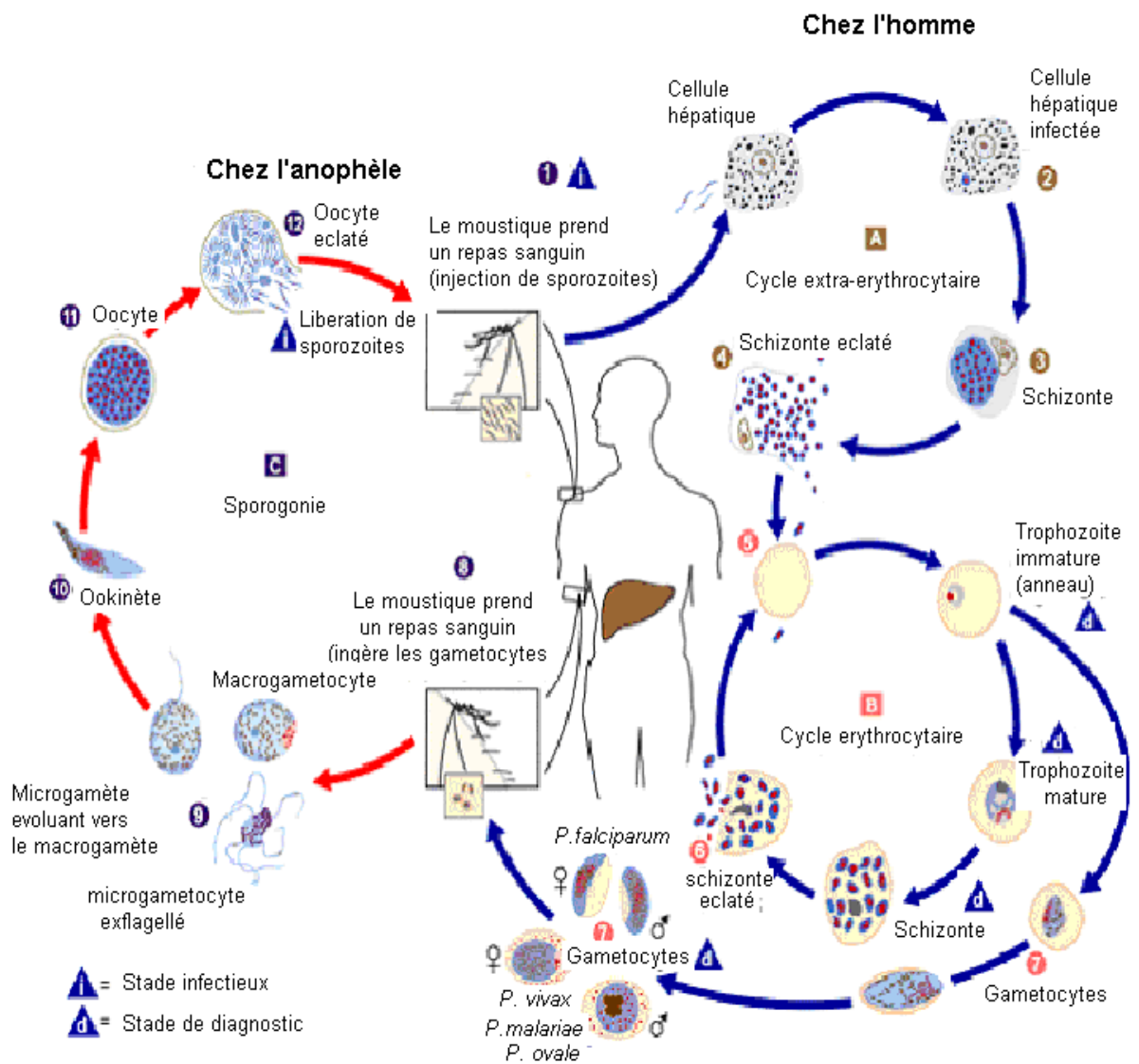


figure 3: Cycle de développement du plasmodium [31].

1.6. Physiopathologie :

La physiopathologie du paludisme grave et compliqué est mieux comprise actuellement même si elle n'est pas complètement élucidée.

Elle fait intervenir une adhérence des hématies parasitées à l'endothélium vasculaire et une cascade de cytokines.

La cyto- adhérence des hématies parasitées repose sur :

- Les knobs, véritables protrusions de la membrane de l'érythrocyte parasitée. Ces protubérances contiennent des antigènes plasmodiaux dont certains sont spécifiques de ***Plasmodium falciparum*** : histidine riche protéine et protéine RESA (Ring Erythrocyte Surface Antigen) ;
- Les récepteurs endothéliaux qui constituent des points d'attache de prédilection pour les érythrocytes infectés. Plusieurs récepteurs ont été identifiés : l'ICAM-1 (molécule d'adhésion intercellulaire), la protéine CD-36, la thrombospondine, la selectine-E, etc. la cyto-adhérence est amplifiée par le phénomène de rosette, agglutination d'hématies saines autour d'hématies parasitées. Ces rosettes peuvent obstruer des capillaires profonds et induire une séquestration.
- Les cytokines participent à la physiopathologie du paludisme. Le TNF-alpha (Tumor Necrosis Factor) joue un rôle essentiel : sécrété par les macrophages, il intervient dans la pathogénie de la fièvre et de l'œdème cérébral et son élévation est corrélée au pronostic. En fait, la sécrétion de

TNF-alpha s'intègre dans une cascade d'autres cytokines : interleukines 1, 2, 3, 10, interféron gamma, etc.

La physiopathologie du paludisme grave dépend également de multiples facteurs à savoir : virulence de la souche, niveau de chimiorésistance, capacité de cyto-adhérence, facteur génétiques, etc [25].

1.7. Clinique :

1.7. 1. Le paludisme de primo invasion

Il atteint un sujet neuf (enfant entre 4 mois et 4 ans ou européen récemment transplanté en zone d'endémie palustre non soumis à la chimioprophylaxie)

1.7.1.1. Incubation, encore appelée phase prépatante, elle dure 7 à 20 jours et elle est cliniquement muette.

1.7.1.2. Invasion : elle est marquée par l'apparition d'une fièvre continue. Le tableau clinique est celui d'un embarras gastrique fébrile : anorexie, douleurs abdominales, nausées, parfois vomissements, diarrhée, associés à des céphalées et myalgies. A l'examen, le foie surtout chez l'enfant est parfois augmenté de volume, la rate est normale, les urines sont rares, foncées et peuvent contenir des protéines. Le tableau clinique est donc bâtarde.

L'interrogatoire géographique : il est essentiel de faire préciser au malade la zone ou il a séjourné récemment. La reconnaissance des aires de répartition géographique du paludisme permet d'évoquer ou d'écarter cette infection. On y songera avant toute autre maladie devant un sujet fébrile, de retour d'une mission de coopération d'un safari, d'un séjour touristique ou d'affaire en

Afrique noire, en Asie en Amérique du sud ou dans quelques îles d'Océanie.

L'absence de chimioprophylaxie correcte est une notion essentielle à faire préciser : absence de toute prophylaxie, arrêt prématuré, utilisation d'un produit inefficace sur certaines souches plasmodiales...

Ce paludisme de primo invasion peut guérir spontanément après plusieurs épisodes fébriles. Une splénomégalie modérée apparaît dans ce cas, signe tardif au cour de la primo invasion et élément de bon diagnostic. S'il s'agit d'une invasion à ***Plasmodium falcifarum***, elle évolue parfois vers l'accès pernicieux secondaire annoncé par la majorité des céphalées et l'apparition de signe encephalitique.

1.7.2. Accès palustre à fièvre périodique

Cette période comprend des accès thermiques à rythme régulier et des signes d'accompagnement.

L'accès palustre n'est typique que dans les infections à ***Plasmodium vivax***, ***Plasmodium ovale*** et ***Plasmodium malariae***. Il peut faire suite a une primo invasion non traité. Mais dans de nombreux cas, il apparaît longtemps après, alors que l'accès fébrile initial a été oublié. Ces accès palustres sont caractérisés par la succession de 3 phases et un rythme particulier.

Précède de quelques prodromes toujours identiques pour un même malade, l'accès intermittent frappe un patient céphalalgique et nauséux. Il dure une dizaine d'heures avec successivement :

Stade de frissons : agité de violents frissons, le malade se blottit sous ses drats ; la température s'élevé à 39° ; la rate s'hypertrophie, la tension artérielle (TA) baisse. Ce stade dure une heure environ ;

Stade de chaleur : la peau est sèche et brûlante ; la température atteint 40 - 41°C ; le patient rejette ces couvertures ; la rate diminue de volume. Ce stade persiste 3 à 4 heures ;

Stade de sueurs : des abondantes baignent le malade qui émet des urines foncées. La température s'effondre brusquement, avec une phase d'hypothermie ; la T.A. remonte. Ce stade dure 2 à 4 heures. Il est souvent suivi d'une période d'euphorie et d'une impression de « libération », de bien-être.

Le rythme des accès est variable selon l'espèce plasmodiale.

En pratique, il est souvent beaucoup moins régulier que dans les descriptions cliniques ou l'on distingue :

La fièvre tierce qui correspond à une schizogonie de 48 heures et se traduit par une cloche thermique survenant aux jours J1, J3, J5, J7..., deux clochers étant séparés par un jour d'apyrexie. La fièvre tierce peut être bénigne et régulière ; elle relève alors d'une parasitémie due à ***Plasmodium vivax*** ou à ***Plasmodium ovale*** ; elle peut être maligne et irrégulière : elle est due dans ce cas à ***Plasmodium falciparum*** et apparaît dans les suites immédiates d'une primo invasion ;

La fièvre quarte qui correspond a une schizogonie de 72 heures et se traduit par un accès thermique survenant aux jours J1, J4, J7, J10, chaque accès étant sépare par deux jours d'apyrexie. La fièvre quarte est due à ***Plasmodium malariae***.

La fièvre quotidienne : il peut s'agir en fait d'accès irréguliers dus à ***Plasmodium falciparum***, ou d'une double tierce alternée relevant peut être de deux cycles schizogoniques décalés de 24 heures.

Ces accès thermiques s'accompagnent de splénomégalie et d'une anémie progressivement croissante.

1.7.3. Complications :

1.7.3.1. Accès pernicieux

L'accès pernicieux constitue le grand drame du paludisme. Il est encore appelé neuro- paludisme (cérébral malaria des anglo-saxons) et réalise une encéphalite fébrile aiguë. Il est dû au tropisme cérébral de ***Plasmodium falciparum*** (schizogonie dans les capillaires intra cérébraux). L'accès pernicieux intervient à tout âge, mais atteint surtout l'enfant de 4 mois à 4 ans. L'impaludation peut être plus précoce, mais pendant les trois premiers mois, l'enfant est protégé par les anticorps antiplasmodiaux transmis par la mère paludéenne.

Il frappe les deux sexes, mais plus fréquemment le jeune garçon. Lorsque le paludisme est saisonnier, c'est lors de la saison des pluies, pendant la période de transmission active et au décours de celle-ci qu'il est le plus fréquent. Il existe des causes déclenchantes et aggravantes (hépatite virale, méningite, rougeole...). La malnutrition en revanche ne favorise pas la survenue d'un accès pernicieux.

1.7.3.1.1. Début : il débute, soit progressivement soit brusquement.

- l'accès pernicieux à début progressif est marqué par l'installation d'une fièvre irrégulière, d'un syndrome algique diffus, associé à des troubles digestifs. On parle de fièvre d'invasion mais, déjà, l'examen clinique peut relever une note neurologique qui fait évoquer l'évolution vers l'accès pernicieux et prescrire d'urgence un traitement spécifique.

- l'accès pernicieux à début brutal foudroie surtout le jeune enfant et se traduit par une triade symptomatique faite de fièvre, de coma et de convulsions.

1.7.3.1.2. Etat. A début brutal ou progressif, le tableau de l'accès pernicieux se complète, associant : fièvre, troubles neurologiques, manifestation viscérales.

- **la fièvre** : elle atteint 40°C et même 41°C ou 42°C dans les 1/3 des cas. L'hyperthermie extrême assomblit le pronostic. Parfois la fièvre est absente le premier jour et n'apparaît qu'après 24 heures. Le pouls est généralement très accéléré.

- **les troubles neurologiques** :

Les troubles de la conscience : sont constantes dans l'accès pernicieux, et vont de l'obnubilation au coma carus. Certains exigent pour parler de neuro paludisme un coma stade II ou plus. En général, le coma est calme, tranquille, accompagné d'une abolition du réflexe cornéen, plus rarement agité, avec mouvements carphologiques ; parfois, il s'agit d'un simple taphos.

Les convulsions : surviennent une fois sur trois et sont parfois inaugurales (forme à début éclamptique). Elles sont soit généralisées, soit localisées à un hémicorps, isolées, ou répétées aboutissant à un état de mal convulsif.

Elles coïncident fréquemment avec l'acmé des clochers thermiques, mais, par les répétitions (plus de 2 par 24 heures) et la durée de la phase post-critique (supérieure à ¼ d'heure) elle diffère de la simple convulsion hyperthermique de l'enfant.

Les troubles du tonus : Le malade atteint d'accès pernicieux est règle hypotonique. La survenue d'une hypertonie traduit une rigidité de décérébration ou de décortication ; elle peut être permanente ou paroxystique. Parfois le tableau clinique est celui d'un coma profond avec hypotonie, entrecoupé de crise de rigidité avec réflexes ostéo-tendineux vifs et polycinetiques. Ce tableau peut être confondu avec un tétanos, dont on connaît la fréquence en zone tropicale. Le pronostic est alors sombre et la mort survient dans plus de 60 % des cas.

Les réflexes ostéo-tendineux sont souvent abolis. L'abolition du réflexe rotulien est considérée comme un signe de mauvais pronostic (Le Dantec)

Les troubles psychiques : Chez les adultes non comateux, on relève de confusion mentale, une désorientation, du délire ou de l'anxiété. Chez l'enfant, il est plus difficile de les apprécier, il en va de même des troubles de langage.

Les troubles cérébelleux : ils surviennent au décours du coma chez 1/3 des survivants et se traduisent par une démarche ébrieuse avec dysmétrie.

Les troubles méningés, peut nets habituellement, incitent cependant à la ponction lombaire. On décèle rarement une hyperlymphocytose dans le L.C.R. avec parfois une protéinorachie modérée, inférieure à 0,50g par litre.

- Les manifestations viscérales :

La splénomégalie deux fois sur trois dans l'accès pernicieux et, lorsqu'elle existe, elle souvent modérée et d'apparition tardive. Elle atteste d'une réaction de défense du système monocytaire, de bon pronostic.

L'hépatomégalie est fréquente surtout chez l'enfant et constitue un signe de mauvais pronostic.

Une hypoglycémie est notée dans 15 à 20 % des cas. Elle aggrave la souffrance cérébrale.

L'ictère ne survient que dans 10 % des cas. C'est un ictère hémolytique avec élévation de la bilirubinémie libre, ou mixte, témoignant de la souffrance hépatique. S'il est très intense le pronostic est mauvais.

L'anémie est un facteur aggravant des signes neurologiques. Elle est mauvais et impose une transfusion d'urgence et est aussi responsable en partie des défaillances cardiovasculaires.

Un œdème pulmonaire avec syndrome de détresse respiratoire aigue est parfois observe, au deuxième ou troisième jour d'évolution sous traitement.

Le collapsus est rare : il incite à la recherche de septicémie à gram -.

L'insuffisance rénale fonctionnelle est habituelle avec urines rare et foncées. Elle cède à la réhydratation, mais on

observe dans 1 à 2 % des cas une insuffisance rénale aigue organique, oligo-anurique d'évolution plus prolongée.

Des troubles de la coagulation avec hémorragie diffuse sont parfois observés.

1.7.3.1.3. Evolution

Non traité, l'accès pernicieux est fatal en deux ou trois jours ; correctement traité, la mortalité reste lourde (20 à 30 %), mais la guérison se fera sans séquelle, sauf parfois chez l'enfant (troubles neurologiques).

1.7.3.1.4. Pronostic

Sont de mauvais pronostic dans l'accès pernicieux :

Le coma profond d'emblée, surtout avec hypertonie paroxystique

- l'état de mal convulsif
- l'insuffisance rénale aigue organique
- l'œdème pulmonaire
- l'hypoglycémie
- le collapsus
- les hémorragies diffuses
- l'hyper ou l'hypothermie (\geq à 41°C ou à 36°C)
- l'ictère intense
- l'anémie grave

Est de bon pronostic par contre, la survenue d'une splénomégalie. Quant à la parasitémie, il semble, qu'on ne puisse tirer aucun argument pronostique.

Cependant, la majorité des accès pernicieux ont une parasitémie supérieure à 2 %.

1.7.3.2. Le paludisme viscéral évolutif

Encore appelé paludisme chronique, il survient chez des sujets insuffisamment prémunis et exposés à des infestations répétées : l'enfant autochtone non prophylactisé, mais aussi l'adulte expatrié, prenant une chimioprophylaxie à la chloroquine et infecté par la souche de ***Plasmodium falciparum*** modérément résistant à ce médicament. Il associe une anémie avec pâleur, dyspnée, asthénie, souffle anorganique, œdèmes, une splénomégalie majeure avec péricapnésie, une élévation thermique variable autour de 37,5°C à 38°C, un retard staturo-pondéral chez l'enfant.

La guérison spontanée est rare, l'aggravation fréquente, pouvant réaliser en cas d'infestation à ***Plasmodium falciparum***, un accès pernicieux secondaire. Dans certains cas, les manifestations sont frustrées ou, au contraire cachectisantes. Sous traitement antipaludique, l'amélioration est lente mais spectaculaire.

1.7.3.3. La fièvre bilieuse hémoglobinurique

Devenue exceptionnelle, elle ne constitue pas, à proprement parler, une manifestation du paludisme mais seulement un syndrome d'étiologie vraisemblablement immuno-allergique. Elle survient chez un ancien paludéen à ***Plasmodium falciparum*** autrefois soumis à la chimioprophylaxie par la quinine naturelle, dont le déclanchant immédiat est, en règle relevé. Le rôle aggravant du froid est fréquent.

Son début est brutal, marqué par des lombalgies violentes et un état de prostration. Une fièvre, des vomissements alimentaires d'abord, puis bilieux, surviennent. Un ictère hémolytique apparaît

avec anémie, collapsus, oligurie ou oligo-anurie faite d'urines porto (hémolyse intra vasculaire aigue et tubulopathie aigue).

Le pronostic est fonction de la rapidité à corriger l'anémie et à obtenir une reprise de la diurèse. La mort survient dans 30 % des cas.

1.7.3.4. La néphrite quartane

Le *Plasmodium malariae* est susceptible d'entraîner une infection à répétition (ou chronique) attaquant les glomérules, à l'origine d'un syndrome néphrotique par la dissolution de complexes immunitaires (associations anticorps antigène). Tous les sujets présentant une infection répétée par *Plasmodium malariae* ne présentent pas une atteinte rénale. L'examen au microscope électronique des prélèvements rénaux permet d'identifier la lésion. Cet examen met en évidence des dépôts de complément (éléments intervenant dans le système immunitaire) et d'immunoglobulines (variété de protéines jouant le rôle d'anticorps). Le laboratoire détecte chez l'enfant des antigènes de *plasmodium malariae*. Le pronostic est meilleur quand il s'agit de dépôts immunofluorescents à prédominance d'IgG₃ et de granulation grossière avec protéinurie sélective (les reins ne laissent passer qu'une certaine variété de protéines et non pas toutes). Les sujets présentant des dépôts fins granuleux à prédominance d'IgG₂ et une protéinurie non sélective (les reins laissent passer toutes les protéines) ont un moins bon pronostic. Traitement : la néphrite quartane ne répond pas toujours aux traitements antipaludiques ni aux corticoïdes ainsi qu'aux médicaments cytotoxiques.

1.7.3.5 La malaria de la femme enceinte

L'infection du placenta par le plasmodium falciparum se traduit par un poids de naissance faible, tout particulièrement quand il s'agit d'un premier accouchement (primipare).

Quand la quantité de parasites dans le sang est relativement peu importante (c'est le cas dans les zones de transmission stable), les femmes ne présentent pas de signes alors que les parasites qui envahissent les globules rouges de la circulation, et plus précisément de la petite circulation du placenta, sont présents. Dans les zones où la transmission est instable (on parle d'hypo ou de méso- endémie), les femmes enceintes présentent des infections sévères associées à des quantités élevées de parasites dans le sang avec une anémie, une hypoglycémie et des œdèmes des poumons. La grossesse est alors émaillée de problèmes à type de contractions prématurées, d'avortement spontané et de mortalité au moment de l'accouchement. La malaria congénitale touche environ 5 % des nouveau-nés de mères infectées et est en relation directe avec la quantité de parasites dans le placenta. **[38].**

1.7.3.6. La malaria transfusionnelle

C'est une malaria transmise par l'intermédiaire d'une transfusion sanguine ou après échange d'aiguilles entre individus drogués. Plasmodium malariae et plasmodium falciparum sont le plus souvent mis en cause. Dans ce cas, la période d'incubation est courte car il n'existe pas de cycle pré-érythrocytaire (se déroulant avant l'envahissement des globules rouges). La malaria transfusionnelle se traduit par les mêmes signes que ceux que l'on observe par le plasmodium. Néanmoins, le plasmodium falciparum est le plus souvent sévère chez les toxicomanes. Le traitement, qui utilise la primaquine quand il s'agit d'une infection à plasmodium ovale ou vivax, est alors inutile, du fait de la différence du cycle de transmission de la malaria transfusionnelle [18].

1.7.3.7. La malaria de l'enfant due à Plasmodium falciparum

Origine d'environ 1 à 3 millions de décès chaque année. Cette variété de la malaria touche essentiellement les Africains et s'accompagne de :

Troubles neurologiques avec des convulsions pouvant aller jusqu'au coma

Hypoglycémie

Augmentation du taux d'acidité du sang (acidose métabolique)

Anémie sévère

Contrairement aux autres formes de la malaria, la malaria de l'enfant ne s'accompagne pas ou peu souvent d'une atteinte rénale à type d'insuffisance de filtration des reins (insuffisance rénale) ni d'une collection liquidienne dans les poumons (œdème

pulmonaire aigu). Dans cette variété de la malaria, le traitement est généralement efficace et rapide.

1.8. Techniques de diagnostic biologique du paludisme :

(principe, avantages et inconvénients)

Différentes méthodes ont été proposées pour estimer la parasitémie. Certaines reposent sur la coloration, la détection et la numération des parasites, d'autres consistent à révéler la présence de molécules parasitaires.

1.8.1. Les examens microscopiques directs

1.8.1.1. Frottis mince (FM)

Le frottis mince est la méthode de référence pour l'étude morphologique des hématozoaires et pour le diagnostic différentiel entre les espèces plasmodiales.

Lecture :

La lecture de 100 champs microscopiques (oculaire 5 à 7X et objectif à immersion 100X) représente seulement 1/200 à 1/100 μ L de sang et la probabilité qu'un observateur expérimenté ne détecte pas une parasitémie inférieure à 200/ μ L est élevée. La densité parasitaire est généralement estimée par le pourcentage d'hématies parasitées [5]. Cette technique présente comme avantage principaux la simplicité de la réalisation, le fait qu'elle est très largement connue y compris dans des laboratoires non spécialisés et, en dehors de ces aspects pratiques, la possibilité d'un diagnostic indiscutable et précis si le résultat est positif. Il permet en effet une évaluation quantitative de la parasitémie et un diagnostic exact de l'espèce plasmodiales et des stades évolutifs, ce qui, sur le plan épidémiologique mais aussi clinique

et thérapeutique, peut avoir une importance considérable. Sa sensibilité est largement suffisante en zone de transmission puisqu'il permet de déceler environ 50 Plasmodium / μL , soit une parasitémie de $10^{-5}/\mu\text{L}$ [26].

1.8. 1.2. Goutte épaisse (GE)

La goutte épaisse contient idéalement 3 à 5 μL de sang sur 50 à 90 mm^2 et en moyenne 15 à 20 leucocytes par champ microscopique. Un champ microscopique représente alors 1/500 à 1/350 μL de sang et l'examen de 100 champs couvre 1/5 à 1/3 μL de sang. Dans ces conditions, les parasites passent rarement inaperçus si la densité parasitaire est supérieure ou égale à 25/ μL . sa sensibilité est 20 à 30 fois plus élevée que celle du frottis mince. La goutte épaisse peut être séchée, colorée et lue en l'espace d'une heure.

La goutte épaisse est largement utilisée pour le diagnostic en routine car elle permet d'examiner rapidement un volume de sang important [43]. Les parasites sont pourtant facilement détectés sur la goutte épaisse même s'ils peuvent parfois être plus difficiles à identifier que sur un frottis mince (FM). La goutte épaisse est donc l'examen parasitologique de choix en clinique au Mali.

En contrepartie de ces avantages, les examens microscopiques entraînent un certain nombre d'inconvénients ou de servitudes. Il concerne la relative longueur de l'apprentissage, surtout pour les examens de goutte épaisse. Il existe également des difficultés de reconnaître des formes plasmodiales rares et quelques fois modifiées par des conditions défectueuses de fixation ou de coloration. Les diverses causes d'erreurs par excès sont bien connues mais ce sont surtout celles par défaut (résultats

faussement négatifs en cas de faible parasitémie) qui entraînent les contraintes les plus lourdes [26].

En conclusion, ces examens microscopiques apparemment très simple exigent de la compétence et du soin.

1.8. 1.3. Microscopie et Fluorescence

Plusieurs méthodes reposent sur la coloration fluorescente des acides nucléiques par l'acridine orange (AO) ou par la benzothiocarboxypurine (BCP) ont été proposées. Le kit commercial QBC® (quantitative buffy-coat) de Becton Dickinson comme la technique de Kawa moto font appel à l'AO. Ces techniques sont rapides et faciles à mettre en œuvre. Elles ont également une sensibilité et une spécificité équivalentes à celle de la goutte épaisse.

La lecture des étalements de sang colorés à l'AO selon la méthode Kawa moto peut cependant être difficile dans les conditions du terrain.

Les colorations par l'AO ou par la BCP n'étant pas spécifiques des parasites, le microscopiste doit donc apprendre à différencier les parasites fluorescents des autres cellules ou débris cellulaires contenant des acides nucléiques. Même si des différences morphologiques peuvent être repérées, ces méthodes ne permettent pas de porter un diagnostic d'espèce plasmodiales, ni d'estimer la densité parasitaire [36]. Le QBC® nécessite un équipement particulier adaptable aux microscopes une centrifugeuse et des tubes capillaires spécifiques.

1.8. 2. Méthodes de détection d'antigènes parasitaires

Il existe plusieurs kits commerciaux reposant sur l'immuno-capture d'antigènes parasitaires. Par rapport aux méthodes microscopiques, ces tests permettent d'obtenir un résultat plus rapidement (10 à 15 minutes), nécessitent un entraînement plus limité et ont des performances comparables ou meilleures [24].

Les tests vus au laboratoire sont: Para sight F[®] (Becton Dickinson), le test ICT Malarial Pf[®] (ICT Diagnosis), NOW[®] Malaria, Malaria Antgen P.f/Pan, et OptiMAL-IT[®]

Quatre (4) d'entre eux, le Para sight F[®] (Becton Dickinson), le test ICT Malarial Pf[®] (ICT Diagnosis) NOW[®] Malaria et, Malaria Antgen P.f/Pan détectent l'antigène HRP-2 (Histidine- Rich Protein-2).

Ce sont des tests spécifiques de ***Plasmodium falciparum***, ont des performances comparables, mais ne permettent pas d'estimer la densité parasitaire.

Le test ICT Malaria Pf /Pv[®] détecte l'antigène HRP2 de ***Plasmodium falciparum*** et celui de ***Plasmodium vivax***, probablement celui de ***Plasmodium ovale***, mais apparemment pas celui de ***Plasmodium malariae***. La sensibilité de ce dernier est sensiblement moins bonne pour ***Plasmodium vivax*** que pour ***Plasmodium falciparum*** : un résultat négatif ne permet pas d'exclure une parasitémie $\leq 300 /\mu\text{L}$ pour *P. falciparum* et $\leq 1500/\mu\text{L}$ pour ***Plasmodium vivax***.

Les tests peuvent rester positifs quelques jours après une guérison parasitologique à cause de la persistance de l'antigène.

Le Para Sight F[®] test peut être faussement positif en présence de facteur rhumatoïde [15].

Le test NOW[®] Malaria est très sensible (93.4%)

Plasmodium falciparum /Sensibilité : 100% / Spécificité : 96%

Plasmodium vivax /Sensibilité : 89% / Spécificité : 98%

Plasmodium malariae / Sensibilité : 80%

Le test ICT Malaria Pf[®] doit être conservé à 4°C, le test ParaSight F peut être stocké à +37°C et le test NOW[®] peut être conservé à la température ambiante.

Le test OptiMAL-IT[®] est un test basé sur la détection d'une enzyme métabolique intracellulaire abondante produite par les espèces plasmodiales dans le sang. L'enzyme, la lactate-deshydrogenase parasitaire (pLDH), est libérée par les formes sexuées et asexuées du parasite dans le sang et rapidement détectée par une série d'anticorps monoclonaux. Ces anticorps sont dirigés contre les iso formes de l'enzyme permettant de faire une différenciation entre les espèces plasmodiales.

La pLDH disparaît plus rapidement que l'HRP-2 après un traitement antipaludique efficace et sa concentration semble variée parallèlement avec la densité parasitaire. Aucune réaction croisée n'a été décrite par rapport au test [34].

1.8.3. La PCR (Polymerase Chain Reaction) :

C'est une technique de biologie moléculaire basée sur la sélection puis l'amplification d'un gène spécifique du parasite à partir d'amorces spécifiques de ce gène. Elle a l'avantage de pouvoir détecter une souche spécifique du parasite par des amorces spécifiques de gène ou après digestion du produit de PCR avec des enzymes de restriction spécifiques.

1.9. Traitement et Prévention

1.9. 1. La prévention

Afin de prévenir toute contamination chez les touristes se rendant dans des pays où sévit le paludisme, les chercheurs ont mis en place une technique prophylactique. Cette technique consiste à utiliser un arsenal thérapeutique (se limitant à la chloroquine, au proguanil, à l'association pyriméthamine-dapsone, à la méfloquine et la doxycycline (médicaments préventifs)) afin de lutter contre les moustiques, les parasites et de prévenir toutes infections malencontreuses.

Il est très dangereux de partir en zone de transmission intense de paludisme sans prise régulière d'un traitement préventif, en particulier pour les enfants et les femmes enceintes qui ont un risque accru d'accès de paludisme grave.

Mais en raison de l'accroissement de la pharmacorésistance parasitaire (résistance des parasites aux produits constituant l'arsenal thérapeutique) et des effets secondaires propres aux différents produits, il est de plus en plus difficile d'établir des directives chimioprophylactiques (recherche de médicament de façon rationnelle).

Et pour qu'il n'y ait aucune disparité, il serait souhaitable de voir apparaître une harmonisation des directives chimioprophylactiques nationales et internationales. Les médicaments antipaludéens ne garantissent pas une protection absolue contre l'infection et il est aussi important de se protéger des piqûres de moustiques (moustiquaires, produits antimoustiques) car même si un traitement adapté a été

correctement suivi, il est possible de faire une crise de paludisme, parfois d'apparition tardive [32].

1.9. 2. Traitement

Face au paludisme, il existe un seul traitement véritablement efficace : les ACT (*Artemisinin- based Combination Therapy* : Combinaisons Thérapeutique à base d'Artémisinine). Un traitement recommandé par l'OMS mais qui reste encore cher. Aucune résistance n'est pour l'instant répertoriée et son efficacité a déjà été prouvée et elle est sans effet secondaire. Le principal inconvénient reste son prix, inaccessible pour de nombreux pays en voie de développement.

L'artémisinine, issue d'***Artemisia annua*** une plante chinoise, a largement prouvé son efficacité en Asie. Des études menées en laboratoire et dans de nombreux pays impaludés démontrent à la fois son efficacité et sa facilité d'administration. Elle élimine plus rapidement les parasites présents dans le sang.

Cependant, si la prescription d'artémisinine, sous forme d'infusions issues d'***Artemisia annua*** peut s'avérer très efficace, son utilisation est sujette à d'importantes mesures de précaution, notamment recommandées par l'OMS: il faut à tout prix éviter l'irréversible sélection de souches résistantes résultant d'une monothérapie et/ou de dosages incontrôlés.

Les dosages incontrôlés sont inhérents à toute préparation issue de plantes, puisque les conditions météorologiques, les qualités des sols, ou les protocoles de récolte, souvent artisanaux, sont imprévisibles et donc naturellement incontrôlables. Il est par conséquent très irresponsable de promouvoir par exemple à large

échelle la culture de la plante et la monothérapie basée uniquement sur l'administration de tisane artisanale **d'Artemisia annua** qui en dérive.

Pour augmenter son effet, mais aussi retarder l'apparition de résistances, l'artémisinine est donc administrée en association avec une autre molécule, SP, amodiaquine ou méfloquine : ce sont les ACT (de l'anglais, *Artemisinin-based combination therapy*), combinaisons thérapeutiques associant l'artémisinine à d'autres antipaludiques. La faible parasitémie résistante à l'artémisinine est éliminée par le deuxième antipaludéen d'action plus durable.

En 2002, l'OMS a publié une recommandation claire sur la nécessité d'utiliser les ACT dans les pays touchés par les résistances aux antipaludéens classiques. L'OMS, sur l'avis d'experts internationaux, recommande l'introduction de polythérapies pour remplacer les monothérapies dans le traitement du paludisme et préconise en particulier le recours à des associations médicamenteuses contenant des dérivés d'artémisinine.

Produit en faibles quantités, les ACT sont plus cher que la chloroquine. Un traitement de première ligne chloroquine ou SP coûte actuellement entre 0,2 et 0,5 dollar alors qu'un traitement ACT oscille entre 1,2 et 2,4 dollars, soit cinq à six fois plus que des traitements classiques mais inutiles. Pour de nombreux patients, cette différence est le prix de la vie. Un prix que, malheureusement, bien peu de personnes en Afrique peuvent payer. Seule une fabrication à grande échelle ou une aide financière très importante des pays riches pourra faire significativement baisser les coûts de production [33].

2. Rappel clinique et épidémiologique de quelques infections bactériennes invasives :

2.1. Infections bactériennes invasives à *Streptococcus pneumoniae* : [6]

Les infections à *Streptococcus pneumoniae* sont d'une grande fréquence surtout aux âges extrêmes de la vie. La pneumonie à pneumocoque est l'une des premières causes de décès chez l'enfant dans les pays en développement. Dans les pays industrialisés, le pneumocoque constitue la première cause de méningites bactériennes chez l'enfant de moins de 2 ans. Chez le nourrisson et le sujet âgé, la mortalité des infections à pneumocoques reste élevée. D'autres groupes à risque, tels que les drépanocytaires homozygotes, les sujets splénectomisés et les infections à VIH au stade SIDA, peuvent aussi développer des formes sévères voire mortelles. L'une des difficultés rencontrées pour mettre au point un vaccin anti-pneumococcique, tient à la diversité antigénique de ce germe. En effet, 89 Sérotypes capsulaires sont identifiées. L'intérêt du vaccin pneumococcique déjà évident du fait de la mortalité élevée due à la virulence de certains Sérotypes, s'est accru ces dernières années en raison de la résistance croissante de ce germe aux antibiotiques et en particulier à la pénicilline. Cette résistance, liée à une modification des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) est surtout retrouvée dans certains Sérotypes. Elle concerne également d'autres pénicillines et bêta-lactamines. Il existe de plus des résistances multiples concernant, souvent simultanément bêta-lactamines, chloramphénicol, tétracyclines

et macrolides. Un progrès important vient d'être réalisé avec la mise au point de vaccins conjugués. Le *Streptococcus pneumoniae* est un commensal du rhinopharynx surtout chez l'enfant : il peut facilement diffuser vers l'oreille et vers l'arbre respiratoire. Aussi, les otites se rencontrent surtout entre 6 mois et 3 ans. On admet qu'au moins 30% d'entre elles sont dues au pneumocoque. Les otites à pneumocoque de l'enfant sont plus fébriles et plus douloureuses que les otites dues à d'autres pathogènes. Dans les sinusites aiguës de l'adulte, le pneumocoque est retrouvé dans 25% des cas. Les infections respiratoires basses sont dominées par la pneumonie, réalisant la classique pneumonie franche lobaire aiguë avec schématiquement un stade de congestion, d'hépatisation rouge puis grise suivie de réparation. Les broncho pneumonies, de même que les pneumonies interstitielles sont plus rares. Pour ce qui est des méningites, depuis la disparition des méningites à *Haemophilus influenzae* type b, le pneumocoque représente 36% des méningites bactériennes tout âge confondu. Il constitue la première cause avant l'âge de 2ans. Cette méningite est le plus souvent associée à une otite moyenne aiguë : elle est caractérisée par un début brutal foudroyant, des troubles neurovégétatifs importants. Le pronostic en est globalement sévère : dans une étude française récente, la mortalité était de 10% et les séquelles neuropsychiques de 30%. Immunodépression, éthyliisme, splénectomie, drépanocytose, et âge avancé constituent des facteurs favorisant les infections sévères à pneumocoques. Le diagnostic bactériologique de l'infection pneumococcique est essentiellement direct, reposant sur l'examen direct et surtout sur

la culture de liquides biologiques (LCR, hémoculture, liquide de ponction), de pus (otite). L'étiologie pneumococcique des pneumopathies est plus difficile à préciser sur les seuls crachats ou prélèvements protégés si les hémocultures reviennent négatives. La recherche d'antigènes bactériens dans les produits pathologiques a d'abord été effectuée par agglutination : de nouvelles méthodes utilisant les anticorps monoclonaux sont d'une grande spécificité mais perdent leur intérêt du fait d'une trop grande sensibilité (examen positif par un portage pharyngé). Le diagnostic sérologique avec recherche et titrage des anticorps anti-polysaccharidiques ou anti-polyoside C n'est pas du domaine de la routine. La surveillance des méningites et des septicémies est faite grâce au réseau EPIBAC, le recueil des méningites bactériennes chez l'enfant est effectué depuis 2001 dans la majorité des services de pédiatrie français par la Société Française de Pédiatrie. Pour ce qui est des pneumonies, il n'existe pas de surveillance précise, rendant difficile l'évaluation de l'efficacité vaccinale. On estime cependant qu'en France, l'incidence des pneumonies se situe entre 100 000 et 120 000 cas par an, le nombre de décès étant compris entre 3 500 et 11 000, essentiellement chez le sujet âgé. L'incidence des otites serait de 200 000. Le total des cas d'infections à pneumocoque est évalué à 455 000.

2. 2. Infections bactériennes invasives à *Haemophilus influenzae* de type b :

Les infections causées par le Hib, *S. pneumoniae* et *N. meningitidis* sont responsables d'une morbidité et d'une mortalité

importantes chez l'enfant en Afrique. Le Hib est responsable de 100 000 à 160 000 décès d'enfants par an en Afrique subsaharienne. *S. pneumoniae* est responsable de 250 000 à 400000 décès d'enfants par an. *N. meningitidis* est également à l'origine de grandes épidémies (faisant des milliers de morts) dans de nombreux pays d'Afrique Centrale et d'Afrique de l'Ouest [28,13]. Même si plus de décès liés au Hib et à *S. pneumoniae* sont dus à une pneumonie plutôt qu'à une méningite, la surveillance de la pneumonie est trop difficile et complexe à mettre en œuvre en routine. Par conséquent, la surveillance de la méningite représente la meilleure méthode pour mesurer l'impact des programmes de vaccination sur les affections à Hib (et, plus tard, sur les affections à *S. pneumoniae* et *N. meningitidis*). La surveillance des méningites bactériennes permettra également de mesurer le fardeau que ces affections font peser sur les jeunes enfants [12].

On connaît la situation des affections à Hib en Afrique par plusieurs excellentes études réalisées en Gambie, au Sénégal, au Niger et en Afrique du Sud [29,17]. Ces études montrent des taux réguliers de méningites à Hib de 50 à 60 cas pour 100 000 enfants de moins de 5 ans. Ces taux sont égaux ou supérieurs à ceux qu'on pouvait observer avant l'introduction de la vaccination en Europe occidentale et en Amérique du Nord, où le vaccin contre le Hib est utilisé en routine. En outre, l'évaluation d'un vaccin conjugué anti-Hib en Gambie a montré que la vaccination évitait 20 % de toutes les pneumonies confirmées radiologiquement chez les enfants [29,30].

D'après cette étude, ainsi qu'une autre réalisée au Chili, on peut observer au moins 5 cas de pneumonie sévère due au Hib pour chaque cas de méningite à Hib [22]. A partir de ces résultats, on estime que le Hib cause, chaque année, de 100 000 à 160 000 décès le Hib est la deuxième cause de mortalité de l'enfant (derrière la rougeole) parmi les maladies chez les moins de 5 ans en Afrique sub-saharienne. Ainsi, lesquelles une prévention vaccinale est actuellement disponible en Afrique. Depuis plusieurs années, le développement de nouveaux vaccins efficaces chez le jeune enfant permet d'envisager l'élimination des infections et décès dus au Hib. Les vaccins conjugués anti-Hib ont été intégrés dans le calendrier vaccinal de routine du nourrisson dans plus de 60 pays. L'efficacité de ce vaccin s'est montrée excellente.

Au Mali il existe peu d'étude sur la méningite à Hib. L'étude du CVD au Mali menée dans le service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel Touré entre 2002 et 2003 a estimée le taux d'incidence des infections à Hib à 158,4 pour 1000 chez les enfants de moins de 1 an à Bamako et un taux de létalité de 10% [41]. Cette faible disponibilité des données relatives à la méningite à Hib, n'a jusqu'à présent pas permis d'introduire la vaccination contre cette pathologie dans le PEV du Mali. Ce pendant des études réalisées dans la sous région montrent que la méningite à Hib fait de nombreuses victimes avec une létalité de 20 à 50% et un taux de séquelles de 20 à 40 % parmi les enfants de moins de 5 ans [16, 23, 9]. La présente étude allant du 1er octobre 2002 au 30 septembre 2004 consiste à l'exploitation des données des

examens de LCR des cas suspects de méningites envoyés par les différentes structures socio sanitaires du pays à l' INRSP. Cette étude n'est qu'une contribution à la réponse au besoin d'amélioration de la disponibilité des données sur la méningite à Hib et au plaidoyer en faveur de l'introduction de la vaccination anti-Hib dans le PEV de routine. L'étude a porté sur 1449 LCR enregistrés au niveau de l' INRSP. Les 87,8% des LCR envoyés au laboratoire provenaient du District de Bamako et les 12,2 % du reste des régions du pays. Selon l'étude, sur 230 cas de méningites dont les germes ont été identifiés au latex et à la culture, Hib la 3eme place avec (21,3%) parmi les méningites bactériennes. Au niveau du district de Bamako il occupe 27,4% suivant l'analyse en fonction de la provenance. Les sujets de moins de 1 an (59,6 %) étaient les plus atteints et la distribution de la maladie à été observée pendant la saison sèche (51,0%) et pluvieuse (49.0%) sans impact significatif de la température et de la pluviométrie.

Au Kenya l'introduction du vaccin anti-Hib conjugué au sein de la routine du programme de vaccination des enfants à l'âge de 6, 10, et 14 semaines a débuté en novembre 2001. L'objectif visé étant de mesurer l'incidence de la culture preuves maladies invasives à Hib avant et après l'introduction du vaccin et l'efficacité du programme de vaccin. La vaccination a permis de réduire l'incidence de la maladie à Hib chez les enfants âgés de moins de 5 ans à 12% de son niveau de base. Cet impact n'a pas été observé jusqu'à la troisième année après l'introduction du vaccin.

2.3. Infections bactériennes invasives à *Neisseria meningitidis* :

Les infections invasives à méningocoques sont des infections bactériennes rares mais graves qui touchent entre 1500 et 3400 Américains chaque année ; elles sont responsable de méningites et de septicémies dans la plus part des cas. Les infections invasives à méningocoques sont mortelles chez environ 10% des personnes affectées. Parmi celles qui surviennent à l'infection, une sur cinq souffre des séquelles telles que pertes auditives, troubles neurologiques et amputation (d'un membre). Les infections invasives à méningocoques commencent souvent par des symptômes qui peuvent faire confondre avec des infections virales communes, telles que la grippe. Mais contrairement aux infections les plus courantes, les infections invasives à méningocoques peuvent évoluer très rapidement et parfois tuer en moins de 48 heures des sujets jeunes et par ailleurs en bonne santé [42]

Depuis l'introduction du vaccin contre *Hæmophilus influenzae* de type b dans l'immunisation de l'enfance, *Neisseria meningitidis* se partage avec *Streptococcus pneumoniae* la responsabilité des méningites purulentes. Les infections invasives à méningocoques méningocoque est une bactérie strictement humaine qui ne survit pas dans l'environnement et dont le réservoir est le nasopharynx de l'homme. La plupart des sujets infectés sont des porteurs sains (5 à 10% de la population). La morbidité de l'infection meningococcique est en France de l'ordre de 1 pour 100000 habitants par an. La forme clinique la plus fréquente est la

méningite cérébro-spinale dont la guérison sans séquelle après traitement adéquat est la règle (2 à 3% de mortalité). La survenue d'une méningite suppose une bactériémie dont le point de départ est le réservoir nasopharyngé. Cette bactériémie va permettre le franchissement de la barrière hémato-méningée, qui est une des barrières les plus imperméables de l'organisme. Il est important de souligner que cette étape nécessite des attributs spécifiques au méningocoque, comme le souligne le faible nombre d'agents bactériens capables de donner une méningite. Plus rarement le méningocoque est responsable de chocs septiques foudroyants qui peuvent réaliser un tableau dit de purpura fulminants. Ces formes correspondent à des bactériémies initiales élevées qui, bien que s'accompagnant du franchissement des bactéries dans le liquide céphalo-rachidien purpura fulminant sont inconnues. La nature du séro-groupe capsulaire permet d'individualiser plusieurs séro-groupes A, B, C, Y, W135. Le séro-groupe A est principalement retrouvé en Afrique tropicale dans la ceinture méningée où il est responsable de poussées épidémiques sur un fond endémique. En France, comme en Europe de l'ouest et en Amérique du nord, les séro-groupes B et C sont les principaux en cause. En 1997, le centre national de référence rapportait que 75 % des souches qui lui étaient parvenues étaient de séro-groupe B, 20 % de séro-groupe C. Il est cependant important de noter que l'incidence des infections à méningocoques a doublé depuis 1998 en France, atteignant 169 cas en 2001 (chiffres provisoires). Les tranches d'âge les plus touchées sont les enfants de moins d'un an, puis d'un à 5 ans et les adolescents de 16 à 20 ans, enfin les enfants de 6 à 15 ans. Les infections méningococciques

en rapport avec une endémicité sont dues à des souches différentielles. En revanche des petites épidémies au sein de collectivités ou communautés urbaines ont été décrites dans certains pays d'Europe de l'ouest et d'Amérique du nord. Ces petites épidémies sont dues à des souches de sérotype B et C appartenant à des complexes clonaux particuliers et ayant une capacité de dissémination plus marquée que les souches endémiques [37].

A tout âge, le méningocoque est prédominant cependant chez l'enfant de plus d'un an. Une pandémie de méningite à méningocoque A clone III est partie de l'Asie (Népal 1985) en passant par la Mecque en 1987 pour infester la plupart des pays africains : Ethiopie et Kenya en 1989, Tanzanie entre 1991 et 1992, Guinée 1992 et 1994, Mali 1994 et 1997 par exemple [40].

Le méningocoque est la seule entité bactérienne susceptible de provoquer une épidémie de méningite. Depuis 1994, une nouvelle souche de méningocoque A clone III-1 a été identifiée au Mali [20]. Depuis là on assiste à une flambée épidémique qui tend à ne pas respecter le cycle décennal classique.

2.4 Infections bactériennes invasives à BGN (salmonelloses majeurs, *Escherichia coli*)

2.4.1. *Escherichia coli* : [21]

- Définition : Bacille à Gram négatif de l'intestin et de l'environnement humain ou animal (tube digestif). Responsable d'infections spontanées des voies urinaires et de gastro-entérites. Responsable aussi d'infections nosocomiales. C'est la bactérie

pathogène la plus fréquemment retrouvée. Tendance vers l'acquisition de résistance aux antibiotiques. Espèces type du groupe des Enterobacteriaceæ ou entérobactéries.

- Epidémiologie et prévention : Dans les infections extra intestinales, l'origine est endogène le plus souvent avec des bactéries qui sont des hôtes normaux du tube digestif. Les infections intestinales sont liées au « péril fécal » : la recherche et le dénombrement des **Escherichia coli** dans les eaux d'alimentation et en bactériologie alimentaire est le test primordial de la mise en évidence d'une contamination fécale. La prophylaxie des diarrhées épidémiques repose sur des mesures d'hygiène et l'éventuelle administration d'antiseptiques intestinaux. La transmission hospitalière de cette bactérie est manuportée et les mesures de prévention relèvent de l'amélioration des de soin pour la prévention de l'infection nosocomiale.

- Pouvoir pathogène : Les **Escherichia coli** peuvent donner lieu à divers types d'infections.

- Infections urinaires : **Escherichia coli** représente à lui seul l'agent responsable de la très grande majorité des cas d'infection urinaire spontanée. L'infection urinaire basse à **Escherichia coli** est vulgairement appelée « colibacillose ». En fait l'origine de l'infection est intestinale (infection par voie ascendante), favorisée chez la femme par l'anatomie du bas appareil urinaire (urètre court), par la présence que favorisent les rapport sexuels, d'**Escherichia coli** dans l'urètre féminin et le vagin. **L'Escherichia coli** de l'infection est dominant dans le rectum et la sphère

génito-urinaire. Les souches des pyélonéphrites possèdent à leur surface des structures fibrillaires, les fimbriæ qui permettent l'attachement des corps bactériens aux cellules de l'arbre urinaire. L'adhérence se fait via le disaccharide du système P. elles semblent aussi bénéficier d'autres atouts comme la possibilité de résister au complément de produire des hémolysines, de s'opposer à la phagocytose par l'antigène K.

- Septicémies et méningites :

Les ***Escherichia coli*** sont isolés dans 20% des septicémies et représentent 45% des septicémies dues aux bacilles à Gram négatif. Les méningites sont rares, elles surviennent surtout chez le nourrisson mais sont souvent graves. Il est remarquable que 80% des ***Escherichia coli*** isolés de méningites possèdent l'antigène K.

- Infections intestinales :

- ***Escherichia coli*** dits entéropathogènes (ECEP) OU de gastro-entérite du nourrisson

Ils sont la cause d'épidémies très fréquentes en milieu pédiatrique jusqu'en 1960 ; elles sont rares actuellement. Ils appartiennent à des types sérologiques particuliers (O111 : H2, O55 : H6, etc.) Ces ***Escherichia coli***, identifiés aussi sous le nom de EPEC, sont capables d'adhérence aux entérocytes, de la sécrétion d'une toxine létale pour certaines cellules en culture (cellules Vero, d'où le terme de «vérotoxine»). Le facteur d'adhérence des ECEP est porté par un plasmide et peut être recherché à l'aide d'une sonde nucléique mais ceci ne se substitue pas au typage sérologique.

Ces bactéries se fixent sur les cellules épithéliales de l'intestin grêle dans lesquelles elles s'enchaissent sans pénétrer, en faisant disparaître les villosités. Elles produisent une cytotoxine neutralisée par le sérum antitoxine de ***Shigella dysenteriae***.

- ***Escherichia coli*** entéro-invasifs (ECEI ou EIEC)

Ceux-ci sont très proches des *Shigella* par leurs caractères biochimiques, antigéniques et le mécanisme de leur pouvoir pathogène. Ils ont le pouvoir, codé par un plasmide, d'envahir les cellules épithéliales du gros intestin, de s'y multiplier et de causer des réactions inflammatoires localisées pouvant aboutir à des ulcérations. Ils sont rares en Europe occidentale.

- ***Escherichia coli*** entéro- toxinogènes (ECET ou ETEC)

Ils sont une des causes les plus fréquentes de diarrhée de l'enfant dans les régions chaudes à hygiène déficiente et de la diarrhée du voyageur ou « tourista ». Leur pouvoir pathogène est lié d'une part, à la possession de fimbriae, souvent appelés C.F.A. (« Colonization Factor Antigen »), qui leur permettent d'adhérer aux cellules de l'intestin grêle, et de se multiplier à leur surface sans y pénétrer, d'autre part, à la production de toxines qui dérèglent le mécanisme normal d'excrétion / absorption de ces cellules. La toxine thermolabile est immunologiquement apparentée à celle produite par *Vibrio cholerae* et agit par le même mécanisme. Elle se fixe aux gangliosides des cellules intestinales par une de ses sous-unités « B » et ceci permet le passage intracellulaire de la sous-unité active « A » qui active l'adényl- cyclase ; l'augmentation de l'AMP cyclique intracellulaire entraîne la perte Na^+ , HCO_3^- , et Cl^- et une fuite d'eau. La toxine

thermostable, petite molécule de 18 acides aminés se fixe sur des récepteurs cellulaires de la bordure en brosse intestinale (ces récepteurs sont plus nombreux chez l'enfant, ce qui expliquerait la gravité des diarrhées dans ce cas) active la guanylate- cyclase, accroît le taux de guanidyl phosphate cyclique et ainsi bloque la rentrée de Na Cl et favorise la sécrétion de Cl. **Les fimbriae** et les entérotoxines sont codés par des gènes localisés sur des plasmides. Le diagnostic de ces ***Escherichia coli*** entérotoxigènes est fait par la mise en évidence des toxines. Comme dans le choléra, la thérapeutique consiste à pallier la fuite hydrominérale par la réhydratation.

• ***Escherichia coli*** entéro- hémorragiques (ECEH ou EHEC)

Ceux-ci appartiennent essentiellement au type sérologique O157 : H7. Ils causent une diarrhée hémorragique qui peut être compliqué du syndrome hémolytique- urémique. Non invasifs, ils produisent de puissantes cytotoxines actives par exemple sur les cellules Vero mais immunologiquement ou fonctionnellement liées aux toxines de ***Shigella dysenteriae*** type I. Ils sont responsables d'épidémies de diarrhées hémorragiques d'origine alimentaire. Les toxines « shigalike » ou SLT agissent sur les ribosomes des cellules eucaryotes au niveau de l'ARN ribosomique et inhibent la synthèse protéique. L'effet de la toxine est lié aussi à l'adhérence de ces souches bactériennes à l'épithélium. Les SLT peuvent aussi donner des signes cérébraux qui seraient liés à des troubles vasculaires et non à une toxicité sur les neurones. Le syndrome hémolytique- urémique (SHU) est une maladie brutale caractérisée par l'apparition d'une thrombopénie, d'une hémolyse,

dune insuffisance rénale aiguë avec anurie survenant plutôt chez le jeune enfant. La femme enceinte et en post-partum. La participation directe des toxines SLT est probable.

- ***Escherichia coli*** entero- agrégatif EaggCE (ou entero-agrégative E. Coli) :

Les *Escherichia coli* entero- agrégatifs sont à l'origine de manifestations voisines de celles observées lors d'infections à *Escherichia coli* entero- pathogènes, mais plus persistantes. Ces souches sont responsables de diarrhées persistantes (< 14 jours) chez des enfants dans les pays sous- développés. Elles adhèrent aux cellules en formant des agrégats, d'où leur nom. Cette adhésion est à l'origine de nécroses du pôle apical des villosités avec œdème et hémorragies dans la sous- muqueuse. Ces souches produisent une entérotoxine thermostable et une hémolysine thermolabile. [10]

- ***Escherichia coli*** à adhésion diffuse – ECAD (ou Diffuse-Adhering E. coli) :

Ces souches, tout d'abord classées avec les *Escherichia coli* entero- pathogènes, forment maintenant un groupe à part, du fait de leur phénotype d'adhésion particulier qui n'implique pas d'agrégats microbiens

2.4.2. Salmonelloses :

Il y a près de 2000 Sérotypes de salmonelles, la plupart provenant d'animaux, en particulier de volailles, transmis aux humains directement ou par les aliments.

Salmonella typhi fait exception, provenant toujours des humains. Les salmonelles déterminent plusieurs syndromes cliniques

- Epidémiologie :

Les salmonelles sont une cause majeure de mortalité infantile dans les pays en voie de développement et constituent un risque permanent dans les pays Industrialisés. Selon Petit et Serres l'entité de la fièvre typhoïde remonte dès 1813 [14]. Eberth décrit le premier germe responsable de cette grave infection dans la rate et les ganglions d'un malade décédé de fièvre typhoïde en 1880. En Afrique la fièvre typhoïde reste endémique et constitue un grand problème de santé publique.

- Les germes en causes:

Les fièvres entérales sont dues à Salmonella typhi ainsi qu'à salmonella para typhi A, B et C. Le germe est transmis par des aliments, du lait ou de l'eau, contaminés habituellement par des porteurs sains, des coquillages et parfois responsable d'épidémie. L'incubation de la fièvre typhoïde est d'environ 10 à 14 jours ; celle des paratyphoïdes est quelque peu plus brève.

- Etat septicémique :

Il s'agit d'un état lié à la dissémination par voie sanguine d'un agent pathogène, à partir d'un foyer primitif. C'est une entité clinique désignant une bactériémie persistante ou répétée.

Physiopathologie : De très nombreuses infections focalisées sont susceptibles de permettre une dissémination systématique dont les mécanismes sont principalement de trois sortes :

Au contact du foyer primitif se développe une thrombophlébite infectée, à l'origine des décharges bactériennes [4].

Une fois à l'intérieur de l'organisme, la bactérie va exprimer d'autres fonctions qui vont provoquer l'apparition de signes cliniques, soit directement en lésant des fonctions vitales, soit indirectement par la voie de la réponse immunitaire.

Le mécanisme habituel des septicémies à bacille gram négatif s'explique par:

♠ Le choc endotoxinique :

Le composant essentiel de l'endotoxine est le polysaccharide. Au cours des septicémies à bactéries à Gram négatif, ce dernier est libéré par la lyse bactérienne consécutive à la réponse immunitaire ou à un traitement antibiotique. Il va se fixer ensuite sur des récepteurs membranaires et être internalisé par endocytose par la cellule.

Le choc endotoxinique est commun à toutes les bactéries à Gram négatif. Il est marqué par :

- La fièvre due à la libération de molécules pyrogènes par les cellules ayant capté le lipopolysaccharide ;
- Des troubles de la coagulation dues à l'activation du facteur XII, déclenchant la formation de fibrine, qui obstrue les capillaires sanguins et secondairement conduit à une hypocoagulabilité par la consommation des facteurs de coagulation et par là à des hémorragies : c'est la Coagulation Intraveineuse Disséminée (ou CIVD) ;
- Un collapsus vasculaire secondaire à une vasodilatation périphérique, consécutive à la libération par les plaquettes et les polynucléaires d'amines vasoactives ; ceci induit une séquestration

périphérique du sang, une fuite liquidienne vers le compartiment extracellulaire et donc une hypovolémie, et une acidose métabolique par anoxie tissulaire.

Ces différents troubles vont entraîner des lésions de divers organes, par hémorragie ou nécrose (surrénales, reins, poumons, cerveau). Le pronostic endotoxinique reste très sévère. **[11]**.

3. Méthodologie

3.1. Cadre de l'étude

Notre étude a été réalisée dans le laboratoire d'analyses médicales du CHU Gabriel TOURE situé dans le centre administratif de la ville de Bamako. On retrouve à l'Est le quartier Médina coura, à l'Ouest l'Ecole Nationale d'Ingénieurs (ENI), au Nord le service de garnison de l'état major de l'armée de terre, au Sud le Tranimex qui est une société de dédouanement et de transit. En 1959, l'ancien Dispensaire Central de Bamako a été érigé en hôpital. Il sera baptisé «Hôpital Gabriel TOURE» en hommage au sacrifice d'un jeune médecin soudanais mort lors d'une épidémie de peste, maladie qu'il contracta au cours de son stage en 1934. L'Hôpital Gabriel TOURE a été érigé en Etablissement public à caractère Administratif (EPA) en 1992, doté de la personnalité morale et de l'autonomie de gestion. L'Hôpital Gabriel TOURE est l'un des onze établissements Publics à caractère Hospitalier (EPH) institués par la loi n° 94-009 du 22 mars 1994 modifiée par la loi n°02-048 du 12 juillet 2002 portant création du Centre Hospitalier Universitaire (CHU). Il comprend une salle d'hématologie, une salle de biochimie, une salle pour les prélèvements et la parasitologie, une salle de stérilisation équipée d'autoclaves et de fours, une salle de garde, un bureau du chef de service. En 2001 une partie du laboratoire a été aménagée pour les activités de bactériologie et équipée en conséquence avec

- 2 hottes à flux laminaire avec incinérateur électrique
- 3 automates d'hémocultures Bactec 9050 (Labo- CVD);
- 1 incubateur à CO₂ pour les bactéries aéro- anaérobies (Labo- CVD);

- 1 incubateur sans CO₂ pour les bactéries aérobies, les antibiogrammes et les galeries d'identification API 20E (Labo-CVD);
- 1 centrifugeuse ;
- 1 congélateur a - 80°C pour la conservation des souches bactériennes (Labo- CVD);
- 1 congélateur à - 20°C pour la conservation des disques d'antibiotiques, des disques d'identification (Optochine, Bacitracine) des facteurs de croissance des **Haemophilus** ; des réactifs de sérogroupage des **Salmonella** (Labo- CVD) ;
- 2 réfrigérateurs pour la conservation des milieux de culture et des réactifs (Labo- CVD);
- 1 micro- ordinateur avec un système de communication Internet (Labo- CVD);
- 1 microscope Olympus CX31 (Labo- CVD) ;
- 1 néphélomètre Mc Ferland pour la mesure de turbidité en vue des antibiogrammes conformément à la méthode de Kirby Bauer (Labo- CVD);

Des petits matériels divers, des consommables et un ravitaillement régulier en milieux de culture et réactifs permettent de réaliser des activités de bactériologie.

Le personnel comprend :

- un pharmacien biologiste ;
- un pharmacien ;
- des internes ;
- des assistants de biologie ;
- des techniciens supérieurs ;

- des techniciens de laboratoire, repartis entre les différentes sections de biologie; dont deux de la section de bactériologie ont bénéficié d'un stage de formation à Baltimore (USA)
- Un personnel de surface.

Les activités de bactériologie dans le cadre de la recherche sont supervisées par un Professeur de bactériologie- virologie responsable de l'Institut Nationale Recherche pour la Santé Publique (INRSP).

Dans certain cas et selon le contexte clinique un examen cytbactériologique du liquide céphalo- rachidien ou d'autres liquides biologiques (lombaire, pleural, articulaire, tissulaire et osseux) est réalisé.

3.2. Période d'étude

Nous avons réalisé une étude rétrospective de juin 2007 à mai 2008 dans le service de laboratoire du CHU Gabriel TOURE, soit une période d'un an.

3.3. Type d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective sur un an, basée sur les résultats des examens par les méthodes de la goutte épaisse et de l'hémoculture au laboratoire CVD du CHU Gabriel TOURE.

3.4. Critères d'inclusion et de non inclusion

3.4.1. Critères d'inclusion

Cette étude a porté sur des enfants chez lesquels un prélèvement sanguin a été effectué au niveau du site de prélèvement de CVD à la pédiatrie et répondant aux critères suivants :

- être âgé de moins de 16 ans,

- être hospitalisé ou traité en ambulatoire dans le service de pédiatrie de l'HGT,
- avoir une température corporelle $\geq 39^{\circ}\text{C}$ à l'admission et/ou une "Suspicion d'Infection Bactérienne Invasive" (SIBI) ;
- le consentement éclairé des parents est sollicité pour les enfants âgés de moins de 13 ans ;
- l'assentiment des enfants de 13 à 16 ans est obligatoire;

3.4.2 Critères de non- inclusion

N'ont pas été inclus dans l'étude :

- les nouveau-nés malades n'ayant jamais quitté l'HGT depuis leur naissance ;
- l'enfant âgé de 13 à 16 ans incapable ou refusant de donner tout assentiment,
- les enfants dont le parent ou l'accompagnateur était incapable ou refusait de donner leur consentement.

3.5. Réalisation de la goutte épaisse

3.5.1. Principe :

Cette procédure décrit la technique de confection, de coloration et de lecture de la goutte épaisse.

3.5.2. Matériels et Réactifs :

Microscope binoculaire

2 lames porte-objet dégraissées

Vaccinostyle stérile ou aiguille stérile

Alcool 70° (ou l'éther)

Colorant de Giemsa

Coton hydrophile sec

Cuve à coloration

Gants

Blouse

3.5.3. Précaution de sécurité : Porter les gants et la blouse

3.5.4. Lieu de prélèvement :

-A l'extrémité du doigt (3^{ème} ou 4^{ème}) de la main gauche chez l'adulte

-Au talon ou au gros orteil chez les nourrissons de moins de 6 mois, après l'avoir réchauffé.

NB : Le doigt ne doit pas être oedémateux, ni cyanosé, ni traumatisé, ni infecté

3.5.5. Confection de la goutte :

Dégraissier la lame à l'aide de l'alcool/éther puis essuyer avec un linge fin et propre

Porter le nom du patient sur la lame devant recevoir la goutte

Nettoyer l'endroit choisi, d'abord avec un tampon d'alcool puis un coton sec pour éviter toute trace d'alcool

- Piquer la face latérale de ce doigt ainsi nettoyé d'un coup sec à l'aide d'une aiguille ou d'un vaccinostyle stérile à usage unique

Essuyer la première goutte avec du coton sec

Presser le doigt pour faire sortir une grosse goutte de sang, et la déposer sur la lame porte-objet antérieurement préparée

Placer le coin d'une autre lame au centre de la goutte de sang puis étendre légèrement la surface de la goutte par des mouvements spiralés appuyés de la lame jusqu'à épaissement uniforme sur environ 1cm de diamètre. Assurer cette défibrination mécanique pendant 1 à 2 minutes

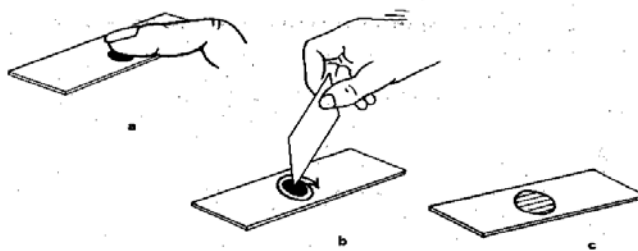


figure 4 : technique d'étalement d'une goutte épaisse

- Laisser sécher à plat à l'air libre sur un support à l'abri des mouches, de la poussière et de la chaleur

NB :

Dans une goutte épaisse les hématies ont disparu, il reste sur la lame : les globules blancs, les plaquettes et les parasites sanguicoles.

La goutte épaisse permet une concentration des parasites, la lecture est rapide, donc très utile la déshémoglobinisation et la coloration doivent être parfaites.

3.5.6. Coloration de la goutte :

- Après séchage, la goutte est colorée à l'aide d'une solution de Giemsa 10% pendant 3 - 5 minutes

- Laver la lame avec de l'eau et laisser sécher à l'air libre sur un support à l'abri des mouches, de la poussière et de la chaleur.

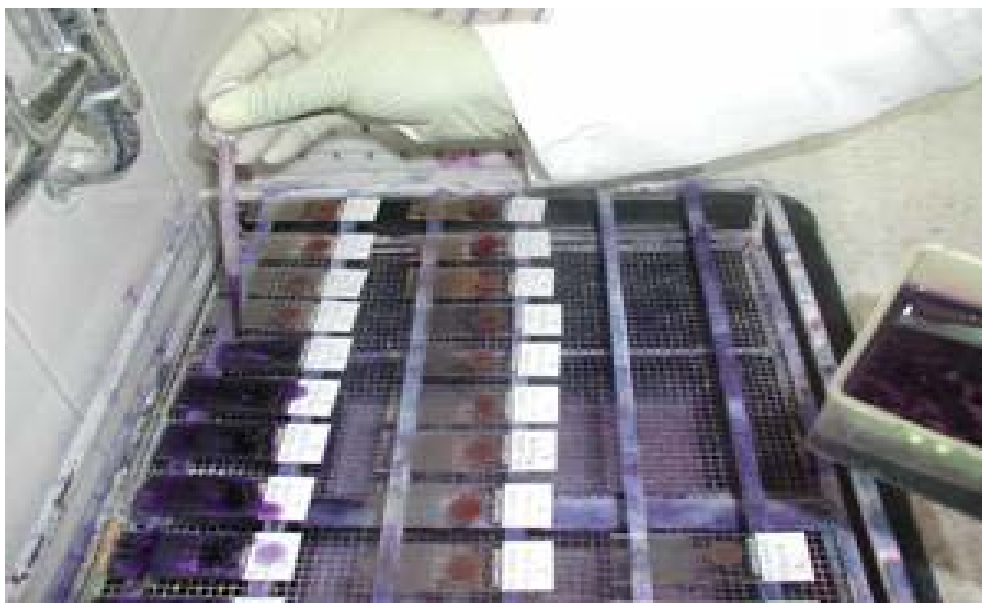


figure 5 : Méthode de coloration des prélèvements (Kisimu.05)

NB :

Les étalements trop minces ou trop épais ne se colorent pas bien.

Ne jamais fixer une goutte épaisse.

Une goutte épaisse bien colorée permet d'avoir une observation au microscope comme l'indique les figures suivantes :

3.5.7. Lecture de la goutte épaisse :

La lecture se fait au microscope binoculaire en immersion à l'objectif 100

La parasitémie est quantifiée suivant la méthode quantitative leucocytaire. Les parasites sont comptés en même temps que les leucocytes sur la lame. Lorsque le nombre de 300 leucocytes est atteint, le compte est arrêté.

La parasitémie est obtenue par la formule suivante :

$$P = \frac{n \times 7500}{300} = 25 \times n$$

n est le nombre de parasites comptés au microscope,

300 le nombre de leucocytes comptés

7500 la moyenne leucocytaire par mm de sang chez l'adulte

3.5.8. Report des résultats :

Les résultats seront portés sur la feuille de paillasse, ensuite enregistrer dans le registre.

NB : C'est une méthode quantitative mais limitée car ne permet pas d'identifier l'espèce [7].

3.6. Protocole de techniques des hémocultures positives [27]

Les procédures suivantes sont suivies lorsque le Bactec 9050 indique que l'hémoculture est positive :

– la bouteille du Bactec 9050 est retirée de l'appareil. Sa capsule en plastique est désinfectée avec de l'alcool, ensuite une aiguille de subculture est insérée à travers la capsule et immédiatement après préparer une coloration de Gram ainsi qu'une subculture de l'échantillon de sang en utilisant les milieux suivants selon le cas :

- a. milieu de gélose au sang de cheval ou de mouton ;
- b. milieu de gélose Mac Conkey ;
- c. milieu de gélose chocolat ;

Sont écrits sur chaque boîte le numéro du Bactec, les initiales du patient ainsi que la date ;

- reporter tous les résultats sur la fiche de travail ;

- procéder à la lecture de la coloration de Gram :
 - a. si aucun micro- organisme n'est détecté sur la lame de coloration, remettre la bouteille dans le Bactec 9050. Ceci devrait être fait le plus tôt possible dans les 3 heures qui suivent la sortie du flacon. Dans les 3 heures, le flacon de Bactec doit être subcultivé sur la boîte de gélose au sang, la boîte de gélose Mac Conkey et la boîte de gélose chocolat. Les boîtes et la bouteille sont incubées et observées pendant une durée de 5 jours (à compter de l'incubation de la bouteille). La bouteille est encore subcultivée si au bout de ces 5 jours aucun microorganisme n'a toujours pas été identifié ;
 - b. quand des micro-organismes sont détectés, ne plus remettre la bouteille dans le Bactec 9050. Reporter sur la fiche de travail les résultats de la coloration de Gram (par exemple : CGPgr, CGPpr, CGPch, BGP, BGN, CoccoBGN, DCGN, Levures...)

- le service de pédiatrie est informé d'un résultat positif de la coloration de Gram ;

- lorsque des cocci Gram-positif en paires ou en chaînettes sont observés, placer un disque de bacitracine (A) et un disque d'optochine (P) sur la gélose au sang de la subculture ;

- les boîtes contenant les subcultures sont placées dans l'incubateur à CO₂.

Si la coloration de Gram est positive, la bouteille est incubée avec les boîtes ;

– lorsqu'une croissance est observée, reporter sur la fiche de travail les références des boîtes dans lesquelles des colonies ont été observées. Faire une coloration de Gram sur ces colonies et reporter les résultats sur la fiche de travail. S'il existe plusieurs genres de colonies, l'aspect de chaque colonie bactérienne est aussi reporté ;

– dans les cas où des cocci Gram-positif sont observés, se référer à l'organigramme de travail comme suit :

a. enregistrer les résultats des tests des disques d'optochine et de bacitracine ainsi que le test de la catalase ;

b. si le micro- organisme est catalase- positif et ressemble au Staphylocoque (cocci Gram-positif en grappes), faire un test de coagulase. Si le micro- organisme est coagulase- positive, il faudrait l'enregistrer comme étant *Staphylococcus aureus*. Si le micro- organisme est coagulase négatif après 24 heures, il faudrait l'enregistrer comme étant *Staphylococcus* à coagulase négative;

c. lorsque le micro- organisme est catalase- négatif, bêta-hémolytique, et bacitracine- positif (inhibé par la bacitracine), enregistrer le micro- organisme comme étant *Streptococcus* Groupe A ;

d. au cas où le test à la bacitracine ou à la catalase est flou, faire un PYR test. Si le PYR test est positif, enregistrer le micro- organisme comme étant *Streptococcus* groupe A ;

e. dans le cas où le micro- organisme est catalase négatif, bêta-hémolytique, et bacitracine négatif, faire les tests d'agglutination des streptocoques des groupes A et B. Enregistrer le micro-organisme comme étant *Streptococcus* bêta- hémolytique de groupe A, de groupe B ou non groupable ;

f. quand le micro- organisme est catalase négative, optochine-positif (inhibé par le disque d'optochine) et diplocoque Gram-positif, l'enregistrer comme étant *Streptococcus pneumoniae*. Si le test d'optochine est négatif ou non concluant, faire un test de «bile solubility». Si ce test de solubilité par la bile est positif, enregistrer le micro-organisme comme étant *Streptococcus pneumoniae* ;

g. lorsque le micro- organisme ressemble au *Streptococcus* (catalase négative, cocci Gram-positif en chaînette), mais négatif au test du disque d'optochine et négatif au test de solubilité par la bile, effectuer le PYR test.

h. au cas où le résultat du PYR test est positif, enregistrer le micro- organisme comme étant *Enterococcus* species. Si le résultat du PYR test est négatif, enregistrer le micro-organisme comme étant *Streptococcus* alpha ou gamma hémolytique selon la réaction d'hémolyse ;

– quand le micro- organisme est un bacille Gram-positif, aucun test additionnel n'est effectué, enregistrer seulement «Bacille Gram- Positif» ;

– lorsque des bactéries Gram-négatif sont observées, la référence est faite à l'organigramme ainsi qu'il suit :

a. si le micro- organisme pousse sur la gélose au sang et la gélose Mac Conkey faire un test d'oxydase et inoculer une galerie API 20 E. Les Enterobacteriaceae (tels que *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*) sont oxydase- négatifs ; les *Vibrio* et les *Pseudomonas* sont oxydase positive. Si les micro-organismes isolés sont identifiés comme étant *Salmonella*, *Shigella* ou *Vibrio*, confirmer le résultat par un test de sérotypage. Enregistrer le résultat de ces différents tests ;

b. lorsque le micro-organisme ne pousse que sur la gélose au sang de cheval ou de mouton et sur la gélose chocolat mais ne pousse pas sur la gélose Mac Conkey et est diplocoque Gram-négatif, *Neisseria meningitidis* pourrait être suspecté. Il faudra faire un test d'oxydase. Si l'identification préliminaire indique *Neisseria meningitidis*, le confirmer par un test de sérotypage ;

c. quand le micro- organisme ne pousse que sur la gélose au sang de cheval ou de mouton et sur la gélose chocolat mais pas sur la gélose Mac Conkey et se présente comme de petits bacilles Gram-négatif, nous pouvons suspecter *Haemophilus influenzae*.

Faire un test d'oxydase et un test des facteurs X et V. Dans le cas où l'identification indique *Haemophilus influenzae*, le confirmer par un test de sérotypage ;

– procéder à un antibiogramme par la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques selon Kirby- Bauer ;

– enregistrer le résultat dans le registre de laboratoire et informer le médecin du patient de l'identification finale.

3.7. Analyse des données

La saisie et l'analyse des données ont été effectuées dans les logiciels EPI-INFO version 6 et SPSS. La rédaction des résultats et le graphisme ont été réalisés dans les logiciels WORD et EXCEL.

3.8. Aspects éthiques

3.8.1. Consentement des malades

Des assistants de recherche sont formés à la méthodologie de l'étude, particulièrement à l'obtention du consentement éclairé et à l'inclusion du malade dans l'étude. Ils travaillent en collaboration avec le tri et les salles de consultations du service Pédiatrie du CHU Gabriel TOURE pendant la durée de l'étude. Chaque pédiatre a à ces côtés un assistant de recherche qui est chargé de vérifier les critères d'inclusion, d'expliquer les modalités de l'étude, objectifs, risques et bénéfices pour l'enfant à la famille et/ou au malade et d'obtenir le consentement éclairé du patient avant l'inclusion. Les parents sont approchés dès l'admission ou plus tard dans les 12 heures qui suivent celle-ci. Après avoir obtenu le consentement du malade ou des parents le malade est inclus par l'assistant de recherche dans l'étude. Il est demandé aux enfants âgés de 13-17 ans, d'accord pour participer à l'étude de donner un consentement signé. Cependant, si un enfant extrémis est incapable de donner un consentement éclairé, le consentement des parents suffit pour participer. Toute information que vous fournissez est gardée de Façon confidentielle dans des armoires bouclées, bien que les résultats de la culture sont donnés à votre médecin traitant. Nous, nous engageons à ne pas utiliser les échantillons de sang prélevés pour

d'autres recherches, cependant certaines souches de pathogènes pourront être gardées pour des investigations futures.

3.8.2. Inconvénients potentiels de cette étude

Le risque pour les enfants qui participent est faible. Tous les participants sont soumis à une ponction de sang veineux pour l'hémoculture. Cette procédure peut avoir un risque mineur dont la douleur, l'infection et l'hémorragie. A l'admission, beaucoup d'enfants vont subir une ponction sur indication du pédiatre et cette prise complémentaire peut avoir des risques. La procédure d'obtention d'autres liquides stériles d'autres sites (lombaire, pleural, articulaire, tissulaire et osseux) peut avoir des risques comme la douleur, l'infection et la détérioration tissulaire. Ces procédures sont réalisées à la discrétion du médecin traitant et ne sont pas dictées par ce protocole. La culture de ces liquides, qui est prise en charge par l'étude, n'entraîne pas de risque additionnel.

3.8.3. Bénéfices

Sur le plan individuel, les nouveaux équipements en place avec un personnel qualifié permettront une recherche étiologique avancée, telle l'isolement des bactéries par culture, non habituellement utilisés au CHU Gabriel TOURE. Ceci aide, considérablement, le médecin traitant à conduire un traitement étiologique, guidée par un antibiogramme, de la maladie de l'enfant, ce qui est largement important par rapport aux risques mineurs ci-dessus évoqués. Tous les examens biologiques (hémocultures et autres cultures, et antibiogrammes) sont faits

gratuitement chez les malades inclus. Le coût moyen de la prise en charge journalière d'un malade est estimé à 25000 Fcfa.

D'une manière générale, cette étude va permettre de relever le niveau, la qualité des prestations au CNAM, au CHU Gabriel TOURE et à l'INRSP par l'amélioration du plateau technique (rénovation des locaux, équipements de laboratoire et de bureau). Aussi, deux techniciens de laboratoire (dont un pour l'HGT et un pour l'INRSP) et un médecin superviseur en pédiatrie ont été formés en microbiologie ainsi qu'à l'usage des nouveaux équipements de laboratoire. Au terme de l'étude, l'épidémiologie des maladies concernées est mieux connue et des recommandations sont faites en vue d'améliorer leur prise en charge et pour permettre d'autres études dans le domaine de la vaccinologie (introduction de nouveaux vaccins).

4. Présentation des résultats

Nous avons effectué 3099 gouttes épaisses correspondant au même effectif de prélèvements pour hémocultures pendant une année soit de juin 2007 à mai 2008.

De ces gouttes épaisses 208 étaient positives pour *Plasmodium* spp soit 6,70%.

De ces hémocultures 560 étaient positives pour différents germes soit 18,07%.

Une co- infection Plasmodium et Bactérie a été observée dans 29 cas, soit 13,90%.

TABLEAU I : Répartition des patients selon le sexe.

Sexe	Fréquence	Pourcentage
F	1392	44,90
M	1707	55,10
TOTAL	3099	100,00

Le sexe ratio était en faveur du sexe masculin soit **1.22**

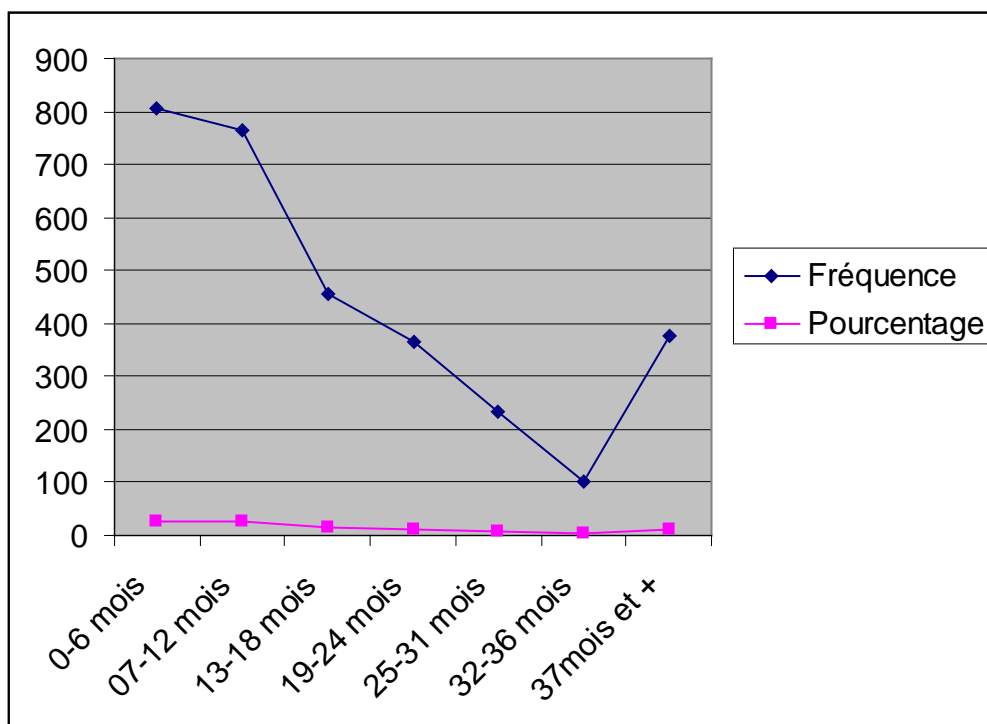


Figure 6: Représentation des patients selon les tranches d'âge.

La tranche d'âge de 0 à 6 mois était la plus touchée

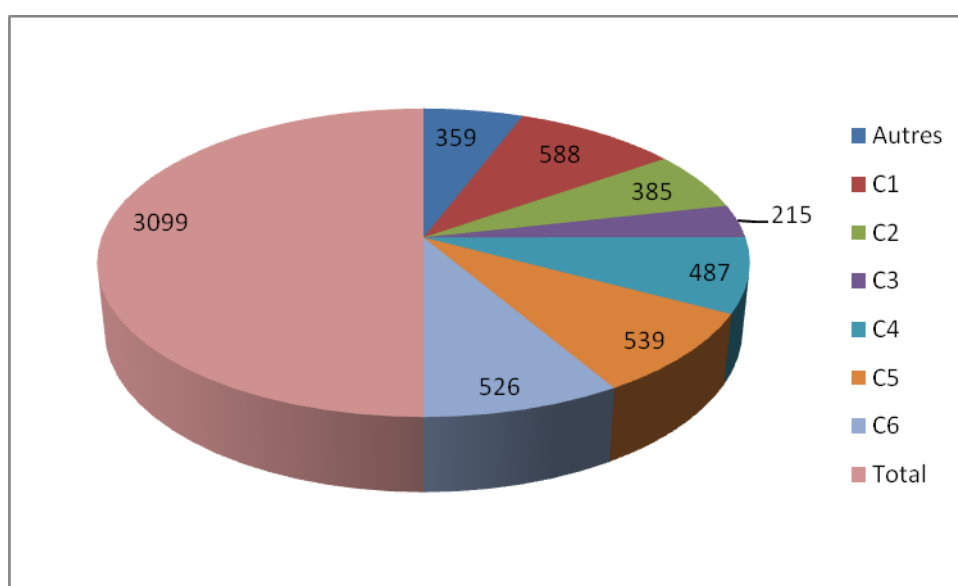


Figure 7 : Représentation des patients selon le lieu de résidence.

Il y a moins de patients de la commune III a avoir effectué la goutte épaisse soit 6,90% contre **19,00%** en commune I.

TABLEAU II : Répartition des patients selon les mois de l'année.

PERIODE	FREQUENCE	POURCENTAGE
JUIN	108	3,50
JUILLET	184	5,90
AOUT	159	5,10
SEPTEMBRE	230	7,40
OCTOBRE	185	6,00
NOVEMBRE	253	8,20
DECEMBRE	194	6,30
JANVIER	240	7,70
FEVRIER	324	10,50
MARS	507	16,40
AVRIL	510	16,50
MAI	205	6,60
TOTAL	3099	100,00

Il y a eu plus de prélèvements pendant les mois de mars et d'avril soit **33,00%**.

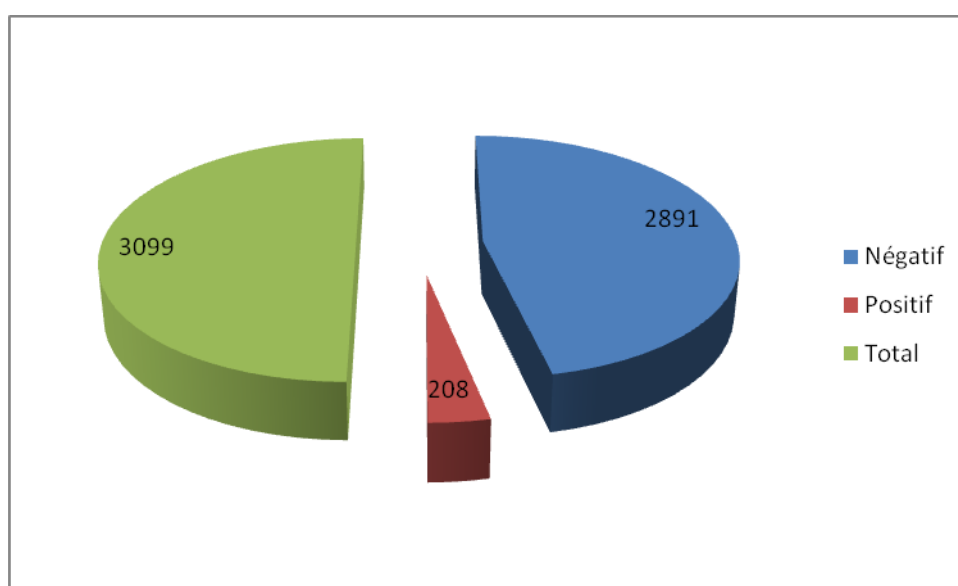


Figure 8: Représentation des patients selon les résultats de la goutte épaisse.

Seuls **7,0%** des patients avaient une **goutte épaisse positive**.

TABLEAU III : Résultat de la goutte épaisse selon la résidence.

Résultat Résidence	NEGATIF		POSITIF	
	EFFECTIF	POURCENTAGE	EFFECTIF	POURCENTAGE
Autres (Kati, Baguineda, Moribabougou)	319	11,00	40	19,20
Commune I	548	19,00	40	19,20
Commune II	363	12,60	22	10,60
Commune III	196	6,80	19	9,10
Commune IV	455	15,70	32	15,40
Commune V	515	17,80	24	11,50
Commune VI	495	17,10	31	14,90
TOTAL	2891		208	

La commune I avait le plus grand nombre de cas de positivité à la goutte épaisse avec **19,20%**

TABLEAU IV : Résultat de la goutte épaisse selon le sexe.

Résultats Sexe	Négatifs		Positifs	
	Effectif	Pourcentage	Effectif	Pourcentage
M	1593	55,10	114	54,80
F	1298	44,90	94	45,20
TOTAL	2891		208	

Le sexe ratio était en faveur du sexe masculin soit **1.22**

TABLEAU V : Résultat des germes isolés chez les patients ayant une goutte épaisse positive.

Résultats des hémocultures	Effectifs	Pourcentage
<i>Shigella spp</i>	1	0,50
<i>Haemophilus influenzae b (Hib)</i>	2	1,00
<i>Salmonella spp</i>	3	1,40
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4	1,90
Bacille Gram Positif (BGP)	8	3,80
<i>Staphylococcus non aureus</i>	11	5,30
Résultats Négatifs	179	86,10
Total	208	100,00

Les germes ***Haemophilus influenzae*** type b (Hib), ***Streptococcus pneumoniae***, ***Shigella spp*** et ***Salmonella spp*** ont été les cas de co- infections.

Les autres germes étaient considérés comme des contaminants.

5. Discussions

L'étude des "Suspensions d'Infections Bactériennes Invasives" (SIBI) chez les enfants reçus dans le service pédiatrique du CHU Gabriel Touré était rendue possible grâce au diagnostic de laboratoire. Dans cette étude nous avons exploré les causes de fièvre au Mali comme les infections bactériennes (salmonellose, Shigellose, *Streptococcus pneumoniae* etc...), ou parasites dont le paludisme surtout.

En effet la gravité potentielle du paludisme a fait que la goutte épaisse a été systématiquement effectuée chez tous les patients.

Ainsi nous avons effectué 3099 gouttes épaisses correspondant au même effectif de prélèvements pour hémocultures pendant une année soit de juin 2007 à mai 2008.

Au niveau de la tranche d'âge des enfants de 0 à 15 ans hospitalisés et ceux vus en ambulatoire au CHU Gabriel TOURE Nous pouvons faire les commentaires ci-dessous :

Donnés socio- démographiques :

- ✓ le sexe ratio est en faveur du sexe masculin soit 1.22
- ✓ La tranche d'âge des enfants de 0 à 6 mois est la plus touchée soit 26.00%.
- ✓ Au niveau de notre aire d'étude il y a moins de patients de la commune III a avoir effectué la goutte épaisse soit 6,90% contre 19,00% en commune I.
- ✓ En terme de variation saisonnière, il y a plus de prélèvements pendant les mois de mars et d'avril soit 33,00%. Cela est surtout dû aux critères d'inclusion

notamment la fièvre pendant l'harmattan et non conforme à l'épidémiologie du paludisme. Par rapport à cette affection les pics se situent en saison pluvieuse.

Au niveau des résultats :

- ✓ seuls 7,00% des patients avaient une goutte épaisse positive soit 208.
- ✓ Le plus grand nombre cas de positivité des gouttes épaisses soit 19,20% se trouve en commune I.
- ✓ Le sexe ratio est toujours en faveur du sexe masculin soit 1.22.
- ✓ Seul 18,07% des patients avaient une hémoculture positive.

De l'ensemble des patients 208 étaient positifs pour Plasmodium spp soit 6,70% et 560 avaient une hémoculture positive à différents germes soit 18,07%.

Les co-infections ont concerné 29 cas soit 13,90%, repartis comme suit :

Haemophilus influenzae type b (Hib) 2 cas soit 1,00%,

Streptococcus pneumoniae 4 cas soit 1,90%,

Shigella spp 1 cas soit 0,50% et

Salmonella spp 3 cas soit 1,40% qui sont responsables de co-infections.

Les autres comme *Staphylococcus non aureus* (5,30%) et les Bacilles Gram Positif (3,90 %) sont considérés comme des contaminants dans cette étude.

Les auteurs burkinabés SAWADOGO S.A. et collaborateurs trouvent 13,7 % de co-infection paludisme et pneumocoque mais cela sur la base des seuls signes cliniques. [39]

Haemophilus influenzae type b, ***Streptococcus pneumoniae*** et les entérobactéries ***Salmonella et Shigella*** sont les principaux pathogènes responsables d'infections bactériennes invasives. Ils constituent des facteurs de risque importants aggravant un état palustre.

6. Conclusion

Dans le cadre de la surveillance hospitalière de base des infections bactériennes invasives chez les enfants âgés de 0 à 15 ans dans le service de pédiatrie du CHU Gabriel TOURE, nous nous sommes intéressés aux causes des états fébriles.

La gravité potentielle du paludisme nous a fait faire 3099 gouttes épaisses dont 208 cas de positifs.

Les hémocultures effectuées chez les enfants souffrant de "Suspensions d'Infections Bactériennes Invasives" (SIBI) reçus dans le service pédiatrique du CHU Gabriel Touré ont révélé 29 cas de co- infections chez les enfants ayant une goutte épaisse positif.

Les pathogènes impliqués notamment ***Haemophilus influenzae*** type b, ***Streptococcus pneumoniae*** et les entérobactéries ***Shigella spp*** et ***Salmonella spp*** sont les principaux pathogènes responsables d'infections bactériennes invasives. Ils constituent des facteurs de risques importants aggravant un état palustre.

Les co- infections sont d'un mauvais pronostic des états palustres.

7. RECOMMANDATIONS :

Au terme de notre étude nous formulons les recommandations suivantes :

Aux cliniciens

Inclure dans le bilan de diagnostic des Suspensions d'Infections Bactériennes Invasives le bilan systématique pour le diagnostic du paludisme.

Aux biologistes

Assurer la formation continue du personnel socio- sanitaire à la prise en charge des infections bactériennes invasives et du paludisme.

Aux chercheurs

Promouvoir des études de recherche sur les co- infections paludisme et infections bactériennes.

8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1. AMBROISE P T, BEAUCOUR N, CHABASSE, DANIS** et coll. PARASITOLOGIE MYCOLOGIE. Association Française des Professeurs de Parasitologie 4^e édition 1990 : 226-30.
- 2. BEH.** Pays endémiques 2004. www.travelsante.com : 23/05/2007
- 3. BOUREE P.** AIDE MEMOIRE DE PARASITOLOGIE ET DE PATHOLOGIE TROPICALE. Flammarion 2^e EDITION 1994 : 116-17
- 4. BOUVENOT G, DEVULDER B, GUILLEVIN L, QUENEAU P, SCHAEFFER A.** Pathologie médicale tome2 P214 édition Masson 1995,
- 5. CHIPPAUX J P, MASSOUGBODJI A.** Description d'une méthode simple de mesure de la parasitémie palustre. Cahier Santé 1991 : 1- 32.
- 6. Comité Consultatif National de l'Immunisation.** Déclaration sur l'utilisation recommandée du vaccin conjugué contre le pneumocoque. RMTc 2002; 28(DCC-2):1-32.
- 7. COURTOIS D, MARTINEZ J, RICOSSE J H, ALBERT J P, DARRACQ R, DOURY J C, et All** Techniques de laboratoire les agrégés du Pharo- Marseille. Edition DGDL. Diffusion Maloine: 5- 9
- 8. DIGEST SANTE MALI. FMPOS.** Revue paludisme. Épidémiologie, chimiorésistance et stratégies de prévention au Mali, 1999 : 1- 3.
- 9. DENIS F, PRINCE-DAVID M, R.GUINET.** Répartition des biotypes d'*Haemophilus influenzae* responsables des méningites purulentes Étude de 50 souches Path.biol.1981 ; 241-3.
- 10. FAUCHERE J L, AVRIL J L.** Bactériologie générale et médicale. Ellipses Edition Marketing S.A, 2002 : p.241

- 11. FLANDROIS J P.** Bactériologie médicale collection AZAY P 61-63, 1997 Presses Universitaires de Lyon, France.
- 12. Generic protocol for population-based surveillance of *Haemophilus influenzae* type B.** Geneva, World Health Organization, 1996, WHO/VRD/GEN/95.05.
- 13. GREENWOOD B M.** The epidemiology of acute bacterial meningitis in tropical Africa. In: Bacterial meningitis. London, Academic Press, 1987:61-87.
- 14. GORDON J E, BABOTT F L.** Modern measles. Americ.J.N.sc (Philadelphia), 1954
- 15. GROBUSCH M P, ALPERMANN U, SCHWENKE S, et Coll.** « False-positive rapid tests for malaria in patients with rheumatoid factor ». Lancet 1999 : 353- 97.
- 16. BULMER H A, VAN ALPHEN L, GREENWOOD B M. et Al.**
The epidemiology of *Haemophilus influenzae meningitidis* in children under five years of age in the Gambia, West Africa; J. Infect Dis; 1989; 161: 1210-5
- 17. HUSSEY G, HITCHCOCK J, SCHAFF .H, et al.** Epidemiology of invasive *Haemophilus influenzae* infections in Cape Town, South Africa. Annals of Tropical Paediatrics, 1994; 14: 97-103
- 18. JACQUES VERDRAGER.** L'OMS et le paludisme : mémoires d'un médecin spécialiste de la malaria. – L'Harmattan, coll. « Acteurs de la science », Paris, 2005 :
- 19. KOITA O.** Contribution à l'étude épidémiologique du paludisme le long de la route trans-sahélienne au Mali. Août /sept 1988. Thèse pharmacie Bamako 1988, N°26.

- 20. KOUMARÉ B, BOUGOUDOGO F, DIARRA L, et coll.** *Neisseria meningitidis* du groupe A. clone III-1 responsable de la récente épidémie de méningite survenue au Mali. Mali Med, 1996, (11).
- 21. LEVINE M M.** *Escherichia coli* that cause diarrhea : enterotoxinogenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic and enteroadherent. Infect Dis. 1987 ; 155 :377,389.
- 22. LEVINE O S, LAGOS R, MUNOZ A, et al.** Defining the burden of pneumonia in children preventable by vaccination against *Haemophilus influenzae* type b. Paediatric Infectious Disease Journal, 1999, 18 (12) :1060-4.
- 23. CADOZ M, PRINCE - DAVID M, DIOP- MAR I, DENIS M F.** Epidémiologie des, méningites à *Haemophilus influenzae* en Afrique (901cas) Path.Biol.1983; 31:128-33.
- 24. MAKLER M T, PALMER C J, AGER AL.** « A review of practical techniques for the diagnostic of malaria». Ann. Trop. Med. Parasitol. 1998 : 92 ; 419- 33.
- 25.** Manuel des maladies infectieuses pour l'Afrique. Malin trop/édition John libbey eurotext, Paris, 2002 : 518- 20.
- 26. GENTILINI M.** Cahiers d'étude et recherche francophone, 1993 : 4. Chapitre diagnostic biologique du paludisme.
- 27. MURRAY P R, HOLLICK G E, JERRIS R C, WILSON. M L,** Journal of clinical Microbiology, June 1998: p.1601- 03

- 28. MURRAY CJL, LOPEZ A D.** Global health statistics; A compendium of incidence, Prevalence and mortality estimates for over 200 conditions. Geneva, World Health Organization, 1996.
- 29. MULHOLLAND K, HILTON S, ADEGBOLA R A, et al.** Randomised trial of *Haemophilus influenzae* type b tetanus protein conjugate for prevention of pneumonia and meningitis in Gambian children. Lancet, 1997; 349: 1191-1197.
- 30. MULHOLLAND K, ADEGBOLA. R A.** The Gambian *Haemophilus influenzae* type b vaccine trial: what does it tell us about the burden of *Haemophilus influenzae* type disease? Paediatric Infectious Disease Journal, 1998; 17:S123-5.
- 31. National Center for Infectious Diseases, Division of Parasitic Diseases** [Department of Health and Human Services US]
- 32. OMS « Santé des voyageurs et recommandations sanitaires 2005 »,** Bulletin épidémiologique hebdomadaire, juin 2005 : 24-25.
- 33. Organisation Mondiale de la Santé,** Guidelines for the treatment of malaria, OMS, Genève, 2006
- 34. PALMER C J, LINDO J F, KLASKALA W I, QUESADA J A, KAMINSKY R, BAUM M K AGRE et al.** « Evaluation of the OptiMAL for rapid diagnosis of plasmodium vivax and *Plasmodium falciparum* malaria». J Clin microbial 1998 Jan (36) 1: 203- 06.

35. PAYNE D. Aspects pratique des épreuves in vivo de sensibilité des plasmodies humaines aux antipaludiques. WHO / Mal 1982. 988 : 22.

36. RAPHENON G, PARZY D, N'DIHOKUBWAYO J B, LECAMUS J L. Diagnostic parasitologique du paludisme par le QBC : principe, mode d'emploi, application. Feuilles Biol. 1993, : 21- 30.

37. Réseau Epibac. Surveillance des infections invasives à Hib, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae* (B), et *Streptococcus pyogenes* (A). En France métropolitaine. Données épidémiologiques 2004 <http://www.invs.santé.fr/surveillance> Epibac mise à jour en 2007.

38. ROBERT W. SNOW et al. « The global distribution of clinical episodes of *Plasmodium falciparum malaria* », Nature, vol. 434, n° 7030 (10 March 2005): 214- 217.

39. SAWADOGO S A., REIHNARDT M., SANOU I., KAM K.L., DAO L., KOUETA F., OUEDRAOGO S, QUELOZ j: les pneumonies de l'enfant en milieu hospitalier pédiatrique de Ouagadougou. <http://W.W.W.Chu-rouen.fr>. (23 mai 2008)

40. SYLLA M. Infections respiratoires aiguës basses prise en charge et coût en milieu hospitalier à Bamako thèse Med Bamako, 1998.

41. LOWE MBODAN T S.

Les infections bactériennes à *Streptococcus pneumoniae* dans le service de pédiatrie du CHU Gabriel Touré, de février 2002 à février 2003, Thèse de médecine, Mali, 2004.

42. WWW.Sanofipasteur.com Avril 2007.

43. WHO- Malaria : eighth report of the expert comity. WHO ed., Geneva, 1961, WHO Tech Rep Ser n°243.

FICHE SIGNALITIQUE

Nom: DEMBELE

Prénom: Mohamed Zekra

Nationalité: Malienne

Titre: Place du diagnostic du paludisme dans les "suspensions d'infections bactériennes invasives" (sibi) chez les enfants de 0 à 15 ans reçus dans le service pédiatrique du CHU Gabriel Toure.

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie.

Secteur d'intérêt : Parasitologie, Bactériologie, Santé Publique

9. Résumé:

Notre étude a porté sur la surveillance hospitalière de base des infections bactériennes invasives chez les enfants âgés de 0 à 15 ans dans le service de pédiatrie du CHU Gabriel TOURE. Au cours de cette étude, nous avons voulu connaître la place du paludisme dans ces états fébriles et avons effectué 3099 goutte épaisses se répartissant comme suit :

- le sexe ratio est en faveur du sexe masculin soit 55,10 %
- La tranche d'âge des enfants de 0 à 6 mois est la plus touchée soit 26.00%.
- seuls 7,00% des patients avaient une goutte épaisse positive soit 208 parmi lesquelles nous avons trouvé 29 cas de co- infections.

Les principaux pathogènes impliqués ont été :

- ***Haemophilus influenzae*** type b (Hib) 2 cas soit 1,00%,
- ***Streptococcus pneumoniae*** 4 cas soit 1,90%,
- ***Shigella spp*** 1 cas soit 0,50% et
- ***Salmonella spp*** 3 cas soit 1,40% qui sont responsables de co- infections.

Ils constituent des facteurs de risques importants aggravant un état palustre.

Mots clés : goutte épaisse, hémoculture, paludisme, infection bactérienne invasive, enfants, Bamako MALI.

CARD-INDEX SIGNALÉTIQUE

Name: DEMBELE

First name: Mohamed Zekra

Nationality: Malian

Titrate: Place diagnosis of paludism in « Suspensions of Invasive Bacterial Infections » (SIBI) in the children of 0 to 15 years received in the paediatric service of the CHU Gabriel TOURE of Bamako

Academic year: 2007- 2008

Country of origin: Mali

Discharge point: Library of the Faculty of Medicine of Pharmacy and Odonto- Stomatology.

Sector of interest: Parasitology Bacteriology, Public health.

Summary

Our study related to the basic hospital monitoring of the invasive bacterial infections in the old children from 0 to 15 years in the service of pediatry of the CHU Gabriel TOURE.

During this study, we wanted to know the place of paludism in the feverish states and carried out 3099 thick drops repartissant itself as follows:

The sex ratio is in favour of the male sex is 55, 10%.

The age bracket of the children from 0 to 6 months is touched either 26, 00%.

Only 7% of the patients had a positive thick drop is 208 among which we found 29 cases of Co-infections.

The principal implied pathogenic germs were:

Haemophilus influenzae standard B (Hib): 2 cases i.e. 1,00%.

Streptococcus pneumoniae: 4 cases i.e. 1,9%.

Shigella ssp: 1 case is 0,50%.

Salmonella ssp: 3 cases i.e. 1,40% which are responsible for Co-infections.

They constitute factors of significant risks worsening a paludous state.

Key words: Thick drop, Hemoculture, malaria bacterial Infection, Children, Bamako Mali.

SERMENT DE GALIEN



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

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

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

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

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

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

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

Je le jure !