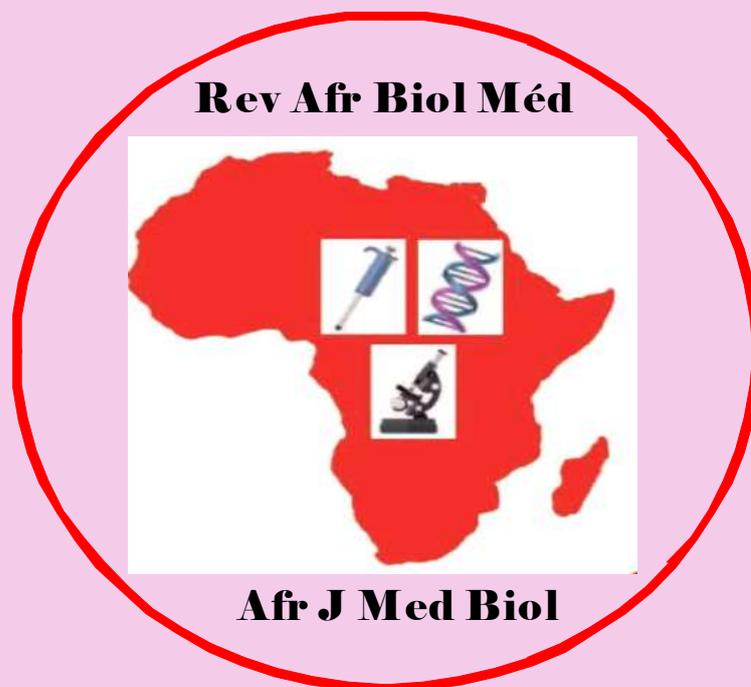


Revue Africaine de Biologie Médicale
African Journal of Medical Biology

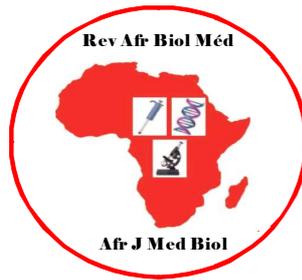


Rev Afr Biol Med. / Afr J Med Biol. 2019;4(9)

ISSN : 2517-8393

Tome 5 - Numéro 10
Janvier 2020

WEBSITE / SITE WEB :
www.revafric-bm.sn



**REVUE AFRICAINE DE
BIOLOGIE MEDICALE**

**AFRICAN JOURNAL OF
MEDICAL BIOLOGY**

ISSN : 2517-8393

Contacts :

Pour soumettre un article / To submit a manuscript : profisow3@gmail.com

soumission@revafric-bm.sn

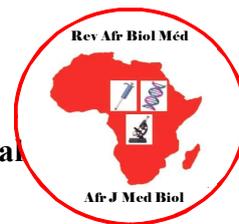
Pour toute information / For informations :

infos@revafric-bm.sn

Rédacteur en Chef / Editor in Chief :

editors@revafric-bm.sn

Comité de Rédaction / Editorial board



Rédacteur en Chef / Editor in chief :

Professeur Ahmad Iyane Sow (Bactériologie-Virologie) : Sénégal

Membres :

Professeur Roughyatou Ka (Bactériologie-Virologie) :	Sénégal
Docteur Abdoulaye Nikiéma (Biologie) :	Burkina Faso
Professeur Awa Oumar Touré (Hématologie) :	Sénégal
Docteur Abdelaye Keïta (Bactériologie-Virologie) :	Mali
Professeur Yémou Dieng (Parasitologie-Mycologie) :	Sénégal
Professeur Hugues Ahiboh (Biochimie / Biologie moléculaire) :	Côte d'Ivoire
Professeur Ahmad Iyane Sow (Bactériologie-Virologie) :	Sénégal
Ingénieur Ibrahim Abderahim (Biologie) :	Tchad
Professeur Philomène Lopez-Sall (Biochimie) :	Sénégal
Docteur Amadou Alpha Sall (Virologie) :	Sénégal
Professeur Lansana Sangaré (Bactériologie-Virologie) :	Burkina Faso
Professeur Thérèse Dieng (Parasitologie-Mycologie) :	Sénégal
Docteur Guy Olivier Mbensa (Bactériologie-Virologie) :	RDC
Professeur Papa Madièye Guèye (Biochimie) :	Sénégal
Professeur Chantal Akoua Koffi (Bactériologie-Virologie) :	Côte d'Ivoire
Professeur Abibatou Sall (Hématologie) :	Sénégal
Professeur Yolande Sissinto Savi de Tové (Parasito-Mycologie) :	Bénin
Professeur Daouda Ndiaye (Parasitologie-Mycologie) :	Sénégal
Professeur Maguette Sylla-Niang (Immunologie)	Sénégal
Professeur Fatou Diallo-Agne (Biochimie) :	Sénégal
Professeur Halimatou Diop-Ndiaye (Bactériologie-Virologie) :	Sénégal
Professeur Mounkaïla Boutchi (Hématologie) :	Niger
Professeur Mouhamadou Lamine Dia (Bactériologie-Virologie) :	Sénégal
Professeur Seynabou Lo (Bactériologie-Virologie) :	Sénégal
Docteur Moussa Seck (Hématologie) :	Sénégal



RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

La Revue africaine de Biologie Médicale est une revue scientifique qui comprend différentes sections correspondant aux disciplines biologiques :

Section A : Bactériologie-Virologie

Section B : Biologie cellulaire

Section C : Biologie moléculaire

Section D : Biochimie

Section E : Génétique médicale

Section F : Hématologie Biologique

Section G : Immunologie

Section H : Parasitologie-Mycologie.

La revue publie un numéro tous les quatre mois, avec des articles dans les rubriques suivantes: des éditoriaux (sur demande de la Rédaction), des revues, des articles originaux, des résultats de recherche fondamentale et opérationnelle, des essais, des travaux en Santé Publique, sur la Qualité, la Biosécurité ou la réglementation.

Soumission et évaluation des manuscrits

La Revue publie des articles en Français et en Anglais, avec un résumé dans les deux langues.

Les manuscrits doivent être soumis en version électronique via Internet et rédigés en double interligne, avec la police Times New Roman, taille 12.

Chaque article soumis fait l'objet d'une vérification du comité de Rédaction sur le respect des présentes recommandations avant soumission à l'évaluation de deux relecteurs selon une échelle. Après acceptation, des tirés-à-part sont remis aux auteurs après paiement de frais d'impression.

Présentation des manuscrits

Les manuscrits ne doivent faire l'objet d'aucune soumission à un autre journal.

Ils ne doivent pas dépasser 15 pages (avec les références, les tableaux et figures) et sont présentés comme suit :

* A la page de garde mettre :

- Les titres de l'article en français et en anglais

- Les auteurs : noms suivis de l'abréviation des prénoms, séparés par des virgules, le dernier prénom sera suivi d'un point. Ex. : Sow AI¹, Guèye A², Sall B³. Les chiffres en exposant renvoient aux institutions de rattachement des auteurs dont les adresses électroniques doivent être fournies.

- La rubrique proposée par les auteurs,

- Les noms, prénoms, adresses et contacts (téléphone, adresse E mail, boîte postale) de l'auteur correspondant à qui seront envoyés les avis des relecteurs et les tirés-à-part.

* Les pages de résumés : ne doivent pas dépasser deux pages (une par langue)

- Mettre le titre de l'article sans les auteurs

- Présenter des résumés structurés en sous chapitres : introduction (avec les objectifs), matériels et méthodes, principaux résultats, et conclusion (sans référence).

- Donner les mots clés (entre 3 et 5), séparés par des virgules.

* Corps du texte :

- L'introduction présente les informations de base sur le travail ainsi que les objectifs visés.

- Le reste du manuscrit comprend les chapitres sur le matériel utilisé et la méthodologie (avec précision du respect des règles éthiques), les résultats non commentés, la discussion, la conclusion, les références. Après la conclusion, les auteurs peuvent insérer quelques mots de remerciement.

- Tableaux et figures doivent être incorporés dans le corps du texte ; si nécessaire, il sera demandé aux auteurs l'original des images.

. Les figures sont numérotées en chiffres arabes (1,2,3,...) et les tableaux en chiffres romains (I,II,III,...)

. Les titres des figures sont placés en bas et les titres des tableaux en haut.

- Références :

. Elles sont appelées dans le texte par des chiffres arabes entre crochets [1] selon l'ordre chronologique de leur apparition.

. Toutes les références présentées sur la liste doivent être appelées dans le texte.

. Elles doivent répondre aux normes internationales et leur nombre doit se situer entre 15 au minimum et 20 au maximum pour un article original.

. Les rapports, thèses et travaux personnels non publiés ne doivent pas figurer sur la liste des références mais peuvent être cités dans le manuscrit avec la mention (non publié).

. Les articles « sous presse » ne sont pas admis avant leur publication.

. Pour les articles de revue, présenter comme suit: Auteurs. Titre de l'article. Nom de la revue en toutes lettres. Année ; volume (numéro) : pages séparées d'un tiret.

Exemple : Sow AI, Sall B, Guèye D. Résultats d'une surveillance des résistances aux antimicrobiens sur une année au Sénégal. Revue africaine de Biologie Médicale.2016;1(3):1-5.

Pour les références à des ouvrages, après les auteurs et le titre, citer l'éditeur, la ville d'édition, l'année, le tome, le numéro d'édition, les pages.

Pour les références électroniques : après les auteurs et le titre, préciser qu'il s'agit d'une référence électronique, indiquer l'année de publication, l'adresse du site et la date de consultation.

Tout manuscrit ne respectant les présentes recommandations sera retourné aux auteurs sans soumission aux relecteurs.

Adresse de soumission des articles :

profisow3@gmail.com /soumission@revafric-bm.sn

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS



African Journal of Medical Biology is a scientific journal which include different sections related to biological domains :

Section A : Bacteriology and Virology

Section B : Cellular Biology

Section C : Molecular Biology

Section D : Biochemistry

Section E : Medical Genetic

Section F : Biological Hematology

Section G : Immunology

Section H : Parasitology and Mycology.

The Journal publishes one number every four monthes, with editorials (asked by the editorial team), reviews, original articles, results of fundamental and operational research, essays, articles on public health, quality, Bio-security or regulations.

Submission and evaluation of manuscripts

The Journal publishes articles either in French or in English, with a summary in both languages.

The manuscripts must be submitted in electronic version by Internet and typewritten in double line spacing, with Times New Roman font, size 12.

Each submitted article is verified by the members of Editorial committee to see if the instructions for authors are respected. This is done before the submission of the articles to two proofreaders who will evaluate it depending on a scale.

The manuscripts accepted are printed for authors after payment of article publication fees.

Presentation of manuscripts

The manuscripts must not be submitted to another journal; they must not exceed 15 pages (including references, tables and figures) and are presented like followed :

* The flyleaf must include :

- The title of the article in both languages, French and English

- The authors: last names followed by the abbreviation of the first names, separated by commas. The last first name will be followed by a full stop.

Example: Sow AI¹, Guèye A², Sall B³. While presenting the numbers refer to the institutions of the authors.

- The column proposed by authors

- The name, address, e-mail, telephone of the corresponding author and the e-mail of other authors.

* The summary pages must not exceed two pages (one per language) and should include :

- The title of the article without the authors

- The summaries must be structured into subsections (without reference): introduction (with objectives), materials and methods, results and conclusion.

- Give 3 to 5 Keywords separated by commas

* The text of manuscript will be divided into sections :

- The introduction presents basic informations and the objectives of the article.

- The other sections include the materials and the methodology (with precision of respect of ethical rules), the results not commented, the discussion, the conclusion and the references. The authors can use acknowledgement after conclusion.

- Tables and figures must be incorporated in the text. If necessary, the original images can be asked to the authors.

- The authors should use Arabic numbers (1,2,3) for figures and Roman numbers (I,II,III) for tables.

- The title of the figures must be put at the bottom and the title of the tables must be put above.

* References :

- For citation of references in the text, the authors should use numbers of references between brackets [1], listed in chronologic order.

- Every reference being in the list must be cited in the text.

- References must follow the international norms and their number must be minimum 15 and maximum 20 for original articles.

- Reports, thesis and unpublished results must not be in the reference list, but can be cited in the text with the mention (unpublished).

- The articles "in Press" are not admitted before their publication.

- For the articles of journal, present like followed: Authors. Title of the article. Full name of review. Year; number of the volume (N°), pages separated by a dash. Example : Sow AI, Sall B, Guèye D. Results of a one year surveillance of the resistance to anti-microbial in Senegal. African Journal of Medical Biology.2016; 1(3):1-5.

- For the references of books : Authors. Title. Editor. Town of edition. Year; volume, N° of edition and pages

- For electronic references: After authors and Title, precise that it is an electronic reference, year of publication, website address and consulting date.

Any manuscript which does not respect these instructions will be returned to authors without correction of the reviewers.

Address for submission :

profisow3@gmail.com /soumission@revafric-bm.sn



En Bactériologie et Virologie
Bacteriology and Virology

Pr Séverin Anagonou, Université de Cotonou, Bénin
Pr Chantal Akoua Koffi, Université de Bouaké, RCI
Pr Cheikh Saad Bouh Boye, UCAD, Sénégal
Pr Makhtar Camara, UCAD, Sénégal
Pr Moussa Fafa Cissé, UCAD, Sénégal
Pr Mireille Prince David, Université de Lomé, Togo
Pr Souleymane Diallo, Centre Charles Mérieux, Mali
Pr Halimatou Diop Ndiaye, UCAD, Sénégal
Pr Mireille Dosso, Université d'Abidjan, RCI
Pr Hortense Faye-Kette, Université d'Abidjan, RCI
Pr Jean Freney, CHU de Lyon, France
Pr Aïssatou Gaye-Diallo, UCAD, Sénégal
Pr Bréhima Koumaré, LAM EUREKA, Mali
Pr Philippe Lanotte, Université de Tours, France
Pr Seynabou Lo, Université Gaston Berger, Sénégal
Dr Jean Claude Manuguerra, Institut Pasteur Paris, France
Pr Souleymane Mboup, UCAD, Sénégal
Dr Jalal Nourlil, Institut Pasteur, Maroc
Dr Pascale Ondo, AIGHD, Hollande
Pr Rasmata Ouédraogo, Université de Ouagadougou
Pr Abdoul Salam Ouédraogo CHU Sourou Sanou de Bobo
Pr Keira Rahal, Université 1 d'Alger, I. Pasteur, Algérie
Dr Lila Rahalison, CDC d'Atlanta, Etats Unis
Dr Amadou Alpha Sall, Institut Pasteur de Dakar
Pr Mounérou Salou, Université de Lomé, Togo
Pr Lasana Sangaré, Université de Ouagadougou
Pr A. Iyane Sow, UCAD, Sénégal
Pr Ndèye Coumba Touré, UCAD, Sénégal
Pr Noël Tordo, Institut Pasteur de Guinée

En Biochimie / Biochemistry

Pr Hugues Ahibo, Université de Cocody, RCI
Pr Aynina Cissé, UCAD, Sénégal
Dr Kouassi Kafui Codjo, Université de Lomé, Togo
Pr Fatou Diallo Agne, UCAD, Sénégal
Pr Papa Amadou Diop, UCAD, Sénégal
Pr Papa Madièye Guèye, UCAD, Sénégal

Pr Elie Kabré, Université de Ouagadougou, Burkina Faso
Pr Philomène Lopez-Sall, UCAD, Sénégal
Dr Abdoulaye Nikiéma, Université de Ouagadougou
Pr Jean Sakandé, Université de Ouagadougou
Pr Niama Diop Sall, UCAD, Sénégal
Pr Daniel Sess, Université d'Abidjan, Côte d'Ivoire
Pr Georges Thiahou, Université de Bouaké, RCI
Pr Meïssa Touré, UCAD, Sénégal

En Hématologie et Immunologie /
Hematology and Immunology

Pr Ludovic Anani, Université de Cotonou, Bénin
Pr Bamory Dembélé, Université d'Abidjan, Côte d'Ivoire
Pr Saliou Diop, Université Cheikh Anta Diop, Sénégal
Dr Irénée Kuéviakoe, Université de Lomé, Togo
Pr Abibatou Sall, Université Cheikh Anta Diop, Sénégal
Pr Duni Sawadogo, Université d'Abidjan, Côte d'Ivoire
Dr Tidiane Siby, LBM Bio 24, Sénégal
Pr Awa Oumar Touré, UCAD, Sénégal
Pr Ahoefa Vovor, Université de Lomé, Togo
Pr Alioune Dièye, UCAD, Sénégal
Pr Bouréma Kouriba, Université de Bamako, Mali
Dr Pascale Ondo : AIGHD, Hollande
Pr Maguette Sylla-Niang, UCAD, Sénégal

En Parasitologie et Mycologie /
Parasitology and Mycology

Pr Thérèse Dieng, UCAD, Sénégal
Pr Yémou Dieng, UCAD, Sénégal
Pr Babacar Faye, UCAD, Sénégal
Pr Omar Gaye, UCAD, Sénégal
Pr Robert Guiguemdé, Université de Bobo
Pr Aurore Hounto, Université de Cotonou, Bénin
Pr Dorothée Kinde-Gazard, Université de Cotonou
Pr Daouda Ndiaye, UCAD, Sénégal
Pr Jean Louis Ndiaye, UCAD, Sénégal
Dr Yolande Sissinto Savi de Tové : Université de Cotonou



Revue africaine de Biologie Médicale

African Journal of Medical Biology

SOMMAIRE / HEADLINE

Section A : Bactériologie - Virologie / Bacteriology and Virology : P. 777

Comparison of two decontamination methods for the cultivation of mycobacteria from sputum sample in Burkina Faso : 5% oxalic acid vs 4% NaOH

Comparaison de deux méthodes de décontamination pour la culture des mycobactéries à partir d'expectorations au Burkina-Faso : Acide oxalique 5% vs NaOH 4%

Kaboré A, Zingué D, Tranchot-Diallo J, Sanou A, Hien H, Nouctara M, Ouédraogo M, Djibougou H, Méda N, Sangaré L.

Section A : Bactériologie - Virologie / Bacteriology and Virology : P. 783

Caractérisation phénotypique des souches bactériennes isolées au service de chirurgie orthopédique et traumatologique du CHU de Bouaké.

Phenotypic characterization of bacterial stains isolated in the orthopedic surgery and traumatology service of Bouake's teaching hospital.

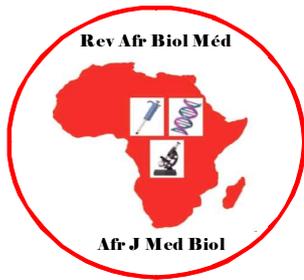
Diarrassouba A, Traoré A, Monemo P, N'guessan AM, Tadet JON, Cissé A, Akoua-Koffi C.

Section F : Hématologie / Hématology : P. 793

Donneurs de sang familiaux : évaluation du risque infectieux par rapport aux nouveaux donneurs volontaires.

Family replacement blood donors: infectious risk assessment compared to first-time volunteer donors

Mawussi K, Magnang H, Kuéviakoé IMD, Fétéké L, Layibo Y, Padaro E, Nadjir LK, Vovor A.



Section F : Hématologie / Hématology : P. 801

Etude de la phase pré-analytique en Hémostase au Centre National Hospitalier Universitaire-Hubert Koutoukou Maga de Cotonou (Bénin)

Study of the pre-analytical phase in Haemostasis at the National University Hospital Center-Hubert Koutoukou Maga in Cotonou (Benin)

Zohoun A, Baglo Agbodande T, Anani L.

Section F : Hématologie / Hématology : P. 807

Dépistage néonatal de la drépanocytose et autres hémoglobinopathies à Saint Louis : résultats préliminaires.

New born screening for sickle cell disease and other hemoglobinopathies in Saint Louis: preliminary results.

Makalou D, Doupa D, Seck N, Thiam O, Guèye MW, Coly MN, Gadji M, Sène A, Diop M, Seydi F, Sène M, Mbaye G, Kamara R, Mbaye O, Toure AO, Diagne I.

Section H : Parasitologie-Mycologie / Parasitology and Mycology: P. 815

Diversité des moustiques et dynamique d'*An. gambiae* s.s. dans une riziculture irriguée et trois villages de Bouaké en zone préforestière du centre de la Côte d'Ivoire.

Diversity of mosquitoes and dynamic of *An. gambiae* s.s. in irrigated rice culture and three localities of Bouaké in preforestry area of central Côte d'Ivoire

Loukouri A, Diakité NR, Bassa KF, Akre AM, N'Goran KE.

Section H : Parasitologie-Mycologie / Parasitology and Mycology: P. 825

Review of published data on *Plasmodium falciparum* sulfadoxine-pyrimethamine, chloroquine, amodiaquine and artemisinin molecular markers resistance in Niger.

Revue des données publiées sur les marqueurs moléculaires de la résistance de *Plasmodium falciparum* à la sulfadoxine-pyriméthamine, la chloroquine, l'amodiaquine et l'artémisinine au Niger.

Mahaman Moustapha L, Ibrahim ML, Testa J, NDiaye JL.

Section A : Bactériologie - Virologie / Bacteriology and Virology

Comparison of two decontamination methods for the cultivation of mycobacteria from sputum sample in Burkina Faso : 5% oxalic acid vs 4% NaOH

Comparaison de deux méthodes de décontamination pour la culture des mycobactéries à partir d'expectorations au Burkina-Faso : Acide oxalique 5% vs NaOH 4%

Kaboré A¹, Zingué D¹, Tranchot-Diallo J², Sanou A^{1,2}, Hien H^{1,3}, Nouctara M¹, Ouédraogo M¹, Djibougou H¹, Méda N^{1,4}, Sangaré L^{4,5}.

1- Department of Biomedical Sciences, Centre MURAZ, Bobo-Dioulasso, Burkina-Faso

2- UFR/ST, University of Nazi Boni Bobo-Dioulasso, Burkina-Faso

3- Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS), Direction Régionale de l'Ouest (DRO), Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

4- UFR/SDS, Université Ouaga I Pr Joseph Ki-Zerbo, Ouagadougou, Burkina-Faso

5- Département de Bactériologie-Virologie, Centre Hospitalier Universitaire Yalgado Ouédraogo, Ouagadougou, Burkina-Faso

Section A: Bactériologie et Virologie

Rubrique : Communication courte

Résumé

Introduction : Dans le but d'améliorer le taux de rendement des cultures de *Mycobacterium tuberculosis* entravé par de fort taux de contamination, nous avons comparé la méthode modifiée de Petroff et celle de l'acide oxalique pour la décontamination des expectorations de patients tuberculeux.

Matériel et Méthodes : De novembre 2012 à février 2013, 76 expectorations (fraîches et anciennes) obtenues de 76 patients tuberculeux bactériologiquement confirmés ont été décontaminées à l'hydroxyde de sodium à 4% et à l'acide oxalique à 5% avant d'être inoculées sur des milieux de culture de Lowenstein Jensen.

Résultats : Au total 31 (41%) cultures étaient positives après la décontamination par l'acide oxalique et 12 (16%) après la méthode modifiée de Petroff. Quant aux contaminations, 10 (13%) cultures contre 62 (82%) ont été contaminées respectivement après la décontamination par l'acide oxalique et la méthode modifiée de Petroff.

Conclusion : L'acide oxalique n'est pas la méthode de décontamination idéale, mais elle pourrait être une solution alternative surtout pour les expectorations fraîchement collectées.

Mots clés : Tuberculose ; Diagnostic ; Culture des mycobactéries, Méthode modifiée de Petroff, Acide oxalique.

Summary

Introduction : In order to improve the recovery rate of *Mycobacterium tuberculosis* from sputum of tuberculosis patients which is hampered by high contamination rate in Burkina Faso, we compared the modified Petroff's (4% sodium hydroxide) and 5% oxalic acid decontamination methods for sputum culture.

Material and methods : From November 2012 to February 2013 a total of 76 fresh (33) and old (43) sputum obtained from 76 bacteriologically confirmed TB patients were decontaminated with 4% sodium hydroxide and 5% oxalic acid 5% before inoculation onto Lowenstein Jensen Media.

Results : Among the 76 fresh and old sputum, 31 (41%) cultures showed the growth of mycobacteria after decontamination by oxalic acid and 12 (16%) after decontamination by NaOH. Ten (13%) cultures remained contaminated after oxalic acid treatment, whereas 62 (82%) were contaminated after NaOH decontamination.

Conclusion: The oxalic acid is not the ideal method of decontamination, but it could be an alternative one especially for the freshly collected sputum.

Key words : Mycobacterial culture sputum decontamination, modified Petroff's: 5% Oxalic acid.

Correspondance : Dr Zingué Dézémon, BP 390, Center Muraz, Bobo-Dioulasso, Burkina-Faso,
Email: zinguedezemon@yahoo.fr- Tél : 00226 709 679 49

INTRODUCTION

The global plan to end tuberculosis (TB), a 5-year strategy aims to successfully treat 90% of people infected with TB by 2020 [1]. To reach this goal, diagnosis of cases tuberculosis cases is an important aspect for National Tuberculosis Programs. The timely detection ensures efficacy treatment of patient and therefore prevents further spread of the disease that is essential for efficient TB control [2]. In resource limited settings, TB diagnosis is usually done by Ziehl Nielsen technique and culture with Lowenstein Jensen (L-J) media that is recommended by WHO [3,2]. However the diagnosis by the culture in resources limited settings is hampered by high rate of contaminations [4] and especially in Burkina-Faso where the National Tuberculosis Program, in its 2015 report, showed contamination rate of 25 %. Because the sputums used for culture contain mycobacteria and other fast growing microflora [5], diagnosis by culture require a step of decontamination. The challenge of this process is to eliminate fast growing microflora while preserving the mycobacteria.

Decontamination methods take advantage of the resistance of mycobacteria to acids and bases or other antibacterial agents [6]. Numerous procedures for digestion and decontamination have been used throughout the world. Each method has its advantages and drawbacks and there is no universally recognized methods of decontamination [5, 7]. So it is essential for each laboratory to choose and adapt by assessments the appropriate one which have acceptable contamination rate (2-5 % for freshly collected sputum and 5-10 % for those stoked before culturing) [5]. In Burkina-Faso

laboratories as in most resource limited settings, the Sodium hydroxide 4% called “modified Petroff method” is widely used because it is simple, accessible and suitable for many laboratories [2]. But in the recently regional TB survey we are confronted with high rate of contamination. Because the 4% sodium hydroxide represents the upper limit of its concentration [2], we have to identify a harsher decontamination method. An alternative one such as oxalic acid 5% which was recommended for use in recovery of acid fast bacilli (AFB) from heavily contaminated specimens like those consistently overgrown with *Pseudomonas* species [5, 8], is promising. The aim of this study was to compare modified. Petroff's (4% NaOH) versus 5% oxalic acid decontamination method for improvement of the recovery of *Mycobacterium tuberculosis* in Burkina Faso.

MATERIALS AND METHODS

* Design and Samples

Two type of sputum belonged to 76 patients with bacteriologically confirmed TB were used. Fresh sputum samples were collected at the district levels between November 2012 and February 2013 and sent to Centre MURAZ in Bobodioulasso where they were stored at 4°C before being processed within three days. Old sputa were obtain during regional TB survey study, between March 2011 and November 2012. They were prior stoked at 20°C until processed.

The samples were thawed, vortexed, and divided into two tubes prior to analysis. AFB were confirmed with ZN-smears and samples were decontaminated with either 5% oxalic acid and 4% NaOH, respectively.

Study protocol and consent forms were reviewed and approved by both the Institutional Review board of Centre MURAZ and Health research ethical committee of the Health Ministry of Burkina Faso.

*** Sputum sample decontamination methods**

Two milliliters of 4% NaOH or 5% oxalic acid was added to a 50 ml conical tube containing 2 ml of sputum. The same volume of NaOH could be added for better digestion. The contents were mixed by vortexing for 15 seconds, and then the tube was mixed with agitator front and back type “Kahn” at room temperature for 20 minutes for homogenization and decontamination. The volume was brought to 50 ml with distilled sterile water, mixed by vortexing, and then centrifuged at 3,000 x g for 20 minutes then the supernatant was discarded. This process was repeated two time in order to obtain a neutralized pellet. Finally, this pellet was re-suspended in 1 ml of distilled sterile water and was inoculated onto media.

*** Growth media, incubation and identification of growth mycobacterium**

Two Lowenstein-Jensen Medium Base supplemented with 0.75% of glycerol and two L-J supplemented with 0.2% of sodium-pyruvate were used for inoculation of decontamination pellet. (Lowenstein-Jensen Medium Base, Bio Maxima S.A., Velterow 5, Lublin, POLAND). The cultures were incubated for 90 days at 37°C. The slants were examined regularly in conformity with the lab procedures: first after 72 hours to note and eliminate the contaminated slants. They were then examined once per week until growth of colonies was observed. Colonies were stained for acid fastness using the hot Ziehl-Neelsen staining method to confirm the presence of AFB. Then,

the isolates strains were identified by Niacin test, Nitrate Reduction test, thermostable catalase test at 68°C and 22°C. If there was no growth at day 90 the culture was considered negative. Cultures were scored as contaminated if contaminant bacterial overgrowth of the four L-J media. To minimize culture contamination due to the analytical conditions in our laboratory, culture was routinely done under a class II biosafety cabinet (BSC). Sterility of the culture medium was checked macroscopically after incubating every new batch at 37°C, during 72 hours. Sterile decontaminating solution was used. Sterile distilled water used in culture was inoculated in parallel on sterile L-J media, in order to check its sterility.

*** Data analysis**

Data were analyzed using Epi-Info 7 software. We used a two-sample test of proportions to determine the difference in proportions. A p-value of less than 0.05 was used to indicate statistical significance.

RESULTS

A total of 76 (33 fresh + 43 old) sputum samples collected from 76 bacteriologically confirmed TB patients were studied. Of these, 31 (41%) and 12 (16%) samples were found to be mycobacterium positive after oxalic acid and modified Petroff's decontamination, respectively. We found that 10 (13%) samples were contaminated after decontamination by the oxalic acid method, whereas 62 (82%) were contaminated after treatment with modified Petroff's method (table I). Positives culture obtained by the both methods of decontaminations belonged to *Mycobacterium tuberculosis* complex with Niacin test positive, Nitrate reduction test positive and thermostable catalase test negative.

Table I: frequency of culture contamination following two methods of decontamination

Type of decontaminant	Modified Petroff			5% Oxalic Acid			Ch2	p
Type of expectoration	Fresh Nb	Old Nb	Total Nb (%)	Fresh Nb	Old Nb	Total Nb (%)		
Not contaminated								
Pos	12	0	12 (16%)	21	10	31(41%)		
Neg	2	0	2 (3%)	6	29	35 (46%)		
Total	14	0	14 (18%)	27	39	66 (87%)	72	0,001
Contaminated	19	43	62 (82%)	6	4	10 (13%)		
Total	33	43	76 (100%)	33	43	76 (100%)		

Legend : Nb = Number

Pos = positive

Neg = negative

DISCUSSION AND CONCLUSION

Sputum culture is important for TB control programs, because it allow isolation of mycobacteria strains necessary for the complex MTB identification and drug susceptibility testing. But culture is hampered by high contamination due to microorganism's carriage by sputum during collection. The aims of this study was to compare modified Petroff and 5% oxalic acid methods for sputum decontamination. Globally, the contamination rate of oxalic acid method is lower compared to modified Petroff's method but is still higher than the target range. This indicated that the decontamination was not strong enough and probably requires an increase of the concentration of the decontaminant or the time of contact [2].

Paradoxically, the negatives culture with oxalic acid were higher than the target range (Fresh: 18%, old: 67%; target range: 1-3%), indicating that this method is too strong, cannot be more and therefore inappropriate for our laboratory. In view of this paradox, other factors that can influence the culture contaminations such as the pre-analytical factors must be explored.

Nevertheless, the oxalic acid results showed a better recovery of *M. tuberculosis* from new (+18 points) and olds (+10 points) sputa compared with modified Petroff method. For this reason, it could be an alternative method until we can find a better one. Best results were obtained with fresh sputum than old one, confirming the WHO recommendations according to which it was most important

for TB diagnosis to process fresh specimen than the old one [2]. However, during the recently regional TB survey, in which the olds sputum were collected, these recommendations were not always practicable, and delays between specimen collection and processing do occur, especially for the sputa collected at remote areas. Therefore, it would be interesting in our settings to evaluate the impact of these delays and others major pre-analytic factors on culture contaminations.

The results suggest that treatment with oxalic acid method could be an alternative decontamination method as compared to modified Petroff method since it allow to improve the recovery rate of mycobacteria from fresh and old sputa. But additional upstream factors of the culture that can influence contaminations should be evaluated.

Acknowledgements

The authors are grateful to ANRS12204 study for supporting this study.

Conflict of interest : The authors have no conflict of interest.

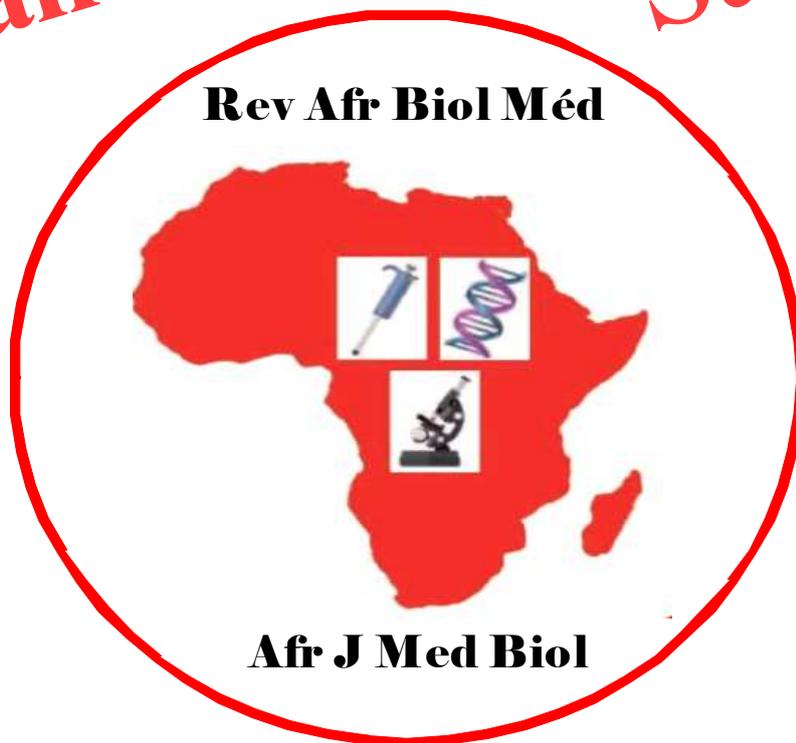
REFERENCES

- 1. Stop TB Partnership.** Global Plan to End TB 2016-2020. Available at: <http://www.stoptb.org/global/plan/plan2/>. Accessed 02/09/2017.
- 2. Hans L. Rieder, Armand Van Deun, Kai Man Kam.** In. Priorities for Tuberculosis Bacteriology Services in Low-Income Countries. International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. Paris.2007;2nd ed:1-150.
- 3. Jacobus HW, Jaime R.** Conventional diagnostic methods. In Palomino CJ, Leão S Ritacco V. Tuberculosis 2007 from basic science to patient care. Palomino – Leão – Ritacco Eds. 2007;1st ed: 401-424. <http://tuberculosis-text-book.com>.
- 4. Demers AM, Verver S, Boule A, Warren R, Van Helden P, Behr MA, et al.** High yield of culture-based diagnosis in a TB-endemic setting. *BioMed Central Infectious Diseases*. 2012; 12:218.
- 5. Narvaiz de Kantor I, Kim J S, Frieden TR, Laszlo A, Fabio L, Pierre-Yves N, et al.** Laboratory services in tuberculosis control: Culture part III. WHO, Geneva, Switzerland.1998; WHO/TB/ 98.258:1-97.
- 6. Sonnenberg P, Murray J, Glynn JR, Shearer S, Kambashi B, Godfrey-Faussett P.** HIV-1 and recurrence, relapse, and reinfection of tuberculosis after cure: a cohort study in South African mineworkers. *Lancet*. 2001;358(9294):1687-93.
- 7. Zingue D, Hien H, Meda N, Zida S, Kabore A, Sanou A, et al.** Advantages and drawbacks of expectoration decontamination methods for tuberculosis and anti-tuberculosis drug resistance diagnosis. *Annales de Biologie Clinique*.2013; 71(3):283-291.
- 8. Cadmus S, Falodun O, Fagade O.** Methods of sputum decontamination with emphasis on local tuberculosis laboratories. *African Journal of Medicine and Medical Sciences*.2011;40(1):5-14.

LA REDACTION DE LA
Revue africaine de Biologie Médicale
vous souhaite

Santé

Succès



Prosperité

Longévité

UNE EXCELLENTE
ANNEE 2020

Section A : Bactériologie - Virologie / Bacteriology and Virology

Caractérisation phénotypique des souches bactériennes isolées au service de chirurgie orthopédique et traumatologique du CHU de Bouaké.

Phenotypic characterization of bacterial stains isolated in the orthopedic surgery and traumatology service of Bouake's teaching hospital.

Diarrassouba A^{1,2}, Traoré A¹, Monemo P^{1,2}, N'guessan AM¹, Tadet JON¹, Cissé A¹, Akoua-Koffi C^{1,2}.

1- Laboratoire de Bactériologie, Centre Hospitalier et Universitaire de Bouaké

2- Université Alassane Ouattara de Bouaké

Section A: Bactériologie et Virologie

Rubrique : Article original

Résumé

Introduction : L'environnement hospitalier renferme de multiples bactéries qui influencent l'évolution clinique des patients hospitalisés. Les infections postopératoires occupent la troisième place des infections nosocomiales. Les complications infectieuses postopératoires sont la 1^{ère} cause de morbidité et de mortalité en chirurgie avec pour corollaire une augmentation du coût et de la durée du séjour hospitalier. Les espèces bactériennes connues auparavant comme saprophytes, ont acquis de nouveaux mécanismes de virulence et de résistance. L'objectif de ce travail était de déterminer la prévalence et le profil de résistance des bactéries circulantes dans le service de Traumatologie du CHU de Bouaké.

Matériel et méthodes : Il s'agit d'une étude prospective réalisée de janvier à juin 2016, qui a permis de collecter 145 échantillons de produits biologiques : 44 prélèvements en portage nasal et palmaire chez le personnel soignant, 50 des plaies de patients hospitalisés et 51 sites environnementaux. Les prélèvements ont été effectués à l'aide d'écouvillons stériles humidifiés au sérum physiologique. Les échantillons ont été analysés selon les techniques de Bactériologie conventionnelle.

Résultats : Les 51 sites environnementaux prélevés ont permis d'identifier 19 (44,2%) souches bactériennes. Chez le personnel soignant, l'analyse bactériologique du portage nasal et palmaire a permis d'identifier respectivement 18 (46,6%) et 19 (51,4%) souches bactériennes. A partir des échantillons de pus, 41 (82%) souches bactériennes ont été isolées. Une souche de *E. cloacae* multirésistante a été isolée des sites environnementaux inertes. *Staphylococcus aureus méticillino résistant (SAMR)* était prédominant en portage nasal chez le personnel soignant (75%). Une infection du site opératoire (ISO) était observée chez 18 patients parmi les 50 patients opérés, soit un taux de suppuration de 48,65%. Des souches de *Staphylococcus à coagulase négative* : 7 (17,1%), *K. pneumoniae* : 5(12,2%), *E. faecalis* : 4(9,7%) et *P. aeruginosa* : 3(7,3%) ont été principalement isolées des pus. Toutes les souches de *K. pneumoniae* isolées des pus étaient productrices de bêta-lactamases à spectre élargi.

Conclusion : Cette étude a permis d'isoler des bactéries multirésistantes impliquées dans les infections du site opératoire, en portage et dans l'environnement. La maîtrise de l'écosystème bactérien pourrait contribuer à réduire la fréquence des suppurations au service de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique du CHU de Bouaké.

Mots clés : écosystème, Chirurgie, portage, bactéries multirésistantes, Bouaké-Côte d'Ivoire.

Summary

Introduction: Hospital environment contains multiple bacteria that influence the clinical course of hospitalized patients. Post-operative infections are the third most common type of nosocomial infection. Post-operative infectious complications are the leading cause of morbidity and mortality in surgery, resulting in an increase in the cost and duration of hospital stay. Bacterial species previously known as saprophytes have acquired new mechanisms of virulence and resistance. This survey was conducted to assess the prevalence and resistance profile of bacteria circulating in the Traumatology Department of the Bouaké's Teaching Hospital.

Materials and methods: Between January to June 2016, we collected 145 biological samples from 44 caregivers, 50 hospitalized patients wounds and 51 environmental sites. Clinical samples were collected using sterile swabs moistened with saline solution. The samples were analyzed by conventional bacteriology techniques.

Results: 19 (44.2%) bacterial strains were identified in the 51 sampling environmental sites. Among healthcare workers, bacteriological analysis of nasal and palmar carriage identified respectively 18 (46.6%) and 19 (51.4%) bacterial strains. From the pus samples, 41 (82%) bacterial strains were isolated. A multidrug-resistant strain of *E. cloacae* was isolated from inert environmental sites. *Staphylococcus aureus* and *methicillin-resistant (SAMR)* was predominant in nasal carriage among caregivers (75%). Surgical Site Infection (SSI) was observed in 18 patients among the 50 operated, ie suppuration rate of 48.65%. Strains of *Coagulase-Negative Staphylococcus* 7 (17.1%), *K. pneumoniae* 5 (12.2%), *E. faecalis* 4 (9.7%) and *P. aeruginosa* 3 (7.3%) were mainly isolated from pus. All strains of *K. pneumoniae* isolated from pus produced broad spectrum beta-lactamases.

Conclusion: This study isolated multi-resistant bacteria involved in surgical site, porting and environmental infections. Controlling the bacterial ecosystem could help reduce the frequency of suppurations in the Orthopaedic and Traumatological Surgery department at the Bouaké University Hospital.

Keywords: Ecosystem, Surgery, portage, multi-resistant bacteria, Bouaké, Côte d'Ivoire.

Correspondance : Dr Diarrassouba Abdoulaye:
BP 1174 Bouaké 01 - Tél.: +225 493 409 50
E mail : diarrassoubaabdoul@yahoo.fr

INTRODUCTION

Les progrès réalisés au cours des dernières décennies en matière de prévention des infections hospitalières, n'ont pas permis de réduire l'infection du site opératoire (ISO). Cet événement indésirable, jadis presque habituel, reste relativement fréquent et a encore un impact certain sur les patients et la santé publique [1,2].

Une revue systématique et une méta-analyse effectuées à partir des bases de données de l'Organisation Mondiale de la Santé pour la Région Afrique a révélé que l'incidence des ISO variaient de 6,8% à 26% avec une prédominance en chirurgie générale [3]. Les complications post-opératoires (CPO) en Afrique sont dominées par les infections post opératoires. En Afrique subsaharienne, l'incidence de l'ISO et les facteurs socio-économiques constituent une grande barrière à la prévention de ces infections [4,5]. Dans leur étude, Dem A. [6] au Sénégal et Mehinto [7] au Bénin ont enregistré en 2001 des taux de complications respectifs de 11,6% et 20,9% après interventions chirurgicales, avec un taux d'ISO de 76% et de 34,9 %. La survenue de ces infections limite le bénéfice potentiel des interventions chirurgicales, multiplie par trois le coût d'hospitalisation et le séjour hospitalier [3].

Elles représentent un frein important au développement médical du fait de leur fréquence sans cesse croissante, de leur gravité et de la multirésistance des bactéries en cause. Des espèces qui étaient connues auparavant comme saprophytes, ont acquis de nouveaux mécanismes de virulence et de résistance [8].

Ces bactéries multirésistantes proviennent soit d'une source endogène constituée par la flore

commensale des patients et/ou d'une source exogène représentée par le personnel soignant et l'environnement hospitalier [9].

La prévention de ces infections repose sur la surveillance microbiologique de l'environnement hospitalier et le respect strict des mesures d'hygiène par l'équipe chirurgicale, lors des soins aux patients [2]. Bien que des travaux aient été menés sur l'écosystème bactérien des blocs opératoires, il existe très peu de données sur les espèces bactériennes circulantes dans les services chirurgicaux en Côte d'Ivoire. Il nous a donc paru nécessaire dans ce travail d'estimer les prévalences des espèces bactériennes circulant dans le service de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique du Centre Hospitalier et Universitaire (CHU) de Bouaké et d'en décrire les caractéristiques phénotypiques.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude a été réalisée du 1er janvier à 30 juin 2016 dans le Laboratoire de Bactériologie-virologie du Centre Hospitalier et Universitaire de Bouaké (CHU-BKE), en collaboration avec le service de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (COT).

1. Les prélèvements

IL s'est agi de prélèvements provenant de patients hospitalisés en chirurgie orthopédique et traumatologique, le personnel médical et paramédical dudit service et de l'environnement d'hospitalisation. Ainsi étaient inclus dans l'étude, les patients de tout âge et de tout sexe hospitalisés dans le service de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique présentant une plaie post-opératoire ayant suppurée ou pas.

** Au niveau des sites inertes du COT :*

Il s'agissait de 51 sites inertes dont 21 expositions à l'air, 24 poignets de porte, 4 lavabos et 2 surfaces du matériel de soins qui ont été écouvillonnés à l'aide d'écouvillons stériles et secs humidifiés de sérum physiologique.

** Chez le personnel soignant :*

Un total de 44 prélèvements, soit 22 écouvillonnages nasaux et 22 palmaires ont été réalisés.

Les prélèvements nasaux et palmaires ont été effectués chez le personnel médical et paramédical présent durant la période de l'étude après avoir recueilli leur consentement éclairé.

** Chez les patients :* 50 plaies chirurgicales de malades ont été prélevées. A l'aide d'écouvillons stériles et secs les prélèvements de plaies ont été réalisés chez les patients hospitalisés en Chirurgie Orthopédique et Traumatologique, opérés ou non et avec ou sans suppuration.

Les échantillons collectés ont été acheminés au laboratoire central du CHU de Bouaké pour être analysés.

2. L'analyse cyto-bactériologique des échantillons

a été effectuée selon les méthodes conventionnelles. Un examen microscopique des frottis colorés par la méthode de Gram a été réalisé. Après le Gram direct, les prélèvements ont été ensemencés sur différents milieux de culture, à savoir une gélose Bromo crésolé pourpre (BCP) pour isoler les bactéries non exigeantes comme les Staphylocoque, une gélose CHAPMAN pour isoler *Staphylococcus aureus*, une gélose à l'éosine et au Bleu de Méthylène (EMB) pour isoler les entérobactéries telle que *Escherichia coli*, et une gélose CETRIMIDE pour isoler *Pseudomonas*. L'identification des bactéries isolées a été réalisée à l'aide du Portoir réduit de Le Minor.

Une culture bactérienne était considérée positive si elle renfermait au plus deux types de colonies et un seuil de positivité à 10^5 UFC/ml et négative s'il y avait absence de colonies ou présence de colonies avec un seuil de positivité inférieur à 10^5 UFC/ml. La détermination de la sensibilité des souches identifiées aux antibiotiques usuels a été réalisée à l'aide d'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton. L'interprétation des diamètres d'inhibition a été effectuée selon les critères du Comité Français pour l'Antibiogramme (CA-SFM 2015). Les phénotypes de résistances des souches d'entérobactéries BLSE ont été mis en évidence par le test de synergie associant l'amoxicilline+acide clavulanique et des céphalosporines de 3^{ème} génération. L'apparition d'une image de synergie entre ces antibiotiques traduit une production de BLSE. La résistance des Staphylocoques aux isoxazolyl-penicillines (oxacilline, cloxacilline) a été recherchée à l'aide d'un disque de céfoxitine 30µg. Les souches présentant un diamètre d'inhibition à la céfoxitine \hat{A} 22 mm sont dites *Staphylococcus aureus Méthicillino-Résistant (SAMR)*. La résistance des Staphylocoques à la vancomycine a été recherchée à l'aide de disque de vancomycine 30 µg. Les souches de *S. aureus* qui avaient un diamètre d'inhibition à la vancomycine inférieur à 15 mm étaient considérées résistantes à la vancomycine (VAN-R).

Le taux de résistance des bactéries isolées a été évalué à partir de 33 disques d'antibiotiques: les bêta-lactamines (Penicilline G, Amoxicilline, Cefotaxime, Ceftriaxone, Cefuroxime, Céfoxitine, Ceftazidime, Aztreonam, Imipenème, Ticarcilline, Piperacilline-Tazobactam, Ticarcilline + acide clavulanique); les Aminocyclitolides (Amikacin,

Diarrassouba A et coll. Caractérisation phénotypique des souches bactériennes isolées au service de chirurgie orthopédique et traumatologique du CHU de Bouaké.

Kanamycine, Gentamicine, Tobramycine); les Macrolides (Erythromycine, Lincomycine, Spiramycine, Pristinamycine); les Sulfamides (Triméthoprim-sulfaméthoxazole); les Quinolones (Ciprofloxacine, Levofloxacine, Norfloxacine, Pefloxacine); les Glycopeptides (Vancomycine ; Teicoplanine); les Cyclines (Tétracycline) ; les Polymyxines (Colistine) ; la Rifampicine ; l'Acide fusidique ; la Fosfomycine.

3. Analyse statistique

Le logiciel Epi Info 7 a été utilisé pour les statistiques descriptives. Les résultats ont été exprimés en moyenne assorties de leurs indices de dispersion pour les variables quantitatives et exprimés en pourcentage pour les variables qualitatives.

Considérations éthiques

L'étude a été réalisée avec l'approbation de la Direction Médicale et Scientifique (DMS) faisant office de comité d'éthique institutionnel. La confidentialité a été préservée par l'attribution d'un

Diarrassouba A et al. Phenotypic characterization of bacterial stains isolated in the orthopedic surgery and traumatology service of Bouaké's teaching hospital.

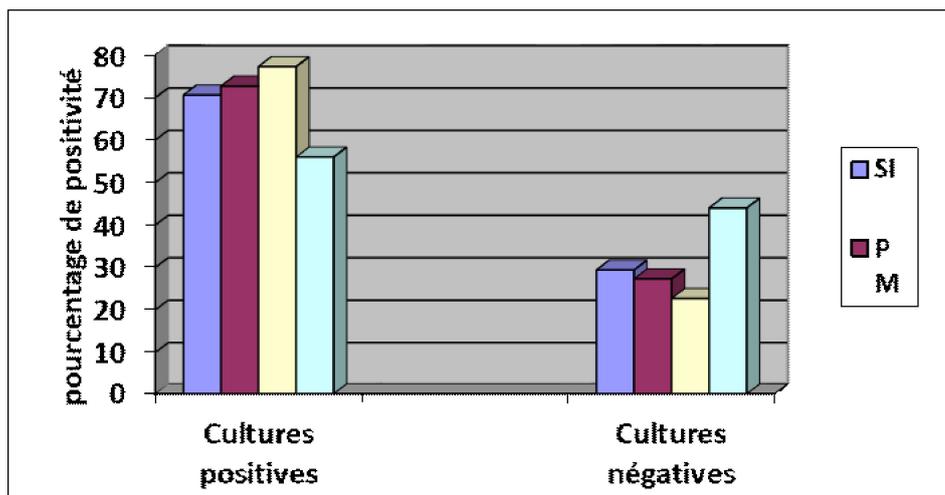
numéro anonyme à chaque fiche d'enquête. Les sujets inclus dans l'étude ou leurs tuteurs et parents ont été renseigné pour obtenir leur consentement éclairé. Il n'y avait pas de conflits d'intérêt entre les auteurs de cet article.

RESULTATS

Sur les 51 sites inertes échantillonnés, 36 se sont révélés positifs soit un taux de positivité de 70,6%. Chez le personnel soignant, sur 44 prélèvements (22 manuels et 22 nasaux), 16 (72,7%) manuels et 17 (77,3%) nasaux étaient positifs. Sur les 50 échantillons prélevés chez les patients, 28 (56%) cultures se sont révélées positives. (Figure 1).

* Evaluation de la présence bactérienne dans l'environnement des patients

A partir des surfaces inertes, l'analyse bactériologique des cultures positives a permis d'identifier 19 souches bactériennes reparties sur la Figure 2.



SI : Sites inertes PM : Portage manuel du personnel soignant
PN : Portage nasal du personnel soignant P : plaies des patients

Figure 1 : résultats en pourcentage des cultures en fonctions des types de prélèvements effectués

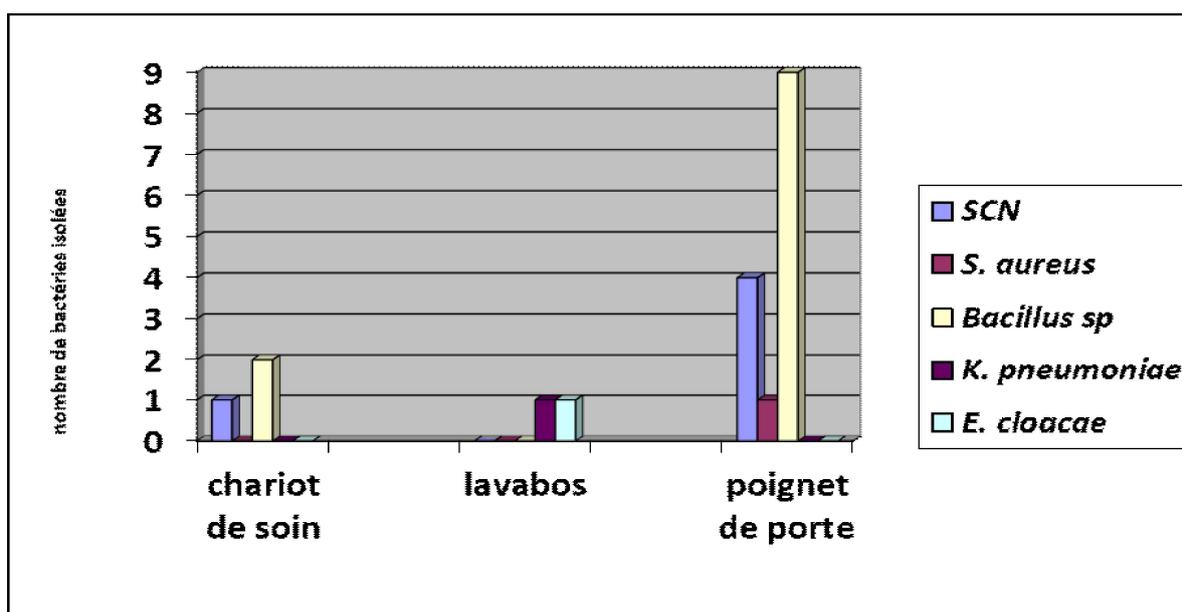


Figure 2 : répartition des souches bactériennes identifiées en fonction du site de prélèvement

*** Les taux du portage nasal et manuportage du personnel soignant**

L'analyse bactériologique des échantillons prélevés chez le personnel soignant a permis d'identifier 37 souches bactériennes. Les cocci à Gram positif représentaient 73,5% de bactéries isolées en portage chez le personnel soignant. Le taux de portage de *S. aureus* était respectivement de 13,6% en portage nasal et 4,5% en manuportage comme illustré sur la figure 3.

*** Examen cyto-bactériologique des plaies écouvillonnées des patients**

L'analyse bactériologique des cultures positives a permis d'identifier 41 souches bactériennes. Les entérobactéries représentaient 27%, suivies de 22% de *Staphylococcus* et 12 % de *Pseudomonas* (tableau I).

*** Niveau de sensibilité des souches bactériennes**

L'étude du profil de résistance des bactéries isolées dans l'environnement a révélé que la souche de

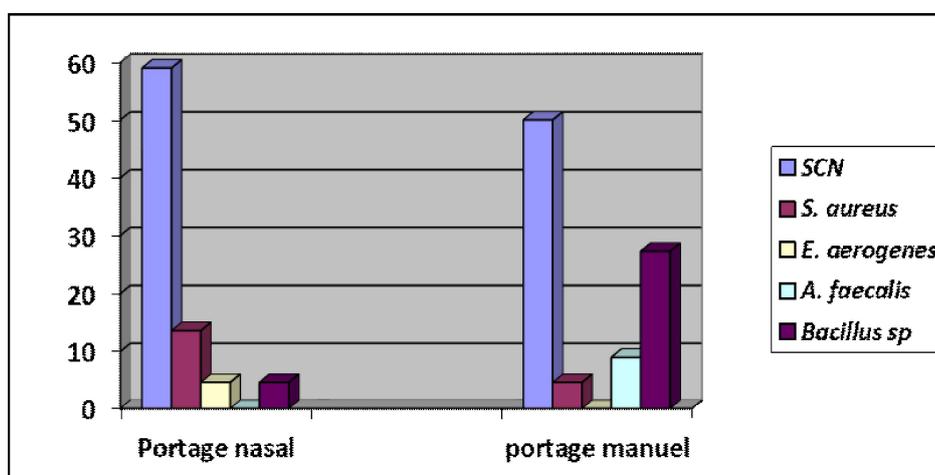


Figure 3 : répartition des espèces bactériennes identifiées en fonction du type de portage

Diarrassouba A et coll. Caractérisation phénotypique des souches bactériennes isolées au service de chirurgie orthopédique et traumatologique du CHU de Bouaké.

Diarrassouba A et al. Phenotypic characterization of bacterial strains isolated in the orthopedic surgery and traumatology service of Bouaké's teaching hospital.

Tableau I : répartition des espèces bactériennes isolées des plaies de patients

Espèces Bactériennes	Effectifs (N = 41)	Pourcentages
Cocci à Gram positif (n=14)		
<i>Staphylococcus</i>		
à coagulase négative	7	17,1
<i>S.aureus</i>	2	4,9
<i>E. faecalis</i>	4	9,8
<i>E. faecium</i>	1	2,4
Bacilles à Gram positif (n = 4)		
<i>Bacillus sp</i>	4	9,8
Bacilles à Gram négatif types entérobactéries (n=11)		
<i>K. pneumoniae</i>	5	12,2
<i>K. ozonae</i>	1	2,4
<i>A. dispar</i>	2	4,9
<i>E. coli</i>	1	2,4
<i>E. cloacae</i>	1	2,4
<i>E. aerogenes</i>	1	2,4
Bacilles à Gram négatif types non fermentaires (n=12)		
<i>Alcaligenes sp</i>	2	4,9
<i>A. faecalis</i>	1	2,4
<i>A. lwoffii</i>	1	2,4
<i>Acinetobacter sp</i>	2	4,9
<i>A. baumannii</i>	1	2,4
<i>P. aeruginosa</i>	3	7,3
<i>P. fluorescens</i>	2	4,9

Staphylococcus aureus isolée était résistante à la méticilline (SARM) et à plusieurs familles d'antibiotiques (glycopeptides, macrolides, aminosides). La souche de *Klebsiella pneumoniae* était sensible à tous les antibiotiques testés (souche sauvage) et la souche de *Enterobacter cloacae* isolée présentait un phénotype de bactérie multirésistante (BMR). Les phénotypes BMR (*Klebsiella pneumoniae*) et sauvage (*Enterobacter cloacae*) ont été identifiés dans le lavabo de la salle de soins. La souche de *S. aureus* multirésistante de phénotype SARM-KTG-VAN-R a été identifiée sur

le poignet de porte d'une salle d'hospitalisation.

Au niveau du manuportage et du portage nasal du personnel soignant, les 4 souches de *S. aureus* présentaient des taux de résistance variable vis à vis des antibiotiques testés : 75% de SARM; 100% à la vancomycine (VAN-R) et 100% vis-à-vis des macrolides et des phénicolés.

Les souches d'*Alcaligenes faecalis* isolées étaient sensibles aux aminosides et aux polypeptides testés, mais présentaient des taux de résistances vis-à-vis des bêta-lactamines testés de 50 à 100%. La souche d'*Enterobacter aerogenes* isolée du portage nasal du personnel était sensible aux cyclines, quinolones, phénicolés, sulfamides, aminosides et à la plupart des bêta-lactamines.

Chez les patients, le niveau de résistance des souches de *Klebsiella pneumoniae* était de 60 à 100% vis-à-vis des bêta-lactamines avec production de BLSE. Les souches d'*Alcaligenes dispar* et la souche d'*Enterobacter cloacae* présentaient des taux de 100% de résistance vis-à-vis des bêta-lactamines avec production de BLSE, tout comme les souches de *E. aerogenes*, *E. coli* et *K. ozonae*.

Concernant les souches de *P. aeruginosa*, leur taux de résistance aux bêta-lactamines variait de 33 à 100% dont une souche résistante à la Ceftriaxime (PARC). Ces souches étaient sensibles à 100% à l'imipénème mais résistantes à l'amikacine, levofloxacine, pefloxacine respectivement à 33%, 100%, 33%.

Les souches de *Staphylococcus aureus* (n=2) isolées des plaies des patients étaient résistantes à la Méthicilline (SARM), à la Vancomycine (VAN-R) et à la Fosfomycine.

Les souches d'*Enterococcus* (n=5) étaient sensibles

à la plupart des antibiotiques testés. Les souches de *Alcaligenes faecalis* (n=2) présentaient des taux de résistances variant de 66,7% aux quinolones, à 100% aux bêta-lactamines et à la gentamicine. Les souches de *Enterococcus* (n=5) étaient sensibles de 25 à 100% à la plupart des antibiotiques testés. Les souches de *Acinetobacter* (n=3) avaient un taux de résistance aux bêta lactamines de 100% avec production de BLSE et un taux de résistance de 66,7% aux quinolones, cyclines et sulfamides.

Les phénotypes de résistances BLSE ont été observés à 50% aussi bien chez les patients opérés que chez les patients non opérés. Les phénotypes BMR et PARC ont été retrouvés à 100% respectivement chez les patients opérés et chez les patients non opérés.

Sur les 21 phénotypes de résistance observés, 100% des souches présentant des phénotypes BLSE ont été isolées chez les patients (tableau II).

DISCUSSION

L'analyse bactériologique des échantillons prélevés sur les 51 sites environnementaux, a permis d'obtenir 36 cultures positives (70,6%) avec une prédominance d'isolement de *Bacillus*, une flore sporulée colonisatrice des poignets de porte et chariot de soins. Ces résultats concordent avec ceux de Saouide el ayne Nabila et al en 2014 au Maroc qui ont également relevé 27% de *Bacillus* sur les équipements de blocs opératoires et 18% dans l'environnement hospitalier (Service de Traumatologie) [10]. En effet, c'est une flore normale de l'environnement qu'on pourrait retrouver sur les équipements médicaux par un processus de sédimentation. Le taux de manuportage des cocci était de 42,1% chez le personnel soignant. Ces bactéries identifiées ont été retrouvées aussi bien dans l'environnement que dans les paumes de mains du personnel. Les bactéries du genre *Staphylococcus*, commensales de la flore cutanée, ont été isolées principalement au niveau

Tableau II : répartition des phénotypes de résistance selon la source de prélèvement

Phénotypes observés (N=21)	Environnement	Portage	Patients
SAUVAGE (N=1)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
SARM- KTG (N= 2)	1 (50%)	1 (50%)	0 (0%)
SARM-VAN R (N=3)	0 (0%)	1 (33,3%)	2 (66,7%)
SARM-K-VAN-R (N=1)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)
KTG-VAN-R (N=1)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)
BMR (N=2)	1 (50%)	0 (0%)	1 (50%)
BLSE (N= 10)	0 (0%)	0 (0%)	10 (100%)
PARC (N=1)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)

Diarrassouba A et coll. Caractérisation phénotypique des souches bactériennes isolées au service de chirurgie orthopédique et traumatologique du CHU de Bouaké.

des poignets de porte (73,7%). Leur présence serait le résultat d'une contamination d'origine humaine de l'environnement hospitalier. D'autres études environnementales de Njall C *et al.* ont rapporté des fréquences similaires 15,4% de cocci à Gram positif (*S. aureus*) responsables d'une aérobiocontamination [11].

Il a été mis en évidence la présence de souches d'origines humaines (*K. pneumoniae* et *E. cloacae*) sur certaines surfaces écouvillonnées notamment les lavabos du service de Chirurgie. Cela pourrait s'expliquer par l'insuffisance de l'application des mesures d'hygiène sur ces sites. Le niveau de résistance des bactéries isolées dans l'environnement semble être élevé. La circulation de souches de SAMR isolées sur les poignets de porte et d'*E. cloacae* multirésistantes dans le lavabo de la salle de soins constitue un risque potentiel de contamination de l'équipement et des malades. Cette méthicillino résistance peut s'expliquer principalement par l'écologie microbienne du service de COT [12].

L'émergence des SARM responsables d'infection du site opératoire est due à une modification de la cible PLP2a aux bêta-lactamines. En effet, *Staphylococcus aureus* est l'une des plus fréquentes bactéries incriminées dans ces infections. Sa pathogénicité, son caractère omniprésent qualifient cette bactérie à titre d'exemple d'adaptation et de dissémination, surtout lorsque la barrière cutanée est rompue. Cette adaptation affecte également son aptitude à résister à plusieurs antibiotiques, tels que la méthicilline, qui s'étend à la résistance contre la plupart des lactames et atteint actuellement la vancomycine [13]. Ces bactéries peuvent être ceux des malades qui colonisent de

Diarrassouba A et al. Phenotypic characterization of bacterial stains isolated in the orthopedic surgery and traumatology service of Bouake's teaching hospital.

nouveaux sites à la faveur d'un acte invasif ou une fragilité particulière. La provenance peut être exogène (environnement, personnel) à la faveur des transmissions croisées entre le malade, le personnel, et l'environnement [11].

Concernant le taux de portage des bactéries de l'équipe soignante, il a été noté une prédominance des cocci à Gram positif (73,5%), les bacilles à Gram négatif ne représentaient que 5,90%. Cette colonisation importante des mains et des fosses nasales constitue une preuve de l'implication du personnel dans la transmission des infections en milieu hospitalier. *S. aureus* représentait 13,6% en portage manuel et 4,5% en portage nasal. Ces souches comprenaient des souches de SARM et de *S. aureus* multirésistante. Egalement des auteurs ont trouvé un taux plus élevé de 10,1% de portage nasal a été retrouvé chez des parents d'enfants hospitalisés lors d'une étude de portage nasal de SARM réalisée en Angola [14].

Le portage nasal du personnel pourrait être responsable de l'acquisition de *S. aureus meti-R* par le patient arrivé non colonisé. Ce portage et la circulation des staphylocoques sont un facteur contributif à l'infection endémique dans certaines unités de soins spécialisés.

Au niveau des plaies de patients, la culture des prélèvements était positive dans 56% des cas. Un total de 14 espèces a été identifié soit 26,83%. *P. aeruginosa* représentait 7,32%, *S. aureus*, 4,88%, *K. pneumoniae*, 12,19% et *E. faecalis*, 9,75%. Cette répartition des espèces différentes est identique aux résultats rapportés par Ousmane A. et al Selon ces auteurs, 9,5% de *P. aeruginosa*, 31% de souches de *Staphylococcus*, et 7,5% de *K. pneumoniae* ont été isolées des pus issus de

plaies de patients opérés et hospitalisés dans les services de chirurgie de l'Hôpital National de Niamey. Dans notre série, 100% des souches de *P. aeruginosa* étaient résistantes à la ceftazidime et 10 souches d'entérobactéries étaient productrices de BLSE. Ces résultats sont proches de ceux de Ousmane A. *et al*, dans leur étude menée à l'Hôpital National de Niamey, qui ont rapporté que les souches d'entérobactéries identifiées présentaient dans leur majorité des taux de résistance très élevés aux bêtalactamines [15]. Ces bêtalactamases hydrolysent les céphalosporines de troisième génération, molécules d'usage courant dans nos structures hospitalières. Ceci pourrait s'expliquer par l'usage abusif des antibiotiques, la pression de sélection et l'hyperproduction des enzymes inhibitrices qui facilitent la diffusion de cette résistance d'origine plasmidique entre différentes espèces bactériennes.

Les souches d'*Alcalescens dispar* et la souche de *Enterobacter cloacae* présentaient des taux de 100% de résistance vis-à-vis des bêta-lactamines avec production de BLSE, tout comme les souches de *E. aerogenes*, *E. coli* et *K. ozonae*. Ce taux de résistance s'expliquerait par le phénomène de transfert de gènes de résistance entre ces espèces bactériennes.

Dans notre étude les souches de *S. aureus* (N=7) isolées des sites inertes, chez le personnel soignant et les patients étaient multirésistantes. Cette résistance pourrait s'expliquer par le fait des résistances croisées. Le personnel soignant pouvant acquérir ces souches résistantes dans la communauté et lors des soins des patients opérés. Nos observations diffèrent de celles de Krisztina *et al*, qui trouvaient deux souches de *S. aureus* multirésistantes dans une étude sur la diminution de

la susceptibilité à la vancomycine chez *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline dans un hôpital roumain [16]. Par contre, Avinash Singh *et al* retrouvaient également une fréquence élevée de souches de *S. aureus* multirésistantes dans une étude de surveillance microbiologique en Inde. Une surveillance étroite des tendances de la sensibilité à la vancomycine est nécessaire, en particulier dans les pays où l'utilisation inappropriée d'antibiotiques est courante [17].

Le fait d'isoler des bactéries du genre *Staphylococcus*, *Enterobacter* à la fois chez le personnel, les patients et dans l'environnement est préoccupant vu le profil de résistance de ces bactéries vis-à-vis des antibiotiques usuels. Une comparaison des souches par séquençage ou électrophorèse en champ pulsé permettrait de déterminer leur profil génotypique et les sources de contamination. La cohabitation de souches multirésistantes avec des souches sauvages dans l'écosystème du service de Chirurgie est une alerte majeure de veille microbiologique. Cette cohabitation pose un problème de prise en charge des patients déjà fragilisés par la pathologie et nécessite la mise en place de mesures d'hygiène efficaces pour la lutte contre les infections associées aux soins.

CONCLUSION

La caractérisation phénotypique des bactéries circulantes dans les services chirurgicaux est déterminante dans le succès des interventions chirurgicales. Des souches bactériennes multirésistantes retrouvées dans l'environnement et en portage ont également été isolées chez des patients. Des analyses moléculaires complémentaires de ces souches bactériennes afin de mettre en place

Diarrassouba A et coll. Caractérisation phénotypique des souches bactériennes isolées au service de chirurgie orthopédique et traumatologique du CHU de Bouaké.

des actions croisées de lutte, aideraient à prévenir et contrôler les infections au CHU de Bouaké.

RÉFÉRENCES

- 1. World Health Organization Department of Communicable Disease, Surveillance and Response. Prevention of hospital-acquired infections.** A practical guide. 2nd edition. 2002 ; disponible sur <http://www.who.int/csr/resources/publications/whocdscsreph> 200212. Consulté le 21/06/19.
- 2. Asifa N, Kadri SM.** An overview of hospital acquired infections and the role of the microbiology laboratory. *International Journal of Research in Medical Sciences.* 2014;2(1): 21-27.
- 3. Ngaroua, JEN, Thomas B, Yaouba D.** Incidence des infections du site opératoire en Afrique sub-saharienne: *revue systématique et méta-analyse.* *Pan African Medical Journal.* 2016;24 (1):171-180.
- 4. Vincent JL, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, Moreno R, et al.** International study of the prevalence and outcomes of Infection in intensive care units. *Journal of American Medical Association.* 2009;302(21): 2323-2329.
- 5. Wanzel KR, Jamieson CG, Bohmen JM.** Complications in General Surgery service: incidence and reporting. *Canadian Journal of surgery.* 2000;43(2):113-117.
- 6. Dem A, Kassé AA, Diop M, Fall-Gaye MC, Diop PS, Dotou C, Cissé ML, Touré P.** Colpohystérectomies élargies avec lymphadénectomies pour cancer du col utérin à l'institut du cancer de Dakar : à propos de 412 cas. *Dakar Médical.* 2001;46(1):39-42.
- 7. Mehinto DKI, Olory-Togbe JLI, Padonou NI.** Les complications d'appendicectomie pour appendicite aiguë chez l'adulte au Centre National Hospitalier et Universitaire (CNHU) de Cotonou. *Médecine d'Afrique noire.* 2004;51(6):361-365.
- 8. Kollef MH, Fraser VJ.** Antibiotic resistance in the intensive care unit. *Annals of Internal Medicine.* 2001;134(4):298-314.
- 9. Feng Y, Hodiamont CJ, Van Hest RM, Brul S, Schultz C, Kuile BH.** Development of Antibiotic Resistance during Simulated Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* in Chemostats. *PLoS one.* 2016;11(2):1-12.

Diarrassouba A et al. Phenotypic characterization of bacterial stains isolated in the orthopedic surgery and traumatology service of Bouake's teaching hospital.

- 10. Saouide el ayne N, Echchelh A, Chaouch A, Auajjar N, Hamama S, Soulaymani A.** Rôle de l'environnement hospitalier dans la prévention des infections nosocomiales : surveillance de la flore des surfaces à l'hôpital el Idrissi de Kenitra. *European Scientific Journal.* 2014;10(9):1857-7881.
- 11. Njall C, Adiogo D, Bita A, Ateba N, Sume G, Kollo B, Binam F, Tchoua R.** Écologie bactérienne de l'infection nosocomiale au service de réanimation de l'hôpital Laquintinie de Douala, Cameroun. *Pan African Medical Journal.* 2013;14(140):1-8.
- 12. Zerouki A, Abada S, Tali-Maamar H, Rahal K, Naim M.** Caractérisation des infections du site opératoire à *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline en chirurgie orthopédique et traumatologique dans un hôpital algérien. *Revue de chirurgie orthopédique et traumatologique.* 2015;101(2):176-180.
- 13. Rebiahi SA, Abdelouahid DE, Rahmoun M, Abdelali S, Azzaoui H.** Emergence of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* identified in the Tlemcen University Hospital (North-West Algeria). *Médecine et Maladies infectieuses.* 2011;41(12):646-651.
- 14. Rodrigues S, Conceicao T, Santos Silva I, de Lencastre H, Aires-de-Sousa M.** Frequent MRSA nasal colonization among hospitalized children and their parents in Angola and Sao Tome and Principe. *Journal of Hospital Infection.* 2018;100(3):344-349.
- 15. Ousmane A, Mahaman LHA, Oumarou A, Ousseini A, Harouna ML, Boubou L, Djimraou O, Moussa A, Saidou M.** Aspects épidémiologiques et bactériologiques des infections du site opératoire (ISO) dans les services de chirurgie à l'Hôpital National de Niamey (HNN). *Pan African Medical Journal.* 2018;31(33):1-5.
- 16. Krisztina EV, Izabella S, Szabolcs M, Lilla L, Edit S.** Study of Decreased Susceptibility to Vancomycin in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains isolated from a Romanian Multidisciplinary Emergency Hospital. *Revue de médecine de laboratoire.* 2014; 22(2):245-254.
- 17. Avinash S, Kashi NP, Ravi PR, Satyendra KS, Mohibur R, Aparna T, Janmejai KS.** Glycopeptide and daptomycin susceptibility trends among clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary care center in North India. *Journal of Infection and Public Health.* 2014;8(4):341-345.

Section F : Hématologie / Hematology

Donneurs de sang familiaux : évaluation du risque infectieux par rapport aux nouveaux donneurs volontaires.

Family replacement blood donors: infectious risk assessment compared to first-time volunteer donors

Mawussi K^{1,2}, Magnang H^{3,4}, Kuéviakoé IMD^{4,5}, Fétéké L^{4,6}, Layibo Y^{4,7}, Padaro E^{4,7}, Nadjir LK^{4,6}, Vovor A^{4,5}.

- 1- Centre Hospitalier Universitaire de Kara, BP: 18 Kara, Togo
- 2- Faculté des sciences de la santé - Université de Kara. BP: 404 Kara, Togo
- 3- Centre national de recherche et de soins aux drépanocytaires, 08 BP 81534 Lomé, Togo.
- 4- Centre national de recherche et de soins aux drépanocytaires, 08 BP 81534 Lomé, Togo.
- 5- Centre Hospitalier Universitaire Sylvanus Olympio, BP 357 Lomé, Togo
- 6- Centre National de Transfusion Sanguine de Lomé. 2 BP : 20 707 Lomé, Togo
- 7-Centre Hospitalier Universitaire Campus de Lomé. BP 30284 Lomé, Togo

Section F : Hématologie

Rubrique : Article original

Résumé

Introduction : Les donneurs de sang familiaux ou de remplacement (DFR) seraient plus à risque infectieux. Cependant, la plupart des études ont basé cette conclusion sur une comparaison du risque infectieux entre donneurs familiaux et donneurs volontaires non rémunérés sans distinction entre nouveaux donneurs et donneurs volontaires fidèles et réguliers qui sont à moindre risque. L'objectif de cette étude était de comparer le risque infectieux des donneurs familiaux à celui des nouveaux donneurs volontaires.

Méthodologie : Nous avons déterminé la séroprévalence du VIH, de l'AgHBs, du VHC et de la syphilis chez les nouveaux donneurs de sang volontaires et chez les parents des malades qui ont accepté donner du sang sans coercition après une sensibilisation sur l'importance du don de sang et les conditions à remplir. Les deux groupes de donneurs étaient soumis aux mêmes critères de sélection pré-don. Après le don, les donneurs valides sur le plan sérologique ont été suivis sur une période de 12 mois pour apprécier la proportion de conversion en donneurs réguliers dans les deux groupes.

Résultats

Les prévalences parmi les donneurs familiaux et les nouveaux donneurs volontaires étaient respectivement de 4,07% et 4,16% pour le VIH ($p = 0,93$); 8,71% et 9,96% pour l'Ag HBs ($p = 0,45$); 4,24% et 6,33% pour l'anti-HCV ($p = 0,09$); 0,42% et 0,18% pour la syphilis ($p = 0,44$). En espace de 12 mois, 16,67% des donneurs familiaux séronégatifs au premier don ont refait volontairement au moins un second don contre 52,83% des nouveaux donneurs volontaires ($p < 10^{-7}$).

Conclusion :

Notre étude a montré que les donneurs familiaux ne sont pas plus à risque infectieux comparativement aux nouveaux donneurs volontaires, surtout lorsque le don de remplacement est fait avec moins de pression. Par contre le taux de conversion en donneurs réguliers est meilleur chez les nouveaux donneurs volontaires.

Mots clés : Donneurs de sang, familiaux, volontaires, risque infectieux

Summary

Introduction : Family replacement donors (FRD) would be higher risk of infection. However, most studies have based this conclusion on a comparison of infection risk between family donors and voluntary non-remunerated donors (VNRD) without made difference between first-time VNRD and repeat volunteer donors who are at lower risk. The objective of this study was to compare the infectious risk of family donors to first-time VNRD.

Methodology

We determined the prevalence of HIV, HBs Ag, HCV antibodies and syphilis in first-time volunteer blood donors and in the relatives of patients who agreed to donate blood without coercion after raising awareness about the importance of blood donation and the conditions to be fulfilled. Both groups of donors were subject to the same pre-donation selection criteria. After donation, serologically valid donors were followed over a 12 months period to assess the proportion of regular donors in both groups.

Results

The prevalence among family donors and first-time volunteer donors was respectively 4.07% and 4.16% for HIV ($p = 0.93$); 8.71% and 9.96% for HBs Ag ($p = 0.45$); 4.24% and 6.33% for anti-HCV ($p = 0.09$); 0.42% and 0.18% for syphilis ($p = 0.44$). In 12 months, 16.67% of family donors who are serologically negative voluntarily resumed at least one second donation against 52.83% of first-time voluntary donors ($p < 10^{-7}$).

Conclusion:

Our study showed that family donors are no more at risk of infection compared to first-time volunteer donors, especially when the replacement donation is made with less pressure. On the other hand, the conversion rate into regular donors is better in first-time volunteer donors.

Key words: Blood donors, family, volunteer, infectious risk

Correspondance : Dr MAWUSSI Koffi

Tel : (00228) 90 35 15 59 - BP : 18 Kara -Togo

E mail : mawussimeko@yahoo.fr

INTRODUCTION

Le principe fondamental de la transfusion sanguine exige que les donneurs de sang soient volontaires et non rémunérés [1]. L'organisation mondiale de la santé (OMS) et les organisations internationales en charge de la transfusion sanguine encouragent tous les pays à collecter le sang auprès des donneurs volontaires et bénévoles.

Le centre national de transfusion sanguine (CNTS) de Lomé pour répondre à ce principe a opté pour une collecte de sang exclusivement auprès des donneurs volontaires et bénévoles. Malgré l'augmentation du nombre d'unités de sang collectées, on note toujours une pénurie en produits sanguins labiles (PSL). Cette pénurie s'accroît surtout pendant les vacances scolaires qui coïncident avec la saison pluvieuse où on note une recrudescence des cas de paludisme avec son corolaire d'anémie. Cette situation entraîne de nombreux décès et l'emprunt de circuit d'approvisionnement en produits sanguins non officiels et non sécurisés par les patients. Nous avons voulu, devant une telle situation, évaluer le recours aux dons de sang familiaux ou de remplacement en comparant le risque infectieux des donneurs familiaux à celui des nouveaux donneurs volontaires et bénévoles prélevés au poste fixe du CNTS de Lomé, avec pour particularité la même rigueur de sélection médicale que celle appliquée aux donneurs bénévoles, et déterminer la proportion de conversion en donneur régulier dans les deux groupes.

Théoriquement, le don de sang familial serait plus à risque de transmettre des infections aux receveurs de PSL [2,3]. Cependant, la plupart des études ont basé cette conclusion sur une comparaison du

risque infectieux entre les donneurs familiaux de remplacement (DFR) et les donneurs volontaires non rémunérés (DVNR) qui regroupent les nouveaux donneurs volontaires et les donneurs fidèles et réguliers qui sont à moindre risque [4,5]. Or, seuls les nouveaux donneurs volontaires peuvent être comparés logiquement aux donneurs familiaux car les donneurs fidèles et réguliers ont déjà subi une sélection sérologique antérieure.

MATERIELS ET METHODES

Il s'est agi d'une étude de cohorte qui a duré 14 mois, allant du 3 juillet 2015 au 3 septembre 2016. Les donneurs ont été recrutés au CNTS de Lomé durant 2 mois, soit du 3 juillet au 3 septembre 2015. Le reste du temps a servi au suivi sur une période de 12 mois pour chaque donneur.

La population d'étude était constituée de nouveaux donneurs volontaires et des donneurs familiaux. Les nouveaux donneurs volontaires étaient ceux qui sont venus volontairement donner le sang pour la première fois au CNTS de Lomé. Les donneurs familiaux étaient des parents ou accompagnants des malades qui ont besoin de la transfusion sanguine et qui s'étaient présentés au CNTS pour avoir le sang. Après sensibilisation sur la situation de pénurie et la nécessité de donner du sang, ceux qui ont donné leur consentement, étaient soumis aux mêmes critères de sélection que les donneurs volontaires et bénévoles.

Etaient déclarés aptes à donner leur sang et inclus dans l'étude les femmes non enceintes ou non allaitantes et les hommes, âgés de 18 à 60 ans, pesant au moins 50 Kg, en bonne santé apparente, n'ayant pas eu des comportements à risque de contracter les infections transmissibles par la

transfusion sanguine (ITTS), et qui ne présentaient pas de contre-indications médicales ou chirurgicales au don de sang. Même en cas de refus ou d'impossibilité du parent à donner le sang, le produit sanguin était servi en fonction de sa disponibilité. Ceci permettait de diminuer la pression sur les donneurs familiaux.

Pour toute personne incluse dans l'étude, il a été prélevé au cours du don de sang 5 ml de sang dans un tube sec. Les échantillons étaient conservés à $+4^{\circ}\text{C} \pm 2$.

Les analyses de la qualification biologique ont été réalisées dans un délai maximal de 48 heures. Les recherches des marqueurs d'infection au virus de l'immunodéficience humaine (VIH), aux virus des hépatites B (VHB) et C (VHC) ont été réalisées en utilisant la technique ELISA. Pour le VIH nous avons utilisé le réactif BIO-RAD Genscreen® plus HIV Ag-Ab. La recherche de l'AgHBs a été faite à l'aide du réactif BIO-RAD MONOLISA® HBs Ag ULTRA. L'anticorps anti-HCV a été recherché à l'aide du réactif Murex anti-HCV version 4.0. Le dépistage de l'infection à la syphilis a été réalisé par la méthode RPR (Rapid Plasma Reagin). Les échantillons réactifs n'ont pas subi de tests de confirmation conformément à la procédure en vigueur au CNTS de Lomé.

La séroprévalence du VIH, du VHC, de l'AgHBs et de la syphilis était exprimée en pourcentage par catégorie de donneur (donneurs familiaux ou nouveaux donneurs volontaires), par tranche d'âge. Les donneurs familiaux et volontaires séronégatifs pour les quatre marqueurs ont été suivis sur une période de douze mois pour apprécier la proportion de ceux qui se sont convertis en donneurs réguliers.

Analyses statistiques

Les données ont été analysées en utilisant les logiciels Excel et Epi Info 7.2.1.0. Les comparaisons entre les groupes ont été faites en utilisant le test Chi 2. Une différence est considérée comme statistiquement significative si $p < 0,05$. Le taux de conversion en donneur régulier qui correspond à la proportion de donneurs qui sont revenus faire au moins un second don de sang dans la période de suivi de 12 mois après le don d'inclusion dans l'étude a été calculé et comparé dans les deux groupes de donneurs.

RESULTATS

Population d'étude

Nous avons inclus 712 donneurs familiaux et 553 nouveaux donneurs volontaires soit un total de 1265 donneurs. L'âge moyen était respectivement de $34,61 \pm 9,04$ ans et $30,10 \pm 8,37$ ans pour les donneurs familiaux et les nouveaux donneurs volontaires ($p = 0,99$). Pour l'ensemble des donneurs, la moyenne d'âge était de $32,64 \pm 9,03$ ans. La proportion de femmes est identique dans les deux groupes de donneurs ($p = 0,509$). Il y a plus d'élèves et d'étudiants (35,26%) parmi les nouveaux donneurs volontaires ($p < 10^{-7}$).

Le Tableau I montre les données socio-professionnelles des donneurs de l'étude.

Prévalence des marqueurs sérologiques

Les séroprévalences parmi les DFR et les nouveaux donneurs volontaires étaient respectivement de 4,07% et 4,16 % pour le VIH ($p = 0,93$) ; 8,71 % et 9,96 % pour l'AgHBs ($p = 0,45$) ; 4,24 % et 6,33% pour l'anti-HCV ($p = 0,09$) ; 0,42% et 0,18% pour la syphilis ($p = 0,45$) comme l'indique le tableau II.

Mawussi K et coll. Donneurs de sang familiaux : évaluation du risque infectieux par rapport aux nouveaux donneurs volontaires.

Dans la tranche d'âge 18 à 30 ans, la prévalence du VHC était de 4,34 % chez les donneurs familiaux contre 6,29% chez les nouveaux donneurs volontaires ($p = 0,30$). (Tableau II)

Dans la tranche d'âge 31 à 60 ans les prévalences du VIH, du VHB et du VHC étaient respectivement de 4,34 %, 7,76% et 3,88% chez

Mawussi K et al. Family replacement blood donors: infectious risk assessment compared to first-time volunteer donors.

les donneurs familiaux contre 5,02 % , 9,59 % et 6,39% chez les nouveaux donneurs volontaires ($p > 0,05$). (Tableau II)

Sur les 712 poches de sang provenant des donneurs familiaux, 118 (16,75%) ont été détruites pour sérologie positive contre 111 sur 553 poches (20,11 %) pour les nouveaux donneurs bénévoles ($p = 0,108$).

Tableau I : répartition des donneurs en fonction des données socio-professionnelles

	Genre		Activités professionnelles			
	Hommes n (%)	Femmes n (%)	Secteur formel n (%)	Secteur informel n (%)	Elèves / Etudiants n (%)	Sans emploi n (%)
Donneurs familiaux (n = 712)	552 (77,53)	160 (22,47)	195 (27,39)	396 (55,62)	98 (13,76)	23 (3,23)
Nouveaux donneurs volontaires (n = 553)	420 (75,95)	133 (24,05)*	129 (23,33)	219 (39,60)	195 (35,26)**	10 (1,81)
Total (n= 1 265)	972 (76,84)	193 (23,16)	324 (25,61)	615 (48,62)	293 (23,16)	33 (2,61)

* $p = 0,509$ ** $p < 10^{-7}$

Tableau II : Prévalence des marqueurs sérologiques

	Nombre de donxneurs	VIH n (%)	VHB n (%)	VHC n (%)	Syphilis n (%)
Donneurs familiaux					
Age					
18 – 30 (n = 274)		10 (3,65)	28 (10,22)	12 (4,38)	2 (0,73)
31 – 60 (n = 438)		19 (4,34)	34 (7,76)	18 (3,88)	1 (0,23)
Total	712	29 (4,07)	62 (8,71)	30 (4,21)	03 (0,42)
Nouveaux donneurs volontaires					
Age					
18 - 30 (n = 334)		12 (3,59)	34 (10,18)	21 (6,29)	0
31 – 60 (n = 219)		11 (5,02)	21 (9,59)	14 (6,39)	1 (0,46)
Total	553	23 (4,16)	55 (9,96)	35 (6,33)	01 (0,18)
Valeur de p		0,93	0.45	0.09	0.45

Il y avait 6 cas de co-infections chez les donneurs familiaux, 3 pour les nouveaux donneurs volontaires comme le présente le tableau III.

Conversion des donneurs en donneurs réguliers

Parmi les donneurs familiaux, 594 étaient séronégatifs contre 441 pour les NDV. La proportion de donneurs séronégatifs devenus réguliers était statistiquement plus élevée parmi les NDV ($p < 10^{-7}$). (Tableau IV).

DISCUSSION

Le but de cette étude était d'évaluer la prévalence du VIH, de l'hépatite B, de l'hépatite C et de la syphilis au CNTS de Lomé par type de donneurs (familiaux versus nouveaux donneurs volontaires), par âge et de déterminer le degré de conversion en donneur régulier dans chaque groupe.

Contrairement à plusieurs pays africains, où les dons de sang familiaux ou de remplacement prédominent atteignant parfois plus de 70 % des donneurs de sang, au Togo 95,3 % des dons de sang étaient collectés auprès des donneurs volontaires [6]. Avec cette politique, le taux du don de sang au Togo était de 6,1 U/1000 habitants [6]. Ce taux est inférieur aux 10 dons pour 1000 habitants, le minimum nécessaire selon l'OMS pour satisfaire les besoins élémentaires en sang [6]. Le don de sang familial avait donc été introduit de façon temporaire pendant la période des vacances scolaires et universitaires pour faire face à l'aggravation de la pénurie de sang.

Dans cette étude, la majorité des nouveaux donneurs étaient des donneurs familiaux. Ce résultat montre la nécessité de recourir ponctuellement à

Tableau III : répartition des co-infections

	VHB+VHC	VHB+VIH	VIH+VHC	VIH+SYPHILIS	Total
Donneurs familiaux (n= 712)	3	1	1	1	6
Nouveaux donneurs volontaires (n= 552)	2	1	0	0	3
Total (n=1 265)	5	2	1	1	9

Tableaux IV : fidélisation sur 12 mois des donneurs valides sur le plan sérologique

	2 dons n (%)	3 dons n (%)	4 dons n (%)	5 dons n (%)	Total
Donneurs familiaux	32 (32,33)	23 (23,23)	26 (26,26)	18 (18,18)	99 (16,67)*
Nouveaux donneurs volontaires	58 (24,89)	42 (18,03)	55 (23,60)	78 (33,48)	233 (52,83)*

*p=0,00000001

ce type de donneur pour répondre aux besoins en période de vacances. En effet, le récent rapport de l'OMS montre que la plus part des pays africains qui ont suivi uniquement la politique du don de sang volontaire et non rémunéré n'ont pas atteint l'objectif commun de 10 dons pour 1000 habitants, même lorsqu'ils sont massivement soutenus par un financement externe [7].

La majorité des donneurs sont des hommes, aussi bien chez les donneurs familiaux que chez les nouveaux donneurs volontaires. Ce résultat corrobore ceux de plusieurs études menées en Afrique subsaharienne. En effet, à Lomé, Agbovi *et al* ont trouvé 61% d'hommes [8], Nébié *et al* ont rapporté 71,2% au Burkina Faso [9], tandis qu'Allain *et al* ont trouvé 90% d'hommes dans une étude au Ghana [10]. En Afrique, il existe une croyance selon laquelle les hommes sont en meilleure santé que les femmes [9], ce qui pourrait expliquer la prédominance masculine. Par ailleurs, certaines périodes de la vie féminine (menstruations, grossesses, allaitement maternel) sont des contre-indications au don de sang, constituant ainsi un facteur limitant le nombre de don pour les femmes. Comparativement aux donneurs familiaux, il y avait plus d'élèves et d'étudiants parmi les nouveaux donneurs volontaires probablement à cause des campagnes de sensibilisation organisées fréquemment dans les établissements scolaires et universitaires. Au Togo comme dans plusieurs pays en Afrique sub-saharienne, la majorité des donneurs volontaires sont recrutés dans les établissements scolaires [11]. Cette situation explique en partie l'aggravation de la pénurie de sang pendant les vacances scolaires et universitaires.

En ce qui concerne les marqueurs infectieux, les prévalences du VIH, de l'AgHBs et du VHC étaient plus élevées parmi les nouveaux donneurs volontaires ; mais les différences n'étaient pas statistiquement significatives. Cela pourrait s'expliquer par le fait que les deux types de donneurs sont issus de la population générale et étaient seulement appelés à donner le sang dans des circonstances différentes. Nos résultats sont en accord avec ceux d'Allain *et al* au Ghana, qui avaient conclu également à une différence non significative entre la prévalence du VIH et de l'AgHBs chez les nouveaux donneurs volontaires et les donneurs familiaux [12], ainsi que ceux d'autres auteurs pour différentes infections transmissibles par transfusion [5,13,14,15].

Cependant, plusieurs études ont noté un risque infectieux plus élevés chez les donneurs familiaux par rapport aux donneurs volontaires [2,3,16,17]. La différence avec nos résultats pourrait s'expliquer par le fait que ces études avaient fait la comparaison entre les donneurs familiaux et les donneurs volontaires sans distinction entre nouveaux donneurs volontaires et donneurs volontaires fidèles et réguliers. Or, les donneurs volontaires fidèles et réguliers sont les moins à risque infectieux et constituent la base même de la sécurité transfusionnelle [3,5].

Dans notre étude, la prévalence des marqueurs viraux n'était pas statistiquement différente entre les tranches d'âge 18 à 30 ans et 31 à 60 ans quel que soit le type de donneurs ou de comparaison considéré. Cela pourrait s'expliquer par le fait que tous les donneurs étaient soumis aux mêmes critères de sélection pré-don. Alain *et al* avaient trouvé des prévalences de l'AgHBs et du VIH confirmés

positifs statistiquement plus élevées chez les nouveaux donneurs volontaires de plus de 20 ans [12].

La co-infection la plus fréquente dans cette étude était l'association hépatite B et hépatite C. Ce résultat est comparable à celui de Noubiap *et al* au Cameroun [18].

Nos résultats montrent que les nouveaux volontaires aptes au don étaient statistiquement plus à même de devenir des donneurs réguliers comparativement aux donneurs familiaux ($p < 10^{-7}$). Cependant 16,67% des donneurs familiaux séronégatifs étaient revenus pour faire au moins un second don volontairement, en espace de 12 mois. Des études ont montré que la majorité des donneurs familiaux était disposée à répéter volontairement le don s'ils sont sollicités [19,20]. En plus de la politique du don de sang volontaire, les dons familiaux faits dans un contexte de volontariat peuvent donc être considérés comme une stratégie de recrutement de potentiels donneurs de sang fidèles et réguliers et aider à réduire considérablement la pénurie de sang.

CONCLUSION

Notre étude a montré que les donneurs familiaux ne sont pas plus à risque infectieux, comparés aux nouveaux donneurs volontaires, surtout lorsque le don est fait avec moins de pression. Par contre, la proportion de retour au don est meilleure chez les donneurs volontaires.

REFERENCES

1. **Garraud O, Tissot JD, Osselaer JC, Lefrère JJ.** Problématiques éthiques anciennes et nouvelles en transfusion sanguine. *Hématologie*.2014; 20(3):166-171.

2. **Sultan F, Mehmood T, Mahmood MT.** Infectious pathogens in volunteer and replacement blood donors in Pakistan: a ten-year experience. *International Journal of Infectious Diseases*.2007; 11(5):407-412.

3. **Jain R, Gupta G.** Family/friend donors are not true voluntary donors. *Asian Journal of Transfusion Science*.2012;6(1):29-31.

4. **Tapko JB, Toure B, Sambo LG.** Status of Blood Safety in the WHO African Region. Report of the 2010 Survey. World Health Organization, Regional Office for Africa. Brazzaville, 2014. <https://www.afro.who.int/sites/default/files/2017-06/status-of-blood-safety-in-the-who-african-region.pdf>. Consulté le 17/09/2018.

5. **Diarra A, Kouriba B, Baby M, Murphy E, Lefrère J-J.** HIV, HCV, HBV and syphilis rate of positive donations among blood donations in Mali : Lower rates among volunteer blood donors. *Transfusion Clinique et Biologique*.2009;16(5-6):444–7.

6. **Organisation mondiale de la santé. Bureau régional de l'Afrique.** (2017). Situation actuelle de la sécurité transfusionnelle et approvisionnement en sang dans la région africaine de l'OMS – rapport de l'enquête 2013. OMS. Bureau régional de l'Afrique. <http://www.who.int/iris/handle/10665/254655>, consulté le 17/09/2018.

7. **Ala F, Allain JP, Bates I, Boukef K, Boulton F, Brandful J, et al.** External Financial Aid to Blood Transfusion Services in Sub-Saharan Africa: A Need for Reflection. *PLoS Med*.2012;9(9):10-13.

8. **Agbovi KK, Kolou M, Fétéké L, Haudrechy D, North M.L, Ségbéna AY.** Knowledge, attitudes and practices about blood donation. A sociological study among the population of Lome in Togo. *Transfusion Clinique et Biologique*.2006;13(4):260–265.

9. **Nébié KY, Olinger CM, Kafando E. et al.** Lack of knowledge of blood donor in Burkina Faso (West Africa); Potential obstacle to transfusion security. *Transfusion Clinique et Biologique*.2007;14(5):446–452.

Mawussi K et coll. Donneurs de sang familiaux : évaluation du risque infectieux par rapport aux nouveaux donneurs volontaires.

10. Allain J-P, Sarkodie F, Boateng P, Asenso K, Kyeremateng E, Owusu-Ofori S. A pool of repeat blood donors can be generated with little expense to the blood centre in sub-Saharan Africa. *Transfusion*.2008;48(4):735-741.

11. Tagny CT, Owusu-Ofori S, Mbanya D, Deneys V. The blood donor in sub-Saharan Africa: a review. *Transfusion Medicine*.2009;20:1-10.

12. Allain J-P, Sarkodie F, Asenso-Mensah K, Owusu-Ofori S. Relative safety of first-time volunteer and replacement donors in West Africa. *Transfusion*.2010;50(2):340-3.

13. Shinde SV, Puranik GV. A study-screening of blood donors for blood transmissible diseases. *Indian J Hematol Blood Transfus*.2007;23(3-4):99-103.

14. Mbanya DN, Feunou F, Tayou TC. Volunteer or family/replacement donations: are the tides changing? *Transfusion*.2010;50(8):1849-50.

15. Loua A, Nze Nkoure G. Relative safety of first-time volunteer and replacement donors in Guinea. *Transfusion*.2010;50(8):1850-1.

Mawussi K et al. Family replacement blood donors: infectious risk assessment compared to first-time volunteer donors.

16. Sharma RR, Cheema R, Vajpayee M et al. Prevalence of markers of transfusion transmissible diseases in voluntary and replacement donors. *National Medical Journal of India*.2004;17(1):19-21.

17. Pallavi P, Ganesh CK, Jayashree K, Manjunath GV. Seroprevalence and trends in transfusion transmitted infections among blood donors in a university hospital blood bank: A 5 year study. *Indian Journal of Hematology & Blood Transfusion*.2011;27(1):1-6.

18. Noubiap JJ, Joko WY, Nansseu JR, Tene UG, Siaka C. Sero-epidemiology of human immunodeficiency virus, hepatitis B and C viruses, and syphilis infections among first-time blood donors in Edéa, Cameroon. *International Journal of Infectious Diseases*.2013;17(10):e832-7.

19. Asenso-Mensah K, Achina G, Appiah R, Owusu-Ofori S, Allain J-P. Can family or replacement blood donors become regular volunteer donors? *Transfusion*.2014;54(3.2):797-804.

20. Rolseth S, Stange P, Adamou D, Roald B, Danki-Sillong F, Jourdan P. The acceptability of volunteer, repeat blood donations in a hospital setting in the Adamaoua region of Cameroon. *British Blood Transfusion Society*.2014;24(6):372-8.



Le laboratoire et le médical fiables et accessibles

Section F : Hématologie / Hématology

Etude de la phase pré-analytique en Hémostase au Centre National Hospitalier Universitaire-Hubert Koutoukou Maga de Cotonou (Bénin)

Study of the pre-analytical phase in Haemostasis at the National University Hospital Center-Hubert Koutoukou Maga in Cotonou (Benin)

Zohoun A^{1,2}, Baglo Agbodande T¹, Anani L¹

1 : Laboratoire d'Hématologie Biologique - Clinique Universitaire des Maladies du Sang, CNHU-HKM – Faculté des Sciences de la Santé Cotonou

2 : Hôpital d'Instruction des Armées - Centre Hospitalier Universitaire de Cotonou

Section F : Hématologie

Rubrique : Article original

Résumé

Introduction : La qualité de la phase pré-analytique est primordiale en hémostase. Elle conditionne celle de la phase analytique et post-analytique. Sa maîtrise est un volet majeur de la fiabilité et de la validité des résultats. L'objectif de notre étude était d'évaluer la qualité de la phase pré-analytique en Hémostase au Centre National Hospitalier Universitaire-Hubert Koutoukou Maga de Cotonou (Bénin)

Méthodologie : Etude descriptive menée de janvier à février 2017. Nous avons observé toutes les étapes de prélèvements au Service des prélèvements et celui polyvalent d'Anesthésie-Réanimation et leur manipulation au Laboratoire d'Hématologie du même centre. Les non-conformités ont été recueillies à l'aide de deux questionnaires spécifiques, un pour les services de prélèvement et un autre pour le laboratoire.

Résultats : Durant la période d'étude, 50 prélèvements ont été observés dont 43 (86%) au Service des prélèvements et 7 (14%) au Service Polyvalent d'Anesthésie-Réanimation. Il n'existe pas de manuel des prélèvements. Quarante prélèvements (80%) étaient destinés à la réalisation du taux de prothrombine et du temps de céphaline plus activateur (TP-TCA). Huit patients (16%) n'étaient pas à jeun. En ce qui concerne la réalisation des prélèvements, 7 (14%) ont été réalisés avec une seringue. L'ordre de prélèvements des tubes n'avait pas été respecté pour 17 prélèvements (34%) et le rapport anticoagulant/volume sanguin n'a pas été respecté dans 5% des cas. Le délai moyen entre le prélèvement et la manipulation était de 1 heure 30 minutes. La vitesse de centrifugation était bonne à 2000 g pendant 10 minutes.

Conclusion : Des insuffisances et des non-conformités existent et impactent la maîtrise de la phase pré-analytique. La rédaction d'un manuel des prélèvements, des actions de formation et la mise en place d'un système d'assurance qualité sont recommandés.

Mots clés : Pré-analytique, non-conformité, Hémostase, Bénin.

Summary

Introduction: The quality of pre-analytical phase is essential in Haemostasis and have impact on overall analytical and post-analytic process. The management of the quality in the pre-analytical phase is a major component of the reliability and validity of the results. The aim of our study was to evaluate the pre-analytical quality in Haemostasis at the National University Hospital Center-Hubert Koutoukou Maga of Cotonou (Benin)

Methodology: A descriptive study was conducted from January to February 2017. We observed how blood samples were collected in the Department of Phlebotomy and the Department of Anesthesiology and Intensive Care and their manipulation in the Hematology Laboratory of same center. Nonconformities were collected using two specific questionnaires, one for sampling department and one for the laboratory.

Results: During the study period, 50 samples were observed of which 43 (86%) in Department of Phlebotomy and 7 (14%) in the Department of Anesthesiology and Intensive Care. There is no sampling manual. Forty samples (80%) were intended for Prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT). Eight patients (16%) were not fasting. Seven (14%) samples were collected with a syringe. The specific sequence of tube collections was not respected for 17 samples (34%) and the ratio of blood to anticoagulant volume was not respected in 5% of the cases. The average time between collection and manipulation was 1 hour 30 minutes. The centrifugation rate was optimal at 2000 g for 10 minutes.

Conclusion: Deficiencies in Haemostasis and nonconformities exist and impact the control of the pre-analytical phase. The drafting of a sampling manual, training activities and implementation of quality management system are recommended.

Key words: Pre-analytical, nonconformity, Haemostasis, Benin.

Correspondance : Zohoun alban - 02 BP 2325 Cotonou
Tél.: +229 95953507 - E mail : comlanz@yahoo.fr

INTRODUCTION

La norme ISO 15189 définit la phase pré-analytique comme une série d'étapes commençant chronologiquement par la prescription des analyses par le clinicien, comprenant la demande d'analyse, la préparation du patient à travers le service d'accueil, le prélèvement de l'échantillon, l'acheminement jusqu'au laboratoire et au sein du laboratoire et finissant au début du processus analytique [1]. La phase pré-analytique est responsable de 50 à 75% des erreurs survenant au laboratoire et sa qualité conditionne celle des phases analytique et post-analytique [2,3]. En Hémostase tout particulièrement, la maîtrise des conditions pré-analytiques constitue un volet majeur de la qualité des résultats. Le biologiste doit veiller au respect des conditions et des procédures pré-analytiques afin de minimiser les non-conformités et d'assurer la fiabilité des résultats du laboratoire. L'objectif de cette étude était d'évaluer la qualité de la phase pré-analytique en Hémostase au Centre National Hospitalier Universitaire-Hubert Koutoukou Maga de Cotonou (Bénin).

METHODOLOGIE

Type et durée d'étude : étude descriptive de janvier à février 2017.

Cadre d'étude : Notre étude s'est déroulée dans le Service des prélèvements (SP), le Service Polyvalent d'Anesthésie-Réanimation (SPAR) et le Laboratoire d'Hématologie du Centre National Hospitalier Universitaire-Hubert Koutoukou Maga (CNHU-HKM) de Cotonou.

Déroulement proprement dit : nous avons observé toutes les étapes de prélèvement dans les deux services cliniques jusqu'à leur acheminement

au laboratoire et la manipulation des échantillons jusqu'au début de l'étape analytique. Les données ont été recueillies à l'aide de deux questionnaires spécifiques : un pour les services de prélèvement et un pour le laboratoire. Les items étudiés étaient les suivants : la qualité du préleveur, la nature du bilan demandé, la préparation du patient, les renseignements cliniques, les méthodes de prélèvement, le choix des tubes, l'ordre de prélèvement, le volume prélevé, les conditions de transport et de conservation, les délais et conditions de manipulation.

Analyse statistique : Les données obtenues ont été saisies et analysées sur le logiciel Excel.

Considérations éthiques : Nous avons obtenu l'accord des autorités sanitaires et administratives concernées. Les questionnaires ont été anonymisés et nous avons respecté la confidentialité par rapport aux données des patients.

RESULTATS

Durant la période d'étude, 50 prélèvements avaient été observés dont 43 (86%) au Service de prélèvement et 7 (14%) au Service Polyvalent d'Anesthésie-Réanimation. Tous les prélèvements au SP avaient été réalisés par des techniciens de laboratoire et ceux du SPAR par des infirmiers diplômés d'état.

Quarante prélèvements (80%) étaient destinés à la réalisation du taux de prothrombine et du temps de céphaline plus activateur (TP-TCA), huit (16%) pour le TP-INR et deux (4%) pour le TP isolé. Tous les sujets avaient été prélevés le matin, au repos depuis au moins 5 minutes. Huit patients prélevés (16%) n'étaient pas à jeun. Huit patients étaient sous antivitamines K, quatre sous aspirine

et quatre sous héparine. Aucun patient n'était tabagique, ni sous corticostéroïdes, oestrogènes, stéroïdes anabolisants ou hormones thyroïdiennes.

En ce qui concerne la réalisation des prélèvements, il n'existait pas de manuel des prélèvements. Sept (14%) avaient été réalisés avec une seringue. Les tubes en plastique avaient été utilisés dans 68% des cas. Le temps moyen de pose du garrot était de 1 minute 5 secondes avec des extrêmes de 15 secondes et 4 minutes. L'ordre de prélèvements des tubes n'avait pas été respecté pour 17 prélèvements (34%) et le rapport anticoagulant/volume sanguin n'avait pas été respecté dans 5% des cas.

Tous les échantillons avaient été transportés au laboratoire en position verticale et à température ambiante (28°C) au moyen de portoirs en liège. Le délai moyen entre le prélèvement et la manipulation était de 1 heure 30 minutes avec des extrêmes de 20 minutes et 2 heures 30 minutes. La vitesse de centrifugation était bonne à 2000 g pendant 10 minutes.

DISCUSSION

La maîtrise de la phase pré-analytique est essentielle pour assurer la qualité des examens biologiques. Elle est sous la responsabilité du biologiste selon les exigences de la norme ISO 15189 et du Guide de bonne exécution des analyses. Idéalement, un manuel de prélèvement ou tout autre document (procédure, instruction technique) doit être élaboré et décrire les modalités de prélèvement et d'acheminement de l'échantillon jusqu'au laboratoire [4].

La fiabilité des tests de l'hémostase est fortement dépendante du respect des conditions pré-analytiques pour refléter l'exactitude des valeurs in

vivo. Les différents temps de cette phase pré-analytique comprennent la prescription de l'analyse, le prélèvement, le transport et la conservation et la préparation avant son analyse technique [3]. L'analyse de ces différents temps dans le cadre de cette enquête nous permet de relever des anomalies et de rappeler les bonnes pratiques de laboratoire simples mais essentielles en Hémostase.

A propos de la prescription des bilans d'hémostase :

La phase de prescription des analyses révèle que 80% des analyses portent sur le couple TP-TCA. L'Hémostase demeure encore sous exploitée en Afrique subsaharienne et les bilans spécialisés ne s'y réalisent souvent pas. Même lorsqu'ils sont mis en place, ils demeurent peu demandés par les cliniciens soulignant une certaine faiblesse en matière d'exploration des pathologies d'hémostase. En pratique médicale courante, 90% des bilans d'hémostase sont demandés dans les situations cliniques suivantes : le bilan préopératoire, l'exploration d'un syndrome hémorragique, l'exploration de l'hémostase dans l'évaluation de la fonction hépatique, la recherche d'anomalies favorisant la thrombose, la positivité des D-dimères, la surveillance d'un traitement anticoagulant et la documentation d'une thrombopénie [5]. De même, la préparation du patient n'était pas effectuée de manière satisfaisante. Huit patients (16%) des patients n'étaient pas à jeun dans notre étude. Le prélèvement doit se faire préférentiellement le matin, à jeun ou après un petit déjeuner léger sans matière grasse. L'alcool, le tabac, le café et l'activité physique sont déconseillés car modifiant les paramètres de l'hémostase [3]. Les prélèvements des patients sous un traitement anticoagulant sont plus sensibles aux constantes préanalytiques [6].

A propos du prélèvement :

De nombreuses anomalies conduisant à des non-conformités ont été retrouvées. 14% des prélèvements ont été réalisés à la seringue, l'ordre de prélèvement des tubes et le rapport anticoagulant/volume sanguin n'ont pas été respectés dans respectivement 34% et 5% des cas. En France, dans un laboratoire accrédité depuis 2000 pour la totalité de son activité dont l'hémostasie, 172 prélèvements non-conformes ont été recensés au cours de l'année 2005 en Hémostasie [7]. Ces cas de non-conformité se répartissaient principalement en tubes mal remplis (47,7%), tubes coagulés (41,3%) et mauvaises conditions de prélèvement (6,9%). Les autres causes de non-conformités des prélèvements étaient représentées par des erreurs d'identification, des tubes non identifiés et des tubes périmés [7]. Nke Ateba et al. rapportent des données similaires au Cameroun avec de nombreuses inadéquations relatives aux prélèvements [8]. Ceci montre la nécessité des formations et recyclages continus du personnel préleveur sur l'ordre de prélèvement des tubes, l'identification des tubes, le respect des volumes de remplissage des tubes, les règles concernant les heures de prélèvement pour la surveillance des traitements anticoagulants, etc. Les prélèvements à la seringue ou sur cathéter sont à proscrire et si nécessaire, après rejet de 5 à 10 mL de sang du fait des risques de souillure par l'héparine et d'activation de la coagulation [3]. Il est important que les tubes prélevés soient correctement remplis et immédiatement agités par quelques retournements lents. En pédiatrie, l'utilisation de microtubes (1 à 1,3 mL) est recommandée [9,10].

Les conditions de transport, de conservation et le traitement pré-phase analytique :

Dans notre étude, les conditions relatives aux conditions de transport, de conservation et de traitement pré-phase analytique étaient satisfaisantes. Lorsque le prélèvement n'est pas effectué au laboratoire, les tubes doivent être maintenus en position verticale pour éviter tout contact avec le bouchon. Ils doivent être rapidement acheminés au laboratoire et analysés. Il est recommandé un délai de 1 à 2 heures sans dépasser 4 heures. Un maximum de 6 heures est accepté pour le temps de Quick (Taux de prothrombine). A défaut, le prélèvement doit être centrifugé et le plasma congelé jusqu'au moment de l'analyse. Pour les tests de routine, une vitesse de centrifugation comprise entre 2000-2500 g pour une durée de 10 à 15 minutes à température ambiante est recommandée [3].

Notre étude révèle des insuffisances dans la maîtrise de la phase préanalytique. Les biologistes doivent sans cesse rappeler ces variables préanalytiques dans la perspective de les voir rigoureusement respectées [11]. Cette activité de formation doit comporter la sensibilisation des différents intervenants de l'importance de la phase préanalytique, la formation continue des préleveurs, l'élaboration et la diffusion de manuel de prélèvements. Le non-respect ou la négligence des conditions préanalytiques entraînent, d'une part, de coûts supplémentaires en termes de personnel, de matériel, de temps en cas d'échantillon non conforme obligeant à reprendre le prélèvement, et, d'autre part, de résultats erronés pouvant amener à des explorations et des conduites thérapeutiques inutiles, erronées voire dangereuses pour les

patients. Pour que les résultats des tests d'hémostase offrent un pouvoir informatif fiable, il est important que le laboratoire veille à ce que toutes les étapes préanalytiques soient respectées.

CONCLUSION

La phase pré-analytique en Hémostase n'est pas réalisée de manière adéquate au CNHU-HKM de Cotonou. Les non-conformités ont une influence majeure sur les résultats et peuvent être une source importante d'erreur. Les biologistes doivent conduire une action de formation continue en direction des techniciens, des services cliniques et du personnel préleveur. La mise en place de politique d'assurance qualité est nécessaire pour l'amélioration du diagnostic en Hémostase.

REFERENCES

1. **AFNOR.** Laboratoires d'analyse de biologie médicale. Exigences particulières concernant la qualité et la compétence. EN ISO 15189 : 2012. AFNOR, Saint Denis la Plaine, France 2012;52p.
2. **Carraro P, Plebani M.** Errors in stat laboratory: types and frequencies 10 years later. *Clinical Chemistry.*2007;53:1338-1342.
3. **Ellouze R, Guermazi S.** Importance de l'étape pré-analytique en hémostase. *Annales de Biologie Clinique.*2013;71(4):401-7.

4. **Leblanc MR.** Le pré-analytique en hémostase et les recommandations du Groupe d'études sur l'hémostase et la thrombose (GEHT). *Option bio.* 2009;417:20-21.

5. **Gouault-Heilmann M, Ajzenberg N, Alhenc-Gelas M, Conard J, Dreyfus M, Verdy E.** Recommandations pour une juste prescription des examens d'hémostase en pratique médicale courante. *Sang Thrombose Vaisseaux.*2006;18(1): 29-42.

6. **Lawrence JB.** Preanalytical variables in the coagulation laboratory. *Laboratory Medicine.*2003; 34:49-57.

7. **Marion S.** Accréditation de l'activité en hémostase : contraintes ou opportunités ? *Spectra Biologie.*2006;154:56-62.

8. **Nke Ateba G, Okomo Assoumou M, Adiogo D, Bombah Yangrelo J.** Évaluation de la phase pré-analytique des laboratoires d'analyses médicales à Yaoundé. *Health Sciences and Diseases.*2014; 15(1):1-5.

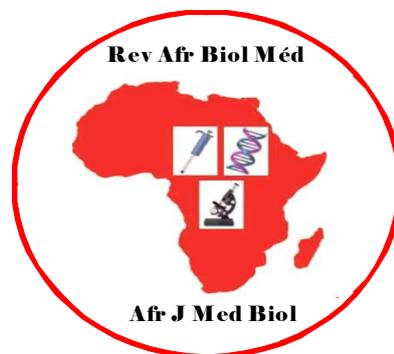
9. **Emile C.** Hémostase en pédiatrie. *Option bio.* 2014;511:19-20.

10. **Toulon P, de Pooter N.** Hémostase pédiatrique : conséquences biologiques. *Revue Francophone des Laboratoires.*2017;494:54-59.

11. **El Kettani A, Nady M, Oukkache B.** Analyse et gestion des risques de la phase pré-analytique en hémostase. *Annales de Biologie Clinique.*2019;79: 87-94.

DELTA MÉDICAL

Matériel Médical & Dentaire



BIOService

Santé

**Distribution, Installations, Suivis et
Maintenance d'Equipements Hospitaliers
Médico-chirurgicaux
Vente de consommables et réactifs
de Laboratoires**

**Rue 31x2 bis Médina Dakar -
BP : 7981 Médina Dakar (Sénégal)
Tél : (+221) 76 868 03 45 -
E mail : bioservicesante1@gmail.com**

Section F : Hématologie / Hématology

Dépistage néonatal de la drépanocytose et autres hémoglobinopathies à Saint Louis : résultats préliminaires.

New born screening for sickle cell disease and other hemoglobinopathies in Saint Louis: preliminary results.

Makalou D¹, Doupa D¹, Seck N^{1,3}, Thiam O², Guèye MW⁴, Coly MN⁵, Gadji M⁶, Sène A⁶, Diop M¹, Seydi F¹, Sène M¹, Mbaye G¹, Kamara R¹, Mbaye O¹, Toure AO⁶, Diagne I.^{1,3}

- 1 : Centre de Recherche et de Prise en Charge Ambulatoire de la Drépanocytose, UFR des Sciences de la Santé, Université Gaston Berger, Sénégal,
2 : Maternité-CHR de Saint Louis, Sénégal
3 : Pédiatrie- CHR de Saint Louis, Sénégal
4 : Hopital Principal de Dakar
5 : UFR des sciences de la santé de l'université Assane SECK de Ziguinchor
6 : Laboratoire d'hématologie Université Cheikh Anta Diop

Section F : Hématologie

Rubrique : Article original

Résumé

Introduction

La drépanocytose est la maladie génétique la plus fréquente au monde, notamment en Afrique Noire. Au Sénégal, la prévalence est estimée à environ 10 % de porteurs du gène dans la population générale et 5 nouveaux nés pour 1000 naissent avec un syndrome drépanocytaire majeur (SDM). Un projet de recherche opérationnel sur le dépistage néonatal systématique et de prise en charge précoce de la drépanocytose a été mis en place à Saint-Louis par le Centre de Recherche et de Prise en charge Ambulatoire de la Drépanocytose (CERPAD) de l'Université Gaston Berger de Saint-Louis. Il a démarré depuis Avril 2017.

Le présent travail a pour objectifs d'évaluer l'incidence de la drépanocytose à Saint-Louis et d'identifier les autres anomalies de l'hémoglobine.

Méthodologie

Il s'agit d'une étude prospective descriptive menée au CERPAD durant la période du 26 avril 2017 au 30 avril 2018.

Elle a été effectuée chez les nouveau-nés dans les 15 jours après la naissance à la maternité du Centre Hospitalier Régional (CHR) de Saint Louis. Après consentement éclairé des parents, une goutte de sang a été prélevée au talon du bébé, déposée sur papier buvard, puis acheminée au laboratoire le même jour. Une étude de l'hémoglobine par isoélectrofocalisation a été réalisée chez tous les nouveau-nés dépistés et une confirmation des cas de SDM effectuée par HPLC et par électrophorèse capillaire. Les données épidémiologiques, cliniques et biologiques recueillies sur une fiche d'enquête ont été saisies et analysées par le logiciel Excel 2013.

Résultats

Deux mille neuf cent quarante (2940) nouveau-nés ont été dépistés pour 4990 naissances vivantes, soit un taux de couverture de 58,91%. Le sex-ratio était de 0,99. Trois cent quarante (340) d'entre eux (11,6%) étaient porteurs d'une hémoglobinopathie, avec les profils suivants : 273 AS (9,29%), 56 AC (1,90%), 1 AD (0,03%), 4 SS (0,14%), 1 CC (0,03%), 1 SC (0,03%), 1 Sβ+ (0,03%) et 3 cas (0,10%) d'hémoglobinopathie (présence d'HbS et absence d'HbA) de profil non confirmé.

Conclusion

Ces résultats confirment la prévalence élevée de l'hémoglobine S au Sénégal, en particulier à Saint-Louis et met en évidence une fréquence significative d'hémoglobine C dans la région Nord du Sénégal.

Mots clés : dépistage néonatal, hémoglobinopathie, drépanocytose

Correspondance : Demba MAKALOU ;

Tél : +221 77 570 48 61 / +221 76 548 61 30 ;

E Mail : demba.makalou@ugb.edu.sn

Summary

Introduction

Sickle cell disease is the most common genetic disease in the world, especially in sub-saharan Africa. In Senegal, the prevalence is estimated at around 10% of carriers of the gene in the general population and 5 newborns per 1000 are born with a major sickle cell syndrome (MDS).

An operational research project on systematic neonatal screening and early management of sickle cell disease has been set up in Saint-Louis by the Centre for Research and Ambulatory Care of Sickle Cell Disease (CERPAD) of Gaston Berger University of Saint-Louis. It started in April 2017.

The present work aims to Identify the main abnormalities of hemoglobin and to evaluate the incidence of hemoglobinopathies in Saint Louis

Methodology

This is a prospective and descriptive study leaded at CERPAD from April 26 2017 to April 30 2018.

It was made in new borns in the first 15 days after birth at the maternity of the Regional Hospital Center (CHR) of Saint Louis. With the contentment of parents, a drop of blood was taken from the baby's heel, deposit on blotting paper, then transferred to the laboratory the same day. A study of the hemoglobin by isoelectric focusing has been done in all the screened newborns and a confirmation of SDM cases made by HPLC and capillary electrophoresis.

Epidemiological, clinic, and biological data collected on an inquiry form has been entered and analyzed by the Software Excel 2013.

Results

Two thousand nine hundred and forty (2940) have been tracked for 4990 living births, a coverage rate of 58,91%. The sex ratio was 0,99. Three hundred and forty (340) among them (11,6%) was living with an hemoglobinopathy, within the following profiles : 273 AS (9,29%), 56 AC (1,90%), 1 AD (0,03%), 4 SS (0,14%), 1 CC (0,03%), 1 SC (0,03%), 1 Sβ+ (0,03%) and 3 cases (0,10%) of hemoglobinopathy (presence of HbS and absence of HbA) in not confirmed profile .

Conclusion

These results confirm the high prevalence of hemoglobin S in Senegal, especially in Saint Louis, they also highlight a significant frequency of hemoglobin C in the northern Senegal region. In the long term, we will have sufficient epidemiological, sociological and clinical data to make recommendations for the implementation of neonatal screening for sickle cell disease in Senegal.

Keywords: neonatal screening, hemoglobinopathy, sickle cell disease.

INTRODUCTION

La drépanocytose est la maladie génétique la plus répandue au monde touchant principalement les populations noires [1].

Elle touche plus de 50 millions de personnes dont 38 millions en Afrique subsaharienne [2]. En Afrique, 500.000 enfants naissent avec la drépanocytose dont 60% à 80% meurent avant l'âge de 5 ans à défaut de dépistage précoce et d'une prise en charge adéquate [2,3].

Au Sénégal, la prévalence de la drépanocytose est estimée à 10 à 11% dans la population générale [3,4]. On note que 0,5 % des naissances (1700 par an) sont porteurs du syndrome drépanocytaire majeur (Thèse Méd. Dakar, 2006 ; n°12 non publiée)

Cette maladie associe deux grandes catégories de manifestations qui peuvent s'intriquer, avec une grande variabilité d'expression clinique selon les individus : des manifestations vaso-occlusives et hémolytiques [5].

Ces différents tableaux peuvent évoluer vers des complications sévères pouvant aboutir au décès du patient surtout quand la prise en charge est tardive [2].

Après une étude de faisabilité, un projet de recherche opérationnel sur le dépistage néonatal systématique et de prise en charge précoce de la drépanocytose a été mis en place à Saint Louis par le Centre de Recherche et de Prise en charge Ambulatoire de la Drépanocytose (CERPAD) de l'université Gaston Berger de Saint Louis.

Il a démarré ses activités depuis 25 avril 2017.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'incidence de la drépanocytose à Saint Louis et d'identifier les principales anomalies de l'hémoglobine.

METHODOLOGIE

Une étude prospective descriptive a été réalisée au CERPAD et au CHR de Saint LOUIS durant la période du 25 avril 2017 au 30 avril 2018.

Les prélèvements se faisaient à la maternité et à l'unité de néonatalogie chez tous les nouveaux nés ayant vu le jour au Centre Hospitalier Régional de Saint Louis.

Il consistait à recueillir après avoir signé la fiche de consentement par l'un des parents, quelques gouttes de sang au talon du bébé à l'aide d'un vaccinostyle, après respect stricte des mesures d'asepsie.

Ces gouttes de sang étaient apposées sur un papier buvard sous forme de spot (trois au maximum) puis acheminés au laboratoire du CERPAD à l'aide d'un véhicule destiné pour cette cause, après être séchées à température ambiante (température de la salle de prélèvement).

Une étude de l'hémoglobine par Isoélectrofocallisation (IEF) a été réalisée dont le principe consistait à créer un gradient de pH dans lequel pourront se déplacer les différentes variétés d'hémoglobines soumises à un champ électrique. Ces fractions migreront dans ce champ électrique. Arrivées au pH correspondant à leur point isoélectrique (Pi), elles s'immobiliseront puisque leur charge nette sera nulle. De cette façon, il est possible de séparer les hémoglobines d'une préparation d'hémolysât selon leur Pi.

C'était une étude de première intention qui concernait tous les nouveaux nés, les résultats douteux ou suspects (présence d'une fraction d'hémoglobine anormale et absence d'hémoglobine A) faisaient l'objet d'une confirmation par Chromatographie liquide de haute performance (CLHP) couplée à l'électrophorèse capillaire.

Les données ont été codées, saisies et analysées avec le logiciel EXCEL 2013.

RESULTATS

Deux mille neuf cent quarante (2940) nouveau-nés ont été dépistés sur un total de quatre mille neuf cent quatre-vingt-dix (4990) naissances vivantes soit un taux de couverture de 58,91%

Age gestationnel

L'accouchement était à terme dans 89% des cas, 6,22% d'accouchement prématurés et 1,25% de dépassement de terme.

L'âge gestationnel n'a pas été précisé dans 3,6% des cas. (Voir tableau I).

Tableau I : répartition de la population selon l'âge gestationnel

Délais d'accouchement	Nombre (%)
Accouchement à terme	2613 (89%)
Accouchement Prématuré	183 (6,2%)
Dépassement de terme	37 (1,2%)
Age gestationnel non précisé	107 (3,6%)
Total	2940

Sexe

Les nouveau-nés de sexe féminin étaient légèrement dominant dans notre cohorte avec 1479 sujets contre 1461 dépistés de sexe masculin soit un sex-ratio de 0,99.

Ethnie de la mère

La répartition est présentée dans le tableau II.

Tableau II : répartition selon l'ethnie de la mère

Ethnie	Nombre (%)
Wolof	1867 (63,5%)
Halpoulard	544 (18,5%)
Maure	133 (4,5%)
Mandingue	103 (3,5%)
Sérère	74 (2,5%)
Autres	39 (1,3%)
Ethnie non précisée	183 (6,2%)
Total	2940 (100%)

Type d'hémoglobine

Il est reporté dans La figure 1.

Trois cent quarante (340) d'entre eux (11,6%) étaient porteurs d'une hémoglobinopathie, avec les profils suivants : 273 AS (9,29%), 56 AC (1,90%), 1 AD (0,03%), 4 SS (0,14%), 1 CC (0,03%), 1 SC (0,03%), 1 Sβ+ (0,03%) et 03 cas (0,10%) d'hémoglobinopathies (présence d'HbS et absence d'HbA) de profil non confirmé.

Le tableau III présente la répartition des autres types d'hémoglobines.

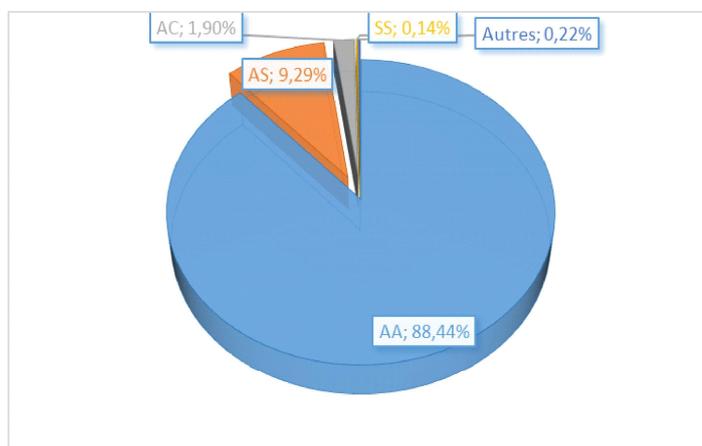


Figure 1 : répartition des différents phénotypes hémoglobiniques

Tableau III : répartition des autres types d'hémoglobines dans la population d'étude.

Type d'Hb	Nombre (%)
SC	1 (0,03%)
Sβ+	1 (0,03%)
AD	1 (0,03%)
CC	1 (0,03%)
Non confirmés	3 (0,10%)
Total	7 (0,36%)

Caractéristiques des nouveau-nés drépanocytaires

Les pourcentages sont calculés sur la base de l'effectif de chaque sous population.

Age gestationnel

Quatre-vingt-neuf pour cent (89%) des porteurs de trait drépanocytaires(AS) sont nés à terme soit 243 nouveaux nés, huit pour cent (08%) étaient des prématurés et environ deux pour cent de dépassement de terme (2,16%).

Les porteurs de syndrome drépanocytair majeur, au nombre de six (04 SS, 01 SC et 01 Sβ+) étaient tous nés à terme.

Chez les nouveau-nés de phénotype hémoglobinique AC, on note : que 86% sont nés à terme, 11% de prématurés et 1,8% de dépassement de terme.

Sexe

La répartition du genre était plus ou moins homogène dans les deux groupes avec un sex-ratio de 1,01 chez les AS et 1 chez les porteurs de syndrome drépanocytair majeur.

Par contre le profil AC était plus fréquent chez les garçons avec un sex-ratio de 1,95.

Ethnie de la mère

Soixante-deux pour cent des mères d'enfants AS étaient des Wolofs (62,3%), un peu plus de dix-huit pour cent de Halepoulard (18,3%), cinq pour cent de Mandingues (5,6%), quatre pour cent de Maures (4,4%) et trois pour cent de Sérères (3,6%).

Vingt et un pour cent de mères d'enfants AC étaient des Peulh (21,4%) contre soixante-dix pour cent de Wolofs (70%). Pour ce qui concerne les nouveaux nés porteurs du syndrome drépanocytair majeur, soixante-sept pour cent (67%) de leurs mères étaient des halepoulard contre trente-trois pour cent (33%) de Wolofs soit deux mamans d'enfants SS, une de SC et une de Sβ+.

DISCUSSION

La drépanocytose est la maladie génétique la plus fréquente, elle se transmet de manière autosomique récessive.

Le dépistage néonatal constitue l'une des méthodes de lutte la plus efficace contre la drépanocytose.

Il a été initié au Sénégal en Avril 2017 grâce à un projet de recherche.

Ce travail nous a permis dans un premier temps de partager notre expérience sur le dépistage néonatal mais aussi donner des estimations sur les hémoglobinopathies à Saint Louis.

Nous avons relevé un certain nombre de biais :

- L'absence de recrutement de tous les nouveau-nés durant la période d'étude.
- L'absence d'informations relatives au poids et à la taille du nouveau-né.
- Absence de contrôle pour la détection de l'hémoglobine Bart's.

En effet, sur 4990 naissances vivantes à la maternité de l'hôpital régional de Saint LOUIS, seuls 58,91% sont dépistés.

Toutefois, ces résultats étant préliminaires nous nous engageons à apporter les corrections nécessaires pour pallier à ces différents biais qui sont d'ordre méthodologiques.

Type d'hémoglobine

La proportion de nouveau-nés drépanocytaires hétérozygotes (9,29%) ou porteurs de syndromes drépanocytaires majeurs (0,20%) dépistée dans ce travail était comparable à celle rapportée par Diagne I. et al [non publié] de l'hôpital d'enfants Albert ROYER de Dakar en 2005, bien qu'ils ont eu à travailler sur un échantillon relativement réduit (963 nouveau-nés) mais largement significatif où 9,5% étaient porteurs de trait drépanocytair et 0,5% des enfants souffraient du syndrome drépanocytair majeur.

Par contre le portage de l'hémoglobine C est particulièrement élevé dans la région nord comparé à celui de Dakar avec respectivement 1,96% et 0,7%.

En 1997, Mbodji M, Ndoye O et al. [6] ont également rapporté des résultats comparables lors d'une étude portant sur des nouveau-nés à Dakar avec 11,1% d'hémoglobinopathies, 7,9% de porteurs du trait drépanocytair (AS), 1,9% d'homozygotes (SS) et 0,2% de profil hémoglobinique SC.

Dans une série malienne, DIALLO DA et al. [7] ont eu des résultats similaires en 2014 chez 2485 nouveau-nés dont 14,28% de porteurs d'hémoglobinopathies avec 0,28% de SS, 0,40% de SC, 0,04% de CC, 7,97% de AS et 5,59% de AC.

Au Nigéria Odunvbun et al. [8] avaient rapporté chez 644 nouveau-nés 20,6% de porteurs du trait

drépanocytair AS, 1,1% de AC, et 3% de syndromes drépanocytaires majeurs.

Kafando E et al. [9] Avaient rapporté à Ouagadougou au Burkina Faso, une prévalence de 25,55% d'hémoglobinopathies avec 1,75% de nouveau-nés porteurs du syndrome drépanocytair majeur et 18,2% de porteurs d'hémoglobines C à l'état homozygote et hétérozygote.

Par contre Tshilolo et al. [10] ont rapporté dans une étude réalisée chez 31 204 nouveau-nés en RDC une prévalence de 1,4% de drépanocytaires homozygotes SS et 16,9% de porteurs du trait drépanocytair AS.

Au Gabon, Vierin Nzame Y et al. [11] ont réalisé une étude auprès de 974 nouveau-nés chez qui 1,8% étaient drépanocytaires homozygotes SS, 15,1% porteurs du trait drépanocytair AS et 1,05% d'hémoglobine C à l'état homozygote et hétérozygote.

Ailleurs les prévalences étaient plus réduites, notamment en France en 2005 Bardakdjian-Michau J et al. [12] ont rapporté dans une étude auprès de 236998 nouveau-nés, une prévalence de 14,07% de porteurs d'hémoglobinopathies avec 0,15% de nouveau-nés porteurs du syndrome drépanocytair majeur, 3,13% porteurs du trait drépanocytair AS, 0,79% de AC et 10% des nouveau-nés porteurs d'hémoglobine Bart's.

A Bruxelles, Gulbis B et al. [13] ont trouvé 0,04% de syndrome drépanocytair majeur avec 1,5% de porteurs d'hémoglobinopathie.

En grande Bretagne, la prévalence des hémoglobinopathies à la naissance est de 6,9%. [14] Aux Etats Unis, Grover et al. [15] sur 106 565 nouveau-nés ont trouvé 141 nouveau-nés porteurs du syndrome drépanocytair majeur soit une prévalence de 0,13%.

Makalou D et coll. Dépistage néonatal de la drépanocytose et autres hémoglobinopathies à Saint Louis : résultats préliminaires.

Il est connu que le gène de la drépanocytose est plus fréquent dans les pays de l'Afrique centrale que ceux de l'Afrique de l'Ouest.

Par contre le gène de l'hémoglobine C est remarquablement plus retrouvé en Afrique de l'Ouest notamment au Burkina Faso et au Mali avec respectivement 18,2% et 5,63%.

Les résultats obtenus au terme d'une nouvelle approche qui consistait à étudier l'hémoglobine des nouveau-nés par méthode d'isoélectrofocalisation complétée à la CLHP et électrophorèse capillaire au besoin, confirment les données observées chez les nouveau-nés à Dakar en 2005.

Ce qui place toujours la drépanocytose comme un problème majeur de santé au Sénégal même si ces dernières années l'espérance de vie du drépanocytaire s'est beaucoup améliorée dans les pays qui ont su mettre en place une politique de dépistage néonatal de la maladie appuyée par une prise en charge médicale précoce des drépanocytaires dépistés dès la naissance.

Modalités de dépistage

Le fait que seuls 58,91% de nouveau-nés aient été prélevés pourrait témoigner d'une difficulté dans l'organisation du dépistage.

Les prélèvements se faisaient au talon du bébé donc aucune source de contamination avec le sang de la mère n'a été noté ce qui nous a valu le dépistage de tous les nouveau-nés prélevés.

Le problème rencontré relevait du défaut de disponibilité du personnel impliqué.

En effet dans les pays développés tel que la France, ce sont les sages-femmes des maternités qui effectuent le prélèvement dans les trois premiers jours de vie au niveau du talon du nouveau-né [16].

Makalou D et al. New born screening for sickle cell disease and other hemoglobinopathies in Saint Louis: preliminary results.

Au Sénégal et plus particulièrement à Saint-Louis, la charge énorme de travail de la sage-femme en salle d'accouchement pourrait être un handicap pour effectuer la totalité des prélèvements des nouveau-nés.

Comme mesure corrective, le CERPAD avait mis à la disposition de la maternité deux de ses infirmières pour s'occuper uniquement des prélèvements et ceci aux heures de travail conformément établi par l'administration.

Malgré cela le problème reste entier, augmenter le délai de surveillance des mamans après accouchement pourrait laisser du temps aux sages-femmes de s'acquitter convenablement de cette tâche qui constitue une étape importante du dépistage car offrant la chance à presque 40% de nouveau-nés de bénéficier de ce dépistage.

A cela s'ajoute la sensibilisation et l'implication des autres catégories de personnel médical.

Le moyen le plus fiable pour caractériser ces phénotypes à la naissance est actuellement l'isoélectrofocalisation, parfois couplée à la CLHP qui nécessite un appareillage et un panel de contrôle bien complet et très coûteux.

Ce qui nous a valu un fonctionnement avec un panel de contrôle des fractions d'hémoglobine les plus fréquentes au risque de sous-estimer les moins fréquentes telle que les hémoglobines Bart's.

Six pour cent des nouveau-nés étaient des prématurés ce qui pourrait expliquer la difficulté de détection de ces types d'hémoglobines.

CONCLUSION

Ces résultats préliminaires montrent l'intérêt épidémiologique et clinique du dépistage néonatal

systématique de la drépanocytose. Ils confirment la prévalence élevée de l'hémoglobine S au Sénégal, en particulier à Saint-Louis et met en évidence une fréquence significative d'hémoglobine C dans la région Nord du Sénégal.

Par ailleurs, la possibilité de naissances drépanocytaires chez des femmes enceintes non porteuses du gène S, mériterait une attention particulière.

A terme, nous disposerons de données épidémiologiques, sociologiques et cliniques suffisantes pour faire des recommandations en vue de l'implémentation du dépistage néonatal de la drépanocytose au Sénégal.

REFERENCES

1. **Rees DC, Williams TN, Gladwin MT.** La Drépanocytose. *Lancet*.2010;376(9757):2018-31.
2. **Piel FB, Steinberg MH, Rees DC.** Drépanocytose. *New England Journal of Medicine*. 2017;376(16):1561-1573.
3. **Olney RS.** Preventing morbidity and mortality from sickle cell disease: A public health perspective. *American Journal of Preventive Medicine*.1999;16(2):116-121.
4. **Diop S, Soudré F, Seck M, Guèye Y B, Diéye TN, Touré Fall AO, Sall A, Thiam D, Diakhaté L.** Sickle-cell disease and malaria: evaluation of seasonal intermittent preventive treatment with sulfadoxine-pyrimethamine in Senegalese patients- a randomized placebo-controlled trial. *Annals of Hematology*.2011;90(1):23-7.
5. **Elagouz M, Jyothi S, Gupta B, Sivaprasad S.** La drépanocytose et l'œil: concepts anciens et nouveaux. *Survey Ophthalmology Journal*.2010; 55(4):359-77.
6. **Mbodj M, Ndoye O, Diarra M, Mbaye B.N, Sow Touré H, Diouf L, Gassama Seck S, Dhondt JL, Farriaux JP.** Dépistage néonatal de la drépanocytose au CHU de Dakar : premier bilan. *Dakar Médical*. 2003;48(3):202-205.
7. **Diallo DA, Guindo A, Touré BA, Sarro YS, Sima M, Tessougué O, Baraika MA, Guindo P, Traoré M, Diallo M, Dorie A.** Targeted newborn screening for sickle-cell anemia: Sickling test (Emmel test) boundaries in the prenatal assessment in West African area. *Revue d'épidémiologie et de Santé Publique*.2018;66(3):181-185.
8. **Odunvbun ME, Okolo AA, Rahimy CM.** Newborn screening for sickle cell disease in a Nigerian hospital. *Public Health*.2008;122(10):1111-1116.
9. **Kafando E, Sawadogo M, Cotton F, Vertongen F, Gulbis B.** Neonatal screening for sickle cell disorders in Ouagadougou, Burkina Faso: a pilot study. *Journal of Medical Screening*. 2005;12(3):112-114.
10. **Tshilolo L, Aissi LM, Lukusa D, Kinsiam C, Wembonyama S, Gulbis B, Vertongen F.** Neonatal screening for sickle cell anaemia in the Democratic Republic of the Congo: experience from a pioneer project on 31204 newborns. *Journal of Clinical Pathology*.2009;62(1):35-8.
11. **Vierin Nzame Y, Boussougou BU, Badinga I, Koko J, Blot PH, Moussavou A.** Dépistage néonatal de la drépanocytose au Gabon. *Médecine d'Afrique Noire*.2012;59(2):96-99.
12. **Bardakdjian-Michau J et al.** Le dépistage néonatal de la drépanocytose en France. *Archive pédiatrie*.2008;15(5):738-40.
13. **Gulbis B, Tshilolo L, Cotton F, Lin C, Vertongen F.** Newborn screening for haemoglobinopathies : the Brussels experience. *Journal of Medical Screening*. 1999;6(1):11-15.
14. **Henthorn J, Anionwu E, Brozovic M.** Screening cord blood for sickle haemoglobinopathies in Brent. *British Medical Journal*.1984;289(6443): 479-480.
15. **Grover R, Shahidi S, Fisher B, Goldberg D, Wethers D.** Current sickle cell screening program for newborns in New York City, 1979-1980. *American Journal of Public Health*.1983;73(3):249-252.
16. **Michau B.** Le dépistage néonatal de la drépanocytose en France. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*.2003; 32(1):1S61-1S64.



Forum International de la Biologie en Afrique

Prochaine édition :
7-9 Avril 2020
 à Dakar au Sénégal
 Voir www.revafric-bm.sn

Section H : Parasitologie-Mycologie / Parasitology and Mycology

Diversité des moustiques et dynamique d'*An. gambiae* s.s. dans une riziculture irriguée et trois villages de Bouaké en zone préforestière du centre de la Côte d'Ivoire

Diversity of mosquitoes and dynamic of *An. gambiae* s.s. in irrigated rice culture and three localities of Bouaké in preforestry area of central Côte d'Ivoire

Loukouri A¹, Diakité NR¹, Bassa KF¹, Akre AM^{1,2}, N'Goran KE^{1,3}.

1 : Université Félix Houphouët Boigny, UFHB, Unité de recherche et de formation, URES, Parasitologie et écologie parasitaire, 01 BP V 34 Abidjan 01 Côte d'Ivoire

2 : Institut Pierre Richet, IPR, 01 BP.1500 Bouaké / INSP BP. V 47 Bouaké, Côte d'Ivoire

3 : Centre Suisse de recherche scientifique, CSRS, 01 BP 1303 Abidjan, Côte d'Ivoire

Section H : Parasitologie-Mycologie

Rubrique : Article original

Résumé

Introduction : La riziculture irriguée contribue à l'autosuffisance alimentaire mais elle peut aussi créer les conditions favorables au développement des moustiques vecteurs de pathologies. L'objectif de l'étude est de déterminer la diversité des moustiques et la dynamique d'*An. gambiae* s.s., dans une riziculture irriguée et trois villages situés à distance variable de cette culture.

Matériel et méthodes : Les villages sont localisés à 200 m, 1,5 km et 2,7 km de la riziculture. Les activités des parcelles de riz sont décrites au cours du temps. Les larves et adultes de moustique sont collectés respectivement par la méthode du dipping et des pièges lumineux.

Résultats : Au total 12 espèces de moustiques sont récoltées. *Culex decens* (47,50 %) et *An. gambiae* s.s. (45,41 %) ont présenté les effectifs les plus élevés. Les indices de diversité écologique sont faibles dans le périmètre de la riziculture irriguée ($H'=0,44$; $E=0,33$) et élevés à Raffierkro ($H'=2,71$; $E=0,75$), Kpokahankro ($H'=2,45$; $E=0,64$) et N'Douakro ($H'=2,66$; $E=0,71$). Le pic larvaire d'*Anopheles* (33,44 larves/louche) est observé au repiquage et la plus faible valeur (0,80 larves/louche) est observée aux pépinières. Au niveau adulte, les densités maximales sont enregistrées en octobre à Raffierkro (4,35 *An. gambiae* s.s. /piège/nuite) et N'Douakro (8,87 *An. gambiae* s.s. /piège/nuite) et en novembre à Kpokahankro (10,5 *An. gambiae* s.s. /piège/nuite). Les densités minimales sont récoltées en septembre.

Conclusion : La riziculture irriguée assure une forte production d'*An. gambiae* s.s. Le vecteur du paludisme influence la faune adulte, depuis le périmètre irrigué jusqu'à un rayon de 1,5 km. La lutte contre *An. gambiae* s.s. nécessite la synchronisation des activités des parcelles rizicoles et la prise en compte des gîtes larvaires naturels et artificiels.

Mots clés diversité, moustique, dynamique, *An. gambiae* s.s., riziculture irriguée

Summary

Introduction: The irrigated rice fields contribute to food self-sufficiency but can create the condition favorable for the development of mosquitoes, vector of diseases. The objective of the study is to determine the diversity of mosquitoes and the dynamic of *An. gambiae* s.s., in irrigated rice field and three localities at variable distance of that culture.

Material and methods: The study sites are at 200 m, 1.5 km and 2.7 km far from the irrigated rice field. The activities of rice plots were described in the time. Mosquito larvae and adults were collected using, respectively, dipping technique and modified light trap.

Results: A total of 12 species of *Culicidae* were sampled. *Culex decens* (47.50%) and *An. gambiae* s.s. (45.41%) the main vector of malaria was identified as the most abundant species. The ecological diversity index in irrigated rice field was low ($H'=0.44$; $E=0.33$) and higher in Raffierkro ($H'=2.71$; $E=0.75$), Kpokahankro ($H'=2.45$; $E=0.64$) and N'Douakro ($H'=2.66$; $E=0.71$). Larval peak of *Anopheles* (33.44 larvae/dip) was observed in period of transplantation of rice and the low value was reached during rice nurseries. In adult fauna, the maximum of density was recorded in October, in Raffierkro (4.35 *An. gambiae* s.s. /trap/night) and N'Douakro (8.87 *An. gambiae* s.s. /trap/night) and in November in Kpokahankro, *An. gambiae* s.s. realized the peak (10.5 *An. gambiae* s.s. /trap/night). The minimum of densities was collected in September.

Conclusion: Irrigated rice field produces high density of *An. gambiae* s.s. The vector influence adult fauna from irrigated plots to a radius of 1.5 km. The vector control strategy requires synchronization of rice plot activities and integration of natural and artificial breeding sites of mosquito larvae.

Keywords diversity, mosquito, dynamic, *An. gambiae* s.s., irrigated rice field

Correspondance : Loukouri Agodio, 01 BP V 34 Abidjan 01, Côte d'Ivoire - Tél.: +2255987414/+22549345823
E mail : lkagodio@yahoo.fr

INTRODUCTION

En Afrique sub-saharienne, de nombreux barrages hydroagricoles sont créés pour assurer la sécurité alimentaire des populations [FAO, 2011, non publié]. Diverses cultures sont développées et intensifiées, parmi lesquelles la riziculture irriguée [FAO, 2004, non publié]. Cependant, même si ce type de culture permet une augmentation importante de la production rizicole, elle modifie l'écosystème préexistant et crée des conditions propices à la production et au développement de larves de moustiques, et spécialement des vecteurs de pathologies [1]. En Afrique, les études révèlent que la riziculture irriguée assure le développement de diverses espèces d'anophèles dont *An. gambiae* s.l. vecteur majeur du paludisme [2,3]. En Côte d'Ivoire, la transmission du paludisme en milieu rizicole a indiqué des résultats variables. Dans la région forestière, la riziculture a augmenté significativement la transmission du paludisme [4]. En zone savanicole du pays, la riziculture n'a cependant pas influencé la transmission du paludisme [5]. Concernant la zone préforestière du centre, l'activité rizicole a montré un impact variable sur la transmission du paludisme [3,6], avec une forte production de l'unique espèce *An. gambiae* s.s du complexe *An. gambiae*. Le déroulement de la riziculture irriguée se fait en différents stades de croissance de riz dont les caractéristiques écologiques contribuent à la répartition des formes aquatiques des espèces au sein des casiers rizicoles [7]. L'aménagement d'une riziculture irriguée dans la zone préforestière du centre de la Côte d'Ivoire a créé un contexte écologique favorable à la prolifération de moustiques [8]. La présente étude est menée dans cette zone pour déterminer la

diversité spécifique et l'abondance des espèces de moustiques et la dynamique des populations d'*An. gambiae* s.s., vecteur du paludisme, dans l'aménagement hydroagricole et trois localités aux alentours. Les résultats de l'étude serviront à la mise en place de stratégies de contrôle larvaire du vecteur du paludisme.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Sites d'étude

Les sites d'étude se situent dans la zone de transition forêt et savane du centre de la Côte d'Ivoire, précisément dans la sous-préfecture de Bouaké. Dans cette zone, la construction d'un barrage hydroagricole a favorisé la mise en place de parcelles de riziculture irriguée. L'activité rizicole se déroule suivant plusieurs stades successifs. Les pépinières sont des plants de riz préparés à partir de semences enfouies sur une portion de terre. Le labour consiste à retourner la terre dans une masse d'eau limitée par une digue. Le repiquage consiste à piquer des jeunes plants de riz dans un casier labouré. Le tallage est le début de la croissance des plants de riz caractérisé par l'apparition de quatre feuilles. La montaison est la phase d'élongation avancée des plants de riz. L'épiaison est l'apparition des épis de riz à l'extérieur de la gaine. La maturation est le remplissage et le durcissement des grains de riz. La récolte consiste à couper les plants de riz pour en extraire les grains. La culture du riz dans la zone d'étude est pratiquée sur une superficie de sept hectares. La variété de riz cultivée, Wita 9 (ou Nimba), est caractérisée par un cycle moyen de 90 jours. Le calendrier cultural prévoit deux cycles de culture par an dont le premier débute en mars et le second en août. La

localité de Raffierkro est située approximativement à 200 m des casiers rizicoles. Sur le plan environnemental, Raffierkro est caractérisé par la présence d'un barrage hydroagricole, d'une riziculture irriguée, d'étangs piscicoles de cultures de maraichers et de canaux d'irrigation [8]. A environ 1,5 km de la zone de riziculture irriguée est localisé N'Douakro. Cette localité- se distingue des autres villages par un bas-fond marécageux non exploité. Le village de Kpokahankro est situé dans un rayon de 2,7 km de l'aménagement hydromorricole (Figure 1). Kpokahankro est caractérisé par deux grands bas-fonds aménagés pour la culture de maraichers et de riz pluvial.

Méthodes

Les enquêtes sont réalisées de septembre à décembre 2010. Les activités et stades de riz des parcelles sont recensés et décrits tous les 15 jours. Le suivi de la faune larvaire est aussi fait chaque 15 jours dans huit parcelles sélectionnées de façon aléatoire, par des prospections larvaires avec la

technique du dipping [9]. Une louche est plongée en faisant un angle de 45°C par rapport à la surface de l'eau. La louche est ensuite retirée et son contenu est transféré dans un bac à fond blanc. Les larves et les nymphes sont triées et mises en élevage. Les adultes issus de ces formes préimaginales sont identifiés au niveau de l'espèce en fonction du gîte larvaire et par stade de croissance du riz. Le suivi de la faune adulte est effectué par des captures mensuelles à l'aide de pièges lumineux (CDC miniature light-trap, modèle de John Whock Compagny, USA) [10]. Quatre pièges sont utilisés par village à raison de deux pièges à l'intérieur et deux à l'extérieur des habitations. Chaque piège est installé dans un endroit non éclairé à 1,5 m du sol, la veille à 18 h et retiré le lendemain à 06 h. Les moustiques adultes sont identifiés sous une loupe binoculaire (x 40), sur la base de critères morphologiques [11]. Les données pluviométriques mensuelles sont recueillies auprès de la société de production de riz dénommée "Africa rice".

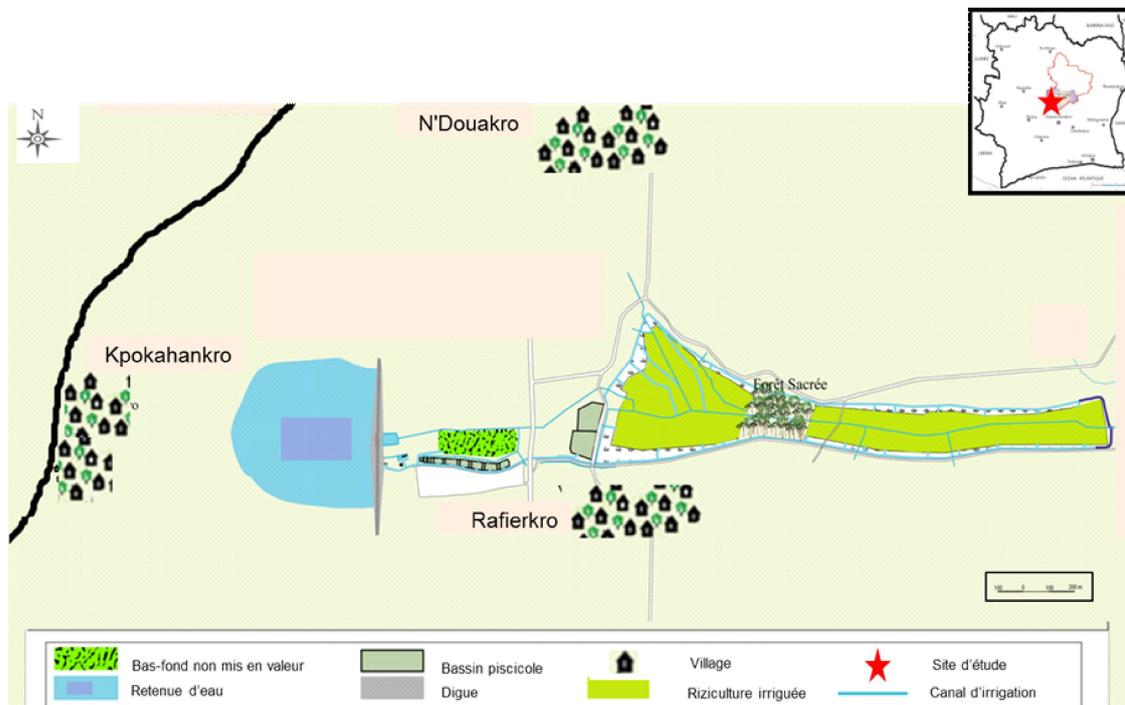


Figure 1 : Situation des sites d'études dans la sous-préfecture de Bouaké, centre Côte d'Ivoire

Analyse des données

Les données sont saisies en double avec le logiciel Microsoft Excel (2013 Microsoft corporation), validées à l'aide du logiciel Epi Info version 3.5.3 (Center for Diseases Control and Prevention, Atlanta, United States of America) et analysées avec le logiciel R version 2.14.1. Le test de Kruskal-Wallis (KW) a permis de comparer les densités des vecteurs du paludisme, avec un seuil de significativité de 5%. Les indices de diversité écologique sont évalués pour chaque site d'étude. L'indice de Margalef [$D = (S - 1)/\log N$], où S=nombre total d'espèces du site et N=nombre total d'individus, détermine la richesse en espèces d'un site d'étude. L'indice de Shannon [$H' = \sum_{i=1}^S P_i \log P_i$], où P_i = abondance proportionnelle de l'espèce, exprime la diversité en prenant en compte le nombre d'espèces et l'abondance des individus au sein de chacune de ces espèces. L'indice de Pielou [$E = H' / H'_{\max}$], où, $H'_{\max} = \log S$, permet de mesurer la répartition des individus au sein des espèces.

Considération éthique

L'étude est approuvée par la commission de recherche du centre suisse de recherche scientifique (Abidjan, Côte d'Ivoire), l'autorité de santé du département de Bouaké, les Chefs des villages et les populations des localités d'étude. Un consentement éclairé est obtenu du chef du ménage dont le local est sélectionné pour la pose du piège lumineux. Les moustiquaires imprégnées d'insecticide ont été mises à disposition de toute la communauté.

RESULTATS

Suivi des activités et stades de développement des parcelles de riz mises en valeur

La riziculture irriguée est réalisée sur 175 parcelles d'une superficie moyenne de 340 m²/parcelle. L'exploitation des parcelles s'est faite progressivement d'août 2010 à janvier 2011. Les premières activités de labour ont eu lieu en août et les dernières parcelles sont labourées en novembre. Le repiquage des plants de riz s'est effectué dans l'intervalle de fin août à fin novembre. L'activité de récolte du riz s'est déroulée entre début décembre et fin janvier. Le suivi de l'évolution des activités et des stades de développement de toutes les parcelles mises en valeur a permis de définir les périodes de prédominance des différents stades de croissance du riz sur le terrain (Tableau I).

Faune culicidienne larvaire récoltée dans les parcelles de la riziculture irriguée

Au total, 4421 larves et 17 nymphes de moustiques sont récoltées dans les casiers de riz. Les moustiques adultes obtenus après l'élevage sont composés de 12 espèces dominées par *Cx. decens* (47,50%) et *An. gambiae* s.s. (45,41%) (Tableau II). La population anophélienne est constituée essentiellement d'*An. gambiae* s.s. (85,28%) vecteur du paludisme et secondairement d'*Anopheles ziemanni* (9,99%). *Anopheles funestus* (0,19%) un autre vecteur du paludisme est récolté en faible proportion dans les casiers de riz. Les larves d'*An. gambiae* s.s. sont prépondérantes dans le milieu rizicole pendant les

Tableau I : Suivi de l'évolution des stades de parcelles de riz mises en valeur pendant un cycle cultural

Mois	Septembre		Octobre		Novembre		Décembre	
Quinzaine	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8
Activités et stade de développement	n (%)							
Labour	86 (78,2)	-	44 (28,6)	19 (11)	2 (1,14)	-	-	-
Repiquage	-	86 (78,2)	-	44 (25,4)	19 (10,9)	2 (1,14)	-	-
Tallage	24 (21,8)	-	86 (55,8)	-	44 (25,1)	19 (10,9)	2 (1,14)	-
Montaison	-	24 (21,8)	24 (15,6)	86 (49,7)	86 (49,1)	44 (25,1)	19 (10,9)	2 (1,32)
Epiaison	-	-	-	24 (13,9)	24 (13,7)	86 (49,1)	44 (25,1)	19 (12,6)
Maturation	-	-	-	-	-	24 (13,7)	86 (49,1)	44 (29,1)
Récolte	-	-	-	-	-	-	24 (13,7)	86 (57)
Stade prédominant	Labour	Repiquage	Tallage	Montaison	Montaison	Epiaison	Maturation	Récolte

n : nombre de parcelles

Q : quinze jours

% : pourcentage

stades de labour (99,72% ; n=360), de repiquage (99,07% ; n=643) et de tallage (95,38% ; n=260). Les espèces *An. gambiae* s.s., *An. ziemanni* et *An. pharoensis* sont observées en proportions comparables, pendant la montaison. *An. ziemanni* est la seule espèce récoltée à la pépinières des plants de riz. Les populations larvaires d'*An. ziemanni* ont dominé le milieu rizicole, à l'épiaison (62,75% ; n=51), à la maturation (79,49% ; n=64) et à la récolte (92,16% ; n= 48).

Faune culicidienne adulte récoltée à Raffierkro, Kpokahankro et N'Douakro

Au total, 17 espèces de moustiques sont récoltées, avec respectivement 12, 13 et 14 espèces à Raffierkro, N'Douakro et Kpokahankro (Tableau II). *An. ziemanni*, *An. brohieri*, et *Uranotaenia balfouri* sont observées spécifiquement à N'Douakro. La localité de Kpokahankro s'est distinguée par la présence de *Culex tigripes* et *Culex annulioris*. L'espèce *Aedes vittatus* est particulièrement récoltée à Raffierkro. La présence d'*Aedes aegypti* est observée dans les localités de Raffierkro et N'Douakro.

Tableau II : composition des moustiques larvaires de la riziculture irriguée et adulte des localités de Raffierkro, Kpokahankro et N'Douakro

Genre	Espèce	Faune larvaire		Faune adulte		
		Riziculture irriguée		Raffierkro	Kpokahankro	N'Douakro
		n (%)		n (%)	n (%)	n (%)
<i>Anopheles</i>	<i>An. gambiae</i> s.s.	1344 (45,41)		68 (40,24)	177 (43,28)	108 (29,35)
	<i>An. funestus</i>	3 (0,10)		3 (1,78)	22 (5,38)	19 (5,16)
	<i>An. pharoensis</i>	16 (0,54)		3 (1,78)	4 (0,98)	1 (0,27)
	<i>An. ziemanni</i>	115 (3,89)		0 (0)	2 (0,49)	0 (0)
	<i>An. brohieri</i>	12 (0,41)		0 (0)	4 (0,98)	0 (0)
	<i>An. obscurus</i>	8 (0,27)		0 (0)	0 (0)	0 (0)
	<i>An. coustani</i>	1 (0,03)		0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Culex</i>	<i>Cx. decens</i>	1406 (47,50)		30 (17,75)	43 (10,51)	93 (25,27)
	<i>Cx. weschei</i>	0 (0)		13 (7,69)	5 (1,22)	24 (6,52)
	<i>Cx. nebulosus</i>	0 (0)		15 (8,88)	32 (7,82)	26 (7,07)
	<i>Cx. tigripes</i>	0 (0)		0 (0)	1 (0,24)	0 (0)
	<i>Cx. annulioris</i>	0 (0)		0 (0)	8 (1,96)	1 (0,27)
	<i>Cx. cinereus</i>	0 (0)		3 (1,78)	3 (0,73)	1 (0,27)
	<i>Cx. ingrami</i>	29 (0,98)		0 (0)	0 (0)	0 (0)
	<i>Cx. perfuscus</i>	13 (0,44)		0 (0)	0 (0)	0 (0)
	<i>Cx. antennatus</i>	10 (0,34)		0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Aedes</i>	<i>Ae. aegypti</i>	0 (0)		1 (0,59)	0 (0)	2 (0,54)
	<i>Ae. vittatus</i>	0 (0)		2 (1,18)	0 (0)	0 (0)
<i>Mansonia</i>	<i>Ma. africana</i>	0 (0)		17 (10,05)	99 (24,21)	70 (19,03)
	<i>Ma. uniformis</i>	0 (0)		8 (4,73)	5 (1,22)	14 (3,8)
<i>Uranotaenia</i>	<i>Ur. mashonaensis</i>	3 (0,10)		6 (3,55)	4 (0,98)	7 (1,9)
	<i>Ur. balfouri</i>	0 (0)		0 (0)	0 (0)	2 (0,55)
	TOTAL	2960 (100)		169 (100)	409 (100)	368 (100)

n : Nombre de moustiques capturés % : Pourcentage

Indices de diversité écologique

L'indice de Margalef (D) a oscillé entre 3,21 et 4,98, dans l'ensemble des sites d'étude. L'indice est plus élevé à Kpokahankro (D=4,98) et plus faible en riziculture irriguée (D=3,21). Les localités de Raffierkro et N'Douakro ont présenté les valeurs respectives, D=4,94 et D=4,68. L'indice de Shannon weaver (H') a évolué de 0,44 à 2,71. Les valeurs maximale et minimale de l'indice sont

enregistrées respectivement à Raffierkro et en riziculture irriguée. L'indice de Shannon est 2,66 et 2,45 à N'Douakro et Kpokahankro, respectivement. L'indice de Piélu (E) est plus élevé dans la localité de Raffierkro (E=0,75) et plus faible en riziculture irriguée (E=0,33). A Kpokahankro (E=0,64) et N'Douakro (E=0,71), l'indice de Piélu est supérieur à 0,6.

Densité larvaire des populations du genre *Anopheles* pendant les phases de la riziculture

La densité larvaire des populations d'*Anopheles* est maximale (33,44 larves/louche) au repiquage et minimale (0,80 larves/louche) aux pépinières. Après le repiquage, la densité a baissé progressivement jusqu'à la récolte (2,55 larves/louche).

Densité d'*An. gambiae* s.s. dans la faune adulte pendant la période de l'étude

An. gambiae s.s., a représenté 91,89% (n=74), 84,37% (n=209) et 84,69% (n=128) de l'effectif, respectivement à Raffierkro, N'Douakro et Kpokahankro. A Raffierkro, le pic des densités (4,35 *An. gambiae* s.s./piège/nuit) est enregistré en octobre tandis que la plus faible valeur est obtenue en décembre (0,12 *An. gambiae* s.s./piège/nuit). Toutefois la densité de *An. gambiae* s.s. est élevée en novembre (3,15 *An. gambiae* s.s./piège/nuit). Tout comme à Raffierkro, les populations d'*An. gambiae* s.s. à N'Douakro ont enregistré les valeurs maximale (8,87 *An. gambiae*

s.s./piège/nuit) et minimale (0,37 *An. gambiae* s.s./piège/nuit) de la densité en octobre et décembre, respectivement. En novembre, la densité a connu une forte chute. A Kpokahankro, le maximum et le minimum de la densité (10,50 *An. gambiae* s.s./piège/nuit) est atteint en novembre et septembre, respectivement (Figure 2).

Toutefois, de fortes densités ont persisté en décembre (7,5 *An. gambiae* s.s./piège/nuit).

Les densités d'*An. gambiae* s.s. enregistrées à Raffierkro, Kpokahankro et N'Douakro ne présentent pas de différence statistique significative (KW = 5,443, p=0,066).

DISCUSSION

Un aménagement hydromorphologique est capable de perturber l'équilibre écologique préexistant. Ainsi, une riziculture irriguée nouvellement créée au centre de la Côte d'Ivoire est l'origine d'une étude préliminaire sur la diversité des moustiques et la

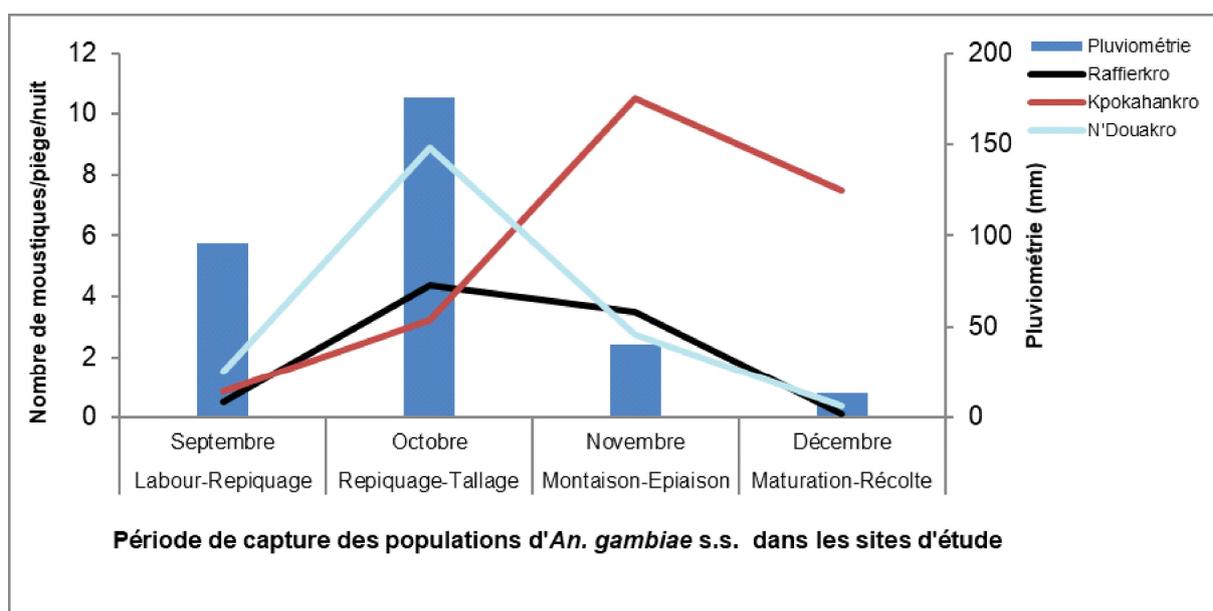


Figure 2 : évolution des densités des populations d'*An. gambiae* s.s. à Raffierkro, N'Douakro et Kpokahankro de septembre à décembre 2010

Loukouri A et coll. Diversité des moustiques et dynamique d'*An. gambiae* s.s. dans une riziculture irriguée et trois villages de Bouaké en zone préforestière du centre de la Côte d'Ivoire.

dynamique d'*An. gambiae* s.s. vecteur principal du paludisme dans cette zone afin d'aider à une éventuelle mise en place de stratégie de contrôle de ce vecteur et voire de lutte contre le paludisme. L'étude entomologique longitudinale effectuée dans la riziculture irriguée a révélé une diversité d'espèces largement dominées par *An. gambiae* s.s. (45,41%) et *Cx. decens* (47,50%).

Ces résultats corroborent ceux d'autres Auteurs [4,12] et s'expliquent par le fait que la riziculture irriguée est un milieu évolutif où se succèdent différents types de gîtes favorables au développement des larves d'*An. gambiae* s.s. et *Cx. decens* [13]. La diversité de la faune anophélienne rizicole est également révélée par des études antérieures effectuées dans la zone du centre de la Côte d'Ivoire d'*Anopheles* [14]. Toutefois, la présente étude a dénombré une plus grande diversité d'espèces dont *An. ziemanni*, potentiel vecteur secondaire du paludisme [15]. L'environnement caractérisé par chaque village a présenté la distribution d'une large gamme d'espèces, avec un nombre relativement faible d'individus. Cette observation traduit un milieu écologique relativement stable confirmé par l'indice de Pielou nettement au-dessus de 0,6. La richesse spécifique de la faune s'explique par la présence et la disponibilité de différents types de gîtes larvaires des moustiques [16]. Dans l'ensemble, la riziculture irriguée a indiqué des indices de diversité écologique très faibles par rapport aux trois localités. La mise en place de cette culture a profondément modifié le milieu et a favorisé la pullulation d'*An. gambiae* s.s. et *Cx. decens* pendant la période de l'activité rizicole. Les fortes densités larvaires d'*Anopheles*

Loukouri A et al. Diversity of mosquitoes and dynamic of *An. gambiae* s.s. in irrigated rice culture and three localities of Bouaké in preforestry area of central Côte d'Ivoire

au labour, repiquage et tallage s'expliquent par la présence de casiers de riz avec de nombreuses petites poches d'eau de faible profondeur, claires et très ensoleillées favorables à l'oviposition des femelles d'*An. gambiae* s.s [4]. La baisse progressive des densités larvaires d'*Anopheles*, après le tallage, s'explique par l'apparition d'un couvert végétal dans les casiers de riz. L'obtention du pic larvaire d'*An. gambiae* s.s. au repiquage est conforme au pic standard du complexe d'espèce [4]. A Raffierkro et N'Douakro, le pic des densités d'*An. gambiae* s.s. de la faune adulte est enregistré au tallage correspondant au mois de novembre. Le décalage entre le pic larvaire et le pic adulte correspond à une quinzaine de jour, le temps nécessaire aux larves pour atteindre le stade de moustique adulte [17]. Par ailleurs, la présence de densités très importantes d'*An. gambiae* s.s. de la faune adulte, en novembre, à Raffierkro, confirme de plus l'effet de la riziculture. En réalité, la culture du riz irrigué s'est faite de manière non synchronisée. Ainsi, la présence sur le terrain de parcelles de riz au stade de repiquage et de tallage a favorisé une production encore forte d'*An. gambiae* s.s. Cependant, à N'Douakro, la chute rapide des densités d'*An. gambiae* s.s., dès novembre, en début de saison sèche, indique plus l'effet de la pluviométrie que l'effet de la riziculture. A Kpokahankro, le vecteur a enregistré le pic des densités en novembre et de fortes densités en décembre, en saison sèche. Ce fait traduit une très grande influence des gîtes de ce vecteur concentrés dans les bas-fonds du village, donc plus productifs en saison sèche.

CONCLUSION

La riziculture irriguée a présenté une faune dominée par *An. gambiae* s.s., le principal vecteur du paludisme et *Cx. decens*. La composition de la faune culicidienne adulte a montré une bonne diversité d'espèces. La population larvaire de moustiques issue de la riziculture irriguée a influencé la densité de la population adulte d'*An. gambiae* s.s. dans un rayon de 1,5 km. Pour lutter contre le vecteur du paludisme, les paysans devront synchroniser la culture du riz et adapter la lutte à l'environnement écologique en tenant compte des gîtes larvaires naturels et artificiels.

Remerciements

Nous remercions le Directeur départemental de santé de Bouaké, les Chefs et populations des sites d'étude et les techniciens de laboratoire Akoliba Patrice, Koné Aboubakar et Coulibaly Bamoro.

REFERENCES

1. **Mergeai G.** Irrigation et paludisme : un couple infernal ? *Tropicicultura*.2016;34(4):333-334.
2. **Djegbe I, Missihoun AA, Djouaka R, Akogbeto M.** Surveillance Entomologique : Dynamique de la population et de la résistance aux insecticides chez *Anopheles gambiae* s.l en milieu de riziculture irriguée au Sud Bénin. *Journal of Applied Biosciences*.2017;111:10934-10943.
3. **Koudou GB, Tanner M and Utzinger J.** Effects of Irrigated Rice Fields and Seasonality on Plasmodium Transmission in West Africa, particularly in Central Côte d'Ivoire. In: *Current Topics in Tropical Medicine*. Rodriguez-Morales AJ (ed), Rijeka.2012;155-168.
4. **Betsi AN, Tchicaya SE, Koudou GB.** Forte prolifération des larves d'*An. gambiae* et *An. funestus* en milieux rizicoles irrigués et non irrigués dans la région forestière ouest de la Côte d'Ivoire. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*.2012; 105(3):220-229.
5. **Briet TJO, Dossou-Yovo J, Akodo E, Van de Giensen N, Teuscher TM.** The relationship between *Anopheles gambiae* density and rice cultivation in the savannah zone and forest zone of Côte d'Ivoire. *Tropical Medicine and International Health*.2003;8(5):439-448.
6. **Zahouli BZJ, Tchicaya SE, Nsanzabana C, Donzé J, N'Goran EK, Koudou GB.** Caractéristiques bioécologiques d'*An. gambiae* s.s. en zones de riziculture irriguée au centre de la Côte d'Ivoire. *Médecine Tropicale*.2011;71(6):575-581.
7. **Amarasinghe DL, Weerakkodi GISW.** Density and diversity of mosquito larvae associated with rice field and marshland habitats in two climatically different areas in Sri Lanka. *International Journal of Entomological Research*.2014;2(2):59-71.
8. **Diakité NR, Guindo-Coulibaly N, Adja AM, Ouattara M, Coulibaly JT, Utzinger J, N'Goran EK.** Spatial and temporal variation of malaria entomological parameters at the onset of a hydro-agricultural development in central Côte d'Ivoire. *Malaria Journal*.2015;14:340.
9. **Brisco KK, Anthony J, Cornel AJ, Lee Y, Mouatcho J, Braack L.** Comparing efficacy of a sweep net and a dip method for collection of mosquito larvae in large bodies of water in South Africa. *F1000Res*.2016;5:713.
10. **OMS.** A method for measuring the biting-rate. *Doc. Romeo OMS WHO/ Mal*.1966;450:21 p.
11. **Mattingly PF.** The mosquitoes of Ethiopian Region. Sutcliffe (ed.) London, 1971;184 p.

Loukouri A et coll. Diversité des moustiques et dynamique d'*An. gambiae* s.s. dans une riziculture irriguée et trois villages de Bouaké en zone préforestière du centre de la Côte d'Ivoire.

Loukouri A et al. Diversity of mosquitoes and dynamic of *An. gambiae* s.s. in irrigated rice culture and three localities of Bouaké in preforestry area of central Côte d'Ivoire

12. Yoshio T, Michio H, Keiichi I, Jun N, Kyeong SK, Daiki Y, Nozomi W, Mutsuo K. After effects of Tsunami on distribution and abundance of mosquitoes in rice-field areas in Miyagi Prefecture, Japan. *Medical Entomology and Zoology.* 2012;63:21-30.

13. Fillinger U, Sombroek H, Majambere S, van Loon E, Takken W, Lindsay SW. Identifying the most productive breeding sites for malaria mosquitoes in The Gambia. *Malaria Journal.* 2009;8: 62-70.

14. Doannio JMC, Dossou-Yovo J, Diarrassouba S, Rakotondraibé ME, Chauvancy G, Rivière F. Comparaison de la composition spécifique et de la dynamique des populations de moustiques dans deux villages du centre de la Côte-d'Ivoire, avec et sans périmètre de riziculture irriguée. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique.* 2006;99(3):204-206.

15. Tabue RN, Nem T, Atangana J, Bigoga JD, Patchoke S, Tchouine F, Fodjo BY, Leke RGF, Fondjo E. *Anopheles ziemanni* a locally important malaria vector in Ndop health district, north west region of Cameroon *Parasites and Vectors.* 2014;7: 262.

16. Aouinty B, Abdesslam R, Chennaoui M, Mellouki F. Étude des gîtes larvaires de moustiques culicidés de la région de Mohammedia, littoral atlantique Marocain. *Afrique Science.* 2017;13(2): 120-129.

17. Lindsay SW and Bayoh MN. Temperature relative duration of aquatic stages of the afro-tropical malaria vector mosquito *Anopheles gambiae* in the laboratory. *Medical and Veterinary Entomology.* 2004;18(2):174-189.



Section H : Parasitologie-Mycologie / Parasitology and Mycology

Review of published data on *Plasmodium falciparum* sulfadoxine-pyrimethamine, chloroquine, amodiaquine and artemisinin molecular markers resistance in Niger.

Revue des données publiées sur les marqueurs moléculaires de la résistance de *Plasmodium falciparum* à la sulfadoxine-pyriméthamine, la chloroquine, l'amodiaquine et l'artémisinine au Niger.

Mahaman Moustapha L^{1, 2,3}, Ibrahim ML², Testa J², NDiaye JL¹.

1. Université Cheick Anta Diop-Dakar, Sénégal.

2. Centre de Recherche Médicale et Sanitaire-Niamey, Niger.

3. Université de Zinder, Niger

Section H : Parasitologie-Mycologie

Rubrique : Revue

Résumé

Introduction

Depuis 2004, le Niger dispose d'un réseau national de surveillance de la résistance aux antipaludiques Cette étude est une revue des données publiées sur les marqueurs moléculaires de la résistance de *P.falciparum* à la chloroquine, l'amodiaquine, la sulfadoxine-pyriméthamine et l'artémisinine, au Niger.

Matériels et Methodes

Cette revue est limitée aux études publiées menées uniquement au Niger de janvier 2000 à décembre 2018 et exclue les études sur le paludisme importé du Niger dans d'autres pays. Tous les types d'articles ont été utilisés. Les textes entiers ont été utilisés pour tirer les dates de détection des mutations, les années et sites d'étude, les types d'échantillons recueillis, les dates de publication des articles et les méthodes moléculaires utilisées.

Resultats

La revue a permis d'identifier 7 publications. Les mutations *PfprtK76T* et *PfdhfrS108N* ont été les marqueurs les plus recherchés et les plus retrouvés au Niger. Les doubles mutations *Pfdhps* (A437G + K540E) et *PfdhfrI164L* n'ont pas été identifiées. Deux études ont été réalisées sur le *PfK13* propeller. La RFLP, les puces à ADN et le séquençage ont été les méthodes utilisées dans ces études.

Conclusion

Le peu de données publiées sur les facteurs génétiques de résistance aux antipaludiques au Niger est évident. Le PNLP du Niger a besoin de plus amples données publiées afin de planifier les mesures de confinement de la résistance.

Mots clés: marqueurs moléculaires, résistance aux antipaludiques, Niger.

Summary

Since 2004, Niger had a national monitoring network for antimalarial resistance. The aim of this study is the review of data published on *P. falciparum* molecular makers resistance of chloroquine, amodiaquine, sulfadoxine-pyrimethamine and artemisinin in Niger.

Materials and Methods

This review included published studies that had been conducted only in Niger from January 2000 to December 2018 and excluded studies of malaria imported from Niger to others countries. We reviewed the full text of these studies and extracted molecular markers mutations date of detection, study years and site, type of samples collected, manuscript publication date and molecular methods used.

Results

The literature review according to our methodology identified 7 publications. The *PfprtK76T* and *PfdhfrS108N* mutations were the most markers surveyed in Niger. The double mutation *Pfdhps* and *PfdhfrI164L* were never identified in this review. Two studies were done on *PfK13 propeller*. The RFLP, DNA-microarrays and sequencing were the methods used in these studies.

Conclusion

The fewness of published data on genetic makers of antimalarial drugs resistance in Niger is obvious. The NMCP of Niger needs further *P.falciparum* molecular markers resistance update published data to plan resistance containment measure.

Key words: Molecular markers, antimalarial drugs resistance, Niger, *P.falciparum*.

Correspondance : Mahaman Moustapha Lamine.

E-mail: laminemahamanmoustapha@gmail.com

Tel: +227 96 88 99 36

Mahaman Moustapha L et coll. Revue des données publiées sur les marqueurs moléculaires de la résistance de *Plasmodium falciparum* à la sulfadoxine-pyriméthamine, la chloroquine, l'amodiaquine et l'artémisinine au Niger.

INTRODUCTION

Malaria is endemic in many sub-Saharan countries. This infection remains the principal cause of morbidity and mortality in Niger. The development of drugs resistance is one of the challenge in malaria control and eradication in Niger. The use of Chloroquine (CQ) as malaria treatment has been officially prohibited in Niger since 2006. Sulfadoxine-Pyrimethamine (SP) was used as intermittent preventive treatment of malaria in pregnant (IPTp) and in association with AQ in seasonal malaria chemoprevention (SMC). Amodiaquine (AQ) was present in the first line treatment of uncomplicated malaria artesunate-amodiaquine (ASAQ) since 2008. In 2005, artemether-lumefantrine (AL) combination was used as first line treatment of uncomplicated malaria in Niger. The molecular markers of *Pf*CQ, AQ, SP and ART resistance were identified. The CQ-Resistance (CQ-R) is linked to the point mutations in the *Pfcr*t gene and the mutant *Pfcr*tK76T was increased the risk of treatment failures. The SP resistance occurs in the target enzymes dihydrofolate reductase (*dhfr*) and dihydropteroate synthase (*dhps*) coded by point mutations in the *Pfdhfr* and *Pfdhps* genes. The *Pfdhfr*S108N mutant was considerate like the key point mutation for resistance to pyrimethamine and *Pfdhps*K540E was associated to sulphadoxine resistance [1]. The triple mutation *Pfdhfr*S108N, *Pfdhfr*C59R, *Pfdhfr*N51I and the *Pfdhps* double mutant A437G + K540E parasites has shown to be selected in failures of the SP treatment [2]. The *Pfdhfr* triple mutation was frequent in West and Central African but the *Pfdhps* double is rare [3]. The mutations in

Mahaman Moustapha L et al. Review of published data on *Plasmodium falciparum* sulfadoxine-pyrimethamine, chloroquine, amodiaquine and artemisinin molecular markers resistance in Niger.

the multi-drug resistance gene (*mdr1*) of *P. falciparum*, localized on chromosome 5 were involved in decreased AQ response. The *Pfmdr*A86Y mutation was linked with the cross-resistance to amodiaquine and chloroquine. The *Pfmdr1* haplotype (86Y+184Y+1246Y) was associated with high AQ-R [4]. ART resistance was discovered in the South East Asia (SEA). The *PfK13* propeller gene was identified as molecular marker of this resistance [5]. The polymorphism in *PfK13* gene was associated with ART-R and the delay of parasite clearance after ACTs therapy. In sub-Saharan Africa none of the SEA *PfK13* SNPs associated with the ART-R was detected [6, 7]. Since 2004, Niger had a national monitoring network for malaria treatment resistance [8]. The aims of this network were to collect samples from health centres and hospitals, using molecular methods to screen resistant parasite. It's although collaboration between Niger NMPC and CERMES research centre. Fifth teen years after the implementation of this network we have a lack of literature review paper about available data published on *Pf* molecular makers resistance of CQ, AQ, SP and ART in Niger. This paper is the review of published data on *Pf*CQ, AQ, SP and ART molecular markers resistance in Niger

MATERIALS AND METHODS

Online literature searches from January 2000 to December 2018 was conducted on Pubmed, African Journal Online, Google Scholar, ResearchGate and Bioline databases using the search terms 'malaria', 'Niger', '*Pfdhps*', '*Pfdhfr*', '*Pfcr*t', '*Pfmdr*' and '*PfK13*' with

AND/OR. This review included published studies that had been conducted only in Niger and excluded studies of malaria imported from Niger to others countries. All published types of articles were used. We reviewed the full text of these studies and extracted ‘*Pfdhps*’, ‘*Pfdhfr*’, ‘*Pfcrt*’, ‘*Pfmdr*’ and ‘*PfK13*’ mutations date of detection, study years, sites, samples collection, manuscript publication date and molecular methods used. The full texts were used to extract the information of individual point mutations *Pfdhfr* on codons 51, 59, 108 and 164, *Pfdhps* on codons 436, 437, 540, 580 and 613, *Pfcrt* on codons 72 and 76, *Pfmdr1* on codons 86, 184, 1042, 1246. The haplotypes mutations commonly know to be associated in *CQ*, *AQ* and *SP* resistance were reported. All data collected were entry and analysed by Microsoft Excel sheet version 14.0.0 (100825) for mac 2011. Time lag between date when the samples were collected and the date of publications was described by mean. We generate graph to illustrate the evolution of surveillance data on molecular makers over 13 years, from 2003 to 2013.

RESULTS

The literature review according to our methodology identified 7 publications describing surveillance of *Pfcrt*, *Pfmdr1*, *Pfdhr*, *Pfdhps* and *PfK13* mutations in Niger. The mean time lag between date when the samples were collected and the date of publications was 4,6 years [min: 3 and max: 7], the most recent survey identified was carried out in 2013 and published in 2017. In the seven publications reviewed two have used only the RFLP methods, one combined the RFLP and DNA-microarrays methods and four-used only sequencing. Four studies were done in the region of Niamey, the two in Dosso and one in Maradi. Only one study collected samples from asymptomatic patients (Table I). The samples were collected from all age patients. Details of the key codons surveys were presented in figure 1. The first publication of parasite harboring *PfcrtK76T* mutation was done in 2007. The *PfcrtK76T* and *PfdhfrS108N* mutations were the most surveyed marker in Niger. In all data published, the double mutation *PfdhpsA437G + K540E* and *PfdhfrI164L* were

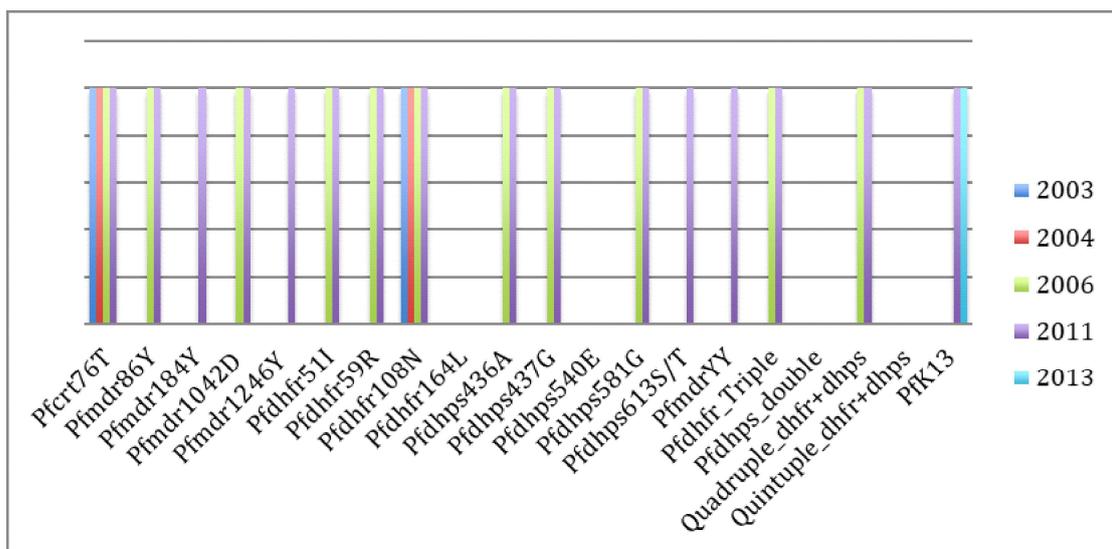


Figure 1: Evolution of surveillance data on molecular makers *Pfcrt*, *Pfmdr1*, *Pfdhfr*, *Pfdhps* and *PfK13* genes in Niger 2003-2013.

Mahaman Moustapha L et coll. Revue des données publiées sur les marqueurs moléculaires de la résistance de *Plasmodium falciparum* à la sulfadoxine-pyriméthamine, la chloroquine, l'amodiaquine et l'artémisinine au Niger.

Mahaman Moustapha L et al. Review of published data on *Plasmodium falciparum* sulfadoxine-pyrimethamine, chloroquine, amodiaquine and artemisinin molecular markers resistance in Niger.

Table I : Characteristic of different studies

Years of samples collection	Sites (Regions)	Years of data publications	Time take to publish	Sample size	Clinical status	References
2003	Niamey	2007	4 Years	114	symptomatic	[14]
2004	Niamey	2008	4 Years	258	symptomatic	[8]
2006	Niamey	2009	3 Years	495	asymptomatic	[19]
2011	Dosso	2014	3 Years	26	symptomatic	[15]
2011	Maradi	2018	7 Years	201	symptomatic	[20]
2011	Dosso	2018	7 Years	161	symptomatic	[26]
2013	Niamey	2017	4 Years	602	symptomatic	[25]

never identified. The *Pfmdr1 86Y* mutation was firstly survey in 2006. The *PfK13 polymorphisms* study published in 2017 showed 13 SNPs, eight were specific to Niger. The *PfK13A569G* mutation was showed selected by artesunate-amodiaquine treatment in 2011 survey published in 2018. None of *Pfk13* propeller SNP known to be involved in ART resistance in SEA was detected in Niger.

DISCUSSION

Our review showed seven publications on *Pfprt*, *Pfmdr1*, *Pfdhr*, *Pfdhps* and *PfK13* genes mutations in Niger. The WHO recommended the surveillance of antimalarial drugs resistance all two years. The lack of published studies about molecular makers drug resistance in Niger occurred between 2013 and 2018. It's possible that some data were available but not published. The poor molecular technical tool, human and financial resources in the country could explain the lack of publications observed. Genetic markers are very useful for surveillance of malaria drug resistance. As concluded by Wongsrichanalai *et al*, "drug resistance is probably the greatest challenge that most malaria-control programmes are facing"[9]. Only one study

collected samples from asymptomatic patients. To monitor the prevalence of molecular markers, parasites can be sampled from clinical malaria cases, or from the asymptomatic patients using community surveys. Sampling from malaria cases at the clinic is logistically much easier, and samples a larger biomass of parasites, but could potentially be biased in favour of individuals harbouring parasites resistant to antimalarial drugs. The antenatal clinics can be used for the population survey, asymptomatic pregnant women are coming voluntarily to the clinics, and this reduced the cost of surveys. The emergence of *CQ-R* was initially reported from south Asia and America [10]. In Africa, *CQ-R* was emerged in Eastern Africa region since 1980 [11]. This resistance was linked with parasite which harbouring *Pfprt* gene mutation. Fidock *et al*, reported that the point mutation *PfprtK76T* was strongly associated with *CQ-R* [12]. In Niger, the first case of clinical *CQ-R* was reported in 1991 [13]. The first report of *CQ-R PfprtK76T* strains were sampling in 2003 and published in 2007 [14]. Since 2003, the late survey of *PfprtK76T* in Niger was done in 2011 and published in 2014 [15]. Officially the *CQ* use was prohibited in Niger since

2006. Thirteen years after, only one survey of *PfprtK76T* was published. The low prevalence of parasites harbouring *CQ-R* was showed in this survey [15]. In Malawi, *CQ* withdrawal form use was followed by rapid reduction in the frequency of *CQ-R* [16]. The same result was observed in Kenya, but the decline of *CQ-R* was much slower [17]. *AQ* in monotherapy has been used in many parts of the world and actually used as partner drugs in ACTs and for SMC. The antimalarial activity of *AQ* was based on the active main metabolite N-desethyl-amodiaquine (*DEAQ*). *DEAQ* remains in the plasma for 10-14 days. Holmgren et al., was showed the association of *Pfmdr1* 86Y mutation and high prevalence of *AQ-R* parasites *in vivo* [18]. In Niger, the first strain harbouring *Pfmdr1* 86Y mutation was observed in 2006 and published in 2009 [19]. Others *Pfmdr1* SNPs (184, 1046, 1246) have been implicated to varying the degrees in *AQ-R*. These three *Pfmdr1* SNPs were simultaneously showed for the first time in Niger in 2011 [20]. Since 2005 artesunate-amodiaquine was the second line treatment of uncomplicated malaria in Niger. After the worldwide spread of *CQ-R* many countries change their policy and adopted ACTs as first line treatment and SP for IPTp. The *PfSP-R* has been selected rapidly in these areas. The first *SP-R* was demonstrated in SEA and has been present in Africa since 1980s [21]. The substitutions of amino acids in the enzymes *Pfdhfr* and *Pfdhps* in the folate biosynthetic pathway were associated with resistance phenotype and clinical failure of the *SP*. The key point mutation *Pfdhfr108N* was the first molecular marker of *SP-R* discover and the triple mutation at codons 108, 59, 51 and additional 164 have been associated with high pyrimethamine resistance [22]. In Niger,

the most *Pfdhfr* codon surveyed was *Pfdhfr108N*. This codon *Pfdhfr108* was largely surveyed in Africa [23]. The first *Pfdhfr108* codon survey was done in 2003 and published in 2007 [14]. The *Pfdhfr* triple mutation was seen for the first time in strains collected in 2006 and data published in 2009 [19]. The *Pfdhfr* triple mutation was showed to increase the risk of SP treatment failure. The national malaria control programme of Niger changes the treatment policy of uncomplicated malaria in 2005 and adopted ACTs as first line drugs. The codon I164L *dhfr* was not showed in all studies of this review. The I164L mutation, which confers pyrimethamine high-level resistance, was although rare in West Africa [24]. The double mutation at codons 437 and 540 associated with sulfadoxine resistance was not observed in this review. In West Africa the K540E mutant parasite was rare, but present in East Africa [3]. The first study of *Pfdhps* in Niger was done in 2006 [19] and the most recent in 2011. Ariey et al, in 2013 published the discovery of a molecular marker of *ART-R* [5]. Some SNPs in the *PfK13* propeller gene were associated with *ART-R* in SEA. The polymorphisms in *PfK13* gene were identified as a useful tool for monitoring the emergence and spread of *ART-R*. In Niger, the *PfK13* propeller polymorphism was survey firstly in 2013 [25]. The second study was done on samples collected in 2011 and published in 2018 [26]. The *PfK13* polymorphisms study published in 2017 showed 13 SNPs, eight were specific to Niger. The *PfK13A569G* mutation was showed selected by artesunate-amodiaquine treatment in 2011 survey published in 2018. None of *PfK13* propeller SNP known to be involved in *ART-R* in SEA was detected in Niger. The same result was observed

Mahaman Moustapha L et coll. Revue des données publiées sur les marqueurs moléculaires de la résistance de *Plasmodium falciparum* à la sulfadoxine-pyriméthamine, la chloroquine, l'amodiaquine et l'artémisinine au Niger.

malaria is endemic. The limited data in this review of molecular markers drug resistance in Niger to date fall into 3 categories. The first category, only published papers were considered in this review. A second category is that authors not contacted to check unpublished data. A third category of limits, the grey literature like study reports or presentations were not included in the study. So the results presenting here may not reflect all studies done in Niger. In all studies reviewed the prevalence of molecular markers mutation was used as indicator of resistance, but frequency of mutation seem to be good indicator of resistance.

CONCLUSION

The fewness of published data on genetic makers of antimalarial drugs resistance in Niger is obvious. The investigation on the molecular makers of *Pf* drugs resistance is necessary in the planning of chemotherapy and chemoprevention policy. There is need for further surveys in Niger using mutations K76T and N86Y in *Pfcr* and *Pfmdr1* genes in monitoring and assessing respectively the situation of *CQ-R* and *AQ-R*. Mutations in I164L and K540E SNPs of the *Pfdhfr* and *Pfdhps* respectively can be use for the monitoring of *SP-R*. It's necessary to continue the monitoring of a molecular marker of *ART-R* in Niger. It's although desirable for the Niger NMCP in collaboration with research institutions and universities to establish national resistance monitoring centres in all major hospitals. It's although needed to make sentinels sites functional.

Competing interests

Authors declare that they have no competing interests.

Mahaman Moustapha L et al. Review of published data on *Plasmodium falciparum* sulfadoxine-pyriméthamine, chloroquine, amodiaquine and artemisinin molecular markers resistance in Niger.

REFERENCES

- Osman ME, Mockenhaupt FP, Bienzle U, Elbashir MI, Giha HA.** Field-based evidence for linkage of mutations associated with chloroquine (*pfcr/pfmdr1*) and sulfadoxine-pyriméthamine (*pfdhfr/pfdhps*) resistance and for the fitness cost of multiple mutations in *P. falciparum*. *Infection, Genetics and Evolution*.2007;7:52–59.
- Kublin JG, Dzinjalama FK, Kamwendo DD, Malkin EM, Cortese JF, Martino LM, et al.** Molecular Markers for Failure of Sulfadoxine-Pyriméthamine and Chlorproguanil-Dapsone Treatment of *Plasmodium falciparum* Malaria. *Journal of Infectious Diseases*.2002;185:380–8.
- Naidoo I, Roper C.** Mapping 'partially resistant', 'fully resistant', and 'super resistant' malaria. *Trends in Parasitology*.2013;29:505–15.
- Holmgren G, Gil JP, Ferreira PM, Veiga MI, Obonyo CO, Björkman A.** Amodiaquine resistant *Plasmodium falciparum* malaria in vivo is associated with selection of *pfcr* 76T and *pfmdr1* 86Y. *Infection, Genetics and Evolution*.2006;6:309-14.
- Ariey F, Witkowski B, Amaratunga C, Beghain J, Langlois A-C, Khim N, et al.** A molecular marker of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature*.2013; 505:50–5.
- Taylor SM, Parobek CM, DeConti DK, Kayentao K, Coulibaly SO, Greenwood BM, et al.** Absence of Putative Artemisinin Resistance Mutations Among *Plasmodium falciparum* in Sub-Saharan Africa: A Molecular Epidemiologic Study. *Journal of Infectious Diseases*.2015;211:680-688.
- Ménard D, Khim N, Beghain J, Adegnika AA, Shafiul-Alam M, Amodu O, et al.** A Worldwide Map of *Plasmodium falciparum* K13-Propeller Polymorphisms. *N New England Journal of Medicine*.2016;374:2453–64.
- Ibrahim ML, Hassane H, Konate L, Adamou S, Ousmane I, Adehossi E, et al.** Réseau de surveillance moléculaire de la chimiorésistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine et à la pyriméthamine dans la vallée du fleuve Niger, au Niger. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. 2008;101:47-49.

9. **Wongsrichanalai C, Pickard AL, Wernsdorfer WH, Meshnick SR.** Epidemiology of drug-resistant malaria. *The Lancet Infectious Diseases.*2002; 2:209–18.
10. **Campbell C, Collins W, Chin W, Teutsch S, Moss D.** Chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* from East Africa: Cultivation and Drug Sensitivity of the Tanzanian I/CDC Strain from an American Tourist. *The Lancet.*1979;314:1151–4.
11. **Draper CC, Brubaker G, Geser A, Kilimali VAEB, Wernsdorfer WH.** Serial studies on the evolution of chloroquine resistance in an area of East Africa receiving intermittent malaria chemosuppression. *Bulletin of the World Health Organization.*1985;63:109–18.
12. **Fidock DA, Nomura T, Talley AK, Cooper RA, Dzekunov SM, Ferdig MT, et al.** Mutations in the *P. falciparum* Digestive Vacuole Transmembrane Protein PfCRT and Evidence for Their Role in Chloroquine Resistance. *Molecular Cell.*2000;6:861–71.
13. **Gay F, Diquet B, Katlama C, Fassin D, Turk P, Datry A, et al.** Report of chloroquine resistance malaria in Niger. *Therapie.*1991;46:90–1.
14. **Ibrahim ML, Gay-Andrieu F, Adehossi E, Lacroix V, Randrianarivojosia M, Duchemin J-B.** Field-based evidence for the linkage of pfert and pfdhfr drug-resistant malaria genotypes and clinical profiles of severe malaria in Niger. *Microbes and Infection.*2007;9:599–604.
15. **Salissou A, Zamanka H, Biyghe Binze B, Rivière T, Tichit M, et al.** Low Prevalence of Pfert Resistance Alleles among Patients with Uncomplicated Falciparum Malaria in Niger Six Years after Chloroquine Withdrawal. *Malaria Research and Treatment.*2014;2014:7.
16. **Kublin JG, Cortese JF, Njunju EM, G. Mukadam RA, Wirima JJ, Kazembe PN, et al.** Reemergence of Chloroquine-Sensitive Plasmodium falciparum Malaria after Cessation of Chloroquine Use in Malawi. *Journal of Infectious Diseases.* 2003;187:1870–5.
17. **Mwai L, Ochong E, Abdirahman A, Kiara SM, Ward S, Kokwaro G, et al.** Chloroquine resistance before and after its withdrawal in Kenya. *Malaria Journal.*2009;8:106.
18. **Holmgren G, Gil JP, Ferreira PM, Veiga MI, Obonyo CO, Björkman A.** Amodiaquine resistant Plasmodium falciparum malaria in vivo is associated with selection of pfert 76T and pfmdr1 86Y. *Infection, Genetics and Evolution.*2006;6:309–14.
19. **Ibrahim ML, Steenkeste N, Khim N, Adam HH, Konaté L, Coppée J-Y, et al.** Field-based evidence of fast and global increase of Plasmodium falciparum drug-resistance by DNA-microarrays and PCR/RFLP in Niger. *Malaria Journal.*2009;8:32.
20. **Grais RF, Laminou IM, Woi-Messe L, Makarimi R, Bourriema SH, Langendorf C, et al.** Molecular markers of resistance to amodiaquine plus sulfadoxine-pyrimethamine in an area with seasonal malaria chemoprevention in south central Niger. *Malaria Journal.*2018;17:98.
21. **Roper C, Pearce R, Nair S, Sharp B, Nosten F, Anderson T.** Intercontinental Spread of Pyrimethamine-Resistant Malaria. *Science.*2004;305:1124–1124.
22. **Plowe CV, Cortese JF, Djimde A, Nwanyanwu OC, Watkins WM, Winstanley PA, et al.** Mutations in Plasmodium falciparum Dihydrofolate Reductase and Dihydropteroate Synthase and Epidemiologic Patterns of Pyrimethamine-Sulfadoxine Use and Resistance. *Journal of Infectious Diseases.* 1997;176:1590–6.
23. **Naidoo I, Roper C.** Drug resistance maps to guide intermittent preventive treatment of malaria in African infants. *Parasitology.* 2011;138:1469–79.
24. **Andriantsoanirina V, Durand R, Pradines B, Baret E, Bouchier C, Ratsimbaoa A, et al.** In vitro susceptibility to pyrimethamine of DHFR I164L single mutant *Plasmodium falciparum*. *Malaria Journal.* 2011;10:283.
25. **Laminou I, Lamine M, Mahamadou B, Ascofaré O, Dieye A.** Polymorphism of pfk13-propeller in Niger: Detection of Novel Mutations. *Journal of Advances in Medicine and Medical Research.*2017;22:1–5.
26. **Laminou I, Lamine M, Arzika I, Mahamadou B, Gora D, Dieye A.** Detection of *Plasmodium falciparum* K13 Propeller A569G Mutation after Artesunate-amodiaquine Treatment Failure in Niger. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology.* 2018;18:1–8.

Forum International de la Biologie en Afrique International Forum of Biology in Africa



Faculté de Médecine,
Pharmacie et Odontologie
UCAD, Dakar, Sénégal

FIBAfrica 2020

Du 07 au 09 Avril 2020

Troisième édition



Conférences sur :
. Les infections à VIH
. Couverture sanitaire universelle



**Pour soumettre
des résumés :
aller sur le site**

www.revafric-bm.sn

Thèmes :

1. Nouvelles technologies en Biologie
2. Résistances aux antimicrobiens
3. Communications libres
4. Posters

Sous-Thèmes :

1. Diabète
2. Drépanocytose

Tables rondes :

**Urgence en Biologie
Qualité en Biologie**

INSCRIPTIONS

- . Biologistes, Médecins : 50.000 F
- . Ingénieurs, DES : 40.000 F
- . Internes, Techniciens : 30.000 F

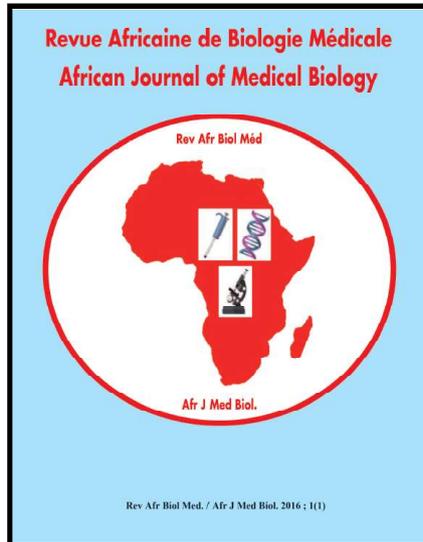
Labo Bactériologie Fac Médecine

www.revafric-bm.sn

Revue africaine de Biologie Médicale :

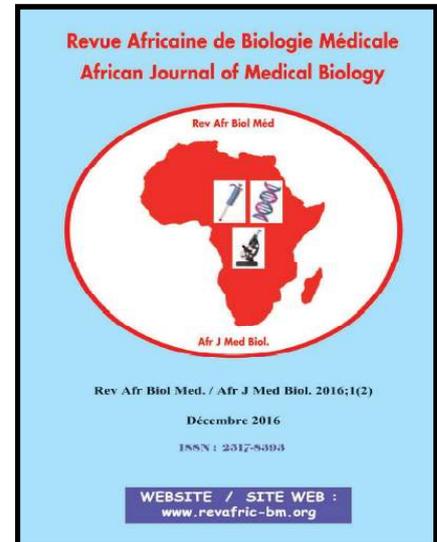
Numéros déjà parus

N° 1

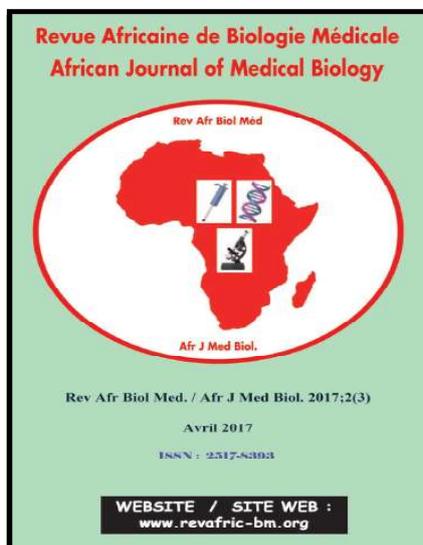


Tome 1

N° 2

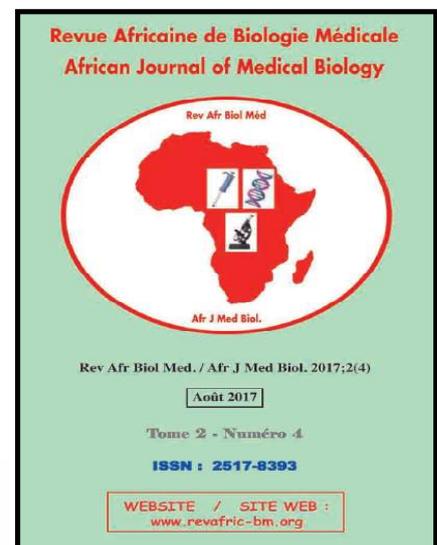


N° 3



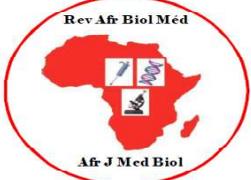
Tome 2

N° 4



N° 5

Revue Africaine de Biologie Médicale
African Journal of Medical Biology



Rev Afr Biol Méd. / Afr J Med Biol. 2018;3(5)
Janvier 2018
 ISSN : 2517-8393
Tome 3 - Numéro 5

WEBSITE / SITE WEB :
www.revafriic-bm.org

Tome 3

N° 6

Revue Africaine de Biologie Médicale
African Journal of Medical Biology



Rev Afr Biol Méd. / Afr J Med Biol. 2018;3(6)
 ISSN : 2517-8393
Tome 3 - Numéro 6
Juillet 2018

WEBSITE / SITE WEB :
www.revafriic-bm.org

N° 7

Revue Africaine de Biologie Médicale
African Journal of Medical Biology



Rev Afr Biol Méd. / Afr J Med Biol. 2019;4(7)
 ISSN : 2517-8393
Tome 4 - Numéro 7
Janvier 2019

WEBSITE / SITE WEB :
www.revafriic-bm.sn

Tome 4

N° 8

Revue Africaine de Biologie Médicale
African Journal of Medical Biology



Rev Afr Biol Méd. / Afr J Med Biol. 2019;4(8)
 ISSN : 2517-8393
Tome 4 - Numéro 8
Mai 2019
 Supplément 5

WEBSITE / SITE WEB :
www.revafriic-bm.sn



N° 9

Revue Africaine de Biologie Médicale
African Journal of Medical Biology



Rev Afr Biol Méd. / Afr J Med Biol. 2019;4(9)
 ISSN : 2517-8393
Tome 4 - Numéro 9
 Septembre 2019
 Supplément 6

WEBSITE / SITE WEB :
www.revafriic-bm.sn