



## PRISE EN CHARGE DU PALUDISME SUR LA BASE DE LA DENSITE PARASITAIRE REELLE

<sup>1</sup>ATCHADE S. Pascal, <sup>3</sup>OLOGOU Prisca O. Félicité, <sup>3</sup>ADJILE A. Aurelle, <sup>2</sup>KANSOULO D. Pauldès, <sup>2</sup>SINZOGAN S.A. Odile et <sup>1</sup>BANKOLE S. Honoré.

<sup>1</sup>Laboratoire de Recherche en biologie Appliquée, 01 BP 2009 Abomey Calavi ;

<sup>2</sup>Centre Hospitalier Départemental Universitaire Zou, Ministère de la Santé, 02 B.P.050 Abomey, Bénin;

<sup>3</sup>Centre Hospitalier Universitaire de la Mère et de l'Enfant Lagune, Ministère de la Santé,

02 B.P.050 Cotonou, Bénin;

\*Auteur correspondant : email, Pascal Sossa ATCHADE, [atchadegb56@yahoo.fr](mailto:atchadegb56@yahoo.fr)

### RESUME

**Introduction :** La prise en charge du paludisme est une urgence médicale qui dépend du diagnostic et en particulier de la parasitémie du patient. Le comptage des parasites et des leucocytes en microscopie sur goutte épaisse (GE) est un socle dans l'estimation de cette parasitémie ou densité parasitaire (DP). **Objectif général :** ce travail visait à déterminer l'impact du taux des leucocytes par microlitre de sang sur l'établissement de la densité parasitaire. **Méthodes :** il s'agissait d'une étude prospective réalisée sur une population de 482 patients, consultés pour suspicion du paludisme au Centre Hospitalier Universitaire de la Mère et de l'Enfant Lagune (CHU-MEL) au Bénin, dans la période de Mai à Août 2015. Les densités parasitaires ont été calculées de deux manières : densité parasitaire standard (DPS) en utilisant le nombre de globules blancs standard 6000 défini par l'OMS comme coefficient de correction et densité parasitaire Réelle (DPR) qui utilise le nombre réel des globules blancs par microlitre de sang du patient. **Résultats :** Parmi les 482 échantillons testés, 40,66% contiennent de plasmodium. 81,54% des densités parasitaires standards calculées étaient sous-estimées contre 18,46% surestimées. La différence entre deux densités parasitaires d'un même patient a été significative ( $p < 0,005$ ). **Conclusion :** l'utilisation du coefficient 6000 dans l'estimation de la parasitémie, a entraîné une sous-estimation significative de la charge parasitaire et n'était pas adaptée à la réalité des patients consultés au CHU-MEL. L'étude suggérerait à l'OMS et aux autorités du Ministère de la santé, la subvention de la réalisation de la numération des globules blancs réels du malade pour toutes réalisations de Goutte épaisse-Densité parasitaire (GE-DP) afin d'assurer aux patients une meilleure prise en charge du paludisme et un bon suivi de l'évolution de leur traitement.

**Mots clés :** Densité parasitaire réelle, Densité parasitaire standard, Goutte épaisse, coefficient de correction CHU-MEL, BENIN

### ABSTRACT

**Introduction:** The taking in charge of malaria is a medical urgency depending on the diagnostic and in particular on the blood status parasitaemia of the patient. Parasites counting and leukocytes on microscopy with tick drop is a pedestal for the estimation of this parasitaemia or parasite density. **General objective:** this work aimed in determining the impact of leukocytes rate per microliter of blood on the establishment of parasite density. **Method:** it was about a prospective study realized on a population of 482 patients, consulted for suspicion of malaria at University hospital Center of Mother and Child of the Lagoon in CHU-MEL BENIN during the period of May to August 2015. The parasite densities have been calculated in two ways: standard parasite density (SPD) using the number of standard globules 6000 defined by WHO as correction coefficient real or parasite density (RPD) which uses real number of white globules per microliter of patient blood. **Results:** Among the 482 samples tested, 40.66% contained plasmodia. 81.54% of standard parasite densities calculated were under estimated versus 18.46% over estimated. The difference between the two parasite densities of a same patient was significative ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** The use of the coefficient 6000 in parasitaemia estimation trains a significative under estimation of parasitic charge and was not adapted to the reality of patients consulted at University hospital Center of Mother and Child of the Lagoon in BENIN. The study might suggest to the WHO and to the Health Ministry authorities the subvention of with globules enumeration for all realization of tick drop-parasite density to assure a better taking in charge of malaria and a good follow up of their treatment evolution.

**Keywords:** real parasite density, standard parasite densities, tick drop, correction coefficient CHU-MEL, BENIN

### INTRODUCTION

Le paludisme est un véritable problème de santé publique dans le monde et en Afrique subsaharienne en particulier [1]. Dans les

zones d'endémie palustre, cette affection reste l'une des principales causes de morbidité et de mortalité chez l'enfant [2]. On estime que, sur les 1,7 à 2,7 millions de décès annuels liés au

paludisme, environ 70 à 80 % surviennent chez les enfants de moins de 5 ans vivant en Afrique subsaharienne [3].

Au Bénin, selon l'annuaire des statistiques sanitaires généré par le SNIDGS (Système National d'Information et de Gestion Sanitaire) du Ministère de la santé du Bénin en 2011, le paludisme constitue la première cause de consultation et représente 41,7% de tous les cas enregistrés dans les formations sanitaires et 47,6% des cas chez les enfants âgés de moins de 5 ans [4]. Il constitue de ce fait, un défi majeur pour le système de santé et pour le développement [4]. La confirmation biologique systématique des cas suspects de paludisme avant tout traitement constitue la base essentielle de la politique nationale de prise en charge du paludisme [4 ; 5].

Les moyens diagnostiques de certitude habituellement utilisés sont le frottis sanguin (FS) et la goutte épaisse (GE) avec le calcul de la densité parasitaire (DP) établie à partir du nombre standard de leucocytes par microlitre de sang, (6 000 leucocytes / $\mu$ L de sang) ou avec le nombre de globules blancs réel du patient lorsqu'il est connu [4 ; 5 ; 6]. (6 000 leucocytes/ $\mu$ L) est adopté au Bénin au lieu de 8000 leucocytes/ $\mu$ L recommandés par l'OMS [4 ; 5]

Il existe cependant, chez certains patients un écart significatif entre le nombre de globules blancs standard, servant à calculer la densité parasitaire standard (DPS) et le nombre de globules blancs réel des patients qui sert à calculer la densité parasitaire réelle (DPR) lorsque la numération leucocytaire est faite.

Nous nous sommes demandés, si la valeur 6000 n'impactait pas (surestimation ou sous-estimation) des résultats de Densité Parasitaire (DP) des patients dont la numération leucocytaire n'était pas faite ? Un tel biais pourrait avoir des répercussions importantes, sur la prise en charge du paludisme, qui font un lien entre symptômes et densité parasitaire d'une part, et d'autre part, entre densité parasitaire et efficacité du traitement anti palustre.

Le présent travail a eu pour objectif général de déterminer l'impact du taux réel de leucocytes par microlitre de sang sur l'établissement de la densité parasitaire au cours du paludisme à *Plasmodium falciparum* chez les patients consultés au CHU-MEL au BENIN.

## MATERIEL ET METHODES

### Type et population d'étude

Il s'est agi d'une étude prospective qui s'est déroulée de Mai à Août 2015 chez les patients consultant le CHU-MEL. L'étude a porté sur 482 patients admis au laboratoire du CHU-MEL et répondant à un certain nombre de critères. Ainsi, ont été inclus dans cette étude : tous les patients suspectés du paludisme et ayant sur leur bulletin d'examen GE/DP ou FS-DP sans distinction d'âge de sexe ni de nationalité et ne souffrant d'aucune autre pathologie fébrile évidente (insuffisance respiratoire aiguë, infections ORL, etc.).

Les enfants présentant une infestation mixte n'ont pas été retenus dans l'étude. Les patients suspects de paludisme sous traitement ont été également exclus. Un prélèvement d'environ 3 ml de sang veineux sur tube EDTA pour chaque patient, a été réalisé.

Des frottis sanguins et goutte épaisse ont été confectionnés et colorés selon la technique préconisée par la procédure de standardisation du diagnostic biologique du paludisme.

Chez chaque patient inclus, deux lames comportant chacune, une goutte épaisse et un frottis sanguin sont confectionnés à partir du sang veineux et colorés au MGG.

Les frottis sanguins ont servi à faire le diagnostic de l'espèce plasmodiale et les gouttes épaisses ont permis de calculer la densité parasitaire. Le comptage des leucocytes a été fait manuellement et par l'analyseur d'hématologie KX-21™.

Pour l'établissement de la densité parasitaire, les trophozoïtes ont été décomptés concomitamment à 200 leucocytes. Un contrôle de qualité par une relecture des lames a été fait par un autres microscopistes. En cas d'écart de plus de 5 % entre les résultats des deux lectures, la moyenne arithmétique des résultats a été alors retenue.

Les densités parasitaires ont été calculées de deux manières. La première méthode de calcul a été celle de l'OMS établie à partir du nombre de leucocytes par microlitre de sang, fixé à 6 000/ $\mu$ L (DPS) et la seconde a utilisant le nombre de leucocytes réel du patient (DPR).

### Analyse des résultats

Les informations recueillies à propos de la numération des globules blancs et de la goutte épaisse ainsi que les résultats ont été saisies et analysées avec le tableur Excel 2010 et les

logiciels Epi Data 3.1 et Stata dans sa version SE/11.

Une étude analytique a permis d'établir une comparaison entre les deux types de calcul de D.P. Les différents pourcentages ont été comparés à l'aide du test de Student. Pour l'ensemble des tests  $p < 0,05$  a été considéré comme statistiquement significative avec un intervalle de confiance égale à 95%.

### RESULTATS

La population d'étude était constituée d'enfants et d'adultes des deux sexes. Les patients de sexe féminin représentaient 62,24% (300/482) contre 37,76% (182/482) pour les patients de sexe masculin, soit un sexe ratio de 1,65 (300/182) en faveur du sexe féminin.

Les enfants de moins de cinq ans étaient plus représentés soit 52,90% (255/482) (Tableau I). 40,66% des patients étaient atteints du paludisme (Tableau II), 85,20 % (167 /196) des patients impaludés étaient hospitalisés.

Les enfants de moins de cinq ans représentaient la majeure partie des sujets impaludés soit 60,20% (Tableau III)

Le nombre médian du taux réel de leucocytes était de 10920 avec un écart interquartile de 10 380 et des taux extrêmes de 2400 et de 74000 (Tableau IV).

Un seul des 196 patients avait un nombre de leucocyte égal à 6000. Une différence considérée comme statistiquement significative a été constatée après comparaisons des deux médianes de densité parasitaires (DPS= 7775,5 et DPR =12510,5) (Tableau V).

99,5% des résultats étaient discordants contre 0,5% concordant et 81,54% des résultats discordants étaient surestimés contre 18,46% sous-estimés.

**Tableau I :** Répartition des patients suivant la tranche d'âge et le sexe

Age	[0 ; 5[	[5 ; 15[	≥ 15	Total
<b>Sexe</b>				
Masculin	127	41	14	182 (37,76%)
Féminin	128	46	126	300 (62,24%)
<b>Total</b>	<b>255</b>	<b>87</b>	<b>140</b>	<b>482 (100%)</b>

**Tableau II :** Prévalence globale du portage parasitaire

	Nombre de cas	Total
Négatif	286	59,34%
Positif	196	40,66%
<b>Total</b>	<b>482</b>	<b>100%</b>

**Tableau III :** Prévalence du paludisme suivant la tranche d'âge

Age	[0 ; 5[	[5 ; 15[	≥ 15	Total
<b>GE/DP</b>				
GE/DP+	118	48	30	196 (40,66%)
GE/DP-	137	39	110	286 (59,34%)
<b>Total</b>	<b>255</b>	<b>87</b>	<b>140</b>	<b>482 (100%)</b>

**Tableau IV :** Caractéristique du taux réel de leucocytes

<b>Leucocytes</b>	
Médiane (Leucocyte/ $\mu$ L)	10920
EIQ	[6660-17040]
Valeurs extrêmes	2400-74000
<b>Total</b>	<b>196</b>

**Tableau V :** Caractéristiques comparatives des parasitémiées obtenues par les deux méthodes de calcul (DPS et DPR)

	DP standard	DP réelle	P value
Médiane (Leucocyte/ $\mu$ L)	7775.5	12510,5	
EIQ	[1294-24676.5]	[2180.5 - 41573.5]	0,0029
Valeurs extrêmes	34- 591340	35- 711010	
<b>Total</b>			<b>196</b>

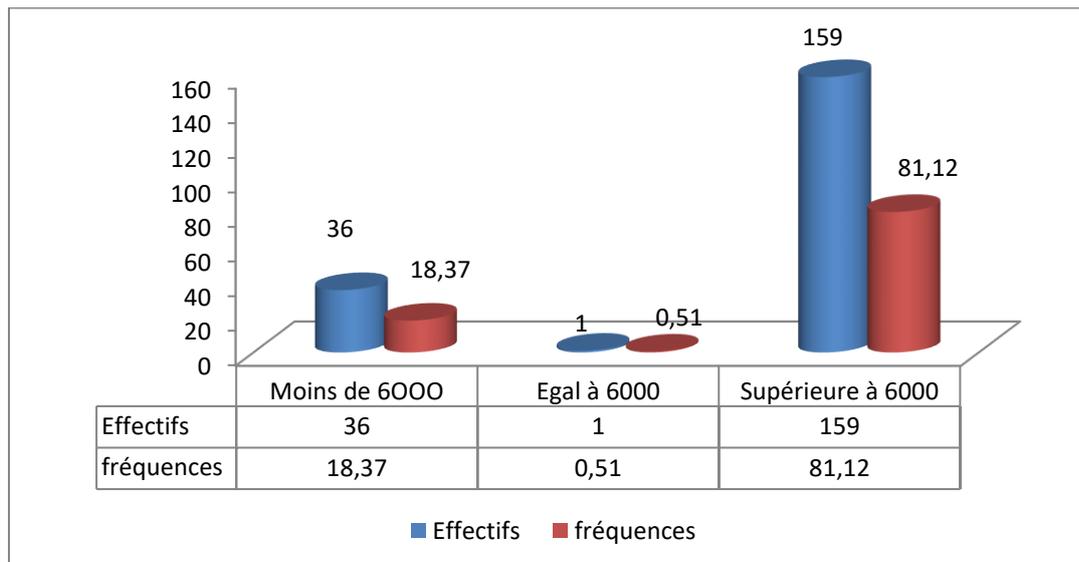


Figure 1 : Répartition du taux réel de leucocyte par rapport à la valeur standard 6000

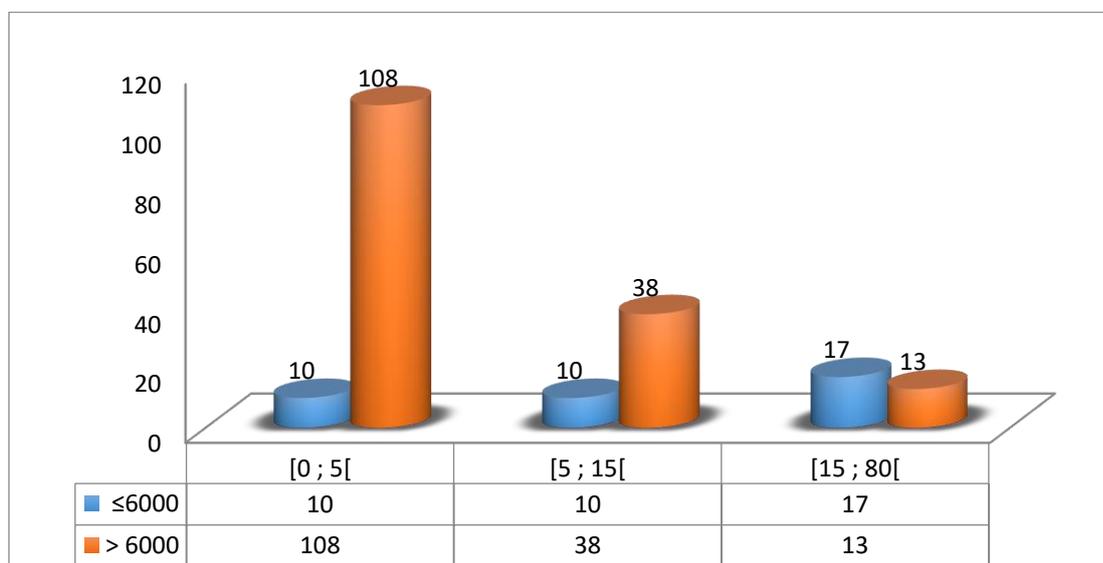


Figure 2 : Répartition du taux réel des leucocytes suivant les tranches d'âges.

La probabilité pour qu'un patient ait un nombre de leucocyte égal à 6000 dans l'étude était donc de 0,051 (Figure 1). La tranche d'âge des moins de 5 ans était celle contenant le plus grand nombre de patients ayant un taux de leucocyte supérieur à 6000 avec un pourcentage de 67,92 (Figure 2).

### DISCUSSION

Cette étude réalisée au Centre Hospitalier Universitaire de la Mère et de L'Enfant-Lagune a eu pour objectif principal, la détermination de l'impact du taux réel de leucocytes par micro-litre de sang sur l'établissement de la densité parasitaire au cours du paludisme à *Plasmodium falciparum* chez les patients consultés au laboratoire du CHU-MEL. Au terme de cette étude, il ressort que parmi les 482 GE / DP réalisées, 196 patients hébergeaient le parasite du paludisme, soit une prévalence du paludisme de 40.66%. Parmi ces 196 cas de paludisme diagnostiqués, la tranche d'âge des

moins de 5 ans a été la plus affectée avec une prévalence de 60,20%. Les densités parasitaires étaient calculées d'une part avec le facteur 6000 leucocytes/ $\mu$ L et d'autre part avec le taux réel de leucocytes. La différence globale observée entre les deux types de densités parasitaires était statistiquement significative ( $p < 0,05$ ). Les très fortes parasitémies observées au cours de l'étude pourraient s'expliquer par l'âge relativement jeune ( $< 5$  ans) des enfants inclus dans l'enquête. La valeur médiane de 10920 leucocytes / $\mu$ L de sang observée est nettement supérieure au coefficient standard 6000 leucocytes/ $\mu$ L recommandé par le pro-

gramme National de lutte contre le paludisme au Bénin. Ce taux de leucocyte élevé pourrait s'expliquer par le fait que l'étude a pris en compte majoritairement les enfants, les nouveaux nés de même que leur mère qui fréquentent le Centre Hospitalier Universitaire de la Mère et de l'Enfant Lagune.

L'utilisation du coefficient 6 000 leucocytes/ $\mu$ L dans le calcul de la densité parasitaire serait donc inadaptée à la réalité au CHU-MEL. Nos résultats corroborent avec ceux de McKenzie *et al.* 2005, qui avaient noté des médianes de leucocytes plus basses que les nôtres en Thaïlande en 1998 et au Pérou en 1999[8]. Nos résultats sont semblables à ceux de Adu-Gyasi *et al.*, en 2012 au Ghana [9], qui ont trouvé une médiane de 10 000 leucocytes/ $\mu$ L. Ces auteurs ont aussi démontré que la densité parasitaire calculée avec un coefficient de 10 000 se rapprochait plus de celle obtenue avec le nombre réel de leucocytes du patient et s'écartait de celle calculée avec la valeur de 8 000 leucocytes/ $\mu$ L, recommandée par l'OMS. Nos résultats contrastaient avec ceux de A.M.Dorkenoo *et al.*, en 2013 qui ont trouvé que l'utilisation du coefficient 8 000 leucocytes/ $\mu$ L dans le calcul de la densité parasitaire au cours de l'infestation à *P. falciparum* était adaptée chez les enfants âgés de 6 mois à 5 ans au Togo [3].

Nos résultats diffèrent de ceux de Jeremiah *et al.* au Nigéria [10], qui ont noté une surestimation de la densité parasitaire obtenue avec le coefficient 8 000. La très forte proportion de discordance des DP calculées par la méthode standard et celle calculée avec le compte des blancs et le pourcentage très élevé des patients ayant une densité parasitaire surestimée, montrait que l'utilisation du coefficient 6000 leucocytes/ $\mu$ L ne rendait pas compte de la réalité dans notre étude, d'autant plus que, la valeur de la densité parasitaire est un des facteurs de gravité du paludisme selon l'OMS. Aussi, le suivi du traitement dans la pris en charge du paludisme se fait surtout sur la base de l'évolution de la densité parasitaire

### CONCLUSION

Cette étude prospective a été menée dans la période de Mai à Août 2015 sur 482 patients, venus en consultation au laboratoire du CHU-MEL pour suspicion de paludisme. Nous y avons étudié l'impact du taux réel de leucocytes par microlitre sur l'établissement de la densité parasitaire au cours du paludisme à *Plasmodium falciparum*. Nous avons retenu qu'il existe un écart statistiquement significatif entre la densité parasitaire réelle et la densité

parasitaire standard  $p < 0,05$ . Le calcul de la densité parasitaire avec le coefficient 6000 introduit un biais dans le calcul de la densité parasitaire des patients du CHU-MEL et n'est donc pas adapté aux patients de 6 mois à 5ans qui fréquentent le centre. La prise en charge de ces enfants de même que le suivi de leur traitement sur la base de la densité parasitaire méritent d'être améliorés.

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Nkoussa Stéphanie, Comportements de la mère et prévalence du paludisme chez les enfants de moins de cinq ans au Cameroun. Mémoire pour l'obtention du diplôme de master professionnel en démographie 2012, 94.
- [2] Hien S, Angbo K MA, Dasse SR, Yeboah Or, N'guessan K, Kouacou APV, Sombo MF. L'haptoglobine chez les enfants atteints de paludisme grave a *Plasmodium falciparum* de 0 à 15 ans : relations avec l'âge, la parasitémie et le taux d'hémoglobine *Journal of Applied Biosciences* 2014, 76:6425-6432.
- [3] A.M.Dorkenoo, Y. Layibo Y.M. Agbo, K. Morgah, D Agbèrè. Numération leucocytaire et densité parasitaire dans le paludisme simple chez les enfants âgés de 6 mois à 5 ans en milieu urbain au Togo. *Médecine tropicale* 2013,23: 4.
- [4] Programme National de Lutte contre le Paludisme, Ministère de la Santé du BENIN :Manuel de procédures opérationnelles standardisées du diagnostic biologique du paludisme. *Cotonou* 2013,65 : 1-3 et 11-38.
- [5] Organisation Mondiale de la Santé, Module de formation à la lutte contre le paludisme : prise en charge du paludisme, guide du participant 2014, Genève 27,119 : 22- 25.
- [6] Organisation Mondiale de la Santé, Guide pratique pour la prise en charge du paludisme grave, 2013, 3<sup>ème</sup> édition Genève 27,83 : 11-14.
- [7] Jain M, Kaur M. Comparative study of microscopic detection methods and haematological changes in malaria. *Indian J Patholmicrobiol* 2005, 48: 464-467.
- [8] McKenzie FE, Prudhomme WA, Magill AJ, *et al.* White blood cell counts and malaria. *J Infect Dis* 2005, 192: 323-330.
- [9] Adu-Gyasi D, Adams M, Amoako S, *et al.* Estimating malaria parasite density: assumed white blood cell count of 10,000/ $\mu$ L of blood is appropriate measure *Central Ghana. Malar J* 2012, 11: 238.
- [10] Jeremiah ZA, Uko E.K. Comparative analysis of malaria parasite density using actual and assumed white blood cell counts. *Ann Trop Paediatr* 2007, 27: 75-79.