



UNIVERSITE DE BAMAKO

Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie



Année Universitaire 2005-2006

Thèse N° / ___ / M

***HEMOGLOBINE S ET PALUDISME GRAVE DANS UNE
POPULATION AGEE DE 3 MOIS A 5 ANS DANS LES
VILLAGES DE KANGABA ET DE KELA (MALI) DE JUIN
2001 à JANVIER 2005.***

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 22/04/ 2006
Devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie
De l'Université de Bamako

**Par Mr Tambo Bathily
Pour obtenir le grade de
Docteur en Médecine (Diplôme d'Etat)**

Jury:

Président :	Professeur : Ogobara K DOUMBO
Assesseurs :	Professeur : Amagana DOLO Professeur : Mamadou DEMBELE
Directeur de thèse :	Professeur : Dapa Aly DIALLO
Co-directeur de thèse :	Docteur : Aldiouma GUINDO

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2005 - 2006

ADMINISTRATION

DOYEN : **MOUSSA TRAORE** - PROFESSEUR
1^{ER} ASSESSEUR : **MASSA SANOGO** - MAITRE DE CONFERENCES
2^{EME} ASSESSEUR : **GANGALY DIALLO** - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE
SECRETAIRE PRINCIPAL : **YENIMEGUE ALBERT DEMBELE** - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE
AGENT COMPTABLE : **Madame Fatoumata Tall** - CONTROLEUR DE TRESOR

LES PROFESSEURS HONORAIRES

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

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

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	OrthopédieTraumatologie, Chef de D.E.R.
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L.
Mme SY Aïda SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
---------------------	---------------

Mr Djibril SANGARE
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP
Mr Gangaly DIALLO
Mr. Mamadou TRAORE

Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Chirurgie Viscérale
Gynéco-Obstétrique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Filifing SISSOKO
Mr Sékou SIDIBE
Mr Abdoulaye DIALLO
Mr Tiéman COULIBALY
Mme TRAORE J. THOMAS
Mr Mamadou L. DIOMBANA

Chirurgie Générale
Orthopédie. Traumatologie
Anesthésie - Réanimation
Orthopédie Traumatologie
Ophtalmologie
Stomatologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE
Mr Sadio YENA
Mr Issa DIARRA
Mr Youssouf COULIBALY
Mr Samba Karim TIMBO
Mme TOGOLA Fanta KONIPO
Mr Zimogo Zié SANOGO

Gynéco-Obstétrique
Chirurgie Générale
Gynéco-obstétrique
Anesthésie - Réanimation
ORL
ORL
Chirurgie Générale

5. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Mme Djéneba DOUMBIA
Mr Nouhoum ONGOIBA
Mr Zanafon OUATTARA
Mr Adama SANGARE
Mr Sanoussi BAMANI
Mr Doulaye SACKO
Mr Ibrahim ALWATA
Mr Lamine TRAORE
Mr Mady MAKALOU
Mr Ali TEMBELY
Mr Niani MOUNKORO
Mr Tiemogo D COULIBALY
Mr Souleymane TOGORA
Mr mohamed KEITA

Anesthésie - Réanimation
Anatomie & Chirurgie Générale
Urologie
Orthopédie - Traumatologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Orthopédie - Traumatologie
Ophtalmologie
Orthopédie – Traumatologie
Urologie
Gynéco-Obstétrique
Odontologie
Odontologie
ORL

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO
Mr Siné BAYO
Mr Amadou DIALLO
Mr Moussa HARAMA

Chimie Générale & Minérale
Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Biologie
Chimie Organique

Mr Ogobara DOUMBO
Mr Yénimégué Albert DEMBELE
Mr Anatole TOUNKARA
Mr Bakary M. CISSE
Mr Abdrahamane S. MAIGA
Mr Adama DIARRA
Mr.Massa SANOGO

Parasitologie – Mycologie
Chimie Organique
Immunologie **Chef de D.E.R.**
Biochimie
Parasitologie
Physiologie
Chimie Analytique

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Amadou TOURE
Mr. Flabou Bougoudogo
Mr Amagana DOLO

Histoembryologie
Bactériologie-Virologie
Parasitologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Mamadou KONE
Mr Mahamadou CISSE
Mr Sékou F.M. TRAORE
Mr Abdoulaye DABO
Mr Ibrahim I. MAIGA

Physiologie
Biologie
Entomologie médicale
Malacologie, Biologie Animale
Bactériologie - Virologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Abdrahamane TOUNKARA
Mr Moussa Issa DIARRA
Mr Kaourou DOUCOURE
Mr Bouréhima KOURIBA
Mr Souleymane Diallo
Mr Chieck Bougadari TRAORE
Mr Lassana DOUMBIA
Mr Mounirou BABY
Mr Mahamadou A. THERA

Biochimie
Biophysique
Biologie
Immunologie
Bactériologie- Virologie
Anatomie-Pathologie
Chimie organique
Hématologie
Parasitologie

5. ASSISTANTS

Mr Mangara M BAGAYOGO
Mr Guimogo DOLO
Mr Abdoulaye TOURE
Mr Djibril SANGARE
Mr Mouctar DIALLO
Mr Boubacar TRAORE
Mr Bokary Y SACKO

Entomologie Moléculaire Médicale
Entomologie Moléculaire Médicale
Entomologie Moléculaire Médicale
Entomologie Moléculaire Médicale
Biologie Parasitologie
Immunologie
Biochimie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY
Mr Mamadou K. TOURE
Mr Mahamane MAIGA
Mr Baba KOUMARE
Mr Moussa TRAORE
Mr Issa TRAORE
Mr Mamadou M. KEITA

Médecine Interne
Cardiologie
Néphrologie
Psychiatrie, **Chef de DER**
Neurologie
Radiologie
Pédiatrie

Mr Hamar A. TRAORE
Mr Dapa Aly DIALLO
Mr Moussa Y. MAIGA
Mr Somita KEITA

Médecine Interne
Hématologie
Gastro-entérologie
Dermato-Leprologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

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

Pédiatrie
Pneumo-Phtisiologie
Cardiologie
Médecine Interne
Radiologie
Médecine Interne

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Mamady KANE
Mr Saharé FONGORO
Mr Bakoroba COULIBALY
Mr Bou DIAKITE
Mr Bougouzié SANOGO

Radiologie
Néphrologie
Psychiatrie
Psychiatrie
Gastro-entérologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme Tatiana KEITA
Mme TRAORE Mariam SYLLA
Mr Adama D. KEITA
Mme SIDIBE Assa TRAORE
Mme Habibatou DIAWARA
Douda K MINTA

Pédiatrie
Pédiatrie
Radiologie
Endocrinologie
Dermatologie
Maladies Infectieuses

5. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Kassoum SANOGO
Mr Seydou DIAKITE
Mr Mahamadou B. CISSE
Mr Arouna TOGORA
Mme Diarra Assetou SOUCKO
Mr Boubacar TOGO
Mr Mahamadou TOURE
Mr Idrissa A CISSE
Mr Mamadou B DIARRA
Mr Anselme KOUNATE
Mr Moussa T DIARRA
Mr Souleymane DIALLO
Mr Souleymane COULIBALY
Mr Sounkalo DAO

Cardiologie
Cardiologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Médecine interne
Pédiatrie
Radiologie
Dermatologie
Cardiologie
Hépatogastro-Entérologie
Hépatogastro-Entérologie
Pneumologie
Psychologie
Maladies infectieuses

Mr Cheick Oumar GUINTO

Neurologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR

Mr Boubacar Sidiki CISSE
Mr Gaoussou KANOUTE

Toxicologie
Chimie analytique, **Chef de D.E.R.**

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Ousmane DOUMBIA
Mr Drissa DIALLO

Pharmacie Chimique
Matière médicale

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boukassoum HAIDARA
Mr Elimane MARIKO
Mr Alou KEITA

Législation
Pharmacologie, **Chef de D.E.R.**
Galénique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Benoît KOUMARE
Mr Ababacar I. MAIGA
Mr Yaya KANE
Mme Rokia SANOGO

Chimie analytique
Toxicologie
Galénique
Pharmacognosie

5. ASSISTANT

Mr saïbou MAIGA
Mr Ousmane KOITA

Législation
Parasitologie Moléculaire

DEDICACES

Ce travail est dédié :

Au Souverain Seigneur de l'univers. Bénit soit le Dieu tout puissant miséricorde pour sa grâce qui m'a accompagné pendant ces longues années d'étude.

A son Prophète MOHAMED (paix et salut sur lui).

A ma mère Sadio Bathily

Maman les mots me manquent pour t'exprimer tout ce que je ressens du fond du cœur mais, permets-moi de te dire simplement merci et grand merci pour tous les sacrifices énormes que vous avez consentis afin que je puisse parvenir à ce résultat. Je te demande en plus de ta bénédiction et de tes conseils, de prier pour moi afin que je puisse être un modèle à suivre. Que Dieu le miséricordieux t'accorde longue vie, bonheur et prospérité

A mon père Mamadou Bathily.

C'est grâce à toi que j'ai été à l'école, tes conseils m'ont beaucoup servi et continueront à me servir. Malgré que je n'ai pas eu la chance d'être éduqué à tes côtés ; ton soutien ne m'a jamais fait défaut. Par ailleurs sans ton combat d'éducateur averti, je ne serai à ce niveau. Ton rêve était qu'au moins un de tes fils soit parmi les cadres de ce pays, aujourd'hui ton rêve est entrain de devenir une réalité.

Veillez agréer cher père, l'expression de ma profonde gratitude et de toute ma reconnaissance.

Qu'Allah le tout puissant et miséricordieux t'accorde longue vie et bonne Santé !

A Monsieur Boubacar Sy.

C'est grâce à toi que j'ai réussi à avoir le Baccalauréat, car le rêve d'un sarakolé au Mali c'est d'aller à Paris mais avec ton soutien morale et ton courage tu es parvenu à me convaincre pour continuer les études. je dirai tout simplement que ce résultat est le fruit de ton effort. Les mots me manquent pour te parler aujourd'hui. Qu'Allah le tout puissant et miséricordieux t'accorde longue vie et Bonne Santé !

A ma cousine Ramata Cissé

Voici le moment tant attendu pour moi de vous remercier pour l'éducation et l'affection que j'ai bénéficiées au près de vous.

Ce travail est le fruit des efforts que vous avez consentis dans la famille. Je ne saurais vous oublier et je vous serai reconnaissant.

Qu'Allah le tout puissant et miséricordieux t'accorde longue vie et bonne Santé !

A mes frères et sœurs : Boubacar Bathily, Garan Bathily, Makan Bathily, Diaba Bathily, Bamby Bathily, Kande Bathily, Nefissatou Bathily, Awa Bathily, je vous dis tout simplement merci pour tout vos soutiens.

A mes oncles : Boubou Garan Bathily, Mamadou wadaye Bathily, Diabé Bathily, Salif Bathily, Votre soutien moral n'a été indispensable pour l'accomplissement de ce travail. Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi. Trouvez ici chers oncles l'expression de ma profonde gratitude.

A tous les autres parents dont j'ai omis les noms qui de près ou de loin n'ont ménagé aucun effort pour mon développement psychosocial depuis mon enfance jusqu'à la réalisation de ce travail.

A Daouda BATHILY et Soumina SYLLA *in memorium* : paix à leurs âmes.

REMERCIEMENTS

A mes cousins et cousines

Pour le réconfort moral qu'ils n'ont cessé de m'apporter pendant ces années d'étude. Que Dieu resserre nos liens !

A la famille Traore : Diadié Traore, Aly Traore, Boubacar Traore, Nima Traore, Abdoul Aziz Traore, Cheickna Traore, Mody Traore, Moussa Traore, Kandji Traore, Kadidiatou Traore dite Hadia, Assa Traore , Fanta Traore, Soumina traore, Diba Diabira, Fatoumata Fofana.etc.

Vous avez tous contribué, chacun(e) à sa manière à l'aboutissement de ce travail. Je vous dis tout simplement grand merci pour tout ce que vous avez fait pour moi.

A la famille Sy : Setou SY, Fatou SY, Hamed SY, Samba SY, Ami SY, Hawa SY, Barou SY, Tidiane SY, Soumina SYLLA (in memorium), N'Doula SY, Bouré SY, Abdoul SY (in memorium), Habib SY, Mariam SY, Sadio SY , Adama SY, Malla SY, Fatoumata Marie SY, Ina SY...

Ce travail est le fruit des efforts que vous avez consentis dans la famille. Je ne saurai vous oublier et je vous serai reconnaissant. Que Dieu resserre nos liens !

A mes Maîtres de 1^{er} et 2^{ème} cycles particulièrement à Bernard Diarra : Ce travail est aussi le vôtre. Qu'il soit le témoignage de mon amour et de ma sincère reconnaissance pour les sacrifices consentis.

A Mademoiselle Coumba DIALLO : Je ne saurai t'oublier. Merci pour ton soutien et courage.

A mes amis : Madigata Bakhaga, Barou Sy, Ibrahim Keita, Amadou Kante, Ibou Fofana, Moussa Bathily, Moussa Sanogo, Salif Diop, Sira

Coulibaly, Banty Cisse, Sekou Tandjigora. La liste est très longue, je ne vous oublierai jamais. Je vous dis tout simplement merci.

A mademoiselle Coumba Diallo : Merci pour ton soutien et courage.

Aux familles : Cissé et Bakhaga depuis Samé ouolof, Sy à Kayes. Merci pour toute l'affection dont j'ai été entouré dans mon enfance.

A mon cadet Abdoul Karim Dembele. Merci pour ton soutien et courage.

Aux Docteurs, Garba Mahamane Salissou, Mariam Soumaré, Lala Sidibé, Seydina S Diakité, Blaise Dakouo. Merci pour l'apprentissage.

Aux Docteurs Aboubacar Sadou, Abdoulaye Katilé, Karim Traoré et Aldiouma guindo. Merci de votre disponibilité pour l'aboutissement de ce travail.

A tous les étudiants ressortissants de la région de Kayes

Aux populations de Kangaba et Kela qui n'ont ménagé aucun effort pour a réalisation de ce travail.

A tout le personnel du service d'hématologie et de médecine interne.

A tout le personnel des laboratoires **d'Hématologie et du DEAP/MRTC de la FMPOS du Point-G** de Bamako et nos collaborateurs du **NIH.**

AUX MEMBRES DU JURY

A notre maître et président du jury

Professeur Ogobara K DOUMBO | Professeur titulaire de parasitologie et mycologie
Médecin chef du Département
d'Epidémiologie des Affections
Parasitaires

Nous gardons de vous l'image d'un maître sûr, rigoureux et aimable. Vous avez accepté la présidence de notre thèse et vous nous en faites l'honneur. Veuillez croire à l'expression de notre profonde et respectueuse gratitude.

A notre maître et juge

Professeur Amagana DOLO | Professeur Agrégé de parasitologie
Responsable de l'unité d'immunologie au
MRTC/DEAP

En témoignage de notre admiration pour votre simplicité, l'étendue de vos connaissances et votre amour pour le travail. Nous vous assurons de notre particulière reconnaissance pour avoir accepté de juger ce travail. Trouvez ici, cher maître, l'expression de notre profond respect et de nos sincères remerciements.

A notre maître et juge

Professeur Mamadou DEMBELE | Professeur Agrégé en médecine
Interne

Nous avons été marqués par la simplicité avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail. Veuillez croire cher maître à notre reconnaissance et notre profonde gratitude.

A notre maître et co-directeur de thèse

Docteur Aldiouma GUINDO | Assistant de recherche au DEAP
Responsable de la biologie moléculaire de
l'unité hématologie et investigateur
à Kangaba-Kela Malaria project.

Vous nous avez accueilli dans votre unité avec une extrême bienveillance et ouverture d'esprit ; vous nous avez donné le goût de la recherche.

Votre simplicité, votre rigueur scientifique et votre amour pour le travail bien fait font de vous un exemple à suivre.

Veillez trouver ici le témoignage de notre profonde gratitude.

A mon maître et directeur de thèse

professeur Dapa A Diallo | Professeur titulaire d'hématologie
Chef de service d'hématologie-Oncologie
médicale du CHU du point G.
Chef du laboratoire de recherche
d'hématologie de la FMPOS de Bamako

C'est un grand honneur et grand plaisir d'être votre élève d'abord, puis en acceptant de juger ce travail qui du reste est le vôtre.

Notre séjour dans votre service depuis le début de mes études médicales, m'a permis de découvrir aux qualités inestimables qui se résument en quelques mots : Simplicité, disponibilité, rigueur scientifique, culture de l'excellence, esprit critique, expérience médicale, tout ce qui fait de vous un maître admiré et admirable. La plus belle chose qu'on puisse retenir de vous est que vous êtes le professeur d'hématologie par excellence qui donne l'espoir aux malades cancéreux ; ce qui vous n'a pas empêché de poursuivre votre inlassable carrière de recherche. Je n'ai même pas appris le tiers de votre connaissance et si le bon Dieu le permet j'aimerais avoir le reste.

Trouvez ici, cher maître l'expression de notre profonde reconnaissance.

ABREVIATIONS

AVC = *Accident Vasculaire Cérébral*

CD = *Classe de différenciation*

CLHP = Cation exchange high-precision liquid chromatography

CRP = Protéine C réactive

CSA = Chondroïtin Sulfate A

CSREF = Centre de Santé de Référence et de Formation

DEAP = Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires

dl = Décilitre

DP = Déficit partiel

DT = Déficit total

EDM = Electron-Dense-Material

EDTA = Ethylène Diamine Tétra-acétique

FMPOS = Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

FM = Frottis Mince

g = Gramme

G6PD = Glucose 6 Phosphate Déshydrogénase

GAG = Guanine Adénine Guanine

GE = Goutte épaisse

GPIV = Glycoprotéine IV

GR = Globule Rouge

GTG = Guanine Thyminine Guanine

Hb = Hémoglobines

HNPG = Hopital National du point-G

Ht = *Hématocrite*

ICAM1 = Inter Cellular Adhesion Molecule-1

Ig G = Immunoglobuline G

IL = Interleukine

KAHRP = *Knob-Associated Histidin-Rich Protein*

Kg = Kilogramme

Km = Kilomètre

l = Litre

LMVR = Laboratory of Malaria and Vector Research

mg = Milligramme

ml = Millilitre

mm³ = Millimètre cube

mmHg = Millimètre de mercure

mmol = Millimole

mn = minute

MRTC = Malaria Research and training Center (Centre de Recherche et de Formation sur le paludisme)

NIH = National institutes of health

OMS = Organisation Mondiale de la Santé

PCR = Polymérase Chain Réaction

PECAM-1 = *platelet endothelial cell adhesion molecule 1*

Pf = *Plasmodium falciparum*

PfEMP-1 et 2 = *Plasmodium falciparum* Erythrocyte Membrane Protein 1
et 2

PfHRP-1 = *Plasmodium falciparum* Histidin Rich Protein-1

PfHRP-2 = *Plasmodium falciparum* Histidin Rich Protein-2

PH = Potentiel d'hydrogène

PHHF = persistance héréditaire de l'hémoglobine fœtale

PLDH = Lactates déshydrogénases Plasmodiales

RESA = Ring Erythrocyte Surface Antigen

Tf/μl = Trophozoïte par microlitre

TNF = Tumor Necrosis Factor

μl = **microlitre**

μmol = micromole

USA = United States of America

VCAM-1 = Vascular Cell Adhesing Molecular-1

VWF = Von Willebrand Factor

LISTES DES TABLEAUX ET FIGURES

	Pages
Figure 1 : Transmission de L'HbS-----	7
Figure 2 : Géographie de L'HbS-----	8
Figure 3 : Carte de répartition du paludisme et de la drépanocytose-----	9
Figure 4 : Physiopathologie de la drépanocytose-----	10
Tableau 1 : Examens de laboratoire utiles au diagnostic et à la caractérisation moléculaire précise d'un drépanocytaire-----	16
Figure 5 : Cycle de développement du Plasmodium-----	20
Figure 6 : Carte du Mali, Site d'étude-----	28
Tableau I : répartition des sujets étudiés en fonction du sexe-----	43
Tableau II : répartition des sujets étudiés par ethnie-----	43
Tableau III : répartition des <i>sujets</i> étudiés en fonction du type d'hémoglobine----	44
Tableau IV : distribution des types d'hémoglobine en fonction de l'ethnie-----	45
Tableau V : répartition des sujets étudiés en fonction des formes cliniques du paludisme-----	45
Tableau VI : répartition des sujets étudiés en fonction des formes cliniques du paludisme et par ethnie-----	46
Tableau VII : fréquence des critères de gravité chez les sujets atteints du Paludisme grave et compliqué chez les Malinké-----	47
Tableau VIII : fréquence de l'anémie dans la population étudiée-----	48
Tableau IX : fréquence du déficit en G6PD dans la population étudiée-----	48
Tableau X : distribution des formes cliniques selon l'ethnie-----	49
Tableau XI : fréquence des formes cliniques du paludisme en fonction du type d'hémoglobine chez les Malinké-----	50
Tableau XII : fréquence du paludisme grave en fonction du type d'hémoglobine chez les Malinké-----	51
Tableau XIII : phénotype hémoglobinique et critères de gravité chez les sujets Malinké atteints de paludisme grave et compliqué-----	52
Tableau XIV: distribution de l'anémie en fonction du phénotype hémoglobinique -----	53
Tableau XV : distribution de l'anémie en fonction des formes cliniques-----	54

Tableau XVI : moyenne géométrique de la parasitémie en fonction du type Hb----55

Tableau XVII : association entre phénotype hémoglobinique et densité parasitaire chez les sujets Malinké atteints de paludisme grave et compliqué-----56

SOMMAIRE

Pages

-Abréviation

I-Introduction -----	1
Hypothèse de travail-----	3
II-Objectifs -----	4
III-Généralités -----	5
1-Drépanocytose-----	5
1.1 Histoire naturelle-----	5
1.2 Transmission de l'HbS-----	7
1.3 Distribution géographique-----	7
1.4 Pathologie et physiopathologie-----	9
1.5 Diagnostic biologique-----	15
2-Paludisme-----	17
2-1 Définition du paludisme-----	17
2-2 Classification des parasites du paludisme-----	17
2-3 Cycle évolutif de <i>P. falciparum</i> -----	17
2-4 Manifestations cliniques du paludisme-----	20
2-5 Critères de gravité du paludisme OMS 2000-----	21
2-6 Physiopathologie du paludisme grave-----	22
2-7 Diagnostic biologique du paludisme -----	25
IV-Méthodologie -----	27
1-Site d'étude-----	27
2-Période d'étude-----	29
3-Type d'étude-----	29
4-Population d'étude-----	29
5-Critères d'inclusion-----	29

6-Critères de non-inclusion-----	29
7- Définition des cas-----	29
8-Paramètres mesurés-----	30
8.1-Paramètres socio-démographiques-----	30
8.2-Paramètres biologiques-----	30
9- Considérations éthiques-----	42
10-Gestion et analyse des données-----	42
V-Résultats-----	43
VI-Commentaires et discussion-----	57
VII-Conclusion et Recommandations-----	61
VIII-Références-----	63
IX-Résumé	
Serment d'HIPPOCRATE	

I- INTRODUCTION:

La drépanocytose est une affection héréditaire à transmission autosomique récessive, caractérisée par une anomalie de structure de l'hémoglobine, qui consiste en un remplacement de l'acide glutamique en position 6 sur la chaîne bêta par la valine. L'hémoglobine anormale appelée hémoglobine S (HbS), résulte de la mutation d'une base du 6ème codon du gène bêta de la globine. Le 6ème codon normal du gène

bêta de la globine (GAG) est muté pour donner un codon anormal GTG.

En dépit de son caractère ubiquitaire, la drépanocytose est une hémoglobinopathie qui frappe avec prédilection les sujets de race noire.

Plus de 100 millions d'individus sont atteints dans le monde dont 5 à 20% des cas en Afrique occidentale et centrale. Elle est aussi fréquente en

Amérique du Nord, aux Caraïbes, en Amérique du Sud, dans les pays du

Maghreb, aux Indes et est retrouvée en Europe [1]. En Côte d'Ivoire, 12% de la population sont porteurs de l'HbS [2]. La prévalence de la

drépanocytose est actuellement mal connue au Mali. Les travaux épidémiologiques les plus significatifs conduits entre 1973 et 1985 situent la fréquence du trait drépanocytaire entre 4 et 17% pour les enquêtes de masse, 10 et 13,5% pour les études hospitalières. La fréquence de la forme homozygote est estimée entre 0 et 0,4% selon les enquêtes de masse et 0 à 1% selon les enquêtes hospitalières [3].

Ceci fait de la drépanocytose un véritable problème de santé publique.

La distribution de l'hémoglobine S dans le monde a son maximum de fréquence dans une zone géographique d'hyperendémie palustre comprise entre le 10ème parallèle nord et le 15ème parallèle sud. Cette zone qui s'étend du sud du Sahara à la rivière ZAMBEZE a été baptisée "ceinture sicklémique" par LEHMANN [4].

La superposition des cartes de distribution de l'HbS et du Plasmodium falciparum est à l'origine de plusieurs théories sur les relations entre

drépanocytose et paludisme. L'hypothèse souvent admise pour expliquer cette superposition est une résistance que conférerait l'HbS contre l'infection palustre laquelle interviendrait alors, comme un facteur de sélection des drépanocytaires hétérozygotes au profit des sujets normaux [4,5,6,7,8]. Les études *in vitro* et *in vivo* relatives aux bases moléculaires, cellulaires et immunologiques du mécanisme qui pourrait sous-tendre la protection du drépanocytaire hétérozygote contre le paludisme grave sont nombreuses et controversées [9,10,11,7,8]. L'incidence élevée de l'HbS dans certaines populations suggère que cette hémoglobinopathie confèrerait un avantage sélectif en faveur des individus qui en sont porteurs. Cet avantage s'exercerait comme une résistance accrue aux manifestations graves du *Plasmodium falciparum*. Les arguments positifs en faveur de cette hypothèse sont émis dans une revue récente [9].

Une réduction du risque de presque 90 % de paludisme grave et compliqué a été observée chez les sujets hétérozygotes (AS) [12]. D'autre part, une diminution de la parasitémie a été rapportée [13].

Cependant l'ensemble de ces résultats pose des problèmes dans l'interprétation et la compréhension du mécanisme de protection car les travaux ayant permis de générer ces résultats n'ont pas été portés sur des sujets physiologiquement comparables. L'analyse de la littérature consacrée à la question permet de constater que l'effet protecteur de l'HbS contre le paludisme n'est pas constamment retrouvé par toutes les études [14,15,16,17]. Cette contradiction soulève des questions quant à la physiopathologie du paludisme grave et compliqué chez les sujets porteurs de l'HbS. L'hypothèse pouvant expliquer cette contradiction est : le polymorphisme génétique variable d'une population à une autre

(facteurs génétiques ou comportementaux propres à l'individu). Les études cas-témoins ont montré une protection forte des sujets de l'ethnie Dogon porteurs du gène de l'HbC , mais pas évidente avec l'HbS sur un échantillon faible [18].

Historiquement les Dogons viennent des Malinkés de Kangaba et Kéla, il nous a paru intéressant dans ce contexte, d'étudier dans la population malinké l'effet protecteur de l'HbS.

HYPOTHESE :

L'HbS protège-t-elle contre les formes graves du paludisme dans l'ethnie malinké?

II-OBJECTIFS

1-Objectif général :

- ▶ Evaluer la relation entre le portage de l'HbS et le paludisme grave et

compliqué dans une population d'enfants à Kangaba et Kéla.

2-Objectifs spécifiques :

- ▶ Déterminer la fréquence des formes cliniques du paludisme.
- ▶ Déterminer la prévalence de l'HbS dans la population étudiée
- ▶ Décrire les types d'associations entre le portage de l'HbS et les formes cliniques du paludisme

III-GENERALITES

1- Généralités sur la drépanocytose

1-1 Histoire naturelle de la drépanocytose majeure [19]

L'anémie falciforme ou drépanocytose est une maladie génétique qui touche des millions de personnes, principalement d'origine africaine.

L'histoire naturelle de la drépanocytose se caractérise par une anémie chronique et des épisodes de crises douloureuses vaso-occlusives qui reconnaîtront très souvent un facteur déclenchant. Schématiquement, on distingue 4 périodes dans la vie du drépanocytaire majeur.

a – La période néonatale (0 à 3 mois)

C'est la période asymptomatique de la maladie. C'est également la période où le diagnostic doit être fait en vue d'une prise en charge du drépanocytaire avant l'apparition des complications. Ce silence clinique est dû à l'effet protecteur du taux élevé de l'HbF qui inhibe la polymérisation de l'oxyhémoglobine S dans le globule rouge.

b – La période des 5 premières années de vie

C'est la période où la morbidité et la mortalité de la maladie sont plus importantes :

Fréquence des crises comprise entre 2 et 5 par an avec des hospitalisations fréquentes, mortalité au tour de 50%. Elle est caractérisée par une grande fréquence des infections graves (méningites, septicémies), une grande fréquence des séquestrations spléniques responsables d'anémies aiguës et de collapsus cardiovasculaires mortels et des crises douloureuses ostéo-articulaires réalisant le plus souvent des dactylites ou "syndromes pieds-mains"

c – La période de la seconde enfance (5 à 15 ans)

Au cours de cette période, les crises douloureuses ostéo-articulaires dominent le tableau clinique. C'est la période où les accidents vasculaires cérébraux (AVC) par obstruction partielle ou complète des vaisseaux de la base du crâne et les syndromes pulmonaires aigus sont fréquents. Ces complications sont redoutables car elles peuvent mettre en jeu le pronostic vital et elles sont récidivantes. Le risque infectieux aigu grave

est moindre, mais l'incidence de certaines complications comme l'ostéomyélite devient élevée.

La période de la seconde enfance est la période où le dépistage actif des complications dégénératives doit commencer.

d – A partir de 20 ans et chez l'adulte

Les crises anémiques et les complications infectieuses sont plus rares. Les crises douloureuses sont également rares mais elles représentent la première cause d'hospitalisation. C'est la période des atteintes dégénératives engageant le pronostic vital (insuffisance cardiaque, insuffisance rénale, insuffisance respiratoire, complications de lithiases biliaires) ou fonctionnel (rétinopathie, ostéonécrose de hanche, ulcère de jambe, ...).

Le drépanocytaire hétérozygote est en règle générale asymptomatique. Toute manifestation doit faire rechercher une pathologie associée : syndrome thalassémique, enzymopathie ou déficit membranaire le plus souvent. Les quelques exceptionnels cas de crises aiguës qui ont pu être rattachés à la drépanocytose hétérozygote ont été observés dans des circonstances très particulières : rhabdomyolyse aiguë par effort physique extrême, séjour en très haute altitude (plus de 3500 m).

1-2 Transmission de l'HbS :

L'HbS, comme les autres anomalies de l'hémoglobine portées par la chaîne bêta est transmise selon le mode Mendélien codominant.

Lorsque l'un des parents est normal et l'autre hétérozygote pour l'HbS, la moitié des enfants seront hétérozygotes. Lorsque les deux parents sont hétérozygotes, 50% des enfants seront hétérozygotes, 25% seront homozygotes et 25% normaux.

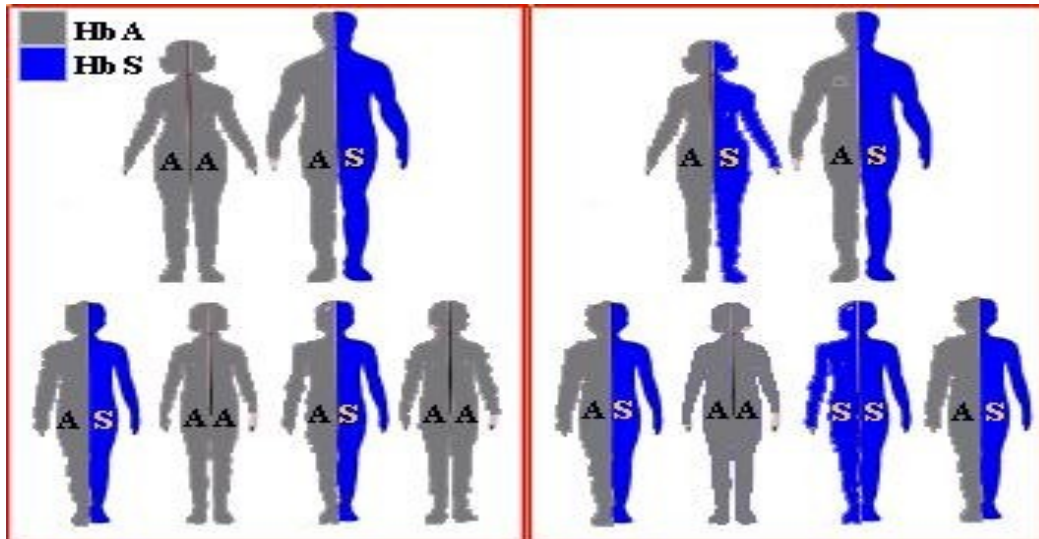
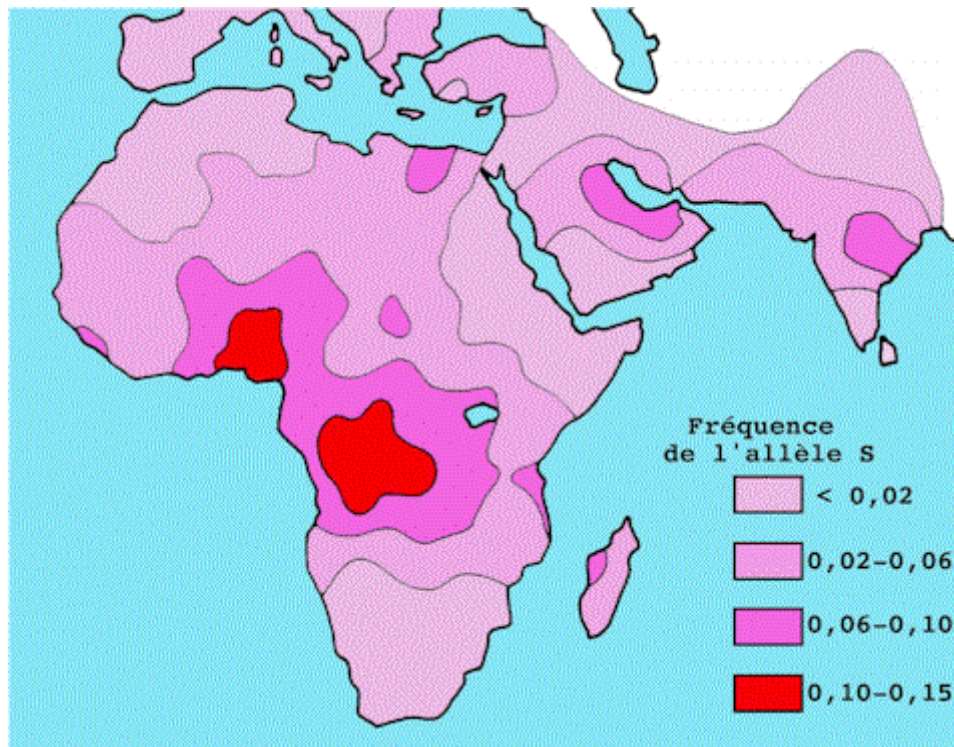


Figure1 : <file:///A:\Transmission%20HbS.htm>

1-3 Distribution géographique

25 % de la population en Afrique centrale est porteuse du trait drépanocytaire, 15 à 20% en Afrique de l'Ouest ; 10 à 12% dans les DOM antillais ; 1 à 15% selon les régions méditerranéennes. En France, 220 à 250 nouveau-nés drépanocytaires sont dépistés chaque année (160 en métropole, 90 dans les DOM) et bénéficient d'une prise en charge précoce. La prévalence de la drépanocytose est actuellement mal connue au Mali.



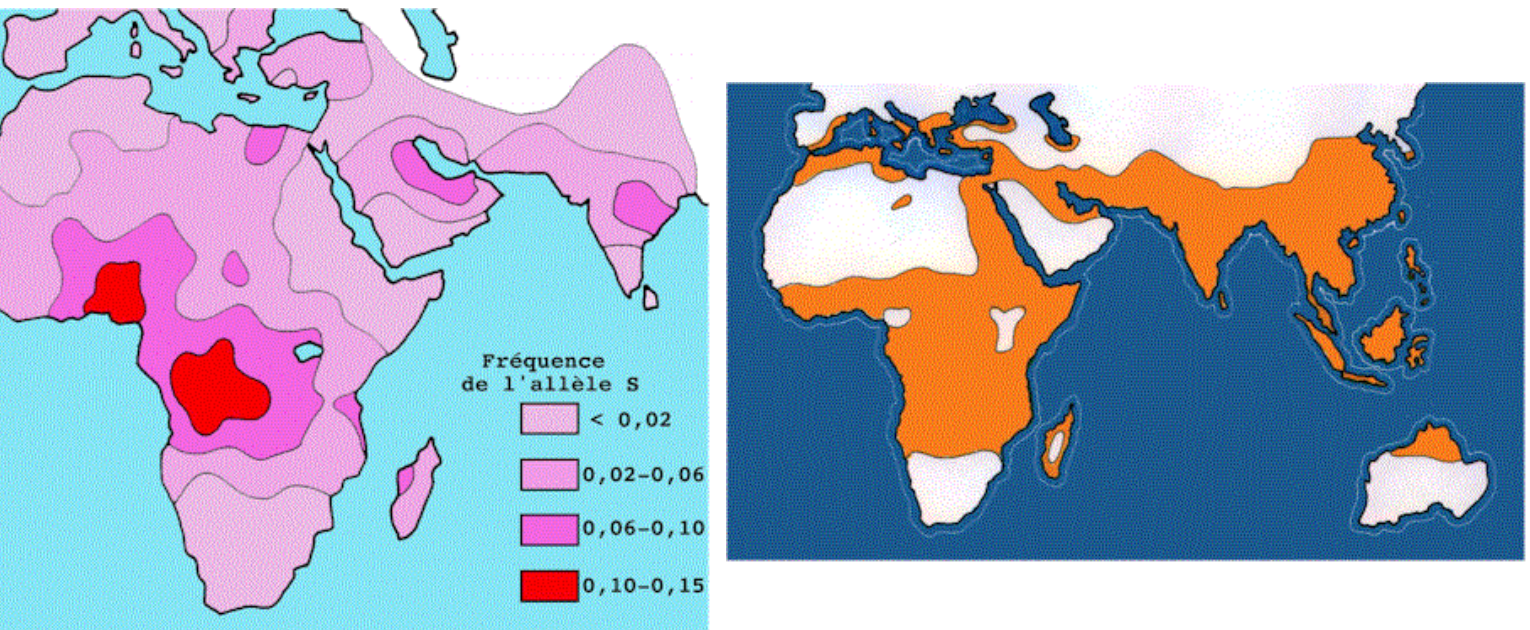
Population atteinte de l'anémie falciforme en Afrique, principal continent touché par cette maladie

Figure2 : File : //A : \HbS%20géographie.htm

Les travaux épidémiologiques les plus significatifs conduits entre 1973 et 1985 situent la fréquence du trait drépanocytaire entre 4 et 17% pour les enquêtes de masse, 10 et 13,5% pour les études hospitalières. La fréquence de la forme homozygote est estimée entre 0 et 0,4% selon les enquêtes de masse et 0 à 1% selon les enquêtes hospitalières [3]. Autrefois la drépanocytose était une anomalie génétique létale responsable d'environ 100 000 morts par an. Environ 80% des homozygotes mourraient alors avant l'âge de la reproduction. Compte-tenu d'une sélection aussi puissante contre l'allèle HbS, il a été longtemps difficile de comprendre pourquoi, dans certaines populations humaines, sa fréquence atteint et même dépasse largement les 10 %.

Comparant les cartes de répartition du paludisme d'une part, de la

drépanocytose d'autre part, Haldane fut frappé de leur ressemblance.



Fréquence de la population porteuse de l'allèle HbS Répartition de la population porteuse du parasite du Paludisme

Figure3 : File://A:\HbS%20géographie.htm

Une telle coïncidence suggérait que l'HbS pouvait apporter un avantage en milieu impaludé. En effet, si l'homozygote succombe de drépanocytose, l'hétérozygote résiste mieux au paludisme. Cette résistance au paludisme conférée aux hétérozygotes explique la répartition géographique et ethnique de l'anémie falciforme.

1-4 Pathologie et physiopathologie [20, 21, 22]

La survenue de la crise drépanocytaire est la conséquence de phénomènes à la fois moléculaires (polymérisation de l'hémoglobine S), cellulaires (falciformation) et vasculaires (adhésion cellulaire).

a – La polymérisation de l'hémoglobine S

L'HbS a la propriété de perdre sa solubilité quand elle est désoxygénée et

de se polymériser. La polymérisation de l'HbS aboutit à la formation de fibres protéiques rigides de désoxyhémoglobine S responsables de la déformation du globule rouge en faucille. La cinétique d'apparition des polymères d'oxyhémoglobine S est fonction de la concentration en HbS du globule rouge. C'est pourquoi les sujets hétérozygotes ne font que très rarement de manifestations cliniques. Elle dépend aussi de la concentration en hémoglobine F du globule rouge, de l'existence ou non d'une autre hémoglobinopathie ou d'une enzymopathie associée. Les facteurs qui déclenchent le phénomène de falciformation sont l'hypoxie, la déshydratation, l'acidose et la fièvre.

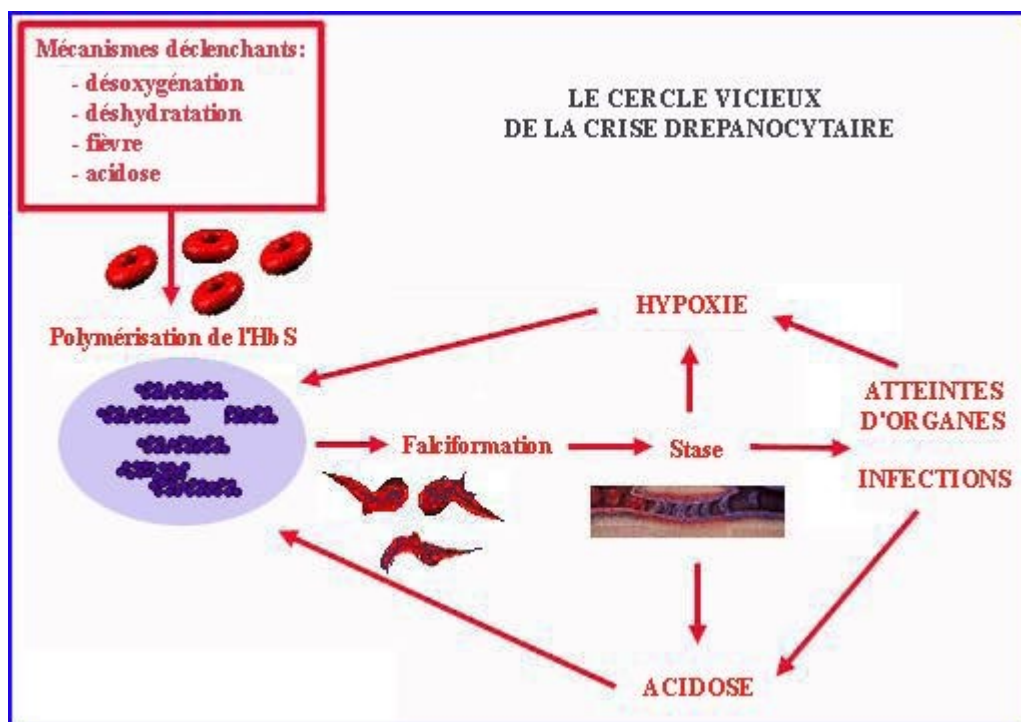


Figure4: file:///A:\Pathophysio%20Hbs.htm

b – La falciformation du globule rouge

La polymérisation de l'HbS est à l'origine de la déformation du globule rouge en faucille ou drépanocyte. Il s'agit d'un processus dynamique caractérisé par un temps de latence très variable. Elle conduit à une population très hétérogène de drépanocytes chez un même malade et d'un

sujet à l'autre. Les drépanocytes sont des cellules denses dont la particularité est d'être déshydratées, riches en calcium et pauvres en potassium. Les mécanismes responsables de la déshydratation du globule rouge sont l'augmentation de l'activité de co-transport K^+/Cl^- de la cellule, l'activation du canal potassique de Gardos. Cette activation du canal de Gardos est provoquée par la surcharge calcique du globule rouge ; elle entraîne une fuite extracellulaire importante d'ions K^+ et d'eau. Les essais d'inhibition de l'activité du canal de Gardos par la chlorpromazine et du co-transport K^+/Cl^- par l'administration de magnésium sont encourageants.

La falciformation est un phénomène réversible lorsque l'état de la membrane du globule rouge permet une réhydratation. Elle est associée au niveau de spicules formés par les fibres d'HbS sur la membrane du globule rouge à une translocation appelée "Flip flop" par les anglo-saxons des phospholipides qui peuvent se déplacer librement du feuillet interne vers le feuillet externe de la membrane érythrocytaire. La conséquence de ce réarrangement de la bicouche lipidique du globule rouge est l'extériorisation de la phosphatidylestérase à activité pro coagulante car capable d'activer la transformation de la prothrombine en thrombine.

Une des caractéristiques fondamentales reconnues récemment au drépanocyte est son adhérence accrue à l'endothélium vasculaire. Cette adhérence accrue se fait soit de façon non spécifique par l'intermédiaire des IgG qui sont augmentées à la surface de la cellule, soit de façon spécifique par l'intermédiaire de molécules adhésives très exprimées chez le drépanocytaire et qui sont : la GPIV ou CD36 capable de se lier à la thrombospondine et l'intégrine $\alpha_4\beta_1$ elle, capable de se lier à la protéine adhésive ICAM1 (Intracellular Adhesion Molecule1) de la cellule endothéliale. Le taux d'expression de ces molécules adhésives est très important même chez les drépanocytaires en période inter critique

(absence de crise)

c – Le drépanocyte et la circulation

Le drépanocyte est une cellule caractérisée également par une diminution extrême de sa déformabilité et une augmentation de sa viscosité interne ; l'indice de rigidité des érythrocytes du drépanocytaire homozygote est 10 fois supérieur à celui du sujet normal [22]. Cette diminution de la déformabilité de la cellule drépanocytaire est à l'origine des obstructions vasculaires lorsque la concentration des drépanocytes augmente dans le sang car celles-ci ne sont plus filtrables. La conséquence de l'obstruction vasculaire est l'ischémie tissulaire. L'augmentation de l'hématocrite comme on peut observer au cours des déshydratations augmente la viscosité sanguine et rend le globule rouge moins filtrable. L'obstruction vasculaire par les drépanocytes crée localement une acidose qui maintient l'HbS à l'état désoxygéné par déplacement de la P50 à droite et entretient la polymérisation de la désoxyhémoglobine S.

Les tissus à vascularisation terminale et la moelle osseuse sont les plus menacés par la vaso-occlusion et l'ischémie. Les zones préférentielles pour l'occlusion sont les bifurcations artérielles (gros vaisseaux) et les sphincters pré capillaires (micro circulation). Le risque est d'autant plus important que l'organe fonctionne à basse pression d'oxygène. Ainsi la rate, la médullaire rénale, la rétine périphérique sont des cibles privilégiées des épisodes ischémiques. Le froid créant des vasospasmes peut ainsi amorcer le phénomène ischémique.

d – Le rôle de l'endothélium vasculaire

L'extrême polymorphisme de l'expression clinique de la maladie drépanocytaire caractérisée par une mutation unique a fait évoquer le rôle d'autres déterminants physiopathologiques dont l'endothélium vasculaire. Dès 1980 en effet, Solovey et coll [22] apportent l'existence d'un nombre significativement important de cellules endothéliales circulantes chez le

drépanocytaire et évoquent le rôle de l'activation de l'endothélium vasculaire dans le déclenchement de l'adhésion du globule rouge au vaisseau. Ainsi la grande fréquence des obstructions vasculaires au cours des épisodes infectieux et inflammatoires a trouvé une explication dans l'interaction du globule rouge drépanocytaire avec l'endothélium : au cours des infections et des maladies inflammatoires, l'endothélium peut être activée par les endotoxines bactériennes, les particules virales, les cytokines de l'inflammation notamment le TNF α (Tumor Necrosis Factor α) et l'interleukine 1. L'activation de la cellule endothéliale est associée à l'expression par celle-ci, de molécules adhésives dont le VCAM1 (Vascular Adhesion Molecule1) qui reconnaît l'intégrine $\alpha_4\beta_1$ sur le globule rouge, le DC36 capable de fixer la thrombospondine et le collagène, les selectines (E-selectine et P-selectine) qui médient l'adhésion des polynucléaires neutrophiles et des monocytes à l'endothélium. On observe également une augmentation du taux des protéines de l'inflammation dont le fibrinogène, le facteur Von Willebrand (VWF), la C-Réactive Protéine (CRP), la production de thromboxane A2 par les plaquettes activées, l'activation de la coagulation et la formation d'hémichromes.

e – Les conséquences cliniques des phénomènes cellulaires et vasculaires

La falciformation des globules rouges drépanocytaires est associée à une diminution de leur déformabilité. Ceci est responsable d'accidents vaso-occlusifs aigus avec ischémie provoquant des douleurs souvent insupportables. Les modifications cellulaires et rhéologiques sont associées à une fragilisation de la membrane du globule rouge favorisant l'hyperhémolyse. Cette hyperhémolyse est non compensée par une production médullaire de compensation insuffisante ; il apparaît alors une anémie chronique avec des taux d'hémoglobine de base variant entre 6 et 10 g/dl.

f-Rôle de certaines hémoglobines

Le rôle inhibiteur de la polymérisation de l'oxyhémoglobine S par l'hémoglobine fœtale (HbF) a été démontré depuis de longues dates. Ce phénomène explique le caractère silencieux de la maladie dans la période néonatale caractérisée où le taux d'HbF est élevé et le début des crises vers l'âge de 4 - 6 mois correspondant à l'effondrement de la production d'HbF.

L'association d'une β -thalassémie à la drépanocytose favorise la polymérisation de l'HbS. C'est le cas également de l'association d'une hémoglobinose C, D Punjab ou O Arab. Ainsi les doubles hétérozygotes encore appelés hétérozygotes composites S/C, S/ β -thalassémie, S/D Punjab, S/O Arab s'expriment comme la forme homozygote de la drépanocytose et sont considérées comme des drépanocytoses majeures (syndromes drépanocytaires majeurs).

L'association d'une α -thalassémie, d'une persistance héréditaire de l'hémoglobine fœtale (PHHF) ou de certaines hémoglobines comme l'hémoglobine Korle Bu en revanche inhibe le phénomène de polymérisation.

Le déficit en G6PD est un facteur favorisant la falciformation érythrocytaire chez le drépanocytaire.

g- Rôle des facteurs nutritionnels

Le rôle des micro nutriments dans la physiopathologie de la drépanocytose fait actuellement l'objet de controverses. Nous avons vu plus haut que la concentration en HbS dans le globule rouge est un paramètre important dans le déclenchement de la polymérisation de l'oxyhémoglobine S. La carence martiale, en diminuant cette concentration, crée une protection paradoxale contre le phénomène de polymérisation (comme c'est le cas au cours des α -thalassémies par déficit de synthèse des chaînes α), mais elle aggrave l'anémie par déficit

de synthèse de l'hémoglobine et donc l'hypoxie tissulaire. C'est pourquoi elle doit être corrigée. Un taux significativement plus bas de vitamine E connue pour son pouvoir de protection contre les stress oxydatifs est rapporté chez le drépanocytaire.

1-5 Diagnostic biologique

Quelle que soit la forme génétique de drépanocytose, son diagnostic repose toujours sur l'identification formelle de l'hémoglobine S (HbS). Les examens de laboratoire seront le plus souvent les seuls arguments d'une forme hétérozygote (HbA/HbS), habituellement cliniquement muette. Dans les syndromes drépanocytaires majeurs ils permettront de préciser s'il s'agit d'une forme homozygote (HbS/HbS) ou d'une hétérozygotie composite associant l'HbS à une β -thalassémie ou à une autre anomalie de l'hémoglobine (Hb D-Punjab, HbC ou Hb Arab, le plus souvent) et dans une certaine mesure de la ranger dans une catégorie pronostique. Le premier temps du diagnostic d'une HbS s'effectue généralement par électrophorèse, le test d'emmel ou mieux, par focalisation isoélectrique. Dans certains laboratoires, la priorité est plutôt donnée à la HPLC sur échangeurs de cations, qui est une méthode plus facilement automatisable. Dans tous les cas le résultat d'un seul test est insuffisant pour affirmer le diagnostic d'HbS. Il doit toujours être confirmé par un test fonctionnel mettant en évidence la solubilité diminuée de la désoxyHbS ou par une électrophorèse sur gel d'agar. Des tests de biologie moléculaire faisant appel à des enzymes de restriction sont parfois nécessaires.

Les divers examens de laboratoire utiles au diagnostic et à la caractérisation moléculaire précise d'un drépanocytaire sont énumérés

dans le tableau ci-dessous

<u>Electrophorèse sur acétate de cellulose</u>	<u>Isoélectrofocalisation</u>	<u>CLHP sur colonne échangeuse de cations</u>
<u>Electrophorèse sur gel d'agar</u>	<u>Caractérisation structurale</u>	<u>Test de Solubilité</u>
<u>Biologie Moléculaire</u>	<u>Détermination de l'Haplotype</u>	<u>Etudes fonctionnelles</u>
<u>Etude de l'HbF</u>	<u>Recherche d'une alpha-thalassémie associée</u>	

<file:///A:/Laboratory%20Diagnosis%20of%20SCD.htm>

Enfin dans tout syndrome drépanocytaire, le laboratoire doit également évaluer les autres facteurs génétiques susceptibles de modifier l'expression clinique de la maladie [HbF , α -thalassémies, haplotypes (sénégalais,béninois,camerounais,Bantou,Arabo-Indiens)].

2- Généralités sur le paludisme

2.1- Définition du paludisme

Le paludisme est l'ensemble des manifestations cliniques causées par la

présence dans le sang d'un protozoaire de genre plasmodium. C'est une hémosporozyte fébrile et hémolytique. Quatre espèces de plasmodium parasitent l'homme : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*. Le cycle évolutif de ces parasites fait intervenir deux hôtes :

L'homme (hôte intermédiaire) et l'anophèle femelle (hôte définitif) qui sert de vecteur pour la transmission de cette maladie.

2.2- 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 l'Ordre des Haemosporoda

A la famille des Plasmodiidae

Au genre Plasmodium

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

2.3- Cycle évolutif de *p. falciparum* [23]

2.3.1- Chez l'homme :

L'homme est contaminé par la piqûre infestante de l'anophèle femelle. Les formes infectantes du parasite (sporozoïtes) contenues dans la salive sont injectées dans le tissu sous-cutané. A travers le sang ils atteignent le foie où chaque sporozoïte pénètre dans un hépatocyte. Ils s'y reproduisent de façon asexuée : c'est la schizogonie hépatique ou extra-érythrocytaire. Cette schizogonie aboutit à un trophozoïte endocytosomique qui grossit et dont le noyau se divise plusieurs fois. L'hépatocyte parasité éclate et les mérozoïtes libérés pénètrent dans la circulation des capillaires le jouxtant. Chaque mérozoïte va pénétrer dans

une hématie.

Dans chaque hématie infestée par un mérozoïte va se dérouler un cycle de reproduction asexuée : passage par les formes trophozoïtes jeunes (forme en anneau), puis schizonte mûr à nombre de noyaux défini (c'est la schizogonie érythrocytaire ou endo-érythrocytaire).

A l'issue de chaque cycle, les hématies parasitées éclatent de façon généralement synchrone et les mérozoïtes libérés envahissent des hématies saines. Plusieurs cycles se succèdent. Ce cycle dure 48- 72 H en fonction des espèces.

Après environ 1 semaine, certains mérozoïtes vont se distinguer en commençant le cycle sexué du parasite; les uns vont devenir des gamétocytes mâles, les autres deviendront des gamétocytes femelles.

NB : durant toute la partie du cycle de développement du parasite chez l'homme, celui-ci est sous forme haploïde.

2.3.2- Chez l'anophèle

Au cours de la piqûre, l'anophèle ingère des hématies parasitées, seuls les gamétocytes évolueront chez lui.

Dès leur arrivée dans l'estomac de l'anophèle, les gamétocytes mâles subissent l'exflagellation et donnent des gamètes mâles mobiles. Chaque gamétocyte femelle mûrit pour donner un gamète femelle volumineux et immobile.

La fécondation de chaque gamète femelle par un gamète mâle donne autant de zygotes appelés ookinètes (de oo = oeuf et kino = mobile) d'aspect vermiforme ($10\ \mu\text{m} \times 3 - 4\ \mu\text{m}$). Les ookinètes sont déformables (aspect amoéboïde) et se fixent aux cellules de la paroi stomacale si l'espèce d'anophèle convient au parasite. Les ookinètes s'insinuent entre les cellules de la paroi stomacale du moustique et vont se localiser à la face externe de l'estomac, ils deviennent alors des oocystes.

La durée totale entre le repas contaminant du moustique et la sortie des

ookinètes est de l'ordre de 24 heures.

NB : La forme diploïde du parasite est observée seulement au cours

de cette brève période s'étendant de la fécondation du gamétocyte femelle par le gamétocyte mâle à la sporogonie.

A l'intérieur de l'oocyste vont se former des sporocystes qui donneront plusieurs centaines de sporozoïtes.

A maturité, les oocystes éclatent et les sporozoïtes sont libérés dans l'hémolymphe, en 24 heures environ, la majorité d'entre eux va se concentrer dans les glandes salivaires.

Lors de la piqûre d'un humain, l'anophèle injectera de plusieurs dizaines à plusieurs centaines de sporozoites.

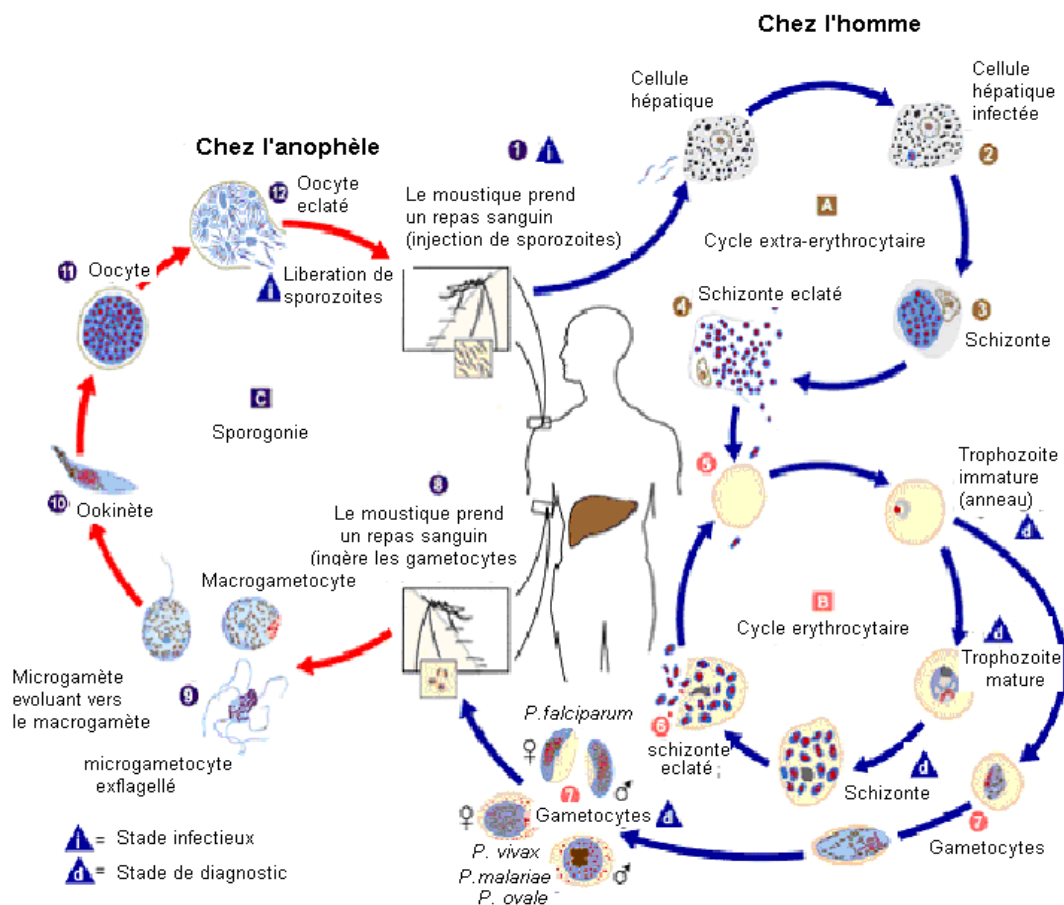


Figure 5: cycle de développement du plasmodium.

Source : National center for Infections Diseases, Division of parasitic Diseases [Department of Health and Human services US]

2.4- Manifestations cliniques du paludisme [23]

2.4.1- La primo-infestation

●phase d'incubation

Entre une et plusieurs semaines après la piqûre infectante, elle correspond à la schizogonie hépatique et aux premiers cycles érythrocytaires; pas de signes clinique.

●phase d'invasion:

Cette phase est caractérisée par le syndrome pseudo-grippal avec fièvre continue au début accompagnée de myalgies, céphalées, courbatures.

Chez l'enfant on observe des troubles digestifs: nausées, vomissements, diarrhée, douleurs abdominales et hépatomégalie.

●phase d'état:

Elle Correspond aux schizogonies érythrocytaires, la fièvre est intermittente en principe rythmée par l'éclatement des schizontes mûrs et le déversement du pigment palustre pyrogène dans le sang. On distingue deux types de fièvre :

Fièvre tierce : accès les 1er, 3ème, 5ème jour etc... soit un rythme de 48 heures

Fièvre quarte: accès les 1er, 4ème, 7ème jour etc soit rythme de 72 heures.

Chaque accès palustre est caractérisé par la succession de "frisson puis chaleur puis sueur", l'ensemble dure de 10 à 12 heures et est suivi d'une apyrexie. En principe une dizaine d'accès palustre se suivent pour constituer une crise de paludisme. Quand un sujet fait de nouveaux accès après guérison des précédents, il peut s'agir :

soit de ré-infection (nouvelle piqûre d'anophèle infectée)

soit de recrudescence (augmentation de la parasitémie jusqu'à un niveau décelable cliniquement chez un sujet après traitement incomplet ou inefficace, ou chez un sujet semi-immun)

soit de rechute (poussée de parasitémie à partir d'hypnozoïtes hépatiques

dans le cas de *P. vivax* et de *P. ovale*)

2.5- Critères de gravité du paludisme OMS 2000 [24]

Les formes graves de paludisme à *P. falciparum* sont définies par la présence dans le sang de trophozoïtes de *P. falciparum* associée à au moins un des critères suivants :

- Paludisme cérébral ou neuropaludisme : lorsque le score de Glasgow est inférieur ou égal à 9 ou celui de Blantyre est inférieur ou égal à 2

- Trouble de conscience: avec score de Glasgow compris entre 9 et 15 ou score de Blantyre compris entre 2 et 5
- Convulsions répétées : fréquence supérieure à une fois par 24 heures.
- Prostration
- Syndrome de détresse respiratoire
- Ictère
- Acidose métabolique : taux des bicarbonates plasmatiques inférieur à 15 mmol/L
- Anémie grave: taux d'hémoglobine inférieur à 5g/dl ou hématocrite inférieur à 15%.
- Hyperparasitémie : parasitémie supérieure ou égale à 4% chez les sujets non-immuns et 20% chez les sujets Immuns.
- Hémoglobinurie macroscopique
- Insuffisance rénale :
diurèse inférieure à 40ml/24h ou créatinémie supérieure à 265µmol/L chez l'adulte diurèse <12ml/Kg/24h ou Créatinémie trop élevée pour l'âge de l'enfant.
- Collapsus circulatoire : tension artérielle systolique inférieure à 60 mmHg avant 5 ans ou inférieure à 8 mmHg après 5 ans.
- Saignement anormal
- Hypoglycémie (glycémie < 2,2 mmol/l ou 40mg/dl)

- Oedème pulmonaire (radiologique).

2.6- Physiopathologie du paludisme grave. [25]

Les concepts physiopathologiques du paludisme grave font intervenir trois types de modifications physiopathologiques :

- La séquestration des hématies parasitées ;
- L'activation du système immunitaire à médiation cellulaire ;
- La libération des cytokines macrophagiques.

2.6.1- La séquestration:

Elle aboutit à une obstruction des micro capillaires par les globules rouges. Pour l'expliquer trois mécanismes ont été identifiés :

L'auto-agglutination, le "rosetting" et la cytoadhérence.

a- Le phénomène de l'auto- agglutination :

L'auto-agglutination des hématies parasitées a été observée avec de nombreuses souches de *P. falciparum* étudiées en culture au laboratoire. Il s'agit d'un regroupement des érythrocytes infectés entre eux pour former des micro agrégats susceptibles d'obstruer les capillaires profonds. Ce phénomène a été observé chez les patients porteurs de fortes parasitémies en dehors de tout phénotype d'adhésion.

b- Le phénomène de « rosetting »

Les hématies parasitées ont la faculté d'attirer au tour d'elles des hématies saines pour les infester en formant des rosettes : c'est le phénomène de rosetting. Il y a donc formation d'un agrégat par une hématie parasitée autour de laquelle adhèrent des hématies normales. Ce phénomène a été bien étudié *in vitro*. Il varie d'une souche plasmoiale à l'autre. Il a été montré que seul le niveau élevé des rosettes et l'absence d'anticorps anti rosette sont corrélés positivement au neuropaludisme. La formation de rosettes constitue un mode de protection pour le parasite contre le système phagocytaire de la rate et exercent un effet délétère

pour l'hôte par blocage du flux sanguin.

c- Le phénomène de cytoadhérence :

La cytoadhérence des hématies parasitées à l'endothélium vasculaire ou aux cellules trophoblastiques placentaires est le mécanisme qui a été le mieux étudié ces dernières années. Ce phénomène permet au Plasmodium de se développer plus facilement grâce à un environnement gazeux favorable et d'échapper à la clairance splénique. Les hématies parasitées expriment à leur surface des protubérances (knobs) qui semblent jouer un important rôle dans leur adhésion aux cellules endothéliales. Il s'agit de protubérances protéiniques auxquelles sont incorporés des antigènes plasmodiques.

Parmi ces antigènes plasmodiques on peut citer : la PfEMP-1 et 2 (*Plasmodium falciparum* Erythrocyte Membrane Protein 1 et 2) ; la PfHRP-1 (*Plasmodium falciparum* Histidin Rich Protein) ou KAHRP (Knob-Associated Histidin-Rich Protein), RESA (Ring Erythrocyte Surface Antigen) et EDM (Electron-Dense-Material). PfEMP- 1 interagit avec des récepteurs spécifiques au niveau des cellules endothéliales vasculaires et du syncytiotrophoblaste. comme l'ICAM-1 (Inter Cellular Adhesion Molecule-1), le CD36, le VCAM-1 (Vascular Cell Adhesing Molecular-1 et 2) le CD31 ou PCAM-1, Le CSA (Chondroitin Sulfate A), la selectin [26] etc.

L'adhésion des hématies parasitées à ces récepteurs entraîne leur séquestration à l'intérieur de la micro circulation.

La séquestration permet aux hématies parasitées d'échapper à la clairance splénique et contribue à la gravité du paludisme (critères de gravité du paludisme OMS 2000).

Elle entraîne aussi une obstruction des micro vaisseaux surtout au niveau cérébral, ce qui est cité comme principale cause du neuropaludisme. La séquestration entraînerait aussi une dilatation des micro vaisseaux par

libération du monoxyde d'azote (NO):

Ce qui est responsable d'œdème cérébral et pulmonaire.

2.6.2- Mécanismes immunologiques :

Le système à médiation cellulaire impliquant les lymphocytes CD4 et les macrophages joue un rôle très important dans la pathogénie du neuropaludisme. Les antigènes plasmodiaux facilitent le recrutement des macrophages et la libération de nombreuses cytokines pro-inflammatoires par ces derniers (Interféron gamma, TNF alpha, IL-1, IL-6...) Parmi les médiateurs macrophagiques, le TNF α est un acteur important.

Expérimentalement l'injection de TNF α chez les souris reproduit la plupart des manifestations cliniques et biologiques du paludisme grave.

On pense aussi que la libération du TNF α stimulerait l'expression des récepteurs des knobs au niveau endothélial, donc la séquestration.

Il faut rappeler que les fièvres observées au cours des accès palustres seraient dues à la libération dans le sang de l'hémozoïne (substance pyrogène résultant de la dégradation de l'hémoglobine par le plasmodium) après éclatement des schizontes.

Cette fièvre peut également être due aux cytokines pro-inflammatoire comme ; TNF α , IL-1, IL-6.

2.7- Diagnostic biologique du paludisme

Plusieurs méthodes sont utilisées :

2.7.1- La microscopie :

Elle est basée sur l'observation au microscope en immersion à l'objectif 100 des différents stades du parasite (gamétocyte, trophozoïte) dans le sang après coloration au Giemsa et séchage. Deux techniques sont utilisées :

a- La goutte épaisse (GE) :

C'est la technique de diagnostic de référence du paludisme. Il s'agit d'une technique de concentration des parasites sur lame à partir

d'une goutte de sang capillaire suivie de coloration au Giemsa et de l'observation au microscope.

b- Le frottis mince (FM) :

C'est la technique de référence pour le diagnostic d'espèce, car elle permet non seulement de voir les parasites mais aussi d'apprécier la forme des GR parasités.

2.7.2- Les tests de diagnostic rapide:

Ce sont des tests basés sur les réactions anticorp-antigènes suivies de la révélation du complexe Ag-Ac avec un chromogène. On a: OptiMAL-IT (PfLDH) et Parasight F (PfHRP II).

2.7.3 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 d'amorces spécifiques de gène ou après digestion du produit de PCR avec des Enzymes de restriction spécifiques.

IV – METHODOLOGIE

1-Site d'étude

Notre étude s'est déroulée dans les locaux du centre de santé de référence (CSREF) de Kangaba chef lieu de cercle et de la case de santé de Kéla, un village situé à 6Km de Kangaba, tous deux situés dans la région de Koulikoro. Ces deux sites d'étude ont été identifiés sur la base d'enquêtes anthropologiques et paludométriques faites pendant plusieurs saisons. Ils sont situés à 95 km au sud-ouest de Bamako la capital du Mali et sont tous accessibles par la route (moins de 2heures de route à partir du Point G). Kangaba compte environ 6500 habitants tandis que Kéla compte environ 1600 habitants. La population est majoritairement constituée de Malinké (76,9%).

Le paludisme y sévit sous forme hyperendémique avec une période de forte transmission couvrant la saison des pluies allant de juin à novembre.

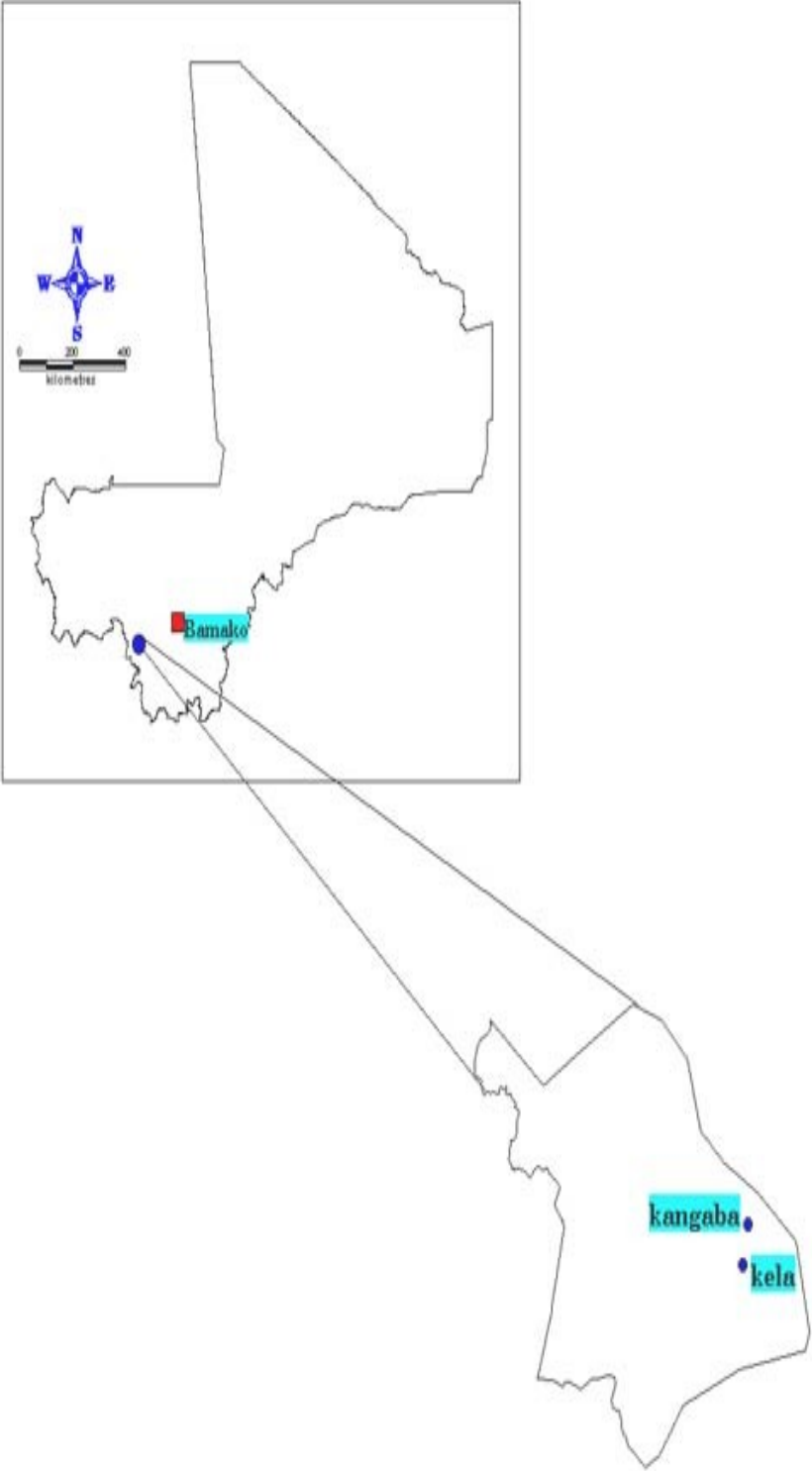


Figure 6 : CARTE DU MALI Site d'étude

Source : GIS/RS MRTC/FMPOS –Bamako (Mali) Janv 2003

2-Période d'étude

Notre étude a couvert les périodes de forte transmission de Juin 2001 à Janvier 2005.

3-Type d'étude

Il s'agit d'une étude prospective avec une composante cas- témoins non appariés.

Les cas : étaient des sujets atteints de paludisme grave, selon la définition de l'OMS 2000 [24]

Les témoins : correspondaient aux sujets avec paludisme simple.

4-Population d'étude

Cette étude a concerné des sujets de tout sexe âgés de 3 mois à 5 ans résidants de la ville de Kangaba et du village de Kéla.

5-Critères d'inclusion

- Sujets âgés de 3 mois à 5 ans, consultant au CSREF de Kangaba ou à la case de santé de Kéla pour des symptômes de paludisme et chez lesquels une goutte épaisse positive à *P. falciparum* a été obtenue.
- Avoir un consentement signé d'un parent ou d'un tuteur adulte de l'enfant après explication du protocole en langue malinké

6-Critères de non-inclusion :

- avoir une pathologie grave aiguë ou chronique responsable de fièvre (Pneumonie bactérienne, kwashiorkor....)
- avoir une goutte épaisse négative à la recherche de *Plasmodium falciparum*.
- refuser d'adhérer à l'étude.

7- Définition des cas :

◆**Paludisme simple** : une fièvre (température axillaire $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$), frissons, céphalées, myalgies, douleurs abdominales, vomissements et avec une goutte épaisse positive à *P. falciparum* sans signes de gravité.

◆Paludisme grave :

• Parasitémie > 500000tf/μl ou toute autre parasitémie avec l'un des critères si dessous :

- Coma (score de Glasgow ≤ 9 ou score de Blantyre ≤ 2) ;
- Convulsions répétées (plus d'une par 24 heures) ;
- Prostration ;
- Syndrome de détresse respiratoire ;
- Ictère ;
- Acidose métabolique (taux de bicarbonates plasmatiques inférieur à 15 mmol/L) ;
- Anémie grave (taux d'hémoglobine ≤ 5 g/dl ou hématocrite $\leq 15\%$);
- Hémoglobinurie macroscopique ;
- Insuffisance rénale (diurèse <12ml/kg/24h ou créatinémie trop élevée pour l'âge de l'enfant) ;
- Collapsus circulatoire (tension artérielle systolique inférieure à 60mmHg) ;
- Saignement anormal ;
- Hypoglycémie (glycemie < 2,2 mmol/l ou 40mg/dl) ;
- Oedème pulmonaire (radiologique).

◆L'anémie = taux d'Hb < 12 g/dl en dehors de l'anémie sévère palustre

8-Paramètres mesurés

8-1- Paramètres sociodémographiques

Age, sexe, ethnie, lieu de résidence habituelle.

8-2-Paramètres biologiques

Parasitémie

Taux d'hémoglobine

Taux d'hématocrite

Haplotypes de G6PD

Types d'hémoglobine

Glycémie

8-2-1-Technique de détermination de la parasitémie : goutte épaisse

Principe

La goutte épaisse est une technique de concentration des parasites sur lame à partir d'une goutte de sang capillaire. Le principe repose sur la réalisation d'un étalement mince de goutte de sang circulaire de un cm de diamètre au centre d'une lame porte-objet.

Matériels et réactifs pour la goutte épaisse

- Tabouret
- Coton hydrophile
- Alcool à 70°
- Gants en polyvinyle
- Lames porte-objets
- Vaccinostyles
- Boîte de collection de l'OMS
- Crayon de papier
- Paires de ciseaux
- Scotch
- Colorant de Giemsa pur
- Comprimé tampon (Buffer tablet pH=7,2)
- Papier hygiénique
- Râtelier
- Bac de coloration
- Microscope optique binoculaire
- Huile d'immersion
- Compteur manuel, calculatrice

- Poubelles.
- Eprouvette graduée
- Source d'électricité

Mode opératoire

Prélèvement

- Prélever une goutte de sang capillaire, par une piqûre au doigt de préférence le 3^{ème} ou 4^{ème} doigt de la main gauche après désinfection à l'alcool à 70°.
- Essuyer la première goutte de sang à l'aide d'un tampon de coton sec puis déposer la seconde au milieu d'une lame portant le numéro du malade.
- A l'aide du coin d'une deuxième lame propre, étaler la goutte sur 1 cm de diamètre en tournant pendant quelques secondes.
- Laisser sécher les lames en les protégeant contre les mouches et la poussière.
- La goutte épaisse doit être transparente.

Coloration

La coloration des lames se faisait sur place au colorant de Giemsa dilué à 5% (c'est à dire 5 ml de Giemsa pur pour 95 ml d'eau distillée tamponnée) pendant 25-30 min. L'eau tamponnée était préparée en procédant à la dissolution de 1 comprimé tampon dans 1 litre d'eau distillée.

Au terme du temps de coloration, les lames étaient rincées à l'eau de robinet, puis séchées au four à micro-ondes.

Les gouttes épaisses séchées étaient immédiatement examinées et les résultats portés sur le registre de parasitologie puis sur les fiches cliniques de suivi.

Lecture

La lecture s'effectuait au microscope optique sur place à l'objectif 100 à

l'immersion.

A l'aide d'un compteur manuel, les parasites et les leucocytes étaient comptés. Ce comptage débutait dès l'observation d'un parasite dans le champ qui était visionné et finissait quand le nombre de leucocytes comptés atteignait 300. La charge parasitaire était exprimée en rapportant le nombre de parasites pour les 300 leucocytes à 7500 leucocytes. Nous avons considéré 7500 leucocytes comme étant la moyenne du nombre des leucocytes par mm^3 de sang chez un sujet normal.

Mode de calcul de la parasitémie

Soit P est la parasitémie par mm^3 de sang, X le nombre de parasites comptés et Y le nombre de leucocytes correspondant à X.

La parasitémie P est déterminée par la formule suivante :

$$P = (X / Y) \times 7500 \text{ parasites par } \text{mm}^3 \text{ de sang.}$$

8-2-2- Taux d'hémoglobine :

Dosage de l'hémoglobine à l'**Hemocue** :

Principe :

Il est basé sur la transformation de l'hémoglobine en azide-méthémoglobine dont l'absorption est mesurée aux longueurs d'ondes de 750 et 880 nm.

-Matériels et réactifs:

- Appareil hemocue

-Microcuvettes

-Vaccinostyles

-pile 1.5volts

-coton

-alcool 70 °C

Le méthémoglobine désoxycholate de sodium qui hémolyse les hématies

Le nitrite de sodium qui transforme l'hémoglobine en méthémoglobine.

L'azide de sodium qui en se liant à la méthémoglobine formera avec celle-ci de l'azide.

-Echantillon :

Le prélèvement se fait au doigt à l'aide d'une lancette stérile.

Mode opératoire :

Allumer l'hémocue en position « power on »

Tirer la porte cuvette en position d'insertion, vous entendez un déclic d'arrêt que vous ne devez pas dépasser.

Attendre l'affichage de READY dans l'écran de lecture.

Tester l'Hémocue avec la cuvette « contrôle »

Noter le résultat affiché et vérifier qu'il ne diffère pas du résultat attendu donné par le fabricant dans la notice d'accompagnement.

Doser les échantillons en procédant de la façon suivante :

*Remplir la micro cuvette de mesure en un seul temps.

*Placer la cuvette remplie sur la porte cuvette

*Pousser la porte micro cuvette dans la position de lecture.

*Noter enfin le résultat sur le cadran de lecture

Expression des résultats :

Les résultats sont directement affichés sur l'écran de lecture du photomètre en g/dl.

Les résultats seront portés sur la feuille de paillasse. `

NB : Garder le photomètre à l'abri de la poussière et des vibrations

Piquer assez profondément pour obtenir un écoulement de sang spontané

Essuyer la première goutte de sang

S'assurer que la goutte est suffisante pour remplir la micro cuvette.

Amener la pointe de la cuvette au centre de la goutte de sang.

Ne jamais rajouter de sang.

Repasser la micro cuvette « contrôle » après tous les 10 échantillons.

Changer les piles de l'appareil chaque deux ou trois jours.

8-2-3 Hématocrite

Il correspond au volume occupé par les globules rouges dans un volume de sang prélevé sur anticoagulant. Nous avons déterminé le pourcentage de l'hématocrite par la micro méthode.

Matériels et consommables

- Microtubule hépariné
- Un vaccinostyle.
- Coton hydrophile
- Tampon d'alcool à 70°
- Gants en polyvinyle
- Abaque
- Cire
- Centrifugeuse à hématocrite
- Crayon de papier

Principe

Le sang est placé dans un tube capillaire et centrifugé à grande vitesse (12000 tours/minute pendant 5 minutes).

On lit le résultat rendu en fraction de volume érythrocytaire grâce à la règlette abaque prévue à cet effet.

Mode opératoire

Désinfecter le doigt avec du coton imbibé d'alcool, essuyer avec du coton sec pour sécher, et piquer d'un coup sec puis presser le doigt.

Appliquer l'extrémité du microtubule contre la goutte de sang. Le sang pénètre dans le tube par capillarité, le laisser se remplir environ au trois quart.

Boucher, avec la cire molle, l'autre extrémité du tube capillaire, sur environ 2 mm.

Identifier les prélèvements sur chaque tube capillaire.

La lecture était effectuée en se référant sur l'abaque pour cela, déposer les différents tubes capillaires dans une des rainures du plateau de la centrifugeuse.

L'extrémité bouchée doit être sur le pourtour extérieur du plateau.

Centrifuger à grande vitesse (12000 tours /minute pendant 5 minutes).

Valeurs normales (pourcentage) retenues étaient :

Enfants (5 ans) : 38 – 44%

Nourrissons (3 mois) : 35 – 58%.

7-2-4- Technique de détermination de l'activité de la G6PD érythrocytaire

Matériels utilisés :

- tubes EDTA
- aiguilles vacutainers®
- Épicrâniens
- Garrot
- Alcool
- Coton
- Tubes secs non stériles
- Micropipettes (P1000 et P 200)
- Embouts pour les 2 pipettes
- Aspirateur électrique
- Pipettes (5ml et 25ml)
- Trizma® buffer
- Huile végétale
- Eau distillée
- Kits de dosage de l'activité G6PD(ref 400-10)
- Kits de contrôles pour G6PD (Normal, Intermédiaire, Déficitaire)

Mode Opérateur :

Il est effectué en trois phases :

Préparation des réactifs

Le substrat :

Ajouter 5ml de Trizma® buffer dans un flacon de Kit 400-10.

Agiter doucement et laisser au repos pendant 5mn.

Les contrôles :

Ajouter 0,5 ml d'eau distillée dans chaque flacon de contrôle (normal, intermédiaire et déficitaire)

Agiter doucement et laisser au repos pendant 5mn.

Préparation de l'hémolysat

Les contrôles :

Numéroter 2 tubes secs non stériles par contrôle

NB : un tube pour l'hémolysat et un autre pour la réaction proprement dite

Verser 2,5ml d'eau distillée dans chacun de ces tubes

Ajouter 50µl de chacun des contrôles dans les tubes correspondants.

Agiter et laisser au repos pendant quelques minutes.

Les échantillons

Consistent à numéroter 2 tubes secs par échantillon (1 pour l'hémolysat, 1 pour la réaction proprement dite)

Verser 2,5ml d'eau distillée dans chaque tube puis ajouter 50µl de sang (Lorsque la personne est anémiée nous ajoutons 75 ou 100µl.)

Agiter et laisser au repos pendant quelques minutes.

Réaction proprement dite :

Rappelons qu'ici il n'y a pas de différence de manipulation entre le contrôle et les échantillons.

Dans les tubes numérotés pour la réaction :

Verser 250 ou 500µl de substrat dans chaque tube

Ajouter le volume double de l'hémolysat préparé

Agiter puis ajouter l'huile végétale pour le protéger contre l'air et les

éléments ambiants.

Laisser au repos pendant une heure de temps puis passer à la lecture des résultats.

La lecture se fait en fonction des contrôles

Le contrôle normal donne une coloration rose, l'intermédiaire donne une coloration rose bleue et le déficitaire donne une coloration bleu foncée.

8-2-5-Electrophorèse de l'hémoglobine :

Nous avons réalisé l'électrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin sur le terrain à Kangaba et Kela.

Principe :

Il consiste à faire migrer un hémolysât sur une plaque d'acétate de cellulose à PH alcalin.

Les différentes fractions de l'hémoglobine migrent plus ou moins rapidement en fonction de leur poids moléculaire et de leur charge électrique.

Réactifs et matériels

- Tampon tris EDTA borate (1 sachet dans un 1 litre d'eau distillée) ou le tampon super hème ;
- Plaque d'acétate de cellulose (titan III[®]H laboratoire Helena) ;
- Réactif hémolysant ;
- Cuves à électrophorèse Helena ;
- Cuve de coloration (quantité : 4)
- Cuve pour transparisation (quantité : 2)
- Cuve pour trempage des plaques d'acetate de cellulose TitanIII[®]H (quantité : 1)
- Papier pour ponts électriques (disponible Wiks Helena) ;
- Papiers buvards pour éliminer l'excès de tampon (Titan blotter Pasds-Helena) ;
- Applicateur ;

- Plaque d'alignement ;
- Micro pipette de 50 µl pour micro dispenseur (Helena) ;
- Micro dispenseur ;
- Acide acétique dilué à 5% ;
- Méthanol ;
- Rouge ponceau ;
- Clear aid (argent clarifiant) ;
- Contrôle AFSC (Helena) ;
- Eau distillée ;
- Bacs plastiques pour coloration et décoloration ;
- Râtelier ;
- Intégrateur (SCAN) pour densitométrie ;
- Centrifugeuse ;
- Groupe électrogène ;
- Four électrique pour séchage des plaques ;

Mode opératoire

-Préparation de la plaque acétate de cellulose (titan III[®]H)

Pour ce faire remplir le bac de migration avec le tampon supera-hème. Sur la face lisse de la plaque, indiquer avec un marqueur le sens de la migration.

S'assurer que le nombre de plaques est suffisant pour les échantillons à traiter.

Ensuite déposer les plaques sur le râtelier et plonger les doucement dans les bacs pour permettre au tampon supera-hème de monter la plaque par capillarité pendant 30 min.

-Préparation de la chambre de migration

Verser 100 ml de tampon dans chacun des deux compartiments de la chambre.

Appliquer les bandes de papier buvard sur le bord interne des

compartiments contenant le tampon pour former un pont sur le bord des compartiments vides en évitant de former des bulles d'air entre la paroi et la bande humide. Prendre soin de recouvrir le bac, éviter l'évaporation du tampon.

- Préparation de l'échantillon, application et coloration :

Procéder à une hémolyse du sang au 10^{ème}, c'est à dire 5 µl de sang pour 45 µl de la solution hémolysante.

Laisser le mélange au repos pendant 3 mn, et procéder à un dépôt de 5 µl dans chacun des puits de la plaque, à raison de 7 dépôts. Compléter à 8, par le témoin qui renferme les 4 principaux types d'hémoglobine : A, F, S et C.

En fin, on fait le dépôt sur la partie cellulosique de la plaque de Titan III[®]H à l'aide de l'applicateur après avoir au préalable éliminé l'excès de supra-hème avec un papier buvard.

Mettre la plaque dans la chambre de migration, la face recouverte de cellulose dirigée vers le bas. Appliquer une différence de potentielle de 350 volts à partir d'un générateur après avoir déposé quelques lames sur la partie matte de la plaque pour bien maintenir l'adhésion entre la phase cellulosique ou a lieu le dépôt et le papier pont correctement placé. Ainsi les différents types d'hémoglobines migrent à des zones qui leurs sont propres en fonction de leur mobilité électrophorétique. On obtient à la fin de la migration (25 mn) les différents types d'hémoglobines dont la position est précisé par rapport aux quatre principaux types : A, F, S et C du témoin. Après coloration des plaques avec du rouge Ponceau (6 mn) et une série de 3 décolorations avec de l'Acetic Acid Glacial dilué à 5% pendant 4 mn ; la lecture est reprise après transparisation (Acetic Acid Glacial : 30 ml + Methyl Alcohol Anhydrous : 70 ml + Clear Aid : 4 ml) Pendant 10 mn, déshydratation avec du méthanol pendant 2 mn. Les plaques seront ensuite déposées dans un four à 60°C pour l'assèchement

pendant 15 mn.

Résultats et interprétation :

L'évaluation qualitative était visuelle, la plaque de migration était inspectée et on déterminait la présence ou non d'hémoglobine anormale.

L' HbS migre à mi-distance entre l'HbA₂ et l'HbA₁.

Les hémoglobines D, G, et P présentent la même migration électrophorétique que l'HbS. Le test d'Emmel permettait de confirmer la présence de HbS.

Les HbC et HbE migrent comme l'HbS.

L' HbF migre entre l'HbS et HbA₁.

L'évaluation quantitative faite par le densitomètre intégrateur qui donne le pourcentage des différentes fractions d'hémoglobine n'a pas été faite.

8-2-6-Test d'Emmel :

Matériels :

Meta-bisulfite de sodium 2%

Papiers buvards

Lames porte objet

Lamelles

Vernis à ongles

Tube sec

Crayon de papier

Mode opératoire

Le Principe est basé sur la privation des hématies en O₂ et l'apparition d'hématies falciformées au microscope optique. Sur une lame on mélange une goutte de sang avec une goutte de réactif au Meta bisulfite de sodium (qui retire aux hématies leur oxygène entraînant cette falciformation en présence de l'hémoglobine S), et on la recouvre d'une lamelle. Le pourtour de la lamelle sera scellé avec le vernis à ongles.

Après 30 mn de repos sur la paillasse on procède à la lecture

microscopique à l'objectif 10X ou 40X sans immersion.

Résultats :

Les hématies contenant l'HbS prennent une forme de faucille. C'est la falciformation.

9- Considérations éthiques

Une grande attention a été portée sur le développement des bonnes relations avec la population de Kangaba et Kela.

Un consentement individuel ou assentiment parental éclairé a été soumis aux participants à l'étude avec toutes les informations (bénéfices, risques et inconvénients) liées à la participation à l'étude. Les sujets inclus dans l'étude ont bénéficié d'un traitement antipaludique gratuit durant toute la saison de transmission. Le protocole a été soumis aux comités d'éthique de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'OdontoStomatologie du Mali et du NIH des USA, pour approbation et suivi.

10- Gestion et analyse des données

Les données ont été enregistrées sur des fiches standards, saisies sur Microsoft Excel et analysées avec les logiciels Epi-info version 6.0 et SPSS version 11.0. Le test de khi carré, et de Yate's ont été utilisés pour la comparaison des proportions tandis que le test exact de Fisher a été utilisé pour les petits échantillons. L'odds ratio a permis de rechercher les facteurs de risque ou de protection.

V-RESULTATS

1-Resultats descriptifs

1.1-Caractères socio-démographiques

Tableau I : répartition des sujets étudiés en fonction du sexe.

Sexe	Effectifs	Fréquence %
Masculin	705	49,9
Féminin	707	50,1
Total	1412	100

Il y avait autant de sujets de sexe féminin que de sexe masculin (sex-ratio= 1)

Tableau II : répartition des sujets étudiés par ethnie

Ethnies	Effectifs	Fréquence %
Malinké	1140	80,7
Peul	90	6,4
Autres	182	12,9
Total	1412	100

Les malinké étaient majoritaires et représentaient 80,7 % dans la population étudiée, suivi des peuls (6,4 %).

Les autres ethnies (Bambara, Dogon, Maure, Sarakolé, Senoufo, Somono, Sonrhaï) représentaient 12,9 %.

1.2- Caractéristiques hématologiques et cliniques de la population d'étude.

Tableau III : répartition des sujets étudiés en fonction du type d'hémoglobine

Type d'hémoglobine	Effectif	Fréquence %
AA	1187	84,07 %
AC	86	6,09 %
AS	135	9,56 %
CC	1	0,07 %
SC	1	0,07 %
SS	2	0,14 %
Total	1412	100 %

Le phénotype AA était majoritaire dans notre population d'étude avec une prévalence de 84,07 %. Les hétérozygotes AS représentaient (9,56 %). Nous avons observé 1 cas d'homozygote CC, d'hétérozygote SC et 2 cas d'homozygote SS dans notre échantillon.

Tableau IV : distribution des types d'hémoglobine en fonction de l'ethnie

Ethnie	Types d'hémoglobines						Total
	AA	AC	AS	CC	SC	SS	

Malinké	N=	943	75	119	0	1	2	1140
	% =	83	6,5	10,4	0,0	0,0	0,1	100
Peul	N=	82	2	6	0	0	0	90
	% =	91,1	2,2	6,7	0,0	0,0	0,0	100
Autres	N=	162	9	10	1	0	0	182
	% =	89	5	5,5	0,5	0,0	0,0	100
Total	N=	1187	86	135	1	1	2	1412
	% =	84,07	6,09	9,56	0,07	0,07	0,14	100

La prévalence de l'HbS (AS+SS) était plus élevée que celle de l'HbC chez les Malinké. La prévalence de l'HbS comme celle de l'HbC était plus élevée chez les Malinké que chez les autres groupes ethniques.

Tableau V : répartition des sujets étudiés en fonction des formes cliniques du paludisme.

Formes cliniques	Effectifs	Fréquence %
Paludisme grave	230	16.3
Paludisme simple	1182	83.7
Total	1412	100

Nous avons enregistré 230 cas de paludisme grave soit 16,3 %.

Tableau VI : répartition des sujets étudiés en fonction des formes cliniques du paludisme et par ethnies

Ethnies	Paludisme Grave	Paludisme simple	Total
Malinké	182(16 %)	958(84 %)	1140(100 %)
Autres	48(17,7 %)	224(82,3 %)	272(100 %)
Total	230(16,3 %)	1182(83,7 %)	1412(100 %)

Nous avons enregistré 182 cas de paludisme grave soit 16 % chez les Malinké contre 17,7 % chez les autres groupes ethniques.

Tableau VII : fréquence des critères de gravité chez les sujets atteints du paludisme grave et compliqué chez les Malinké.

Critères de gravité	Effectifs	Fréquence %
Convulsions	96	52,7
Ictère	64	35,2
Trouble de conscience	47	25,8
Prostration	44	24,2
Détresse respiratoire	30	16,5
Anémie sévère	28	15,4
Coma	20	11
Hémoglobinurie	16	8,8
Hypoglycémie	14	7,7
Choc	7	3,8
Hyperparasitémie	2	1,1

Plusieurs critères peuvent être retrouvés chez un même patient. Parmi les critères de gravité de paludisme retenus chez nos sujets, la convulsion était la plus observée avec 52,7 % suivie de l'ictère (35,2 %), du trouble de la conscience (25,8 %) et de la prostration (24,2 %). L'hyperparasitémie (>500.000 Tf/mm³) n'a été observée que chez deux (2) sujets soit 1,1 %.

Tableau VIII : fréquence de l'anémie dans la population étudiée

Sujet	Effectifs	Fréquence %
Anémié	1180	83,6
Non anémié	232	16,4
Total	1412	100%

La prévalence de l'anémie dans notre échantillon était de 83,6 %.

Tableau IX : fréquence du déficit en G6PD dans la population étudiée

Sujet	Effectifs	Fréquence %
Déficit total	89	6,3
Déficit partiel	56	4
Normal	1267	89,7
Total	1412	100 %

La prévalence du déficit total en G6PD dans notre échantillon était de 6,3 %.

2-Résultats analytiques

2.1 Distribution des formes cliniques et du types d'Hb selon les groupes ethniques

Tableau X : distribution des formes cliniques selon l'ethnie

Formes cliniques	Malinké	Peul	Autres	Total
Paludisme N=	182	14	34	230
Grave %=	16	15,6	18,7	

Paludisme	N=	958	76	148	1182
Simple	%=	84	84,4	81,3	
Total	N=	1140	90	182	1412
	%=	100	100	100	

La distribution des formes cliniques ne montre pas de différence liée à l'ethnie.

Tableau XI : fréquence des formes cliniques du paludisme en fonction du type d'hémoglobine chez les Malinké.

Type Hb	Paludisme grave	Paludisme simple	Total
AA	156 (16,5 %)	787 (83,5 %)	943 (100 %)
AC	16 (21,3 %)	59 (78,7 %)	75 (100 %)
AS	10 (8,4 %)	109 (91,6 %)	119 (100 %)
SC	0 (0 %)	1 (100 %)	1 (100 %)
SS	0 (0 %)	2 (100 %)	2 (100 %)
Total	182 (16 %)	958 (84 %)	1140 (100 %)

Aucun cas de forme SS ou SC n'a été observée parmi les sujets vus pour un paludisme grave et compliqué.

Tableau XII : fréquence du paludisme grave en fonction du type d'hémoglobine chez les Malinké.

Types Hb	Paludisme grave		Total
	+	-	
Gène S	10	111	121
(AS+SS)	(8 %)	(92 %)	(100 %)
Gène AA	156	787	943
	(16,5 %)	(83,5 %)	(100 %)
Gène C	16	59	75
(AC)	(21,3%)	(78,7%)	(100%)
Total	182	957	1139
	(16,0 %)	(84,0%)	(100 %)

Huit pour cent (8 %) des sujets porteurs du gène S (AS+SS) ont développé le paludisme grave contre 16,5 % des sujets normaux (AA) [$\chi^2= 4,97$, $p= 0,025$, odds ratio = 0,45 (0,22 <OR< 0,92), l'OR à 95 % selon cornfield].

Le paludisme grave était moins fréquemment observé chez les sujets qui avaient un gène S que ceux qui étaient hétérozygotes pour le gène C (AC) [$\chi^2= 6,92$; $P= 0,008$; OR = 0,30 (0,12 <OR< 0,76), l'IC à 95 % selon cornfield].

Tableau XIII : phénotype hémoglobinique et critères de gravité chez les sujets Malinké atteints de paludisme grave et compliqué.

Critères de gravités	Types d'hémoglobines		
	P	AC	AS
	AA	AC	AS

Convulsions	84	6	6
P		0,955	0,194
Ictère	57	5	2
P		0,800	0,075
Trouble de conscience	38	5	4
P		0,238	1,000
Prostration	40	3	1
P		1,000	0,076
Détresse respiratoire	26	3	1
P		0,467	0,352
Anémie sévère	25	3	0
P		0,454	0,102
Coma	17	0	3
P		0,629	0,489
Hémoglobinurie	13	1	2
P		1,000	0,684
Hypoglycémie	13	1	0
P		1,000	0,382
Choc	5	1	1
P		0,368	0,516
Hyperparasitémie	2	0	0
P		1,000	1,000

Aucun sujet AS n'a développé d'anémie sévère, d'hyperparasitémie ou d'hypoglycémie. Parmi les critères de gravité observés chez les sujets AS, la convulsion est la plus représentée suivie des troubles de conscience et du coma. Aucune relation significative n'a été observée entre le portage de l'HbS et l'anémie sévère palustre ($p=0,102$). Il en est de même pour le neuropaludisme ($P=0,489$).

2.2 Fréquence de l'anémie selon les formes cliniques (ou le type d'Hb)

Tableau XIV : fréquence de l'anémie en fonction du phénotype hémoglobinique

Type Hb	Anémie+	Anémie-	Total
AA	996 (84 %)	191 (16 %)	1187 (100 %)
AC	66 (76,7 %)	20 (23,3 %)	86 (100%)
AS	114 (84,4 %)	21 (15,6 %)	135 (100 %)
CC	1 (100 %)	0 (0 %)	1 (100 %)
SC	1 (100 %)	0 (0 %)	1 (100 %)
SS	2 (100 %)	0 (0 %)	2 (100 %)
Total	1180 (83,6 %)	232 (16,4 %)	1412(100 %)

Il n'a pas été observé de relation statistiquement significative entre le portage de l'HbS (AS+SS) et l'anémie ($p = 0,91$, $\text{Khi}^2=0,01$).

Tableau XV : fréquence de l'anémie en fonction des formes cliniques

Formes cliniques	Anémie +	Anémie -	Total
Paludisme grave	220 (95,7 %)	10 (4,3%)	230 (100%)
Paludisme simple	960 (81,2 %)	222 (18,8 %)	1182 (100%)
Total	1180 (83,6 %)	232 (16,4 %)	1412 (100%)

Quatre vingt quinze virgule sept pour cent (95,7 %) des cas de paludisme grave étaient associés à une anémie contre 81,2 % de cas de paludisme simple ($\chi^2 = 28,17, p < 10^{-6}$)

2.3 Association parasitémie et type d'Hb

Tableau XVI : moyenne géométrique de la parasitémie en fonction du type Hb

Formes cliniques	Type Hb	Moyenne de la parasitémie à <i>Pf</i>
Paludisme Grave	AA	4,4915 ± 0,437 (n = 156)
	AC	4,3183 ± 0,567 (n = 16)
	AS	4,1872 ± 1,234 (n = 10)
Paludisme	AA	3,9030 ± 0,559 (n = 787)
	AC	3,9989 ± 0,546 (n = 59)

Simple	SC	4,3359 ± 0,000 (n =1)
	Gène S (AS+SS)	3,2709± 0,318 (n = 111)

En contexte de paludisme simple la parasitémie moyenne était plus élevée chez les sujets porteurs de l'HbAA que chez les sujets porteurs du gène S (AS+SS) ($p < 10^{-6}$). Dans le contexte du paludisme grave cette différence n'était pas significative ($p = 0,3788$)

Tableau XVII : association entre phénotype hémoglobinique et densité parasitaire chez les sujets Malinké atteints de paludisme grave et compliqué.

Type Hb	Parasitémie	Parasitémie	total
	≤ 100000	>100000	
AA	122 (78,2 %)	34 (21,8 %)	156 (100%)
AC	12 (75 %)	4 (25 %)	16 (100%)
AS	8 (80 %)	2 (20 %)	10 (100%)
Total	142 (78 %)	40 (22 %)	182 (100%)

La forte densité parasitaire (> 100000 pf/ μ l) a été observée chez 20 % de sujets AS contre 21,8 % des sujets normaux AA. Cette différence n'était pas significative (p de Fisher unilatéral = 0,626 et p de Fisher bilatéral = 1,00).

VI-COMMENTAIRES ET DISCUSSION

1. Questions méthodologiques

Ce travail s'inscrivait dans le cadre d'une étude multidisciplinaire « cas-témoins » visant à déterminer les facteurs génétiques de protection contre les formes de paludisme grave et compliqué dû au *P falciparum* dans la population de Kangaba et Kéla. Il testait l'hypothèse selon laquelle l'hémoglobine S protège contre les formes graves et compliquées de paludisme à *P falciparum*. L'étude a inclus tous les sujets qui se sont présentés avec une symptomatologie clinique évocatrice de paludisme confirmée par une goutte épaisse positive et pour lesquels un consentement éclairé écrit a été obtenu. Ce mode de recrutement ne nous permettait pas de donner la fréquence de l'hémoglobine S dans la population globale de Kanganba et Kéla.

La détermination des types d'hémoglobine a été effectuée par migration électrophorétique à pH alcalin. Les mutants anormaux ont été confirmés par

HLPC aux USA (LMVR= Laboratory of Malaria and Vector Research). Cette approche méthodologique, méconnaît les hémoglobinopathies de synthèse (alpha et bêta thalassémie).

Cette étude ne nous permet pas d'aborder enfin la question de la susceptibilité à l'infection palustre dans la mesure où nous ne disposons pas de dénominateur pour évaluer ce paramètre.

2.La distribution des formes cliniques de paludisme.

L'étude de la distribution des phénotypes cliniques de paludisme dans la population a permis d'enregistrer 16,3% des formes graves et compliqués de paludisme parmi lesquelles, les états de convulsion étaient plus nombreux (52,7%). L'anémie et la détresse respiratoire étaient observées avec des fréquences égales. Ce profil de distribution est celui observé par les études antérieures conduites dans la même zone depuis 1998 [27-29].

La distribution des formes cliniques graves et compliquées n'était pas modifiée par l'appartenance à un groupe ethnique donné.

3.La prévalence de l'hémoglobine S dans la population étudiée

Ce travail a permis de constater une prévalence de 9,56% de sujets hétérozygotes AS dans la population des sujets impaludés de 3 mois à 5 ans en général et de 10,4% dans la population de malades appartenant à l'ethnie malinké. Ces taux de prévalence ne diffèrent pas de ceux observés à l'issue de l'enquête de masse conduite dans trois cercles de la région de Kayes en 1984 [30]. Ils sont en revanche plus élevés que ceux observés par Agarwal et coll. à Bandiagara à propos d'une étude conduite selon la même méthodologie que la notre [18]. Contrairement à ces auteurs qui se sont intéressés à l'ethnie Dogon, cette étude montre que le gène de l'hémoglobine S est plus prévalent que celui de l'hémoglobine C. Ce constat mérite d'être mieux exploré à la lumière des données actuelles sur l'origine de l'ethnie Dogon [31]. La protection plus forte contre le paludisme grave observée pour le gène S que pour le gène C dans notre population d'étude pourrait être un facteur déterminant.

Que l'on considère la population générale ou seulement les sujets appartenant à l'ethnie malinké, on constate que le nombre de sujets homozygotes SS observés est largement inférieur à celui attendu (0,2% vs. 1%) si on appliquait la loi de Hardy Weinberg qui stipule que dans une population, la fréquence des sujets homozygotes pour un gène est égal au carré de la fréquence du gène à l'état hétérozygote. Ce constat pourrait faire discuter un rôle délétère du gène S à l'état homozygote dans cette population de sujets impaludés. Un constat similaire a été observé dans les trois cercles de Kayes étudiés en 1984 [30].

4.La relation entre le portage du gène de l'hémoglobine S et le risque de paludisme grave et sa signification

Les sujets homozygotes SS (2 cas) et hétérozygotes composites (1 cas) ont été recrutés dans le groupe des malades reconnus pour un paludisme simple. L'état d'hétérozygotie AS a été retrouvé moins significativement associé aux formes cliniques de paludisme grave et compliqué que les phénotypes AA et AC. L'étude de la parasitémie à *P falciparum* a permis en outre de constater des parasitémies moyennes significativement plus faibles chez les sujets porteurs du gène de l'hémoglobine S que chez ceux qui n'avaient pas la mutation S. Ces données permettent de conclure que l'état hétérozygote réduit le risque de survenue des formes graves et compliquées du paludisme à *P falciparum* dans la population étudiée. Doumbo et al [32], Guinet et al. [33] avaient trouvé cet effet de protection conféré par le gènes S à propos d'études conduites dans le service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel Touré de Bamako au Mali en 1992 et 1997. D'autres auteurs ont également trouvé cet effet de protection ailleurs : en Rodhésie en 1947 Beet et al [34], au Zaïre en 1958 Lambotte-Legrand et al [35],

en Ouganda en 1956 Rapper AB [36], au Gabon en 1992 Gendrel D et al [7] et au Cameroun en 1999 Le Hesran [8].

Si plusieurs études cliniques ont rapporté l'effet protecteur de l'hémoglobine S contre les formes graves du paludisme en zone d'endémie, peu d'études fondamentales existent pour expliquer le phénomène. Dans le contexte de notre étude, l'absence chez les hétérozygotes AS d'au moins deux complications qui sont de grosses pourvoyeuses de décès liés au paludisme à savoir : l'anémie sévère et l'hypoglycémie [37], mérite d'être soulignée et prise en compte dans les tentatives d'explication du phénomène observé. L'absence ou la grande rareté des hyperparasitémies $> 500000\text{Tf}/\mu\text{l}$ chez ces sujets pourrait être également contribuer à une évolution favorable des cas. La taille des effectifs recrutés ici est trop faible pour permettre des études d'association entre ces complications et le risque de décès chez les sujets hétérozygotes AS. Olumese et al. n'ont pas trouvé de différence entre des enfants AS et AA au Nigeria en 1997 à propos des cas de paludisme cérébral [16].

VII-CONCLUSION & RECOMMANDATIONS

Notre étude conduite au près de 1412 volontaires âgés de 3 mois à 5 ans a permis de constater une prévalence de l'hétérozygotie AS égale à 9,7% dans la population générale et à 10,4% dans l'ethnie malinké. Ces résultats diffèrent de ceux rapportés par les études conduites dans une population de Dogons dont l'ancêtre est historiquement d'origine manding.

La prévalence observée pour les sujets homozygotes SS est faible, inférieure à la valeur théorique attendue selon la loi de Hardy Weinberg.

Nous n'avons pas observé de forme grave de paludisme chez les malades reconnus pour un syndrome drépanocytaire majeur (SS ou SC). L'état d'hétérozygotie AS a été retrouvée associée à un moindre risque de développer un paludisme grave et compliqué.

Ces résultats permettent de conclure :

- que les syndromes drépanocytaires majeurs sont associés à une létalité élevée dans cette population ;

- que l'hétérozygotie AS est un facteur de protection contre les formes graves et compliquées du paludisme à *P falciparum* chez l'enfant de 3 mois à 5 ans en zone malinké de Kangaba et Kéla ;
- que les différences entre les profils de distribution du gène de l'hémoglobine S en pays dogon et malinké mérite d'être explorées

Aussi, nous recommandons de :

- poursuivre ce travail par un recrutement plus important de cas permettant des études d'associations avec une puissance statistique forte pour répondre à la question d'une association significative ou non entre le risque de décès chez les sujets AS impaludés et la survenue d'une hypoglycémie, d'une anémie sévère ou d'une hyperparasitémie à *P falciparum*;
- conduire une étude sur la prévalence du gène S et des gènes d'alpha et de bêta thalassémie dans la population générale de Kangaba et Kéla ;
- conduire des études sur le rôle des autres polymorphismes génétiques (CR1, HLA, bande 3, glycophorine C...) pouvant être associés à une susceptibilité ou à un risque accru de développer un paludisme grave dans la population malinké de Kanagaba et Kéla ;
- développer au sein du MRTC les techniques de laboratoire pour la compréhension moléculaire et cellulaire du phénomène de protection assurée par l'état d'hétérozygotie AS.

VIII-REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] **GIROT R.** : Thalassémie, drépanocytose, Physiopathologie et diagnostic. Rev Prat 1999 ; 49 : 667-74.
- [2] **CABANNES R ET SANGARE A:** La thérapeutique de la crise drépanocytaire de l'enfant. Med Afr Noire, 1976, 23, 225-236.
- [3] **DIALLO D. A:** La drépanocytose au Mali en 2002. Mali médical 2002, Vol XVII, N^o02, P 37-43.
- [4] **ALLISON A.C:** Polymorphism and natural selection in human populations. Cold spring Harbor Symp. Quant Biol. 1964, 24, 137-149.
- [5] **HALDANE J.B.S:** The rate of mutation of human genes. Proc. VIII th intern congress on Genet and Bered. 1949, Suppl. 35, 267- 273.
- [6] **ALUOCH JR.** Higher resistance to *Plasmodium falciparum* infection in patients with homozygous sickle cell disease in western Kenya. Trop Med Int Health 1997 Jun; 2 (6): 568-71.

- [7] **GENDREL D, KOMBILA M, NARDOU M, et AL.** Paludisme et Hémoglobine S : interactions chez l'enfant africain. Press Méd 1992; 21: 887-90.
- [8] **LE HESRAN JY, PERSONNE I, PERSONNE P, et AL.** Longitudinal study of *Plasmodium falciparum* infection and immune responses in infants with or without the sickle cell trait. Int J Epidemiol 1999 ; 28 : 793-98.
- [9] **ROBERTS DJ, WILLIAMS TN.:** Haemoglobinopathies and resistance to malaria. Redox Rep.2003; 8(5): 304
- [10] **HEBBEL RP. :** Sickle hemoglobin instability: a mechanism for malarial protection. Redox Rep. 2003; 8(5): 238-40.
- [11] **AYIK, TURRINIF, PIGA A, ARESE P.:** Enhanced phagocytosis of ring parasitized mutant erythrocytes: a common mechanism that may explain protection against falciparum malaria in Sickle trait and beta thalassemia trait. Blood. 2004 NOV15; 104(10): 3364-71.
- [12] **WILLIAMS TN, MWANGI TW, WAMBUA S, ALEXANDER ND, KORTOK M, SNOW RW, MARSH K.:** Sickle cell trait and the risk of *Plasmodium falciparum* malaria and other childhood diseases. J Infect Dis. 2005 Jul 1; 192(1): 178-86.
- [13] **CHIPPAUX J P, MASSOUGBODJI A; CASTEL J, AKOGBETO M, ZOHOUM I, ZOHUM T.:** *P. falciparum* or *P.malariae* parasitemia in carriers of sickle cell trait in various benin biotypes. REV epidemiol sante publique 1992 ; 40(4) : 246-51.
- [14] **BEAUVAIS P., BEAUVAIS B.:** Drépanocytose et Paludisme: données actuelles.Arch. Franç. Pédiat.1986, 43, 279-282.
- [15] **BERGAL S., NORES J., PARAF F., FEIGNOT J.F. :** le Paludisme. QCM QROC et observations 14.Editon Spécia 1986.
- [16] **OLUMESE PE, ADEYEMO AA, ADEYEMO OG, GBADESIN RA, SODEINDE O, WALKER O.:** The clinical manifestations of cerebral malaria

a mong Nigeria children with the sickle cell trait. *Ann Trop Paediatric*.1997 Jun; 17(2): 141-5.

[17] **FOY H, BRASS W, MOORE RA, TIMMS GL, KONDI A, OLUOCH T.:** Two surveys to investigate to relation of sickle cell and malaria. *Brit.Med.J*. 1955, 11,1116.

[18] **AGARWAL A, GUINDO A, CISSOKO Y, TAYLOR JG, COULIBALY D, KONE A, KAYENTAO K, et AL.:** Hemoglobin C associated with protection from severe malaria in Dogon of Mali, a West African population with a low prevalence of hemoglobin S. *Blood*, 1 October 2000. Volume 96, Number 7: 2358-63.

[19] **BACHIR D.** Histoire naturelle de la drépanocytose. *Impact Médecine*, 15 septembre 1995-les dossiers du praticien N° 291. .

[20] **ELLION J, LABIE D.** Drépanocytose et adhésion cellulaire. *Hématologie* 1998; 4: 201-211.

[21] **ROSSE WF, MOHANDAS N, PETZ LD, STEINBERG MH.** New views of sickle cell disease pathophysiology and treatment. *Hematology* 2000, Am Soc Hematol education program Book, pp2-17.

[22] **SOLOVEY A, LIN YI, BROWNE P, CHOONG S, WAYNER E, HEBBEL RP.** Circulating activated endothelial cells in sickle cell anemia. *N Engl J Med* 1997; 337: 1584-1590.

[23] **THERESE DURIEZ, LUCIEN DUJARDIN, DANIEL AFCHAIN.** Paludisme copyright: Laboratoire de parasitologie Faculté de pharmacie BP 83 59006 Lille cedex. Dernière mise à jour : 02/07/02, 12 : 55:54.

[24] **WHO.** Severe and complicated malaria. *Trans R Soc Med Hyg* 2000; 94 (Suppl 1): 1-94.

[25] **J. E. TOUZE, P. PAULE, T FUSAI.** Concepts physiopathologique du paludisme grave dans Paludisme grave de Jean-marie Saissy. Arnette 2001.

[26] **DOUKI J B. L., TRAORE B., FABIO T.M. COSTA, THIERRY F., POUVELLE B., STERKERS Y, ARTUR SCHERF AND JURG GYSIN.**

Sequestration of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocyte to chondroitin sulfate A, a receptor for maternal malaria; monoclonal antibodies against the native parasite ligand reveal pan-reactive epitopes in placental isolates. *Blood*. 2002, 100: 1478-83.

[27] **MOUNKORO M.** : Evaluation de l'effet protecteur de l'hémoglobine C contre le Paludisme grave et compliqué chez les Malinké de Kangaba et Kela, (Mali). Thèse de pharmacie, Bamako, 2003 N° 51.

[28] **TRAORE AWA** : Déficit en G6PD érythrocytaire : fréquence, relation avec le Paludisme dans population agée de 3 mois à 20 ans des Villages de Kangaba et Kéla (Mali). Thèse Ph, Bamako, 2003, N°54.

[29] **OUATTARA AMED**: Diversité allotypique et morbidité palustre à *plasmodium falciparum* à Bancoumana . Thèse Ph, Bamako, 1998, N° 98-P-15.

[30] **ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE**.Etat sanitaire des cercles de Kénieba, Bafoulabe, Kita (Région de Kayes, République du Mali). Rapport final, janvier 1984, 376p.

[31] **D. DIALLO, A. K. TRAORE, M. BABY, A. AG RHALY, G. BELLIS, A. CHAVENTRE**. Hemoglobinopathies C and S in the Dogons. *Nouv Rev Hématol*, 1993 ; 35 : 551 – 4.

[32] **DOUMBO O, TOURE A, COULYBALY B, KOITA O, TRAORE B, DOLO A, DIALLO M, DIALLO AN, QUILICI M**. Incidence of malaria and S hemoglobinopathy in the pediatric hospital milieu in Bamako, Mali.*Med Trop*. 1992; 52: 169-74.

[33] **F GUINET, D DIALLO, D MINTA, A DICKO, M S SISSOKO, M M KEITA, Th E WELLEMS, O DOUMBO**. A comparison of the incidence of severe malaria in Malian children with normal and C-trait hemoglobin profiles, *Acta Tropica*, 1997 ; 68 : 175 – 82

[34] **BEET E.**: sickle-cell disease in the Balovale district of Northern Rhodesia. *East Afr. Med. J.* 1947, 24, 212-222.

[35] **LAMBOTTE-LEGRAND J., LAMBOTTE-LEGRAND C.** Notes complémentaires sur la drépanocytose:1.Sicklémie et malaria. Ann. Soc. Belge Med. Trop. 1958, 38, 45-43.

[36] **RAPPER A.B.:** Sickling in relation to morbidity from malaria and other diseases; Brit. Med. J. 1956, 1, 965.

[37] **WEATHERALL DJ, MILLER LH, BARUCH DI, MARSH K, DOUMBO OK, CASALS-PASCUAL C, ROBERTS DJ.** Malaria and the red cell. Hematology.2002;: 35-57.

FICHE SIGNALITIQUE

Nom: BATHILY

Prénom: TAMBO

Nationalité: Malienne

Titre: Hémoglobine S et paludisme grave dans une population âgée de 3 mois à 5 ans dans les villages de Kangaba et de Kéla (Mali) de juin 2001 à janvier 2005.

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

Secteur d'intérêt : Hématologie, Parasitologie, Santé Publique.

RESUME :

L'effet de protection conférée par le gène drépanocytaire S contre le paludisme grave pourrait dépendre de polymorphismes variables selon les ethnies. Nous avons évalué l'effet protecteur de l'hémoglobine S contre le paludisme grave et compliqué chez des volontaires âgés de 3 mois à 5 ans de deux villages malinké

du Mali. Notre étude était une étude « cas-témoins » non appariés conduite durant les saisons de forte transmission du paludisme des années 2001 à 2005. Les cas étaient des sujets atteints de paludisme grave et compliqué définis selon les critères de l'OMS publiés en 2000 soit 230 sujets. Les témoins correspondaient aux sujets atteints de paludisme simple soit 1182 cas. Parmi les 1412 cas sujets étudiés, 50,1% appartenaient au sexe féminin contre 49,9% pour le sexe masculin, 80,7% appartenaient à l'ethnie malinké. Les phénotypes cliniques de paludisme grave les plus fréquemment observés ont été les convulsions (52,7%) suivis de l'ictère (35,2%), le trouble de la conscience (25,8%) et la prostration (24,2%). La prévalence de l'hémoglobine S dans la population était de 9,7% pour l'ensemble de la population d'étude et de 10,5% dans l'ethnie malinké. Le portage du gène S à l'état hétérozygote AS était associé à une réduction significative du risque de paludisme grave et compliqué [$\chi^2=4,97$, $p=0,02$, OR=0,45 (0,22<IC<0,92)]. La prévalence des sujets homozygotes SS était plus faible que celle attendue. Nous n'avons pas trouvé de cas de paludisme grave chez les sujets homozygotes SS ou hétérozygotes SC. La parasitémie moyenne était plus faible chez les sujets hétérozygotes AS que chez les sujets normaux AA ($p<10^{-6}$).

Nous concluons que l'état homozygote a un caractère létale dans la population étudiée mais que l'hétérozygote AS réduit significativement le risque de développer un paludisme grave et compliqué dans cette population.

Mots clés : paludisme grave, hémoglobine S, risque, ethnie

SERMENT HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'HIPPOCRATE, je promets et jure, au nom de l'être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai des soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront ce qui se passe, ma langue taira les secrets qui me sont confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que les considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leur père.

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.