

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

Dédicaces

AU BON DIEU ; le bon, le miséricordieux, toutes les louanges à toi, le tout puissant. Je te rends grâce de m'avoir donné la vie, la santé et la force de mener à bien ce travail.

Je te demande, par le nom de ton fils unique et bien aimé Jésus Christ, de me permettre jusqu'à la fin de ma vie de te servir, t'adorer et n'effectuer que des œuvres positives et constructives.

A mon père, David Guindo : les mots me manquent en ce jour solennel. Cher père tu as consenti d'énormes sacrifices pour la réussite de mes études. Ta simplicité, ton engagement et ton courage restent toujours une inspiration pour moi. Ce travail est le couronnement de ta croyance, de tes prières, de tes bénédictions et de ton soutien constant. Que le tout puissant te protège et te donne longue vie.

A ma mère, Feu Elisabeth Guindo : les mots n'exprimeront pas assez ce que j'éprouve en ce jour. Ton dévouement, ta modestie, ton amour, tes conseils font de toi une mère exemplaire. Je ne regrette pas de nous avoir retiré mais je dis merci à Dieu de nous avoir donné une mère comme toi. Que ton âme repose en paix dans le royaume du Seigneur Jésus Christ. Amen

A mon oncle, Amagana Mathias Togo : ce jour solennel marque le signe de votre accompagnement durant toutes ses années. Vos prières, vos bénédictions et votre soutien n'ont jamais fait défauts. Que le Dieu tout puissant vous garde aussi longtemps que possible.

A ma tante, Christine Togo : votre soutien ne m'a jamais fait défaut. Vous vous êtes beaucoup sacrifiée pour moi. Ce travail est le témoignage de vos sacrifices

consentis dans ma vie. Que Dieu le clément vous accorde une longue vie pleine de santé.

Remerciements

A ma femme Lydie Guindo et ma fille bien aimée Romualde Sindjèrè : par vos relations prestigieuses vous avez toujours su m'éclairer le chemin de la vie souvent fait de nombreuses embuches. Je ne saurais vous rendre l'affection dont vous me couvrez. Que Dieu fortifie d'avantage notre union.

A mes frères et sœurs : Etienne Guindo, Nicolas Guindo, Luc Togo, David Togo, Cécile Guindo, Alice Togo, Simone Togo, Catherine Guindo, Odette Togo, Odile Guindo, Suzanne Togo, Germaine Togo

Votre soutien ne m'a jamais fait défaut. Je ne saurais vous remercier assez. Que ce travail qui est aussi le votre puisse vous inspirer et vous inciter à aller de l'avant.

Aux malades de la drépanocytose, du paludisme et de l'injustice dans le monde.

A ma patrie ; le Mali qui a consenti d'immense sacrifice pour mon instruction et à fait de moi un des fils devant apporter sa part de pierre à son édification.

A tous les professeurs et chargés de cour à la FMPOS ; pour la qualité de l'enseignement dont nous avons bénéficié.

Au personnel du CRLD :

Pr Dapa Aly Diallo, Dr Aldiouma Guindo, Dr Boubacar Ali Toure, Dr Baba Fané, Dr Mody Coulibaly, Dr Mohamed Ag Baraika, Dr Mariam Koureissi, Dr Bakary Dembélé, Dr Kasoum Diarra, Dr Amadou Berthé...Permettez moi de vous remercier chers maitres, de la confiance que vous avez faites en nous acceptant à vos coté. Nous avons bénéficié de votre attention pendant tout le

temps qu'à durer ce travail. Trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

Aux équipes de laboratoire du CRLD : Moussa Diallo, Niagale Sangaré, Aminata Diallo, Oumar Tessougué, Fatoumata Coulibaly, Awa Yattara, Ibrahim Traore, Maoulouda Chabane, Dr Amadou Djibrilla...sans vous ce travail n'allait atteindre sa fin, vous n'aviez ménagé aucun effort pour sa réussite. Retrouver ici l'expression de notre profonde gratitude. Ce travail est le votre.

Aux secrétaires, chauffeurs et manœuvres...j'aimerais vous dire merci pour votre grande disponibilité et votre franche collaboration.

A mes camarades de thèse du CRLD : Oumar Tessougué, Sékou Kéné, Youssouf Traore, Fatoumata Coulibaly, Abdoul Kadri Issoufi, Mamadou Gory : amis et compagnons ce travail est le votre. En ce jour ma pensée va à Ousmane Konaté dont la disparation précoce nous a tous marqué. Dors en paix Ousmane.

Aux familles Togo, Guindo, Sagara, Poudiougou, Onron, Saye...à Pel, Idiely, Koro, Timetogoro, Sevaré, Mopti, Somadougou, Bamako. Merci pour tout, je vous réitère toute ma reconnaissance.

A mes cousins et cousines : je ne citerai pas de nom au risque d'en oublier certains. Je vous dis tout simplement merci pour la sympathie, ce travail est le votre.

A la mémoire de feux mes grands parents : j'aurai voulu partagé avec vous cet instant de bonheur, mais la volonté de Dieu est au dessus de tout. Dormez en paix.

Aux familles Togo Eloi, Togo Benoit, Guindo Gédéon...je ne saurais jamais vous rendre assez l'affection dont vous me couvrez. Recevez ici l'expression de toute ma reconnaissance.

A mes amis et frères : Abdoulaye Togo, Jean Saye, Aperou Guindo, Pascal Togo, Amos Kodio, Marcel Tembely, pour la bonne entente et le soutien constant au cours des bons moments passés ensemble. Les mots me manquent en ce jour pour vous manifester toute ma reconnaissance.

A tous mes camarades de 5ème promotion du numerus clausus : en souvenir de toutes ces années passées ensemble, je vous souhaite une brillante carrière.

Famille Sacko à Sekoubougouni : vous qui m'aviez soutenu lors des dures épreuves par une assistante sereine, une franche collaboration dans un esprit d'unité, merci pour tout.

Aux camardes de Sekoubougouni : les mots me manque pour vous remercier de vos différents efforts consacrés.

A la jeunesse Ginna Dogon de la FMPOS

A tous mes amis du Point G et de la FMPOS (la grande famille, le PARAIN)

A tous ceux, que je n'ai pas nommé, et qui de prêt ou de loin ont contribué à l'élaboration de ce travail, les mots me manque pour vous exprimer toute ma joie, ma reconnaissance et tout mon respect.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

Liste des sigles et abréviations

CNOU : Centre National des Œuvres Universitaires

CNTS : Centre National de Transfusion Sanguine

CRLD : Centre de Recherche et de Lutte contre la Drépanocytose

CVO : crise vaso-occlusive

FAPH : Faculté de Pharmacie

FM : Frottis Mince

FMOS : Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie

G E : Goutte Epaisse

G B: Globule Blanc

G R: Globule Rouge

HbS: Hémoglobine S

ODM: Observation de Mouvement

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONU : Organisation des Nations Unies

PF : *Plasmodium falciparum*

Pt: Plaquette

PTF: Partenaire Technique et Financier

S/B^o: S/beta^othalassemie

S/B⁺: S/beta⁺thalassemie

SDM: Syndrome drépanocytaire majeur

TDR: Test de Diagnostic Rapide

UA : Union Africaine

UNESCO : Organisation des Nations Unies pour l'Éducation, la Science et la
Culture

USTTB : Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de
Bamako

V G M: Volume Globulaire Moyen

SOMMAIRE

I-Introduction.....	1
---------------------	---

II-Objectif.....	6
III- Méthodologie.....	7
IV- Résultats.....	16
V-Commentaires et discussions.....	29
VI- Conclusion.....	33
VII-Recommandations.....	34
VIII-Références bibliographiques.....	35
Fiche signalétique.....	37
Résumé	
ANNEXE 1 Mode opératoire frottis mince.....	41
ANNEXE 2 Mode opératoire de la goutte épaisse.....	43
ANNEXE 3 Mode opératoire de l'hémogramme.....	45
ANNEXE 4 Mode opératoire TDR.....	47
ANNEXE 5 Schéma de la procédure de TDR.....	49

LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux

Tableau I : répartition des patients transfusés selon le sexe.....	16
Tableau II : répartition des patients transfusés selon la provenance.....	16
Tableau III : répartition des patients transfusés selon la classe d'âge.....	17
Tableau IV : répartition des patients transfusés dans le groupe sanguin du système ABO.....	18
Tableau V : répartition des patients transfusés selon le groupe Rh.....	19
Tableau VI : phénotype hémoglobinique des patients transfusés.....	19
Tableau VII : taux d'infection palustre dans la population drépanocytaire (GE réalisée avant la transfusion).....	20
Tableau VIII : taux d'infection des poches de sang par <i>Plasmodium falciparum</i> par la technique de la goutte épaisse.....	20
Tableau IX: taux de positivité de la GE chez les patients ayant reçus les 11 poches de sang infestés après transfusion.....	21
Tableau X : taux d'infection des poches de sang selon le test de diagnostic rapide.....	22
Tableau XI : motif d'hospitalisation des 16 patients qui avaient la GE positive.....	23
Tableau XII : test de concordance entre la GE et le TDR des poches de sang.....	24
Tableau XIII : fréquence de l'infection palustre en fonction du phénotype hémoglobinique.....	25

Tableau XIV : comparaison des paramètres de l'hémogramme selon le
phénotype hémoglobinique.....26

Tableau XV : comparaison de l'hémogramme des patients qui avaient la GE
négative à ceux qui avaient la GE positive.....28

INTRODUCTION

La drépanocytose est une hémoglobinopathie héréditaire à transmission autosomale récessive. Elle est caractérisée par une anomalie de structure de l'hémoglobine qui consiste en un remplacement de l'acide glutamique par la valine en position 6 sur la beta de la globine. Sur le plan moléculaire, cette hémoglobine anormale dénommée HbS, résulte de la mutation d'une base du 6^{ème} codon du gène beta. Le 6^{ème} codon normal du gène beta (GAG) est muté en un codon anormal (GTG). Cette hémoglobine anormale présente une solubilité faible à l'état désoxygéné. La drépanocytose est la maladie génétique la plus répandue dans le monde à cause des flux migratoires ; on la trouve dans tous les continents. Elle a été reconnue comme une priorité de santé publique dans le monde par plusieurs instances internationales comme l'UA, l'UNESCO, l'OMS et l'ONU de 2005 à 2008.

Les plus hautes fréquences de l'HbS se trouvent dans une zone géographique comprise entre le 10^{ème} parallèle nord et le 15^{ème} parallèle sud. Cette zone qui s'étend du sud du Sahara à la rivière Zambèze a été baptisé « ceinture sicklemique » par Lehmann [1]. De nos jours, près de 120 millions de personnes dans le monde seraient porteuses d'une mutation drépanocytaire. Au Mali, la fréquence des formes hétérozygotes et homozygotes est respectivement de 4 à 17% et 0 à 0, 4% pour les enquêtes de masse et 10,5 à 13% et 0 à 1% pour les enquêtes hospitalières selon les études réalisées de 1976 à 1985 [5]. Cette prévalence est variable d'une ethnie à une autre et d'une région à une autre [14]. La drépanocytose dans sa forme sévère est une maladie grave. Sous l'influence des facteurs favorisants comme la baisse de la pression partielle en oxygène le plus souvent causée par l'effort intense ou prolongé, la fièvre, les pneumopathies, l'altitude, l'atmosphère confinée, etc.), les globules se déforment et deviennent rigides (drépanocytes ou sickle cells), obstruent les petits vaisseaux, adhèrent à l'endothélium vasculaires et

provoquent des lésions des organes en aval qui ne reçoivent plus l'oxygène nécessaire. A terme, ces globules rouges rigides sont finalement détruits (hémolyse). Les principaux symptômes sont **l'anémie** (pâleur, fatigue, essoufflement), des **crises douloureuses effroyables** qui peuvent siéger en n'importe quel point du corps mais concernent souvent les os ou l'abdomen, une **sensibilité accrue à certaines infections** et à terme, des lésions d'organes comme le cœur, les poumons, les os, le cerveau et autres organes [15]

Selon le génotype et les facteurs environnementaux, le début des manifestations se situent dans la majorité des cas aux environs de 6^{ème} mois après la naissance.

La prise en charge du drépanocytaire a recours à un schéma thérapeutique bien connu 1) la prévention des facteurs déclenchant les crises, 2) le traitement préventif des complications, 3) l'administration des antalgiques et l'oxygénothérapie.

A côté de ce schéma thérapeutique, le traitement par l'hydroxyurée comme molécule ré-activatrice de la synthèse de l'Hb est apparu comme étant la molécule la mieux tolérée permettant la réduction du nombre de crises. La greffe de la moelle osseuse pratiquée depuis une vingtaine d'année chez les patients drépanocytaires reste le seul traitement curatif en ce jour. La thérapie génique (qui consiste à remplacer le gène défectueux par un gène normal) est actuellement en essais. Les diverses instances impliqués dans le contrôle des essais en thérapie génique (l'ANSM en France, le RAC aux Etats-Unis) commencent à adopter des cadres réglementaires permettant une protection optimale du patient et de son entourage et, on peut considérer aujourd'hui que la thérapie génique n'est <<pas plus risquée>> que les autres approches thérapeutiques expérimentales [12].

La transfusion est un élément clé dans la prise en charge des patients drépanocytaires. La transfusion, dans le cadre de la drépanocytose peut avoir deux indications : restaurer le taux d'hémoglobine de base et/ou diminuer le taux de l'hémoglobine anormale S. On ne peut imaginer une prise en charge raisonnée des malades drépanocytaires sans recours transfusionnel de qualité qu'il soit transitoire (accentuation de l'anémie liée au paludisme, à certaines infections virales ou à d'autres causes, préparation à l'anesthésie, crise vaso-occlusive sévère, syndrome thoracique aigu, grossesse, etc.) ou régulier sur une période de quelques mois à quelques années. L'unanimité est obtenue autour de la nécessité de transfusion sanguine dans plusieurs situations à risque vital et/ou fonctionnel : vasculopathie cérébrale drépanocytaire, syndrome thoracique aigu, infection sévère, séquestration splénique aiguë chez le nourrisson, priapisme, grossesse etc.).

Selon certains auteurs, 60% des patients homozygotes SS, 17% des drépanocytaires SC et 45% de patients S/beta-thalassémiques ont été transfusés au moins une fois avant l'âge de 18 ans [6]. Cette pratique a trois modes d'application : la transfusion sanguine simple, l'échange transfusionnel ponctuel, l'échange transfusionnel chronique. La disponibilité et la qualité des apports transfusionnels ont un rôle pronostic considérable. Chez les patients drépanocytaires, la transfusion érythrocytaire à deux objectifs, corriger l'anémie et diminuer le taux d'HbS en dessous d'un seuil donné. Les indications des transfusions chroniques se sont sensiblement modifiées ces dernières années, notamment après la mise en évidence qu'un programme transfusionnel régulier normalisait les vitesses de perfusion des artères cérébrales étudiées par doppler transcranien chez l'enfant drépanocytaire, et permettait de prévenir la survenue d'accidents vasculaires cérébraux. Certes la transfusion est un acte important dans la prise en charge des syndromes

drépanocytaires majeurs mais elle peut être source de complications chez les patients polytransfusés (la surcharge en fer, l'allo-immunisation, les infections virales post-transfusionnelles et les infections parasitaires post-transfusionnelles plus précisément le paludisme). Ce dernier est habituellement transmis par la pique infestante d'un moustique du genre Anophèles.

Mais l'ampleur de la transmission du paludisme par transfusion sanguine reste méconnue et sous estimée. C'est en 1914 que Woolsey a décrit le premier cas de paludisme post-transfusionnel aux Etats-Unis [17]. Puis dans les années qui suivirent, de nombreux cas de paludisme post-transfusionnels ont été rapportés, dont certains ayant abouti à des décès par accès pernicieux. En 1946 en Chine, Chen rapporte 21 cas de paludisme post-transfusionnel et décide de mettre tous les patients receveurs de sang sous quinine avant la transfusion. En 2003 à Bamako, parmi 271 donneurs de sang entre septembre et octobre, il a été observé 19 donneurs de sang hébergeant du *Plasmodium falciparum* ; les poches récoltées contenaient jusqu'à 15% d'hématies parasitées [10]. Dans les zones d'endémies palustres la prévalence des donneurs de sang impaludés varie selon les régions et selon les études [3].

Le trait drépanocytaire protège contre les formes sévères du paludisme, réduit la sensibilité mais n'empêche pas l'infection. Le neuro paludisme est exceptionnel au cours de la drépanocytose [2]. Néanmoins, l'infection palustre peut causer, comme toute infection, une crise drépanocytaire grave avec une anémie sévère.

Un principe a été adopté pour la prévention du paludisme transfusionnel dans les pays développés. Au Etats-Unis, les voyageurs des zones d'endémie palustre

sont exclus du don pendant un an, et les donneurs qui y ont vécu sont exclus pendant trois ans.

Le Centre National de Transfusion Sanguine de Bamako qui distribue des produits sanguins labiles ne fait pas systématiquement la recherche de plasmodium chez les donneurs de sang. Depuis une vingtaine d'année la plus grande attention s'est portée sur les risques de transmission des virus (VIH, hépatites B, C etc....) et la recherche de certaines bactéries.

Peu d'études ont été conduites en Afrique notamment en Afrique subsaharienne sur le risque infectieux de la transmission du plasmodium au cours de la transfusion sanguine. Notre travail a été motivé par l'hypothèse que la transmission du paludisme par transfusion sanguine est fréquente, mais méconnu et sous estimé dans la population générale et en particulier chez les drépanocytaires qui sont très sensibles aux infections. Le présent travail a pour but d'évaluer le risque de l'infection palustre au cours de la transfusion sanguine chez les drépanocytaires suivis au centre de recherche et de lutte contre la drépanocytose de Bamako.

OBJECTIFS

II- Objectifs

1-Objectif général

Evaluer le risque infectieux à *Plasmodium falciparum* associé à la transfusion sanguine chez les drépanocytaires de cohorte du CRLD de Bamako, Mali.

2-Objectifs spécifiques

- Déterminer la prévalence de l'infection palustre dans les unités de sang transfusées
- Déterminer la prévalence du paludisme post-transfusionnelle chez les drépanocytaires au CRLD.
- Evaluer l'implication du paludisme transfusionnel dans la survenue de la crise drépanocytaire.

METHODOLOGIE

III-Méthodologie

1-Lieu d'étude

L'étude s'est déroulée au Centre de Recherche et de Lutte Contre la Drépanocytose(CRLD) situé dans le quartier du point G, en commune III du district de Bamako. C'est le premier centre de référence en matière de prise en charge de la drépanocytose au Mali. Ce centre a été créé en 2010 grâce à l'engagement du gouvernement Malien et des partenaires techniques et financiers (PTF) dont la coopération internationale de Principauté de Monaco et la Fondation Pierre Fabre. Inauguré le 21 janvier 2010, le CRLD a commencé ses activités le 15 mars 2010 avec comme objectif principal, améliorer la qualité et l'espérance de vie des drépanocytaires. Grâce à l'appui des partenaires techniques et financiers, le CRLD conduit des activités de recherche de médecine préventive, de gestion des complications de la drépanocytose, d'information et de communication sur la maladie. Les patients bénéficient d'un appui pour leurs prises en charge, le Centre de Recherche et de Lutte Contre la Drépanocytose (CRLD) prend en charge 60% des frais de prestations de leurs suivis. Aussi les drépanocytaires qui sont suivis au CRLD sont dans un traitement préventif du paludisme.

En 2014, le CRLD compte neuf (9) médecins, cinq (5) pharmaciens, quatorze (14) techniciens de santé et du personnel administratif de soutien, quatre (4) techniciens de laboratoire et un psychologue (1). Ce centre est composé de quatre départements :

- Département administratif
- Département formation et recherche
- Département communication

-Département médical avec quatre(4) unités :

- ✓ Unité pharmacie,
- ✓ Unité consultation,
- ✓ Unité hospitalisation,
- ✓ Unité laboratoire

Cette dernière est composée d'une salle d'attente, une salle de prélèvement, une salle d'analyse, une chambre froide, une salle de biologie moléculaire, une salle de biologie cellulaire et un magasin.

2-Type et période

Il s'agissait d'une étude prospective transversale qui s'est déroulée pendant la saison de faible transmission (décembre 2011 à juillet 2012).

3-Échantillonnage

L'étude a porté sur 192 poches de concentrés globulaires phénotypés qui étaient destinées à 111 drépanocytaires.

4-Schéma de l'étude

Une période de 8 mois a été consacrée pour cette l'étude. Les drépanocytaires suivis au CRLD sont dans un programme de prévention systématique du paludisme par sulfadoxine pyriméthamine. Les patients de notre étude sont ceux qui sont dans un programme transfusionnel où tous autres patients drépanocytaires hospitalisés nécessitant une transfusion sanguine. Une GE épaisse était réalisée chez le patient avant la transfusion et 24 heures après. De même une GE et un TDR étaient réalisés sur la poche de sang. Les poches de sang contenant du *Plasmodium falciparum* étaient signalées au médecin le même jour, mais à posteriori après la transfusion des poches testées.

4.1 Critère d'inclusion

Etaient concernés, les patients inscrits dans un programme transfusionnel et ayant bénéficié d'une transfusion sanguine avec les poches de sang pour lesquelles une recherche systématique de plasmodium a été possible.

4.2 Critères de non inclusion

- Etaient exclus, les poches de sang destinées aux drépanocytaires et dont la traçabilité n'est pas effective.
- Les patients pour lesquels une GE n'a pu être effectuée avant la transfusion.

5-Variables mesurées

5-1 Variables sociodémographiques

Les variables sociodémographiques mesurées étaient l'âge, l'ethnie, la résidence, le sexe des receveurs.

5-2 Variables biologiques

Les variables biologiques mesurées étaient le taux d'hémoglobine, le nombre de globules blancs, le nombre de globules rouges, le nombre des plaquettes, le volume globulaire moyen, le groupe sanguin, le résultat de la goutte épaisse et le phénotype hémoglobinique du receveur.

6-Méthodes de mesures des variables biologiques

6-1 La numération formule sanguine (NFS)

➤ Le matériel

-un local bien aéré

-un tabouret

- des garrots
- des tubes contenant un anticoagulant(EDTA)
- des portoirs pour tube
- du coton
- de l'alcool
- de l'eau de javel
- une paillasse
- Un appareil de mesure automate des paramètres de l'hémogramme de type un ABX micros 60
- des gants en polyvinyle
- une source d'énergie
- une poubelle.
- une imprimante

- Le prélèvement : le prélèvement est réalisé sur un tube EDTA, après le prélèvement il faut bien mélanger pour éviter la coagulation de l'échantillon
- Passage de l'échantillon à l'ABX micros 60
 - Contrôle de qualité

.Calibration : Cette calibration s'effectue automatiquement, étape par étape avec l'identification de l'opérateur ou technicien, de l'entrée du lot de calibrant, de l'entrée des valeurs cibles et le nombre des analyses servant à la calibration

. Contrôle de qualité : Avant d'analyser les échantillons de sang, chaque matin nous passons les trois niveaux de contrôle de sang (Bas, Normal, Haut) de façon à vérifier l'étalonnage de l'appareil qui se fait de la même manière que l'analyse du sang.

- Mode opératoire

Quand le « MENU PRINCIPAL » est affiché, appuyer sur la touche « Id ». L'appareil affiche «ID PAT ? », entrer le numéro du tube à l'aide des touches du clavier, puis appuyer sur la touche « ENTER » pour valider. Bien mélanger le sang par un mouvement de retournements successifs sans agiter le tube. Ouvrir le tube et présenter à l'aspirateur, appuyé sur la gâchette située en arrière de l'aspirateur. Après l'aspiration, l'aiguille remonte, retirer le tube. L'appareil effectue l'analyse et imprime automatiquement les résultats.

Penser à recharger l'imprimante d'une feuille de papier après chaque impression. Pour effectuer une deuxième analyse et les analyses suivantes, appuyer de nouveau sur la touche « ID », sans nécessairement retourner au « MENU PRINCIPAL » et suivre les mêmes procédures que pour la première analyse.

6-2 Dépistage de l'infection palustre

➤ Le matériel

-Un tabouret

-Des portoirs pour tube

-De l'alcool (méthanol)

-Des boîtes de type OMS pour la collection des lames

- Une solution de Giemsa pur
- De l'eau distillée tamponnée
- De l'huile d'immersion
- Un microscope optique
- Une minuterie
- Un crayon de papier
- Des embouts
- Un bac de coloration
- Une calculatrice
- Une poubelle
- Un registre
- Un kit TDR

➤ Goutte épaisse et frottis mince

Pour chaque receveur de sang de notre étude comme pour les poches de sang, nous avons réalisé sur une même lame la goutte épaisse et le frottis mince. Un numéro d'identification fut marqué au crayon sur chacune des lames. Après la coloration, toutes les lames étaient lues sur place par un biologiste. Les résultats parasitologiques étaient portés dans un registre.

➤ TDR

Le TDR est un test de diagnostic rapide du paludisme qui permet d'avoir les résultats en quelques minutes dans les situations d'urgence.

Sur chaque poche de sang de notre étude était réalisé un test rapide du dépistage du paludisme dont le résultat est joint à celui des examens microscopiques (goutte épaisse et frottis mince). Le test rapide est un test sur bandelettes utilisant des anticorps monoclonaux dirigés contre l'enzyme métabolique du plasmodium spp.

. Mode opératoire

Le paquet en aluminium est ouvert pour sortir tout le matériel

- a- Poser horizontalement le dispositif portant les deux puits sur une surface plane, écrire le numéro d'identification de la poche de sang et la date du dépistage ;
- b- Ouvrir l'ampoule de tampon, déposer quatre gouttes de la solution tampon dans le puits correspondant ;
- c- Pendre une pipette, la presser doucement et introduire l'extrémité dans les boudins des poches de sang. Relâcher ensuite la pression et aspirer ensuite la goutte ;
- d- Déposer le sang dans le deuxième puits en pressant doucement sur la pipette ;
- e- Attendre quelques minutes, lire la réaction et interpréter le résultat.

.Résultat

-Les résultats sont valides si :

* la bande de contrôle (C) est bien visible ;

*il n'y a plus de sang dans la zone réaction.

-Les résultats ne sont pas valides si :

*la bande de contrôle n'apparaît pas ;

*la bandelette n'est pas suffisamment lavée.

.Interprétation des résultats

L'apparition de deux bandes de même couleur sur la membrane indique que le test est positif. La bande de contrôle doit toujours apparaître pour valider le résultat.

L'apparition uniquement de la bande de contrôle (C) indique que le test est négatif. Dans tous les cas la bande de contrôle doit apparaître pour valider le résultat.

6.3 : Groupage-rhésus

➤ Le matériel

-Un kit de groupages rhésus

-Une plaque

-Un registre

Une pipette

-Des embouts

-Une poubelle

➤ Mode opératoire

La détermination des groupes sanguins ABO a été effectuée par les épreuves de Beth-Vincent et de Simonin en utilisant des sérum-tests (anticorps monoclonaux anti-A, anti-B, anti-AB et le rhésus anti-D)

7-Aspect éthiques

Le consentement de ces patients était demandé avant leur inclusion dans notre étude. Seulement les numéros d'identification étaient utilisés pour identifier les poches de sang ainsi que les drépanocytaires receveurs. Toutes les poches de sang contenant du *Plasmodium falciparum* étaient signalées au médecin dans la journée.

RESULTATS

IV- Résultats

1-Données sociodémographiques des malades

Tableau I : répartition des patients transfusés selon le sexe

Sexe	Fréquence absolue	Pourcentage (%)
Feminin	67	60,36
Masculin	44	39,64
Total	111	100

Les femmes étaient les plus transfusées.

Sex- ratio = $44/67=0,66$

Tableau II : répartition des patients transfusés selon la provenance

Résidence	Fréquence	Pourcentage (%)
Bamako	96	86,49
Autres	15	13,51
Total	111	100

➤ Autres : les 8 régions du Mali et la Guinée

La majorité de la population drépanocytaire résidait à Bamako.

Tableau III : répartition des patients transfusés selon la classe d'âge

Age(année)	Fréquence	Pourcentage
0 à 5	6	5,41
6 à 15	25	22,52
16 à 25	20	18,02
26 à 35	38	34,23
36 à 45	14	12,61
46 et plus	8	7,21
Total	111	100

La classe d'âge modale était celle de 26 à 35 ans, les patients de 0 à 5 ans étaient les moins transfusés.

2-Groupage-rhésus

Tableau IV : répartition des patients transfusés par groupe sanguin du système ABO

Groupe/ABO	Fréquence absolue	Pourcentage (%)
A-	1	0,90
A+	20	18,02
AB-	3	2,71
AB+	8	7,21
B+	32	28,83
O-	4	3,60
O+	43	38,74
Total	111	100

Les patients de groupe O+ étaient plus fréquents, suivis de ceux du groupe B+.

Tableau V : répartition des patients transfusés dans le groupe Rh

Rhesus	Fréquence absolue	Pourcentage (%)
Positif	103	92,79
Négatif	8	7,21
Total	111	100

Le rhesus positif était majoritairement représenté.

Tableau VI : phénotype hémoglobinique des patients transfusés

Phenotype	Fréquence absolue	Pourcentage (%)
S/B+	4	3,60
S/B°	7	6,31
SC	18	16,22
SS	82	73,87
Total	111	100

Les patients homozygotes SS étaient les plus transfusés suivis des patients hétérozygotes SC.

3-Paludisme

Tableau VII : taux d'infection palustre dans la population drépanocytaire (GE réalisée avant la transfusion)

G E patient	Fréquence absolue	Pourcentage (%)
Negative	95	85,59
Positive	16	14,41
Total	111	100

Avant la transfusion, le taux d'infection palustre était de 14,41%.

Tableau VIII : taux d'infection des poches de sang par *Plasmodium falciparum* par la technique de la goutte épaisse.

G E poche de sang	Fréquence Absolue	Pourcentage (%)
Negative	181	94,27
Positive	11	5,73
Total	192	100

Sur les 192 poches testées, 11 soit 5,73%, étaient infestées par *Plasmodium falciparum*.

Tableau IX: taux de positivité de la GE chez les patients ayant reçu les 11 poches de sang infestés après transfusions.

GE	Fréquence absolue	Pourcentage (%)
Négative	8	72,73
Positive	3	27,27
Total	11	100

Nous avons noté 3 cas de positivité de la GE chez les patients ayant bénéficié des 11 poches de sang infestés. Parmi ces 3 malades chez qui la GE était positive en post-transfusionnel, 2 étaient déjà infestés avant d'être transfusés.

Tableau X : taux d'infection des poches de sang selon le test de diagnostic rapide.

TDR poche	Fréquence absolue	Pourcentage (%)
Négatif	180	93,75
Positif	12	6,25
Total	192	100

Le taux d'infection des poches de sang selon la technique de TDR était de 6,25%.

Tableau XI : motif d'hospitalisation des 16 patients qui avaient la GE positive

Motif	Fréquence absolue	Pourcentage (%)
CVO	1	6,25
Anémie	1	6,25
Anémie/avec fièvre	6	37,50
CVO/avec fièvre	8	50,00
Total	16	100

Cinquante pour cent des patients qui avaient la GE positive étaient en crise vaso-occlusive fébrile.

Tableau XII : test de concordance entre la goutte épaisse et le TDR des poches de sang.

	G E		Poche de sang
TDR	Négatif	Positif	Total
Négatif	180	0	180
Positif	1	11	12
Total	181	11	192

La comparaison des deux techniques (GE et TDR) dans la recherche systématique de plasmodium sur les produits sanguins utilisés au cours de cette étude montre une sensibilité comparable des deux techniques. Cependant un cas positif détecté par TDR s'est révélé négatif à la goutte épaisse.

Sensibilité : $11/11=1$

Spécificité : $180/181=0,9$

Valeur prédictive positive : $11/12=0,92$

Valeur prédictive négative : $180/180=1$

Tableau XIII : fréquence de l'infection palustre en fonction du phénotype hémoglobinique

Phénotype-GE du jour			
Phénotype	Nombre de cas	Positive	Négative
S/B+	4	0	4
S/B°	7	2	5
SC	18	3	15
SS	82	11	71
Total	111	16	95

La fréquence la plus élevée de l'infection palustre a été observée chez les drépanocytaires ayant le phénotype SS.

-Hémogramme

Tableau XIV : comparaison des paramètres de l'hémogramme selon le phénotype hémoglobinique

Paramètres	Phénotype hémoglobinique															
	S/β+ m±1DS	P	SC m±1DS	P1	SS m±1DS	S/β0 m±1DS	P2	S/β+ m±1DS	P3	SS m±1DS	SS m±1DS	P4	S/β0 m±1DS	P5	SC m±1DS	
Taux d'Hb (g/dl)	8,37 ± 1,54	0,5	8,87 ± 1,19	0,0001	7,20 ± 1,49	6,78 ± 1,04	0,07	8,37 ± 1,54	0,13	7,20 ± 1,49	7,20 ± 1,49	0,5	6,78 ± 1,04	0,0007	8,78 ± 1,19	
GB (10 ³ /mm ³)	8,21 ± 1,16	0,04	11,76 ± 3,28	0,07	14,60 ± 6,56	14,77 ± 7,51	0,13	8,21 ± 1,46	0,06	14,60 ± 6,54	14,60 ± 1,46	0,94	14,77 ± 7,51	0,17	11,76 ± 3,28	
VGM (μm ³)	73,31 ± 2,19	0,06	89,18 ± 11,66	0,96	89,07 ± 7,18	79,55 ± 4,24	0,03	73,31 ± 2,19	0,0001	89,07 ± 7,18	89,07 ± 2,19	0,0009	79,55 ± 4,28	0,05	89,18 ± 11,6	
Plat (10 ³ /mm ³)	328,29 ± 101,201	0,25	417,79 ± 140,871	0,35	459,51 ± 176,452	418,56 ± 187,568	0,40	328,29 ± 101,201	0,16	459,51 ± 176,452	459,51 ± 176,452	0,55	418,56 ± 187,56	0,99	417,79 ± 140,871	

P : comparaison des moyennes de certains paramètres de l'hémogramme des patients S/B+ à ceux des patients SC

P1 : comparaison des moyennes de certains paramètres de l'hémogramme des patients SC à ceux des patients SS

P2 : comparaison des moyennes de certains paramètres de l'hémogramme des patients S/B° à ceux des patients S/B+

P3 : comparaison des moyennes de certains paramètres de l'hémogramme des patients S/B+ à ceux des patients SS

P4 : comparaison des moyennes de certains paramètres de l'hémogramme des patients SS à ceux des patients S/B°

P5 : comparaison des moyennes de certains paramètres de l'hémogramme des patients S/B° à ceux des patients SC

m ± 1DS : moyenne plus une déviation standard

Le taux d'hémoglobine moyen ne différait pas entre les sujets S/B+ et SC, mais était significativement plus bas chez les patients SS ($p = 10^{-4}$). On constate un taux d'hémoglobine moyen chez les sujets S/B° qui différait de celui des sujets SS, mais significativement plus bas que celui des SC ($p < 10^{-4}$).

Le nombre moyen des globules blancs ne différait pas entre les malades SC et SS, était significativement plus élevé que celui des malades S/B+ ($p = 0,04$).

On n'observait aucune différence entre les 3 phénotypes drépanocytaires/B+, SC et SS en ce qui concerne le taux des plaquettes.

La comparaison du VGM moyen des patients S/B+ à celui des phénotypes S/B° et SS permet de constater un VGM moyen significativement plus bas ($p =$ respectivement 10^{-4} et 10^{-2}). On ne notait pas de différence significative entre les groupes lorsqu'on considérait les taux moyen de plaquettes ($p > 0,5$).

Tableau XV : comparaison des paramètres de l'hémogramme des patients qui avaient la GE négative à ceux qui avaient la goutte épaisse positive

Paramètres	Négative	Positive	P_valeur
HGB (g/dl)	7,21 ± 1,48	6,53 ± 1,80	0,085
GB (10 ³ /mm ³)	13,80 ± 7,01	16,45 ± 10,70	0,698
GR (10 ⁶ /mm ³)	4,52 ± 18,95	2,65 ± 1,05	0,694
PLA (10 ³ /mm ³)	450,55 ± 172,60	361 ± 129,68	0,046
VGM (um ³)	87,95 ± 9,34	89,87 ± 9,36	0,432

Les patients infestés par le *Plasmodium falciparum* avaient un taux d'hémoglobine inférieur à ceux qui ne l'étaient pas, mais la différence n'était pas statistiquement significative. Le chiffre des plaquettes était statistiquement plus bas chez les malades impaludés que chez ceux qui ne l'étaient pas (p = 0,05)

COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

V – Commentaires et discussions

Le paludisme demeure un problème majeur de santé publique en Afrique subsaharienne malgré les efforts consentis par l'OMS pour le combattre. Cette zone géographique d'endémie palustre se superpose avec la plus haute fréquence de la drépanocytose. La prise en charge des drépanocytaires dans certaines circonstances nécessite une transfusion sanguine qui reste associée à un risque de transmission des pathogènes (virus, bactéries, parasites). La prévalence du paludisme chez les donneurs de sang est très variable d'une région à une autre et d'un pays à l'autre. Très peu d'études ont porté sur l'évaluation du risque infectieux à *Plasmodium falciparum* associé à la transfusion sanguine en Afrique subsaharienne. Pour cette raison, nous avons évalué la fréquence de la transmission du paludisme post-transfusionnel chez une population drépanocytaire au CRLD selon une approche qui a consisté à tester à la fois les poches de sang destinés à être transfusés avant la transfusion et les receveurs avant et après transfusion.

La classe d'âge modale la plus transfusée était celle de 26 à 35 ans.

Le sexe féminin était plus représenté avec 60,36%. Les femmes enceintes font l'objet d'une transfusion régulière pour leur suivi. La grossesse nécessite une transfusion chez les femmes drépanocytaires, ceci pourrait expliquer cette prédominance du sexe féminin dans la population d'étude.

La majorité des patients inclus dans l'étude avait affirmé résider à Bamako.

Le groupe sanguin O+ était le plus transfusé au Centre de Recherche et de Lutte Contre la Drépanocytose. Le groupe O+ est le plus dominant au Mali. Plusieurs études conduites par le CNTS de Bamako ont confirmé cette prédominance du groupe O suivi du groupe B [7, 16].

Le taux d'infection des unités de sang était de 5,73% par la goutte épaisse et de 6,25% par le TDR. Ce résultat montre bien que le risque de paludisme transfusionnel existe et peut être source de crises drépanocytaires. Une étude réalisée au CNTS en 2003 avait prouvé une prévalence de 25,49% du paludisme chez les donneurs de sang [10]. Cette différence entre les résultats obtenus au CNTS et au Centre de Recherche et de Lutte contre la Drépanocytose (CRLD) s'expliquerait par le fait que l'étude du CNTS a été réalisée pendant la période de forte transmission du paludisme (entre septembre et novembre) ; la notre a été conduite pendant la période de faible transmission. Par ailleurs, nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par Noubouossie et collaborateurs à Yaoundé en 2007. Au cours de cette étude réalisée en 2007, une prévalence de 6,5% a été rapportée [13].

En zone d'endémies palustres la prévalence des donneurs de sang impaludés varie selon les régions et les pays [10, 8, 11]. Ces chiffres traduisent le risque important de transmission du paludisme par la transfusion sanguine en générale, en particulier chez les drépanocytaires pour lesquels la transfusion est une étape importante de la prise en charge.

Cependant, les parasitémiées observées par la technique de la goutte épaisse étaient faibles sur les poches de sang et l'espèce *falciparum* était la seule dépistée. Cette faible parasitémie est due, soit à un début de l'infection, soit à une automédication.

D'autres études non moins importantes ont été conduites en Afrique. C'est ainsi qu'au Congo une enquête épidémiologique conduite en 1994 trouva une prévalence de portage de *plasmodium* à 8,5% [4] ; A Bobo-Dioulasso une prévalence de 50,7% était rapportée chez les donneurs de sang [9] ; Au Nigeria 10,2%, des donneurs de sang étaient porteurs de *plasmodium* [8] et en 2010 à

Cotonou 33, 5% des donneurs du sang étaient retrouvés porteurs d'hématozoaires dans le sang [11].

Cinquante pour cent (50%) et trente sept virgule cinq pour cent des patients qui avaient la goutte épaisse positive étaient respectivement en crise vaso-occlusive fébrile et anémiés-fébriles.

Cette prédominance de l'infection par *Plasmodium falciparum* était observée dans le groupe sanguin O positif dans notre population d'étude.

Notre étude a montré que la majorité des patients transfusés qui avaient une GE positive étaient en crise. Cela pourrait suggérer une certaine implication du paludisme dans la survenue des crises drépanocytaires. Ce résultat souligne la nécessité de faire le dépistage systématique des poches destinées à la population drépanocytaire pour limiter les complications à risque vital.

Les drépanocytaires homozygotes SS étaient le plus souvent soumis à la transfusion sanguine et ont été trouvés plus souvent infectés par *Plasmodium falciparum*.

Au cours de l'étude, 3 cas de paludisme post-transfusionnel ont été identifiés. Parmi ces 3 cas de paludisme, 2 avaient une goutte épaisse positive avant la transfusion. L'analyse minutieuse des résultats montre que le 3^{ème} cas pouvait de toute évidence être considéré comme un cas de paludisme post-transfusionnel. Eu égard à ce constat, il convient de bâtir une stratégie de prévention dans l'utilisation des poches de sang pour lesquelles une recherche systématique de *Plasmodium falciparum* n'est pas faite par le CNTS. Tous les patients transfusés ont été soumis à un traitement antipaludique (association artéméther 20 et luméfantine 120). Malgré la prise des antipaludéens il y a eu des cas de positivité le lendemain de la transfusion. Cela montre l'importance

de suivre tous les malades qui ont reçu du sang pour s'assurer qu'ils ne feront pas de paludisme.

L'analyse des paramètres hématologiques nous a montré que le taux moyen d'hémoglobine ne différait pas entre les sujets S/B+ et les sujets SC, mais était significativement plus bas chez les sujets SS. Ce taux moyen d'hémoglobine plus bas chez les sujets SS s'expliquerait du fait d'hémolyse accrue qui existe chez ce dernier. Le nombre moyen des GB ne différait pas entre les sujets SS et SC, mais était plus élevé que celui des sujets S/B+ ; on n'observait aucune différence entre ces 3 phénotypes en ce qui concerne le taux des plaquettes. La comparaison entre les patients S/B+ et les phénotypes S/B° et SS permet de constater un VGM moyen significativement plus bas mais, on ne note pas de différence significative entre ces phénotypes lorsqu'on considère les taux moyen d'hémoglobine, des GB ou de plaquettes. Il n'apparaît pas de différence significative entre les phénotypes SS, S/B° et SC quand on considère le taux moyen des GB ou des plaquettes. Le VGM moyen montraient une différence significative entre les sujets S/B° et les sujets SS, mais pas avec les sujets SC. Le VGM moyen plus bas chez le sujet S/B° aux sujets SS et SC s'expliquerait par la présence de thalassémie qui entraîne une microcytose. La transfusion pourrait modifier les paramètres hématologiques d'où la nécessité de suivre un patient après l'acte transfusionnel.

CONCLUSION

VI- Conclusion

Ce travail nous a permis d'évaluer le risque infectieux du paludisme par voie transfusionnelle dans la population drépanocytaire suivie au CRLD. Le taux d'infection palustre dans la population drépanocytaire était de 14,41% et les poches contaminées par le *Plasmodium falciparum* étaient de 5,73% par la technique de la GE et 6,25% par la technique de diagnostic rapide. Trois cas de paludisme post-transfusionnels ont été observés. Le risque de l'infection par *Plasmodium falciparum* nécessite un dépistage précoce pour limiter les infections du *P. falciparum* par voie transfusionnelle. Cette transmission du paludisme par voie transfusionnelle pourrait être plus forte pendant la période de forte transmission. L'absence d'une recherche systématique de *Plasmodium* soulève une problématique tant scientifique qu'éthique. Il convient alors de mettre en place des stratégies permettant de palier à cette problématique au cours de la transfusion sanguine chez les drépanocytaires vivant dans les zones d'endémie palustre. La GE doit être faite systématiquement chez tous les patients drépanocytaires en CVO et/ou fébriles (si possible couplé à un TDR).

RECOMMANDATIONS

Recommandations

- ❖ Au CNTS : dépister le *Plasmodium falciparum* sur toutes les poches de sang surtout les poches de sang destinées aux drépanocytaires, aux femmes enceintes et aux enfants de moins de 5 ans et les personnes immunodéprimées.
- ❖ Au CRLD : dépister le *Plasmodium falciparum* sur toutes les poches de sang avant toute transfusion.
- ❖ Au ministère de santé : mettre en place des tests de diagnostic rapide dans les structures de santé afin de faire un dépistage sur les poches de sang avant toute transfusion pour une prise en charge adéquate des patients.

REFERENCE

Reference

- 1-Allison A.C:** polymorphism and natural selection in human population.Cold spring harbor sump. Quant Biol.1964, 24, 137-149
- 2- Arnal C. et Girot R.** Drépanocytose chez l'adulte. Encycl Méd Chir (Éditions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris), Hématologie, 13-006-D-16, 2002, 15 p.
- 3-Candolfi E.** Transfusion-transmitted malaria, preventive measures. Transfus. Clin. Biol. 2005. 12: 107-113.
- 4-Carme B, Kenmogne D, Copin N, and Mbitsi A.** Plasmodium prevalence and parasitic burden in blood donors of Brazzaville, Congo. Ann. Soc. Belg. Med. Trop.1993.73:179-187.
- 5-Diallo DA.** La drépanocytose au Mali en 2002, Mali Médical2002, XVII : 37-43.
- 6-de Montalembert M, Guilloud-Bataille M, Feingold J, Girot R.** Epidemiological and clinical study of sickle cell disease in France, French Guiana and Algeria. Eur J Haematol 1993 ; 51: 136-40.
- 7-Douyon I.** Risque de l'infection à plasmodium falciparum par le test rapide optimal chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako, Mali. Thèse de pharmacie.2012.134page.
- 8-Erhabor O , Ok O, Awah I, Uko K E, and Charles A T.** The prevalence of plasmodia parasitaemia among donors in the Niger delta of Nigeria. Trop. Doct.2007.37:32-34.

9-Guiguemde T R, Sanou M A, Ouedrago J B, COULIBALY N, Ghary A R, and Coulibaly S O. Le paludisme et la transfusion sanguine: une etude portant sur les donneurs de la banque de sang de l'hopital de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Malaria* 1995.2 :35-38.

10-Hama H. Le risque de paludisme transfusionnel à Bamako. Thèse de Pharmacie, Bamako, Mali.2003. 52P56.

11-Kinde G, Oke J, Gnahoui I, and Massougboji A. The risk of malaria transmission by blood transfusion at Cotonou, Benin. *Sante*.2000.10:389-392.

12- Le contrôle de la qualité des produits de thérapie génique : approche de l'ANSM. Chenivesse X ; Ridoux V ; Tissier M.H. *médecines/sciences*, 2003, vol.19, n°4, pp.481-8.

13-Noubouossie D, Tagny C T, Same-Ekobo A, and Mbanya D. Asymptomatic carriage of malaria parasites in blood donors in Yaoundé. *Tranfus. Med*.2012.22:63-67.

14-Sangaré M : enquête CAP des prestataires de sante sur la prise en charge de la drépanocytose dans les centres de santé du district de Bamako. Thèse de Med, Bamako : 2003-2004. P.77

15-Tayou T C, Mbanya D, Garraud O, and Lefrere J J. Blood safety: malaria and blood donation in Africa. *Tranfus. Clin.Biol*.2007. 14: 481-486.

16-Uneke C.J. Plasmodium falciparum malaria and ABO blood group: is there any relationship? *Parasitol*. 2007. 100; 759-765

17-Woolsey G. Transfusion for pernicious anemia: two cases. *Ann. Surg*.1911.53:131-154.

FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom : GUINDO

Prénom : PIERRE

Nationalité : Malienne

Ville de soutenance : Bamako

Lieu de dépôt : bibliothèque de la FMOS/FAPH

Section d'intérêts : Drépanocytose, transfusion sanguine

Titre : risque infectieux au *Plasmodium falciparum* associé à la transfusion sanguine chez les drépanocytaires au CRLD de Bamako, Mali.

Résumé : La transfusion est un moyen thérapeutique important dans la prise en charge des patients drépanocytaires, mais elle peut être source de complications chez les patients polytransfusés. Les infections post-transfusionnelles sont très fréquentes dans les pays en voie de développement. Cela nous a incité à mener une étude transversale au CRLD dont l'objectif était d'évaluer le risque infectieux au *Plasmodium falciparum* associé à la transfusion sanguine chez le drépanocytaire. Cent-quatre-vingt-douze poches de sang qui étaient destinées à 111 drépanocytaires ont été simultanément testés à la recherche du *Plasmodium falciparum*. Pour la recherche de ce pathogène, une GE était réalisée chez le patient avant la transfusion et 24 heures après. De même une GE et un TDR étaient réalisés sur la poche de sang. L'analyse des données avait montré 5,73% (11) et 14,41% (16) d'infestation par le *Plasmodium falciparum* respectivement sur les poches de sang et chez les patients. Cinquante pour cent des drépanocytaires qui avaient la GE positive avant la transfusion étaient en CVO associée à une fièvre. Cette étude nous a permis d'évaluer le risque de survenu d'un paludisme par voie transfusionnelle

dans la population drépanocytaire et de suggérer la recherche du *Plasmodium falciparum* chez les donneurs de sang pour parer à la problématique tant scientifique qu'éthique que peut poser un paludisme post-transfusionnel chez le drépanocytaire.

Mots clés : drépanocytose, transfusion, *Plasmodium falciparum*, CRLD.

Name: GUINDO

First name: PIERRE

Nationality: Malian

City of defense: Bamako

Place of deposit: libraries FMOS/FAPH

Interest section: sickle, blood transfusion

Title: risk of infection by *Plasmodium falciparum* associated with blood transfusion in sickle cell CRLD in Bamako, Mali.

Summary: transfusion therapy is an essential tool in sickle cell disease management, but it has been associated to many complications particularly in those polytransfused. Post transfusion infections are frequent in developing countries. For that reason, we initiated a transversal study at CRLD. The aim of this study was to evaluate the transfusion transmitted of *P falciparum* among sickle cell disease patient. 192 blood units destined to 111 patients were tested for *P falciparum* infections. A blood smear was made before the transfusion and 24 hours after transfusion for each patient. With regard to blood units, rapid diagnosis test plus a thick smear were done. A result of our investigation has shown that 11 blood units and 16 patients were found positive to *P falciparum*. 50% of the patients who had positive smear before transfusion had VOC and fever. This study allows us to evaluate the transfusion transmitted malaria in sickle cell disease patients and to recommend a screening of *P falciparum* among blood donors. This will solve both scientific and ethical issues that have arisen.

Risque infectieux au *Plasmodium falciparum* associé à la transfusion sanguine chez les drépanocytaires au
CRLD de Bamako, Mali

Keywords: sickle cell anemia, transfusion, *P falciparum*, CRLD.

ANNEXES

Le Frottis mince (FM)

Annexe 1

Principes

Le frottis mince est un étalement de sang en couche fine à la surface d'une lame porte-objet. C'est un examen réalisé pour le diagnostic du paludisme et permet la détermination de l'espèce plasmodiale. Le frottis mince est utilisé dans le diagnostic d'urgence du paludisme

Prélèvements

Un prélèvement de sang capillaire (bout du 3ème ou 4ème doigt) ou du sang veineux sur un tube avec EDTA est effectué. Le prélèvement ne doit pas être fait sur la face latérale d'un doigt œdémateux, cyanosé, traumatisé ou infecté.

Matériel et Réactif

Microscope binoculaire ; Lames porte-objet dégraissées ; Solution désinfectante (Alcool 700) ; gants ; blouse ; Coton hydrophile sec ; Vaccinostyle stérile ou Seringue stérile et Tube avec EDTA ; Nécessaire de prélèvement ; Marqueur indélébile ou crayon de papier ; Colorant de Giemsa dilué au 1/10 dans eau à pH=7,2 ; Eau distillée ; méthanol ; Comprimé tampon pH=7,2 ; Chronomètre ; Compteur ; Boite de collection des lames ; Huile d'immersion ; pH mètre ou papiers pH ; cuve à coloration ; séchoir ou plaque chauffante ; éprouvettes graduées.

Mode opératoire

Confection du frottis mince :

- Bien installer le sujet à prélever en position confortable et le rassurer ;
- porter des gants et prendre une lame préalablement dégraissée ;
- porter le numéro d'identification du patient sur la lame devant recevoir le frottis ;
- nettoyer le doigt choisi d'abord avec un tampon imbibé d'alcool 700, puis avec un tampon sec pour enlever toute trace d'alcool ;
- piquer d'un coup sec et rapide, sur le coté du doigt avec un vaccinostyle stérile ; jeter le vaccinostyle dans le container pour objets piquants ;
- essuyer la première goutte de sang avec du coton sec ;
- presser le doigt pour faire sortir une petite goutte de sang, environ 5µl ou prendre 5µl de sang veineux prélevé sur un tube EDTA et la déposer sur la lame ;
- faire garder le coton sec sur le point de piqûre pendant environ 3 minutes pour bien le sécher ;
- placer le bord d'une seconde lame en avant de la goutte de sang, la faire glisser en arrière jusqu'au contact de la goutte de sang qui va se répandre sur toute la largeur du bord de la seconde lame dans l'angle formé par les deux lames ;
- incliner la lame supérieure à 45° ;

- la faire glisser d'un geste rapide et régulier, en avant, vers l'extrémité libre de la lame portant la goutte de sang ;
- faire sécher immédiatement le mince film de sang obtenu en agitant la lame à l'air ; (Le frottis doit présenter deux bords et une "queue", zone élective de lecture).

NB : Le temps de séchage peut être réduit si on utilise une plaque chauffante ou un séchoir. Si la coloration de la lame n'est pas immédiate, elle doit être conservée dans la boîte horizontale (type OMS), à l'abri des mouches et de la poussière.

Fixation du frottis mince

Placer les lames à colorer sur le pont à coloration et fixer les frottis en recouvrant la lame de méthanol. Laisser en contact pendant 5 minutes et incliner la lame pour enlever l'excès de méthanol.

Coloration du frottis mince :

Colorer les lames après fixation.

- Couvrir les lames avec la solution de Giemsa dilué au 1/10 pendant 15 minutes ;
- rincer la lame avec de l'eau tamponnée pH=7,2.
- laisser sécher les lames.

Lecture de la lame

La lecture du frottis mince se fait au microscope optique binoculaire en immersion à l'objectif 100X.

Les globules rouges (GR) parasités sont comptés sur 2000 à 5000 GRs.

Résultat et Interprétation

L'espèce plasmodiale doit être déterminée en se référant aux tableaux d'identification.

La parasitémie est exprimée en pourcentage :

Parasitémie % = (Nombre de GR parasités/total GR) X100

Une lame est jugée négative si aucun parasite n'a été identifié à la lecture d'un nombre suffisant de champs sur le frottis (+ /- 5000 hématies).

La présence des formes sexuées (gamétocytes) doit être signalée.

GE (Goutte épaisse)

Principes : la goutte épaisse est un étalement épais de sang dont une technique de micro-concentration sur lame. L'étalement est circonscrit dans un cercle d'un centimètre de diamètre sur une lame porte objet. Cet examen est réalisé pour le diagnostic du paludisme.

Prélèvement : un prélèvement de sang veineux capillaire (bout du 3ème ou 4ème doigt) ou du sang veineux sur un tube avec EDTA est effectué. Le prélèvement ne doit pas être fait sur la face latérale d'un doigt œdémateux, cyanosé, traumatisé ou infecté. **Matériel et Réactif**

Microscope binoculaire ; lames porte-objet dégraissées ; solution désinfectante (Alcool 700) ; gants ; blouse ; coton hydrophile sec ; vaccinostyle stérile ou seringue stérile et tube avec EDTA ; nécessaire de prélèvement ; marqueur indélébile ou crayon de papier ; colorant de Giemsa dilué au 1/10 dans eau à pH=7,2 ; eau distillée ; méthanol ; comprimé tampon pH=7,2 ; chronomètre ; compteur ; boîte de collection des lames ; huile à immersion ; pH mètre ou papiers pH ; cuve à coloration ; séchoir ou plaque chauffante ; éprouvettes graduées.

Mode opératoire :

Confection de la goutte épaisse :

- Bien installer le sujet à prélever en position confortable et le rassurer ;
- porter des gants et prendre une lame préalablement dégraissée ;
- porter le numéro d'identification du patient sur la lame porte-objet;
- nettoyer le doigt choisi d'abord avec un tampon imbibé d'alcool 700, puis avec un tampon sec pour enlever toute trace d'alcool ;
- piquer d'un coup sec et rapide, sur le coté du doigt avec un vaccinostyle stérile ; jeter le vaccinostyle dans le container pour objets piquants ;
- essuyer la première goutte de sang avec du coton sec ;
- presser le doigt pour faire sortir une grosse goutte de sang, environ 10µl ou prendre 10µl de sang veineux prélevé sur un tube EDTA et la déposer sur la lame ;
- faire garder le coton sec sur le point de piqûre pendant environ 3 minutes pour bien le sécher ;
- placer le coin d'une autre lame au centre de la goutte de sang et étendre légèrement la surface de la goutte par des mouvements circulaires appuyés de la lame jusqu'à épaissement uniforme ;
- assurer cette défibrination mécanique pendant 15 secondes au moins et étaler la goutte épaisse sur 1 cm de diamètre ;
- laisser sécher pendant environ deux heures la lame à plat, à l'abri de la poussière, de la chaleur et des insectes, à la température du laboratoire. Si ce

temps de séchage n'est pas respecté, il y a risque de décollement de la préparation lors de la coloration.

NB : Le temps de séchage peut être réduit si on utilise une plaque chauffante ou un séchoir. Si la coloration de la lame n'est pas immédiate, elle doit être conservée dans la boîte horizontale (type OMS), à l'abri des mouches et de la poussière.

Coloration de la goutte épaisse :

Après séchage de la goutte épaisse, colorer la lame.

Couvrir la lame avec la solution de Giemsa diluée au 1/10 pendant 15 à 20 minutes ;

Rincer la lame avec de l'eau tamponnée pH= 7,2 et laisser sécher.

Lecture de la lame (quantification leucocytaire) :

La lecture de la goutte épaisse consiste à compter le nombre de Plasmodium observés pour 300 leucocytes.

Choisir le sens de la lecture (horizontal, vertical) avant de commencer et éviter de revenir sur les mêmes champs microscopiques.

La lecture de la goutte épaisse est faite à l'aide d'un microscope optique binoculaire en immersion à l'objectif 100.

La parasitémie est déterminée suivant la méthode quantitative leucocytaire.

Les parasites sont comptés en même temps que les leucocytes sur la lame

Lorsque le nombre de 300 leucocytes est atteint, le compte est arrêté.

Résultat :

La parasitémie est obtenue par la formule suivante :

$$\text{parasitémie} = p = \frac{7500 \times N}{300}$$

P : parasitémie

N : nombre de parasites comptés sur 300 leucocytes au microscope

300 est le nombre de leucocytes comptés

7500 est la moyenne de leucocyte par μl de sang chez l'adulte au Mali

Interprétation des résultats : une lame est jugée négative si aucun parasite n'a été identifié à la lecture de toute la goutte épaisse. La présence des formes sexuées (gamétocytes) est signalée

MODE OPERATOIRE DE L'HEMOGRAMME

Annexe 3

-Précaution avant le démarrage de l'appareil

Vérifier le niveau de tous les réactifs. En cas de niveau bas d'un des flacons de réactif le remplacer

-Démarrage de l'appareil

-Mise en route de l'imprimante : appuyer sur l'interrupteur situé sur le coté gauche de l'imprimante et assurer que les feuilles sont bien insérées.

-Mise en route de l'appareil ABX Micros 60 OS/TO 18P : mettre l'appareil sous tension en appuyant sur le bouton marche/arrêt situé en arrière plan de l'appareil.

Un cycle de « Startup » se met en route. Attendre la fin de ce cycle comme indiqué par l'appareil. Parfois un deuxième cycle «Startup » est nécessaire, si tel est le cas après un premier cycle l'appareil indique « mauvais Startup » et relance automatiquement un nouveau cycle.

A la fin du « Startup », l'indication « MENU PRINCIPAL » s'affiche l'appareil est prêt donc pour l'analyse des échantillons.

-Mode opératoire : Quand le « MENU PRINCIPAL » est affiché, appuyer sur la touche « Id ». L'appareil affiche «ID PAT ? », entrer le numéro du tube à l'aide des touches du clavier, puis appuyer sur la touche « ENTER » pour valider. Bien mélanger le sang par un mouvement de retournements successifs sans agiter le tube. Ouvrir le tube et présenter à l'aspirateur, appuyé sur la gâchette située en arrière de l'aspirateur. Après l'aspiration, l'aiguille remonte, retirer le tube. L'appareil effectue l'analyse et imprime automatiquement les résultats.

Penser à recharger l'imprimante d'une feuille de papier après chaque impression. Pour effectuer une deuxième analyse et les analyses suivantes, appuyer de nouveau sur la touche « ID », sans nécessairement retourner au « MENU PRINCIPAL » et suivre les mêmes procédures que pour la première analyse.

En cas de l'apparition d'un ou des étoile(s) sur un résultat, reprendre l'analyse.

Arrêt de l'appareil ABX Micros 60 OS/OT 18 : à la fin de série d'analyse, retourné au « MENU PRINCIPAL » en appuyant sur la touche « ESC » (plusieurs fois si nécessaire).

Si aucune autre analyse ne doit être faite, appuyer sur la touche « STAND BY ».

A la fin du « STAND BY » l'appareil peut être éteint à l'aide de l'interrupteur situé en arrière plan de l'appareil.

MODE OPERATOIRE DU TDR

Annexe 4

Le paquet en aluminium est ouvert pour sortir tout le matériel

- a- Poser horizontalement le dispositif portant les deux puits sur une surface plane, écrire le numéro d'identification de la poche de sang et la date du dépistage ;
- b- Ouvrir l'ampoule de tampon, déposer quatre gouttes de la solution tampon dans le puits correspondant ;
- c- Pendre une pipette, la presser doucement et introduire l'extrémité dans les boudins des poches de sang. Relâcher ensuite la pression et aspirer ensuite la goutte ;
- d- Déposer le sang dans le deuxième puits en pressant doucement sur la pipette ;
- e- Attendre quelques minutes, lire la réaction et interpréter le résultat.

.Résultat

-Les résultats sont valides si :

* la bande de contrôle (C) est bien visible ;

*il n'y a plus de sang dans la zone réaction.

-Les résultats ne sont pas valides si :

*la bande de contrôle n'apparaît pas ;

*la bandelette n'est pas suffisamment lavée.

.Interprétation des résultats

L'apparition de deux bandes de même couleur sur la membrane indique que le test est positif. La bande de contrôle doit toujours apparaître pour valider le résultat.

L'apparition uniquement de la bande de contrôle (C) indique que le test est négatif. Dans tous les cas la bande de contrôle doit apparaître pour valider le résultat.

Schéma de la procédure de TDR

Annexe 5

OptiMAL-IT
Individual Test
for Rapid Malaria Diagnosis

710024

9

 Malaria -	 Malaria +	 Malaria +
	Plasmodium sp. (<i>P. vivax</i> / <i>P. ovale</i> / <i>P. malariae</i>) <i>P. falciparum</i>	
	Plasmodium falciparum +/- (<i>P. vivax</i> / <i>P. ovale</i> / <i>P. malariae</i>)	

www.bio-rad.com 980880 01.2010

