

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple-Un But-Une Foi

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO

FACULTE DE PHARMACIE



Année universitaire 2017-2018

N...

**Evaluation de la mesure du taux d'hémoglobine par
l'HemoCue® Hb 301 par rapport à l'automate
d'hématologie ABX Micros ES60 au sein d'une cohorte
à Kalifabougou.**

Thèse :

Présentée et soutenue publiquement, le 14 /07/ 2018

Devant la Faculté de Pharmacie

Par :

M. CISSE Hamidou

Pour l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat).

JURY :

Président : Pr Amagana DOLO

Membres : Dr Aldiouma GUINDO

Dr Kassoum KAYENTAO

Co-directeur de thèse : Dr Safiatou NIARE Epse DOUMBO

Directeur de thèse : Pr Boubacar TRAORE

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple-Un But-Une Foi

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO

FACULTE DE PHARMACIE



Année universitaire 2017-2018

N...

**Evaluation de la mesure du taux d'hémoglobine par
l'HemoCue® Hb 301 par rapport à l'automate
d'hématologie ABX Micros ES60 au sein d'une cohorte
à Kalifabougou.**

Thèse :

Présentée et soutenue publiquement, le 14 /07/ 2018

Devant la Faculté de Pharmacie

Par :

M. CISSE Hamidou

Pour l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat).

JURY :

Président : Pr Amagana DOLO

Membres : Dr Aldiouma GUINDO

Dr Kassoum KAYENTAO

Co-directeur de thèse : Dr Safiatou NIARE Epse DOUMBO

Directeur de thèse : Pr Boubacar TRAORE

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

➤ **ADMINISTRATION**

Doyen : Boubacar TRAORE, Professeur

Vice-doyen : Ababacar I. MAIGA, Professeur

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur civil

Agent comptable : Famalé DIONSAN, Inspecteur des finances.

➤ **PROFESSEURS HONORAIRES**

<i>N</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Boucacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
2	Mahamadou	CISSE	Biologie
3	Daouda	DIALLO	Chimie générale et minérale
4	Souleymane	DIALLO	Bactériologie - Virologie
5	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
6	Boukassoum	H Aidara	Législation
7	Moussa	HARAMA	Chimie Organique (décédé)
8	Gaoussou	KANOUTE	Chimie Analytique
9	Alou A.	KEITA	Galénique
10	Mamadou	KONE	Physiologie
11	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
12	Bréhima	KOUMARE	Bactériologie et Virologie
13	Abdourahamane S.	MAIGA	Parasitologie
14	Elimane	MARIKO	Pharmacologie

➤ **DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES**

1. PROFESSEURS / DIRECTEURS DE RECHERCHE

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Mounirou	BABY	Hématologie
2	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
3	Abdoulaye	DABO	Biologie / Parasitologie
4	Alassane	DICKO	Santé Publique
5	Amagana	DOLO	Parasitologie - Mycologie
6	Ousmane	KOITA	Biologie-Moléculaire
7	Boubacar	TRAORE	Parasitologie - Mycologie

2. MAITRES DE CONFERENCE / MAITRE DE RECHERCHE

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
2	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
3	Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie - Mycologie
4	Akory Ag	IKNANE	Santé Publique-Nutrition
5	Bourèma	KOURIBA	Immunologie chef de DER
6	Ousmane	TOURE	Santé Publiq/Santé Environnem

3. MAITRES ASSISTANTS / CHARGE DE RECHERCHE

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-Virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie clinique
4	Seydou Sassou	COULIBALY	Biochime Clinique
5	Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie Moléculaire
6	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
7	Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
8	Seydina S.A.	DIAKITE	Immunologie
9	Yaya	GOITA	Biochimie Clinique
10	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
11	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie-Virologie
12	Kassoum	KAYENTAO	Santé Publique Biostatistiques
13	Aminatou	KONE	Biologie Moléculaire
14	Birama Apho	LY	Santé Publique
15	Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
16	Issiaka	SAGARA	Santé Publique Biostatistiques
17	Samba Adama	SANGARE	Bactériologie
18	Fanta	SANGHO	Santé Publique
19	Mahamadou Soumana	SISSOKO	Santé Publique Biostatistiques

4. ASSISTANTS / ATTACHE DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
2	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie Clinique
3	Souleymane	DAMA	Parasitologie Entomologie méd
4	Issa	DIARRA	Immunologie
5	Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique – Biologie végétale
6	Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
7	Merepen dit Agnès	GUINDO	Immunologie
8	Oumar	GUINDO	Epidémiologie
9	Falaye	KEITA	Santé Publique/Santé Environ.
10	N'Deye Lallah Nina	KOITE	Nutrition
11	Yacouba	MAIGA	Biostatistique
12	Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
13	Oumar	SANGHO	Epidémiologie
14	Djakaridia	TRAORE	Hématologie

➤ DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS / DIRECTEUR DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
2	Saïbou	MAIGA	Législation
3	Rokia	SANOOGO	Pharmacognosie Chef de DER

2. MAITRES DE CONFERENCES / MAITRES DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
-	Néant	-	-

3. MAITRES ASSISTANTS / CHARGE DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Loséni	BENGALY	Pharmacie Hospitalière
2	Bakary Moussa	CISSE	Galénique
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Issa	COULIBALY	Gestion
5	Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie Hospitalière

6	Hamma Boubacar	MAIGA	Galénique
7	Moussa	SANOGO	Gestion
8	Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

4. ASSISTANTS / ATTACHE DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion Pharmaceutique
2	Antoine	DARA	Sciences Pharmaceutiques
3	Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
4	Adama	DENOU	Pharmacognosie
5	Sékou	DOUMBIA	Pharmacognosie
6	Mahamane	HAIDARA	Pharmacognosie
7	Assitan	KALOGA	Législation
8	Ahmed	MAIGA	Législation
9	Aichata Ben Adam	MARIKO	Galénique
10	Aboubacar	SANGHO	Législation
11	Bourama	TRAORE	Législation
12	Karim	TRAORE	Sciences Pharmaceutiques
13	Sylvestre	TRAORE	Gestion Pharmaceutique
14	Aminata Tièba	TRAORE	Pharmacie Hospitalière
15	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie Hospitalière

DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

1. PROFESSEURS / DIRECTEUR DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Ousmane	DOUMBIA	Pharmacie Chimique
2	Bénoit Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
3	Ababacar I.	MAIGA	Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCE / MAITRE DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Pharmacologie Chef de DER

3. MAITRES ASSISTANTS / CHARGE DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie Chimique

2	Mody	CISSE	Chimie Thérapeutique
3	Tidiane	DIALLO	Toxicologie
4	Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

4. ASSISTANTS / ATTACHE DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie Analytique
3	Blaise	DACKOUO	Chimie Analytique
4	Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
5	Ousmane	DEMBELE	Chimie Thérapeutique
6	Abdourahmane	DIARA	Toxicologie
7	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
8	Madani	MARIKO	Chimie Analytique
9	Mohamed El Béchir	NACO	Chimie Analytique
10	Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
11	Dougoutigui	TANGARA	Chimie Analytique

➤ DER : SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS / DIRECTEUR DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mouctar	DIALLO	Biologie Chef de DER
2	Cheick F.	TRAORE	Biologie / Entomologie
3	Mahamadou	TRAORE	Génétique

2. MAITRES DE CONFERENCES / MAITRE DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie Appliquée

3. MAITRES ASSISTANTS / CARGE DE RECHERCHE

NO	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Abdoulaye	KANTE	Anatomie
2	Boureïma	KELLY	Physiologie Médicale

4. ASSISTANTS / ATTACHE DE RECHERCHE

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie Organique
2	Modibo	DIALLO	Génétique
3	Moussa	KONE	Chimie Organique
4	Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

➤ CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

<i>NO</i>	<i>PRENOMS</i>	<i>NOM</i>	<i>SPECIALITE</i>
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Abdourahamane	COULIBALY	Anthropologie Médicale
4	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Modibo	DIARRA	Nutrition
7	Moussa I.	DIARRA	Biophysique
8	Babacar	DIOP	Chimie
9	Atimé	DJIMDE	Bromatologie
10	Yaya	KANE	Galénique
11	Boubacar	KANTE	Galénique
12	Aboubakary	MAIGA	Chimie Organique
13	Massambou	SACKO	SCMP / SIM
14	Modibo	SANGARE	Anglais
15	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-Embryologie
16	Fatoumata	SOKONA	Hygiène du Milieu
17	Fana	TANGARA	Maths
18	Abdel Kader	TRAORE	Pathologies Médicales
19	Boubacar	ZIBEIROU	Physique

DEDICACES

Je dédie cette thèse...

A toute ma famille

Aucune expression, ni aucune dédicace ne pourrait exprimer mes meilleures reconnaissances.

Vous avez toujours été une source intarissable d'amour et de sacrifice.

J'espère réaliser en ce jour un de vos rêves, et être digne, toute ma vie personnelle et professionnelle, de votre éducation et de votre confiance.

Puisse Dieu vous protéger, vous accorder santé et longue vie.

A mes très chers amis

Barasse, Salia, Nourou, Gaga, Arkietou, Alkaly, Wagué, Yamadou, Hamadoun, Gouro, Choco...

A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des confrères sur qui je peux compter.

En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A tous mes amis et camarades de la promotion N'Golo DIARRA

A toute l'équipe du Laboratoire d'Immuno-Genétique (LIG)

A tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail.

REMERCIEMENTS

A Allah

Tout puissant

Qui m'a inspiré

Qui m'a guidé dans le bon chemin

Je vous dois ce que je suis devenu

Louanges et remerciements

Pour votre clémence et miséricorde.

A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DU JURY

Pr Amagana DOLO

Professeur Titulaire de Parasitologie-Mycologie

Vous nous avez accordé un immense honneur et un grand privilège en acceptant la présidence de notre jury de thèse. Nous vous remercions aussi pour la gentillesse et la spontanéité avec lesquelles vous nous avez accueillis. Nous vous prions, cher Maître, d'accepter dans ce travail le témoignage de notre haute considération, de notre profonde reconnaissance et de notre sincère respect.

A NOTRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE THÈSE

Pr Boubacar TRAORE

Professeur Titulaire de Parasitologie-Mycologie

Merci pour nous avoir accueilli dans votre service, pour la confiance que vous nous avez accordée du début à la fin de ce travail et pour votre disponibilité. Vous n'avez jamais lésiné ni sur votre temps ni sur votre savoir tout le long de ce travail. Merci pour votre soutien, votre patience, vos encouragements et votre optimisme infaillible. Nous vous prions de trouver ici, cher Professeur, le témoignage de notre profonde reconnaissance et de notre immense respect.

A NOTRE MAÎTRE ET CO-DIRECTRICE DE THÈSE

Dr Safiatou NIARE Epse DOUMBO

Maître-Assistante en Parasitologie-Mycologie

Cher Maître ; nous ne saurons jamais trouver assez de mots pour témoigner notre reconnaissance, non seulement pour l'intérêt que vous portez à ce travail, mais aussi, la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de codiriger cette thèse. Veuillez accepter cher Maître, le témoignage de notre profond respect et de notre sincère gratitude.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE

Dr Aldiouma GUINDO

Maître-Assistant en Hématologie

Nous vous remercions vivement de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail. Votre compétence, votre dynamisme, ainsi que vos qualités humaines et professionnelles exemplaires ont toujours suscité notre admiration. Qu'il soit permis, chère Maître, de vous exprimer notre sincère reconnaissance, notre profond respect et notre plus grande estime.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE

Dr Kassoum KAYANTAO

Chargé de Recherche en Santé publique-Biostatistiques

Nous vous remercions vivement pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail. Nous sommes très sensibles à votre gentillesse, votre accueil très aimable, votre volonté d'enseigner et à votre profond humanisme. Que ce travail soit pour nous l'occasion de vous exprimer notre admiration ainsi que notre gratitude. Veuillez croire, cher Maître, en nos sentiments les plus respectueux.

SIGLES ET ABBREVIATIONS

°C : degré Celsius	Ht : Hématocrite
µl : Microlitre	IDP : Indice de Distribution Plaquettaire
µm : Micromètre	IDR : Indice de Distribution des globules rouges
βHCG : hormone gonado-chorionique	IgM : Immunoglobuline M
ADN : Acide deoxy- ribonucléique	Kg : Kilogramme
ARN : Acide ribonucléique	Km : Kilomètre
CO ₂ : Dioxyde de carbone	LIG : Laboratoire d'Immunogénétique
CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine	Max : Maximum
Cm ³ : mètre cube	MGG : May-Grünwald Giemsa
CPT : Tube de préparation de cellules	Min : Minimum
CRF : Case Report Forme	Mm : Millimètre
CSCOM : Centre de santé communautaire	MRTC : Centre de Formation et de Recherche sur le Pladisme
Da : Dalton	NFS : Numération formule sanguine
DEAP : Département d'épidémiologie des affections Parasitaires	NIAID : Institut national des allergies et des maladies infectieuses
DS : Deviation standard	NIH : Instituts nationaux de la santé
EDTA : Éthylène Diamine Tétra Acétique	Nm : Nanomètre
Fl : Femto litre	NO : Monoxyde d'azote
FMPOS : Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie	O ₂ : Dioxygène
G/dl : Gramme par décilitre	OMS : Organisation Mondiale de la Santé
GB : Globule blanc	Pg : Picogramme
GR : Globule rouge	Pla : Plaquette
Hb : Hémoglobine	Se : Sensibilité

Sp : Spécificité

TCMH : Teneur corpusculaire moyenne en
hémoglobine

THT : Thrombocyte

VGM : Volume globulaire moyen

VPN : Valeur prédictive négative

VPP : Valeur prédictive positive

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau I</u> : Répartition de la population d'étude selon le sexe.....	40
<u>Tableau II</u> : Répartition de la population d'étude par tranche d'âge.	40
<u>Tableau III</u> : Prévalence de l'anémie à partir des 2 méthodes de dosage lors des deux passages (mai 2013 et mai 2014).....	41
<u>Tableau IV</u> : Moyenne du taux d'hémoglobine, Automate ABX Micro ES60 vs HemoCue® Hb 301 lors des deux passages (mai 2013 et mai 2014).....	41
<u>Tableau V</u> : Valeurs de validité intrinsèque (Se, Sp) et extrinsèque (VPP, VPN) de l'HemoCue® Hb 301 par rapport à l'Automate ABX Micro ES60 dans la mesure de l'anémie.....	42

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Tissus myéloïde et lymphoïde.....	8
Figure 2 : Représentation schématique de l'organisation des protéines au sein de la membrane érythrocytaire.....	10
Figure 3 : Les cellules de la lignée érythroblastique.....	12
Figure 4 : La molécule d'hème.....	15
Figure 5 : Les liaisons hème-globine.....	16
Figure 6 : Schéma de la molécule complète d'hémoglobine.....	17
Figure 7 : Évolution de la synthèse des chaînes d'hémoglobine en fonction de l'âge.....	18
Figure 8 : Principe de mesure par variation d'impédance.....	20
Figure 9 : Principe de mesure par méthode optique.....	21
Figure 10 : Automate d'hématologie ABX Micros ES60.....	22
Figure 11 : Analyseur HemoCue [®] Hb 301.....	26
Figure 12 : Boîte de micro cuvettes HemoCue [®] Hb 301.....	26
Figure 13 : Corrélation du taux d'hémoglobine entre l'HemoCue [®] Hb 301 et l'automate d'hématologie ABX Micros ES60.....	42

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE.....	I
DEDICACES	VII
REMERCIEMENTS.....	VIII
SIGLES ET ABREVIATIONS.....	XI
LISTE DES TABLEAUX.....	XIII
LISTE DES FIGURES	XIV
TABLE DES MATIERES	XVII
1. Introduction	1
2. Question (s) de Recherche.....	4
3. Hypothèse (s) de Recherche	5
4. Objectifs.....	6
4.1. Objectif général :.....	6
4.2. Objectifs spécifiques :.....	6
5. Généralités	7
5.1. Caractères généraux du sang et de la moelle	7
5.1.1. Constitution du sang.....	7
5.1.2. Origine des éléments figurés du sang.....	7
5.2. Anatomie et physiologie du globule rouge et de la lignée érythroblastique.....	9
5.2.1. Structure du globule rouge	9
5.2.2. Physiologie du globule rouge.....	10
5.2.3. Érythropoïèse	11
5.2.4. Hémoglobine	14
5.3. Moyens de mesure du taux d'hémoglobine	19
5.3.1. Moyens automatisés : les automates d'hématologie.....	19
5.3.1.1. Principe.....	19
5.3.1.2. Analyseur d'hématologie 18 paramètres / avec répartition leucocytaire / automatique / par impédance électrique (ABX Micros ES60)	21
5.3.1.2.1. Caractéristiques (18) :.....	21
5.3.1.2.2. Examen du sang :.....	22
5.3.1.2.2.1. Analyse quantitative sur les globules rouges et leur contenu :	22

5.3.1.2.2.2.	Etude quantitative des globules blancs :	24
5.3.1.2.2.3.	Etude quantitative des plaquettes :	25
5.3.2.	Moyens semi-automatisés : HemoCue®	25
6.	Matériels et Méthodes	27
6.1.	Cadre d'étude	27
6.1.1.	Choix du site d'étude	27
6.1.2.	Historique	27
6.1.3.	Géographie	28
6.1.4.	Démographie	28
6.1.5.	Infrastructures	29
6.2.	Type d'étude	29
6.3.	Période d'étude	29
6.4.	Population d'étude	29
6.5.	Echantillonnage	29
6.6.	Sélection et recrutement des sujets	30
6.6.1.	Critères d'inclusion	30
6.6.2.	Critères de non inclusion	30
6.7.	Enrôlement des volontaires	31
6.8.	Technique d'étude	31
6.8.1.	Variables sociodémographiques	31
6.8.2.	Variables cliniques	31
6.8.2.1.	Matériels	31
6.8.2.2.	Paramètres cliniques	Error! Bookmark not defined.
6.8.3.	Variables du laboratoire	32
6.8.3.1.	Matériels	32
6.8.3.2.	Variables mesurées	Error! Bookmark not defined.
6.9.	Organisation du travail	35
6.9.1.	A l'Inclusion	35
6.9.1.1.	Procédure de dépistage et enrôlement des volontaires	35
6.9.1.2.	Procédure clinique	36
6.9.1.3.	Procédure de laboratoire	36
6.9.2.	Surveillance active	37
6.9.2.1.	Procédure d'identification et d'enregistrement	37

6.9.2.2.	Procédure clinique	37
6.9.2.3.	Procédure de laboratoire	37
6.9.2.4.	Procédure d'administration du médicament	38
6.10.	Considérations éthiques.....	38
6.11.	Collecte, saisie, analyse des données	39
7.	Résultats.....	40
7.1.	Résultats Sociodémographiques	40
7.2.	Résultats hématologiques.....	41
8.	Commentaires et Discussion	43
9.	Conclusion.....	46
10.	Recommandations.....	47
10.1.	Aux autorités sanitaires	47
10.2.	Au laboratoire d'immunogénétique LIG.....	47
10.3.	A l'endroit de la société HemoCue®	47
11.	Références Bibliographiques	48
12.	Fiche signalétique en français et anglais.....	51
13.	Annexes.....	55
14.	Serment de Galien.....	58

1. INTRODUCTION

L'hémoglobine (Hb) est une métalloprotéine contenant du fer, présente essentiellement dans le sang des vertébrés au sein de leurs globules rouges, ainsi que dans les tissus de certains invertébrés. Elle joue essentiellement le rôle de transport de l'oxygène des poumons vers les tissus de l'organisme et du dioxyde de carbone des tissus vers les poumons.

Les premières études sur l'hémoglobine ont été conduites au XIX^e siècle en Allemagne. Découverte en 1840 par Hünefeld (1), la molécule a été cristallisée en 1851 par Otto Funke (2), et c'est en 1959 que la structure tridimensionnelle de l'hémoglobine fut établie par Max Perutz(3,4).

La molécule a un poids moléculaire de 64500 Da et une structure complexe formée de chaînes peptidiques (globines) identiques deux à deux et de molécules d'hème. On distingue différentes chaînes de globines : les chaînes α à 141 acides aminés, les chaînes β , γ et δ à 146 acides aminés chacun. L'hème est une porphyrine contenant un atome de fer, la porphyrine ou protoporphyrine III comprend elle-même 4 noyaux pyrrol à sommet azote réunis par des ponts méthènes (-CH=) et 8 chaînes latérales; méthyl, vinyl ou acide propionique (5) (Voir schéma à la page 16).

Le taux d'hémoglobine varie d'un individu à un autre selon le sexe, l'âge et l'état physiologique, c'est ainsi que l'OMS définit comme norme un niveau chez l'homme compris entre 13 et 18 g/dl, chez la femme entre 12 et 16 g/dl, chez la femme enceinte (début 2^{ème} trimestre) entre 11 et 14 g/dl, chez l'enfant de 6 à 59 mois entre 11 et 16 g/dl, chez l'enfant de 5 à 11 ans entre 11.5 et 16 g/dl et chez l'enfant de 12 à 14 ans entre 12 et 16 g/dl (6,7).

Plusieurs facteurs peuvent concourir à une augmentation de son taux à savoir la déshydratation, la vie en haute altitude, l'insuffisance cardiaque (cœur droit), ainsi qu'une maladie pulmonaire obstructive chronique (5); toutefois la baisse de son taux en dessous des

normes définies est appelée anémie, cette baisse peut être liée à une hémodilution dans les circonstances de grossesse à partir du 2^{ème} trimestre, de splénomégalies volumineuses ou provoquée par certaines immunoglobulines monoclonales en particulier les IgM de la maladie de Waldenström sans que cela ne se traduit par une anémie vraie (5). Cependant l'anémie est très souvent occasionnée au cours des hémorragies, des carences nutritionnelles, des transfusions incompatibles, des hémolyses provoquées par les hémoglobinopathies et les parasites tels que les plasmodies dans les zones endémiques du paludisme suite à un portage chronique du parasite, les ankylostomes, les leishmanies, les giardia, les amibes, les trypanosomes, les bilharzies, etc.

La mesure du taux d'Hb s'effectue couramment par la réalisation d'une numération formule sanguine (NFS) ou hémogramme, examen de référence. Ce bilan (ou hémogramme) est réalisé à l'aide d'automate d'hématologie dont on distingue plusieurs types :

- Ceux qui mesurent la différence d'impédance ;
- Et ceux qui mesurent la taille et la granulométrie (principe du cytomètre en flux, dernière génération).

Au laboratoire, ce bilan est réalisé sur du sang prélevé sur tube EDTA et le volume nécessaire varie de 60 µL à 500 µL en fonction des appareils utilisés (8).

L'automate est un appareil, qui, en plus du taux d'hémoglobine, mesure d'autres paramètres hématologiques notamment les taux des globules blancs, les indices érythrocytaires, le volume globulaire moyen (VGM), la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), le taux de plaquette, mais le coût de son utilisation, son entretien et le rythme de sa maintenance peuvent constituer une limite de son utilisation particulièrement dans les sites de périphérie (milieu rural) où il n'y a pas de source d'électricité.

Dans les zones où les conditions de son utilisation ne sont présentes il existe une alternative moins coûteuse, plus rapide et avec une plus grande facilité d'utilisation qui est l'HemoCue®.

Des études menées chez l'adulte ont validé cette méthode alternative de mesure du taux d'Hb, particulièrement dans les blocs opératoires et les unités de réanimation, afin d'assurer le monitoring du taux d'Hb. La mesure de l'Hb avec l'HemoCue® permet d'éviter la

réalisation itérative de l'hémogramme et donne rapidement un bon reflet du taux d'Hb (9,10). Ce système, validé chez l'adulte et chez l'enfant (1– 14 ans) permet de mesurer le taux d'Hb par recueil d'une goutte de sang de seulement 10 µL (10). Il peut être fréquemment répété, permettant une adaptation rapide de la prise en charge, en particulier dans les situations d'urgence et en zone d'endémie.

Cependant, d'autres n'ont pas recommandé cet appareil en pratique générale parce que les échantillons capillaires étaient significativement moins reproductibles que les échantillons veineux ou artériels bien que les taux moyens de l'hémoglobine étaient comparables (11,12).

Dans le cadre d'une étude portant sur l'analyse longitudinale de l'acquisition naturelle de l'immunité par Systèmes Biologiques au Mali, nous nous sommes proposés de comparer le niveau d'hémoglobine à partir de deux moyens qui sont l'hémoglobinomètre HemoCue® Hb 301 et l'automate d'hématologie ABX Micros ES60 dans une cohorte de volontaires afin de pouvoir utiliser l'HemoCue® Hb 301 dans l'évaluation du taux d'hémoglobine des volontaires selon les critères d'inclusion et d'exclusion du protocole.

2. QUESTION DE RECHERCHE

Le système de mesure HemoCue® Hb 301 est efficace et sûr dans la détermination du taux d'hémoglobine en référence à l'automate ABX Micros ES60.

3. HYPOTHESE DE RECHERCHE

La mesure du taux d'hémoglobine à partir de l'HemoCue® Hb 301 fournit les mêmes valeurs que l'ABX Micros ES60 chez les volontaires.

4. OBJECTIFS

4.1. OBJECTIF GENERAL :

- ✓ Evaluer les valeurs du taux d'hémoglobine mesurées par l'appareil HemoCue® Hb 301 et par l'automate ABX Micros ES60.

4.2. OBJECTIFS SPECIFIQUES :

- ✓ Déterminer le taux d'hémoglobine moyen à l'aide de l'appareil HemoCue® Hb 301 et de l'automate ABX Micros ES60.
- ✓ Comparer les prévalences de l'anémie entre les deux méthodes de mesure appareil HemoCue® Hb 301 versus automate ABX Micros ES60.
- ✓ Déterminer la sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positives, les valeurs prédictives négatives et l'indice Kappa de l'HemoCue® Hb 301 par rapport à l'ABX Micros ES60.

5. GENERALITES

5.1. CARACTERES GENERAUX DU SANG ET DE LA MOELLE

5.1.1. CONSTITUTION DU SANG

Le sang est une suspension de cellules dans un liquide complexe: le plasma. Le plasma est constitué lui-même d'eau, de sels minéraux, de molécules organiques (glucides, lipides et protides). Après coagulation, le plasma dépourvu de fibrinogène constitue le sérum (5).

Les cellules séparables par centrifugation appartiennent à trois catégories : les globules rouges (ou érythrocytes, ou hématies), les globules blancs (ou leucocytes) et les plaquettes (ou thrombocytes).

5.1.2. ORIGINE DES ELEMENTS FIGURES DU SANG

Bien qu'elles soient étroitement mêlées dans la moelle et dans le sang (figure 1) les cellules myéloïdes et les cellules lymphoïdes appartiennent à deux tissus physiologiquement distincts. Le tissu myéloïde donne naissance à des cellules aux fonctions très variées: les globules rouges qui transportent l'oxygène du poumon aux tissus, les polynucléaires neutrophiles qui jouent un rôle essentiel dans les défenses antibactériennes, les monocytes qui jouent à la fois un rôle dans la défense antibactérienne et dans les réactions immunitaires, les polynucléaires éosinophiles et basophiles aux fonctions moins bien définies, les plaquettes qui jouent un rôle essentiel dans l'hémostase primaire et la coagulation. Le tissu lymphoïde est constitué morphologiquement de lymphocytes et de plasmocytes, cellules qui sont le support des réactions immunes spécifiques.

Les cellules myéloïdes sont produites chez l'embryon par le foie, la rate et la moelle. Après la naissance seule la moelle est normalement myélopoïétique. Le tissu lymphoïde est présent dans la moelle mais également dans les ganglions lymphatiques, la rate, les plaques de Peyer et le thymus. Il n'est donc pas surprenant que le volume de ces organes soit modifié dans les

maladies du tissu lymphoïde. Il arrive cependant aussi qu'au cours des hémopathies myéloïdes, essentiellement malignes, le foie, la rate voire les ganglions deviennent le siège d'une production ectopique de cellules myéloïdes.

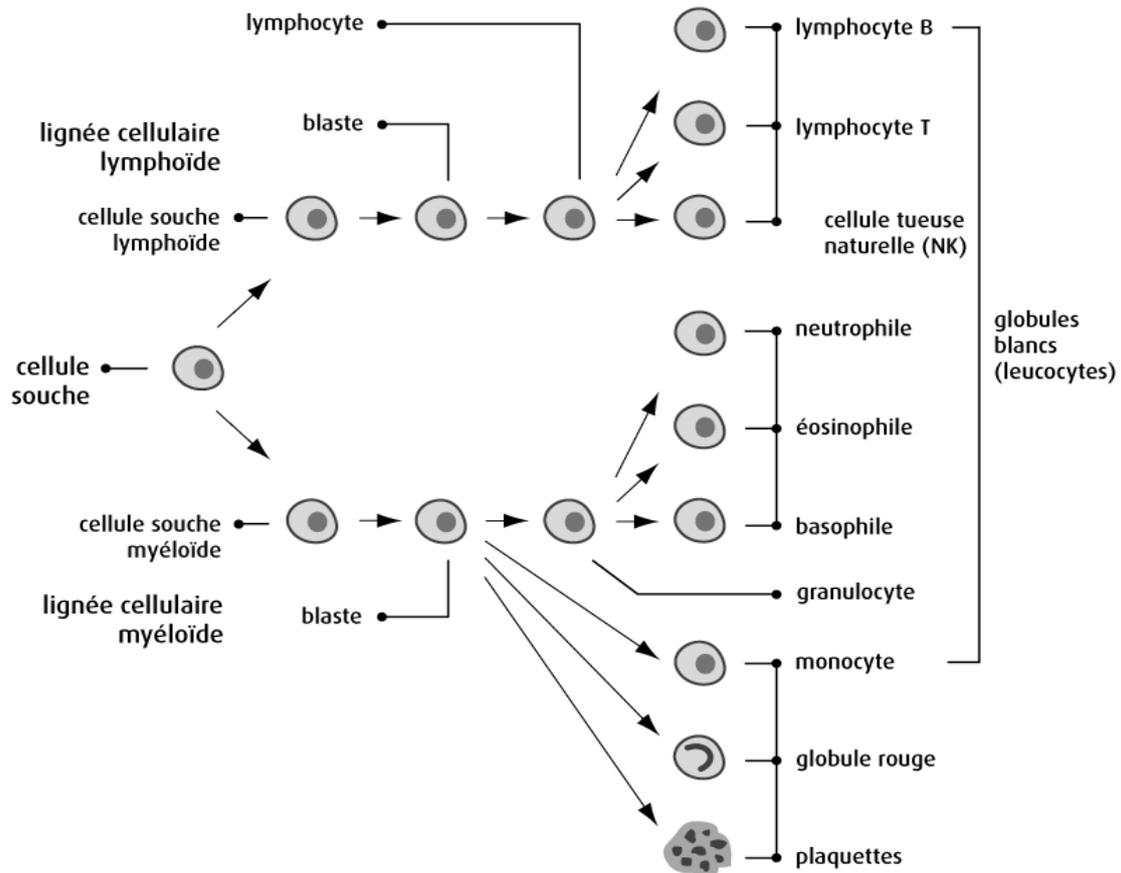


Figure 1 : Tissus myéloïde et lymphoïde (13).

Physiologiquement pour assurer le renouvellement des cellules myéloïdes et lymphoïdes, il existe dans l'organisme des cellules dites « souches ». Ces cellules souches possèdent deux propriétés essentielles, d'une part leur propre renouvellement, d'autre par la production de cellules différenciées. Il existe des cellules souches communes à toutes les cellules myéloïdes ce qui explique la fréquence des atteintes globales du tissu myéloïde en pathologie. Il existe aussi des cellules souches lymphoïdes mais elles sont actuellement moins bien connues. Il existe un ancêtre commun aux cellules lymphoïdes et aux cellules souches myéloïdes mais il est relativement lointain et en pathologie les atteintes des cellules souches myéloïdes ne

s'accompagnent habituellement pas de celle des cellules souches lymphoïdes. Les cellules souches myéloïdes sont trouvées dans la moelle et dans le sang.

5.2. ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE DU GLOBULE ROUGE ET DE LA LIGNEE ERYTHROBLASTIQUE

5.2.1. STRUCTURE DU GLOBULE ROUGE

Le globule rouge (GR) normal a la forme d'un disque biconcave: déposé sur une lame, il a une forme circulaire régulière, un diamètre de 7,5 µm environ. Après coloration de May-Grünwald-Giemsa, il est orangé (acidophile). A l'état normal, tous les globules rouges ont sensiblement même forme, même diamètre, même coloration et toute modification de ces critères traduit un phénomène pathologique.

Cellule anucléée, le GR comprend:

- ✓ Une membrane comportant une double couche de phospholipides, stabilisée par du cholestérol, dans laquelle s'intercalent des protéines (figure 2). À l'extérieur, il existe une couche supplémentaire riche en mucopolysaccharides et contenant les substances de groupes sanguins. Les protéines peuvent être mobiles dans la couche lipidique et seulement superficielle, transmembranaires (elles jouent alors souvent un rôle dans les échanges), sous-membranaires formant le squelette du globule rouge.
- ✓ Un cytoplasme : le microscope électronique ne permet de distinguer aucun organite cellulaire dans le GR. L'analyse révèle que le GR contient de l'eau, de l'hémoglobine, des ions (K⁺ essentiellement), des enzymes, du glucose. L'hémoglobine, constituant essentiel (environ 300 millions de molécules par GR) représente environ le tiers du poids des GR (ce qu'exprime la CCMH). Rappelons que l'érythroblaste acidophile qui vient de perdre le noyau est appelé réticulocyte. Il contient des organites cytoplasmiques résiduels notamment des mitochondries et des polyribosomes qui disparaissent dans le globule rouge adulte. Au microscope électronique le réticulocyte est remarquable par une forme très irrégulière (contrairement aux globules rouges) forme liée au mouvement de la membrane, car le réticulocyte est une cellule mobile. Les réticulocytes peuvent être

comptés grâce à des techniques spéciales (5 - page 9) et ils ont un très grand intérêt pour apprécier la production médullaire dans le diagnostic des anémies (5 - page 64).

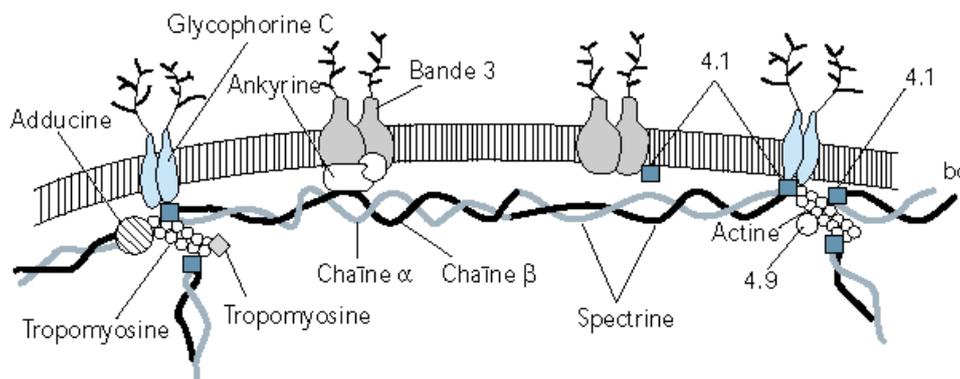


Figure 2 : Représentation schématique de l'organisation des protéines au sein de la membrane érythrocytaire (14).

Certaines protéines portent un nom (glycophorine, spectrine, ankyrine). D'autres sont désignées par leur migration électrophorétique (bande 3, bande 4.1). Les interactions entre les protéines sont très importantes, d'où la difficulté à analyser leur responsabilité en cas de déficit, celui-ci pouvant n'être que secondaire.

5.2.2. PHYSIOLOGIE DU GLOBULE ROUGE

✓ **Le globule rouge n'a qu'une fonction**

Il assure le transport et le maintien à l'état fonctionnel de l'hémoglobine, pigment respiratoire chargé lui-même du transport de l'oxygène et d'une partie du gaz carbonique. Tout déficit en GR sera ressenti comme un défaut d'oxygène au niveau des tissus. Notons que la surface considérable des GR (plusieurs milliers de mètres carrés au total) permet une diffusion rapide de l'oxygène, que la forme de cette cellule favorise également.

✓ **Circulation du globule rouge**

Le globule rouge dont le diamètre est légèrement supérieur à 7 μm doit traverser des capillaires de très petite taille, dont le diamètre peut atteindre 3 μm en particulier au niveau de la rate. Pour pouvoir traverser sans dommage des orifices aussi restreints, le globule rouge doit être souple, élastique et résistant. Ces propriétés sont assurées grâce à la forme biconcave

du globule rouge. Toute modification de cette forme, toute augmentation de la rigidité de la membrane, toute augmentation de la viscosité de l'hémoglobine diminueront la plasticité entraînant une gêne circulatoire et favorisant la destruction des hématies. Ainsi les microsphérocytes ne sont pratiquement pas déformables et sont donc systématiquement éliminées par la rate.

✓ Remodelage du globule rouge par la rate

Lorsque les globules rouges sortent de la moelle ils peuvent contenir encore des restes de noyaux (appelés corps de Jolly) ou des grains de fer.

Ces « imperfections » sont éliminées des globules rouges par les macrophages spléniques lors de leur passage à travers la rate. Lorsque la rate est absente anatomiquement ou fonctionnellement cela se traduit sur l'examen du frottis de sang par la présence de corps de Jolly et de grains d'hémosidérine dans les hématies.

5.2.3. ÉRYTHROPOÏÈSE

L'érythropoïèse est une production adaptée et régulée des globules rouges. C'est un phénomène permanent puisque chaque jour $1/120^{\text{ème}}$ des globules rouges arrivent au terme de leur vie normale et sont détruits. L'érythropoïèse compense cette destruction en mettant en circulation chaque jour chez un adulte l'équivalent du nombre de globules rouges contenu dans 25 à 50 cm³ de sang. C'est un phénomène adaptatif qui peut, en cas de besoin accru, être multiplié par 7 ou 8.

✓ Lignée érythroblastique (figure 3)

C'est l'ensemble des cellules qui se différencient vers la synthèse de l'hémoglobine aboutissant aux globules rouges. La lignée érythroblastique chez l'homme est localisée dans la moelle osseuse et représente 10 à 30% des cellules médullaires (5 - page 16). On distingue par ordre de maturité de croissance : le proérythroblaste, l'érythroblaste basophile, l'érythroblaste polychromatophile, l'érythroblaste acidophile, le réticulocyte, l'hématie ou globule rouge ou érythrocyte. Les différentes catégories d'érythroblastiques sont reconnues sur les caractères du noyau et du cytoplasme. Plus les cellules sont avancées dans la lignée plus leur taille diminue, plus le cytoplasme basophile et riche en ARN devient acidophile et riche

en hémoglobine plus le noyau se condense jusqu'à l'expulsion qui transforme l'érythroblaste acidophile en réticulocyte.

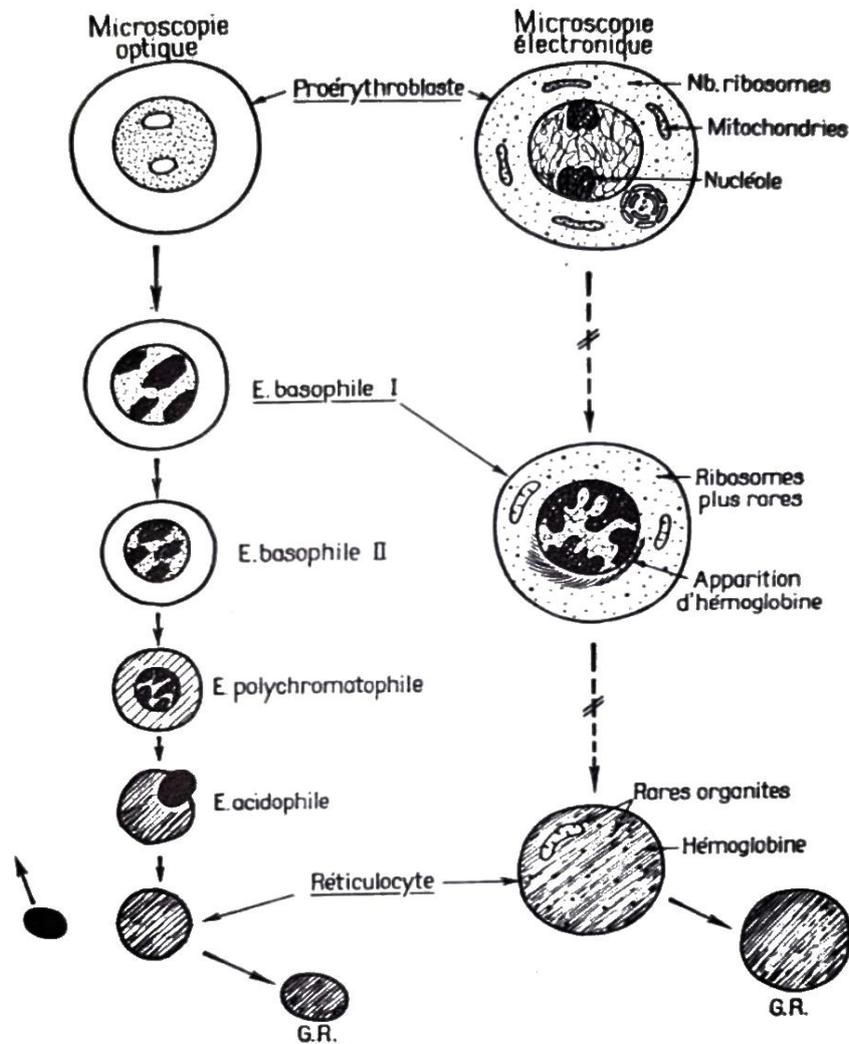


Figure 3 : Les cellules de la lignée érythroblastique (5).

✓ Origine de la lignée érythroblastique

Toutes les cellules myéloïdes dérivent de cellules souches communes dites totipotentes (5 - page 4). Entre ces cellules totipotentes et les érythroblastes se situent plusieurs générations (sans doute au moins une dizaine) de précurseurs prédéterminés vers l'érythropoïèse, non identifiables morphologiquement, et capables de se différencier définitivement en érythroblastes sous l'effet de l'érythropoïétine.

✓ **Formation des érythroblastes**

Elle comporte deux ordres de phénomènes :

- La synthèse de l'ADN du noyau suivie de la mitose lorsque le taux d'ADN a doublé. Il y a dans la lignée érythroblastique quatre mitoses entre le proérythroblaste et l'érythroblaste acidophile. L'érythroblaste acidophile ne se divise pas et après ce stade le noyau devenu pycnotique et inutile est expulsé, donnant naissance aux réticulocytes anucléés.
- La synthèse protéique dans le cytoplasme. C'est une synthèse très spécialisée, l'hémoglobine étant de très loin la principale protéine synthétisée dans la lignée érythroblastique. L'augmentation de la concentration en hémoglobine dans le cytoplasme explique l'acidophilie croissante avec la maturation. Petit à petit tous les organites cytoplasmiques disparaissent et au stade réticulocytes il n'en subsiste que des vestiges qui constituent la substance « granulo-filamenteuse » (quelques ribosomes, quelques mitochondries, divers ARN) et suffisent cependant à une synthèse d'hémoglobine encore active. Tout a disparu dans le globule rouge adulte qui ne peut plus synthétiser mais seulement conserver l'hémoglobine.

✓ **Exploration de l'érythropoïèse**

Elle est possible grâce à des méthodes isotopiques.

Étude du métabolisme du radio-fer 59. C'est le moyen le plus précis pour apprécier le fonctionnement de l'érythropoïèse. Le fer 59 injecté par voie veineuse se répartit normalement entre les réserves (environ 20%) et l'érythropoïèse (80%). Dans les jours qui suivent les injections apparaissent dans le sang des hématies dont l'hémoglobine contient le fer marqué et après 10 à 12 jours un plateau de radioactivité est atteint qui représente normalement 80% du total injecté. L'examen est surtout utilisé pour étudier certaines anomalies de l'érythropoïèse.

Le proérythroblaste se divise une fois tandis que l'érythroblaste basophile se divise deux fois avant de donner naissance à l'érythroblaste polychromatophile dernière cellule de la lignée à se diviser. Au total un proérythroblaste peut donner théoriquement naissance à 16 GR. En fait il en donne généralement un peu moins chez l'homme.

Le temps total de l'érythropoïèse est d'environ 7 jours, soit en moyenne environ 20 heures de vie pour chacune des 4 premières générations cellulaires, puis une maturation d'érythroblaste acidophile durant 1 jour à 1 jour et demi, un séjour médullaire des réticulocytes de 2 jours environ avant leur passage dans le sang.

✓ **Régulation de l'érythropoïèse**

- Régulation spécifique :

Elle se fait essentiellement grâce à une hormone appelée l'érythropoïétine. C'est une glycoprotéine qui est maintenant produite par génie génétique, et utilisée en thérapeutique. Elle peut être dosée par technique radio immunologique. Elle est produite par des cellules rénales péri tubulaires, probablement endothéliales et accessoirement par des cellules du foie. C'est l'oxygénation tissulaire qui règle la synthèse de l'érythropoïétine. Celle-ci est stimulée par l'hypoxie tissulaire, déprimée par l'hyper oxygénation ou l'augmentation de la masse globulaire circulante (par exemple par transfusion).

Le rôle de l'érythropoïétine est de déclencher la différenciation des cellules souches en proérythroblastes en permettant en particulier l'induction de la synthèse d'hémoglobine. De plus l'érythropoïétine augmente la vitesse de synthèse d'hémoglobine dans les érythroblastes et accélère la sortie de la moelle des réticulocytes.

- Régulation non spécifique :

D'autres hormones jouent un rôle dans l'érythropoïèse. Ce sont les androgènes dont certains métabolites augmentent la synthèse de l'érythropoïétine, d'autres stimulant directement les cellules souches. L'hormone de croissance hypophysaire agit essentiellement de façon indirecte en augmentant la synthèse d'érythropoïétine. On conçoit que toute diminution de l'activité de ces hormones puisse être responsable d'une anémie.

Cytokines régulant positivement l'érythropoïèse : Le Stem cell Factor est fabriqué par les cellules stromales de la moelle osseuse. Il existe sous une forme soluble et une forme transmembranaire qui semble être prédominante pour la régulation de l'érythropoïèse puisque les souris n'ayant que la forme soluble sont anémiques.

5.2.4. HEMOGLOBINE

✓ **Structure de l'hémoglobine (rappel)**

La molécule (poids moléculaire 64500 Da) comprend : 4 chaînes de globine et 4 molécules d'hème.

- La globine : c'est un ensemble de 4 chaînes polypeptidiques avec pour chaque molécule d'hémoglobine, 4 chaînes semblables deux à deux et appelées α et β pour l'hémoglobine A que l'on prendra pour type de description.

Globine de l'Hb A = $\alpha_2\beta_2$: chaque chaîne est un polypeptide, C'est-à-dire qu'elle est constituée d'acides aminés (146 pour la chaîne β et 141 pour la chaîne α) réunis par des liaisons peptidiques. La chaîne ainsi formée s'enroule sur elle-même en spirale pour réaliser une structure secondaire en hélice. En fait l'hélice est discontinue, l'ensemble de la chaîne formant huit segments hélicoïdaux séparés par de courts segments non hélicoïdaux au niveau desquels se font des courbures pour donner à chaque chaîne sa forme définitive. Des liaisons de natures diverses entre acides aminés mis en contact par les courbures de la molécule la stabilisent (structure tertiaire). Enfin la réunion de deux chaînes α et de deux chaînes β forme une molécule symétrique globulaire : c'est la structure quaternaire.

- L'hème : c'est une porphyrine contenant 1 atome de fer.

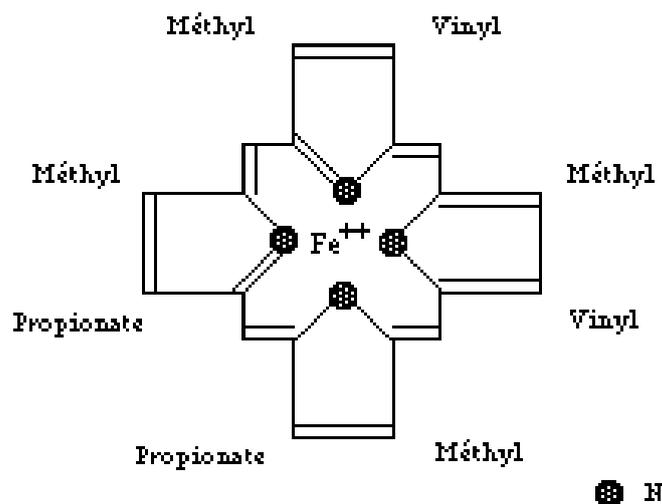


Figure 4 : La molécule d'hème (15).

La porphyrine ou protoporphyrine III comprend elle-même 4 noyaux pyrrol à sommet azote réunis par des ponts méthènes (-CH=) et 8 chaînes latérales : méthyl, vinyl, ou acide propionique.

Le fer est au centre, fixé sur 4 azotes des noyaux pyrrol et garde 2 valences libres. La molécule est plane (figure 4).

- Liaisons hème-globine : la structure tertiaire de chaque chaîne de globine ménage un repli superficiel appelé « poche de l'hème » dans lequel se loge une molécule d'hème. L'arrimage se fait d'une part par des liaisons qu'échangent les chaînes latérales acides propioniques de l'hème et la globine, d'autre part par le fer qui dispose de deux valences libres : l'une le fixe directement à la globine sur un résidu histidine dit « proximal », l'autre intervenant sur la face opposée de la molécule d'hème fixe une molécule d'oxygène et par son intermédiaire assure un arrimage supplémentaire sur un autre résidu histidine dit « distal » de la globine (figure 5).

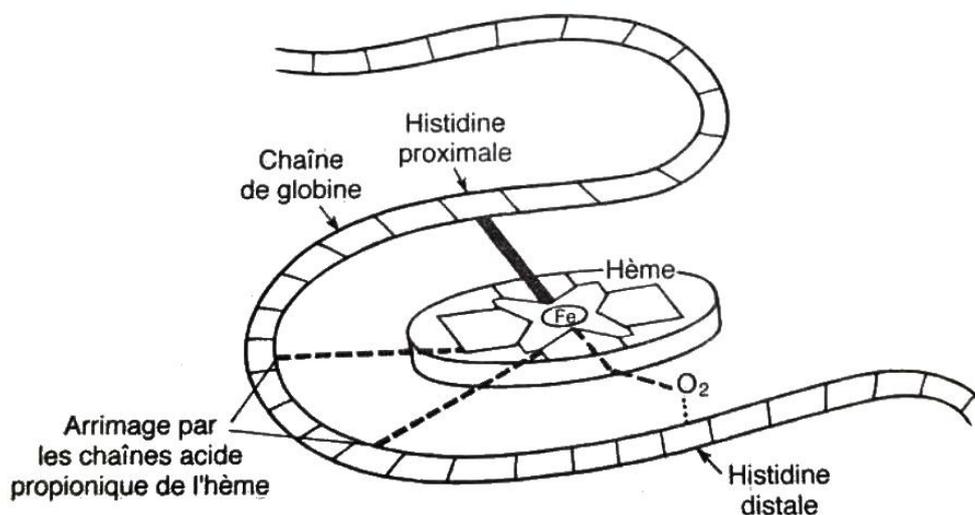


Figure 5 : Les liaisons hème-globine (5).

- Liaison entre les quatre sous-unités : Les sous-unités constituées chacune d'une chaîne de globine portant sa molécule d'hème sont réunies entre elles par de nombreuses liaisons

(figure 6). Les liaisons $\alpha 1\beta 2$ et $\alpha 2\beta 1$ sont relativement peu nombreuses (contacts entre 19 acides aminés), alors que les liaisons $\alpha 1\beta 1$, et $\alpha 2\beta 2$ sont plus fortes (par 35 acides aminés).

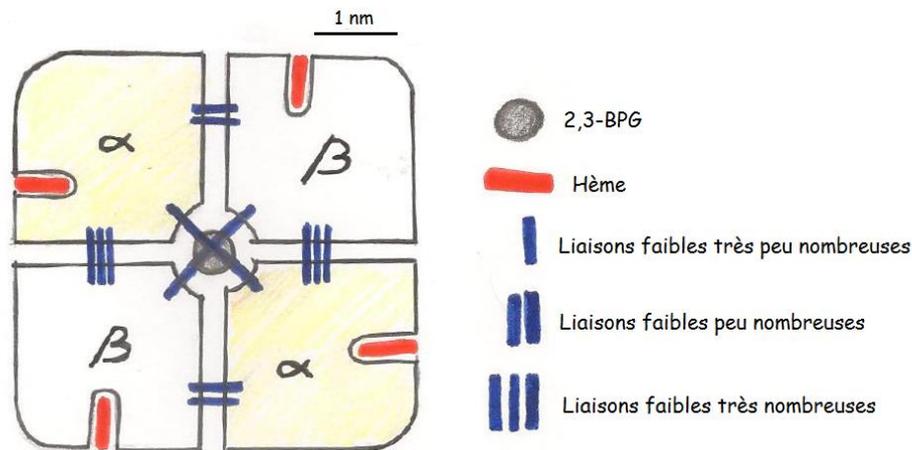


Figure 6 : Schéma de la molécule complète d'hémoglobine (3).

✓ Fonctions de l'hémoglobine

Pigment respiratoire des globules rouges, l'hémoglobine assure plusieurs fonctions :

- La fonction principale est le transport de l'oxygène des poumons aux tissus. Chaque molécule d'hémoglobine fixe 4 molécules d'oxygène (O_2) sur le fer et constitue l'oxyhémoglobine.
- Une autre fonction est le transport du gaz carbonique CO_2 des tissus aux poumons. Une partie seulement du CO_2 (environ 40%) est transportée sous cette forme. L'hémoglobine fixe le gaz carbonique non sur le fer comme l'oxygène, mais sur des groupements aminés latéraux de la globine, pour constituer la carbhémoglobine ou carbaminohémoglobine.
- Une nouvelle fonction a été récemment mise en évidence: le transport du NO.

✓ Variantes normales de l'hémoglobine

L'hémoglobine n'est pas la même à tous les âges (figure 7) :

- Chez l'embryon : Ce sont les Hb Gowers associant chaînes embryonnaire (ζ , ϵ) fœtale (γ) et adulte (α), selon l'âge de l'embryon.

- Chez le fœtus : l'hémoglobine fœtale (F), ($\alpha_2\gamma_2$) dont l'affinité pour l'O₂ est plus forte que celle de l'Hb A.

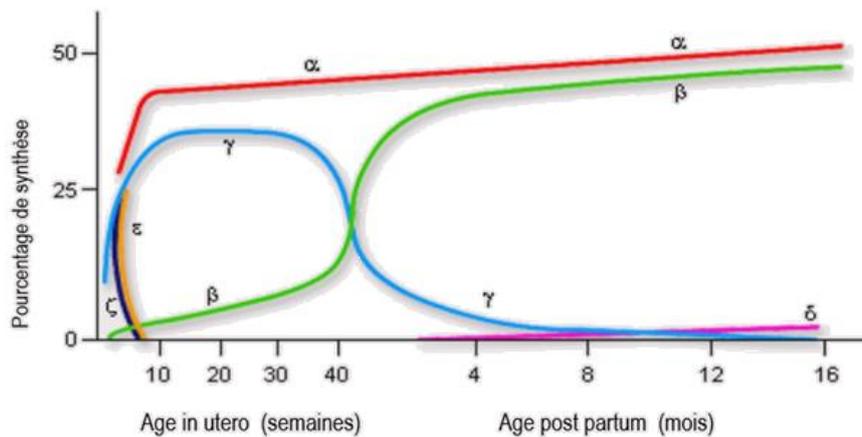


Figure 7 : Évolution de la synthèse des chaînes d'hémoglobine en fonction de l'âge (12 - page 12).

- Chez l'adulte on trouve, simultanément plusieurs hémoglobines. Dans les semaines qui précèdent la naissance et celles qui la suivent, la synthèse de l'hémoglobine F est progressivement réprimée au profit de l'hémoglobine A qui apparaît en fin de gestation et de l'hémoglobine A2 ($\alpha_2\delta_2$). Vers l'âge de six mois, on arrive à une formule voisine de celle de l'adulte : Hb A (97 à 99%), Hb A2 (1 à 3,5 %), Hb F (traces).

Les 3 hémoglobines normales A, A2 et F ont en commun deux chaînes alpha mais différent par la nature de leurs chaînes non-alpha qui sont respectivement appelées bêta, delta et gamma.

✓ Synthèse de l'hémoglobine

- Synthèse de l'hème : elle se fait dans les mitochondries des érythroblastes où toutes les enzymes nécessaires sont réunies. À partir de la glycine et de l'acide succinique, une série de précurseurs intermédiaires sont synthétisés : les porphyrines, L'importation du fer dans la protoporphyrine III réalise l'hème.
- Synthèse de la globine : elle se fait selon le schéma général de la synthèse des protéines. Il existe une synchronisation normale de la synthèse des chaînes alpha et non-alpha: une

chaîne alpha et une chaîne non-alpha s'associent pour former un dimère, deux dimères associés à 4 molécules d'hème constituant une molécule d'Hb. La synchronisation entre la synthèse de l'hème et celle de la globine se fait par l'intermédiaire de l'hème qui stimule la synthèse des chaînes de globines. L'hème joue donc un rôle clef dans la régulation de la synthèse de l'hémoglobine (hème et globine).

✓ **Protection de l'hémoglobine contre l'oxydation**

Les hémoglobines normales sont constamment exposées à l'oxydation, notamment au niveau de l'hème. La transformation du fer ferreux (Fe ++) de l'hème, en fer ferrique (Fe +++) réalise une forme de dénaturation de l'hémoglobine, inapte au transport d'oxygène, la méthémoglobine. À l'état normal 1% environ de l'hémoglobine est sous cette forme dénaturée mais plusieurs enzymes assurent sa retransformation permanente en hémoglobine fonctionnelle, ce sont les méthémoglobines-réductases ou diaphorases.

5.3. MOYENS DE MESURE DU TAUX D'HEMOGLOBINE

5.3.1. MOYENS AUTOMATISES : LES AUTOMATES D'HEMATOLOGIE

Les compteurs d'hématologie ou automates d'hématologie sont des appareils plus ou moins complexes utilisés pour la réalisation de l'hémogramme. L'hémogramme est l'étude cytologique quantitative et qualitative du sang circulant. Il comprend :

- La détermination des nombres absolus de globules rouges, de globules blancs et des plaquettes ;
- Le dosage de l'hémoglobine ;
- La mesure de l'hématocrite ;
- Le calcul des constantes érythrocytaires : VGM, TCMH et CCMH ;
- L'établissement pour les globules blancs de la formule leucocytaire donnant les pourcentages des différents types de leucocytes.

5.3.1.1. PRINCIPE

Il existe essentiellement deux principes de comptage utilisés par les automates d'hématologie utilisés par les laboratoires (17).

✓ **La variation d'impédance :**

Appelé encore, principe Coulter du nom de son inventeur: Elle est la méthode de référence.

L'appareil utilise les variations d'une résistance électrique afin de déterminer la taille des cellules sanguines. Les cellules en passant à travers une ouverture déplacent un volume égal de fluide conducteur. De plus un courant électrique est appliqué au niveau de cette ouverture. Chaque passage d'une cellule à travers l'ouverture provoque alors une augmentation de la résistance électrique. Cette augmentation est traduite en impulsions électriques dont la hauteur est directement proportionnelle au volume cellulaire. La détermination de la taille de la cellule est donc basée sur le déplacement du liquide et on obtient par conséquent la mesure du volume cellulaire (c'est-à-dire le VGM).

Le nombre de globules rouges est déterminé par le total d'impulsions enregistrées. Le taux d'hématocrite est alors déduit selon la formule : $Ht = GR \times VGM / 10$.

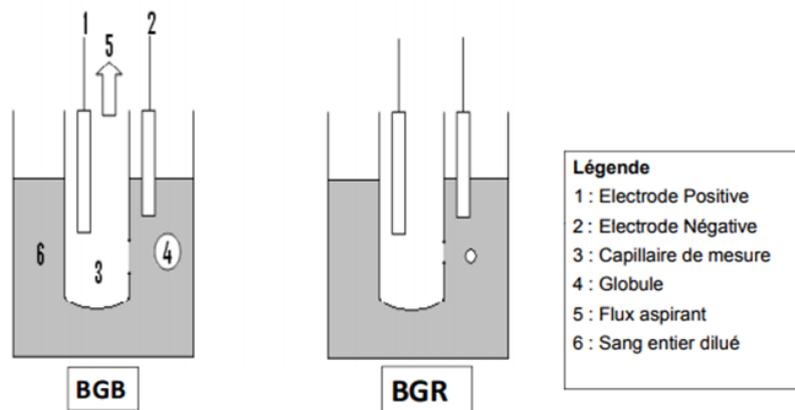


Figure 8 : Principe de mesure par variation d'impédance (17).

✓ **La mesure optique :**

Elle associe la cytométrie en flux et la diffraction lumineuse. La source de lumière peut être un laser ou une lampe au tungstène. La cytométrie en flux consiste globalement à faire défiler une à une des cellules devant un faisceau laser. Plus précisément, on utilise d'abord un système d'hydro focalisation qui va permettre de canaliser les cellules et de les faire passer en file indienne. Lors de leur passage à travers le laser, elles émettent des signaux lumineux qui sont analysés par l'ordinateur associé au cytomètre. Ces signaux peuvent être de plusieurs

natures comme par exemple une diffraction de la lumière par la cellule qui est alors liée à sa taille ou un signal de fluorescence émis spontanément par la cellule ou parce qu'elle a été marquée par un antigène, une coloration.

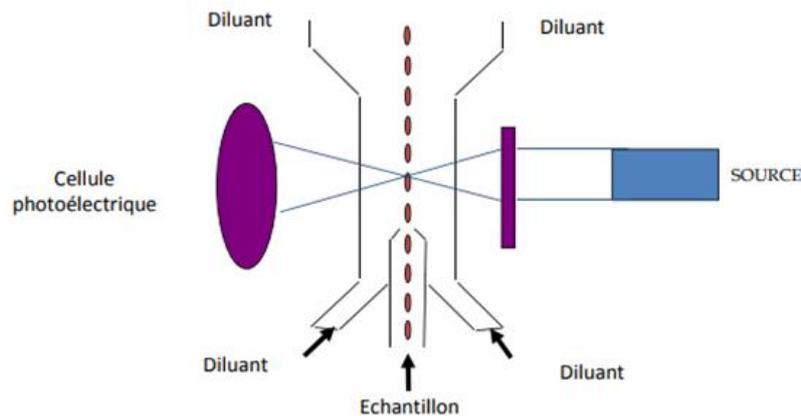


Figure 9 : Principe de mesure par méthode optique (17).

5.3.1.2. ANALYSEUR D'HEMATOLOGIE 18 PARAMETRES / AVEC REPARTITION LEUCOCYTAIRE / AUTOMATIQUE / PAR IMPEDANCE ELECTRIQUE (ABX MICROS ES60)

5.3.1.2.1. CARACTERISTIQUES (18) :

- Principes de détection des GR & PLA : Méthode Impédance, Diamètre de l'orifice 50 μm , Temps de comptage 2 (ou 3) x 6 secondes, Ratio de dilution 1/15 000
- Mesure de l'HB : Méthode Photométrie - Longueur d'onde 550 nm - Ratio de dilution 1/250
- Mesure de l'Ht : Méthode Intégration numérique
- Principe de détection des GB : Méthode Impédance - Diamètre de l'orifice 80 μm - Temps de comptage 2 (ou 3) x 6 secondes - Ratio de dilution 1/260
- Différenciation des GB : Méthode Impédance + lyse spécifique
- CCMH, TCMH, IDR, THT, IDP : Paramètres calculés
- Micro prélèvement ABX : Seulement 10 μl de sang total par analyse
- Vannes liquides ABX : Des volumes précis et fiables
- Moteur pas à pas : Réduction de la pollution sonore (absence de compresseur)



Figure 10 : Automate d'hématologie ABX Micros ES60 (18).

5.3.1.2.2. EXAMEN DU SANG :

Lorsqu'on centrifuge un tube de sang prélevé par voie veineuse ou artérielle sur anticoagulant, on sépare en bas les cellules, globules rouges, globules blancs, plaquettes appelés souvent « éléments figurés » et en haut le plasma.

L'examen des éléments figurés du sang est appelé hémogramme et il est réalisé sur un prélèvement sur anticoagulant, veineux chez l'adulte ou capillaire chez le petit enfant. Il comporte deux types d'analyses:

- L'analyse quantitative des éléments figurés (globules rouges, globules blancs, plaquettes),
- L'examen morphologique de ces cellules.

5.3.1.2.2.1. ANALYSE QUANTITATIVE SUR LES GLOBULES ROUGES ET LEUR CONTENU :

La quantité de globules rouges présente dans un échantillon de sang peut être appréciée par trois mesures : celle du nombre de globules rouges, celle du taux d'hémoglobine et celle de l'hématocrite.

Les globules rouges ou hématies sont des cellules anucléées, sans organites, contenant de l'hémoglobine. Le globule rouge normal a la forme d'un disque biconcave, de couleur rose vif ou orangée avec une dépression claire au centre lorsqu'il est coloré par la technique de MGG. Les globules rouges assurent le transport de l'oxygène dans l'organisme. A l'état

normal, tous les globules rouges ont sensiblement la même taille, la même forme, la même coloration et ne contiennent pas d'inclusions intra cytoplasmiques. Toute modification de ces critères traduit un phénomène pathologique.

✓ **Le 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 dosée sur un spectrophotomètre à 540 nm. Les résultats sont exprimés en g/dl de sang et les valeurs normales sont définies plus haut en introduction.

✓ **L'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 et les valeurs usuelles se situent :

40% à 54% chez l'homme,

35% à 47% chez la femme,

36% à 44% chez l'enfant à partir de 1 an,

44% à 62% chez le nouveau-né.

✓ **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 des constantes de Wintrobe :

- Volume globulaire moyen (VGM)
- Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCHM)
- Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH).

✓ **Calcul du volume globulaire moyen (VGM) :**

Il se fait en divisant le volume globulaire compris dans 1 µl de sang (fourni par l'hématocrite) par le nombre de globules rouges contenus dans le même volume (fourni par la numération).

$$\text{VGM} = \text{Ht} / \text{Nombre de GR}$$

La normale se situe entre 85 et 95 fl. En dessous de 85 fl, on parlera de microcytose, au-dessus de 95 fl de macrocytose, dans la limite normale de normocytose. Il existe chez le petit enfant une microcytose (75-80 fl) qui semble physiologique.

✓ **La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) :**

Le calcul consiste à diviser le résultat du dosage d'hémoglobine par celui de l'hématocrite. On rapporte ainsi la quantité d'hémoglobine à l'unité de volume de globules rouges : CCMH = Hb / Ht

Le résultat normal est compris entre 0,32 et 0,36 généralement exprimé en pourcentage (%).

La CCMH peut être abaissée en dessous de 32 quand le contenu en hémoglobine des globules rouges par unité de volume est insuffisant : il y a hypochromie. Lorsque la CCMH est comprise entre 32 et 36 il y a normochromie. En revanche, il n'existe pas d'hyperchromie.

✓ **La Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) :**

Elle s'obtient en divisant le résultat du dosage de l'hémoglobine par le nombre de globules rouges et indique le poids moyen d'hémoglobine par globule, la normale se situe entre 27 et 32 pg / cellule. Elle dépend à la fois du contenu en hémoglobine par unité de volume et du volume globulaire.

5.3.1.2.2. ETUDE QUANTITATIVE DES GLOBULES BLANCS :

Les globules blancs ou leucocytes sont des cellules mobiles possédant tous des organites fondamentaux des cellules animales 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. Les valeurs normales sont de 4 à 10000 par µl chez l'adulte.

5.3.1.2.2.3. ETUDE QUANTITATIVE DES PLAQUETTES :

Ce sont des petites cellules de 2 à 4 µm de diamètre, anucléés dans lesquelles on distingue seulement quelques granulations colorées. Les plaquettes sont les principaux acteurs 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.

L'intervalle de variation normale est très large de 150000 à 450000 par µl.

5.3.2. MOYENS SEMI-AUTOMATISES : HEMOCUE®

Les systèmes de test HemoCue® Point of Care donnent des résultats rapides et fiables avec une qualité de laboratoire sans compromettre l'exactitude, même sous des climats exigeants avec des valeurs élevées de la température et de l'humidité. Des tests précis de l'hémoglobine avec le jugement clinique fourniront une base solide pour de bonnes décisions de traitement (19).

Caractéristiques et principe de détermination du taux d'hémoglobine à l'HemoCue® Hb 301 :

L'HemoCue® Hb 301 est un petit appareil manuel qui mesure par photométrie la concentration d'hémoglobine dans le sang qui est déterminée en mesurant l'absorbance du sang total à un point isobestique pour Hb/HbO₂. L'analyseur utilise une méthode de mesure à double longueur d'onde, 506 et 880 nm, pour compenser la turbidité (20,21).

Il peut être utilisé sur secteur (Adaptateur AC) ou avec des piles ce qui le rend mobile et facile d'utilisation et ne nécessite que 10 µl de sang total capillaire, veineux ou artériel prélevé par capillarité dans la cavité d'une petite cuve spéciale.

La plage de mesure varie de 0 à 25,6 g/dl. Le résultat est disponible en 10 secondes environ. Le poids de l'appareil avec les piles est de 500 grammes. La température de fonctionnement varie de 10 à 40°C et l'analyseur peut être entreposé à une température comprise entre 0 et 50°C.

Le contrôle de qualité se fait par « Autotest » intégré avec les liquides de contrôle.

Le système HemoCue® Hb 301 est étalonné conformément à la méthode de cyan méthémoglobine, la méthode de référence internationale en matière de détermination des concentrations d'hémoglobine dans le sang, cet étalonnage a été faite en usine et ne nécessite aucun étalonnage supplémentaire (22).

Concernant l'exactitude, l'appareil aurait une corrélation de 0,99 par rapport à la méthode de référence (21).



Figure 11 : Analyseur HemoCue® Hb 301 (19).



Figure 12 : Boite de micro cuvettes HemoCue® Hb 301 (21).

6. MATERIELS ET METHODES

6.1. CADRE D'ETUDE

Cette étude s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche pour investiguer l'acquisition naturelle de l'immunité acquise contre le paludisme au Mali à partir d'un ensemble d'outils de diagnostic appelé Systèmes Biologiques. Ce projet est une collaboration entre le centre de recherche et de formation sur le paludisme (MRTC) sis à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS) et l'Institut national d'allergie et de maladies infectieuses des Instituts Nationaux de la santé des Etats-Unis d'Amérique (NIAID/NIH). Il s'agissait d'une étude de cohorte de 2011 à 2018 avec des passages transversaux réalisés dans le village de Kalifabougou sur des volontaires, âgés de moins de 3 mois à 25 ans. Un test HemoCue® a été réalisé à l'occasion de chaque mesure par l'automate. La parasitémie et la température corporelle ont aussi été évaluées.

6.1.1. CHOIX DU SITE D'ETUDE

Le village de Kalifabougou a été choisi comme site d'étude par sa situation en zone d'endémie palustre, sa proximité du laboratoire d'immunogénétique (LIG) de la FMPOS (60 km) environ une heure en voiture, la densité et la concentration de la population dans un rayon de 2 km, l'existence d'un centre de santé et enfin par le fait que Kalifabougou n'a jamais été un site de recherche sur le paludisme.

6.1.2. HISTORIQUE

La commune rurale de Kalifabougou a pris le nom de son chef-lieu de commune. Le village de Kalifabougou a été créé il y a plusieurs centaines d'années par les familles Konaré et Diarra. En plus on y rencontre d'autres noms de famille comme les Traoré, les Doumbia, les Coulibaly, Diawara...qui sont entre autres des bambaras et qui cohabitent avec les peulhs, les Sarakolés etc....

6.1.3. GEOGRAPHIE

Kalifabougou est un village rural situé à 46 km au Nord-Ouest de Bamako (la capitale Malienne) dans le cercle de Kati, région de Koulikoro, coordonnées 12°56'39''N et 8°10'15''W avec une superficie de 241.29 km². Il est situé en zone de savane soudanienne nord avec la présence de rivières temporaires qui entourent le village. Il est limité :

A l'Est par la commune rurale de Yélékébougou Au Sud-Est par la commune rurale de Kambila Au Sud par la commune rurale de Diago Au Sud-Ouest par la commune rurale de Diogare A l'Ouest par la commune rurale de Bossofala Au Nord-Ouest par la commune rurale de N'Tjiba-Faladiè Au Nord par la commune rurale de Diedougou

L'accès au village se fait à partir de la grande piste OHVN Kati-Faladiè.

Le climat est de type soudanien et caractérisé par deux saisons :

- une saison sèche de novembre à Mai qui se divise en une saison froide (de novembre à février) et une saison chaude (de mars à mai).
- une saison des pluies de Juin à Octobre, avec le maximum de précipitation en août-septembre. La pluviométrie annuelle varie entre 800-1200 mm d'eau/an.

La végétation de la commune est en perpétuelle dégradation suite aux coupes abusives et aux feux de brousse incontrôlés. Cependant on y rencontre quelques grands arbres tels que le karité, le néré, le baobab, le caïlcédrat etc....

6.1.4. DEMOGRAPHIE

La commune rurale de Kalifabougou compte près de 11356 habitants avec une densité de 47 habitants / km² (PDESC 2005-2009). La population est très jeune car plus de 45% de la population ont moins de 15 ans. Le village de Kalifabougou compte environ 5000 habitants (recensement de 2010 /MRTC/DEAP/FMPOS). Le taux de natalité est d'environ 53 pour 1000, le taux de mortalité 9,2% et le taux d'accroissement est de 4,4%. La population de Kalifabougou est essentiellement composée de Bambaras, de Sarakolés, de Malinkés, de Peuhls, de Dogons, de Mossis et de Bozos.

Les habitations sont faites de maisons en banco couvertes de tôles. Les activités économiques sont essentiellement basées sur l'agriculture, l'élevage et le commerce.

6.1.5. INFRASTRUCTURES

Le village de Kalifabougou possède une école publique dont un premier cycle, un second cycle et un lycée ; un CSCOM qui abrite en son sein une pharmacie et une maternité. Le centre de santé est dirigé par un médecin, qui reçoit tous les malades de l'aire du CSCOM. Le nombre de consultation moyenne mensuelle était de 340 dont 182 pour le paludisme au cours de l'année 2011. Les références sont faites au centre de référence de Kati et Bamako. La maternité dispose d'un personnel médical composé d'une infirmière obstétricienne et de deux matrones.

6.2. TYPE D'ETUDE

Il s'agit d'une étude longitudinale de cohorte avec des passages transversaux après l'enrôlement (Mai 2011).

6.3. PERIODE D'ETUDE

Notre étude s'est déroulée de mai 2013 à mai 2014.

6.4. POPULATION D'ETUDE

Notre étude concernait les enfants âgés de 3 mois à 10 ans, les adolescents de 11 à 17 ans ainsi que les adultes de 18 à 25 ans choisis par pas de sondage à l'ordinateur.

6.5. ECHANTILLONNAGE

Nous avons procédé à un échantillonnage selon un choix probable, orienté sur l'ensemble des volontaires de l'étude de cohorte de Kalifabougou. L'étude a ainsi porté sur l'ensemble des volontaires enrôlés dans cette étude de cohorte. Il est à rappeler que le but de cette étude de cohorte était d'analyser la réponse immunitaire B contre l'infection à *Plasmodium falciparum*.

Les volontaires, stratifiés selon l'âge, étaient sélectionnés de façon aléatoire (à partir de l'ordinateur) sur la base des données du recensement préalablement fait.

6.6. SELECTION ET RECRUTEMENT DES SUJETS

Dans le registre de recensement du village, une sélection au hasard a été effectuée dans chaque groupe d'âges pour identifier le nombre de sujets nécessaire préalablement défini (ci-dessus). L'équipe de recherche a contacté les volontaires sélectionnés et/ou leurs parents en personne en leur rendant visite dans les familles pour les inviter à participer à l'étude par l'intermédiaire des guides locaux.

6.6.1. CRITERES D'INCLUSION

- ✓ Être en bonne santé apparente;
- ✓ Agé de 3 mois à 25 ans;
- ✓ Résidant à Kalifabougou;
- ✓ Ne pas voyager pendant toute la durée de l'étude;
- ✓ Donner son consentement volontaire pour la participation à l'étude;
- ✓ Accepter que les échantillons de sang soient gardés pour des études futures.

6.6.2. CRITERES DE NON INCLUSION

- ✓ Avoir un taux d'hémoglobine < 7 g/dl;
- ✓ L'utilisation d'antipaludiques, de corticoïdes, ou d'autre produits immunosuppresseurs les deux semaines précédant le début de l'étude;
- ✓ Avoir une maladie cardiaque sous-jacente, un trouble du saignement, ou d'autres conditions qui selon le jugement du clinicien augmenteraient le risque chez les sujets d'étude;
- ✓ Avoir de la fièvre (température axillaire $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$) et/ou une évidence d'infection aiguë;
- ✓ Être présentement enceinte ou programmer de contracter une grossesse pendant toute la durée de l'étude.

6.7. ENROLEMENT DES VOLONTAIRES

Chaque volontaire consentant recevait d'abord un numéro de dépistage unique avec lequel il effectue les procédures clinique et de laboratoire avant inclusion. S'il répondait aux critères d'inclusion, un numéro d'identification unique lui est attribué.

6.8. TECHNIQUE D'ETUDE

Les données sociodémographiques, cliniques et paracliniques ont été collectées au moyen d'un formulaire préétabli (CRF : case report form) élaboré suivant les objectifs de l'étude.

6.8.1. VARIABLES SOCIODEMOGRAPHIQUES

Les variables sociodémographiques récoltées sont: l'âge, le sexe, le poids, l'ethnie, la provenance (village ou hameau).

6.8.2. EVALUATION DES PARAMETRES CLINIQUES

6.8.2.1. MATERIELS

Thermomètre électronique ; stéthoscope et tensiomètre ; pèse-personne ; Gant ; Abaisse langue ; tables de consultation ; stylo ; registres ; Fiche de paillasse ; Chronomètre ; Poubelle.

6.8.2.2. PROCEDURE

Il s'agissait en premier lieu de rechercher à l'interrogatoire les antécédents, surtout la présence d'une maladie chronique et ou toute affection pouvant influencer l'immunité, comme l'utilisation de médicaments immunosuppresseurs, puis l'évaluation des signes vitaux (poids, température, tension artérielle, fréquence cardiaque et respiratoire), et l'examen clinique proprement dit avec la recherche systématique d'une splénomégalie.

- ✓ **Evaluation du poids** : Le poids exprimé en kilogramme (Kg), était pris à l'aide d'une pèse personne de marque SECA®. Une double pesée était effectuée chez les nourrissons.
- ✓ **Evaluation de la température** : La température axillaire était prise à l'aide d'un thermomètre électronique de marque SPENGLER®. La fièvre a été définie par une température axillaire non corrigée supérieure ou égale à 37,5 degré Celsius (°C).

- ✓ **Evaluation de la tension artérielle** : La tension artérielle était appréciée à l'aide d'un tensiomètre électronique de marque AUTOTENSIO® chez les participants âgés de quatre ans et plus.
- ✓ **Appréciation de la rate** : La taille de la rate a été déterminée selon la classification de Hackett.

6.8.3. TECHNIQUES DE LABORATOIRE

6.8.3.1. MATERIELS

Le matériel de laboratoire était composé de : Lames porte objets ; Vaccinostyle stériles ; Alcool à 90° ; Compteur ; Gants ; Coton hydrophile ; Papier hygiénique ; Huile d'immersion ; Bac de coloration ; Boîtes OMS de conservation de lames ; Solution de Giemsa ; Eau distillée tamponnée (pH= 7,2) ; Râteliers ; Microscope optique ; Eau de javel ; Vacutainer ; Automate ABX Micros ES60 ; Appareil HemoCue® ; Micro cuvette à HemoCue® ; Poubelles ; Fiche de paillasse ; Stylo ; Règle ; Crayon de papier.

6.8.3.2. PROCEDURE

La parasitémie de l'infection à *P. falciparum* a été mesurée à partir de la goutte épaisse et l'ADN parasite a été mis en évidence à partir du sang collecté sur le papier buvard (confetti) par la technique de la biologie moléculaire : Polymérase chaîne réaction (PCR).

- ✓ **Goutte épaisse** : La lecture des lames de GE étaient faites par des lecteurs certifiés et la parasitémie a été quantifiée en utilisant la méthode standard, c'est-à-dire le comptage des parasites sur 300 leucocytes et la quantification de la parasitémie par microlitre (µl) de sang en supposant une moyenne de 7500 leucocytes/µl de sang. Le contrôle de qualité a été fait sur 10% des lames par un autre lecteur certifié indépendant ignorant les résultats du premier lecteur. Pour chaque lame lue, si les parasitémies obtenues par les deux lecteurs diffèrent de plus de 25% ou s'il y a une différence sur l'espèce, la même lame était relue par un troisième lecteur certifié qui joue le rôle d'arbitre.
- Principe : Elle est réalisée afin de déterminer et de quantifier la présence de parasites. Elle reste la technique de référence en matière de diagnostic du paludisme.

- Mode d'opération : Après identification de la lame, le numéro du participant ainsi que la date du prélèvement sont inscrits au crayon sur la lame. Le troisième ou le quatrième doigt de la main gauche du participant est désinfecté à l'aide d'un tampon d'alcool. A l'aide d'un vaccinostyle stérile, on fait une ponction capillaire d'un coup sec. De la main gauche, on presse le doigt piqué pour obtenir une goutte de sang. La première goutte est éliminée à l'aide d'un coton sec, ensuite une goutte de sang est déposée au centre de la lame étiquetée. A l'aide de l'extrémité d'une autre lame, on écrase la goutte en effectuant des mouvements circulaires et centrifuges jusqu'à atteindre environ un centimètre de diamètre. La goutte ainsi obtenue est séchée à l'air libre de préférence et ou à l'aide de séchoir électrique à l'abri de la poussière et des mouches.
- Coloration : On utilise la technique de coloration au Giemsa diluée à 10% dans de l'eau tamponnée pH= 7,2. Cette technique permet en même temps la déshémoglobination et la coloration selon un plan horizontal stable et immergé. A l'aide d'un portoir, les lames sont soigneusement glissées dans la solution de Giemsa. Au bout de 20 minutes, les lames sont soigneusement retirées de la solution de Giemsa et rincées à l'eau de robinet dans un bac. Les lames sont ensuite séchées sur un râtelier.
- Examen microscopique : La lecture des lames a été faite à l'aide du microscope optique binoculaire à l'objectif 100 à l'immersion. La méthode quantitative de Payen (Payen et al. 1989) a été utilisée pour la détermination de la parasitémie sur la goutte épaisse. La densité parasitaire a été déterminée sur 300 leucocytes puis rapportée à 7500 leucocytes pour avoir la parasitémie par μl de sang. $X = 7500 Y / 300$
X = parasitémie par μl de sang. Y = nombre de formes asexuées de Plasmodium comptée pour 300 leucocytes. Une lame était considérée comme positive pour une goutte épaisse si au moins un trophozoïte était présent et négatif si aucun trophozoïte ne s'était décelé. Étaient considérés comme cas de paludisme maladie, les cas de goutte épaisse positive avec une parasitémie supérieure ou égale à 2500 parasites/ μl . Le diagnostic de présomption palustre, porté après l'examen clinique, était le plus souvent un diagnostic d'élimination en l'absence de signe évoquant une affection précise. Le diagnostic définitif était porté après confrontation des données cliniques et biologiques.

✓ **Confettis** : Le papier filtre est numéroté en fonction de l'identité du volontaire. Une goutte de sang est déposée dans un des cercles du papier filtre et mis à sécher à l'abri des mouches et de la poussière. L'ADN du plasmodium a été extraite par la technique de Quiagen et mis en évidence par la technique de la biologie moléculaire: PCR

✓ **Détermination du taux d'hémoglobine par HemoCue® Hb 301:**

- Principe de détermination du taux d'hémoglobine à l'HemoCue® Hb 301 : Le système se compose d'un analyseur et de micro cuvettes. La micro cuvette sert à la fois de pipette et de cuvette de mesure. Un échantillon de sang d'environ 10µl de sang est prélevé dans la cavité par capillarité à partir du même point de piqûre (au bout du troisième doigt). Le système HemoCue® Hb 301 est étalonné conformément à la méthode de cyan méthémoglobine (HiCN) la méthode de référence internationale en matière de détermination des concentrations d'hémoglobine dans le sang, cet étalonnage a été fait en usine et ne nécessite aucun étalonnage supplémentaire.
- Mode opératoire pour le dosage à l'HemoCue® Hb 301 : Allumer l'HemoCue® Hb 301 en position "power on". Tirer le porte-cuvette en position d'insertion, jusqu'à entendre un dé clic d'arrêt qu'on ne doit pas dépasser. Attendre l'affichage de trois traits sur l'écran de lecture ; introduire la micro cuvette. Noter le résultat affiché après le bip sonore et vérifier qu'il ne diffère pas du résultat attendu donné par le fabricant sur la notice d'accompagnement (12 ± 0.3 g/dl); doser les échantillons de la façon suivante : remplir la micro cuvette (10 µl de sang) et placer dans la position de la lecture, puis remettre le porte-cuvette dans la position d'insertion et le résultat s'affiche après un bip sonore ; le résultat est directement affiché sur l'écran de lecture du photomètre en g/dl. Le résultat est porté sur la feuille de paillasse.

✓ **Détermination du taux d'hémoglobine par l'automate :**

- Principe : basé sur la variation d'impédance. L'appareil utilise les variations d'une résistance électrique afin de déterminer la taille des cellules sanguines. Les cellules en passant à travers une ouverture déplacent un volume égal de fluide conducteur. De plus

un courant électrique est appliqué au niveau de cette ouverture. Chaque passage d'une cellule à travers l'ouverture provoque alors une augmentation de la résistance électrique. Cette augmentation est traduite en impulsions électriques dont la hauteur est directement proportionnelle au volume cellulaire. La détermination de la taille de la cellule est donc basée sur le déplacement du liquide et on obtient par conséquent la mesure du volume cellulaire.

Le nombre de globules rouges est déterminé par le total d'impulsions enregistrées.

- Mode opératoire : l'ABX Micros ES60 effectue des numérations sanguines automatisées et ne nécessite aucune opération manuelle pour aspirer le sang, les dilutions, les mesures, les calculs, les impressions et le transfert informatique de données. Les paramètres sont donnés en fonction de la configuration interne.

6.9. ORGANISATION DU TRAVAIL

6.9.1. A L'INCLUSION

Le travail était organisé autour de trois postes:

6.9.1.1. PROCEDURE DE DEPISTAGE ET ENROLEMENT DES VOLONTAIRES

C'était à ce poste qu'à lieu le premier contact entre les volontaires et les investigateurs cliniques après obtention de la permission communautaire. Ce poste était composé d'investigateurs, de guides et d'un témoin. Le travail consistait à identifier les volontaires à travers le registre de recensement du village et à fournir une explication détaillée du protocole dans la langue locale (le bambara) aux volontaires, insistance sur la liberté de participer ou non à l'étude et de se retirer à tout moment sans pénalité ; si la personne exprime la volonté de participer à l'étude, un numéro de dépistage lui est attribué. Les procédures du consentement sont expliquées à chaque volontaire ou parent /tuteur (pour les volontaires de moins de 18 ans). Les investigateurs s'assuraient que les volontaires ou les parents /tuteurs des volontaires ont signé le consentement libre et éclairé. Pour les volontaires âgés de 7 ans et plus mais moins de 18 ans, un assentiment a été aussi signé. Tous les volontaires ont reçu une copie du consentement libre et éclairé et/ou assentiment. Après obtention d'un consentement libre et éclairé et/ou d'un assentiment, les volontaires passaient à tour de rôle l'examen

clinique muni d'une fiche de transmission et la copie du consentement appartenant au participant.

6.9.1.2. PROCEDURE CLINIQUE

Un examen clinique complet a été effectué chez tous les volontaires. Cette procédure était pris en charge par différents investigateurs et d'étudiants en fin de cycle dont :

- ✓ Un premier s'occupait de la vérification du numéro de dépistage, du nom et prénom sur le formulaire de consentement éclairé et enfin effectuait le test de grossesse au β HCG (hormone gonado-chorionique) chez les volontaires féminins en âge de procréer.
- ✓ Un deuxième s'occupait de la mesure des paramètres vitaux (poids, température, fréquence cardiaque et respiratoire)
- ✓ Un troisième s'occupait de l'anamnèse de l'histoire de la maladie orientée, de rechercher les antécédents médicaux, chirurgicaux et familiaux de chaque volontaire.
- ✓ Enfin un quatrième s'occupait de l'examen physique proprement dit, de la palpation de la rate et sa stadification selon Hackett, puis les volontaires étaient orientés vers le laboratoire.

6.9.1.3. PROCEDURE DE LABORATOIRE

La salle de laboratoire était occupée d'investigateurs, d'étudiants en fin de cycle et d'un infirmier dont :

- ✓ Un premier s'occupait de l'évaluation du taux d'hémoglobine des différents volontaires puis attribuait un numéro d'identification unique à chaque volontaire ayant un taux d'hémoglobine supérieur à 7g/dl ;
- ✓ Un deuxième s'occupait de l'étiquetage des cryotubes pellet, RNA et tube CPT;
- ✓ Un troisième s'occupait des prélèvements capillaires pellet et RNA ainsi que la réalisation d'une goutte épaisse et d'un confetti (les lames et les papiers confetti étaient pré-étiquetés) à partir du premier point de piqûre (troisième ou quatrième doigt);
- ✓ Un quatrième s'occupait du prélèvement veineux (4ml pour les moins de 2ans et 8 ml pour les participants de 2 ans ou plus)
- ✓ Puis un dernier qui s'occupait de la réception des selles et urines des participants.

Après inclusion le participant retournait au poste l'identification pour l'obtention de sa carte d'identification et de sa compensation. Cette carte était unique pour chaque participant, et portait le numéro de recensement, la date d'inclusion, et le numéro d'identification. Cette carte devrait être soigneusement gardée par le participant durant toute la durée de l'étude, ainsi à chaque visite, le participant était identifié à travers sa carte.

6.9.2. SURVEILLANCE ACTIVE

6.9.2.1. PROCEDURE D'IDENTIFICATION ET D'ENREGISTREMENT

C'est le premier poste où les participants passaient par ordre d'arrivée après convocation munis de leur carte d'identification. Après vérification et identification à travers leur carte de visite, une croix était mise sur la liste de convocation pour documenter leurs participations, ensuite les participants étaient orientés vers la clinique munis de la fiche de transmission préétablie comportant le numéro du participant et la date de visite.

6.9.2.2. PROCEDURE CLINIQUE

Un examen physique complet était effectué chez tous les participants. Les investigateurs cliniques notaient sur le dossier de transmission, les plaintes et l'histoire de la maladie ainsi que les paramètres cliniques (poids, température axillaire, les fréquences cardiaque et respiratoire, la tension artérielle et l'examen physique proprement dit) et orientaient le participant au laboratoire.

6.9.2.3. PROCEDURE DE LABORATOIRE

Troisième poste de travail, lieu de prélèvement d'échantillon de sang. Après le poste clinique, les participants passaient au laboratoire où leur numéro d'identification était pris pour l'étiquetage des cryotubes pellet, RNA et CPT. On recueillait chez chaque participant piqué au troisième ou quatrième doigt quelques gouttes de sang qui servait pour la confection de papier confetti, de goutte épaisse, la mesure du taux d'hémoglobine ainsi que le pellet et RNA. Un prélèvement veineux (4 ml pour les moins de 2 ans et 8 ml pour les participants de 2 ans ou plus) était effectué chez tout participant ayant un taux d'hémoglobine supérieur ou égale à 7g /dl. Toutes les données récoltées étaient notés sur la fiche de paillasse considérée comme document source du laboratoire puis sur la fiche de transmission du participant.

6.9.2.4. PROCEDURE D'ADMINISTRATION DU MEDICAMENT

Un traitement adéquat était administré à tous participants malades selon le jugement du clinicien. Puis les participants se rendaient au poste d'attribution de compensation. Pour les cas de paludisme confirmés, le traitement était administré au centre sous observation directe mais lorsque les vomissements survenaient en moins de trente minutes après l'administration du traitement la dose entière était ré-administrée, et à plus de trente minutes demi-dose était ré-administrée.

6.10. CONSIDERATIONS ETHIQUES

Le protocole de recherche a été approuvé par le comité d'éthique institutionnel de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS) du Mali et celui du National Institutes of Health (NIH).

Après l'approbation du protocole par le comité d'éthique, nous avons reçu la permission des autorités communautaires, administratives, des chefs et conseillers traditionnels du village. Pour cela, nous leur avons expliqué le but de l'étude, la méthodologie, les contraintes liées à l'étude ainsi que et les résultats attendus.

Nous avons procédé à l'obtention du consentement éclairé des volontaires et/ou parents des volontaires. Tout volontaire positif à un test ou malade au cours de l'étude, a bénéficié d'une prise en charge par l'investigateur de l'étude. Le volontaire était référé dans les hôpitaux en cas de nécessité.

PROCEDURE D'ADMINISTRATION DU CONSENTEMENT ECLAIRE

Les volontaires qui étaient éligibles ont été invités pour participer à l'étude. Une description succincte de l'étude était faite aux volontaires et/ou aux parents par les investigateurs de l'étude en langue bambara. Une discussion était engagée entre investigateurs et volontaires et /ou parents des volontaires pour des éclaircissements. Les différents points importants concernaient la liberté de participation, et de se retirer à tout moment de l'étude sans pénalité à l'endroit du participant/parent. Après ces échanges si les volontaires et/ou parents étaient consentants, le consentement éclairé était signé en copie double, dont l'un était remis au

volontaire lui-même. Pour le cas des participants ou parents illettrés, le consentement était expliqué en présence d'un témoin.

6.11. COLLECTE, SAISIE, ANALYSE DES DONNEES

La collecte des données a été faite sur des cahiers d'observations (CRF), la saisie à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2013 et l'analyse faite avec Stata version 12.1 (College Station, Texas, États-Unis). Les valeurs de p rapportées sont bilatérales et les valeurs de $p < 0,05$ ont été considérées comme statistiquement significatives.

L'automate ABX Micros ES60 a été considéré comme analyseur de référence. Les paramètres statistiques étudiés étaient:

- Le coefficient de corrélation de Pearson pour la détermination du lien entre les valeurs obtenues par HemoCue® Hb 301 et ceux obtenues par l'automate et le coefficient Kappa.
- Les paramètres de validité intrinsèques (sensibilité et spécificité) et extrinsèques (valeur prédictive positive et valeur prédictive négative) du test HemoCue 301® Hb 301 par rapport à l'automate ont été déterminées.

7. RESULTATS

7.1. RESULTATS SOCIODEMOGRAPHIQUES

Notre étude a porté sur 1105 échantillons prélevés lors de 2 passages transversaux (mai 2013 et mai 2014) sur lesquels ont été effectués la mesure du taux d'hémoglobine avec l'Automate ABX Micro ES60 et l'HemoCue® Hb 301.

Tableau I : Répartition de la population d'étude selon le sexe.

Sexe	Effectif n (%)
Masculin	587 (53,12%)
Féminin	518 (46,88%)
Total	1105 (100%)

Le sexe ratio était de 1,13 en faveur des hommes.

Tableau II : Répartition de la population d'étude par tranche d'âge.

Age	Effectif n (%)	Cumul
< 5 ans	164 (14,84%)	14,84%
5 – 11 ans	761 (68,87%)	83,71%
12 – 14 ans	110 (9,95%)	93,67%
> 15 ans	70 (6,33%)	100%
Total	1105 (100%)	

Les enfants de moins de 11 ans étaient les plus représentés avec 83,71% de la population.

7.2. RESULTATS HEMATOLOGIQUES

Tableau III : Prévalence de l'anémie à partir des 2 méthodes de dosage lors des deux passages (mai 2013 et mai 2014).

Méthode de mesure	Automate ABX Micros ES60 n (%)	HemoCue® Hb 301 n (%)
Absence d'anémie	820 (74,21%)	664 (60,09%)
Présence d'anémie	285 (25,79%)	441 (39,91%)
Total	1105 (100%)	1105 (100%)

p = 0,001

L'anémie avait une présence plus marquée selon l'HemoCue® Hb 301 par rapport à l'automate avec respectivement 39,91% et 25,79% de prévalence.

Tableau IV : Moyenne du taux d'hémoglobine, Automate ABX Micro ES60 vs HemoCue® Hb 301 lors des deux passages (mai 2013 et mai 2014).

Méthode de mesure	Automate ABX Micro ES60	HemoCue® Hb 301	différence
N	1105	1105	
Moyenne (g/dl) (DS)	12,18 (1,20)	11,78 (1,15)	0,39
(min - max)	(8,1 – 18,1)	(8,5 – 18,5)	

Le taux d'hémoglobine moyen était respectivement de $\approx 12,2$ g/dl et de $\approx 11,8$ g/l pour l'analyseur d'hématologie et pour l'HemoCue® Hb 301.

Le test de student pour séries appariées (paired t test) montre qu'il y a une différence significative entre les 2 méthodes. p = 0,001

Tableau V : Valeurs de validité intrinsèque (Se, Sp) et extrinsèque (VPP, VPN) de l'HemoCue® Hb 301 par rapport à l'Automate ABX Micro ES60 dans la mesure de l'anémie.

	Anémie ABX	Présence n (%)	Absence n (%)	Total
Anémie HemoCue				
Présence n (%)		213 (19,27%)	228 (20,63%)	441
Absence n (%)		72 (6,51%)	592 (53,57%)	664
Total		285	820	1105 (100%)

McNemar's chi2(1) = 81,12 p = 0,001

Sensibilité Se = 213/285 = 74,73%

Spécificité Sp = 592/820 = 72,19%

Valeur prédictive positive VPP = 213/441 = 48,29%

Valeur prédictive négative VPN = 592/664 = 89,15%

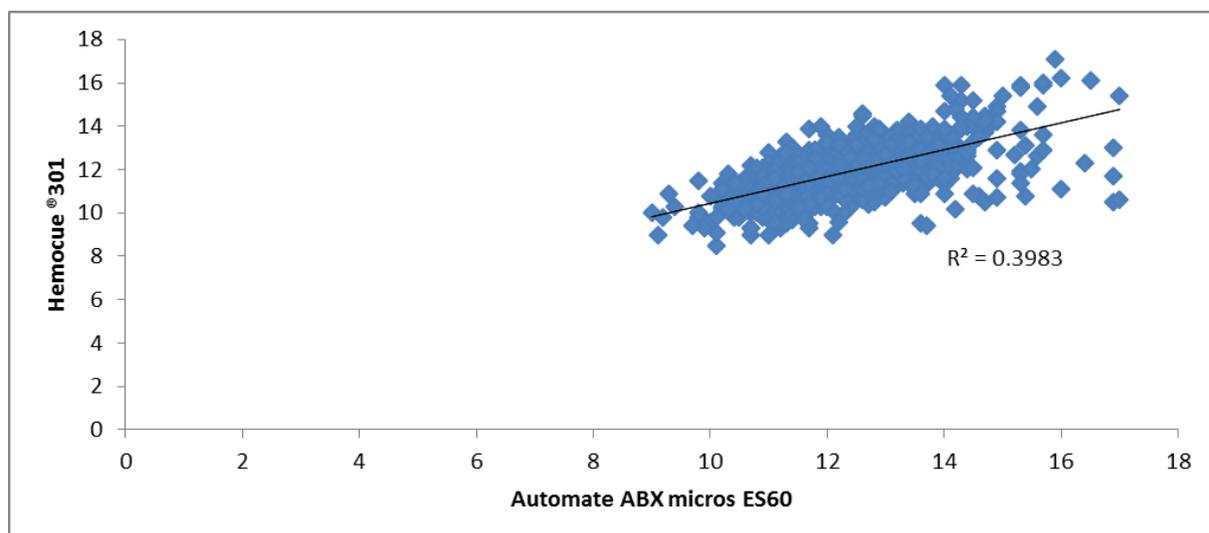


Figure 13 : Corrélation du taux d'hémoglobine entre l'HemoCue® Hb 301 et l'automate d'hématologie ABX Micros ES60.

Concordance Kappa = 0,3983 concordance modérée

Accord entre les 2 méthodes = 72,85%

8. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

✓ Population étudiée

Cette étude comparative nous a permis d'évaluer la concordance entre les taux d'hémoglobine mesurés par l'HemoCue® Hb 301 et par l'ABX Micros ES60 sur un total de 1105 prélèvements sur 2 ans lors des passages transversaux des mois de mai 2013 et 2014.

✓ Analyse comparative des valeurs du taux d'hémoglobine

La moyenne du taux d'hémoglobine était significativement plus élevée avec l'automate (12,18 g/dl) qu'avec l'HemoCue® (11,78 g/dl) donnant des prévalences de l'anémie de 25,79% pour l'automate et 39,91% pour l'HemoCue®. Les raisons possibles de cette différence peuvent être de vraies différences physiologiques dans les concentrations d'Hb du sang veineux par rapport au sang capillaire, des différences dans la précision des instruments d'analyse et des différences dans la collecte et le traitement des échantillons avant les analyses.

Ces résultats sont contraires à ceux d'une étude faite au Soudan par Ishag Adam et al. (23) qui ont eu un taux de 11,53 g/dl pour l'automate et un taux de 12,87 g/dl pour l'HemoCue®.

Nos résultats diffèrent également de ceux d'une étude faite en république démocratique populaire du Laos par Hinnouho Guy-Marino et al. chez les jeunes enfants (20) qui a montré que le taux d'Hb capillaire moyen par HemoCue® était significativement plus élevé que le taux d'Hb veineux moyen par les analyseurs d'hématologie combinés ($10,84 \pm 1,03$ g/dl vs $10,21 \pm 1,31$ g/dl, $p < 0,001$), entraînant une prévalence d'anémie significativement plus faible par HemoCue® (53,7% vs 73,9%; $p < 0,001$).

Ceci pourrait s'expliquer par le fait qu'ils travaillaient seulement sur les femmes enceintes ou sur les jeunes enfants.

Par contre ces résultats sont cohérents avec certaines études dont une réalisée chez les femmes présentant des troubles hémoglobiniques génétiques au Cambodge (24) entraînant une différence de prévalence de l'anémie de 11,5% (41% avec HemoCue® et 29,5% avec l'automate $p < 0,001$),

Une autre étude chez des enfants et adultes au Mexique (25) a montré une moyenne du taux avec l'automate supérieure de 0,3 g/dl à la moyenne avec l'HemoCue®.

Les résultats de l'étude ont montré que le test HemoCue® Hb 301 présentait une sensibilité et une spécificité moyennes respectivement 74,73% et 72,19% dans le diagnostic de l'anémie et dans le dosage de l'hémoglobine. Ce qui diffère des résultats d'une étude réalisée chez des enfants et adultes au Mexique (25) dont la spécificité pour détecter l'anémie était adéquate (>90%) mais la sensibilité faible (< 80%).

Ceci diffère également des résultats de Hinnouho Guy-Marino et al. (20) où la sensibilité était (68,7%) était moins élevée que la spécificité (85,8%).

L'accord entre les deux méthodes était de 72,85%, ce qui est comparable à celui trouvé par Hinnouho Guy-Marino et al. (71,9%) en république démocratique populaire du Laos (20) et à une étude faite par Adam I et al.(23) où la concentration d'hémoglobine par HemoCue® n'a pas d'accord acceptable avec l'analyseur hématologique automatisé.

Notre étude a montré une concordance Kappa modérée de 39,82%. Ce qui se rapproche de l'étude de Hinnouho Guy-Marino et al. (20) où les concentrations d'hémoglobine évaluées par l'HemoCue® Hb 301 ont montré une faible concordance par rapport à l'hémoglobine veineuse par des analyseurs d'hématologie automatisés, entraînant des prévalences d'anémie significativement différentes.

Cependant une étude menée par Von Schenck H et al. (26) a montré que les résultats obtenus avec l'HemoCue® pour l'évaluation de l'hémoglobine chez les femmes enceintes étaient comparables à ceux de l'analyseur hématologique automatisé. De même, Bernard et al. ont trouvé que les résultats de la concentration d'hémoglobine chez les femmes enceintes et non enceintes utilisant HemoCue® étaient comparables à ceux des méthodes automatisées d'hématologie et de cyanéméthémoglobine. (27)

✓ **Contraintes de l'étude**

Notre étude étant couplée à une étude déjà réalisée à d'autres fins, certaines informations qui permettraient de faire une évaluation plus complète de la performance de l'HemoCue® Hb 301 ont fait défaut. La répétabilité et la reproductibilité de l'HemoCue® Hb 301 et celle de l'automate pour le dosage de l'hémoglobine n'ont pas été préalablement évaluées;

Comme la plus part des études rétrospectives, nous avons été confrontés au problème de données manquantes dans les bases.

Cette étude a également quelques limites. Il a été suggéré que le dispositif HemoCue® pourrait être plus précis dans la détermination de la concentration d'Hb que les analyseurs automatisés (26) étant donné que ce dernier nécessite une dilution de l'échantillon, tandis qu'HemoCue® évalue l'Hb directement et n'est pas affecté par les changements de turbidité. Nous n'avons pas pu confirmer cette affirmation, car nous n'avons pas évalué les concentrations d'hémoglobine en utilisant la méthode de la cyanméthémoglobine, qui est considérée comme la procédure de référence par le Comité international de standardisation en hématologie et l'OMS.

9. CONCLUSION

Les résultats de l'étude ont montré que le test HemoCue® Hb 301 présentait une sensibilité et une spécificité moyennes dans le diagnostic de l'anémie et dans le dosage de l'hémoglobine. L'HemoCue® est un bon dispositif pour la détermination du taux d'hémoglobine et son utilisation peut être recommandée dans les structures périphériques afin de faciliter le diagnostic biologique de l'anémie et sa prise en charge dans les populations vivant dans les zones difficiles d'accès. Cependant, dans plusieurs cas, il existe une différence significative entre les valeurs du taux d'hémoglobine mesurées avec la méthode HemoCue® et celles mesurées en laboratoire. Si une valeur d'hémoglobine fiable est nécessaire, une évaluation de l'hémoglobine veineuse en laboratoire est préférable.

10. RECOMMANDATIONS

10.1. AUX AUTORITES SANITAIRES

Utiliser le dispositif HemoCue® dans les centres de santé reculés pour vite diagnostiquer l'anémie car même si c'est un appareil qui a montré une faible concordance, l'HemoCue® est utile dans de nombreux contextes différents pour avoir une idée du taux d'Hb et reste une méthode largement utilisée dans les paramètres de terrain car il a plusieurs avantages et est relativement peu coûteux par rapport aux analyseurs d'hématologie automatisés.

10.2. AU LABORATOIRE D'IMMUNOGENETIQUE LIG

Faire une étude plus approfondie, nécessaire pour déterminer la variabilité inhérente aux différents dispositifs HemoCue® Hb 301.

10.3. A L'ENDROIT DE LA SOCIETE HEMOCUE®

Les solutions de contrôle de qualité pour les appareils HemoCue® disponibles considèrent une très large gamme acceptable, ne permettant pas d'évaluer correctement l'exactitude et la précision des dispositifs HemoCue®. Elaborer des solutions de contrôle avec une plage acceptable plus réduite et rendre possible l'ajustement des dispositifs HemoCue® pour les futurs développements de produits des dispositifs HemoCue®.

11. REFERENCES

1. Jennifer VanBuren. Who Discovered Hemoglobin? | Sciencing [Internet]. [cited 2018 Mar 13]. Available from: <https://sciencing.com/discovered-hemoglobin-18542.html>
2. Zecchina A, Califano S. The Development of Catalysis: A History of Key Processes and Personnas in Catalytic Science and Technology. John Wiley & Sons; 2017.
3. Lise Létang, Julie Wagner. La couleur des sangtiments II) Composition A) Hémoglobine [Internet]. Académie de Strasbourg, lycée Leclerc de Saverne. [cited 2018 Mar 13]. Available from: <http://tpe-julie-lise.e-monsite.com/pages/ii-composition/a-h.html>
4. Perutz MF, Rossmann MG, Cullis AF, Muirhead H, Will G, North AC. Structure of haemoglobin: a three-dimensional Fourier synthesis at 5.5-Å resolution, obtained by X-ray analysis. *Nature*. 1960 Feb 13;185(4711):416–22.
5. Jean Bernard, Jean-paul Lévy, Bruno Varet. *Abrege d'Hematologie*. Masson, Paris; 1981. 346 p.
6. WHO. Concentrations en hémoglobine permettant de diagnostiquer l'anémie et d'évaluer la sévérité [Internet]. 2011. Available from: http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin_fr.pdf?ua=1
7. Figaro Santé. Hémoglobine - Quels sont les résultats ? [Internet]. [cited 2018 Jul 10]. Available from: <http://sante.lefigaro.fr/sante/analyse/hemoglobine/quels-sont-resultats>
8. Barcat L, Dekens C, Caron-Lesenechal E, Degorre C, Cauliez A, Riou B, et al. Évaluation de la mesure du taux d'hémoglobine par Hémocue® chez le nouveau-né prématuré de moins de 28 jours de vie. 2016 Jan 13;
9. Sanchis-Gomar F, Cortell-Ballester J, Pareja-Galeano H, Banfi G, Lippi G. Hemoglobin point-of-care testing: the HemoCue system. *J Lab Autom*. 2013 Jun;18(3):198–205.
10. Giraud B, Frasca D, Debaene B, Mimoz O. Comparison of haemoglobin measurement methods in the operating theatre. *Br J Anaesth*. 2013 Dec;111(6):946–54.

11. Chen PP, Short TG, Leung DH, Oh TE. A clinical evaluation of the Hemocue haemoglobinometer using capillary, venous and arterial samples. *Anaesth Intensive Care*. 1992 Nov;20(4):497–500.
12. Rippmann CE, Nett PC, Popovic D, Seifert B, Pasch T, Spahn DR. HemoCue®, an Accurate Bedside Method of Hemoglobin Measurement? *J Clin Monit*. 1997 Nov 1;13(6):373–7.
13. Société canadienne du cancer. Anatomie et physiologie du sang [Internet]. [cited 2018 Mar 14]. Available from: <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/leukemia-childhood/childhood-leukemia/the-blood/?region=sk>
14. Bader-Meunier B, Cynober T, Tchernia G. Maladies de la membrane du globule rouge. *Médecine Thérapeutique Pédiatrie*. 2001 Jul 2;4(3):217–22.
15. ACCES (Actualisation Continue des Connaissances des Enseignants en Sciences), Ecole normale supérieure de Lyon. Structure fonction de la molécule d'Hémoglobine [Internet]. [cited 2018 Mar 14]. Available from: <http://acces.ens-lyon.fr/biotic/gpe/dossiers/drepanocytose/html/hbstr.htm>
16. Wajcman H., Lantz B., Girot R. Maladies du globule rouge. *Médecine -Sciences Flammarion*; 1992. 516 p.
17. Studylib. Maintenance appareils d'hématologie Chapitre 7: le compteur d'hématologie [Internet]. [cited 2018 Mar 20]. Available from: <http://studylibfr.com/doc/1931441/maintenance-appareils-d-h%C3%A9matologie>
18. Horiba medical. ABX Micros ES 60 - HORIBA [Internet]. [cited 2018 Mar 20]. Available from: <http://www.horiba.com/fr/medical/products/hematology/abx-micros/abx-micros-es-60-details/abx-micros-es-60-5801/>
19. HemoCue France, 3 rue Louis Fournier 77100 MEAUX FRANCE. Hemocue France • • Le standard depuis le premier jour • Un dépistage exact de l'anémie au chevet du patient depuis les pionniers [Internet]. [cited 2018 Mar 21]. Available from: <https://www.hemocue.fr/fr-fr/produits/hemoglobine/systeme-hb-301>
20. Hinnouho G-M, Barffour MA, Wessells KR, Brown KH, Kounnavong S, Chanhthavong B, et al. Comparison of haemoglobin assessments by HemoCue and two automated haematology analysers in young Laotian children. *J Clin Pathol*. 2017 Dec 2;
21. baumann medical. Analyseur HemoCue® Hb 301 [Internet]. [cited 2018 Mar 21]. Available from: <http://www.bm-medical.ch/index.php/fr/home/45-fr/produits-humains/point-of-care/appareils-de-poche/137-hemocue-hb-301>

22. Zwart A, van Assendelft OW, Bull BS, England JM, Lewis SM, Zijlstra WG. Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH standard 1995) and specifications for international haemoglobinocyanide standard (4th edition). *J Clin Pathol.* 1996 Apr;49(4):271–4.
23. Adam I, Ahmed S, Mahmoud MH, Yassin MI. Comparison of HemoCue® hemoglobin-meter and automated hematology analyzer in measurement of hemoglobin levels in pregnant women at Khartoum hospital, Sudan. *Diagn Pathol.* 2012 Mar 21;7:30.
24. Karakochuk CD, Janmohamed A, Whitfield KC, Barr SI, Vercauteren SM, Kroeun H, et al. Evaluation of two methods to measure hemoglobin concentration among women with genetic hemoglobin disorders in Cambodia: a method-comparison study. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 2015 Feb 20;441:148–55.
25. Neufeld L, García-Guerra A, Sánchez-Francia D, Newton-Sánchez O, Ramírez-Villalobos MD, Rivera-Dommarco J. Hemoglobin measured by Hemocue and a reference method in venous and capillary blood: a validation study. *Salud Publica Mex.* 2002 Jun;44(3):219–27.
26. von Schenck H, Falkensson M, Lundberg B. Evaluation of “HemoCue,” a new device for determining hemoglobin. *Clin Chem.* 1986 Mar;32(3):526–9.
27. Nkrumah B, Nguah SB, Sarpong N, Dekker D, Idriss A, May J, et al. Hemoglobin estimation by the HemoCue® portable hemoglobin photometer in a resource poor setting. *BMC Clin Pathol.* 2011 Apr 21;11:5.

12. FICHE SIGNALÉTIQUE EN FRANÇAIS ET ANGLAIS



Nom : CISSE

Prénom : Hamidou

E-mail : hamidouciss16@gmail.com

Nationalité : Malienne

Année universitaire : 2017-2018

Ville de soutenance : Bamako

Section : Pharmacie

Secteurs d'intérêt : Hématologie, Santé publique et Epidémiologie.

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie et de la Faculté de Pharmacie, Bamako, Mali.

Titre de la thèse : Evaluation de la mesure du taux d'hémoglobine par l'HemoCue® Hb 301 par rapport à l'automate d'hématologie ABX Micros ES60 au sein d'une cohorte à Kalifabougou.

Résumé

Notre étude s'est déroulée à Kalifabougou au Mali sous la direction du laboratoire d'immunogénétique du centre de recherche et de formation sur le paludisme de Bamako et a porté sur 1105 échantillons prélevés lors de 2 passages transversaux (mai 2013 et mai 2014) sur lesquels ont été effectués la mesure du taux d'hémoglobine avec l'Automate ABX Micro ES60 et l'HemoCue® Hb 301.

Ce travail avait pour objectif de Comparer les valeurs du taux d'hémoglobine mesuré par les deux appareils dans les conditions de terrain sur une population assez variée.

La population d'étude qui allait de 3 mois à 25 ans était dominée par les enfants de moins de 11 ans (83,71%).

Le taux d'hémoglobine moyen était significativement plus élevé avec l'automate qu'avec l'HemoCue® respectivement de 12,18 g/dl et de 11,78 g/l entraînant une prévalence d'anémie significativement plus marquée avec l'HemoCue® (39,91%) contre 25,79% pour l'automate.

Les résultats de l'étude ont montré que le test HemoCue® Hb 301 présentait une sensibilité et une spécificité moyennes respectivement 74,73% et 72,19% dans le diagnostic de l'anémie et dans le dosage de l'hémoglobine.

L'accord entre les deux méthodes était de 72,85% et on a eu une concordance Kappa modérée de 39,82%.

Il ressort donc que le test HemoCue® Hb 301 avec sa sensibilité et sa spécificité moyennes est un bon dispositif pour la détermination du taux d'hémoglobine et son utilisation peut être recommandée dans les structures périphériques afin de faciliter le diagnostic biologique de l'anémie et sa prise en charge dans les populations vivant dans les zones difficiles d'accès. Cependant, dans plusieurs cas, il existe une différence significative entre les valeurs du taux d'hémoglobine mesurées avec la méthode HemoCue® et celles mesurées en laboratoire. Si une valeur d'hémoglobine fiable est nécessaire, une évaluation de l'hémoglobine veineuse en laboratoire est préférable.

Mots clés : taux d'hémoglobine, HemoCue® Hb 301, automate ABX Micro ES60, valeurs prédictives, anémie.



Last Name: CISSE

First Name: Hamidou

E-mail: hamidouciss16@gmail.com

Nationality: Malian

Academic year: 2017-2018

City of defense: Bamako

Section: Pharmacy

Sectors of interest: Hematology, public health and Epidemiology.

Place of deposit: Library of the Faculty of Medicine and Odontostomatology and the Faculty of Pharmacy, Bamako, Mali.

Title of the thesis: Evaluation of hemoglobin measurement by HemoCue® Hb 301 compared to ABX Micros ES60 in a cohort in Kalifabougou.

Summary

Our study was conducted in Kalifabougou, Mali under the direction of the laboratory of immunogenetics of the malaria research and training center of Bamako and covered 1105 samples collected during 2 cross passages (May 2013 and May 2014) on which were measured hemoglobin level with the ABX Micro ES60 Automaton and the HemoCue® Hb 301.

The purpose of this work was to compare hemoglobin values measured by both devices in field conditions over a fairly diverse population.

Children under 11 years of age dominated our population aged 3 months to 25 years (83.71%).

The average hemoglobin level was significantly higher with the automaton than with HemoCue® respectively 12.18 g/dl and 11.78 g/dl causing a significantly higher prevalence of anemia with HemoCue® (39.91%) versus 25.79% for the automaton.

The results of the study showed that the HemoCue® Hb 301 test had a sensitivity and specificity of 74.73% and 72.19% respectively in the diagnosis of anemia and in the determination of hemoglobin.

The agreement between the two methods was 72.85% and we had a moderate Kappa agreement of 39.82%.

It is therefore clear that the HemoCue® Hb 301 test with its medium sensitivity and specificity is a good device for the determination of hemoglobin and its use may be recommended in peripheral structures to facilitate the biological diagnosis of anemia and its care in populations living in hard-to-reach areas.

However, in many cases, there is a significant difference between the hemoglobin values measured with the HemoCue® method and those measured in the laboratory. If a reliable hemoglobin value is needed, an evaluation of venous hemoglobin in the laboratory is preferable.

Keywords: hemoglobin level, HemoCue® Hb 301, ABX Micro ES60 controller, predictive values, anemia.

13. ANNEXES

ABX Micros ES60 OT/CT

1. Specifications

1.1. Introduction

- ◆ WBC, RBC and PLT histograms
- ◆ Quantitative flags
- ◆ Parameter selection by software settings



The ABX Micros ES60 OT/CT performs automated blood counts and requires no manual operations for aspirating blood, dilutions, measuring, calculations, print-outs and computer transfer of data. The parameters are given according to the internal setup.

1.2. Parameters

Tab.2-1 16 parameters

Parameter	Definition
WBC	White Blood Cells
LYM%	Lymphocyte percentage
LYM#	Lymphocyte absolute value
MON%	Monocyte percentage
MON#	Monocyte absolute value
GRA%	Granulocyte percentage
GRA#	Granulocyte absolute value
RBC	Red Blood Cells
HGB	Hemoglobin
HCT	Hematocrit
MCV	Mean Corpuscular Volume
MCH	Mean Corpuscular Hemoglobin
MCHC	Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration
RDW	Red cell Distribution Width
PLT	Platelets
MPV	Mean Platelet Volume
WBC, RBC and PLT Distribution Curves	

Tab.2-2 18 parameters

Parameter	Definition
WBC	White Blood Cells
LYM%	Lymphocyte percentage
LYM#	Lymphocyte absolute value
MON%	Monocyte percentage
MON#	Monocyte absolute value
GRA%	Granulocyte percentage
GRA#	Granulocyte absolute value
PDW*	Platelet Distribution Width
PCT*	Plateletcrit
RBC	Red Blood Cells

Specifications

Parameter	Definition
HGB	Hemoglobin
HCT	Hematocrit
MCV	Mean Corpuscular Volume
MCH	Mean Corpuscular Hemoglobin
MCHC	Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration
RDW	Red cell Distribution Width
PLT	Platelets
MPV	Mean Platelet Volume
WBC, RBC and PLT Distribution Curves	



PDW and PCT have not been established as indications for this product, in the United States. The use of PDW and PCT should be restricted to research and Investigational measurements only.

ABX Micros ES60 OT/CT

1.3. Instrument specifications

Tab.2-3 Instrument specifications

ABX Micros ES60 CT/ABX Micros ES60 OT	
Throughput analysis*	OT: 60 samples/hour CT: 50 samples/hour
Minimum sample volume	Minimum blood sample requirement: 50µl Analyser sample volume: 10µl
Dilution ratios	WBC: approximately 1/260 RBC/PLT: approximately 1/15000
Measurements and computation	Impedance change for WBC, RBC, PLT. Spectrophotometry for HGB. Numeric integration for HCT. Impedance change for LYM%, MON%, GRA%. Computation from stored data that was directly measured for MCV, MCH, MCHC, RDW, MPV, LYM#, MON#, GRA#, PCT, PDW.
Counting aperture diameter	WBC: 80µm. RBC: 50µm.
Hemoglobin measurement	Performed in the WBC/HGB chamber. Light source LED (Light Emitting Diode) at wavelength 550nm.
Statistics and quality control	Extended quality control package.
Calibration	Automatic calibration procedure. Direct entering of calibration coefficients. Calibrator: ABX Minocal (2mL) Ref. 2032002
Reagents**	3 reagents or 1 pack of reagents: Diluent: ABX Minidil LMG (10L) Ref. 0802010 Cleaner: ABX Miniclean (1L) Ref. 0403010, ABX Cleaner (0.5L) Ref. 0903011 Lyse: ABX Minilyse LMG (1L) Ref. 0702010, ABX Alphalyse 360 (0.36L) Ref. 0906014, ABX Alphalyse (0.4L) Ref. 0906004 Pack all reagents: ABX Minipack LMG (4.2L) Ref. 0602050
Controls	ABX Minotrol 16 Twin Pack: 2N Ref. 2042202 ABX Minotrol 16 Twin Pack: 1H/1B Ref. 2042204
Wastes	Automatic disposal Waste handling according to local/national regulations

* Throughput performance is reachable in optimized conditions with an admitted margin for variation of 10%.



** The CD-ROM RAX055 delivered with your instrument provides reagent, control and calibrator leaflets/msds. Latest versions of these documents are available on www.horiba-abx.com/documentation.

14. SERMENT DE GALIEN

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

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

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

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

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

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



Nom : CISSE

Prénom : Hamidou

E-mail : hamidouciss16@gmail.com

Nationalité : Malienne

Année universitaire : 2017-2018

Ville de soutenance : Bamako

Section : Pharmacie

Secteurs d'intérêt : Hématologie,
Santé publique et Epidémiologie.

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie et de la Faculté de Pharmacie, Bamako, Mali.

Titre de la thèse : Evaluation de la mesure du taux d'hémoglobine par l'HemoCue® Hb 301 par rapport à l'automate d'hématologie ABX Micros ES60 au sein d'une cohorte à Kalifabougou.

Résumé

Notre étude s'est déroulée à Kalifabougou au Mali sous la direction du laboratoire d'immunogénétique du centre de recherche et de formation sur le paludisme de Bamako et a porté sur 1105 échantillons prélevés lors de 2 passages transversaux (mai 2013 et mai 2014) sur lesquels ont été effectués la mesure du taux d'hémoglobine avec l'Automate ABX Micro ES60 et l'HemoCue® Hb 301.

Ce travail avait pour objectif de Comparer les valeurs du taux d'hémoglobine mesuré par les deux appareils dans les conditions de terrain sur une population assez variée.

La population d'étude qui allait de 3 mois à 25 ans était dominée par les enfants de moins de 11 ans (83,71%).

Le taux d'hémoglobine moyen était significativement plus élevé avec l'automate qu'avec l'HemoCue® respectivement de 12,18 g/dl et de 11,78 g/l entraînant une prévalence d'anémie significativement plus marquée avec l'HemoCue® (39,91%) contre 25,79% pour l'automate.

Les résultats de l'étude ont montré que le test HemoCue® Hb 301 présentait une sensibilité et une spécificité moyennes respectivement 74,73% et 72,19% dans le diagnostic de l'anémie et dans le dosage de l'hémoglobine.

L'accord entre les deux méthodes était de 72,85% et on a eu une concordance Kappa modérée de 39,82%.

Il ressort donc que le test HemoCue® Hb 301 avec sa sensibilité et sa spécificité moyennes est un bon dispositif pour la détermination du taux d'hémoglobine et son utilisation peut être recommandée dans les structures périphériques afin de faciliter le diagnostic biologique de l'anémie et sa prise en charge dans les populations vivant dans les zones difficiles d'accès. Cependant, dans plusieurs cas, il existe une différence significative entre les valeurs du taux d'hémoglobine mesurées avec la méthode HemoCue® et celles mesurées en laboratoire. Si une valeur d'hémoglobine fiable est nécessaire, une évaluation de l'hémoglobine veineuse en laboratoire est préférable.

Mots clés : taux d'hémoglobine, HemoCue® Hb 301, automate ABX Micro ES60, valeurs prédictives, anémie.