

### Liste des Abréviations

**AC:** Anticorps

**CCMH:** Concentration corpusculaire Moyenne en hémoglobine

**CLSI:** Clinical and Laboratory Standards institute

**CRF:** Care Report Form

**dl:** décilitre

**EDTA:** Acide-Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique

**fl:** femto litre

**g:** gramme

**GB:** Globules blancs

**GR:** Globules rouges

**GRA:** Granulocyte

**H:** Heure

**Hb:** Hémoglobine

**Ht:** Hématocrite

**IC:** Intervalle de confiance

**ID:** Numéro d'identification

**IDR:** Indice de distribution des globules rouges

**l:** Litre

**LMIV:** Laboratory Malaria Immunology and Vaccine

**LNK:** Lymphocyte Natural Killer

**LK:** Lymphocyte Killer

**LT:** Lymphocyte T

**LYM :** Lymphocyte

**µl:** Microlitre

**µm:** Micromètre

**MGG:** May Grunwald Giemsa

**MON:** Monocyte

**MRCT:** Malaria research and training center

**USTTB :** Université des Sciences Techniques et Technologique de Bamako

**pg :** picogramme

**PNB:** Polynucléaire basophile

**PNE:** Polynucléaire éosinophile

**PNN:** Polynucléaire neutrophile

**PLT:** Plaquette

**SA:** Semaine d'aménorrhée

**TCMH:** Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine

**VGM:** Volume globulaire moyen

**VPM:** Volume plasmatique moyen

|

### Liste des Tableaux

<b><u>Tableau I</u></b> : Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes indépendamment de l'âge de la grossesse à Ouélessébougou.....	22
<b><u>Tableau II</u></b> : Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes au premier trimestre de la grossesse à Ouélessébougou.....	23
<b><u>Tableau III</u></b> : Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes au second trimestre de la grossesse à Ouélessébougou.....	24
<b><u>Tableau IV</u></b> : Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes au troisième trimestre de grossesse à Ouélessébougou.....	25
<b><u>Tableau V</u></b> : Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes à l'accouchement à Ouélessébougou.....	26
<b><u>Tableau VI</u></b> : Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes pendant la saison des pluies (Juillet - Décembre) à Ouélessébougou.....	27
<b><u>Tableau VII</u></b> : Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes pendant la saison sèche (Janvier - Juin) à Ouélessébougou.....	28
<b><u>Tableau VIII</u></b> : Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les enfants d'un mois à Ouélessébougou.....	29
<b><u>Tableau IX</u></b> : Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les enfants de 2 à 11 mois à Ouélessébougou.....	30
<b><u>Tableau X</u></b> : Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les enfants de 12 à 59 mois à Ouélessébougou.....	31

**Liste des Figures**

**Figure 1**: Commune de Ouélessébougou: Mali..... 13

**Figure 2** : Carte de la commune montrant les aires de santé..... 13

<b>Table des matières</b>	<b>Page</b>
1. Introduction: .....	1
2. Objectifs : .....	3
2.1. Objectif général .....	3
2.2. Objectifs spécifiques .....	3
3. Généralités sur l'hémogramme : .....	4
3.1. Définition de l'hématologie : .....	4
3.2. Principes de fonctionnement des automates : .....	4
3.3. Les paramètres de l'hémogramme : .....	5
3.3.1 Etude quantitative .....	6
3.3.1.1 Numération des globules rouges : .....	6
3.3.1.2. Numération des globules blancs : .....	8
3.3.1.3. Numération des plaquettes .....	9
3.3.2. Etude qualitative .....	10
4. Méthodologie.....	11
4.1. Cadre et lieu d'étude : .....	11
4.2. Type d'étude : .....	13
4.3. Période d'étude : .....	13
4.4. Population d'étude : .....	13
4.5. Consentement, Enrôlement et Recrutement des participantes : .....	13
4.6. Critères d'inclusion de la cohorte.....	14
4.7. Critères de non inclusion.....	14
4.8. Taille de l'échantillon.....	15
4.9. Organisation du travail .....	15
4.10. Critères d'inclusion de l'étude.....	17
4.11. Variables mesurées.....	17
4.12. Considérations éthiques : .....	20
4.13. Gestion et analyse des données. ....	20
5. RESULTATS : .....	21
6. Discussion .....	32
7. Conclusion.....	36
8. Recommandations .....	36
9. <u>Bibliographie</u> .....	37

## 1. Introduction:

Les valeurs de référence visent à décrire les différentes valeurs que peuvent prendre les résultats des tests de biologie médicale chez les sujets (humains ou animaux) en bonne santé d'un groupe d'individus définis[1]. Un test biologique est, en médecine, un examen de biologie médicale dont le but est de compléter l'examen médical du patient et d'apporter des informations complémentaires. Ces examens sont prescrits dans un but de dépistage, de diagnostic ou de surveillance.

Dans les pays émergents, les examens cliniques sont accompagnés de tests biologiques. En France en 1999, les consultations de médecine générale ont comporté une prescription d'examen complémentaire dans 17 à 22 % des cas, dont les trois quart sont des examens biologiques et un quart des examens d'imagerie [2], et ces résultats sont interprétés en fonction des valeurs de référence de leur population.

De plus en plus les pays en voie de développement effectuent les examens biologiques et l'interprétation des résultats de ces examens se fait selon les valeurs de référence qui dépendent d'une part de l'âge, du sexe ou de l'état physiologique de l'individu, des facteurs environnementaux et d'autre part de la méthode utilisée par le laboratoire. Les références des paramètres biologiques que les laboratoires utilisent proviennent des données récoltées en Europe ou en Amérique[3], et ces valeurs peuvent être différentes pour un autre type de population. Plusieurs études ont montré que le profil hématologique de la population caucasienne est différent de celui de la population Africaine [4-8]. Des études menées sur la population Africaine par Yapo en Côte d'Ivoire [9], Boum et Tantchou au Cameroun[10], Acker au Congo[11], Dulat C sur les français vivant au Mali [12] ainsi que Castro et al sur les Afro Américains [13] ont montré qu'il existe des différences significatives entre les valeurs moyennes de certains paramètres biologiques de l'Africain et de l'Européen. Ces différences seraient dues entre autres à des variations d'ordre nutritionnel et environnemental[14]. Peu d'études ont fait l'objet de la connaissance de ces valeurs de référence hématologiques sur la population Africaine et singulièrement chez les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans. Si on tient compte de ces différences on ne doit donc pas transposer les valeurs de référence d'une population à une autre. C'est ainsi qu'au cours d'une étude coopérative internationale sur la transférabilité des valeurs de référence, Vincent-Viry et collaborateurs avaient conclu à la nécessité d'établir des valeurs de référence adaptées à l'origine géographique et prenant en compte le facteur ethnique en Afrique[15]. L'établissement des valeurs de référence revêt une importance capitale pour une population

donnée au double plan scientifique et diagnostique[16]. En outre, avec le développement de médicament et de vaccin contre les maladies infectieuses en Afrique, il est indispensable d'évaluer l'efficacité et la tolérance des candidats dans des populations saines. Pour évaluer avec précision l'état de santé et les événements indésirables, des intervalles de référence cliniques dans la population cible sont nécessaires. La première tâche de tout biochimiste doit être l'établissement des valeurs de référence de sa population de travail, la valeur de référence étant celle obtenue par l'observation ou la mesure sur un individu de référence et sélectionné à l'aide de critères bien définis [17]. Différentes études réalisées [18-22] appuient cette idée.

Au Mali, quelques études ont été menées sur les paramètres hématologiques : celle de Donéguébougou portant sur l'étude de quelques paramètres hématologiques et biochimiques [23], deux à Bamako portant sur l'étude de la variation des paramètres biochimiques et hématologiques dans le district de Bamako [24] et celle de Diallo et al portant sur les valeurs de référence érythrocytaires et leucocytaires chez les nouveaux nés [25].

Les études sur les valeurs de référence sont essentielles pour l'interprétation des résultats des tests de laboratoire et la fourniture de services de qualité dans la prestation des soins de santé. Le but de ce travail est de déterminer les valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans à Ouélessébougou.

## **2. Objectifs :**

### **2.1. Objectif général:**

Etudier les valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans à Ouélessébougou.

### **2.2. Objectifs spécifiques:**

- Déterminer les valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes en fonction de l'âge de la grossesse.
- Déterminer les valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme par classes d'âge chez les enfants de moins de 5 ans à Ouélessébougou.

### 3. Généralités sur l'hémogramme :

#### 3.1. Définition de l'hématologie :

L'hématologie est la branche de la médecine qui étudie le sang et ses maladies (ou hémopathies). Elle étudie plus particulièrement les cellules sanguines dont l'origine est hématopoïétique (synthèse de ces cellules dans la moelle osseuse) et qui ont un rôle pour l'oxygénation, l'immunité et la coagulation, et étudie également certaines molécules plasmatiques que sont les facteurs de coagulation.

L'exploration de l'hématopoïèse commence en routine par l'hémogramme qui est aussi appelé numération formule sanguine. Le premier terme est le plus approprié à l'analyse réalisée, car les deux versants quantitatifs et qualitatifs de l'étude sont inclus dans la terminologie « hémogramme ». En effet, l'hémogramme a pour but de quantifier (numération) et de qualifier (frottis sanguin érythrocytaire) les éléments figurés du sang [4]. Le sang est un milieu complexe qui est constitué d'une phase liquidienne appelée plasma dans laquelle se trouve en suspension des cellules appelées éléments figurés du sang (globules rouges, globules blancs et les plaquettes). Le plasma est constitué par de l'eau, des éléments minéraux et des substances organiques. Après coagulation, le plasma dépourvu de fibrinogène constitue le sérum. La réalisation d'un hémogramme est un examen simple, peu coûteux, standardisé et automatique.

Son interprétation fine nécessite parfois l'appel à l'œil du cyto-hématologiste. L'hémogramme est de plus en plus réalisé par des automates.

#### 3.2. Principes de fonctionnement des automates :

Deux procédés sont utilisés par les appareils de mesure : [26]

- La détection du volume des particules par variation d'impédance : cette technique a été mise au point par COULTER. Le principe repose sur la détection de la charge électrique spécifique à chaque type de cellule. Les cellules sont mises en suspension dans un conducteur fluide. A leur passage à travers un orifice, elles provoquent des vibrations mesurables. Le nombre de vibrations indique le nombre de particules. Chaque particule est identifiée puisque l'amplitude de chaque vibration est proportionnelle au volume de la particule.

- La détection optique consiste à faire passer le sang dans un micro canal dont le très faible diamètre contraint les cellules à passer une par une. Ce micro canal est traversé transversalement par un faisceau lumineux. L'interaction comporte également une diffusion et une diffraction de la lumière dépendant de plusieurs paramètres dont la taille et la forme de la

cellule. La lumière est essentiellement recueillie par une cellule photoélectrique et chaque variation d'intensité lumineuse est convertie en signal électrique.

### 3.3. Les paramètres de l'hémogramme :[4]

L'hémogramme permet de mesurer le nombre absolu de cellules contenues par unité de volume de sang.

Le compte rendu d'un hémogramme doit comprendre au minimum les valeurs :

- de l'hémoglobine ;
- de l'hématocrite ;
- de la numération des érythrocytes ;
- des principales constantes érythrocytaires :
  - Volume Globulaire Moyen (VGM) ;
  - Volume plasmatique Moyen (VPM) ;
  - Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH) ;
  - Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (TCMH) et
  - Indice de distribution du globule rouge (IDR).
- de la numération des leucocytes avec établissement d'une formule détaillant le nombre de polynucléaires neutrophiles, éosinophiles, basophiles, de monocytes et de lymphocytes (et d'éventuelles autres cellules circulantes) ;
- de la numération des plaquettes.

Les constantes érythrocytaires les plus utiles au praticien sont le Volume Globulaire Moyen (VGM) et la Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH).

Ces constantes sont utilisées en clinique pour classer une anémie : anémie normocytaire, microcytaire ou macrocytaire en fonction du VGM, anémie normochrome ou hypochrome en fonction de la CCMH.

Les réticulocytes ne font pas partie de l'hémogramme systématique. S'ils sont comptés, la communication du résultat en valeur absolue est à encourager. Cette valeur ne peut être appréciée qu'en tenant compte du taux d'hémoglobine.

Les valeurs de la numération des différents types de leucocytes doivent être fournies sous forme de valeurs absolues. (Les pourcentages n'ont pas d'intérêt clinique et sont une source de confusion). Ils ne devraient plus figurer parmi les résultats rendus. Certains indices ou courbes de distribution, concernant les différentes cellules sanguines, fournis par les automates actuels apportent des informations complémentaires utiles au biologiste dans le cadre de l'analyse des résultats de l'hémogramme. Ils ne doivent pas, en dehors d'un contexte

spécialisé, être systématiquement communiqués au praticien mais peuvent venir préciser le commentaire et la conclusion du biologiste qui doivent accompagner tout hémogramme.

### **3.3.1 Etude quantitative**

#### **3.3.1.1 Numération des globules rouges :**

Pour les mesures quantitatives sur les globules rouges et leur contenu, la quantité de globules rouges présente dans un échantillon de sang peut être appréciée par trois paramètres; le nombre de globules rouges, l'hématocrite et le taux d'hémoglobine. En pratique ces trois paramètres sont déterminés simultanément car ils permettent de calculer les constantes érythrocytaires.

Le globule rouge ou hématie est une cellule anucléée ayant la forme d'un disque biconcave, mesurant entre 7 et 8  $\mu$  m de diamètre contenant de l'hémoglobine. Après coloration par la technique de May Grunwald Giemsa (MGG), le globule rouge apparaît en microscopie optique comme un disque coloré en rose ou en orangé présentant une dépression centrale claire. Le globule rouge assure le transport de l'oxygène des poumons vers les tissus et le gaz carbonique des tissus vers les poumons. La durée de vie moyenne est de 120 jours.

Tous les globules rouges ont sensiblement la même taille, la même forme, la même coloration et ne contiennent pas d'inclusion intra cytoplasmique. Toute modification de ces critères traduit un phénomène pathologique. La numération peut s'opérer manuellement à l'aide d'une cellule appelée hématimètre, de plus en plus elle est automatisée grâce à des compteurs automatiques. Le nombre de globules rouges varie en fonction de l'âge et du sexe de l'individu.

##### **➤ Hématocrite :**

Il représente le volume occupé par les globules rouges dans un volume sanguin donné, prélevé sur anticoagulant. Il est obtenu manuellement par centrifugation rapide. Sa valeur est calculée de plus en plus par les automates à partir du volume globulaire moyen. L'hématocrite varie en fonction de l'âge et du sexe.

##### **➤ Taux d'hémoglobine :**

On dose l'hémoglobine dans un échantillon de sang par diverses méthodes, notamment celle du cyan-méthémoglobine dans laquelle l'hémoglobine et tous ses dérivés sont transformés par un réactif à base d'acide cyanhydrique en cyan-méthémoglobine qui est dosé sur un spectrophotomètre à 540 nm. Les résultats sont exprimés par 100 ml de sang.

➤ **Volume et contenu des globules rouges :**

Le contenu des globules rouges dépend de la quantité d'hémoglobine synthétisée au cours de l'érythropoïèse et du volume de l'hématie. On les apprécie essentiellement par le calcul de l'indice de distribution des globules rouges et des constantes dites de Wintrobe: volume globulaire moyen (VGM), concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH), teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH)

- **Volume globulaire moyen (VGM) :**

C'est le rapport entre le taux d'hématocrite et le nombre de globule rouge. Les résultats sont exprimés en femtolitre (fl).

$$\text{VGM} = \frac{\text{Hte (l/l)}}{\text{Nombre de GR / l}}$$

On parle de microcytose lorsque cette valeur est inférieure à la normale, de macrocytose lorsqu'elle est élevée et de normocytose lorsqu'elle est normale.

**Remarque :** Il existe chez le petit enfant (4 mois à 2 ans) une microcyte qui semble physiologique.

- **Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH):**

Cette constante est obtenue en rapportant le taux d'hémoglobine et le taux d'hématocrite. Les résultats sont exprimés en g/dl

La CCMH peut être abaissée quand le contenu en hémoglobine des globules rouge par unité de volume est insuffisant: il y a hypochromie. Lorsque la CCMH est normale il y a normochromie. En revanche, il n'existe pas d'hyperchromie.

$$\text{CCMH} = \frac{\text{Hb (g/l)}}{\text{Hte (l/l)}}$$

- **Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (TCMH):**

La TCMH a moins d'intérêt physiologique que la CCMH ou le VGM. Elle s'obtient en rapportant le nombre de globules rouges à l'hémoglobine. Le résultat s'exprime en picogramme par cellule.

Les valeurs normales dépendent à la fois du contenu en hémoglobine par unité de volume et du volume globulaire.

- **L'indice de distribution des globules rouges (IDR) :**

Il mesure l'anisocytose, la variabilité de taille des globules rouges. Il correspond au coefficient de variation du volume des hématies exprimé en pourcentage.

➤ **Numération des réticulocytes :**

Les réticulocytes sont des globules rouges jeunes qui se transforment en globules rouges matures au bout de 24 à 48 heures après leur passage dans le sang. Ces cellules sont caractérisées par une substance réticulofilamenteuse mise en évidence après coloration par le bleu de méthylène. La durée de vie des globules rouges est d'environ 120 jours. Ces réticulocytes représentent donc environ 1% des globules rouges. La numération se fait manuellement le plus souvent à l'aide d'un frottis coloré par le bleu de crésyl brillant. Le nombre de réticulocyte est déterminé à partir d'un compte cellulaire portant sur 1000 globules rouges.

**3.3.1.2. Numération des globules blancs :**

Les globules blancs ou leucocytes sont des cellules nucléées du sang et qui jouent le rôle de défense de l'organisme. Le comptage des globules blancs est fait sur le même prélèvement que les globules rouges et par le même appareil. Il y a différentes catégories de globules blancs. On distingue :

➤ **Les polynucléaires :**

Il s'agit des cellules caractérisées par un noyau polylobé et un cytoplasme granuleux. On distingue dans ce groupe trois types morphologiques mesurant entre 12-15  $\mu\text{m}$  de diamètre.

- **Polynucléaire neutrophile (PNN) :**

Cette cellule est caractérisée par des granulations de couleur mauve. La durée de vie de la cellule dans le sang est courte entre 6-12H. Elle a des propriétés de phagocytose, bactéricide et de fonction de défense antimicrobienne de l'organisme. Le taux sanguin chez l'adulte est compris entre 45-75% soit en valeur absolue  $1,7-7,5 \times 10^9 / \text{l}$ .

- **Polynucléaire éosinophile (PNE) :**

Elle se caractérise par de gros grains orangés dans le cytoplasme. Ces cellules représentent 1-5% de globule blanc soit en valeur absolue  $0,05-0,5 \times 10^9 / \text{l}$ . Elle est spécialisée dans la lutte antiparasitaire. La durée de séjour dans le sang varie entre 3 à 6 H.

- **Polynucléaire basophile(PNB) :**

Il est caractérisé par des grosses granulations de couleur brun foncé et représente entre 0-0,5% soit en valeur absolue de chiffre  $\leq 0,0510^9/l$ . Il séjourne dans le sang entre 12 à 24H et se transforme dans le tissu en mastocyte. IL intervient dans les réactions d'hypersensibilité.

➤ **Les cellules mononuclées**

- **Monocytes**

Il s'agit des cellules à un seul noyau mesurant entre 15 et 20  $\mu\text{m}$  de diamètre. Leur noyau est typique en E et leur cytoplasme a des contours réguliers et contient une poussière fine de granulations rouges qui se projette sur un fond bleu et donne à la cellule un aspect grisâtre. Les monocytes représentent 2-10% soit en valeur absolue  $0,1-1 \times 10^9 /l$ . Ils ont des propriétés de phagocytose de synthèse biochimique et de fonction de défense immunitaire, ils se transforment dans les tissus en macrophages après un séjour de 2 jours dans le sang.

- **Lymphocytes :**

Ils mesurent entre 8 et 15  $\mu\text{m}$  de diamètre et sont constitués de noyau unique et de cytoplasme bleu pouvant contenir des grains ou non. Ils représentent 20 à 40 % des globules blancs soit en valeur absolu  $1,5-4 \times 10^9/l$  chez l'adulte et  $6-7 \times 10^9/l$  durant les deux premières années de vie. Ils sont le support de l'immunité spécifique et se distinguent en différents groupes :

Lymphocyte B : support à médiation humorale faisant intervenir la défense du corps (AC).

LT, LK, LNK sont des supports à médiation cellulaire.

Les lymphocytes assurent la défense contre les bactéries, virus, parasites et sont capables de lyser les cellules tumorales et même normales.

### **3.3.1.3. Numération des plaquettes**

Ce sont des sacs cytoplasmiques de petite taille mesurant entre 2 à 4  $\mu\text{m}$  de diamètre. La durée de vie dans le sang est comprise entre 7-10 jours. Les plaquettes sont les principales actrices de l'hémostase primaire. Les compteurs électroniques les plus perfectionnés assurent simultanément sur le même prélèvement des comptes de globules rouges, des globules blancs et des plaquettes.

### **3.3.2. Etude qualitative**

Elle est réalisée en étalant une fine goutte de sang sur une lame de verre et en l'examinant au microscope après coloration. Le colorant le plus utilisé est le May Grunwald Giemsa (MGG). Cet examen au microscope permet d'étudier la morphologie des hématies et de faire «la formule sanguine». Elle permet en outre de différencier les lymphocytes, les polynucléaires neutrophiles, basophiles et éosinophiles et les cellules immatures éventuelles. Cette technique est communément appelée 'frottis mince'.

## 4. Méthodologie

### 4.1. Cadre et lieu d'étude :

C'est dans le cadre d'une étude de cohorte longitudinale qui s'intitule « Facteurs de l'hôte et du parasite qui influencent la susceptibilité au paludisme infection et maladie pendant la grossesse et la petite enfance à Ouélessébougou et à Bamako au Mali », que nous avons voulu faire une étude sur les paramètres de l'hémogramme afin d'établir les valeurs de référence dans cette population. Notre étude s'est déroulée à Ouélessébougou dans le cercle de Kati, région de Koulikoro. La ville de Ouélessébougou est située approximativement à 80km au sud de Bamako, capitale du Mali, sur la route nationale Bamako-Sikasso N°7 (RN-7). La population est estimée à 50.335 habitants en 2012 (Enquête RGPH 2009). Elle abrite un centre de santé de référence, un centre de recherche clinique basé au Centre de Santé Communautaire et où se déroule depuis 2008 des études cliniques sur le paludisme et d'autres maladies infectieuses. Il y existe une clinique privée, deux officines de pharmacie et deux dépôts de vente de médicaments. Le district compte 14 aires de santé. En 2008, dans la ville de Ouélessébougou le taux d'incidence du paludisme clinique chez les moins de cinq ans était de 1,99 épisodes/enfant/an et le taux d'incidence du paludisme grave selon les critères de l'OMS était d'environ 1-2% dans cette tranche d'âge pendant la saison de transmission.

#### ➤ Présentation de la commune

##### - Historique

Le village de Ouélessébougou a été fondé au 18<sup>ème</sup> siècle par un cultivateur du nom de Wéressé. Avec les déformations linguistiques ce nom est devenu Wélessé d'où l'appellation : Ouélessébougou « la case de Wélessé ».

La tradition bambara reste très vivace et est illustrée par la légende de Djitoumou Balla personnage légendaire qui a semble t'il résisté à la maladie et à la mort « Balla sabali, Balla tounoubali autrement dit le Moussa qui ne meurt pas et qui ne disparaît pas ». Ce qui explique toute la place et l'importance accordée à la médecine traditionnelle.

##### - Situation géographique

Située à 80 km au sud de Bamako sur la route nationale N°7 (RN-7), Le District sanitaire de Ouélessébougou couvre une superficie de 11 066 km<sup>2</sup>. Il est situé sur la rive droite du fleuve Niger, et est limité par les cercles de Bougouni, Yanfolila, Kangaba, Koulikoro et le District de Bamako.

**- Population :**

La population totale de la zone est estimée à 230 698 habitants avec une densité de 21 Habitants/Km<sup>2</sup>, le taux d'accroissement est de 3,6%, le taux de mortalité maternelle est de 464/100 000 naissances vivantes, l'indice synthétique de fécondité est de 6,6, la proportion des femmes excisées est de 85% (EDSM IV 2012). Les autochtones sont les bambaras et ils sont majoritaires. Ils cohabitent avec les Malinkés, les Peuls les Sarakolés et de plus en plus les Dogons, ces derniers constituent une colonie transférée par l'administration.

**- Infrastructures**

**Education:** La politique « un village, une école ou CED » a conduit à une prolifération d'écoles (publiques et privées).

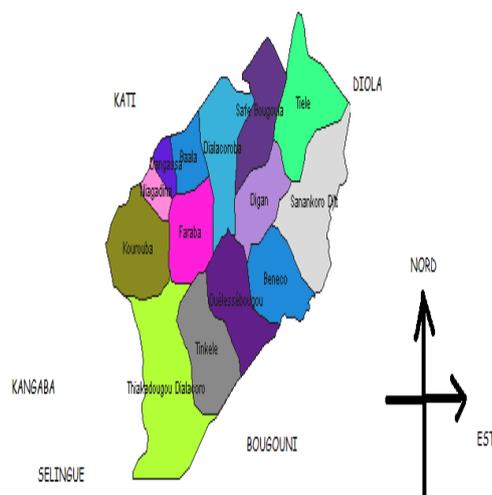
**Santé :** Le district de Ouélessébougou constitue le 1<sup>er</sup> niveau de la pyramide sanitaire ; à ce niveau, nous distinguons le 1<sup>er</sup> échelon constitué par les CSCOM (14 CSCOM) et le 2<sup>ème</sup> échelon constitué par le CSRéf.

**- Activités socio-économiques et culturelles**

L'agriculture et l'élevage constituent les principales activités. Le maraîchage occupe surtout les faunes. L'artisanat et le commerce sont également développés. En 2012, l'unité de laiterie a produit 372 671 litres de lait frais, 80 à 120 litres de Yaourt par jour et 140 à 160 litres de lait caillé par jour. La pêche est pratiquée le long du fleuve Niger. Elle est l'activité principale des Bozos, Somonos et d'autres ethnies riveraines du fleuve. Elle reste très artisanale et souffre énormément des problèmes de conservation et de transport.



**Figure 1 :** Commune de Ouélessébougou: Mali



**Figure 2 :** Carte de la commune montrant les aires de santé.

**Source :** Ministère de l'Administration territoriale et des Collectivités locales, 12 août 2009 (consulté le 18 mars 2010)

#### 4.2. Type d'étude :

Il s'agissait d'une étude de cohorte prospective longitudinale.

#### 4.3. Période d'étude :

Nous avons collecté les données de la période du 30 août 2010 au 31 décembre 2013 de l'étude Immuno - Epi du MRTC/LMIV en cours.

#### 4.4. Population d'étude :

Elle était constituée par les femmes enceintes suivies jusqu'à 4 semaines après l'accouchement, leurs nouveaux nés et les enfants de 0 à 3 ans suivis jusqu'à 5 ans.

#### 4.5. Consentement, Enrôlement et Recrutement des participantes :

##### ➤ Au niveau communautaire :

Nous avons convoqué une réunion avec le chef du village et les chefs de famille, où nous avons expliqué, discuté le protocole y compris les objectifs de l'étude, les populations cibles et les procédures de l'étude. Les participants potentiels de l'étude dans le district sanitaire de Ouélessébougou ont été informés sur l'étude à travers des réunions communautaires et pendant les visites aux centres de santé.

Le consentement éclairé individuel a été obtenu pour chaque participant avant son enrôlement dans l'étude.

### ➤ **Au niveau Individuel**

Avant l'administration du consentement individuel l'équipe a pris soin d'examiner mot par mot le formulaire du consentement de l'étude qui est traduit oralement en langue locale et dans les dialectes au cas où le volontaire ne lit pas et ne parle pas français (ce qui est le cas pour la majorité des participants). La vérification que les traductions orales sont correctes et que les volontaires comprennent le contenu du consentement éclairé est faite par un témoin indépendant et le plus souvent un natif du village. Les tuteurs qui ne peuvent pas lire apposent leur empreinte digitale à la place de la signature et le témoin signe le formulaire de consentement pour attester que le contenu du consentement éclairé a été communiqué et compris par les tuteurs.

Pour faciliter l'attribution des numéros d'identification, un système de recensement au fur et à mesure a été mis en place. Le recensement portait sur le recueil d'informations sur la localité, la famille et le ménage. Il a été attribué aux participants des numéros d'identification pour conserver l'anonymat.

En plus du numéro issu du recensement un numéro d'inclusion dans l'étude a été attribué à chaque participant.

#### **4.6. Critères d'inclusion de la cohorte**

Ont été inclus:

- Les femmes enceintes âgées de 15-45 ans et leurs nouveau-nés, résidant dans le district sanitaire de Ouélessébougou depuis au moins un an au moment de l'inclusion,
- Les enfants âgés de 0 à 3 ans, résidant dans le district sanitaire de Ouélessébougou depuis au moins un an au moment de l'inclusion,
- Le parent/tuteur qui a signé un consentement éclairé pour la participation de son enfant.

#### **4.7. Critères de non inclusion**

N'ont pas été inclus dans cette étude, les participants répondant à un ou plusieurs des critères suivants :

- Maladie chronique ou débilitante, autre que le paludisme, déterminée par l'interrogatoire ou l'examen physique du participant de l'étude.
- Conditions qui selon l'avis de l'investigateur pourront augmenter le risque d'aggravation de la maladie pour le participant.
- Antécédent de participation à un essai de vaccin contre le paludisme.

#### **4.8. Taille de l'échantillon**

Nous nous sommes basés sur le guide du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) qui indique que le nombre minimum pour la détermination des valeurs de référence est de 120. La taille de notre échantillon est suffisamment supérieure avec 1889 chez les femmes enceintes et 3912 chez les enfants de moins de 5 ans.

#### **4.9. Organisation du travail**

Les informations cliniques et biologiques sur les trois cohortes ont été recueillies sur place à Ouélessébougou.

- **Femmes enceintes :**

Les femmes enceintes incluses ont continué leurs consultations prénatales comme prévu, avec au moins une visite au deuxième et troisième trimestre. Autant que possible, les visites de l'étude coïncidaient avec les visites de CPN de routine. En plus de leur visite de CPN de routine, elles ont été invitées à voir les cliniciens de l'étude de façon mensuelle pour des évaluations cliniques y compris la prise de la tension artérielle. Après des évaluations cliniques, un prélèvement veineux était réalisé à l'inclusion (enrôlement), à 30-32 semaines de la grossesse, lors de l'accouchement et à 4 semaines après l'accouchement. En plus des visites programmées, les participantes étaient prises en charge à chaque fois qu'elles se présentaient au centre pour des plaintes et elles étaient exclues de notre analyse. Les femmes qui ont fait plus d'une grossesse pendant la période de l'étude, ont été enrôlées de nouveau lors de leur nouvelle grossesse. Les numéros d'identification ont permis de différencier les grossesses ultérieures.

- **Nouveaux nés :**

Les nouveaux nés des femmes enceintes incluses ont été suivis. Après des consultations, il y a eu un prélèvement à la naissance, des visites toutes les deux semaines pendant la saison de transmission du paludisme (Juillet à Décembre) et toutes les 4 semaines pendant la saison de non transmission du paludisme (Janvier à Juin). Lors de ces visites, nous avons effectué un examen clinique et nous avons fait un prélèvement d'échantillon de sang (~ 2 gouttes) au bout du doigt ou du talon pour la confection de la goutte épaisse/frottis mince. A chaque fois que l'enfant était malade, il était traité conformément à la politique nationale et il était exclus de notre analyse.

- **Enfants de 0 à 3 ans :**

Ces enfants étaient consultés et un prélèvement de sang était effectué chez les enfants de moins d'un an toutes les 2 semaines pendant la saison de transmission du paludisme (Juillet – Décembre) et toutes les 4 semaines pendant la saison de non transmission du paludisme (Janvier – Juin) et après un an, un prélèvement de sang était effectué toutes les 4 semaines pendant la saison de transmission et toutes les 8 semaines pendant la saison de non transmission du paludisme. A chaque fois que l'enfant était malade, il était traité conformément à la politique nationale et a été exclu de cette analyse.

**Poste des guides :** Ce poste est occupé par trois guides dont un principal qui organisait le travail de tel sorte que chaque guide s'occupait d'un secteur et il se rassurait avec un clinicien que tous les participants venaient régulièrement à leurs visites de suivi.

**Poste clinique:** Ce poste au niveau de la CPN ainsi qu'à la pédiatrie était subdivisé en deux sous postes, celui des infirmières et des cliniciens. Les infirmières étaient chargées de prendre les paramètres vitaux, le poids, la taille, le périmètre brachial, et crânien, l'interrogatoire et l'examen physique s'en suivait par le clinicien. Le clinicien les guidait vers le poste de prélèvement avec un CRF qui comportait les informations suivantes : Le numéro d'identification, la semaine, le contact, le type de prélèvement, le type de visite et la date de visite, le reste de l'information était à compléter par l'infirmière du poste de prélèvement. Tout acte posé sur le CRF doit être accompagné de l'initial de la personne qui a fait ce travail.

**Poste de prélèvement :** Au niveau de ce poste les tâches étaient réparties entre infirmière et laborantin. L'infirmière s'occupait du prélèvement et le laborantin se chargeait de la lecture des lames. Elle se referait du CRF pour mentionner les informations sur le tube, en plus elle ajoutait l'heure et son initial. Toutes ces informations étaient enregistrées sur une feuille de paillasse avant tout acte sur le participant. Elle faisait un prélèvement veineux et ou capillaire et utilisait des tubes EDTA de 10 ou 7ml en fonction de l'âge, un tube sec pour toutes les femmes à l'inclusion et un mini tube EDTA de 0,5 ml. Les mini tubes étaient systématiques quelque soit le type de prélèvement et après la confection de la goutte d'épaisse et du frottis mince et des confettis si nécessaires. Après le séchage, les lames étaient colorées et lues par le laborantin. La réception des échantillons se faisait par un laborantin différent de celui du poste de prélèvement et ce dernier se rassurait de la qualité des échantillons (sang non hémolysé et non coagulé) et de la correspondance de l'information sur le tube avec le CRF et l'enregistrait sur une feuille de paillasse.

**Poste de traitement** : Après la réception, commençait le traitement des échantillons proprement dit. Dans le laboratoire notre travail se faisait sur le mini tube encore appelé microtainer, le sang contenu dans ce tube était obtenu par aspiration du micro tubulure si prélèvement veineux et à partir du 3<sup>ième</sup> ou 4<sup>ième</sup> doigt si prélèvement capillaire. A partir de ce prélèvement on réalisait l'hémogramme et le reste de l'échantillon était utilisé pour d'autres tests comme le dosage du fer et l'électrophorèse de l'hémoglobine.

#### **4.10. Critères d'inclusion de l'étude**

- Examen clinique normal définie comme absence de pathologie cliniquement décelable.
- Une goutte épaisse négative définie comme absence de forme asexuée de parasite du Plasmodium.

#### **4.11. Variables mesurées**

##### ➤ **Variables démographiques**

Les variables démographiques sont le sexe et l'âge. Elles ont été déterminées à l'inclusion et confirmées par l'interrogatoire et l'examen clinique.

##### ➤ **Variables cliniques**

- **La température**

Elle était prise en plaçant le thermomètre électronique dans le creux axillaire. L'audition d'un signal sonore émis par le thermomètre indique la fin de la prise de température. La fièvre a été définie par une température axillaire non corrigée supérieure ou égale à 37,5°C.

- **Le poids**

Il était mesuré à l'aide d'un pèse-personne convenablement étalonné et exprimé en kilogramme de poids (kg) pour les femmes enceintes, d'un pèse-bébé pour les enfants.

- **La taille**

Elle était mesurée à l'aide d'une toise verticale pour les enfants plus grands et les femmes enceintes, d'une toise horizontale pour les plus petits et exprimée en centimètre (cm).

➤ **Variables biologiques**

• **La parasitémie**

Les techniques de la goutte épaisse et du frottis mince ont été utilisés pour la détermination de la charge parasitaire.

- **Réalisation de la goutte épaisse et du frottis mince**

La lame porte objet était numérotée avec les informations suivantes (ID, semaine contact, date, initial). Environ 8ul pour la goutte épaisse et 2 µl pour le frottis mince était déposé sur une même lame porte objet. A l'aide d'une lame d'étalement, on procède à la défibrination par des mouvements circulaires de sorte à avoir un diamètre de 1 à 1,5 cm pour la goutte et pour le frottis formé un angle de 45 degré avec la lame d'étalement puis poussé doucement et régulièrement vers le bout de la lame. Les lames étaient ensuite séchées dans les boîtes de collection OMS puis colorées et lues.

- **Coloration des lames**

La coloration de goutte épaisse/frottis était effectuée après fixation du frottis au méthanol et coloration au Giemsa dilué à 10% avec de l'eau distillée. Au bout de 15 à 20mm, on procède au rinçage et séchage sur un râtelier.

- **Lecture des lames**

La lecture des lames était faite à l'aide d'un microscope optique binoculaire à immersion (objectif 100). Une goutte était déclarée négative lorsqu'il y avait absence de parasite sur 100 champs et pour une goutte positive, la parasitémie était établie en comptant les formes asexuées et les formes sexuées de chaque espèce plasmodiale sur 300 leucocytes pour les formes asexuées et 500 pour les formes sexuées. Les parasites et les leucocytes étaient comptés simultanément sur le même compteur. La parasitémie par mm<sup>3</sup> de sang était obtenue par la formule suivante :  $P = (X/Y) \times 7500$  parasites par mm<sup>3</sup> de sang.

X représente le nombre de parasite compté au microscope

Y représente le nombre de leucocyte compté (300 leucocytes)

7500 étant la moyenne leucocytaire par mm<sup>3</sup> de sang chez l'homme

La double lecture a été utilisée pour le contrôle de qualité des lames.

• **L'hémogramme :**

Les variables de l'hémogramme ont concerné la numération des GB, LYM, GRA, MON, GR, Hb, Ht, VGM, TCMH, CCMH, IDR, PLT, VPM. Il a été réalisé sur un compte globule de type ABX micros 60, il donne aussi la formule approchée du granulocyte, monocyte et lymphocyte.

- **Contrôle de qualité**

Nous avons utilisé un lot de contrôles à trois niveaux (bas, normal, élevé) quotidiennement avant le test des échantillons.

Après avoir allumé la machine, il faut ouvrir Midlynx et activer CBC. Sélectionner QC sur la machine puis sélectionner Analyse. Il faut commencer par le contrôle bas, le numéro du lot doit être enregistré.

Il faut homogénéiser le contrôle en retournant doucement le tube, plonger ensuite la sonde dans le tube et appuyer sur le bouton de dernière. Après aspiration de 10  $\mu\text{l}$ , retirer le tube.

Il faut cliquer sur Run dans le programme de Midlynx puis sur ID des échantillons pour afficher le résultat. Ensuite il faut s'assurer que les valeurs sont dans un intervalle acceptable pour les contrôles spécifiques. Si les contrôles sont acceptables, cliquer sur accept all puis sur complete all order et imprimer le résultat.

Il faut faire le même processus pour les contrôles (normal et élevé) et enregistrer dans le dossier QC. Si les résultats sont en dehors de l'intervalle, supprimer les et refaire jusqu'à 3 tentatives. Si les résultats ne sont toujours pas dans l'intervalle, faire un nettoyage concentré, éteindre la machine et recommencer le processus avec un nouveau lot. Si le problème persiste, contacter le service technique. La machine donne la valeur des paramètres suivants : GB ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ), LYM ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ), GRA ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ), MON ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ), GR ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ ), Ht (%), Hb (g/dl), VGM (fl), TCMH (pg), CCMH (g/dl), IDR (%), PLT ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )

- **Analyse des échantillons :**

L'analyse se fait sur un prélèvement veineux ou capillaire collecté dans les 24 heures dans un mini tube EDTA. Le système aspire 10  $\mu\text{l}$  de sang pour chaque échantillon. Les prélèvements doivent être à la température ambiante. Après la réalisation du contrôle de qualité, il faut passer les échantillons qui sont s'accompagnés toujours d'un CRF. Il faut vérifier les informations sur la fiche et le tube, ensuite, cliquer sur "Run" puis sur "order test" dans le programme de Mydlynx. Il faut taper l'ID assigné au participant dans le champ approprié puis cliquer sur "Enter". Le système va déterminer si l'ID existe déjà sinon il faut l'enregistrer. Il faut mélanger en tapotant le fond du tube et en l'inversant 4-5 fois et faire le test. Lorsque les données sont reçues par le programme Midlynx, cliquer sur " Sample identification ". Pour les GB, GR et Hb si les valeurs sont en dehors de l'intervalle, refaire le test jusqu'à 3 fois au maximum, imprimer et fournir le résultat à l'équipe clinique qui décide si un second échantillon doit être prélevé.

#### **4.12. Considérations éthiques :**

Le protocole de cette étude a été approuvé par le comité d'éthique de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de l'Université des Sciences des Techniques et des Technologiques de Bamako (USTTB) et celui de l'Institut National des Allergies et des Maladies Infectieuses (NIAID) des Etats Unis d'Amérique.

Un consentement éclairé était obtenu avant le screening pour inclusion dans l'étude. Il est à noter qu'un participant pouvait se retirer à tout moment de l'étude quand il le souhaitait sans inconvénient.

Les sujets étaient identifiés par des numéros d'identification unique afin de préserver l'anonymat des participants. Les participants recevaient une prise en charge médicale gratuite en cas de maladie. Ensuite ils recevaient une compensation en nature pour le temps perdu et le prix du transport.

#### **4.13. Gestion et analyses des données.**

Les données utilisées pour la détermination des valeurs de référence étaient sur la base des données d'examen cliniques avec la goutte épaisse négative aux formes asexuées du Plasmodium.

Les données de cette étude de cohorte ont été recueillies sur les CRF et saisies dans la base de données développée sur Data fax 4.2, vérifiées et validées. Les données de l'hémogramme sont automatiquement transmises dans une base de données conçues à cet effet à partir de l'appareil. Ces données ont été ensuite vérifiées et validées avant d'être transférées dans la base de données finale et combinées avec les données cliniques et les autres examens de laboratoire.

Les analyses ont été faites sur Stata 11.0 et les valeurs de référence ont été calculées en utilisant les 2,5<sup>ième</sup> et 97,5<sup>ième</sup> percentile des valeurs médianes selon la méthode de CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) avec un intervalle de confiance de 90%.

## **5. RESULTATS :**

Au total nous avons déterminé les valeurs de référence sur 1889 tests hémogrammes chez les femmes enceintes et 3912 hémogrammes chez les enfants de 0-5ans.

Ces valeurs ont été déterminées en fonction de l'âge de la grossesse ainsi que de la saison chez les femmes enceintes et en fonction des classes d'âge chez les enfants âgés de moins de 5 ans.

**Tableau I** : Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes indépendamment de l'âge de la grossesse à Ouélessébougou.

Paramètres	n	Limite inférieure (90% CI)	Limite supérieure (90% CI)
GB ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	1889	3,9 (3,8-4,0)	11,5 (11,2-11,9)
LYM ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	1889	0,9 (0,9-1,0)	3,5 (3,3-3,7)
GRA ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	1887	2,1 (2-2,2)	8,6 (8,3-8,8)
MON ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	1889	0,1 (0,1-0,1)	0,7 (0,7-0,8)
GR ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	1889	2,9 (2,8-2,9)	5,0 (4,9-5,2)
Ht (%)	1889	24,7 (24,3-25)	41,2 (40,6-42,0)
Hb (g/dl)	1889	8,2 (7,9-8,3)	13,4 (13,1-13,6)
VGM (fl)	1889	68,0 (67,0-70,0)	99,0 (98-99,3)
TCMH (pg)	1890	21,0 (20,4-21,4)	33,8 (33,5-34,0)
CCMH (g/dl)	1888	29,2 (29,1-29,5)	36,6 (36,5-36,8)
IDR (%)	1888	11,6 (11,6-11,7)	17,4 (17,1-18)
PLT ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	1889	110,0 (103,0-115,2)	391,0 (371,2-420,5)
VPM (fl)	1889	6,3 (6,3-6,4)	9,6 (9,4-9,8)

Sur les 1889 tests hématologiques effectués chez les femmes enceintes indépendamment de l'âge de la grossesse, les valeurs de référence étaient de 8,2 g/dl à 13,4 g/dl pour le taux d'hémoglobine, 24,7% à 41,2% pour le taux hématocrite, de 68,0 fl à 99,0 fl pour le volume globulaire moyen et  $110,0 \times 10^3/\mu\text{l}$  à  $391,0 \times 10^3/\mu\text{l}$  pour les plaquettes. Les valeurs de référence pour les globules rouges étaient de  $2,9 \times 10^6$  à  $5,0 \times 10^6/\mu\text{l}$  et celles des globules blancs étaient de  $3,9 \times 10^3$  et  $11,5 \times 10^3/\mu\text{l}$ .

**Tableau II** : Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes au premier trimestre de la grossesse à Ouélessébougou.

<b>Paramètres</b>	<b>n</b>	<b>Limite inférieure (90% CI)</b>	<b>Limite supérieure (90% CI)</b>
<b>GB (x10<sup>3</sup>/µl)</b>	194	3,6 (3,2-4,0)	9,9 (9,2-12,0)
<b>LYM (x10<sup>3</sup>/µl)</b>	194	1,0 (0,8-1,1)	3,71 (3,6-4,8)
<b>GRA (x10<sup>3</sup>/µl)</b>	194	1,8 (1,7-2,1)	7,1 (6,5-8,1)
<b>MON (x10<sup>3</sup>/µl)</b>	194	0,1 (0,1-0,2)	0,8 (0,7-0,9)
<b>GR (x10<sup>6</sup>/µl)</b>	194	3,3 (3,1-3,4)	5,5 (5,1-6,8)
<b>Ht (%)</b>	194	26,3 (25,7-28,3)	43,9 (41,5-59,8)
<b>Hb (g/dl)</b>	194	8,7 (8,0-9,2)	13,5 (13,0-13,9)
<b>VGM (fl)</b>	194	68,0 (66,0-70,0)	96,3 (94,0-99,1)
<b>TCMH (pg)</b>	194	19,4 (18,6-21,5)	32,5 (31,9-34,4)
<b>CCMH (g/dl)</b>	194	28,4 (21,6-29,1)	36,1 (35,7-38,0)
<b>IDR (%)</b>	194	11,7 (11,5-11,9)	16,9 (16,3-19,7)
<b>PLT (x10<sup>3</sup>/µl)</b>	194	132,8 (121,3-148,4)	432,3 (407,0-532,8)
<b>VPM (fl)</b>	194	6,4 (6,2-6,5)	9,6 (9,2-10,4)

Relativement peu de femmes enceintes ont été incluses dans l'étude pendant le premier trimestre de leur grossesse. Les mesures effectuées sur 194 tests hématologiques montrent que les valeurs de référence au cours de cette période de la grossesse étaient de 8,7 g/dl à 13,5 g/dl pour le taux d'hémoglobine, 26,2% à 43,9% pour le taux d'hématocrite, 68,0 fl à 96,3 fl pour le volume globulaire moyen et 132,8 x 10<sup>3</sup> à 432,3 x 10<sup>3</sup> /µL pour les plaquettes. Pour les globules rouges et les globules blancs, les valeurs de référence pendant le premier trimestre de la grossesse étaient de 3,3 x 10<sup>6</sup> à 5,5 x 10<sup>6</sup> /µl et de 3,6 x 10<sup>3</sup> et 9,9 x 10<sup>3</sup> /µl respectivement.

**Tableau III** : Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes au second trimestre de la grossesse à Ouélessébougou.

Paramètres	n	Limite inférieure (90% CI)	Limite supérieure (90% CI)
GB (x10 <sup>3</sup> /µl)	641	3,9 (3,8-4,1)	11,4 (10,7-12,4)
LYM (x10 <sup>3</sup> /µl)	640	1,0 (0,9-1,0)	3,9 (3,4-4,5)
GRA (x10 <sup>3</sup> /µl)	640	2,2 (1,9-2,4)	7,7 (7,5-8,4)
MON (x10 <sup>3</sup> /µl)	640	0,1 (0,1-0,1)	0,7 (0,6-0,8)
GR (x10 <sup>6</sup> /µl)	641	2,8 (2,7-2,9)	4,9 (4,8-5,4)
Ht (%)	641	24,2 (22,7-24,7)	40,6 (39,9-41,6)
Hb (g/dl)	641	7,7 (7,2-8,3)	13,4 (13,0-13,8)
VGM (fl)	641	66,1 (64,3-68,0)	99,0 (97,0-100,4)
TCMH (pg)	641	20,2 (19,8-21,1)	33,8 (33,5-34,1)
CCMH (g/dl)	641	29,5 (29,2-29,7)	36,8 (36,6-37,1)
IDR (%)	640	11,8 (11,6-11,8)	17,2 (17,1-18,1)
PLT (x10 <sup>3</sup> /µl)	641	109,1 (95,4-122,0)	434,5 (382,7-622,0)
VPM (fl)	641	6,3 (6,2-6,4)	9,8 (9,4-10,0)

Au cours du deuxième trimestre les valeurs de référence étaient de 7,7 g/dl à 13,4 g/dl pour le taux d'hémoglobine, de 24,2% à 40,6% pour le taux d'hématocrite, de 66,1 fl à 99,0 fl pour le volume globulaire moyen, de 109,1 x 10<sup>3</sup> à 434,5 x 10<sup>3</sup> /µl pour les plaquettes. Les valeurs pour les globules rouges et les globules blancs étaient de 2,8 x 10<sup>6</sup> à 4,9 x 10<sup>6</sup> /µl et 3,9 x 10<sup>3</sup> à 11,4 x 10<sup>3</sup> /µl respectivement.

**Tableau IV** : Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes au troisième trimestre de grossesse à Ouélessébougou.

<b>Paramètres</b>	<b>n</b>	<b>Limite inférieure (90% CI)</b>	<b>Limite supérieure (90% CI)</b>
<b>GB (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1055	4,0 (3,8-4,1)	11,7 (11,2-11,9)
<b>LYM (x10<sup>3</sup>/μL)</b>	1055	0,9 (0,8-1,0)	3,1 (3,0-3,4)
<b>GRA (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1053	2,1 (2,0-2,4)	9,1 (8,6-9,4)
<b>MON (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1055	0,1 (0,1-0,1)	0,7 (0,7-1,0)
<b>GR (x10<sup>6</sup>/μl)</b>	1054	2,9 (2,83-2,93)	5,0 (4,9-5,2)
<b>Ht (%)</b>	1054	24,9 (24,2-25,3)	41,0 (40,3-44,2)
<b>Hb (g/dl)</b>	1054	8,2 (8,1-8,3)	13,4 (13,0-14,4)
<b>VGM (fl)</b>	1054	70,0 (68,0-71,0)	99,0 (98,2-100,0)
<b>TCMH (pg)</b>	1055	21,4 (20,9-21,8)	34,0 (33,5-34,3)
<b>CCMH (g/dl)</b>	1053	29,2 (29,1-29,5)	36,5 (36,4-36,7)
<b>IDR (%)</b>	1054	11,6 (11,4-11,6)	17,7 (17,1-18,2)
<b>PLT (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1054	107,0 (92,8-112,5)	344,1 (336,3-374,0)
<b>VPM (fl)</b>	1054	6,3 (6,2-6,4)	9,6 (9,4-9,7)

Sur la base de 1054 tests hématologiques effectués chez les femmes enceintes au cours du troisième trimestre de la grossesse, les valeurs de référence pour le taux d'hémoglobine étaient de 8,2 g/dl à 13,4 g/dl, celles du taux d'hématocrite de 24,9% à 41,0%. Les valeurs de références pendant cette période de la grossesse étaient de 70,0 fl à 99,0 fl pour le volume globulaire moyen, de 107,0 x 10<sup>3</sup> à 344,1 x 10<sup>3</sup> /μl pour les plaquettes, de 2,9 x 10<sup>6</sup> à 5,0 x 10<sup>6</sup> /μl pour les globules rouges et 4,0 x 10<sup>3</sup> à 11,7 x 10<sup>3</sup> /μl pour les globules blancs.

**Tableau V** : Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes à l'accouchement à Ouélessébougou.

<b>Paramètres</b>	<b>n</b>	<b>Limite inférieure (90% CI)</b>	<b>Limite supérieure (90% CI)</b>
<b>GB (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1084	3,9 (3,5-4,3)	17,7 (17,0-18,4)
<b>LYM (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1083	0,71 (0,7-0,8)	3,5 (3,1-3,7)
<b>GRA (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1084	1,4 (1,2-1,6)	15,4 (15,0-16,4)
<b>MON (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1083	0,1 (0,1-0,1)	3,0 (2,6-3,2)
<b>GR (x10<sup>6</sup>/μl)</b>	1084	2,8 (2,7-2,9)	5,9 (5,5-6,3)
<b>Ht (%)</b>	1084	24,7 (23,6-25,2)	48,5 (45,6-53,3)
<b>Hb (g/dl)</b>	1084	7,9 (7,6-8,2)	15,9 (14,7-17,0)
<b>VGM (fl)</b>	1083	69,0 (68,1-71,0)	101,0 (99,0-102,0)
<b>TCMH (pg)</b>	1083	21,1 (20,7-21,4)	34,2 (33,8-34,4)
<b>CCMH (g/dl)</b>		29,1 (29,0-29,3)	36,4 (36,3-36,7)
<b>IDR (%)</b>	1084	11,9 (11,8-12,0)	18,5 (18,4-19,1)
<b>PLT (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1084	91,0 (84,0-102,0)	381,9 (364,3-418,2)
<b>VPM (fl)</b>	1084	6,3 (6,2-6,5)	10,1 (9,9-10,6)

L'analyse des mesures effectuées sur 1084 femmes à l'accouchement montre que les valeurs de référence étaient de 7,9 g/dl à 15,9 g/dl pour le taux d'hémoglobine, de 24,7% à 48,5% pour le taux d'hématocrite, de 69,0 fl à 101,0 fl pour le volume globulaire moyen, de 91,0 x 10<sup>3</sup> à 381,9 x 10<sup>3</sup> /μl pour les plaquettes, de 2,8 x 10<sup>6</sup> à 5,9 x 10<sup>6</sup> /μL pour les globules rouges et de 3,9 x 10<sup>3</sup> à 17,7 / x 10<sup>3</sup> μL pour les globules blancs.

**Tableau VI :** Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes pendant la saison des pluies (Juillet – Décembre) à Ouélessébougou.

<b>Paramètres</b>	<b>n</b>	<b>Limite inférieure (90% CI)</b>	<b>Limite supérieure (90% CI)</b>
<b>GB (x10<sup>3</sup>/µl)</b>	929	3,9 (3,8-4,0)	11,7 (11,2-12,0)
<b>LYM (x10<sup>3</sup>/µl)</b>	930	0,9 (0,9-1,0)	3,2 (3,1-3,4)
<b>GRA (x10<sup>3</sup>/µl)</b>	929	2,2 (2,1-2,4)	8,8 (8,5-9,1)
<b>MON (x10<sup>3</sup>/µl)</b>	930	0,1 (0,1-0,1)	0,7 (0,7-0,8)
<b>GR (x10<sup>6</sup>/µl)</b>	929	2,8 (2,8-2,9)	4,9 (4,9-5,1)
<b>Ht (%)</b>	929	24,7 (23,9-24,9)	41,5 (40,9-44,4)
<b>Hb (g/dl)</b>	929	8,0 (7,8-8,3)	13,3 (13-13,6)
<b>VGM (fl)</b>	929	70,0 (67,1-71,0)	99,0 (98,0-100,0)
<b>TCMH (pg)</b>	930	20,7 (20,1-21,4)	33,7 (33,1-34,0)
<b>CCMH (g/dl)</b>	928	29,1 (28,7-29,3)	36,4 (36,0-36,9)
<b>IDR (%)</b>	928	11,6 (11,4-11,6)	17,1 (16,7-17,8)
<b>PLT (x10<sup>3</sup>/µl)</b>	929	116,5 (107,2-122,0)	362,3 (340,0-391,4)
<b>VPM (fl)</b>	929	6,2 (6,1-6,3)	9,6 (9,3-9,7)

Au total 929 tests hématologiques ont été effectués chez les femmes enceintes pendant la saison des pluies. Les valeurs de référence étaient de 8,0 à 13,3 g/dl pour le taux d'hémoglobine, 24,7% à 41,5% pour le taux d'hématocrite, 70,0 fl à 99,0 fl pour le volume globulaire moyen, 116,5 x 10<sup>3</sup> à 362,3 x 10<sup>3</sup> /µl pour les plaquettes. Les valeurs de référence pour les globules rouges et les globules blancs étaient de 2,8 x 10<sup>6</sup> à 4,9 x 10<sup>6</sup> /µl et 3,9 x 10<sup>3</sup> à 11,7 x 10<sup>3</sup> /µl respectivement.

**Tableau VII :** Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes pendant la saison sèche (Janvier-Juin) à Ouélessébougou.

<b>Paramètres</b>	<b>n</b>	<b>Limite inférieure (90% CI)</b>	<b>Limite supérieure (90% CI)</b>
<b>GB (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	960	3,9 (3,8-4,1)	11,3 (10,9-11,8)
<b>LYM (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	959	0,9 (0,9-1,0)	3,7 (3,5-4,2)
<b>GRA (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	958	1,9 (1,8-2,2)	8,3 (7,7-8,7)
<b>MON (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	959	0,1 (0,1-0,1)	0,7 (0,7-1,0)
<b>GR (x10<sup>6</sup>/μl)</b>	960	2,9 (2,8-2,9)	5,2 (4,9-5,5)
<b>Ht (%)</b>	960	24,8 (23,9-25,4)	40,6 (39,9-42,2)
<b>Hb (g/dl)</b>	960	8,3 (8,1-8,4)	13,5 (13-14,1)
<b>VGM (fl)</b>	960	68,0 (66,8-68,7)	99,0 (97,6-99,3)
<b>TCMH (pg)</b>	960	21,1 (20,6-21,6)	33,9 (33,5-34,3)
<b>CCMH (g/dl)</b>	960	29,5 (29,2-29,8)	36,7 (36,5-36,8)
<b>IDR (%)</b>	960	11,8 (11,6-11,9)	17,7 (17,2-18,2)
<b>PLT (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	960	103,1 (92,8-112,0)	447,0 (389,5-503,7)
<b>VPM (fl)</b>	960	6,5 (6,4-6,5)	9,7 (9,4-10,1)

Les valeurs de référence ont été estimées sur 960 tests hématologiques chez les femmes enceintes vues pendant la saison sèche. Les valeurs de référence étaient de 8,3 g/dl à 13,5 g/dl pour le taux d'hémoglobine, de 24,8% à 40,6% pour l'hématocrite, de 68,0 fl à 99,0 fl pour le volume globulaire moyen, de 103,1 x 10<sup>3</sup> à 447,0 x 10<sup>3</sup> /μl pour les plaquettes, de 2,9 x 10<sup>6</sup> à 5,2 x 10<sup>6</sup> /μl pour les globules rouges et de 3,9 x 10<sup>3</sup> à 11,3 x 10<sup>3</sup> /μl pour les globules blancs

**Tableau VIII** : Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les enfants d'un mois à Ouélessébougou.

<b>Paramètres</b>	<b>n</b>	<b>Limite inférieure (90% CI)</b>	<b>Limite supérieure (90% CI)</b>
<b>GB (x10<sup>3</sup>/µl)</b>	605	5,4 (4,8-5,8)	15,7 (15,2-16,5)
<b>LYM (x10<sup>3</sup>/µl)</b>	605	2,5 (2,4-2,9)	8,8 (8,5-9,2)
<b>GRA (x10<sup>3</sup>/µl)</b>	605	1,6 (1,4-1,7)	6,9 (6,4-7,3)
<b>MON (x10<sup>3</sup>/µl)</b>	605	0,5 (0,4-0,5)	2,0 (1,9-2,3)
<b>GR (x10<sup>6</sup>/µl)</b>	605	3,1 (3,0-3,3)	5,6 (5,5-5,7)
<b>Ht (%)</b>	605	28,5 (27,9-29,6)	54,14 (52,6-56,2)
<b>Hb (g/dl)</b>	605	9,9 (9,4-10,0)	17,5 (17,3-18,0)
<b>VGM (fl)</b>	605	78,0 (77,0-80,0)	106,0 (106,0-107,0)
<b>TCMH (pg)</b>	605	25,1 (24,3-25,5)	36,0 (35,7-36,3)
<b>CCMH (g/dl)</b>	605	30,2 (30,0-30,4)	36,6 (36,5-36,7)
<b>IDR (%)</b>	605	14,0 (13,9-14,1)	18,8 (18,1-19,8)
<b>PLT (x10<sup>3</sup>/µl)</b>	605	181,2 (148,2-202,2)	592,0 (577,8-633,6)
<b>VPM (fl)</b>	605	6,9 (6,70-7,0)	10,0 (9,8-10,2)

L'analyse des 605 tests hématologiques effectués chez les enfants âgés d'un mois montre que les valeurs de référence pour cette population étaient de 9,9 g/dl à 17,5 g/dl pour le taux d'hémoglobine, de 28,5% à 54,1% pour le taux d'hématocrite, de 78,0 fl à 106,0 fl pour le volume globulaire moyen, de 181,2 x 10<sup>3</sup> à 592,0 x 10<sup>3</sup> /µl pour les plaquettes, de 5,4 x 10<sup>3</sup> à 15,7 x 10<sup>3</sup> /µl pour les globules blancs et de 3,1 x 10<sup>6</sup> à 5,6 x 10<sup>6</sup> /µl pour les globules rouges.

**Tableau IX:** Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les enfants de 2 à 11 mois à Ouélessébougou.

<b>Paramètres</b>	<b>n</b>	<b>Limite inférieure (90% CI)</b>	<b>Limite supérieure (90% CI)</b>
<b>GB (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1547	6,0 (5,7-6,2)	16,0 (15,6-16,6)
<b>LYM (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1547	3,1 (3,0-3,2)	10,0 (9,8-10,5)
<b>GRA (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1547	1,5 (1,5-1,6)	6,0 (5,8-6,3)
<b>MON (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1547	0,3 (0,2-0,3)	1,6 (1,5-1,7)
<b>GR (x10<sup>6</sup>/μl)</b>	1547	3,3 (3,3-3,4)	5,4 (5,3-5,6)
<b>Ht (%)</b>	1547	24,7 (24,2-24,9)	39,0 (38,5-39,7)
<b>Hb (g/dl)</b>	1547	7,5 (7,4-7,7)	12,6 (12,4-12,8)
<b>VGM (fl)</b>	1547	55,9 (54-56,1)	91,5 (90,0-92,0)
<b>TCMH (pg)</b>	1547	16,6 (16,2-16,9)	30,5 (30,2-31,0)
<b>CCMH (g/dl)</b>	1547	28,7 (28,4-29,0)	35,6 (35,5-35,8)
<b>IDR (%)</b>	1547	12,8 (12,7-13,0)	20,5 (20,1-21,2)
<b>PLT (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1547	244,4 (228,5-259,9)	680,0 (669,4-692,7)
<b>VPM (fl)</b>	1547	6,4 (6,3-6,4)	9,7 (9,5-9,8)

Les valeurs de référence ont été déterminées sur 1547 tests hématologiques effectués chez les enfants de 2 à 11 mois. Sur la base de ces tests, les valeurs de référence étaient de 7,5 g/dl à 12,6 g/dl pour le taux d'hémoglobine, de 24,7% à 39,0% pour le taux d'hématocrite, de 55,9 fl à 91,5 fl pour le volume globulaire moyen et de 244,4 x 10<sup>3</sup> à 680,0 x 10<sup>3</sup> /μl pour les plaquettes. Les valeurs de référence pour les globules blancs et les globules rouges étaient respectivement de 6,0 x 10<sup>3</sup> à 16,0 x 10<sup>3</sup> /μl et 3,3 x 10<sup>6</sup> à 5,4 x 10<sup>6</sup> /μl.

**Tableau X:** Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les enfants de 12 à 59 mois à Ouélessébougou.

<b>Paramètres</b>	<b>n</b>	<b>Limite inférieure (90% CI)</b>	<b>Limite supérieure (90% CI)</b>
<b>GB (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1760	5,5 (5,4-5,7)	15,2 (14,9-15,7)
<b>LYM (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1760	2,4 (2,3-2,5)	9,4 (9,1-9,9)
<b>GRA (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1760	1,9 (1,8-2,0)	6,3 (6,0-6,6)
<b>MON (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1760	0,2 (0,2-0,3)	1,3 (1,3-1,4)
<b>GR (x10<sup>6</sup>/μl)</b>	1760	3,5 (3,4-3,6)	5,4 (5,3-5,4)
<b>Ht (%)</b>	1760	24,4 (23,9-24,8)	38,8 (38,2-39,2)
<b>Hb (g/dl)</b>	1760	7,3 (7,2-7,5)	12,2 (12,1-12,4)
<b>VGM (fl)</b>	1760	56,0 (55,0-57,0)	85,5 (85,0-86,0)
<b>TCMH (pg)</b>	1760	16,5 (16,1-16,8)	28,5 (28,3-28,6)
<b>CCMH (g/dl)</b>	1760	28,3 (28,1-28,4)	34,7 (34,6-34,9)
<b>IDR (%)</b>	1760	12,9 (12,8-13,1)	21,6 (21,3-22,1)
<b>PLT (x10<sup>3</sup>/μl)</b>	1760	217,1 (205,0-227,3)	641,5 (623,8-649,0)
<b>VPM (fl)</b>	1760	6,3 (6,3-6,4)	9,6 (9,5-9,75)

Au total 1760 tests hématologiques ont été effectués chez les enfants de 12 à 59 mois. Les valeurs de référence étaient de 7,3 g/dl à 12,2 g/dl pour le taux d'hémoglobine, 24,4% à 38,8% pour le taux d'hématocrite, 56,0 fl à 85,5 fl pour le volume globulaire moyen, 217,1 x 10<sup>3</sup> à 641,5 x 10<sup>3</sup> /μl pour les plaquettes, 5,5 x 10<sup>3</sup> à 15,2 x 10<sup>3</sup> /μl pour les globules blancs et 3,5 x 10<sup>6</sup> à 5,4 x 10<sup>6</sup> /μl pour les globules rouges.

## 6. Discussion

- **Limites de notre étude**

Nous n'avons pas diagnostiqué autres infections parasitaires que le paludisme, qui peuvent également influencer sur les paramètres de l'hémogramme. La supplémentation en fer et acide folique ainsi que les conditions du prélèvement n'étaient pas des critères de non inclusions.

- **Sur le plan méthodologique**

Nous avons utilisé les directives du CLSI [27] pour la détermination des valeurs de référence hématologiques chez les femmes enceintes et chez les enfants. Chez les femmes enceintes les valeurs ont été déterminées en fonction de l'âge de la grossesse mais aussi de la saison en raison des variations faibles observées en fonction de ces variables pour certains paramètres hématologiques. Chez les enfants des variations ont été observées seulement en fonction de l'âge.

Le recrutement a été fait au CSCOM de Ouélessébougou mais les participantes venaient des 14 aires du district sanitaire de Ouélessébougou, une localité de forte transmission du paludisme (Dicko et al) et un site de recherche d'essai de candidat vaccin contre le paludisme. Avec la connaissance des intervalles de référence de cette population, on pourra évaluer l'efficacité et la tolérance des candidats vaccins. La taille d'échantillon sur lequel a porté notre étude est supérieure à la taille minimum recommandée dans les directives du CLSI [27]. La taille au cours du premier trimestre comptait moins d'observations que les autres trimestres. Des études antérieures ont noté une faible participation des femmes aux soins prénataux au début de la grossesse. Nous avons constaté que plus la grossesse avance plus les femmes enceintes se rendent en consultation prénatale. Ce résultat est en accord avec plusieurs études de différentes régions du Nigeria qui ont déclaré que la plupart des femmes enceintes sont enregistrées en soins prénataux au-delà de 20 SA (Semaines d'Aménorrhée) [28-31].

- **Sur le plan des résultats**

- *Chez les femmes enceintes*

Nous avons observé que les valeurs de référence de globules blancs augmentaient progressivement avec l'âge de la grossesse, ce qui est en accord avec l'augmentation des globules blancs, observée chez les femmes enceintes par Akinsegun A et al[32]. Les valeurs de référence pour les globules rouges diminuaient du premier au deuxième trimestre pour se stabiliser jusqu'à l'accouchement mais cette diminution est plus marquée au niveau de la

borne inférieure. Le même constat est fait au niveau du taux d'hémoglobine et du taux d'hématocrite. Par contre au niveau du VGM, on a constaté une diminution de la borne inférieure du premier au deuxième trimestre suivie d'une augmentation à partir du troisième trimestre; une augmentation de la borne supérieure du premier au deuxième trimestre puis pas de variation jusqu'à l'accouchement. Les plaquettes diminuaient progressivement avec l'âge de la grossesse, cette diminution est plus marquée au niveau de la borne inférieure. Ces résultats confirment ceux d'une étude similaire réalisée à Ibadan, au sud-ouest du Nigeria, par Akingbola et al en 2006 [33], et par celle d'une autre étude réalisée au Nigeria par Akinsegun A et al en 2013[32], Shen C et al en Chine [34] ainsi que Harm et al [22] ont rapporté exactement le même constat. Nous avons fait les mêmes constats avec des valeurs différentes, ces différences peuvent être dues à la méthodologie ou à l'ethnie. La diminution de la concentration d'hémoglobine peut être due à une demande accrue en fer induit par la grossesse. Un taux bas d'hémoglobine n'est pas forcément un signe d'anémie par contre un taux élevé d'hémoglobine peut être le témoin d'une expansion plasmatique insuffisante ce qui est pathologique. Le fer est indispensable pour la synthèse de l'hème. Les besoins quotidiens au cours de la grossesse augmentent avec le développement du fœtus. Au total, 1 000 mg sont nécessaires pour couvrir les besoins de la grossesse. Les changements physiologiques de la concentration d'hémoglobine et des plaquettes pendant la grossesse sont des phénomènes bien connus [35, 36]. La progestérone et les œstrogènes supplémentaires qui sont sécrétées par le placenta pendant la grossesse provoquent une libération de la rénine par les reins. La rénine stimule le mécanisme aldostérone rénine-angiotensine, conduisant à la rétention de sodium et augmentation du volume plasmatique. Le volume plasmatique augmentant plus que le volume érythrocytaire, il existe une hémodilution relative qui se traduit par une diminution de la concentration en hémoglobine induisant " l'anémie physiologique de la grossesse". Les vraies anémies plus courantes pendant la grossesse sont l'anémie ferriprive (environ 75%) et l'anémie mégaloblastique, qui est plus fréquente chez les femmes qui ont des régimes alimentaires inadéquats et qui n'ont pas reçu les suppléments prénataux en fer et d'acide folique. Elle est la principale cause de la chute de l'immunité de la mère et de l'enfant, ce qui les rend vulnérables à plusieurs infections [37], notamment l'infection palustre provoquant 3% -5% de l'anémie maternelle et, dans le monde entier, environ 50 millions de femmes sont exposées au paludisme, en particulier dans les régions de forte endémie comme le Mali [38, 39].

Comme dans notre étude, Akingbola et al [33], Onwukeme et Uguru [40], Akinsegun A Akinbami et al en 2013[32] ont également constaté une augmentation des globules blancs et

l'ont attribué à l'augmentation des polynucléaires neutrophiles. Des douleurs, des nausées, des vomissements, et l'anxiété ont été rapportés à provoquer une leucocytose en l'absence d'infections[41].

Cette étude a également mis en évidence une réduction progressive du taux des plaquettes au cours de la grossesse, ce qui est également conforme à l'étude de Akingbola et al [33]. La diminution progressive de la numération des plaquettes pendant la gestation est le reflet de l'augmentation du volume plasmatique au cours d'une grossesse saine et une consommation accrue utéroplacentaire durant le troisième trimestre [42], dans certaines études la diminution est d'environ 10%, avec la plupart de cette diminution au cours du troisième trimestre [43-45]. Après l'anémie, la thrombopénie est la deuxième anomalie hématologique la plus fréquente qui se produit pendant la grossesse [34, 46]. Nous n'avons pas trouvé d'influence de la saison sur les paramètres de l'hémogramme sauf pour les plaquettes qui étaient de  $116,5 \times 10^3 - 362,3 \times 10^3 / \mu\text{l}$  pour la saison des pluies et de  $103,1 \times 10^3$  à  $447 \times 10^3 / \mu\text{l}$  pendant la saison sèche. Cette variation était faible.

- ***Chez les enfants de moins de 5 ans***

Nous avons observé dans notre étude que les variations du nombre de globules blancs et de globules rouges n'étaient pas significatives avec l'âge. Par contre les valeurs du taux d'hémoglobine, d'hématocrite et du VGM diminuaient avec l'âge. Les valeurs observées au cours de cette étude sont, comme rapporté par certains auteurs, inférieures à celles connues pour les populations non africaines[47, 48]. Le faible taux de ces paramètres dans la population Africaine par rapport à la population Européenne a été lié à l'origine ethnique et / ou des facteurs génétiques [49, 50]. L'étude de Sakande et al en 2004 portant sur l'hémogramme de 40 nouveau-nés à Abidjan en Côte d'Ivoire [51], ainsi que celle de Diallo et al en 2013 portant sur les valeurs de référence érythrocytaires et leucocytaires chez les nouveaux nés à Bamako ont rapporté le même constat. Toutefois, une étude publiée par Danho-Bassimbe et al en 1993 à propos de 42 nouveau-nés dans la même ville que ceux de Sakande et al, a rapporté des valeurs plus élevées[52]. Nos résultats sont différentes de ceux rapportés dans d'autres pays africains [25, 51, 52]. Ces différences peuvent s'expliquer par l'âge des enfants de l'étude, la différence méthodologique et la taille d'échantillon. Nos résultats sont similaires à ceux de Donéguébougou [23]. Ces valeurs peuvent donc être utilisées comme valeurs de référence de la population malienne étant donné la taille de l'échantillon et la diversité ethnique de la commune de Ouélessébougou. Lugada et al (2004) ont montré que la plage de référence pour l'Hb chez les enfants de moins de cinq ans en Ouganda était de 8,8 à 12,5 g / dl [53] et Quinto a rapporté 6,5 à 13,5 g / dl pour le sud du

Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans à Ouélessébougou, Mali

Mozambique, ces valeurs se rapprochent des valeurs de notre étude. Nous n'avons pas fait de différenciation de sexe puis que certaines études ont montré qu'avant un certain âge les filles et les garçons ne présentent pas de différenciation hormonale très marquée susceptible d'induire des variations biologiques importantes en fonction du sexe[54]. Il a été observé dans notre étude que le nombre de plaquettes augmentait avec l'âge. Contrairement à notre étude, Lugada et al ont trouvé [53] une augmentation du taux d'hémoglobine, d'hématocrite, des globules rouges et du VGM avec l'âge et une diminution des globules blancs et des plaquettes avec l'âge. Ces différents résultats peuvent être attribués à l'influence des facteurs ethniques et environnementaux.

## 7. Conclusion

Nous avons constaté dans notre étude que les valeurs des paramètres de l'hémogramme aussi bien chez les femmes enceintes que les enfants de moins de 5 ans étaient différentes de celles de la population occidentale et même Africaine. Ces données fournissent des valeurs de référence spécifiques à notre population d'étude, qui peuvent être utilisées pour guider la gestion des patients et l'interprétation des résultats de la recherche clinique et qui peuvent potentiellement améliorer la qualité des soins cliniques offerts aux patients.

Il est important de connaître l'origine de ces différences, qui peuvent être d'ordre héréditaire, génétique ou même environnemental. Il a été observé dans notre étude que le taux d'hémoglobine, d'hématocrite et de plaquettes diminuait avec l'âge de la grossesse par contre le nombre de globule blanc était proportionnel à l'âge de la grossesse d'une part chez les femmes enceintes et d'autre part chez les enfants on a observé que le taux d'hémoglobine, d'hématocrite, et du volume globulaire moyen diminuait avec l'âge alors que le nombre de globule blanc et le nombre de plaquettes augmentait par contre le nombre de globule rouge variait très peu avec l'âge .

## 8. Recommandations

Au terme de cette étude, nous formulons les **recommandations** suivantes :

➤ **Au MRTC:**

Faire d'autres études pour connaître les normes des autres paramètres biologiques.

Publier et communiquer les résultats aux autorités régionales et nationales.

➤ **Aux autorités sanitaires :**

Tenir compte de ces publications afin d'aider les praticiens dans le diagnostic pour éviter les prescriptions à tort dans une population à faible revenu.

## 9. Bibliographie :

1. Geffré A, Friedrichs K, Harr K, Concordet D, Trumel C, Braun JP. Reference values: a review. *VetClinPathol*. 2009Sep; 38(3):288-98.
2. D.SICARD, C.GHASAROSSIAN (MG). Bilans sanguins en médecine générale. 1999  
onlinehttp://www.uvp5.univ-paris5.fr/UV\_MED/AC/Amenu.asp?NSuj=96
3. YALCOUE D. L'anémie associée à l'infection palustre dans une population de 0-20 ans en zone périurbaine et rurale au Mali. Thèse Pharmacie, 2000, FMPOS
4. Bernard J, Levy JP, Vret B, Clauvel JP, Rain JD, Sultan Y. Hématologie, 8<sup>èd</sup>. Paris: Masson, 1996.
5. Dreyfus B. Anémies: données biologiques utiles au diagnostic. In : Breton- Gorius J, Reyes F, Rochant H, Rosa J, Vernant JP. L'hématologie de Bernard Dreyfus. Paris: Médecine-sciences Flammarion, 1992: 291-294.
6. England JM, Bain BJ. Total and differential leucocyte count. *Br J Haematol*. 1976 May; 33(1):1-7.
7. Danho-Bassimbie J, R Cabanne, A Sangare, D Tea, Normes hématologiques de l'enfant africain vivant en milieu tropical africain. *Med. Afr noire*. 1988, vol. 21, n°90, pp. 9-15
8. Quaranta JF, Pesce A, Cassuto JP. L'hémogramme, Paris: Masson, 1990.
9. Yapo A. E, Assayi M J, Aka B. Les valeurs de référence de 21 constituants biochimiques sanguins de l'ivoirien adulte présumé sain. *Pharm. Afr*.1989; 44 : 13-21.
10. Boum B, Tantchou J. Normes biochimiques du camerounais dans la région de Yaoundé. *Rev sciences et Techniques* 1985; 11, 1: 103-7.
11. Acker P, Maydat L, Trapet P, Fourcade C, Sagnet H. [Some current biological constants of the normal Congolese African]. *Bull Soc Pathol Exot Filiales*. 1967 Sep-Oct; 60(5):460-7
12. Dulat C, Duflo B, Du Saussaye C, Diallo D, Soula G. [Leukocyte count in French people living in Mali]. *Bull Soc Pathol Exot Filiales*. 1981 Jul-Aug; 74(4):450-8.
13. Castro OL, Haddy TB, Rana SR. Age- and sex-related blood cell values in healthy black Americans. *Public Health Rep*. 1987 Mar-Apr; 102(2):232-7.
14. Sandé J, Coulibaly JL, Njikeutchi f, Bouabre A, Boukary A, Guissou IP. Etablissement des valeurs de référence de 15 constituants biochimiques sanguins chez l'adulte burkinabé à Ouagadougou (Burkina Faso). *Ann. Biol. Clin (Paris)* 2004; 62:229-34.
15. Vincent-Viry M, Henny J, Clerc M, Siest G. Les « Valeurs de référence » sont-elles transférables ? (Résultats d'une étude coopérative internationale). *Méd. Afr. Noire*, 1986, 33, (5):419-428.

16. Vincent-Viry M, Henny J, Clerc M, Siest G. Discussion de quelques « Limites de référence » de populations européennes et africaines. (Conclusions pratiques. Etude coopérative internationale). Méd. Afr. Noire, 1987, 34, (5) : 459-465.
17. Richterich R. Chimie clinic. 1967, Doin, Paris.
18. Albert A, Gueguen R, Sachs C. Treatment of collected reference values and reference interval determination (document H, stage 3, version 1). Ann Biol Clin (Paris).1983;41(1):63-79
19. Siest G, Galteau MM, Henny J. [Reference values of laboratory tests: a useful and important epidemiologic contribution of the Centers for health tests]. Bull Acad Natl Med. 1995Feb;179(2):235-45
20. Siest G, Munant L. Lignes directrices pour le développement et la mise en place du concept de valeurs de référence. Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 1982. 1-37.
21. Johnson-Spear MA, Yip R. Hemoglobin difference between black and white women with comparable iron status: justification for race-specific anemia criteria. Am J Clin Nutr. 1994 Jul;60(1):117-21.
22. Harm SK, Yazer MH, Waters JH. Changes in hematologic indices in caucasian and non-caucasian pregnant women in the United States. Korean J Hematol. 2012 Jun; 47(2):136-41.
23. Mamadou Nianfou Keita, Etude de quelques paramètres hématologiques et biochimiques chez les enfants de 0 à 15 ans à Donéguébougou: L'expérience d'introduction de bonne pratique de laboratoire au MRCT/DEAP/FMPOS. Thèse de Doctorat, Pharm. Bamako, 2003, 81p.
24. Sidi Siby, Etude de la variation des parametres biochimiques et hematologiques dans le district de Bamako, Thèse de Doctorat, Med. Bamako,2008, 114p.
25. Diallo Dapa Aly(1,5), Diawara Faoumata2, Guindo Aldiouma1, Touré Moustaph3, Traoré Mamadou2, Fofana Aïssata Traoré4, Dembélé Albdoul K5, Guindo Agnès6, Diallo Yacouba Lazare5, Diallo Oumahane7, Baraika Ag Mohamed1, Dolo Amadou Ingré8. Les valeurs de référence érythrocytaires et leucocytaire chez les nouveaux nés à Bamako. 2013. Disponible sur MALI MEDICAL 2013 TOME XXVIII N°1.
26. Potron G, Culioli – Pickel B, Bechar C, Droule C, N'guven P, Adzizian JC. Automatisation en hématologie. Encycl. Med chir. (Paris- France). Sang,13000 B 10, 7 - 1990, 19p.
27. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Third Edition.C28-A3 Volume 28 Number 30, 2010.

- 28.** Gharoro EP, Igbafe AA. Antenatal care: some characteristics of the booking visit in a major teaching hospital in the developing world. *Med Sci Monit.* 2000 May-Jun; 6(3):519-22.
- 29.** Adeyemi AB, Makinde ON, Ajenifuja KO, Soyinka AS, Ayinde AK, Ola BA, Ofili M. Determinants of antenatal booking time in a South-Western Nigeria setting. *West Afr J Med.* 2007 Oct-Dec; 26(4):293-7.
- 30.** Okunlola MA, Ayinde OA, Owonikoko KM, Omigbodun AO. Factors influencing gestational age at antenatal booking at the University College Hospital, Ibadan, Nigeria. *J Obstet Gynaecol.* 2006 Apr; 26(3):195-7.
- 31.** Oladokun A, Oladokun RE, Morhason-Bello I, Bello AF, Adedokun B. Proximate predictors of early antenatal registration among Nigerian pregnant women. *Ann Afr Med.* 2010 Oct-Dec; 9(4):222-5.
- 32.** Akinbami AA, Ajibola SO, Rabiou KA, Adewunmi AA, Dosunmu AO, Adediran A, Osunkalu VO, Osikomaiya BI, Ismail KA. Hematological profile of normal pregnant women in Lagos, Nigeria. *Int J Womens Health.* 2013 May 3; 5:227-32.
- 33.** Akingbola TS, Adewole IF, Adesina OA, Afolabi KA, Fehintola FA, Bamgboye EA, Aken'ova YA, Shokunbi WA, Anwo JA, Nwegbu MM. Haematological profile of healthy pregnant women in Ibadan, south-western Nigeria. *J Obstet Gynaecol.* 2006 Nov; 26(8):763-9.
- 34.** Shen C, Jiang YM, Shi H, Liu JH, Zhou WJ, Dai QK, Yang H. A prospective, sequential and longitudinal study of haematological profile during normal pregnancy in Chinese women. *J Obstet Gynaecol.* 2010 May; 30(4):357-61.
- 35.** Sifakis S, Pharmakides G. Anemia in pregnancy. *Ann N Y Acad Sci.* 2000; 900:125-36. Review.
- 36.** Lund CJ, Donovan JC. Blood volume during pregnancy. Significance of plasma and red cell volumes. *Am J Obstet Gynecol.* 1967 Jun 1; 98(3):394-403. No abstract available.
- 37.** Imam TS, Yahaya A. Packed cell volume of pregnant women attending Dawakin Kudu General Hospital. Kano State, Nigeria. *Int Jor P App Scs.* 2008; 2(2):46-50
- 38.** World Health Organization (WHO) Prevention and Treatment of Malaria During Pregnancy Geneva: WHO; Available from: [http://pdf.usaid.gov/pdf\\_does/pnada621.pdf](http://pdf.usaid.gov/pdf_does/pnada621.pdf). 2004, Accessed October 21, 2012
- 39.** Rogerson SJ, Hviid L, Duffy PE, Leke RF, Taylor DW. Malaria in pregnancy: pathogenesis and immunity. *Lancet Infect Dis.* 2007 Feb; 7(2):105-17. Review.
- 40.** Onwukeme KE, Uguru VE. Haematological values in pregnancy in Jos. *West Afr J Med.*

1990 Apr-Jun; 9(2):70-5.

**41.** Milhorat AT, Small SM, Diethelm O. Leukocytosis during various emotional states. Arch Neurol Psych. 1942; 47(5):779-792.

**42.** Hellgren M. Hemostasis during normal pregnancy and puerperium. Semin Thromb Hemost. 2003 Apr;29(2):125-30. Review.

**43.** Boehlen F, Hohlfeld P, Extermann P, Perneger TV, de Moerloose P. Platelet count at term pregnancy: a reappraisal of the threshold. Obstet Gynecol. 2000 Jan;95(1):29-33.

**44.** McCrae KR. Thrombocytopenia in pregnancy: differential diagnosis, pathogenesis, and management. Blood Rev. 2003 Mar;17(1):7-14. Review. Erratum in: Blood Rev. 2003 Dec; 17(4):265.

**45.** Ballem PJ. Hematological problems of pregnancy. Can Fam Physician. 1988 Nov; 34:2531-7.

**46.** Sullivan CA, Martin JN Jr. Management of the obstetric patient with thrombocytopenia. Clin Obstet Gynecol. 1995 Sep; 38(3):521-34. Review.

**47.** Cau D, Tchernia G, Valeurs de l'hémogramme chez l'enfant. I- Lignée rouge. – Concours, Méd, 1984, 106, 3825-3831. II- Lignée blanche et plaquettaire. Concours Méd. 1984 ;106 :3919-3926.

**48.** Azikiwe AN. Platelet count values in healthy Nigeria medical students in Jos. East Afr Med J. 1984 Jun;61(6):482-5.

**49.** Tsegaye A, Messele T, Tilahun T, Hailu E, Sahlu T, Doorly R, Fontanet AL, Rinke de Wit TF. Immunohematological reference ranges for adult Ethiopians. Clin Diagn Lab Immunol. 1999 May;6(3):410-4

**50.** Bain BJ. Ethnic and sex differences in the total and differential white cell count and platelet count. J Clin Pathol. 1996 Aug;49(8):664-6

**51.** Sakande J, Sawadogo D, Nacoulma W E C, Tiahou G, Gnagne A C, Sess E D, Sangare A, Yapo A E. Métabolisme du fer et Valeurs érythrocytaires du nouveau-né ivoirien : relation avec le statut en fer de la mère. Cahiers d'études et de recherches francophones/Santé 2004 ; 14(1):17-20

**52.** Danho-Bassimbie J, Toutoukpo Y, Abissey S A, Sangare A, Daignekpo T. Valeurs érythrocytaires du nouveau-né en milieu tropical urbain à Abidjan. Médecine tropicale 1993; 53(1):69-75

**53.** Lugada ES, Mermin J, Kaharuza F, Ulvestad E, Were W, Langeland N, Asjo B, Malamba S, Downing R. Population-based hematologic and immunologic reference values for a healthy

Ugandan population. Clin Diagn Lab Immunol. 2004 Jan;11(1):29-34

**54.** González Silva M, Bernal MD, Cabezón I. Sangre (Barc). [Hematologic values and iron levels in a rural student population]. 1994 Apr;39(2):99-103. Spanish.

**Fiche signalétique****Nom :** KOITA**Prénom :** Fanta**Nationalité :** Malienne**Année de soutenance :** 2015**Ville de soutenance :** Bamako**Titre de thèse :** Valeurs de référence des paramètres de l'hémogramme chez les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans à Ouélessébougou, Mali**Lieu de dépôt :** Bibliothèque FMOS/FAPH**Secteur d'intérêt :** Santé publique, Épidémiologie, Hématologie**Origine de la thèse :** Mali**Résumé:**

Dans le cadre d'une étude de cohorte prospective longitudinale en cours, nous avons étudié les paramètres de l'hémogramme pour déterminer les valeurs de référence chez les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans à Ouélessébougou au Mali.

Nous avons réalisé cette étude sur 1889 observations chez les femmes enceintes âgées entre 15 et 45 ans et 3912 observations chez les enfants âgés entre 0 et 5 ans. Le consentement éclairé a été obtenu dans tous les cas avant l'inclusion dans l'étude. Les paramètres de l'hémogramme ont été étudiés sur un compteur automatique ABX de type Micros 60. Un examen clinique normal et une goutte épaisse négative étaient des critères de référence.

Sur les 1889 observations chez les femmes enceintes, le premier trimestre comptait 194 (10%) , 641 (34%) au second trimestre, 1055 (56%) au troisième trimestre et sur les 3912 observations chez les enfants, correspondant à 605 (15%) pour les enfants d'un mois, 1547 (40%) pour les enfants de 2 à 11 mois et 1760 (45%) pour les enfants de 12-59 mois.

Nous avons observé au cours de cette étude une augmentation des globules blancs et une diminution des globules rouges, du taux d'hémoglobine, d'hématocrite, du volume globulaire moyen et des plaquettes avec l'âge de la grossesse d'une part chez les femmes enceintes et d'autre part chez les enfants nous avons observé une augmentation des globules blancs, des plaquettes et une diminution du taux d'hémoglobine, d'hématocrite et du volume globulaire moyen avec l'âge des enfants.

Nous avons constaté dans notre étude que les valeurs des paramètres de l'hémogramme aussi bien chez les femmes enceintes que les enfants de moins de 5 ans étaient différentes de celles de la population occidentale et même Africaine.

**Mots clés :** valeurs de référence, hémogramme, femmes enceintes, enfants, Mali.

**Abstract:**

In Mali, as in most African countries, we don't have reference values for the parameters of hemogram for pregnant women and children less than 5 years. The rural municipality of Ouélessébougou being a research site for vaccine trials against malaria, therefore it was necessary to conduct this study in order to assess the efficacy and safety of vaccine candidates.

We conducted a prospective longitudinal cohort study to determine the reference values parameters of hemogram for pregnant women and children less than 5 years as part of the MRTC-LMIV Immuno-epidemiology study at Ouélessébougou in Mali. Participants were from 14 areas of the health district of Ouélessébougou.

We used the median value of hematological parameters among women at different trimesters of pregnancy and among children less than 5 years according to age groups. The number of tests is as follows 194 left at first trimester, 641 at second trimester 1055 at third trimester, in dry season and rainy season as well at childbirth among pregnant women and 605 children aged one month, 1547 for children between 2-11 months, 1760 for children between 12-59 months.

We found an increase in white blood cells and a decrease in red blood cells, hemoglobin, hematocrit, in mean corpuscular volume and platelets with age of the pregnancy, a modest increase in platelets is observed during the season dry firstly among pregnant women and secondly in children there was an increase in white blood cells, platelets and decreased hemoglobin, hematocrit and mean corpuscular volume with age children.

**Keywords:** Reference value, CBC, pregnant women, children, Mali.

## SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je 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 mes 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 pas ce que s'y passe ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à compromettre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des 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.

Respectueuse et reconnaissante 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 couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque !

Je le jure !

Rapport-gratuit.com   
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

