

**REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE**

*Union-Discipline-Travail*

Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et de la Recherche Scientifique



**Année universitaire 2009-2010**



**UFR BIOSCIENCES**

22 BP 582 Abidjan 22

Courriel : *biosciences@univ-cocody.ci*  
*ufrbiosciences@yahoo.fr*

N°/ d'Ordre : 690

**LABORATOIRE DE PHARMACODYNAMIE-BIOCHIMIQUE**

## **THESE**

Présentée à l'UFR Biosciences pour obtenir le titre de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE COCODY**

Spécialité : Biochimie

par

**M'BOH Gervais Melaine**

**THÈME :**

**EVALUATION DES CONCENTRATIONS SÉRIQUES  
EN FER, CUIVRE, ZINC, RETINOL ET  $\alpha$  TOCOPHEROL  
AU COURS DE L'ACCES PALUSTRE À *PLASMODIUM*  
*FALCIPARUM* CHEZ DES ENFANTS IVOIRIENS**

Soutenue publiquement, le 03 Février 2011 devant le jury composé de :

Monsieur KOUASSI Philippe	Professeur Titulaire	Université de Cocody	Président
Monsieur DJAMAN A. Joseph	Professeur Titulaire	Université de Cocody	Directeur de thèse
Monsieur AMANI N. Georges	Professeur Titulaire	Université d'Abobo adjamé	Examineur
Monsieur BIEGO Godi Henri	Maître de Conférences	Université de Cocody	Rapporteur
Monsieur KOUA Hervé	Maître de Conférences	Université de Cocody	Examineur
Monsieur N'GUESSAN J. David	Maître de Conférences	Université de Cocody	Examineur

# DEDICACES

### **Au Dieu Tout Puissant**

Je ne saurai Seigneur comment te remercier de tous tes bienfaits à mon égard.

Si j'ai pu atteindre ce but, c'est avec ta grâce et ta miséricorde.

Puisse ta crainte m'habiter davantage, afin de te servir fidèlement.

### **A mes parents biologiques : Mr N'GOU M'Bohn et Mme APPIAH Marguerite**

Cher père, je ne saurai comment te remercier pour tout le soutien moral, et financier.

Etant un pédagogue avéré, tu as longtemps stimulé en moi le goût des études.

Tes efforts déployés, à mon égard, n'ont pas été vains. Puisse Dieu te bénir.

Chère mère, merci d'avoir supporté mes caprices ; tu as longtemps pleuré pour tes enfants, tu

n'as cessé de ménager tes efforts pour les confier à Dieu par tes prières.

Le seigneur essuie aujourd'hui tes larmes. Puisse Dieu te bénir.

### **A mes frères et sœurs :**

M'BOH Franck Auberlin, M'BOH Ané Joelle, N'GOU M'boh Delphin Herbert, N'GOU Djama Paulin Guy, N'GOU Chô Rebecca, N'GOU Ahomon Jacques, N'GOU Epi Reine Elisabeth et N'GOU Souho Agnès Sara. Je voudrais vous traduire mes remerciements pour vos encouragements indéfectibles.

### **A mon père spirituel : Suprême Djago**

Merci cher Papa pour tes prières et tes précieux conseils qui portent aujourd'hui ses fruits.

Puisse Dieu t'élever davantage.

### **A KONE Flora Kitibé, KONAN Sédia Marie Paule, GOLLY Koffi Julien, KOUASSI Konan, KOUAME Kolia Innocent, DINZEDI Rubens, PKOROU Elysée.**

Merci pour votre soutien et votre présence effective à mes côtés durant mes moments de pleurs et de joie. Ne dit on pas que c'est dans la souffrance qu'on reconnaît ses vrais amis ?

Puisse Dieu vous combler de ses meilleures grâces.

### **A tous mes amis du Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique, de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, de l'Institut National de Santé Publique d'Abidjan, de l'Hôpital Militaire d'Abidjan (HMA), du FSU-COM d'Anonkoi-Kouté.**

Veillez recevoir mes remerciements pour votre sens de l'humour, votre esprit courtois et sociable. Je voudrais vous traduire toutes mes reconnaissances et ma joie d'avoir été à vos côtés.

# REMERCIEMENTS

## **A mon Directeur de Thèse, Professeur DJAMAN Allico Joseph**

---

Professeur Titulaire de Biochimie-parasitologie, UFR Biosciences, Directeur du Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique, Directeur du Département de Biochimie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Chercheur associé au Laboratoire de Microbiologie de l'Institut National de Santé Publique.

Cher Honorable Professeur, vous avez toujours éveillé en moi l'esprit de la recherche par votre parcours académique exemplaire, votre dynamisme, votre courtoisie, votre humilité et votre abnégation pour le travail bien fait. Vous avez été toujours à mes côtés malgré votre emploi du temps chargé et votre état de santé et, vous n'avez ménagé aucun effort pour conduire à son terme le présent travail. Je voudrais vous traduire ma sincère reconnaissance. Affectueusement, vous êtes pour moi un père, car lorsque j'étais pris de désespoir, c'est vous qui m'avez toujours remonté le moral et c'est même vous qui m'avez tracé les sillons d'une issue favorable qui porte aujourd'hui ses fruits. Je ne cesserai de vous remercier et je ne saurai trouver les mots justes. Vous êtes un chercheur de qualité et vous représentez pour les jeunes générations de chercheurs un modèle. Je voudrais par ailleurs vous remercier pour les stages que vous m'avez permis de faire à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire et à l'Institut National de Santé Publique d'Abidjan qui m'ont été très bénéfiques. Puisse Dieu exaucer votre vœu le plus cher.



## **A Feu, le Professeur GUÉDÉ-GUINA Frédéric**

---

Professeur Titulaire de Biochimie et de Pharmacologie, Ex-chef de Département de Biochimie-Microbiologie, Fondateur et Directeur du Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique (LPB), Directeur du LBP de 1993 à 2007. Au moment où les grains que vous avez semés commencent à germer, vous nous abandonnez. Vos petits enfants que nous sommes, à qui vous aviez inoculé le germe de la recherche qui prend aujourd'hui forme, avons hâte de partager ce moment glorieux avec vous ; mais malheureusement Dieu en a décidé autrement. Vous resterez toujours pour nous, dans nos mémoires, un maître de la biochimie aussi bien au plan de la recherche que de la pédagogie. Puisse votre âme reposer en paix.

### **Au Professeur KOUASSI Philippe**

---

Professeur Titulaire de Biologie Animale. Je voudrais vous traduire mes sincères remerciements pour avoir accepté de présider le jury de ma thèse. Honorable professeur, votre humilité, votre dynamisme et votre disponibilité sont à féliciter.

### **Au Professeur AMANI N'guessan Georges**

---

Professeur Titulaire de Biochimie alimentaire, à l'UFR Sciences et Technologies Alimentaires (STA) de l'Université d'Abobo Adjamé. Je voudrais vous remercier de prendre part au jury de ma thèse. C'est pour moi un honneur de faire votre connaissance.

### **Au Professeur N'GUESSAN Jean David**

---

Maître de Conférences de Biochimie, UFR Biosciences.

Merci cher Professeur pour vos conseils et votre disponibilité. Vous représentez pour la jeune génération un modèle. J'ai beaucoup appris auprès de vous. Votre humilité et votre courtoisie font de vous une personne de qualité.

### **Au Professeur BIEGO Godi Henri M.A.**

---

Rapporteur de la thèse. Maître de Conférences de Toxicologie Alimentaire-Nutrition ; responsable scientifique au laboratoire de Biochimie et Sciences des Aliments ; responsable du laboratoire de Chimie Alimentaire filière en Hygiène Agro-alimentaire de l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Je voudrais professeur vous remercier d'avoir éveillé en nous l'esprit de recherche. Votre humilité, votre disponibilité et votre ardeur dans le travail font de vous un homme de qualité. Votre brillant parcours est un exemple pour vos étudiants que nous avons été.

### **Au Professeur KOUA Hervé**

---

Maître de Conférences en entomologie, au laboratoire de Zoologie et de Biologie Animale. Merci cher professeur d'accepter de prendre part au jury de ma thèse.

### **Au Professeur AKE Michelle**

---

Professeur Titulaire de Chimie Analytique, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Chef du Laboratoire de Nutrition de l'Institut National de Santé Publique d'Adjamé (INSP) et ex-Directrice de la Pharmacie et du Médicament (DPM).

Merci Professeur pour m'avoir permis de réaliser une partie de mes travaux dans votre laboratoire. Je vous suis très reconnaissant et, ce fût un plaisir et un honneur pour moi de faire votre connaissance. Sachez que j'ai beaucoup appris auprès de vous. Votre humilité et votre courtoisie font de vous une personne et un maître de qualité.

### **Au Professeur COULIBALY Adama**

---

Maître de Conférences de Microbiologie, UFR Biosciences.

Je voudrais vous traduire ma sincère reconnaissance pour la qualité de vos enseignements et votre sens de l'humour que j'apprécie beaucoup. Vous avez éveillé en nous l'amour de la chose éducative par votre talent de pédagogue.

### **Au Professeur FAYE Kette Hortense**

---

Professeur Titulaire de Microbiologie, UFR Sciences Médicales, Directrice Adjointe de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI). Responsable de l'Unité des Agents des Infections Sexuellement Transmissibles (UA-IST) de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire.

Merci Professeur pour votre courtoisie et votre disponibilité. Vous m'avez permis par votre formation tant théorique que pratique d'étendre mes connaissances de biochimiste au monde de la microbiologie et plus précisément de la bactériologie. Je voudrais vous traduire ma sincère reconnaissance.

### **Au Docteur YAPI Houphouët**

---

Maître-Assistant de Biochimie, UFR Biosciences.

Je voudrais vous remercier pour votre disponibilité, votre courtoisie et votre coopération. Vous m'avez soutenu depuis le début jusqu'au terme de ce travail par vos conseils et votre encadrement. Travailler à vos côtés a été pour moi un plaisir. J'ai beaucoup appris avec vous. Puisse Dieu vous rendre au centuple cet effort déployé.

### **Au Docteur AHIBOH Hugues**

---

Maître-Assistant de Biochimie, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques.

Votre disponibilité et votre esprit critique m'ont été bénéfiques. Vous avez toujours répondu à mon appel chaque fois que je vous ai sollicité. Merci de votre soutien. Puisse Dieu vous le rendre au centuple.

### **A tous les enseignants chercheurs du Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique**

---

Je voudrais vous remercier pour votre esprit d'équipe et l'harmonie que vous cultivez au sein de ce laboratoire. Merci également pour tout ce que vous avez fait pour que j'arrive à ce niveau d'étude.

### **Au Docteur SOKO Yves**

---

Responsable adjoint de la Pharmacie de L'Institut National de Santé Publique d'Abidjan. Je voudrais vous remercier pour votre appui technique et votre disponibilité. Vous avez été toujours à mes petits soins durant mes travaux à L'Institut National de Santé Publique d'Abidjan. Vous êtes exceptionnel par votre humilité, votre sens de l'humour et surtout votre dynamisme, que j'ai beaucoup apprécié. Travailler à vos côtés a été pour moi un plaisir. Merci pour vos conseils et vos encouragements grand frère. Puisse Dieu vous bénir.



## **Au Docteur TOURE**

---

Chef du Laboratoire de Biochimie à l'Hôpital Militaire d'Abidjan, je ne saurais qualifier votre amabilité. Vous m'avez été d'un grand soutien au plan technique. Votre sens de l'humour, votre humilité et votre disponibilité font de vous un homme particulier. Je voudrais vous remercier pour vos conseils. Travailler avec vous a été pour moi un plaisir. Puisse Dieu vous bénir.

## AVANT PROPOS

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la lutte et la prévention contre l'Infection à *Plasmodium falciparum*, en zone d'endémie palustre comme la Côte d'Ivoire. Cette lutte fait intervenir des moyens de défenses autres que les molécules antipaludiques régulièrement décriées du fait de la résistance du parasite. Elle nous oblige donc à accorder davantage d'attention aux micronutriments essentiels ou alimentaires. À ce titre, il est nécessaire, voire indispensable de connaître la biomasse sanguine de ces micronutriments indispensables au fonctionnement de l'organisme au cours de l'infection palustre à *P. falciparum*.

Au cours de cette étude qui a été réalisée dans différents laboratoires (Université et Institut de Recherche) et Formation Sanitaire Urbaine à base Communautaire (FSU-COM), nous avons ciblé en priorité les enfants faiblement immuns d'âge scolaire (2 à 14 ans) ; population payant un lourd tribut au triste record de morbidité et de mortalité dues au paludisme à *Plasmodium falciparum*.

Nous espérons que les résultats obtenus permettront en amont d'envisager des mesures correctives par un apport nutritionnel complémentaire adéquat en micronutriments pour une action de lutte plus efficace contre l'infection palustre à *Plasmodium falciparum*.

# TABLE DES MATIERES

	<b>Pages</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS</b>	
<b>LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES</b>	
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>OBJECTIF GENERAL</b> .....	<b>4</b>
<b>OBJECTIFS SPECIFIQUES</b> .....	<b>4</b>
<b>GENERALITES</b> .....	<b>5</b>
<b>I. Etat nutritionnel, infections et stress oxydant</b> .....	<b>6</b>
I.1. Notion d'état nutritionnel.....	6
I.2. Relation nutrition- infection .....	6
I.2.1. Effet de l'état nutritionnel sur les infections .....	6
I.2.2. Effets des infections sur l'état nutritionnel .....	7
I.3. Infections et stress oxydant.....	8
<b>II. Micronutriments</b> .....	<b>10</b>
II.1. Oligoéléments .....	10
II.1.1. Définition .....	10
II.1.2. Rôles, distribution dans l'organisme et sources alimentaires .....	11
II.1.2.1. Fer .....	11
II.1.2.2. Cuivre .....	13
II.1.2.3. Zinc .....	14
II.1.2.4. Autre oligoélément d'intérêt majeur : le sélénium .....	15
II.2. Vitamines .....	15
II.2.1. Définition .....	15
II.2.2. Rôles, distribution dans l'organisme et sources alimentaires .....	16
II.2.2.1. Vitamines hydrosolubles .....	16
II.2.2.2. Vitamines liposolubles .....	19
II.3. Techniques de dosage des oligoéléments et des vitamines .....	26
II.3.1. Spectrométrie d'absorption atomique .....	27
II.3.2. Chromatographie liquide à haute performance .....	29

III. Sang et transport des nutriments -----	31
III.1. Définition -----	31
III.2. Rôle des principaux constituants du sang -----	31
III.3. Autres fonctions du sang -----	32
IV. Paludisme -----	34
IV.1. Définition -----	34
IV.1.1. Paludisme simple -----	34
IV.1.2. Paludisme grave -----	34
IV.2. Epidémiologie -----	35
IV.2.1. Répartition géographique du paludisme dans le monde -----	35
IV.2.2. Faciès épidémiologique du paludisme en Côte d'Ivoire -----	35
IV.3. <i>Plasmodium falciparum</i> -----	36
IV.3.1. Particularités étiologiques -----	36
IV.3.2. Cycle du parasite chez <i>Anopheles</i> -----	36
IV.3.3. Cycle du parasite chez l'Homme -----	37
IV.4. Manifestations du paludisme chez l'enfant -----	39
IV.5. Diagnostic du paludisme -----	39
IV.5.1. Examens sanguins au microscope -----	39
IV.5.2. Tests rapides -----	39
IV.5.3. Tests moléculaires -----	40
V. Etats pathologiques associés au paludisme -----	40
V.1. Anémie ou états pathologiques des globules rouges -----	40
V.1.1. Définition -----	40
V.1.2. Physiopathologie de l'anémie -----	42
V.1.3. Diagnostic de l'anémie -----	42
V.1.4. Hémogramme ou numération de la formule sanguine -----	42
V.1.5. Formes d'anémie -----	43
V.1.6. Hémoglobine -----	43
V.1.6.1. Structure -----	43
V.1.6.2. Biosynthèse -----	44
V.1.6.3. Catabolisme -----	44
V.2. Etats pathologiques des plaquettes -----	46

V.3. Etats pathologiques des globules blancs -----	46
VI. Interaction paludisme-nutrition -----	46
<b>MATERIEL ET METHODES -----</b>	<b>48</b>
I. Site et populations de l'étude -----	49
II. Type et durée de l'étude -----	51
III. Critères d'inclusion et d'exclusion des sujets -----	51
IV. Ethique -----	51
V. Matériel -----	52
V.1. Matériel biologique -----	52
V.2. Matériel technique -----	52
V.3. Réactifs de dosage -----	52
VI. Méthodes -----	53
VI.1. Diagnostic du paludisme -----	53
VI.2. Réalisation de l'Hémogramme -----	53
VI.3. Dosage des micronutriments -----	55
VI.3.1. Extraction du sérum -----	55
VI.3.2. Dosage du fer, cuivre et zinc -----	55
VI.3.3. Dosage des vitamines A et E sériques -----	55
VI.3.3.1. Extraction des lipides sériques contenant les vitamines -----	55
VI.3.3.2. Paramètres d'analyse pour l'étude des vitamines -----	56
VI.3.3.3. Préparation de la gamme d'étalonnage du rétinol et de $\alpha$ tocophérol -----	56
VI.3.3.4. Détermination de la concentration en rétinol et en $\alpha$ tocophérol -----	56
VI.4. Calcul du pourcentage de réduction des micronutriments -----	59
VII. Méthodes statistiques utilisées pour le traitement des résultats obtenus -----	59
<b>RESULTATS -----</b>	<b>60</b>
I. Prévalence du paludisme dans la zone d'endémicité palustre -----	63
II. Hémogramme de la population -----	63
III. Etude du fer, du cuivre et du zinc sériques -----	63
III.1. Influence de la présence du parasite sur les concentrations en oligoéléments -----	63
III.1.1. Influence sur les valeurs moyennes globales -----	63

III.1.2. Influence selon l'âge, le sexe et le poids -----	65
III.2. Influence de la densité parasitaire sur les concentrations en oligoéléments -----	78
III.3. Influence de l'état des plaquettes sur les concentrations en oligoéléments -----	83
III.4. Influence de l'état des globules rouges sur les concentrations en oligoéléments ----	87
IV. Etude des vitamines A et E sériques -----	100
IV.1. Influence de la présence du parasite sur les concentrations en vitamines -----	100
IV.1.1. Influence sur les valeurs moyennes globales en vitamines -----	100
IV.1.2. Influence selon l'âge, le sexe et le poids -----	102
IV.2. Influence de la densité parasitaire sur les concentrations en vitamines -----	112
IV.3. Influence de l'état des plaquettes sur les concentrations en vitamines -----	116
IV.4. Influence de l'état des globules rouges sur les concentrations en vitamines -----	119
<b>DISCUSSION -----</b>	<b>128</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES -----</b>	<b>134</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES -----</b>	<b>137</b>
<b>ANNEXES</b>	

## LISTE DES ABREVIATIONS

### A

---

**Acéthyl CoA** : Acéthyl Coenzyme A

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

### C

---

**CCMH ou CGMH** : Concentration Corpusculaire (ou globulaire) Moyenne en Hémoglobine

**HPLC** : High Performance Liquid Chromatography

**CRABP** : Cellular Retinoid Acid-Binding Protein

**CRBP** : Cellular Retinoid Binding Protein

**CSP** : Cystein String Protein

**CTF** : Capacité Totale de Fixation de la Transferrine

### D

---

**DP** : Densité Parasitaire

### E

---

**ED** : Electrochemical Detector

**EDTA** : Ethylène Diamine Tétra Acétate

**ELSD** : Détecteur à Diffusion de Lumière

**EOA** : Espèces Oxydatives Activées

### F

---

**FAD** : Flavine Adénine Dinucléotide

**FL** : Fluorescence

**FMN** : Flavine Mononucléotide

**FROs** : Formes Réactives de l'Oxygène

### G

---

**G6PD** : Glucose 6 diPhosphate

## **H**

---

**Hb**: Hémoglobine

**HbA** : Hémoglobine Adulte

**HbF** : Hémoglobine Fœtale

## **L**

---

**LD** : Limite de Détection

## **N**

---

**NAD** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide

**NADP** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

## **O**

---

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

## **P**

---

**PLT** : Plaquette

## **R**

---

**RAR** : Retinoic Acid Receptor

**RARE** : Retinoic Acid Responsive Elements

**RBP** : Retinol Binding Protein

**RXR** : Retinoic X receptor

## **S**

---

**SAA** : Spectrométrie d'Absorption Atomique

**SOD** : Super Oxyde Dismutase

## **T**

---

**TCMH** ou **TGMH** : Teneur Corpusculaire (ou Globulaire) Moyenne en Hémoglobine

**TNF $\alpha$**  : Tumor Nucleor Factor alpha



## **U**

---

**UNESCO** : United Nations Educational Scientific and Cultural Organization

**UV** : Ultra Violet

## **V**

---

**V/V** : Volume pour Volume

**VGM** : Volume Globulaire Moyen

## LISTE DES FIGURES

	<b>Pages</b>
<b>Figure 1</b> : Systèmes de production ou de protection contre les radicaux libres de l'oxygène .....	9
<b>Figure 2</b> : Cycle de fer et structures de l'hème et de la ferritine .....	12
<b>Figure 3</b> : Obtention, stockage et utilisation des rétinoïdes naturels.....	23
<b>Figure 4</b> : Destruction membranaire par attaque des EOA et insertion de la vitamine E au sein de la membrane plasmique .....	24
<b>Figure 5</b> : Biosynthèse du tocophérol .....	25
<b>Figure 6</b> : Schéma d'un vaisseau sanguin avec à l'intérieur les constituants du sang .....	33
<b>Figure 7</b> : Schéma du cycle parasitaire du <i>Plasmodium</i> .....	38
<b>Figure 8</b> : Etapes de biosynthèse de l'hémoglobine .....	45
<b>Figure 9</b> : Plan géographique d'Anonkoi-kouté, village de la commune d'Abobo .....	50
<b>Figure 10</b> : Prévalence du paludisme dans la population d'étude .....	61
<b>Figure 11</b> : Niveau de réduction globale en oligoéléments sériques au cours de l'infection palustre à <i>P. falciparum</i> par rapport aux témoins .....	64
<b>Figure 12</b> : Niveau de réduction du fer sérique selon l'âge au cours de l'infection palustre .....	67
<b>Figure 13</b> : Niveau de réduction du cuivre sérique selon l'âge au cours de l'infection palustre .....	68
<b>Figure 14</b> : Niveau de réduction du zinc sérique selon l'âge au cours de l'infection palustre .....	69
<b>Figure 15</b> : Niveau de réduction du fer sérique selon le sexe au cours de l'infection palustre .....	71
<b>Figure 16</b> : Niveau de réduction du cuivre sérique selon le sexe au cours de l'infection palustre ....	72
<b>Figure 17</b> : Niveau de réduction du zinc sérique selon le sexe au cours de l'infection palustre .....	73
<b>Figure 18</b> : Niveau de réduction du fer sérique selon le poids au cours de l'infection palustre .....	75
<b>Figure 19</b> : Niveau de réduction du cuivre sérique selon le poids au cours de l'infection palustre...	76
<b>Figure 20</b> : Niveau de réduction du zinc sérique selon le poids au cours de l'infection palustre.....	77
<b>Figure 21</b> : Courbe d'évolution des oligoéléments selon le portage parasitaire .....	79
<b>Figure 22</b> : Réduction du fer sérique selon la parasitémie par rapport aux témoins .....	80
<b>Figure 23</b> : Réduction du cuivre sérique selon la parasitémie par rapport aux témoins .....	81
<b>Figure 24</b> : Réduction du zinc sérique selon la parasitémie par rapport aux témoins .....	82

<b>Figure 25 :</b> Réduction du fer sérique selon la thrombopénie ou non au cours de l'infection palustre .....	84
<b>Figure 26 :</b> Réduction du cuivre sérique selon la thrombopénie ou non au cours de l'infection palustre .....	85
<b>Figure 27 :</b> Réduction du zinc sérique selon la thrombopénie ou non au cours de l'infection palustre .....	86
<b>Figure 28 :</b> Réduction du fer sérique selon l'anémie ou non au cours de l'infection palustre .....	89
<b>Figure 29 :</b> Réduction du cuivre sérique selon l'anémie ou non au cours de l'infection palustre.....	90
<b>Figure 30 :</b> Réduction du zinc sérique selon l'anémie ou non au cours de l'infection palustre.....	91
<b>Figure 31 :</b> Réduction du fer sérique selon l'anémie hypochrome ou non au cours de l'infection palustre .....	94
<b>Figure 32 :</b> Réduction du cuivre sérique selon l'anémie hypochrome ou non au cours de l'infection palustre .....	95
<b>Figure 33 :</b> Réduction du zinc sérique selon l'anémie hypochrome ou non au cours de l'infection palustre .....	96
<b>Figure 34 :</b> Réduction du fer sérique selon l'anémie microcytaire ou non au cours de l'infection palustre .....	97
<b>Figure 35 :</b> Réduction du cuivre sérique selon l'anémie microcytaire ou non au cours de l'infection palustre .....	98
<b>Figure 36 :</b> Réduction du zinc sérique selon l'anémie microcytaire ou non au cours de l'infection palustre .....	99
<b>Figure 37 :</b> Réduction globale des vitamines A et E sérique au cours de l'infection palustre .....	101
<b>Figure 38 :</b> Niveau de réduction de la vitamine A sérique selon l'âge au cours de l'infection palustre .....	104
<b>Figure 39 :</b> Niveau de réduction de la vitamine E sérique selon l'âge au cours de l'infection palustre .....	105
<b>Figure 40 :</b> Niveau de réduction de la vitamine A sérique selon le sexe au cours de l'infection palustre .....	107
<b>Figure 41 :</b> Niveau de réduction de la vitamine E sérique selon le sexe au cours de l'infection palustre .....	108
<b>Figure 42 :</b> Niveau de réduction de la vitamine A sérique selon le poids au cours de l'infection palustre .....	110
<b>Figure 43 :</b> Niveau de réduction de la vitamine E sérique selon le poids au cours de l'infection palustre .....	111

<b>Figure 44</b> : Courbe d'évolution des vitamines A et E selon le portage parasitaire .....	113
<b>Figure 45</b> : Réduction de la vitamine A sérique selon la biomasse parasitaire au cours de l'infection palustre .....	114
<b>Figure 46</b> : Réduction de la vitamine E sérique selon la biomasse parasitaire au cours de l'infection palustre .....	115
<b>Figure 47</b> : Réduction de la vitamine A sérique selon l'état des plaquettes au cours de l'infection palustre .....	117
<b>Figure 48</b> : Réduction de la vitamine E sérique selon l'état des plaquettes au cours de l'infection palustre .....	118
<b>Figure 49</b> : Réduction de la vitamine A sérique selon le profil hématologique des enfants paludéens par rapport aux témoins .....	120
<b>Figure 50</b> : Réduction de la vitamine E sérique selon le profil hématologique des enfants paludéens par rapport aux témoins .....	121
<b>Figure 51</b> : Réduction de la vitamine A sérique selon l'anémie microcytaire ou non des enfants paludéens par rapport aux témoins .....	124
<b>Figure 52</b> : Réduction de la vitamine E sérique selon l'anémie microcytaire ou non des enfants paludéens par rapport aux témoins .....	125
<b>Figure 53</b> : Réduction de la vitamine A sérique selon l'anémie hypochrome ou non des enfants paludéens par rapport aux témoins .....	126
<b>Figure 54</b> : Réduction de la vitamine E sérique selon l'anémie hypochrome ou non des enfants paludéens par rapport aux témoins .....	127

## **FIGURES EN ANNEXE**

<b>Figure i</b> : Régions du monde où le paludisme est endémique .....	A
<b>Figure ii</b> : Courbe d'étalonnage du fer .....	B
<b>Figure iii</b> : Courbe d'étalonnage du cuivre .....	C
<b>Figure iv</b> : Courbe d'étalonnage du zinc .....	D
<b>Figure v</b> : Courbe d'Etalonnage du Rétinol .....	E
<b>Figure vi</b> : Courbe d'Etalonnage du Rétinol acétate .....	F
<b>Figure vii</b> : Courbe d'Etalonnage du Tocophérol .....	G

## LISTE DES TABLEAUX

	<b>Pages</b>
<b>Tableau I :</b> Apports quotidiens recommandés en oligoéléments par groupe d'âge et teneur du corps humain.....	10
<b>Tableau II :</b> Seuils de taux d'hémoglobine en dessous desquels l'anémie est déclarée .....	41
<b>Tableau III :</b> Données hématologiques des sujets paludéens et non paludéens .....	62
<b>Tableau IV :</b> Valeurs moyennes globales de fer, de cuivre et de zinc de la population paludéenne et non Paludéenne .....	63
<b>Tableau V:</b> Valeurs moyennes d'oligoéléments sériques en fonction de l'âge des enfants paludéens et non paludéens .....	66
<b>Tableau VI :</b> Valeurs moyennes d'oligoéléments sériques en fonction du sexe des enfants paludéens et non paludéens .....	70
<b>Tableau VII :</b> Valeurs moyennes d'oligoéléments sériques en fonction du poids des enfants paludéens et non paludéens .....	74
<b>Tableau VIII :</b> Valeurs moyennes d'oligoéléments sériques selon la densité parasitaire .....	78
<b>Tableau IX :</b> Valeurs moyennes d'oligoéléments sériques des enfants paludéens et non paludéens selon l'état pathologique des plaquettes .....	83
<b>Tableau X :</b> Valeurs moyennes d'oligoéléments des enfants paludéens et non paludéens selon le profil hématologique .....	88
<b>Tableau XI :</b> Valeurs moyennes d'oligoéléments des enfants paludéens et non paludéens selon l'anémie hypochrome .....	92
<b>Tableau XII :</b> Valeurs moyennes d'oligoéléments des enfants paludéens et non paludéens selon l'anémie microcytaire .....	93
<b>Tableau XIII :</b> Valeurs moyennes globales des vitamines A et E de la population paludéenne et non Paludéenne .....	100
<b>Tableau XIV:</b> Valeurs moyennes des vitamines A et E en fonction de l'âge des sujets paludéens et témoins .....	103
<b>Tableau XV :</b> Valeurs moyennes des vitamines A et E en fonction du sexe des sujets paludéens et témoins .....	106
<b>Tableau XVI :</b> Valeurs moyennes des vitamines A et E sérique en fonction du poids des sujets paludéens et témoins .....	109
<b>Tableau XVII :</b> Valeurs moyennes des vitamines A et E selon la parasitémie .....	112
<b>Tableau XVIII :</b> Valeurs moyennes des vitamines A et E des sujets paludéens et non paludéens selon l'état pathologique des plaquettes .....	116

<b>Tableau XIX</b> : Valeurs moyennes des vitamine A et E sérique des sujets paludéens et non paludéens selon le profil hématologique .....	119
<b>Tableau XX</b> : Valeurs moyennes des vitamine A et E des sujets paludéens et non paludéens selon les valeurs de VGM .....	122
<b>Tableau XXI</b> : Valeurs moyennes des vitamines A et E des sujets paludéens et non paludéens selon les valeurs de la TCMH .....	123

# INTRODUCTION

Le paludisme est une maladie parasitaire endémo-épidémique provoquée par des protozoaires du genre *Plasmodium* (Mendis, 2001). Les espèces impliquées en pathologie humaine sont *Plasmodium falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. vivax* (Garnham, 1996) et récemment *P. knowlesi* qui constitue la cinquième espèce infectante (White, 2008). Cependant, *Plasmodium falciparum* reste l'une des causes majeures de morbidité et de mortalité chez les enfants en Afrique (Jeffrey, 2002 ; Mouchet *et al.*, 2004). Environ 300 à 500 millions de nouveaux cas de paludisme principalement dus à *Plasmodium falciparum*, sont observés chaque année dans le monde. L'on enregistre 90% de ces cas en Afrique subsaharienne avec 1,5 à 2,7 millions de décès (Mouchet *et al.*, 2004). Les principales victimes sont les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes (Snow, 1999; Greenwood, 2005).

En Côte d'Ivoire, le paludisme est le premier motif de consultation et d'hospitalisation et une des premières causes de mortalité infantile. Environ 3,5 millions d'enfants de moins de 5 ans sont exposés aux méfaits de cette affection avec 63000 décès par an dans les hôpitaux (Nzeyimana *et al.*, 2002).

Le parasite infeste à la fois les hépatocytes et les érythrocytes, mais la symptomatologie de la maladie est essentiellement associée à l'infection des globules rouges (Bannister *et al.*, 2000). Les globules rouges (cellules anucléées) dépourvus d'organites intra-cellulaires incapables de synthèse *de novo* ne disposent pas de machinerie d'endocytose. Le parasite à l'intérieur de ces globules rouges se trouve donc dans un environnement peu hospitalier, où pour survivre il a besoin de mettre en place des compartiments membranaires pour importer des nutriments du milieu extérieur. En outre, après digestion de l'hémoglobine, le parasite exporte de nombreuses protéines qu'il a lui-même synthétisées (Baunaure et Langsley, 2005).

Plus d'une trentaine de micronutriments (vitamines et minéraux) sont essentiels à la santé humaine, à la croissance et au développement de l'enfant (Abdulla *et al.*, 2003). Il s'agit entre autres : du zinc, du cuivre, du fer, du sélénium et de certaines vitamines comme la vitamine A et la vitamine E. Ces micronutriments interviennent dans l'organisme comme antioxydants (vitamines A, E et C), comme cofacteurs d'enzymes antioxydants (sélénium avec la glutathion peroxydase, zinc et cuivre avec la superoxyde dismutase) (Owuor, 2002 ; Holgrem, 2003). Les antioxydants protègent les membranes cellulaires contre la peroxydation des lipides créée par le flux d'espèces oxygénées activées (EOA) après intrusion dans l'organisme par l'agent pathogène (Valko, 2006). Outre la propriété anti-oxydante, la vitamine A joue également un rôle essentiel dans la division cellulaire, les réponses immunitaires, la vision, la reproduction et la santé générale de l'enfant (Semba 1998 ; Shankar, 2001 ; Villamor et Fawzi, 2005). Le fer est un



élément essentiel de l'hémoglobine qui assure le transport de l'oxygène dans la cellule. Il constitue un élément fondamental pour la survie de nombreux organismes vivants (Schaible et Kaufmann, 2004). Le zinc est un élément essentiel de la croissance et de la différenciation cellulaire. Il intervient dans le renforcement de l'immunité de l'enfant au même titre que la vitamine A et le fer (Semba 1998 ; Field *et al.*, 2002 ; Prasad, 2003).

Ces micronutriments qui participent au maintien de la santé de l'individu sont la cible du *Plasmodium* pour assurer son métabolisme et exprimer sa virulence à l'intérieur de l'organisme hôte (Baunaure et Langsley, 2005). Certains auteurs ont associé l'acquisition du paludisme, sa sévérité potentielle et les infections en général, aux fluctuations des concentrations sanguines des nutriments chez les enfants. Ainsi, il est possible, par exemple, de réduire les risques de survenue de la fièvre et des épisodes cliniques du paludisme grâce à une supplémentation en zinc (Seyrek *et al.*, 2005; Osey et Hamer, 2008; Zeba *et al.*, 2008) ; une protection contre les infections aiguës qui est possible par une déficience modérée en fer (Nyakeriga *et al.*, 2004 ; Wander *et al.*, 2009) ; la réduction du zinc, au cours des infections, qui augmente le rapport sanguin cuivre/zinc, exposant davantage le sujet au stress oxydant (Mezzetti *et al.*, 1998) ; la concentration de la vitamine A dans le sérum des enfants, qui montre une baisse au fur et à mesure que la parasitémie augmente (Rosales *et al.*, 2000 ; Alvarez *et al.*, 2004; Miguel et Malcom, 2009) ; une supplémentation en vitamine E qui entraîne une exacerbation du paludisme (Osey et Hamer, 2008). Aussi, la déficience de ces micronutriments conduit-elle à une anémie par une action sur le processus de l'érythropoïèse ou le système immunitaire (Nusseblatt et Semba, 2002 ; Zimmermann, 2007 ; Traber et Kamal, 2007).

Étant donné l'émergence de la résistance du parasite aux molécules antipaludiques usuelles et du vecteur anophèles femelles aux insecticides (Bremen, 2001 ; Owuor and Kong, 2002; Djaman *et al.*, 2004), il importe d'orienter nos recherches en faveur du renforcement des défenses naturelles de l'organisme afin de le protéger contre la virulence de l'agent pathogène, en général, et contre l'infection palustre, en particulier. Parmi les moyens capables de renforcer les défenses naturelles, nous pouvons citer les micronutriments. Ces nutriments non métaboliques jouent un rôle très important dans l'organisme et l'évaluation de leur taux au cours de l'accès palustre peut permettre de mieux comprendre les perturbations occasionnées par *Plasmodium falciparum*. Les résultats peuvent également permettre d'envisager des mesures correctives à prendre après ou au cours de la survenue du paludisme pour renforcer les défenses naturelles de l'organisme hôte.

## **OBJECTIF GENERAL**

Étudier l'influence de *Plasmodium falciparum* sur les concentrations sanguines en fer, cuivre, zinc et en vitamines A et E chez des enfants atteints de paludisme à *Plasmodium falciparum* en zone d'endémie ivoirienne.

## **OBJECTIFS SPECIFIQUES**

Déterminer selon une étude cas/témoin chez les enfants :

- l'influence de la présence du parasite sur les concentrations sanguines en fer, cuivre, zinc) et en vitamines A et E ;
- l'influence du portage parasitaire sur les concentrations sanguines en fer, cuivre, zinc et en vitamines A et E ;
- l'influence des états pathologiques des globules rouges et des plaquettes sur les concentrations sanguines en micronutriments.

# GENERALITES

## **I. Etat nutritionnel, infections et stress oxydant**

### **I.1. Notion d'état nutritionnel**

Les besoins nutritionnels d'un individu sont les quantités de nutriments indispensables au maintien d'un bon état de nutrition et de santé. Les nutriments importants sont, par exemple, les macronutriments (acides aminés, acides gras, ose simple, cholestérol et glycérol) et les micronutriments que sont les vitamines, les macroéléments (Ca, P, K, Na) et les oligoéléments (Dorosz, 2004). Les apports protéiques proviennent surtout des aliments d'origine animale ; par contre les micronutriments proviennent certes de ces aliments, mais également des fruits, légumes et légumineuses (Gerbouin et Dupin, 1993).

### **I.2. Relation nutrition - infection**

#### **I.2.1. Effet de l'état nutritionnel sur les infections**

Chez les enfants des pays en voie de développement, un état de malnutrition est couramment observé du fait d'un déséquilibre en micronutriments. Cette situation les expose davantage à des infections parmi lesquelles nous pouvons citer le paludisme et la tuberculose (OMS, 2005). Un nombre considérable d'études documentés sur des animaux de laboratoire et sur des êtres humains démontrent que les maladies liées aux carences nutritionnelles peuvent réduire la résistance de l'organisme face aux infections et avoir un impact négatif sur le système immunitaire (Eva *et al.*, 2007).

Chez un sujet souffrant de malnutrition, certains mécanismes de défenses naturelles de l'organisme sont altérés et ne fonctionnent donc pas correctement. Des enfants atteints de kwashiorkor, par exemple, sont incapables de fabriquer des anticorps suite à une vaccination contre la typhoïde ou la diphtérie toxoïde. Après une thérapie protéique, ils pourraient à nouveau réagir correctement. De la même façon, les enfants souffrant de malnutrition protéique ont une réaction immunitaire défectueuse quand on leur inocule le vaccin contre la fièvre jaune. Les enfants souffrant de kwashiorkor et de marasme montrent une inhibition de réaction agglutinante face à l'antigène du choléra. Ces études démontrent assez clairement qu'un organisme souffrant de malnutrition est moins apte à se défendre contre l'infection (Field *et al.*, 2002 ; Bhaskaram, 2002).

Un autre mécanisme de défense, en rapport avec la nutrition qui a fait l'objet d'étude, est la faible production de globules blancs capables de phagocytose (destruction des bactéries) chez les enfants malnutris souffrant du kwashiorkor. Dans ce cas, les cellules semblent avoir une capacité bactéricide intracellulaire moindre.

Bien que des enfants atteints de malnutrition aient fréquemment des taux d'immunoglobulines élevés liés à la récurrence des infections, ils peuvent avoir un affaiblissement de l'immunité à médiation cellulaire. Dans une étude récente, il a été montré que l'importance de cet affaiblissement était directement liée à la gravité de la malnutrition protéino-énergétique. Les taux de transferrines sériques sont également bas chez les enfants qui souffrent d'une malnutrition protéino-énergétique avancée, et ils mettent souvent beaucoup de temps à retrouver un taux normal, même après un régime alimentaire correct (OMS, 2005).

Une interaction entre nutrition et infection est observée dans les effets de certaines maladies de carence sur l'intégrité des tissus. La réduction de l'intégrité de certaines surfaces épithéliales, notamment la peau et les membranes muqueuses, diminue la résistance aux invasions et favorise l'accès aux organismes pathogènes. Nous pouvons citer la chéilite et la stomatite angulaire que l'on rencontre chez les sujets carencés en riboflavine ; les gencives saignantes et la fragilité capillaire chez les carencés en vitamine C ; la dermatose écailleuse et l'atrophie intestinale chez ceux qui ont une carence protéique avancée et enfin des lésions oculaires graves et des troubles de la vision chez les carencés en vitamine A.

### **I.2.2. Effets des infections sur l'état nutritionnel**

Les infections exercent une action néfaste sur l'état nutritionnel de l'hôte en provoquant des modifications physiologiques et anatomiques (OMS, 2005). Ces modifications se traduisent par des réactions d'ordre général comme la fièvre, la leucocytose et l'accroissement d'activité du cortex surrénal.

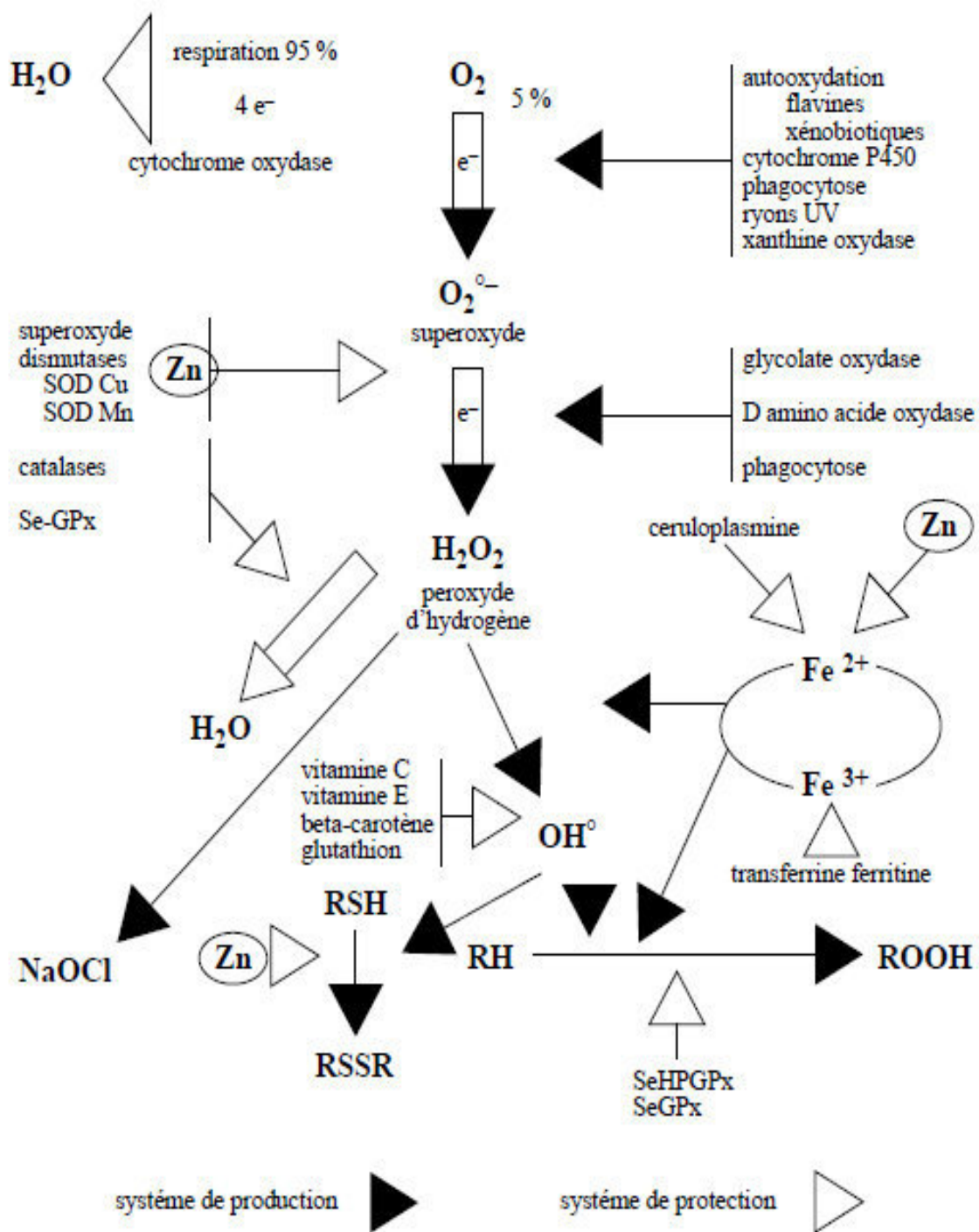
Les modifications de l'état nutritionnelle engendrées par les infections sont diverses. On note par exemple des infections qui entraînent une perte accrue en azote de l'organisme. La perte en azote est le résultat de plusieurs mécanismes comme, par exemple, la destruction accélérée des protéines tissulaires et la mobilisation des acides aminés du muscle. L'azote est excrété dans les urines et entraîne une fonte musculaire (Scrimshaw, 1968 ; Metzger *et al.*, 2001).

L'anorexie ou perte d'appétit est un autre facteur intervenant dans la relation infection/nutrition. En effet, lorsque les infections s'accompagnent de fièvre, elles entraînent souvent une perte d'appétit et donc une diminution de la ration alimentaire avec pour corollaire une baisse de l'absorption en micronutriments indispensables à l'organisme.

### **I.3. Infections et stress oxydant**

Le stress oxydant a été défini par Sies (1991), comme un déséquilibre prononcé entre antioxydants et pro-oxydants en faveur de ces derniers et de leurs effets potentiellement néfastes. En effet, les radicaux libres produits par l'organisme à la suite des infections, sont nuisibles aussi bien aux agents infectieux et à l'hôte, qui entraînent la peroxydation des membranes cellulaires de ce dernier (Valko *et al.*, 2006). Ainsi, pour se protéger des effets collatéraux de ces superoxydants, l'organisme va s'appuyer sur les molécules antioxydantes que sont les vitamines, les enzymes, les protéines et d'autres molécules (Owuor, 2002 ; Holgrem, 2003). L'action de ces molécules serait de prévenir les phénomènes oxydants à travers la transferrine, la ferritine, ou encore d'inactiver les formes réactives de l'oxygène (FROs) ou de réparer les lésions induites par les FROs (Kirschvink, 2001). Ce phénomène est présenté par la figure 1.

L'inactivation des formes réactives de l'oxygène (FROs) consiste à transformer les FROs en éléments stables, ou à capturer l'électron radicalaire. La transformation des FROs est assurée par : la catalase, la superoxyde dismutase et la glutathion peroxydase. La capture d'électron radicalaire est réalisée par des éléments hydrophiles d'une part (acide ascorbique, glutathion, etc.) et par des éléments hydrophobes tels que : la vitamine E, les caroténoïdes, les flavonoïdes, l'ubiquinol, la bilirubine et la mélatonine d'autre part. La réparation des lésions induites par les FROs est quant à elle, assurée par les endonucléases, les glycosylases, les enzymes protéolytiques.



**Figure 1:** Système de production, ou de protection contre les radicaux libres de l'oxygène (Favier et Maljournal, 1980)

## II. Micronutriments

### II.1. Oligoéléments

#### II.1.1. Définition

Les oligoéléments sont une classe de nutriments, éléments minéraux purs nécessaires à la vie d'un organisme, mais en quantités très faibles par rapport aux autres minéraux (masse inférieure à 1 mg/kg) (Dupin, 1992). Parmi ces oligoéléments, nous pouvons citer le fer, le cuivre, le zinc, le sélénium, le fluor, l'iode, le manganèse, le cobalt, le vanadium, le molybdène et le chrome (Abdulla *et al.*, 2003 ; Dorosz, 2004). Les apports quotidiens recommandés définis selon Favier et Maljournal (1980), et Ursell et Amanda (2001) sont présentés dans le tableau I.

**Tableau I :** Apports quotidiens recommandés d'oligoéléments par groupe d'âge et teneur en g/kg du corps humain

Oligo-éléments	Apports quotidiens recommandés (µg/j)				Teneur du corps (g/kg)
	(0-1 an)	(1-3 ans)	(4-8 ans)	(9-16 ans)	
Chrome	2	11	15	30	0,00002
Cobalt					0,00002
Cuivre	200	350	440	800	0,001
Fer	11000	7000	10000	10000	0,06
Fluor	100	700	1000	2500	0,037
Iode	130	90	90	130	0,0002
Manganèse	600	1200	1500	2200	0,0002
Molybdène	3	17	22	40	0,0001
Sélénium	15	20	30	40	0,0002
Zinc	3000	3000	5000	11000	0,033



## II.1.2. Rôles, distribution dans l'organisme et sources alimentaires des oligoéléments

### II.1.2.1. Fer

- **Rôles**

Le fer joue un rôle dans le transport et le stockage de l'oxygène, le métabolisme oxydatif, la prolifération cellulaire, et beaucoup d'autres processus physiologiques (Oppenheimer, 2001 ; 2004 ; Baunaure et Langsley, 2005 ; Lynch, 2007). Le fer intervient sous forme héminique et non héminique dans de nombreux compartiments de l'organisme et de nombreuses fonctions métaboliques (Figure 2a). Approximativement 75% du fer de l'organisme est présent au sein de composés métaboliquement actifs. Les 25% restants constituent une réserve dynamique continuellement renouvelée (Lynch, 2007).

- **Distribution dans l'organisme**

Le fer est l'oligoélément le plus prépondérant dans le corps humain. Soixante dix pourcents de la quantité de fer sont liés à l'hémoglobine qui joue un rôle essentiel dans l'organisme. En dehors de l'hémoglobine, c'est un constituant de la myoglobine de muscles et de nombreux enzymes.

- *Le fer fonctionnel*

Le fer héminique participe à la structure de l'hème (Figure 2b). Il est présent dans les globules rouges et incorporé à l'hémoglobine, dans les muscles et incorporé à la myoglobine et dans divers compartiments de l'organisme sous forme d'enzymes hémiques. Le fer non héminique est présent dans de nombreux enzymes.

- *Le fer de transport*

Le fer est transporté sous forme non héminique dans le plasma à travers une protéine d'origine hépatique : la transferrine ou la sidérophiline.

- *Le fer de stockage*

Le fer de réserve est séquestré dans une protéine spécifique, la ferritine (Figure 2b). Elle est disponible et facilement mobilisable en cas de besoin, notamment pour la synthèse de l'hémoglobine et pour le maintien de diverses fonctions cellulaires. Elle participe, en outre, à la régulation de l'équilibre en fer.

L'équilibre en fer de l'organisme est régulé par trois mécanismes homéostatiques situés au niveau érythropoïétique, des réserves et des apports alimentaires (Lönnerdal et Kelleher, 2007). Ces trois niveaux sont intégrés de manière à assurer le contrôle de l'absorption du fer et la protection contre à la fois la carence et la surcharge en fer.

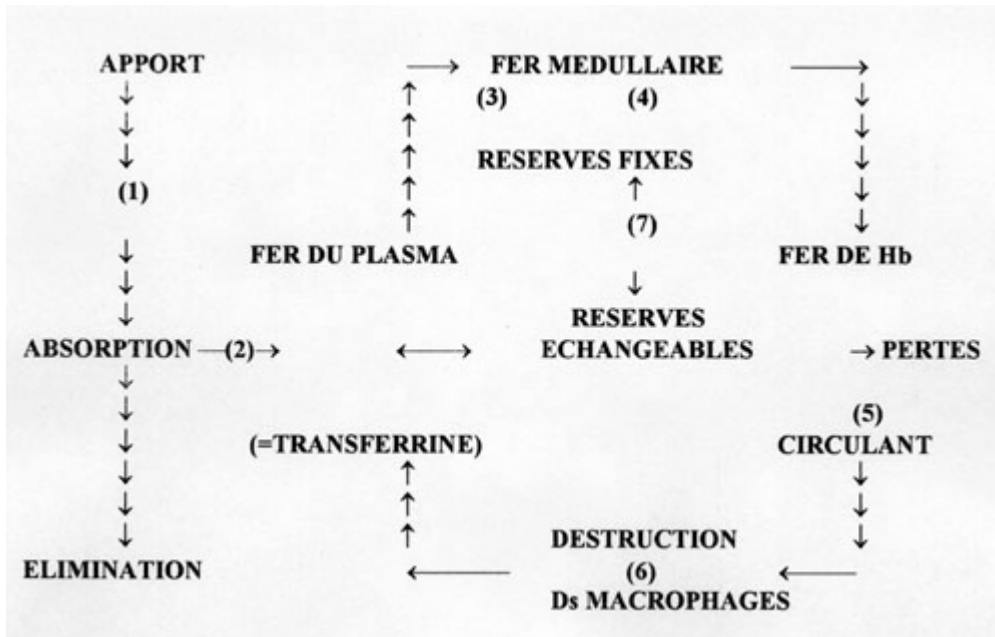


Figure 2a : Cycle du fer

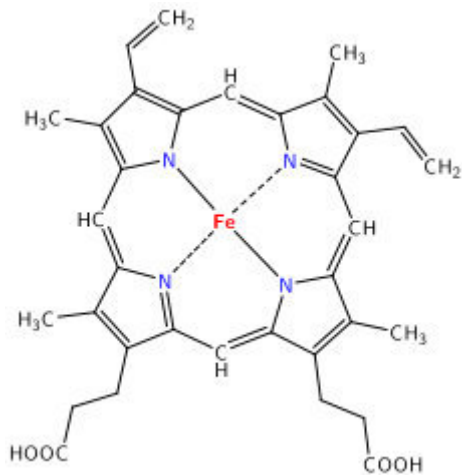


Figure 2b : Structure de l'hème

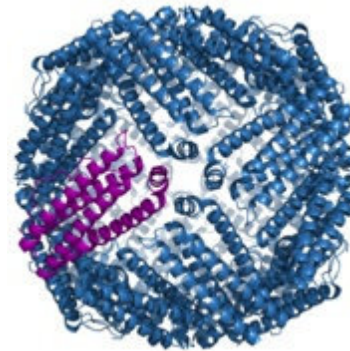


Figure 2c : Structure de la ferritine

**Figure 2** : Cycle de fer, structures de l'hème et de la ferritine (Granier *et al.*, 2003 ; Monsigny *et al.*, 2004)

- **Sources alimentaires**

Le fer est présent dans de nombreux aliments d'origine animale ou végétale. Les aliments les plus riches sont la viande (surtout le foie), le poisson, les œufs, les légumineuses (haricots secs, pois secs etc.) et les légumes à feuilles vertes. Les céréales comme le maïs, le riz ou le blé en contiennent peu. Le fer héminique est présent uniquement dans les aliments d'origine animale tandis que le fer non héminique existe à la fois dans les aliments d'origine animale et végétale. Le fer héminique possède une grande biodisponibilité intrinsèque à la différence du fer non héminique, dont la biodisponibilité est influencée par des facteurs activateurs (vitamine C, protéines etc.) et inhibiteurs (phytates, café, thé etc.) (Disler *et al.*, 1975 ; Monsen et Cook, 1979).

### II.1.2.2. Cuivre

- **Rôles**

Le cuivre est un des cofacteurs essentiels de la superoxyde dismutase (SOD) une enzyme antioxydante (Monsigny *et al.*, 2004 ; Muller et Kappes, 2007). Toutefois, au même titre que le fer, il joue en tant que métal dit de transition, un rôle important dans le déclenchement des réactions impliquées dans la formation d'espèces oxygénées activées (Abdulla *et al.*, 2003). Il intervient dans la prévention de l'anémie en association avec le fer (Zimmermann, 2007). Il assure l'intégrité du collagène et de l'élastine (solidité des os, des articulations, des cartilages, des artères et des veines). Au niveau du système nerveux, il assure l'intégrité de la myéline ; c'est un excellent anti-inflammatoire, antiviral et anti-infectieux. Les rapports cuivre-zinc peuvent influencer le métabolisme du cholestérol, les faibles rapports se traduisant par une hypercholestérolémie (Klevay, 1975 ; US, 1980).

- **Distribution dans l'organisme**

L'absorption du cuivre est essentiellement digestive (estomac, duodéno - jéjunum) et représente environ 50% du cuivre ingéré (US, 1980). Le cuivre traverse l'entérocyte lié à une protéine non spécifique, la métallothionéine. Cette protéine assure à la fois le transfert actif du métal et son élimination dans les fèces lors de la desquamation de la muqueuse. Elle joue un grand rôle dans l'homéostasie du cuivre en régulant son passage à travers la paroi intestinale. Le zinc essentiellement, le cadmium, les phytates et l'acide ascorbique diminuent le passage intestinal du cuivre par un mécanisme compétitif au niveau de l'absorption. La compétition est faite avec le zinc sur le site de fixation de la métallothionéine : protéine de petit poids moléculaire qui jouerait un rôle dans l'homéostasie du zinc et du cuivre (antagonisme zinc-cuivre).

Le cuivre est réparti par ordre croissant dans le foie, le cerveau, la rate, le cœur, les reins, le pancréas, les poumons et les os.

- **Sources alimentaires**

Les sources alimentaires sont principalement : les abats, les champignons crus, les enveloppes des noix, les amandes, les légumineuses, le blé et le riz complets.

### II.1.2.3. Zinc

- **Rôles**

Le zinc est un oligoélément essentiel pour la croissance et la différenciation cellulaire. Il joue un rôle majeur dans le renforcement du système immunitaire (Semba, 1998 ; Prasad, 2000 ; Brown *et al.*, 2001 ; Field *et al.*, 2002). Cet oligoélément est un des cofacteurs essentiels de la SOD au même titre que le cuivre (Owuor, 2002 ; Holgrem, 2003 ; Muller et Kappes, 2007). Le zinc protège également les groupements thiols des protéines qui réagissent très facilement avec les espèces oxygénées activées (Abdulla *et al.*, 2003). Le zinc peut inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre. À ce titre, l'analyse du rapport sanguin cuivre/zinc peut donner des indications intéressantes sur l'état de stress oxydant d'un individu.

Un déficit en zinc entraîne une sensibilité plus accrue au stress oxydant (Mezzetti *et al.*, 1998). Les concentrations normales plasmatiques du zinc se situent entre 0,70 et 1,20 mg/L. En raison du rôle capital du zinc pour la différenciation cellulaire, une carence en ce métal entraîne une altération de la fonction immunitaire et une réduction de la résistance aux infections.

- **Distribution dans l'organisme**

L'absorption a lieu au niveau du duodénum et du jéjunum. Le mécanisme exact est imparfaitement connu. Il semble, cependant, que le zinc soit capté par la bordure en brosse sous forme de complexe et que les prostaglandines jouent un rôle dans cette absorption. Le zinc se répartit ensuite dans la cellule intestinale où une partie est utilisée et se fixe sur les métalloenzymes ou sur des protéines membranaires, une partie est excrétée au niveau de la membrane basolatérale et l'autre partie est stockée sous forme de metallothionéines.

Le transport ne semble pas utiliser de protéine spécifique. Le zinc plasmatique existe sous forme liée à l'albumine (60%), liée de façon plus stable à l'alpha-2 macroglobuline (30 à 40%) et enfin sous forme ultra-filtrable (2 à 3%). Il est en définitive éliminé essentiellement dans les fèces.

Le corps humain contient environ 2,5 g de zinc et est réparti dans l'organisme en majorité au niveau du muscle (60%) et de l'os (30%) ; mais il y'en a aussi dans d'autres organes, notamment

la prostate, la rétine, le foie, la peau et les cheveux. Au niveau sanguin, on retrouve le zinc dans les hématies (80%), les leucocytes et les plaquettes (10%), le sérum (10%).

- **Sources alimentaires**

Les principales sources en zinc sont d'origine animale : viandes et poissons ; cependant on la trouve également dans les noix, les légumineuses, les légumes-feuilles.

#### **II.1.2.4. Autre exemple d'oligoélément : le sélénium**

- **Rôles**

Cet oligoélément participe au processus de défense contre les espèces oxydatives activées (EOA) en tant que cofacteur de la glutathion peroxydase (Monsigny *et al.*, 2004). Plusieurs études ont montré que des concentrations sériques en sélénium, inférieures à 45-50 µg/L, sont associées avec l'apparition de pathologies coronariennes. Les concentrations normales plasmatiques sont estimées à 94-130 µg/l. La concentration sérique en sélénium est 1,18 fois plus élevée que sa concentration plasmatique.

- **Distribution dans l'organisme**

L'absorption est quasi constante (80%). L'élimination est urinaire sous forme de triméthylsélénonium, mais une fraction importante (40%) est éliminée par le pancréas et se retrouve dans les fèces. Cette particularité est mise à profit en scintigraphie du pancréas par l'utilisation de sélénométhionine. En cas d'excès, une quantité non négligeable est éliminée par les voies respiratoires sous forme de diméthylsélénide, composé volatil qui donne à l'haleine une odeur, rappelant l'ail, caractéristique des syndromes d'intoxication. La plus forte concentration se trouve dans le cortex rénal et la moitié approximativement dans les muscles.

- **Sources alimentaires**

On trouve le sélénium dans l'œuf, les céréales complètes, la viande, le lait. La biodisponibilité est meilleure chez les produits animaux.

## **II.2. Vitamines**

### **II.2.1. Définition**

Les vitamines sont une classe de composés organiques de faible masse moléculaire, requis à l'état de trace dans certains processus métaboliques (Monsigny *et al.*, 2004).

On classe habituellement les vitamines en deux grands groupes : les vitamines hydrosolubles et les vitamines liposolubles. Les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) sont présentes dans les aliments réputés peu gras, alors que les liposolubles (vitamines A, D, E et

K) sont, quant à elles, présentes dans les aliments réputés gras (Monsigny *et al.*, 2004 ; Muller et Kappes, 2007).

## **II.2.2. Rôles, distribution dans l'organisme et sources alimentaires**

### **II.2.2.1. Vitamines hydrosolubles**

- **vitamine B1 (thiamine)**

- *Rôles*

Elle intervient dans la transformation de l'énergie des glucides (elle catalyse notamment la réaction qui donne l'acétyl-coenzyme A et le CO<sub>2</sub> à partir du pyruvate) dans le fonctionnement des cellules nerveuses et du cœur. La carence conduit au Béri-béri (polyneurite) (Monsigny *et al.*, 2004 ; Muller et Kappes, 2007).

- *Distribution dans l'organisme*

La forme phosphorylée de la vitamine est répartie dans les globules rouges, les leucocytes et dans les organes, tandis que la forme libre se trouve dans le plasma à faible concentration.

- *Sources alimentaires*

Les sources alimentaires sont les abats, le jaune d'œuf, les légumineux secs (lentilles, haricots), les produits à base de céréales complètes (pain, riz, pâtes, muesli), les fruits oléagineux (noix, amandes). L'apport journalier recommandé est de 1,2 mg.

- **vitamine B2 (riboflavine)**

- *Rôles*

Elle intervient dans la transformation de l'énergie des glucides, des lipides et des protides. Sa carence conduit à une dermatite (Monsigny *et al.*, 2004 ; Muller et Kappes, 2007).

- *Distribution dans l'organisme*

Elle est liée aux protéines plasmatiques sous la forme FMN et dans les cellules sous la forme FAD.

- *Sources alimentaires*

Les sources alimentaires sont les viandes et abats, les produits laitiers (lait, fromage), les légumes verts (épinards), la levure diététique. L'apport journalier recommandé est de 1,7 mg. Les mêmes fonctions sont définies pour les vitamines B3 (niacine), B5 (acide pantothénique), en ce qu'elles sont nécessaires au métabolisme des glucides, lipides et protéines et participent à la synthèse de certaines hormones.

- **vitamine B3 (niacine)**

- *Rôles*

Elle a un rôle d'oxydoréduction sous la forme NAD ou NADP.

- *Distribution dans l'organisme*

Elle est localisée dans les cellules sanguines et tissus, notamment dans le foie. La carence conduit au pellagre (dermite photosensible et troubles neurologiques).

- *Sources alimentaires*

On trouve principalement cette vitamine dans les légumineuses et la viande.

- **vitamine B5 (acide pantothénique)**

- *Rôles*

Elle intervient dans le métabolisme acétyl et autres acyles sous forme de coenzyme A. La carence conduit à des anomalies neurologiques.

- *Distribution dans l'organisme*

Elle intervient sous forme de coenzyme A intratissulaire dans le muscle, le cœur, le foie.

- *Sources alimentaires*

Elle est présente dans les œufs, les légumineuses (petits pois), le foie, le lait et les produits laitiers et la levure de boulanger.

- **vitamine B6 (pyridoxal)**

- *Rôles*

Elle intervient dans la synthèse des protéines (transamination). La carence conduit à une faiblesse, à la dépression et au désordre nerveux (Monsigny *et al.*, 2004 ; Muller et Kappes, 2007).

- *Distribution dans l'organisme*

Elle se présente sous forme de phosphate de pyridoxal dans le foie et le muscle.

- *Sources alimentaires*

Les sources alimentaires sont les abats, les viandes, le thon, le chou, les féculents (pommes de terre, maïs). L'apport journalier recommandé est de 2 mg.

- **vitamine B8 (biotine)**

- *Rôles*

Elle intervient dans la transformation de l'énergie des glucides, le renouvellement du glucose et l'élaboration des acides gras. La carence conduit à divers problèmes de la peau tels que les sécheresses comme si la peau était en écaille (Monsigny *et al.*, 2004 ; Muller et Kappes, 2007).

- *Distribution dans l'organisme*

Elle est présente dans le plasma sous forme libre et liée et dans les tissus sous forme d'enzyme à carboxybiotine.

- *Sources alimentaires*

Les sources alimentaires sont les abats, les produits laitiers (lait, yaourt), le jaune d'œuf, les légumes secs (lentilles), les céréales complètes (avoine, blé) et les fruits oléagineux (noix). L'apport journalier recommandé est de 0,25 mg.

- **vitamine B9 (acide folique)**

- *Rôles*

Elle intervient au niveau des globules rouges, de la synthèse des protéines et de l'ADN. La carence conduit à une anémie (Monsigny *et al.*, 2004 ; Muller et Kappes, 2007).

- *Distribution dans l'organisme*

Elle est présente sous forme de tétrahydrofolate méthylé, lié aux protéines plasmatiques et aux érythrocytes.

- *Sources alimentaires*

Les sources alimentaires sont les abats, les viandes, les œufs, les végétaux verts et les tomates, les céréales complètes et les bananes. L'apport journalier recommandé est de 1,5 mg.

- **vitamine B12 (cobalamine)**

- *Rôles*

Elle intervient au niveau de l'hémoglobine, des protéines, de l'ADN et du fonctionnement nerveux. La carence conduit à une anémie pernicieuse (Monsigny *et al.*, 2004 ; Muller et Kappes, 2007).

- *Distribution dans l'organisme*

Elle est présente dans le plasma sous forme de transcobalamine II et dans le foie sous forme de transcobalamine III.

- *Sources alimentaires*

Les sources alimentaires sont les abats, les viandes, les poissons, les œufs et les laitages. L'apport journalier recommandé est de 0,003 mg.

- **vitamine C (acide L-ascorbique)**

- *Rôles*

La vitamine C est un antioxydant qui participe à la résistance contre les infections et l'oxydation. C'est un cofacteur enzymatique impliqué dans un certain nombre de réactions physiologiques



(hydroxylation). Elle est requise dans la synthèse du collagène et des globules rouges et contribue au système immunitaire. Elle joue également un rôle dans le métabolisme du fer en tant que promoteur de son absorption. Elle participe à la structure des cartilages, des os, des dents et de la peau. L'acide ascorbique intervient également dans la synthèse hormonale, facilite l'absorption du fer et joue un rôle de protection des vitamines B12, A, E. Sa carence conduit au scorbut (Monsigny *et al.*, 2004 ; Muller et Kappes, 2007).

- *Distribution dans l'organisme*

Elle est présente libre et sous forme liée à l'albumine dans le plasma et à forte concentration dans les leucocytes.

- *Sources alimentaires*

Les sources alimentaires sont les fruits dont les agrumes en particulier, les fraises et les kiwis, les légumes (choux, salade). L'apport journalier recommandé est de 75 mg.

### II.2.2.2 Vitamines liposolubles

- **vitamine D (calciférol)**

- *Rôle*

Elle intervient dans la régulation du calcium et du phosphore, dans la croissance osseuse et au niveau de la contraction musculaire ; la carence conduit au rachitisme (Monsigny *et al.*, 2004 ; Muller et Kappes, 2007).

- *Distribution dans l'organisme*

Elle est présente dans le plasma.

- *Sources alimentaires*

Les sources alimentaires sont les viandes de volaille, le foie, les poissons et les produits laitiers (beurre, lait) et les œufs. L'apport journalier recommandé est de 0,02 mg.

- **vitamine K (phylloquinone)**

- *Rôles*

Elle intervient dans la calcification des os et des facteurs de coagulation sanguine. Sa carence conduit à une hémorragie.

- *Distribution dans l'organisme*

Elle est liée aux lipoprotéines plasmatiques et possède un cycle entéro-hépatique.

- *Sources alimentaires*

Les sources alimentaires sont les poissons, le foie, les œufs, les légumes verts (salade, épinards), les céréales. L'apport journalier recommandé est de 1 mg.

- **vitamine A (rétinol)**

- *Rôles*

Elle joue un rôle essentiel dans la division cellulaire, les réponses immunitaires, la vision, la reproduction et la santé générale de l'enfant et possède des propriétés antioxydantes (Semba *et al.*, 1998 ; Shankar, 2001 ; Villamor et Fawzi, 2005). Par dégradation, certains caroténoïdes comme le  $\beta$ - carotène servent de précurseurs à la vitamine A. La plupart des caroténoïdes et vitamine A interagissent avec l'oxygène singulet et peuvent ainsi empêcher l'oxydation de plusieurs substrats biologiques dont les acides gras polyinsaturés (Gey *et al.*, 1993).

La carence conduit à une xérophtalmie et une hyperkératose.

- *Biosynthèse et distribution dans l'organisme*

L'organisme animal scinde le carotène et il apparaît le rétinol, aldéhyde de la vitamine A qui peut ensuite être réduit en alcool pour donner le rétinol (vitamine A) figure 3.

En effet, la vitamine A ne provient que de l'une des moitiés de la molécule d' $\alpha$ -carotène ou de  $\gamma$ -carotène. Dans un cas, une moitié ( $\alpha$ -carotène) a la double liaison du cycle dans une position différente, et dans l'autre cas, elle n'a pas de cycle du tout ( $\gamma$ -carotène). Ainsi, le  $\beta$ -carotène pourrait théoriquement fournir deux molécules de vitamine A, mais en réalité la coupure initiale ne se fait pas au milieu de la molécule, de sorte qu'une molécule de  $\beta$ -carotène ne donne également qu'une molécule de vitamine A (Weil, 2001).

La vitamine A est libérée dans le plasma par le foie, sous forme liée à la rétinol-binding-protein (la RBP). Le complexe ainsi formé dans le plasma est nécessaire à la formation d'un complexe ternaire, le rétinol-RBP-albumine (ou transthyrétine), qui fixe la thyroxine (Vassault, 1996). La RBP est éliminée sous forme libre par la filtration glomérulaire. Dans les cellules des tissus cibles, le rétinol et ses dérivés se fixent sur des transporteurs tels la CRBP (cellular retinol binding protein) et la CRABP (cellular retinoid acid-binding protein). Le rôle de ces transporteurs serait de permettre le passage du rétinol et de l'acide rétinoïque dans le noyau. Dans le noyau, on trouve des récepteurs à l'acide rétinoïque dont la retinoic acid receptor (RAR) de type  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ , la retinoic X receptor  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  (RXR) et les retinoic acid responsive elements (RARE) figure 3. Au niveau de la rétine, le rétinol est lié à l'opsine et forme la rhodopsine. Le catabolisme et l'élimination de la vitamine A sont mal connus (Allain, 2004). La prise, même excessive de caroténoïdes ne provoque pas d'hypervitaminose A. Approximativement 90% de la vitamine A sont conservés dans le foie. L'absorption digestive des caroténoïdes est incomplète et leur transformation en vitamine A est régulée.

### - Sources alimentaires

Les sources alimentaires sont les abats, les viandes, les poissons gras (thon), les produits laitiers (lait, beurre, fromages), jaune d'œuf et les légumes sous forme d'un précurseur (provitamine A). Les caroténoïdes dans les carottes ; les mangues et les papayes sont également des sources de vitamine A (Miguel et Malcolm, 2009). L'apport journalier recommandé est de 2,7 mg.

### • vitamine E (tocophérol)

#### - Rôles

Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant (Figure 4). Elle participe avec de nombreuses autres substances à la lutte contre les formes réactives de l'oxygène (FROs), à savoir les radicaux libres et les éléments non radicalaires produits lors de la formation de radicaux libres (Muller et Kappes, 2007). De tous les tocophérols, ce sont l'alpha et le gamma-tocophérol qui possèdent les propriétés antioxydantes les plus intéressantes (El-Sohemy *et al.*, 2002 ; Cuvelier *et al.*, 2003). La carence conduit à une exposition aux stress oxydants.

#### - Biosynthèse et distribution dans l'organisme

La vitamine E regroupe la famille des tocophérols dont : l' $\alpha$ -tocophérol, qui est la vitamine E proprement dite, le  $\beta$ -tocophérol, le  $\gamma$ -tocophérol et le  $\delta$ -tocophérol (Evans *et al.*, 1936). La vitamine E, selon la commission sur la nomenclature biochimique regrouperait, en outre, la famille des tocotriénols : l' $\alpha$ -tocotriénol, le  $\beta$ -tocotriénol, le  $\gamma$ -tocotriénol et le  $\delta$ -tocotriénol (Pennock *et al.*, 1964 ; Anonyme, 1982).

La biosynthèse de la vitamine E s'effectue dans les plantes, les algues et certaines plantes non photosynthétiques telles que les champignons mais pas chez les animaux (Threlfall, 1971). Il existe deux voies de synthèse conduisant à la formation de la vitamine E : la voie des tocotriénols et la voie des tocophérols (Jamiszowska et Pennock, 1976) ; figure 5.

Dans la voie des tocotriénols, l'acide homogentisique réagit avec une molécule de géranylgeranyl pyrophosphate pour donner un intermédiaire : le 6-géranylgeranyltoluquinol qui donnera le tocotriénol monométhylé, le  $\delta$ -tocotriénol. Des méthylations vont s'en suivre pour former le  $\beta$ -tocotriénol, le  $\gamma$ -tocotriénol et l' $\alpha$ -tocotriénol. La chaîne latérale sera ensuite saturée pour donner l' $\alpha$ -tocophérol (Jamiszowska et Pennock, 1976).

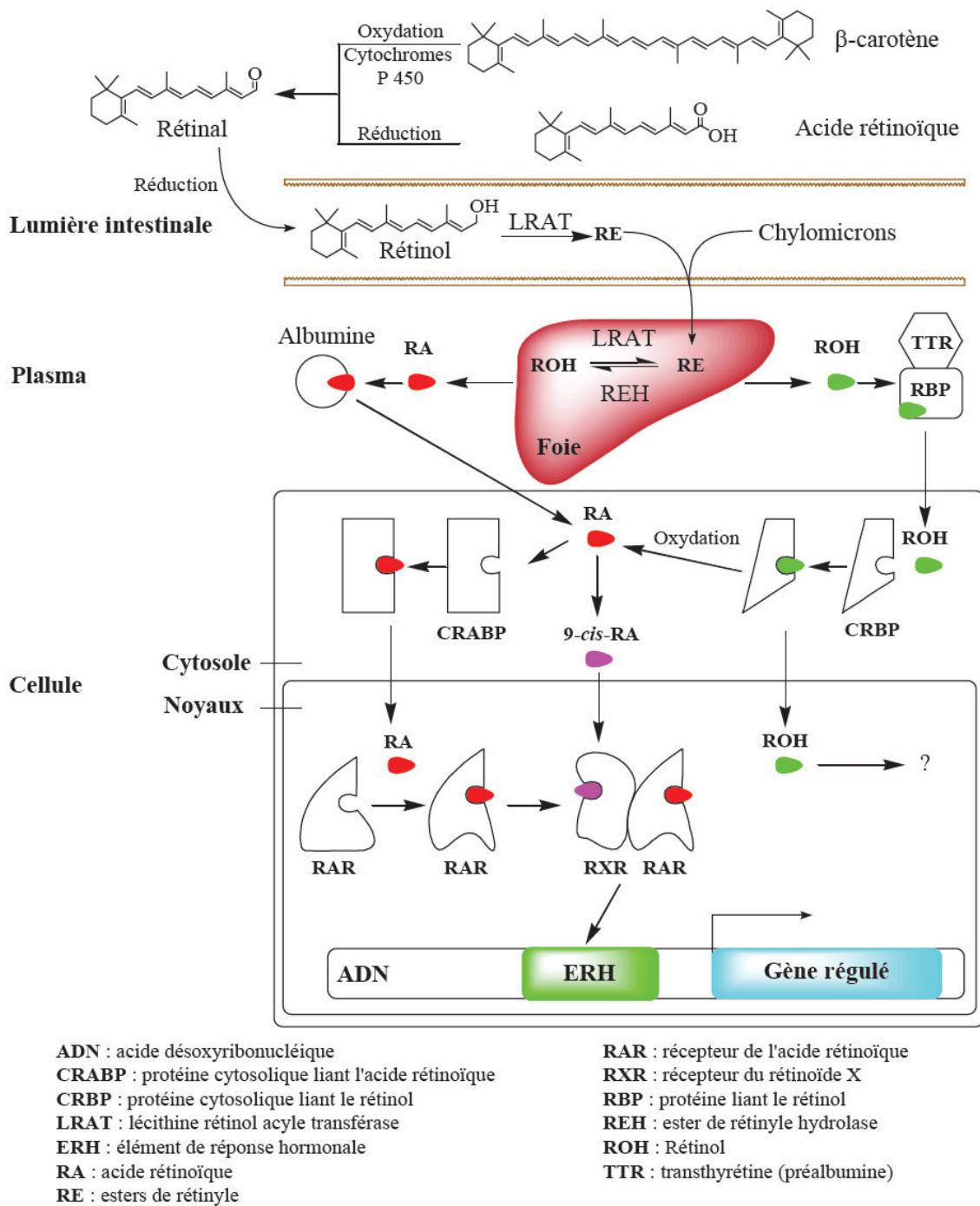
Dans la voie des tocophérols, une molécule de phytyl diphosphate est greffée sur le carbone 6 de l'acide homogentisique simultanément à une réaction de décarboxylation pour former le 2-méthyl-6-phytylplastoquinol ou phytyltoluquinol. Une méthylation en position 3 permet la

synthèse du 2,3-diméthyl-6-phytylplastoquinol qui va subir une étape de cyclisation pour former le  $\gamma$ -tocophérol. Une deuxième méthylation en position 5 permet d'obtenir l' $\alpha$ -tocophérol. La synthèse du  $\delta$ - et du  $\beta$ -tocophérol non encore clairement élucidée semble se produire à partir du 2-méthyl-6-phytylplastoquinol (Hirschberg, 1999).

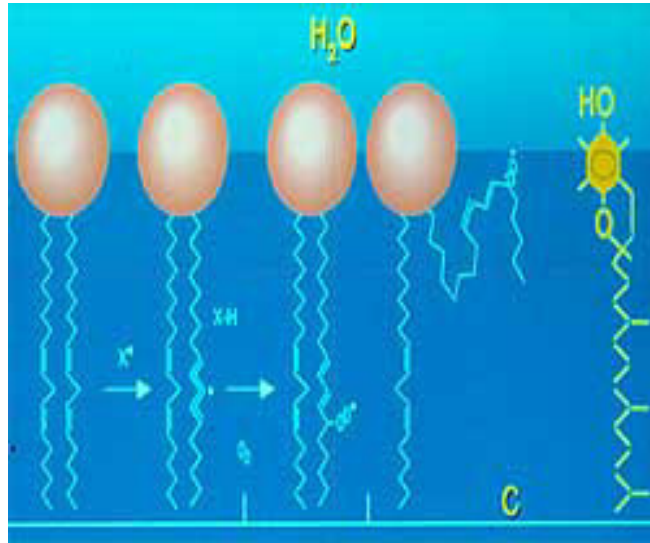
Elle est présente sous forme de lipoprotéines plasmatiques et dans les membranes cellulaires.

- *Sources alimentaires*

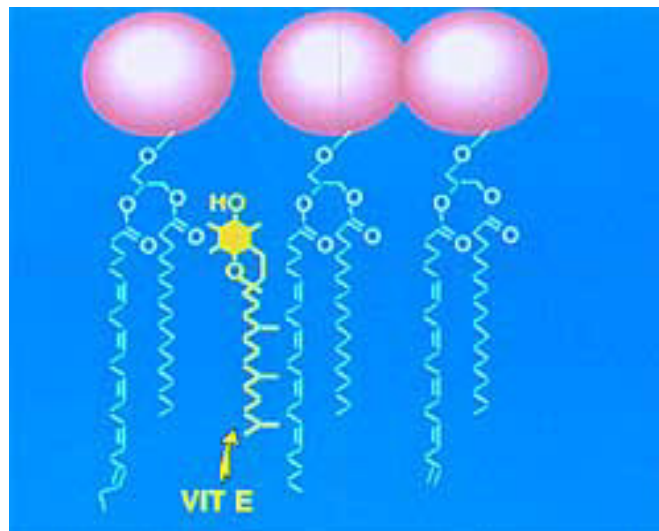
Les sources alimentaires sont d'origines végétale et animale (Artur *et al.*, 1994 ; Bonvehi *et al.*, 2000). Les produits d'origine végétale constituent la source majeure de vitamine E avec de fortes concentrations dans les céréales et les huiles (Bonvehi *et al.*, 2000 ; Surai 2002). Les céréales contiennent généralement les 4 formes de tocophérol et très souvent aussi des tocotriénols, tandis que les huiles végétales constituent la meilleure source de tocophérols/tocotriénols. L'apport journalier recommandé est de 5 mg.



**Figure 3** : Obtention, stockage et utilisation des rétinoïdes naturels

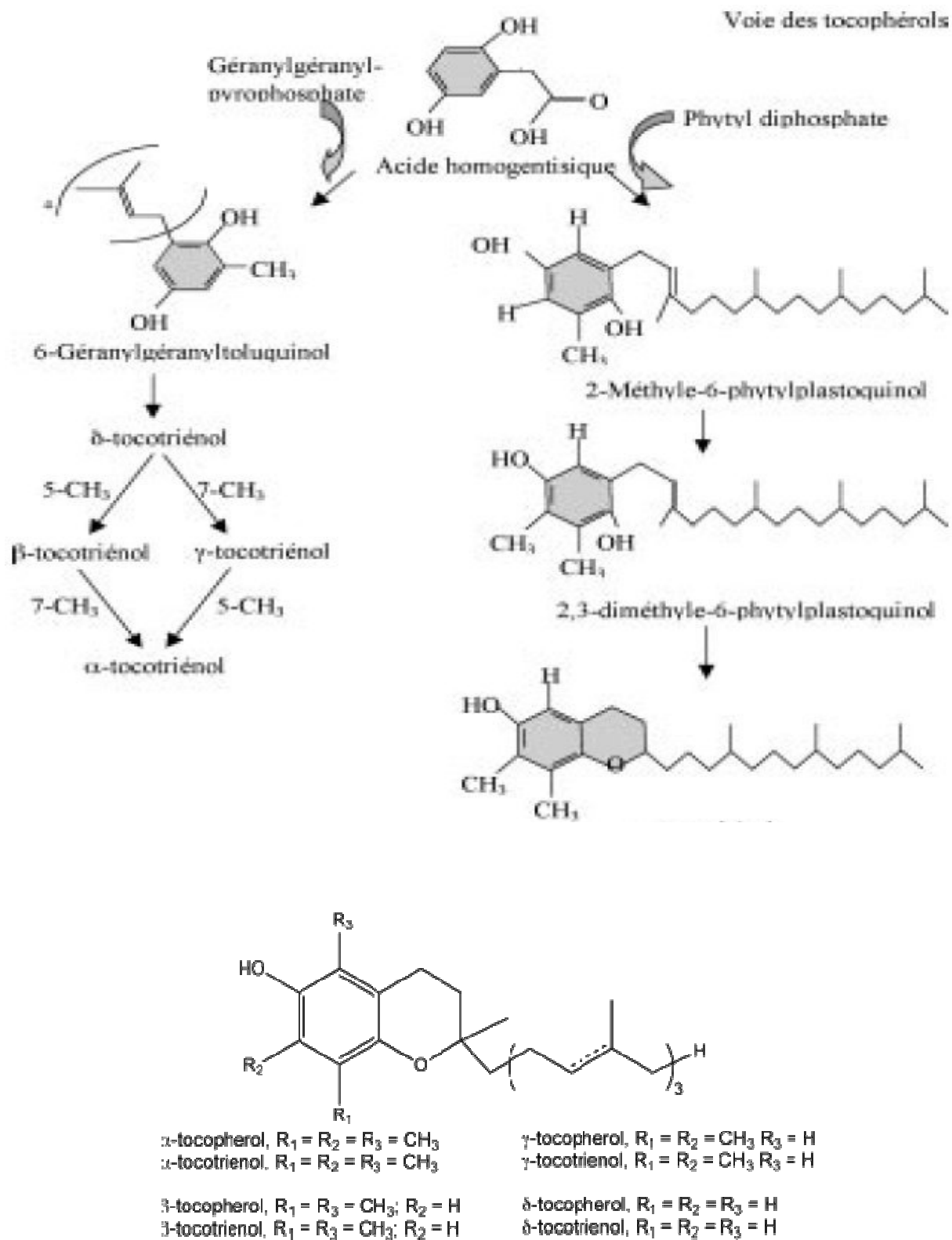


Destruction membranaire par attaque des espèces oxygénées activées (EOA)



Insertion de la vitamine E au sein de la membrane plasmique

**Figure 4 :** Destruction membranaire par attaque des espèces oxygénées activées (EOA) et insertion de la vitamine E au sein de la membrane plasmique (El-Sohemy *et al.*, 2002)



**Figure 5 :** Biosynthèse du tocophérol

### II.3. Techniques de dosage des oligoéléments et vitamines

A l'instar des techniques de dosage du fer qui incluent la mesure de la ferritine, du taux de l'hémoglobine et de la protoporphyrine (Biesalski et Erhardt, 2007); la méthode de référence de dosage des oligoéléments est la spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA) (Jacobson et Lockitch, 1988 ; OMS *et al.*, 2007).

Les valeurs sériques normales du fer sont chez l'enfant : 30-150 µg/L ; chez l'adulte : 60-190 µg/L (Blacque *et al.*, 1991 ; Vassault, 1996 ; Dorosz, 2004). Les concentrations du cuivre sérique en mg/100 mL selon l'âge sont : 0-mois (20-70 µg/L) ; 6 mois-5 ans (30-150 µg/L) ; 6-14 ans (90-240 µg/L) et chez l'adulte : 100-140 µg/L. Les valeurs normales de zinc sérique sont de 0,5 à 1,5 mg/L.

Par ailleurs, outre les techniques de dosages microbiologiques, immunologiques, colorimétriques, chromatographie sur couche mince et de chromatographie en phase gazeuse que suscitent les vitamines, la méthode de référence est la chromatographie liquide à haute performance (CLHP). Cette technique nécessite en effet une préparation moins fastidieuse des échantillons et des conditions de température de colonne moins élevées, évitant ainsi la perte de composés labiles. (Catignani, 1983 ; Abidi, 2000).

Le dosage de la vitamine A (rétinol) dans le sérum ou le plasma reste largement utilisé comme un indicateur pour l'évaluation du statut d'un individu en cette vitamine (West, 2002). Ainsi, une concentration inférieure à 20µg/dL est considérée comme un état de déficience en cette vitamine chez les enfants (Jason *et al.*, 2002 ; Oelofse *et al.*, 2002 ; Ash *et al.*, 2003).

Les concentrations normales de la vitamine E dans le sérum se situent entre 5 et 20 mg/L. Chez les adolescents, cette concentration se situe entre 3 et 15 mg/L (Dametriou *et al.*, 1974).

Il existe plusieurs méthodes de détection couplées à l'étude des vitamines à savoir : les détecteurs à diffusion de lumière (ELSD), les détecteurs ultraviolets (UV), les détecteurs de fluorescence (FL) et les détecteurs électrochimiques (ED).

Les limites de détection de la vitamine E dans le sérum ou dans le plasma sont variables et de l'ordre de : 0,8 mg/L (Catignani *et al.*, 1983) ; 0,5 µg/mL (Lee *et al.*, 1992) ; 2,5 µg/mL (Zaman *et al.*, 1993) ; et 0,2 µg/mL (Sowell *et al.*, 1994).



### II.3.1. Spectrométrie d'absorption atomique

La spectrométrie atomique étudie les émissions ou absorptions de lumière par l'atome libre, c'est-à-dire lorsque celui-ci voit son énergie varier au cours d'un passage d'un de ses électrons d'une orbite électronique à une autre. Généralement, seuls les électrons externes de l'atome sont concernés. Ce serait le cas si les énergies mises en jeu sont modérées.

Les principales techniques mettant en jeu la spectrométrie utilisée en analyse chimique sont : l'émission d'arc ou d'étincelle (analyse qualitative préalable), l'émission de flamme et l'absorption atomique (analyse quantitative des éléments à faibles teneurs) (Pinta, 1980).

- **Principe**

L'absorption des radiations électromagnétiques des régions visibles et UV du spectre par les atomes libres résulte d'un changement dans la structure électronique. On l'observe lorsque la radiation caractéristique (de résonance en général) d'un élément passe dans un nuage de vapeur atomique de l'échantillon. L'échantillon est vaporisé par aspiration de la solution dans une flamme ou par évaporation d'une surface chauffée électriquement.

- **Loi d'absorption en absorption atomique**

L'intensité de l'absorption dépend directement du nombre de particules absorbant la lumière selon la loi de Beer Lambert où l'absorbance est proportionnelle au coefficient d'absorption spécifique  $a$ , au trajet optique  $b$  et à la concentration  $C$ .

$$A = abc$$

$A = \log I_0/I$ .

$I$  = intensité après absorption par les atomes

$I_0$  = intensité initiale de la source lumineuse

Cependant en pratique, cette relation n'est pas toujours vérifiée. On n'obtient pas toujours une droite d'étalonnage. C'est le cas si la concentration devient trop élevée. La gamme de dosage est le domaine dans lequel la droite d'étalonnage est pratiquement une droite. Il est limité pour les faibles concentrations par la limite de détection et pour les fortes concentrations par l'erreur sur la fidélité. La gamme de dosage est généralement donnée par le constructeur. Elle dépend de la raie de dosage utilisée.

- **Perturbations**

Un certain nombre de phénomènes peuvent entacher d'erreurs les résultats obtenus. On leur a donné le nom général de perturbations (ou interférences ou interactions). On peut les classer en perturbations spectrales, physiques, chimiques, d'absorption non spécifique.

Les perturbations spectrales : elles s'observent lorsqu'une raie d'absorption d'un composant de la matrice coïncide avec la raie d'émission de résonance de la source.

Les perturbations physiques : il s'agit essentiellement des phénomènes de viscosité et de tension superficielle. Une faible viscosité et une faible tension superficielle conduiront pour une même concentration à des valeurs de l'absorbance plus élevées.

Les perturbations chimiques : les atomes présents dans la flamme n'absorbent que s'ils sont à l'état fondamental. S'ils sont excités ou ionisés, ils n'absorberont pas. Par ailleurs s'ils forment avec les atomes et radicaux présents dans la flamme des oxydes, hydroxydes, des hydrures, ils ne contribueront pas à l'absorption.

Les perturbations d'absorption non spécifiques : elles sont dues à la présence dans la flamme de molécules qui absorbent l'énergie de la lampe à cathode creuse. Cette absorption moléculaire s'ajoute à l'absorption atomique et donne une réponse par excès.

- **Appareillage**

Le dispositif expérimental utilisé en absorption atomique se compose d'une source, la lampe à cathode creuse, d'un brûleur et d'un nébuliseur, d'un monochromateur et d'un détecteur relié à un amplificateur et un dispositif d'acquisition.

La lampe à cathode creuse

La lampe à cathode creuse est constituée par une enveloppe de verre scellée et pourvue d'une fenêtre en verre ou en quartz contenant une cathode creuse cylindrique et une anode. La cathode est constituée de l'élément que l'on veut doser. Un vide poussé est réalisé à l'intérieur de l'ampoule qui est ensuite remplie d'un gaz rare (argon ou néon) sous une pression de quelques mm de Hg. Lorsqu'on applique une différence de potentiel de quelques centaines de volts entre les deux électrodes, une décharge s'établit. Le gaz rare est alors ionisé et ces ions bombardent alors la cathode, arrachant des atomes à celle-ci. Ces atomes sont donc libres et sont excités par chocs : il y a émission atomique de l'élément constituant la cathode creuse.

La particularité du rayonnement ainsi émis est qu'il est constitué de raies très intenses et très fines.

Le nébuliseur

L'échantillon à analyser est en solution. Celle-ci est aspirée au moyen d'un capillaire par le nébuliseur. À l'orifice du nébuliseur, du fait de l'éjection d'un gaz à grande vitesse, il se crée une dépression (effet Venturi). La solution d'analyse est alors aspirée dans le capillaire et à la sortie, elle est pulvérisée en un aérosol constitué de fines gouttelettes. Cet aérosol pénètre alors dans la

chambre de nébulisation dont le rôle est de faire éclater les gouttelettes et d'éliminer les plus grosses. Ce brouillard homogène pénètre alors dans le brûleur.

### La flamme - atomisation

L'aérosol pénètre dans le brûleur puis dans la flamme. Au bout d'un certain parcours au seuil de la flamme, le solvant de la gouttelette est éliminé, il reste les sels ou particules solides qui sont alors fondus, vaporisés puis atomisés.

La flamme air/acétylène est la plus répandue et permet de réaliser le dosage de nombreux éléments. Sa température est de 2500°C environ. La flamme N<sub>2</sub>O/acétylène (protoxyde d'azote) est utilisée pour certains éléments qui forment des oxydes réfractaires particulièrement solides et qui ne sont pas atomisés par la flamme air/acétylène. À la place d'une flamme, on peut également utiliser un four cylindrique en graphite pour atomiser l'échantillon.

### **II.3.2. Chromatographie liquide à haute performance**

L'abréviation CLHP signifie indifféremment chromatographie liquide à haute performance ou à haute pression. Les deux termes désignent la même technique mais l'un est employé par les constructeurs de matériel qu'elle requiert tandis que l'autre l'est par ses utilisateurs.

La CLHP a pour but plus qu'une analyse quantitative que qualitative car il paraît difficilement envisageable de balayer tout l'intervalle de longueurs d'onde accessible pour détecter n'importe quel produit contenu dans la solution étudiée.

- **Principe**

Le principe de la chromatographie est la séparation d'un mélange de composés purs (visualisés sous forme de pics), par interaction différenciée avec un support. L'échantillon est véhiculé par la phase mobile (un mélange de solvants), et séparé sur la phase stationnaire (un composé chimique greffé sur la silice et renfermé dans une colonne) (Lindroth et Mopper, 1979).

- **Applications**

La chromatographie liquide haute performance est très utilisée dans tous les domaines de la chimie analytique. Elle permet l'analyse soit de substances thermiquement instables, puisque l'opération s'effectue à température ambiante, soit de substances peu volatiles de masse moléculaire pouvant atteindre 2000, soit encore de substances ionisées.

C'est une méthode "douce" avec les molécules. Les molécules d'intérêt biologique comme les vitamines, les sucres et les acides aminés peuvent être analysés directement sans passer par la formation de dérivés, et la séparation de protéines et de polymères synthétiques peut être réalisée, même si leur masse est élevée.

- **Description et fonctionnement des organes**

Dans toute CLHP on retrouvera toujours les éléments de base suivants :

Un ou plusieurs réservoirs

Ils contiennent une phase mobile contenant, soit des solvants purs, soit des mélanges de solvants dans des concentrations connues.

Une pompe

Elle force la phase mobile à traverser la colonne dont la phase fixe est très compacte.

Un système d'injection

Il comporte une boucle d'échantillonnage calibrée (généralement une vanne RHEODYNE). C'est un injecteur à boucles d'échantillonnage. Le système de la boucle d'injection permet d'avoir un volume injecté constant, ce qui est important pour l'analyse quantitative

Une colonne remplie en acier inox de quelques centimètres de long

Elle est la partie active du système, c'est elle qui joue le rôle prépondérant. La colonne est un cylindre calibré généralement en acier inoxydable parfois doublé d'un matériau inerte (verre ou plastiques spéciaux).

Un détecteur

Il permet à la fois de mettre en évidence la sortie des solutés de la colonne et de donner un signal proportionnel à la quantité de chacun de ces solutés dans un mélange. Les détecteurs font le lien entre le phénomène physico-chimique et sa représentation visuelle qui en permet l'étude.

Un ordinateur ou un intégrateur

Il permet de récupérer toutes les données issues des détecteurs, tracer les chromatogrammes, intégrer la surface des pics, imprimer un rapport d'analyse donnant les temps de rétentions et les surfaces de chaque pic.

Dans cette étude, le calcul des concentrations des vitamines de l'échantillon s'est fait en tenant compte des concentrations des solutions standards et des surfaces de pic des vitamines et des étalons internes.

### **III. Sang et transport des nutriments dans l'organisme**

#### **III.1. Définition**

Le sang est un liquide épais et visqueux constitué principalement du plasma qui est la partie liquide et de cellules (globules rouges, globules blancs, plaquettes) qui lui donnent son aspect épais et visqueux comme montré sur la figure 6 (Don *et al.*, 2002).

#### **III.2. Rôle des principaux constituants du sang**

##### **- globules rouges ou hématies**

Les globules rouges portent aussi le nom d'hématies ou d'érythrocytes. Ce sont des cellules anucléées (chez les humains) ayant la forme d'un disque et de couleur rouge. Elles servent au transport de l'oxygène. Chaque globule rouge contient 280 millions de molécules d'hémoglobine qui est un pigment respiratoire.

##### **- globules blancs ou leucocytes**

Les globules blancs portent aussi le nom de leucocytes. Ce sont des cellules incolores et nucléées. Elles servent à combattre les infections (ou maladies) de l'organisme, c'est pourquoi leur nombre peut augmenter considérablement en situation d'infection. Les macrophages et les lymphocytes B et T sont des globules blancs très importants.

##### **- plaquettes sanguines**

Les plaquettes sanguines encore appelées thrombocytes sont des fragments de cellules formées dans la moelle osseuse qui jouent un rôle très important dans la coagulation du sang par l'intermédiaire de la fibrine. La fibrine est une protéine qui aide à la formation de caillot sanguin nécessaire à l'arrêt du saignement (l'hémostase primaire). Les plaquettes ne possèdent pas de noyau et leur durée de vie est d'environ 8 à 10 jours. De plus, le lieu de dégradation des thrombocytes est la rate.

##### **- phase liquide du sang (sérum ou plasma)**

Le plasma est constitué principalement d'eau à 91,5% ; de 7% de protéines telles que l'albumine, les globulines, le fibrinogène ; les 1,5% restants sont des nutriments, des hormones, du gaz dissous et des électrolytes). Il contient des substances qui sont très importantes pour le maintien du bien être de l'organisme et permet le transport du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) qui s'y dissout.

##### **- nutriments dans le plasma**

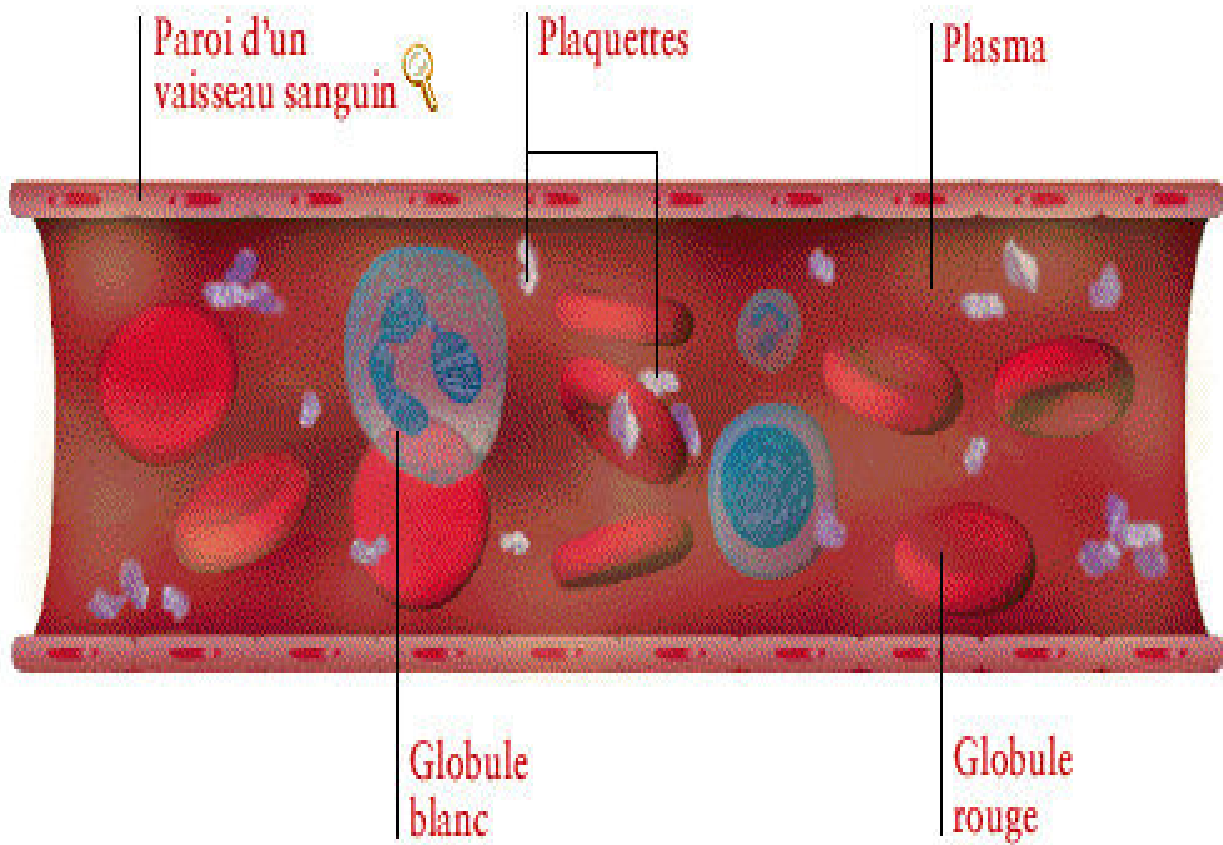
En dehors de ces quatre constituants majeurs du sang, il est également important de savoir que suite à l'absorption intestinale, nous retrouvons dans le sang : les acides aminés, les acides gras, le glycérol, les monosaccharides, les éléments minéraux, les vitamines etc. Ces nutriments, en

transit dans le plasma, vont servir à la satisfaction des différents besoins de synthèse et de production d'énergie des cellules.

### **III.3. Autres fonctions du sang**

Le sang est appelé aussi «tissu conjonctif» à cause de son rôle de lien entre les cellules et les organes. Ainsi il intervient dans :

- la distribution des substances dans tout l'organisme (ex : hormones, nutriments) ;
- l'absorption des nutriments issus de la digestion des aliments et de toutes cellules de l'organisme ;
- l'évacuation des déchets comme l'acide urique et les ions provenant des cellules et les achemine vers les reins où ils sont évacués dans l'urine ;
- la distribution des hormones des glandes aux organes cibles.



**Figure 6 :** Schéma d'un vaisseau sanguin avec à l'intérieur les constituants du sang  
(Don *et al.*, 2002)

## **IV. Le paludisme**

### **IV.1. Définition**

Le paludisme appelé aussi malaria est une parasitose due à un protozoaire (le genre *Plasmodium*) transmis par la piqûre d'un moustique du genre *Anopheles* dont 20 espèces assurent l'essentiel de la transmission dans le monde (Pages *et al.*, 2007). Avec 300 à 500 millions de malades et 1,5 à 2,7 millions de décès par an, le paludisme demeure la parasitose tropicale la plus importante. Il y'a 80% des cas enregistrés en Afrique subsaharienne qui concernent majoritairement les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes (Snow *et al.*, 1999 ; Mouchet *et al.*, 2004 ; Greenwood, 2005).

Les espèces impliquées en pathologie humaine sont *Plasmodium falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. vivax* (Garnham, 1996) et récemment *P. knowlesi* qui constitue la cinquième espèce infectante (White, 2008). Cependant, *Plasmodium falciparum* reste l'une des causes majeures de morbidité et de mortalité chez les enfants en Afrique (Jeffrey, 2002 ; Mouchet *et al.*, 2004).

En Côte d'Ivoire, le paludisme est le premier motif de consultation et d'hospitalisation et une des premières causes de mortalité infantile. Environ 3,5 millions d'enfants de moins de 5 ans sont exposés, dont 63 000 meurent, en moyenne, chaque année, dans les hôpitaux (Nzeyimana *et al.*, 2002).

#### **IV.1.1. Paludisme simple**

C'est une forme de paludisme d'évolution bénigne et dont les manifestations ne menacent pas d'emblée le pronostic vital du patient. Dans le paludisme simple, il n'y a pas de signes de gravité tels que troubles de la conscience, hypoglycémie (Assiznadi *et al.*, 2001).

#### **IV.1.2. Paludisme grave**

Selon l'OMS, le paludisme grave est un paludisme à *Plasmodium falciparum*, assez sévère pour constituer une menace vitale et donc une urgence médicale. Un malade est atteint de paludisme grave s'il présente une parasitémie à *Plasmodium falciparum* c'est-à-dire les formes asexuées, et au moins une des manifestations telles que le changement de comportement (confusion, agitation, somnolence), l'altération de la conscience ou coma, les convulsions souvent répétées, l'ictère, le collapsus circulatoire ou choc, l'oligurie (diurèse < 15 ml/kg : 24 h), les hémorragies diffuses, les urines foncées, la détresse respiratoire (OMS, 2000).

Sur le plan biologique, nous pouvons noter l'hypoglycémie (0,40 g/L ou 22 mmol/L), un taux d'Hémoglobine < 6g/dl ou d'hématocrite < 20 %, une hémoglobinurie, l'acidose.



Les personnes à risque sont les enfants de 7 mois à 7 ans, les femmes enceintes surtout les primigestes et les voyageurs.

## **IV.2. Epidémiologie**

### **IV.2.1. Répartition géographique du paludisme dans le monde**

Le paludisme est endémique dans les zones intertropicales (Amérique latine, Asie du Sud-Est, Afrique subsaharienne) comme présenté par la figure i en annexe . Toutefois, c'est en Afrique subsaharienne que l'on trouve 85 à 90% des morts du paludisme (Hay *et al.*, 2004). La distribution géographique de la maladie au sein de grandes régions est complexe et, l'on trouve ainsi des zones impaludées et non- impaludées proches l'une de l'autre (Greenwood et Mutabingwa, 2002). Dans les régions sèches, les périodes de paludisme peuvent être prédites sans trop d'erreurs en utilisant les cartes de précipitation (Grover *et al.*, 2005).

### **IV.2.2. Faciès épidémiologique du paludisme en Côte d'Ivoire**

En 1982, trois grandes zones épidémiologiques ont été définies en Côte d'Ivoire (Amat-Roze et Remy, 1982) :

- Au nord du 9<sup>ème</sup> parallèle, la transmission du paludisme s'y fait toute l'année, mais avec une très nette recrudescence en saison des pluies, allant de Mai à Août. La transmission du paludisme reste cependant à un haut niveau toute l'année le long des cours d'eau ;
- au sud du 9<sup>ème</sup> parallèle, deux zones ont été définies dont une zone de savanes où la transmission du paludisme est pérenne et généralisée et une zone forestière où la transmission du paludisme ne se fait que dans les clairières.

Cependant, en fonction du degré de transmission, on peut décrire en Côte d'Ivoire,

#### **- Un paludisme urbain à Abidjan et sa banlieue**

L'indice plasmodique moyen était de 19% en 1988 chez les écoliers asymptomatiques âgés de 5 à 9 ans (Koné *et al.*, 1990). Des différences importantes existaient selon les quartiers où le niveau de transmission le plus élevé était observé à Port-Bouët, avec 10 à 30 piqûres infestantes par homme et par an (pi/h/an).

#### **- Un paludisme lagunaire**

Il se répartit le long de la côte Ouest et Est d'Abidjan. Chez les 0-14 ans, l'indice plasmodique moyen était de 15%, l'indice splénique de 12,2% et le taux de pi/h/an de l'ordre de 288 (Rogier, 2000). Ce taux d'inoculation entomologique était discordant avec l'indice plasmodique observé.

#### - **Un paludisme de zone forestière**

Dans tout le sud de la Côte d'Ivoire, jusqu'à 7° de latitude Nord. L'indice plasmodique moyen y était de 85% chez les 0-14 ans, l'indice splénique de 33% et le taux d'inoculation entomologique moyen de 416 pi/h/an (Nzeyimana *et al.*, 2002).

#### - **Un paludisme de savane humide arborée**

Cet écosystème est contigu à la zone forestière. L'indice plasmodique moyen chez les 0-14 ans était de 42,2%, l'indice splénique de 22% et le taux d'inoculation entomologique de 0 à 160 pi/h/an (Dossou-Yovo *et al.*, 1995; 1998).

#### - **Un paludisme de savane soudano-sahélienne ou sahélienne**

L'écosystème occupe la région Nord de la Côte d'Ivoire. L'indice plasmodique moyen chez les 0-14 ans était de 11,25%, l'indice splénique de 54,6% et le taux d'inoculation entomologique de 15 à 240 pi/h/an (Rogier, 2000).

### **IV.3. *Plasmodium falciparum***

#### **IV.3.1. Particularités étiologiques**

*P. falciparum* est la cause la plus commune des infections palustres en Afrique subsaharienne et responsable d'environ 80% de tous les cas de paludisme ainsi que 90% des décès (Mendis *et al.*, 2001). *P. falciparum* se distingue par une vitesse de multiplication extrêmement élevée, une schizogonie érythrocytaire asynchrone et la coexistence dans le sang de nombreuses générations de parasites qui achèvent leur cycle évolutif dans des délais différents. Le cycle évolutif du *Plasmodium* est assez complexe et nécessite deux hôtes. D'un point de vue strictement biologique, l'hôte définitif est le moustique dans la formation de l'ookinète, et l'hôte intermédiaire est l'Homme dans son cycle répliatif.

#### **IV.3.2. Cycle du parasite chez *Anopheles***

L'anophèle femelle hématophage a besoin de sang nécessaire à la maturation de ses œufs, prélevé sur un sujet infecté ou non. S'il s'agit d'un sujet infecté par *P. falciparum*, le moustique transporte les gamétocytes du *Plasmodium* dans leurs glandes salivaires. Une fois déglutis, les gamétocytes traversent l'épithélium salivaire du moustique pour se retrouver dans l'estomac où ils se différencient en gamètes mâles et femelles. Ces derniers s'unissent pour former un zygote mobile appelé ookinète qui pénètre la paroi stomacale pour devenir un oocyste sphérique dont le noyau va se diviser sans fin pour former des sporozoïtes. La durée de cette maturation qui est étroitement dépendante de la température extérieure, est maximale vers 24°C. Les sporozoïtes migrent dans le corps du moustique jusqu'aux glandes salivaires. Ils peuvent lors d'un nouveau

repas de sang infecter un nouvel hôte humain en traversant la peau avec la salive contenant aussi des anticoagulants et des enzymes (OMS, 2003 ; Talman *et al.*, 2004).

#### **IV.3.2. Cycle du parasite chez l'Homme**

##### **- Phase hépatique**

Le sporozoïte infectieux inoculé à l'homme par l'anophèle femelle circule rapidement en moins d'une demi heure dans le sang jusqu'au foie. Il y est séquestré en grande partie grâce aux motifs adhésifs de la protéine majoritaire de son enveloppe qui est une protéine circumsporozoïte ou CSP (*cysteine string protein*), pour ensuite infecter les hépatocytes. Cette phase va durer 6 jours. Une première transformation arrondit cette forme cryptozoïte (du grec *kryptos* signifiant « caché ») en un élément uninuclée appelé trophozoïte qui est l'occasion pour le parasite de se multiplier directement par schizogonie pendant une semaine à quinze jours pour donner un schizonte. Le schizonte mature appelé corps bleu bourgeonne tout en perdant sa mobilité, de manière à émettre des vésicules contenant les jeunes mérozoïtes (figure 7).

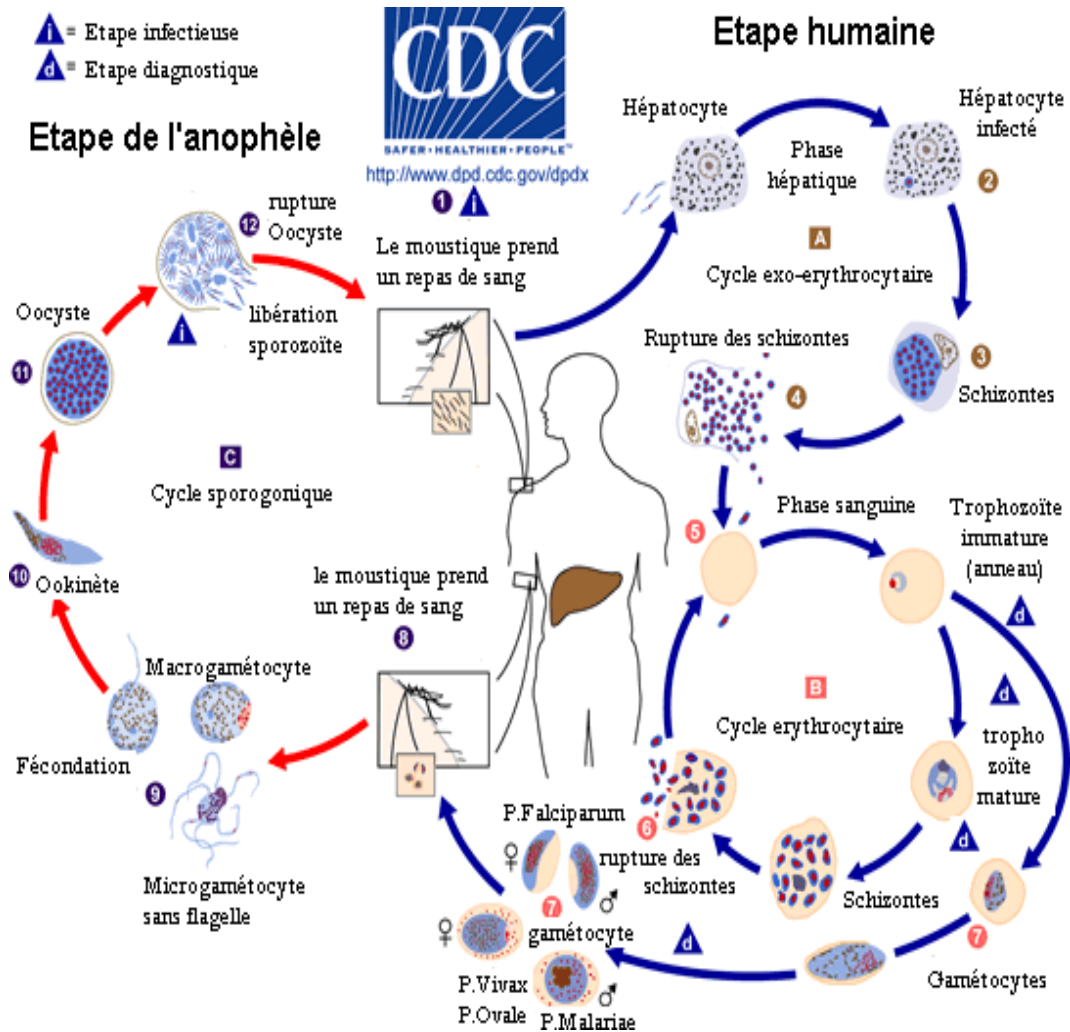
##### **- Phase de transfert**

Les vésicules sont libérées dans les sinusoides hépatiques (vaisseaux capillaires du foie faisant la jonction entre celui-ci et le réseau sanguin) pour rejoindre la circulation sanguine et y répandre un flot de jeunes mérozoïtes prêts à infecter les globules rouges (figure 7).

##### **- Phase sanguine**

Au début de la longue phase sanguine (Baunaure et Langsley, 2005), les mérozoïtes envahissent les globules rouges, s'y développent en trophozoïtes puis s'y divisent. A maturité, les schizontes appelés corps en rosace éclatent et libèrent des mérozoïtes qui vont à nouveau infecter d'autres globules rouges. Cet éclatement entraîne également la destruction de globules rouges et l'apparition de pigments malarique appelé hémozoïne, à l'origine des accès de fièvre. Le temps qui s'écoule entre la pénétration d'un parasite dans un globule rouge et l'éclatement de celui-ci est assez constant et décrit chez l'homme un cycle de 48 heures (figure 7).

La destruction des globules rouges provoque une anémie et, dans le cas du paludisme cérébral la mort intervient à la suite d'une obstruction des vaisseaux sanguins du cerveau par les globules rouges infectés. L'importante libération d'hémozoïne qui fait suite à la destruction de globules rouges va perturber le fonctionnement de l'hypothalamus avec la production de cytokine comme le TNF $\alpha$  et causer de très fortes fièvres qui peuvent aller jusqu'à l'hyperpyrexie.



**Figure 7 :** Schéma du cycle parasitaire du *Plasmodium*

([http:// www.uni-tuebingen.de/modeling/Mod\\_Malaria\\_Cycle\\_fr.html](http://www.uni-tuebingen.de/modeling/Mod_Malaria_Cycle_fr.html) - 79k)

#### **IV.4. Manifestations du paludisme chez l'enfant**

Les manifestations du paludisme apparaissent environ 10–15 jours après une piqûre par un moustique infesté. Les prodromes peuvent être les suivants : malaise, asthénie, myalgies, arthralgies, céphalées, anorexie et fièvre peu élevée. Ces troubles peuvent persister pendant 2-3 jours avant la survenue d'un paroxysme aigu (OMS, 2006).

Une crise aiguë commence par des frissons puis, dans les 30 à 60 minutes, une fièvre apparaît en association à une tachycardie, des sueurs profuses, des céphalées, un malaise et des myalgies. Les malades peuvent également présenter des nausées, des vomissements, une diarrhée peu sévère, des douleurs abdominales, des bouffées vasomotrices et une sécheresse cutanée. Une fièvre élevée persiste pendant plusieurs heures puis est suivie par une période de sudation intense. Tandis que l'infestation non traitée progresse, la rate augmente progressivement de volume et l'anémie s'aggrave. Une hépatomégalie, une hypotension orthostatique, une confusion mentale et un ictère peuvent également survenir. En outre, on note une thrombopénie, une leucopénie et une protéinurie. Des anomalies des explorations fonctionnelles hépatiques peuvent apparaître, notamment une élévation des transaminases, une hyperbilirubinémie, une hypoalbuminémie et une prolongation du temps de prothrombine.

#### **IV.5. Diagnostic du paludisme**

##### **IV.5.1. Examens sanguins au microscope**

La méthode de diagnostic la moins chère, la plus fiable et la plus répandue est l'examen au microscope optique d'une goutte épaisse et d'un frottis sanguin. Les deux méthodes sont utilisées pour un diagnostic complet (Warhurst et Williams, 1996). Tandis que le frottis sanguin permet d'identifier l'espèce en cause, la goutte épaisse, qui est une méthode de micro-concentration, permet d'exprimer la densité parasitaire.

##### **IV.5.2. Tests rapides**

Ils concernent les tests de détection rapide d'antigènes (Pattanasin *et al.*, 2003). Ce sont des tests immunochromatographiques également appelés tests de diagnostic rapide du paludisme ou TDR qui peuvent se présenter sous la forme d'une cassette, d'une bandelette réactive ou d'un « dipstick ». Ces tests utilisent une goutte de sang du doigt ou d'une veine, et durent 15 à 20 minutes. La limite de détection pour ces tests est de l'ordre de 100 parasites par microlitre de sang, contre 5 parasites pour le dépistage à la goutte épaisse.

Les tests rapides utilisent la lactate déshydrogénase de *P. falciparum* (PLDH). C'est la dernière enzyme du parcours glycolytique essentielle pour la génération d'ATP et une des plus abondantes

généérées par *P. falciparum*. La concentration de PLDH sanguin est assez étroitement corrélée à la présence des parasites.

#### **IV.5.3. Tests moléculaires**

Ces méthodes concernent la réaction en chaîne par polymérase (PCR). Les acides nucléiques des parasites sont détectés par cette technique qui est plus précise que la microscopie (Mens *et al.*, 2006). Cependant, elle est plus chère car demande un laboratoire spécialisé, une parfaite maîtrise de la méthode de prélèvement de l'échantillon et, s'il y a lieu, un respect de la chaîne du froid irréprochable pendant le stockage et le transport.

Toutefois, étant donné que les niveaux de parasitémie ne sont pas nécessairement corrélés avec la progression de la maladie, en particulier quand le parasite peut adhérer aux parois des vaisseaux sanguins, il s'avère ainsi indispensable de recourir aux méthodes de diagnostic moins avancées citées plus haut.

### **V. Etats pathologiques associés au paludisme**

Le paludisme est une maladie parasitaire connue comme un facteur majeur d'anémie pédiatrique (Latger-Cannard *et al.*, 2002 ; Snow *et al.*, 2003). L'hémolyse des globules rouges ainsi que la baisse de production des globules rouges sont des mécanismes par lesquels le paludisme conduit à l'anémie (Menendez *et al.*, 2000 ; Miller *et al.*, 2002 ; Ekvall, 2003).

Au cours du paludisme, la destruction des globules rouges et la chute du taux des plaquettes permettent d'observer certains états pathologiques. Les états pathologiques des globules rouges sont traduits par les formes d'anémie incluant les anémies microcytaires, hypochromes, normocytaires et macrocytaires (Beris et Tobler, 1997 ; Hlatanda, 1997). Les états pathologiques des plaquettes sont traduits par la thrombopénie c'est-à-dire la diminution du nombre de plaquettes sanguines et les états pathologiques des globules blancs par la leucopénie qui concerne la diminution du nombre de globules blancs.

#### **V.1. Anémie ou états pathologiques des globules rouges**

##### **V.1.1. Définition**

L'anémie est l'abaissement du taux d'hémoglobine par rapport à la valeur normale qui est fonction de l'âge (Sebahoun, 1998). Les valeurs de l'hémoglobine pour lesquelles l'anémie est déclarée selon le groupe d'âge sont présentées dans le tableau II (OMS, 2001).

L'anémie est fréquemment rencontrée au cours de l'infection à *Plasmodium* de 90 à 95%. Elle peut être marquée et contribuer à la survenue d'une insuffisance cardiaque par hypoxémie (diminution de la quantité d'oxygène transportée dans le sang). La classification selon l'OMS définit comme grave, une anémie associée à l'infection à *Plasmodium* lorsque le taux

d'hémoglobine < 50 g/L ou l'hématocrite < 0,15 (OMS, 2001). Cette anémie classiquement attribuée à la destruction des hématies par les formes mérozoïtes du parasite est en fait multifactorielle, impliquant à la fois une destruction périphérique accrue des hématies mais aussi une diminution de leur production (Menendez *et al.*, 2000).

**Tableau II :** Seuils de taux d'hémoglobine en dessous desquels l'anémie est déclarée

Age	Taux d'hémoglobine	
	g/L	mmol/L
Enfants de 6-59 mois	110	6,83
Enfants de 5-11 ans	115	7,13
Enfants de 12-14 ans	120	7,45
Femmes non enceintes ( $\geq 15$ ans)	120	7,45
Femmes enceintes	120	6,83
Hommes ( $\geq 15$ ans)	130	8,07

### **V.1.2. Physiopathologie de l'anémie**

La physiopathologie des anémies de l'enfant permet de distinguer des anémies par trouble de la production, avec des déficits en un des facteurs nécessaires à l'érythropoïèse (fer, vitamines, érythropoïétine, hormones, protéines) ou des hypoplasies quantitatives, qualitatives ou environnementales de la lignée érythroblastique touchant 1, 2 ou les 3 lignées. Aussi, pouvons-nous citer des anémies par perte exagérée de sang et des anémies par destruction exagérée (hyperhémolyses) des globules rouges. Ces dernières sont soit corpusculaire par anomalie membranaire du globule rouge, par anomalie de l'hémoglobine ou par déficit enzymatique, soit extra-corpusculaire : immunologique, mécanique, toxique et infectieuse. Les causes sont souvent intriquées (Schaison *et al.*, 1995).

Les causes de l'anémie en générale d'origine nutritionnelle (Jackson, 2007) et infectieuse (Snow *et al.*, 2003 ; Thurnham et Northrop, 2007), peuvent être imputables à des anomalies héréditaires comme les hémoglobinoses (drépanocytose, thalassémies) et les enzymopathies érythrocytaires dûes à un déficit en G6PD.

### **V.1.3. Diagnostic de l'anémie**

L'anémie peut être déterminée par plusieurs facteurs (Sebahoun, 1998). Les éléments cliniques du raisonnement diagnostique devant une anémie chez l'enfant sont l'anamnèse, les données de l'examen clinique et surtout l'analyse de l'hémogramme sur le globule rouge et sur les autres lignées. Les autres examens complémentaires doivent être hiérarchisés en fonction de l'analyse de l'hémogramme. Ainsi, on distingue les anémies microcytaires hypochromes, normochromes normocytaires et non régénératives, normochromes normocytaires et régénératives et les anémies macrocytaires.

L'anémie parmi les enfants africains est déterminée essentiellement par la combinaison de carences nutritionnelles, de maladies infectieuses (Stoltzfus *et al.*, 2000; Nussenblatt et Semba, 2002) et de l'expression génétique de l'hémoglobine globulaire.

### **V.1.4. Hémogramme ou numération de la formule sanguine**

Il comprend la numération globulaire (comptage du nombre des hématies, des plaquettes, des leucocytes et leur aspect sur lame) et la formule sanguine qui précise les polynucléaires et les mononucléaires. Les polynucléaires comprennent les neutrophiles, les éosinophiles et les basophiles. Les mononucléaires sont constitués des lymphocytes, les monocytes et les réticulocytes. L'hémoglobine, l'hématocrite et les constantes érythrocytaires (CCMH ou CGMH, la TCMH ou TGMH, le VGM) sont les autres paramètres importants de l'hémogramme.



### V.1.5. Formes d'anémie

- **Anémie normochrome**

Elle est traduite par une diminution du taux d'hémoglobine dans le sang avec une diminution dans la même proportion du nombre de globules rouges. La valeur de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (C.C.M.H) est normale de 30 à 5g/dL.

- **Anémie hypochrome**

Elle est traduite par une baisse de la teneur en hémoglobine des globules rouges associée à une valeur de la C.C.M.H inférieure à la normale.

- **Anémie normocytaire**

Dans cette forme d'anémie, la valeur du volume globulaire moyen (V.G.M) est normale de 80 à  $98\mu^3$ .

- **Anémie microcytaire**

Dans cette forme d'anémie, la taille des globules rouges est anormalement petite et s'accompagne toujours d'une diminution de la fabrication de l'hémoglobine. La valeur de V.G.M est inférieure à la normale.

- **Anémie macrocytaire**

Dans cette forme d'anémie, la taille des globules rouges est élevée. La valeur de V.G.M est supérieure à la normale.

### V.1.6. Hémoglobine

#### V.1.6.1. Structure

L'hémoglobine est constituée d'un groupement prosthétique : l'hème (4%), et d'une partie protéique : la globine (96%). L'hème est le groupement prosthétique commun aux diverses hémoglobines alors que la globine varie d'une hémoglobine à l'autre. Il comporte une molécule de protoporphyrine et un atome de fer. La globine est la partie protéique de la chromoprotéine ; elle est la partie spécifique de l'hémoglobine ; car c'est elle qui varie selon l'âge, l'espèce, et dans certaines maladies (Weil, 2001). L'hémoglobine est une protéine tétramérique contenant 2 types de protomères. Chaque protomère est constitué de deux sous-unités qui sont : une sous-unité  $\alpha$  et une sous-unité  $\beta$ . Il en existe deux formes chez l'adulte : une forme majeure HbA1 ( $\alpha_2\beta_2$ ) et une forme mineure HbA2 ( $\alpha_2\delta_2$ ) à environ 3% présentant une affinité plus élevée pour l'oxygène. Deux autres formes sont présentes durant la vie embryonnaire et fœtale. Aussi durant les 3 premiers mois, il existe une hémoglobine embryonnaire ( $\xi_2\varepsilon_2$  et  $\alpha_2\gamma_2$ ) puis jusqu'à la

naissance une hémoglobine fœtale HbF ( $\alpha 2 \delta 2$ ) remplacée progressivement par la forme adulte durant les premiers mois de la vie (Monsigny *et al.*, 2004).

### **V.1.6.2. Biosynthèse**

L'hémoglobine est synthétisée au cours de l'érythropoïèse, c'est-à-dire lors de la formation du globule rouge à partir de cellules souches. Cette synthèse requiert la production coordonnée d'hème et de globine (Figure 8). L'hème est la partie prosthétique qui assure le portage réversible de l'oxygène par l'hémoglobine. La globine est la protéine qui entoure et protège la molécule d'hème (Sebahoun, 1998).

L'hème est synthétisée au cours d'une série d'étapes complexes impliquant des enzymes mitochondriales et cytoplasmiques de la cellule.

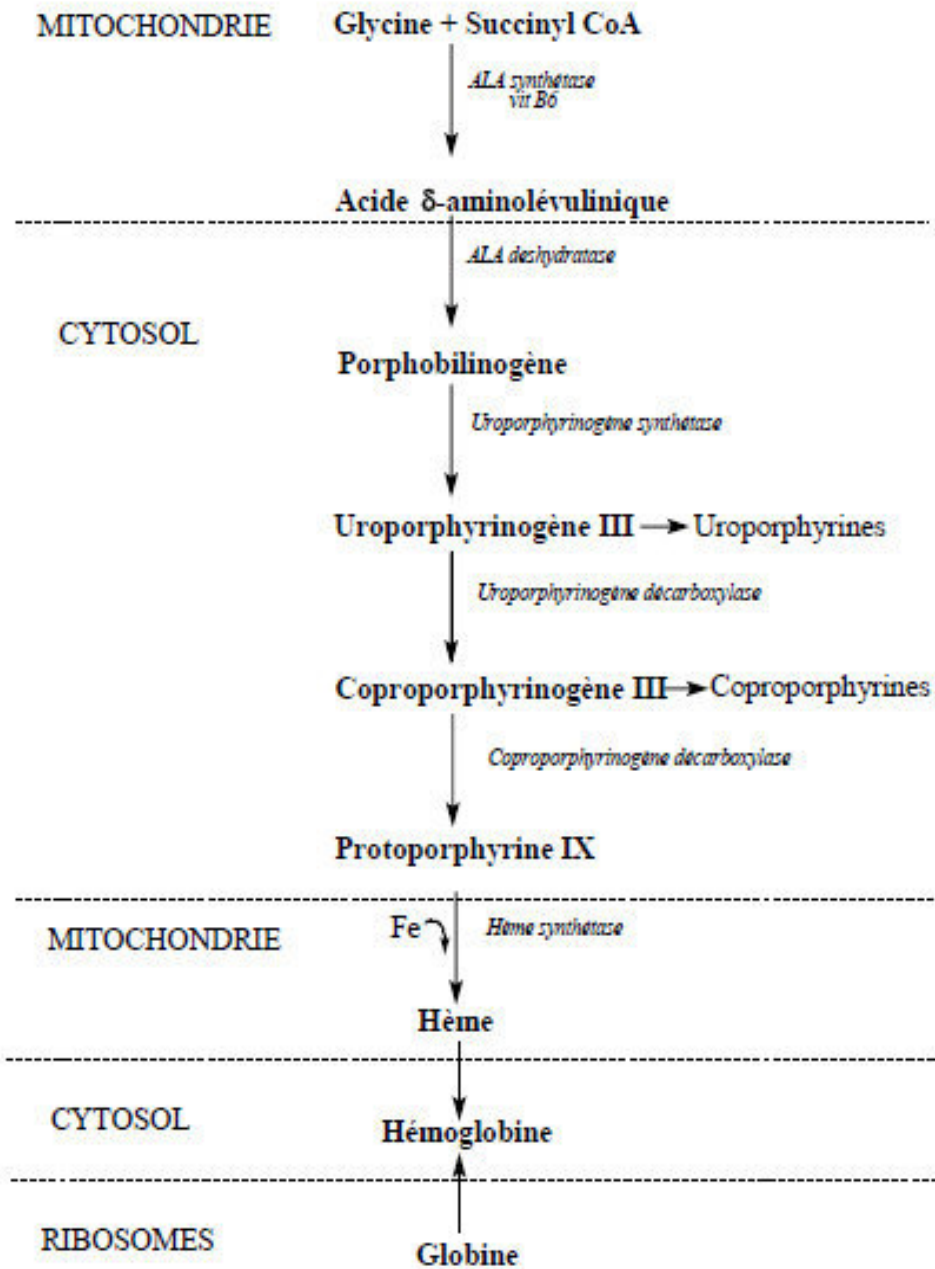
- La première étape a lieu dans la mitochondrie et, correspond à la condensation du succinyl coenzyme A et de la glycine par l'acide aminolevulique synthétase pour former l'acide 5-aminolevulique. Cette molécule est transportée dans le cytoplasme, où se déroule une série de réactions qui permet d'obtenir une structure en chaîne appelée coproporphyrinogen III. Cette dernière molécule subit une décarboxylation puis retourne dans la mitochondrie pour produire la protoporphyrine IX. La ferrochelatase insert le fer dans cette structure pour produire l'hème.

- Deux chaînes distinctes de globine (chacune avec sa molécule d'hème) se combinent pour former l'hémoglobine. Une des chaînes est dite alpha, et la deuxième est appelée non-alpha. Le couplage simple d'une chaîne alpha et d'une chaîne non-alpha conduit à une hémoglobine dimérique. Deux dimères se combinent pour donner l'hémoglobine tétramérique, qui est la forme fonctionnelle de l'hémoglobine. Les caractéristiques biophysiques complexes du tétramère d'hémoglobine permettent de contrôler délicatement la fixation de l'oxygène dans les poumons et sa libération dans les tissus.

### **V.1.6.3. Catabolisme**

Chez le sujet normal, la durée de vie moyenne du globule rouge est de 120 jours (Bernard, 1985). Les globules qui dépassent cette durée sont fixés progressivement dans les cellules du système réticulo-endothélial de la moelle osseuse où a lieu la destruction.

## SYNTHESE DE L'HEMOGLOBINE



**Figure 8 :** Etapes de biosynthèse de l'hémoglobine (Weil, 2001)

## **V.2. Etats pathologiques des plaquettes**

La thrombopénie est traduite par une diminution du taux des plaquettes par rapport aux valeurs normales. La thrombopénie est généralement présente au cours du paludisme de primo-invasion (60 à 85 %), mais sa fréquence est variable en fonction de l'espèce plasmodiale, de la durée de l'évolution, de la gravité clinique des accès et de l'âge des patients (Bourée et Torossian, 1994 ; SPILF, 1999).

## **V.3. Etats pathologiques des globules blancs**

Une leucopénie modérée est rapportée dans le paludisme, attribuée à une augmentation du pool marginal et une diminution du pool circulant. L'absence d'hyperleucocytose y est quasiment constante et peut avoir valeur d'orientation, dans un état fébrile au retour de zone tropicale, excepté dans les cas de surinfection. Des leucocytes mélanifères (monocytes ou polynucléaires ayant phagocyté du pigment malarique noirâtre) sont parfois repérés dans le sang circulant après quelques semaines d'évolution (SPILF, 1999).

## **VI. Interaction paludisme-nutrition**

Les interactions entre paludisme et nutrition sont complexes et font l'objet de controverses depuis le début des années 50 (McGregor, 1982). Plusieurs études ont montré des associations entre paludisme et malnutrition protéino-énergétique, retard de croissance et certains déficits de micronutriments chez des enfants (Marsden, 1964 ; Nyakeriga, 2004). De nombreuses observations avaient mentionné un antagonisme entre la malnutrition et la gravité du paludisme et/ou sa densité parasitaire. Ramakrishnan (1954) et Murray *et al.* (1975) avaient montré que les dénutris graves avaient une parasitémie plus faible et présentaient moins de convulsions, tandis que les programmes de réhabilitation nutritionnels s'accompagnaient d'une réactivation du paludisme. Murray *et al.* (1975) avaient aussi observé que l'apport du fer pouvait augmenter la parasitémie plasmodiale tandis que Wenlock (1979), Purtill et Connors (1975) avaient constaté que l'association paludisme et malnutrition pouvait être la cause de décès. Des études cliniques avaient montré que les enfants paludéens avaient une croissance ralentie par rapport à des témoins non infestés ou suivant un traitement prophylactique (Sharp et Harvey, 1980). Selon Brisel (1977), le retard de croissance serait le résultat d'une balance azotée négative provoquée par les accès palustres. D'autres nutriments avaient été étudiés tels que la vitamine A dont la carence serait associée à une augmentation de la charge parasitaire (Krishnan *et al.*, 1976), et la carence en folates pour avoir un effet antagoniste sur la multiplication des hématozoaires (Strickland et Kostinas, 1970). Il avait été noté lors des accès palustres, une diminution du taux

sérique d'acide folique qui pouvait avoir un effet de limitation dans le cycle érythrocytaire des plasmodiums.

Par ailleurs, des études de prévention du paludisme au moyen de moustiquaires imprégnées d'insecticides ou de traitement chimioprophylaxique, ont indiqué des améliorations de la croissance et du statut en micronutriments chez des enfants (Archibald et Bruce-Chwatt, 1956 ; Bradley-Moore, 1985).

# MATERIEL ET METHODES

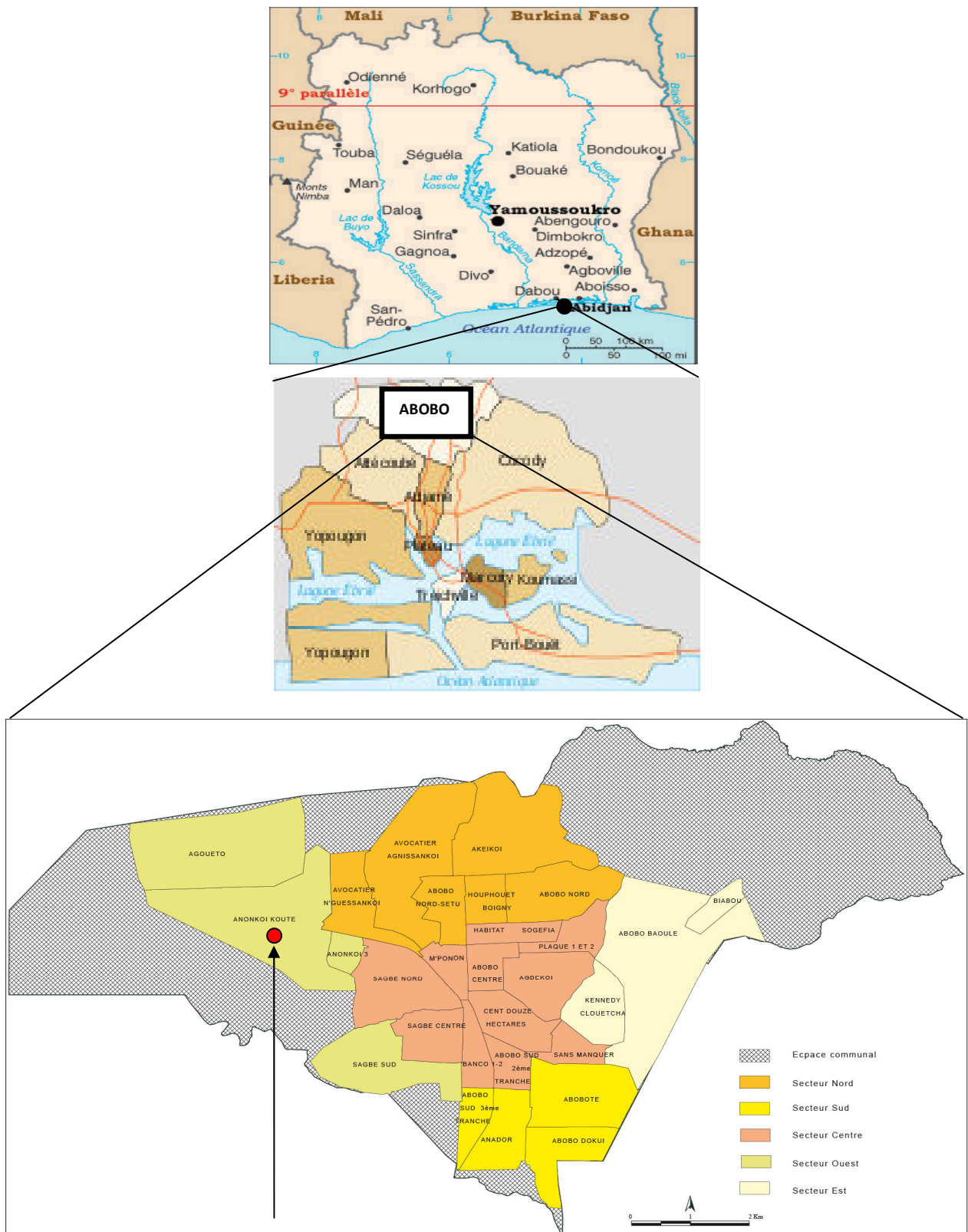
## I. Site et populations de l'étude

Cette étude a été réalisée dans la commune d'Abobo située au nord de la ville d'Abidjan. C'est l'une des communes les plus peuplées du district d'Abidjan (environ 1500000 habitants) qui s'étend sur une superficie de 9000 ha (90 km<sup>2</sup>) avec une densité de 167 habitants à l'hectare.

- Au plan environnemental, la commune d'Abobo se caractérise par la présence de nombreux quartiers précaires avec une insalubrité marquée, entre autres, par la présence de nombreux gîtes (retenues d'eau dans des boîtes de conserve, pneus usagés, égouts, étangs d'eau insalubres) favorables au développement *d'Anophèles*.

- Au plan sanitaire, la commune d'Abobo renferme un hôpital général et plusieurs centres de santé dont les centres de santé à base communautaire, les formations sanitaires publiques et les cliniques privées.

L'un des centres de santé à base communautaire a servi de cadre pour le recrutement des enfants (figure 9). Cette structure sanitaire est très fréquentée et la période choisie pour le recrutement (juin, juillet et septembre) permettait d'avoir au moins un cas de paludisme sur 10, confirmé après analyse de sang par la goutte épaisse.



**Figure 9 :** Plan géographique d’Anonkoi-Kouté, village de la commune d’Abobo abritant le centre de santé ayant servi de lieu de recrutement de sujets atteints de paludisme.  
*Source : Institut de Géographie Tropicale (IGT), 2007.*



## II. Type et durée de l'étude

Il s'agit d'une étude prospective à visée expérimentale portant sur l'influence de *P. falciparum* sur les micronutriments chez les enfants souffrant de paludisme. Cette étude s'est déroulée de juin à septembre 2008 pour le recrutement des enfants et septembre 2008 à septembre 2009 pour le dosage des micronutriments.

## III. Critères d'inclusion et d'exclusion des sujets

Tous les enfants enrôlés et inclus dans cette étude devraient satisfaire aux critères suivants :

- âge :  $\leq 14$  ans.
- résider dans le site de l'étude (village d'Anonkoi-Kouté) ou à la périphérie ;
- être exempts d'infections parasitaires intestinales (examen KOP négatif) ;
- ne pas avoir reçu de traitements antipaludiques avant la période d'enrôlement et ne pas avoir pris de suppléments en vitamines et oligoéléments ;
- être diagnostiqués positifs pour le paludisme par la présence mono-spécifique de *Plasmodium falciparum* après examen biologique (une goutte épaisse et un frottis positifs) et une température axillaire  $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$ . Les enfants qui étaient inclus comme cas témoins devraient être non infectés par *Plasmodium* (goutte épaisse et frottis sanguin négatifs).

Un consentement libre et éclairé a été obtenu des parents avant l'inclusion définitive.

Les cas d'exclusion étaient :

- la présence d'infections parasitaires intestinales et/ou d'infection mixte ;
- la prise de suppléments alimentaires et /ou de traitement antipaludique peu avant l'enrôlement ;
- la non résidence dans le périmètre du village, la malnutrition sévère et les cas de paludisme grave nécessitant une prise en charge rapide.

## IV. Ethique

Une autorisation écrite a été obtenue du district sanitaire en vue d'avoir accès à ce centre pour la participation des enfants à notre étude. L'inspection d'enseignement primaire d'Abobo et la chefferie traditionnelle du village ont également donné leur accord pour le déroulement de cette étude dans la localité. Enfin, les parents ont été informés des objectifs et de la méthodologie de l'étude. Il a été obtenu, de leur part, un consentement oral ou écrit pour l'inclusion finale de leurs enfants.

## **V. Matériel**

### **V.1. Matériel biologique**

Le matériel biologique est constitué par du sang total et de sérum humain recueilli après centrifugation du sang total prélevé dans des tubes sans anticoagulant (tubes secs). Ce sang est prélevé sur les sujets paludéens infectés par *P. falciparum* et non infectés (population témoin).

Tandis que le sang total a servi à réaliser l'hémogramme, le sérum humain recueilli a permis de doser les micronutriments (oligoéléments et vitamines).

### **V.2. Matériel technique**

En dehors du petit matériel de dosages des différents paramètres biologiques, le gros matériel technique utilisé est constitué de :

- Une chaîne de chromatographie liquide haute performance (CLHP) de marque Shimadzu® pour le dosage des vitamines sériques.
- Un appareil de spectrophotométrie d'absorption atomique de marque Varian AA20® a été utilisé pour le dosage des oligoéléments sériques ;
- Un analyseur automatique de marque KX21N® pour l'hémogramme ;
- Un dispositif d'évaporation sous courant d'azote a été nécessaire pour l'évaporation de l'hexane ayant servi à l'extraction des vitamines liposolubles.

### **V.3. Réactifs de dosage**

Les réactifs ayant servi à la réalisation du présent travail ont été :

- Le colorant GIEMSA® rapide (microscopie) pour la mise en évidence des hématozoaires de *Plasmodium* ;
- Le méthanol de qualité HPLC pour l'analyse des vitamines ;
- L'éthanol absolu pour la précipitation des protéines sériques ;
- La N-hexane pour l'extraction des vitamines liposolubles ;
- Les substances de référence utilisées ont été l' $\alpha$ -tocophérol (T-3251), le rétinol (R-7632) comme étalons respectifs des vitamines E et A, et le rétinol acétate (R-4632) comme étalon interne, tous des produits Sigma®.
- Une solution multistandard contenant les éléments minéraux à doser (fer, cuivre et zinc) a été utilisée comme étalon pour l'étude des oligoéléments en absorption atomique.
- La solution d'acide nitrique de normalité 0,03M a été utile pour préparer les échantillons sériques à l'analyse en absorption atomique de concentration 1000 ppm.

## VI. Méthodes

### VI.1. Diagnostic du paludisme

Des prélèvements sanguins effectués chez tous les sujets ont été recueillis dans des tubes contenant de l'EDTA comme anticoagulant.

- Après avoir déposé une goutte de sang sur une lame, à l'aide du coin d'une deuxième lame, la goutte est étalée sur un (1) cm environ de diamètre en tournant pendant quelques secondes. La goutte est ensuite séchée avec soin, puis recouverte de colorant GIEMSA<sup>®</sup> dilué au 1/10. Après 10 minutes de coloration, le reste du colorant est versé, puis la lame est rincée à l'eau. Après séchage, le sang coloré au GIEMSA<sup>®</sup> est observé au microscope à l'objectif 100. La goutte épaisse étant une technique de micro-concentration, elle a permis d'évaluer la densité parasitaire pour les cas positifs. Ainsi, le nombre de parasites lu sur chaque goutte épaisse a été déterminé par rapport à 200 globules blancs puis ramené à 8000 globules blancs par microlitre de sang (Trape, 1985).

- Le frottis sanguin mince a consisté à réaliser un étalement monocellulaire des éléments sanguins. En effet, une petite goutte de sang est d'abord déposée à l'extrémité d'une lame. Avec la deuxième lame tenue à environ 45 degrés par rapport à la première, la goutte de sang est touchée, puis étalée d'un mouvement bref sur la première pour obtenir un étalement fin. L'étalement ainsi réalisé est séché aussitôt par agitation de la lame. Le frottis est ensuite fixé au méthanol à 95°, puis après séchage, est coloré au GIEMSA<sup>®</sup> comme dans le cas de la goutte épaisse. Le frottis sanguin mince a permis surtout de déterminer l'espèce plasmodiale.

La densité parasitaire déterminée a été répartie en trois classes : **la classe A** pour les patients présentant des parasitemies inférieures à 2000 parasites asexués par microlitre de sang, **la classe B** pour les parasitemies comprises entre 2000 et 40.000 parasites asexués par microlitre de sang et **la classe C** pour des parasitemies supérieures à 40.000 parasites asexués par microlitre de sang (Ahiboh *et al.*, 2008).

### VI.2. Réalisation de l'Hémogramme

Les prélèvements sanguins recueillis dans les tubes EDTA ont été acheminés au laboratoire d'analyse pour la réalisation de l'hémogramme grâce à un analyseur automatique de marque KX21N<sup>®</sup>. Ainsi, les plaquettes (PLT), le taux d'hémoglobine, l'hématocrite, le volume globulaire moyen (VGM), la concentration corpusculaire en hémoglobine (CCMH) et la teneur corpusculaire en hémoglobine (TCMH) ont été déterminés.

Les valeurs normales des paramètres hématologiques : CCMH (30 à 35g/dL) et V.G.M (80 à 98 $\mu^3$ ) sont celles rapportées par Ukaejiofo *et al.*, 1979 ; Serjeant *et al.*, 1980 et Atanda *et al.*,

1997. Le diagnostic d'anémie a été posé pour un taux d'hémoglobine : inférieur à 11g/dL pour les sujets de 2 à 4 ans ; inférieur à 11,5 g/dL pour les sujets de 5 à 11 ans et inférieur à 12 g/dL pour les sujets de 12 à 14 ans (WHO, 2001). Le diagnostic de microcytose a été posé pour des valeurs de VGM inférieures à 80 pg. Le diagnostic d'hypochromie a été posé pour des valeurs de CCMH inférieures à 30 g/dl ou des valeurs de TCMH inférieures à 25 pg. La normocytose est observée pour un VGM compris entre 80 et 95 pg (Blacque *et al.*, 1991). La thrombopénie a été notée pour des valeurs de PLT < 100 10<sup>3</sup>/ mm<sup>3</sup>.

**C.C.M. Hb = hémoglobine / hématocrite**

C.C.M. Hb Normale = Anémie normochrome

C.C.M. Hb Bas = Anémie hypochrome

**V.G.M. = hématocrite (fraction) / Chiffre G.R. (10<sup>12</sup>/L)**

V.G.M. Normal = Anémie normocytaire

V.G.M. Bas = Anémie microcytaire

V.G.M. Elevé = Anémie macrocytaire

## **VI.3. Dosage des micronutriments**

### **VI.3.1. Extraction du sérum**

Les dosages des micronutriments ont été réalisés sur du sérum obtenu à partir du sang recueilli dans des tubes (tubes secs) ne contenant pas d'anticoagulant. Pour obtenir ces sérums, les tubes sont laissés au repos pendant une quinzaine de minutes, puis, le sang est centrifugé à 3000 trs/min pendant 5 min pour obtenir le maximum de sérum nécessaire aux dosages. Il est aliquoté dans des microtubes à l'abri de la lumière, puis conservé au congélateur. Les échantillons de sérum seront par la suite décongelés pour le dosage du fer, du cuivre, du zinc et des vitamines A et E.

### **VI.3.2. Dosage des oligoéléments sériques (fer, cuivre et zinc)**

Les dosages du fer, du cuivre et du zinc ont été effectués par spectrométrie d'absorption atomique à flamme (SAA) (Pinta, 1980) à l'aide d'un appareil Varian AA20<sup>®</sup> de Pattern, France. Les échantillons de sérum préalablement décongelés ne présentant aucun signe d'hémolyse, ont été dilués à l'aide d'une solution d'acide nitrique (0,03M) dans des tubes spécifiques de dosage, de façon à ce que leur concentration soit comprise dans la gamme d'étalonnage (Labat, 2010).

La flamme Air/Acétylène à 3000°C a été utilisée pour l'atomisation des échantillons ; les longueurs d'onde d'analyse du fer, du cuivre et du zinc ont été respectivement de : 248, 3 nm ; 324,8 nm et 213, 7 nm. Les limites de détection pour chaque élément étaient en dessous du µg/L. La détermination de la concentration de chaque ion métallique a été réalisée grâce à des courbes d'étalonnage de chaque ion métallique, à partir des solutions étalons de concentrations respectives 0,025 ; 0,5 ; 1 ; 1,5 et 2 ppm. Ces solutions ont été préparées à partir d'une solution multistandard de 1000 ppm (Barrett *et al.*, 1951). Le dosage de chaque élément dans un échantillon donné, a été réalisé en triplet. Les courbes d'étalonnage sont présentées respectivement par les figures ii, iii et iv en annexe.

### **VI.3.3. Dosage des vitamines A et E sériques**

Le dosage des vitamines A et E a été réalisé simultanément par détection UV en chromatographie liquide à haute performance (CLHP) en mode gradient avec un appareil de type Shimadzu<sup>®</sup> (Catignani *et al.*, 1983). Les techniques d'extraction des vitamines et les paramètres d'analyse pour le dosage sont décrits comme suit :

#### **VI.3.3.1. Extraction des lipides sériques contenant les vitamines**

Les sérums ont été décongelés à la température ambiante ; puis, 100 µL de sérum ont été prélevés et recueillis dans des tubes à hémolyse, dans lesquels ont été introduits 100 µL de rétinyl acétate (1mg/L) comme étalon interne des deux vitamines (Catignani *et al.*, 1983 ; Zaman

*et al.*, 1993). Après addition de 100 µL d'éthanol absolu, le mélange sérum-étalon interne et éthanol absolu a été soumis au vortex pendant 20 secondes. Quatre cent microlitres d'hexane y ont été ajoutés, puis l'ensemble a été à nouveau soumis au vortex deux fois de suite pendant 30 secondes. Pour la suite, une centrifugation à 3500 trs/min pendant 10 min a été nécessaire. 300 µL de surnageant hexanique contenant les vitamines liposolubles ont été prélevés et recueillis dans des tubes à hémolyse pour être évaporés sous un courant d'azote à une pression équivalente à 0,5 bar. Le résidu a été repris dans 100 µL de méthanol et dosé extemporanément par CLHP avec un volume d'injection de 20 µL à partir de la boucle d'injection pour l'étude simultanée des deux vitamines (Aké *et al.*, 2001).

### **VI.3.3.2. Paramètres d'analyse pour l'étude des vitamines**

Les paramètres d'analyse enregistrés pour l'étude simultanée des vitamines A et E sont les suivantes :

- Phase stationnaire : phase inversée en silice greffée (C18)
- Phase mobile : Méthanol/ Eau dans les proportions respectives 98/2 (v/v)
- Débit : 1,5 ml/min
- Température de la colonne : 30°C
- Détection ultraviolet (UV) à 290 nm

Les limites de détection des vitamines A et E sont respectivement 0,003 mg/L et 0,2 mg/L.

L'intégrateur enregistreur affiche les surfaces des pics obtenus ainsi que les temps de rétention des vitamines.

### **VI.3.3.3. Préparation de la gamme d'étalonnage des vitamines A et E**

Des solutions standard de référence des vitamines A (rétinol) et E (tocophérol) ainsi que de l'étalon interne (rétinyl acétate) ont servi à préparer des solutions mères standard de concentrations respectives : vitamine A (1 g/L), vitamine E (10 g/L) et étalon interne (1 g/L). Des dilutions successives ont été réalisées à partir de ces solutions ; le choix des concentrations s'est fait en tenant compte des limites de détection (LD) et des concentrations physiologiques des vitamines. Les courbes d'étalonnage des solutions standards sont présentées respectivement par les figures v, vi et vii en annexe.

### **VI.3.3.4. Détermination de la concentration sérique de la vitamine A et E**

Les concentrations C de rétinol et de tocophérol dans les échantillons sériques ont été obtenues à partir d'une formule simple résultant des droites d'étalonnage et des surfaces de pics obtenus.

### \* Détermination de la concentration de vitamine A dans le sérum

Pour le calcul de la concentration du rétinol, un facteur de correction K est réalisé en introduisant un étalon interne.

$$C = \frac{SR \text{ Ech}}{SRA \text{ Ech}} \times K$$

$$K = \frac{CR \text{ GE} \times SRA \text{ GE}}{SR \text{ GE}}$$

**SR Ech** : surface du pic du rétinol dans l'échantillon de sérum.

**CR GE** : concentration du rétinol déterminée à partir de la gamme d'étalon.

**SRA GE** : surface du pic du rétinyl acétate correspondant à une concentration de 1 mg/L obtenue à partir de la gamme d'étalon.

**SR GE** : surface du pic correspondant à la concentration choisie du rétinol à partir de la gamme d'étalon.

**SRA Ech** : surface du pic du rétinyl acétate dans l'échantillon de sérum correspondant à une concentration de 1 mg/L.

$$CR \text{ GE} = 0,5 \text{ mg/L}$$

$$SR \text{ GE} = 46500$$

$$SRA \text{ GE} = 52305$$

$$K = \frac{0,5 \times 52305}{46500}$$

$$K = 0,56$$

### \* Détermination de la concentration de vitamine E dans le sérum

Le calcul de la concentration de la vitamine E a été réalisé de la manière suivante :

$$C = \frac{ST \text{ Ech}}{SRA \text{ Ech}} \times K'$$

$$K' = \frac{CT \text{ GE} \times SRA \text{ GE}}{ST \text{ GE}}$$

**ST Ech** : surface du pic du tocophérol dans l'échantillon de sérum.

**CT GE** : concentration du tocophérol déterminée à partir de la gamme d'étalon.

**SRA GE** : surface du pic du rétinyl acétate correspondant à une concentration de 1 mg/L obtenue à partir de la gamme d'étalon.

**ST GE** : surface du pic correspondant à la concentration choisie du tocophérol à partir de la gamme d'étalon.

**SRA Ech** : surface du pic du rétinyl acétate dans l'échantillon de sérum correspondant à une concentration de 1 mg/L.

$$CT \text{ GE} = 5 \text{ mg/L}$$

$$ST \text{ GE} = 27970$$

$$SRA \text{ GE} = 52305$$

$$K' = \frac{5 \times 52305}{27970}$$

$$K' = 9,35$$



#### **VI.4. Calcul du pourcentage de réduction des micronutriments**

Le pourcentage de réduction des micronutriments au cours du paludisme par rapport au témoin a été calculé en faisant le quotient de la différence des moyennes des deux populations (paludéenne et témoin) par la moyenne du témoin, puis le résultat obtenu a été multiplié par 100.

$$\text{Pourcentage de réduction} = \frac{(\text{moyenne témoin} - \text{moyenne paludéen}) \times 100}{\text{moyenne témoin}}$$

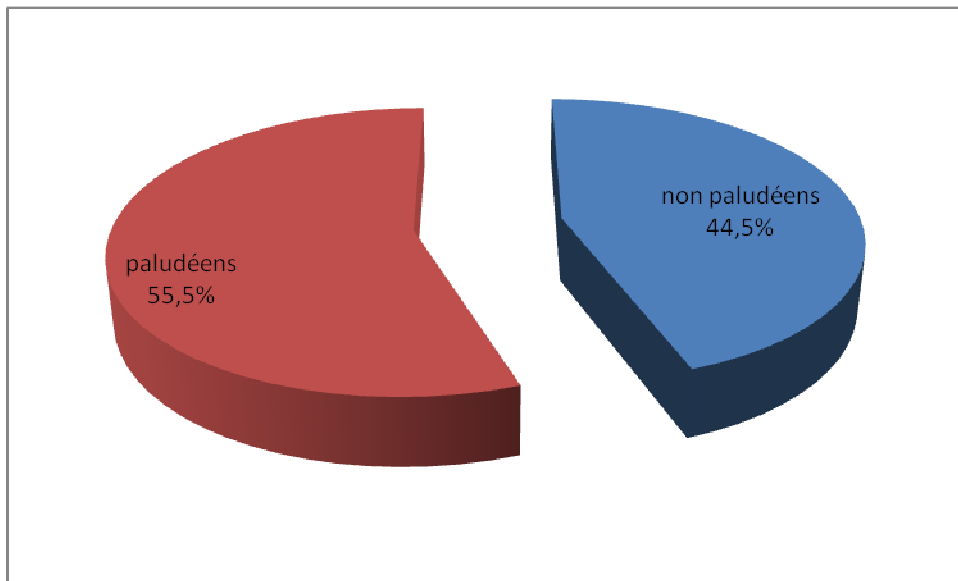
#### **VII. Méthodes statistiques utilisées pour le traitement des résultats obtenus**

Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel GraphPad Prism 5 Demo. Le test de Student a été utilisé pour la comparaison des moyennes. La différence des moyennes est significative pour  $p < 0,05$ .

# RESULTATS

### I. Prévalence du paludisme dans la population d'étude

Sur un total de 272 enfants enrôlés, 151 ont été identifiés comme sujets paludéens, car ils remplissaient les critères d'inclusion préalablement définis comme par exemple une GE/FS positive. La prévalence du paludisme chez les enfants de cette zone a donc été de 55,5% (Figure 10). L'âge moyen était de  $8 \pm 3$  ans avec un sexe ratio M/F : 83/68. Aucune autre espèce n'a été mise en évidence en dehors de *P. falciparum*, soit un indice d'infection (II) de 100% pour *P. falciparum*.



**Figure 10** : Prévalence du paludisme dans la population d'étude

## I. Hémogramme de la population

L'hémogramme réalisé aussi bien chez les enfants atteints du paludisme que chez les témoins, a montré d'une manière générale une nette diminution des paramètres hématologiques (TCMH, VGM et PLT) chez les enfants atteints du paludisme avec une moyenne de taux d'Hb =  $90,09 \pm 1,82$  g/dL contre  $10,9 \pm 2,26$  chez les témoins. La différence s'est révélée non significative pour une valeur  $p > 0,05$ . Les résultats de cette observation sont consignés dans le tableau III.

**Tableau III : Données hématologiques des sujets paludéens et non paludéens**

Paramètres hématologiques	Sujets non paludéens (n = 121)	Sujets paludéens (n = 151)
CCMH (g/dL)	$32,92 \pm 1,39^a$	$32,54 \pm 2,15^a$
TCMH (pg)	$36,7 \pm 1,95^\beta$	$25,03 \pm 5,87^\alpha$
VGM (pg)	$78,04 \pm 4,94^\beta$	$73,79 \pm 8,63^\alpha$
HCT (%)	$36,27 \pm 5,71^a$	$27,49 \pm 5,76^a$
Hb (g/L)	$109 \pm 22,6^a$	$90,9 \pm 18,2^a$
PLT ( $10^3/\mu\text{L}$ )	$197,3 \pm 26,1^\beta$	$135,61 \pm 96,67^\beta$
GB ( $10^3/\mu\text{L}$ )	$7,4 \pm 3,15^a$	$7,67 \pm 3,37^a$
GR ( $10^6/\mu\text{L}$ )	$3,76 \pm 0,78^a$	$3,32 \pm 3,13^a$

Les valeurs d'une même ligne portant les mêmes lettres « a » ne sont pas significativement différentes au  $p > 0,05$ . Les valeurs d'une même ligne portant les lettres  $\alpha$  et  $\beta$  sont significativement différentes au  $p < 0,01$ .

### III. Etude du fer, du cuivre et du zinc sériques

#### III.1. Influence de la présence du parasite sur les concentrations en oligoéléments

##### III.1.1. Influence sur les valeurs moyennes globales

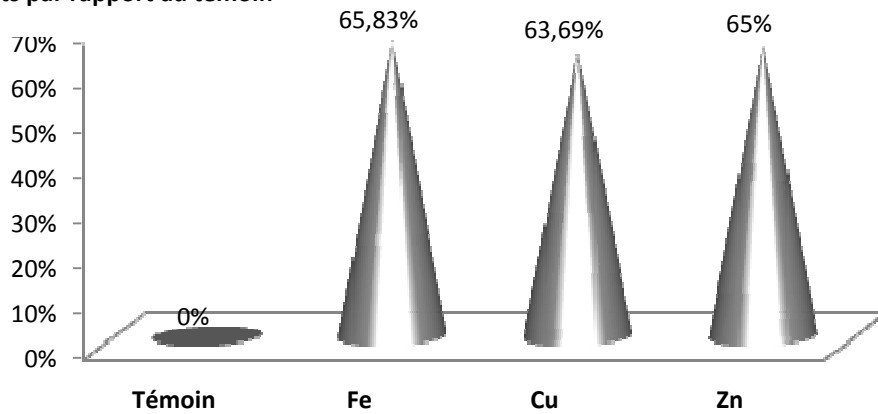
Les valeurs moyennes du fer, du cuivre et du zinc sériques mesurées chez les enfants paludéens ont montré une réduction significative comparée à celles des témoins ( $p < 0,001$ ) (tableau IV). La figure 11 présente le niveau de réduction de ces oligoéléments.

**Tableau IV :** Valeurs moyennes globale des concentrations sériques en fer, en cuivre et en zinc

Oligoéléments	Témoins (n = 41)	Sujets paludéens (n = 71)
<b>Fe (mg/L)</b>	1,2 ± 0,78 <sup>α</sup>	0,41 ± 0,3 <sup>β</sup>
<b>Cu (mg/L)</b>	1,68 ± 0,74 <sup>α</sup>	0,61 ± 0,19 <sup>β</sup>
<b>Zn (mg/L)</b>	0,6 ± 0,34 <sup>α</sup>	0,21 ± 0,1 <sup>β</sup>

Les valeurs d'une même ligne portant les lettres  $\alpha$  et  $\beta$  sont significativement différentes au  $p < 0,001$ .

**Pourcentage de réduction des oligoéléments par rapport au témoin**



**Figure 11** : Niveau de réduction globale des concentrations en oligoéléments sériques au cours de l'infection palustre à *P. falciparum* par rapport aux témoins

### **III.1.2. Influence selon l'âge, le sexe et le poids sur les concentrations sériques d'oligoéléments**

Les concentrations sériques en fer, cuivre et zinc déterminées chez les enfants souffrant du paludisme ont été significativement plus faibles comparées aux valeurs sériques observées chez les témoins quels que soient l'âge, le sexe et le poids (tableaux V, VI, VII).

Cependant, lorsqu'on compare les niveaux de réduction de ces oligoéléments, il y'a de fortes variations. En dehors du fer sérique qui a montré un faible niveau de réduction chez les enfants d'âge inférieur à 5ans (9,10%), on a noté des niveaux de réduction considérables de fer et des autres oligoéléments avec les autres groupes d'âge (5-11 ans : Fe 66,4% ; Cu 65, 31% ; Zn 65,6%) (figures 12, 13, 14). Selon le sexe, excepté le zinc qui a montré un niveau de réduction similaire (F: 64,4% ; M : 64,4%) (figure 17), les niveaux de réduction des autres oligoéléments étaient plus significatifs chez les individus de sexe masculin. Fe (F : 62,72% ; M : 78%) figure 15 ; Cu (F : 60,12% ; M : 67,24%) figure 16. Selon le poids, le fer a montré un niveau de réduction significatif chez les individus de poids [20-40 kg] : 72,30%, figure 18; il en est de même avec le cuivre chez les individus de poids < 20 kg : 67, 20%, figure 19.

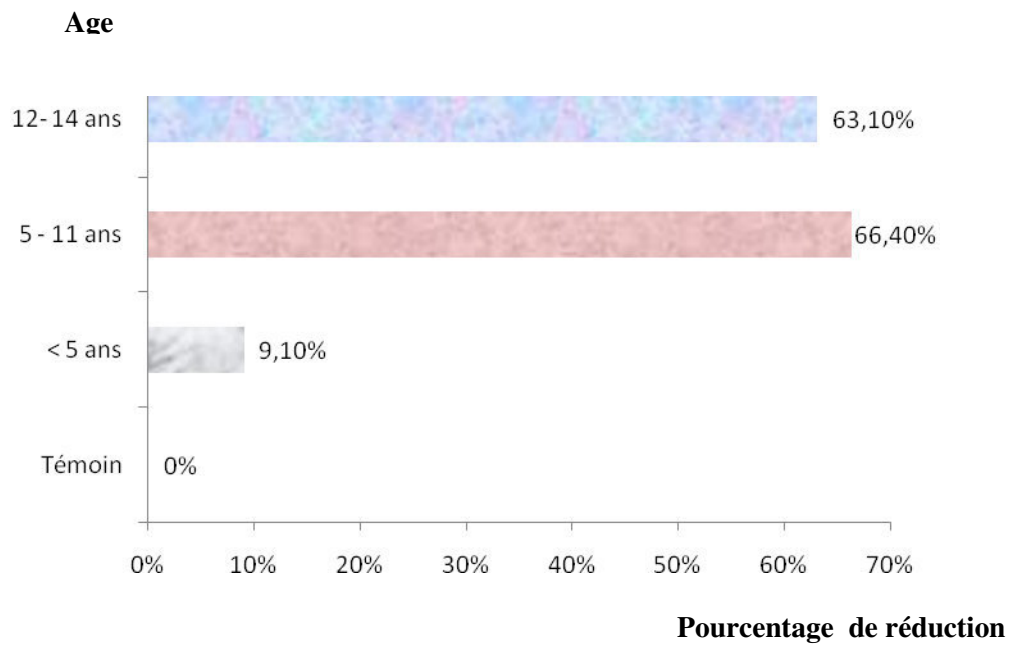
Quant au zinc on a noté un niveau de réduction plus significatif chez les individus de poids < 20 kg (62,10%) et [20-40 kg] (63,8 %), figure 20.

**Tableau V:** Valeurs moyennes des concentrations en oligoéléments sériques en fonction de l'âge

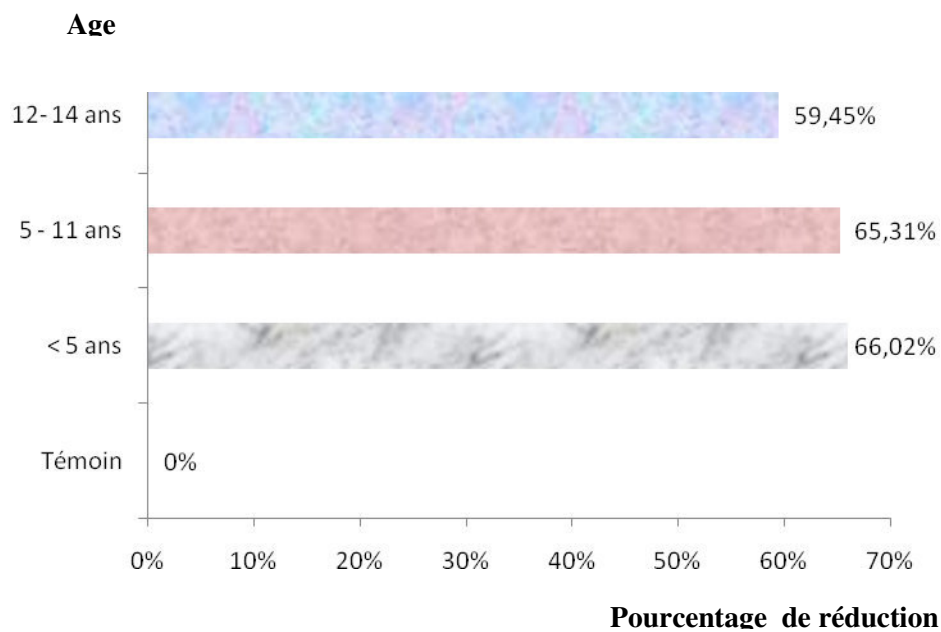
	Fe (mg/L)		Cu (mg/L)		Zn (mg/L)	
	Témoins	Paludéens	Témoins	Paludéens	Témoins	Paludéens
<b>2 - 4 ans</b>	0,44 ± 0,08 <sup>a</sup>	0,40 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,56 ± 0,09 <sup>α</sup>	0,53 ± 0,06 <sup>β</sup>	0,44 ± 0,09 <sup>α</sup>	0,21 ± 0,03 <sup>β</sup>
<b>5-11 ans</b>	1,16 ± 0,12 <sup>α</sup>	0,39 ± 0,04 <sup>β</sup>	1,73 ± 0,13 <sup>α</sup>	0,60 ± 0,02 <sup>β</sup>	0,61 ± 0,06 <sup>α</sup>	0,21 ± 0,01 <sup>β</sup>
<b>12-14 ans</b>	1,3 ± 0,41 <sup>α</sup>	0,48 ± 0,09 <sup>β</sup>	1,48 ± 0,27 <sup>α</sup>	0,60 ± 0,06 <sup>β</sup>	0,57 ± 0,14 <sup>α</sup>	0,26 ± 0,04 <sup>β</sup>

Les valeurs d'une même ligne portant la même lettre « a » sont significativement différentes au  $p > 0,05$ .  
 Les valeurs d'une même ligne pour un même oligoélément portant les lettres  $\alpha$  et  $\beta$  sont significativement différentes au  $p < 0,001$ .

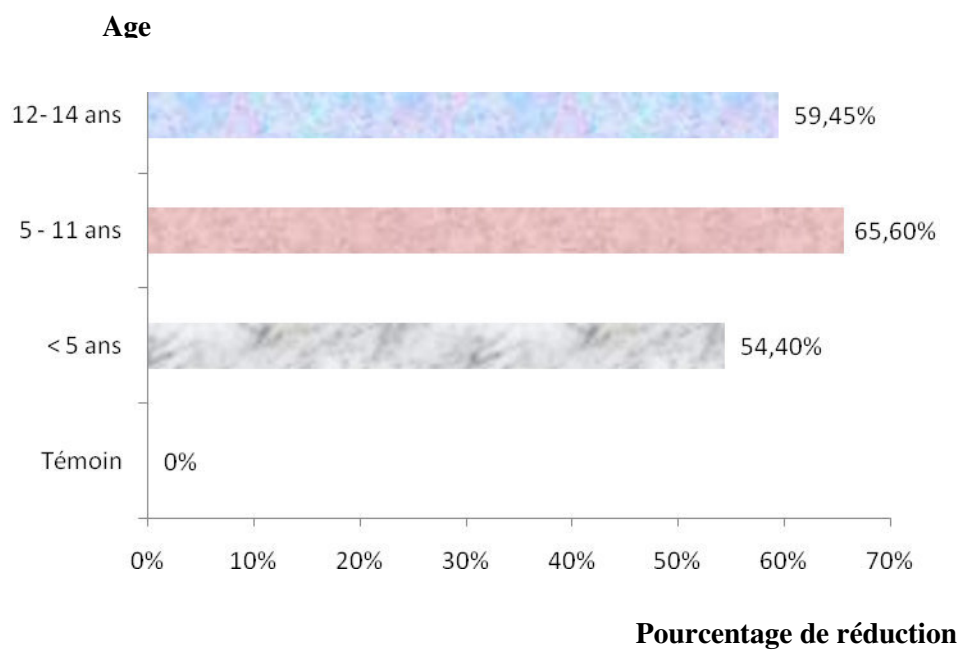




**Figure 12** : Niveau de réduction de la concentration en fer sérique selon l'âge au cours de l'infection palustre



**Figure 13:** Niveau de réduction de la concentration en cuivre sérique selon l'âge au cours de l'infection palustre

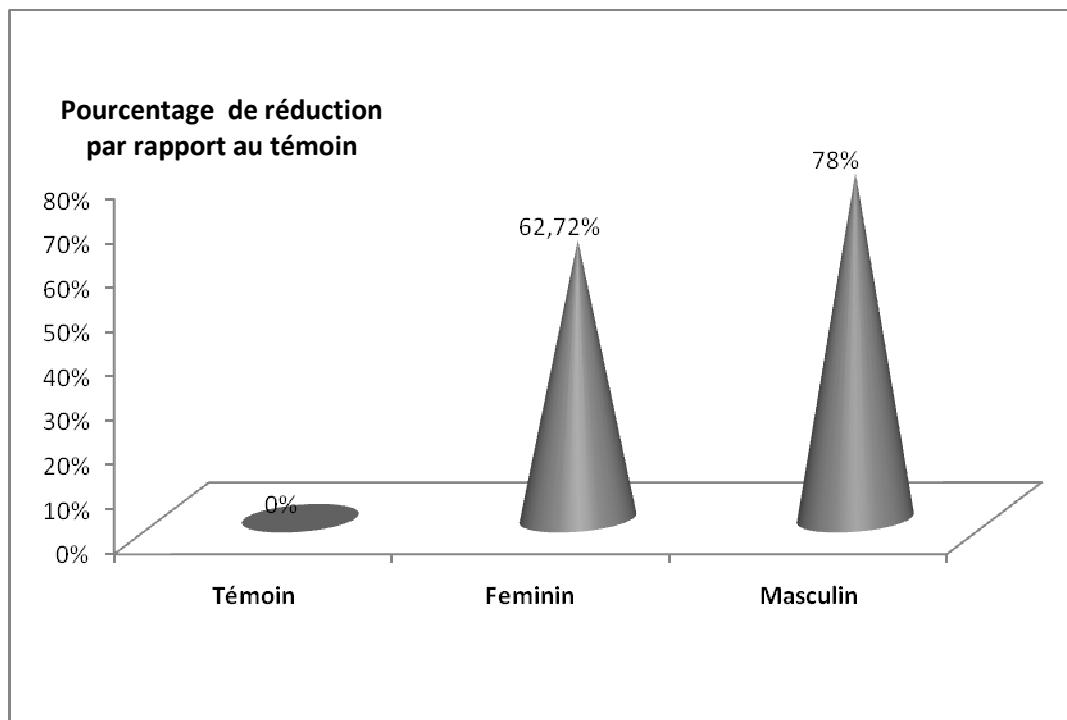


**Figure 14 :** Niveau de réduction de la concentration en zinc sérique selon l'âge au cours de l'infection palustre

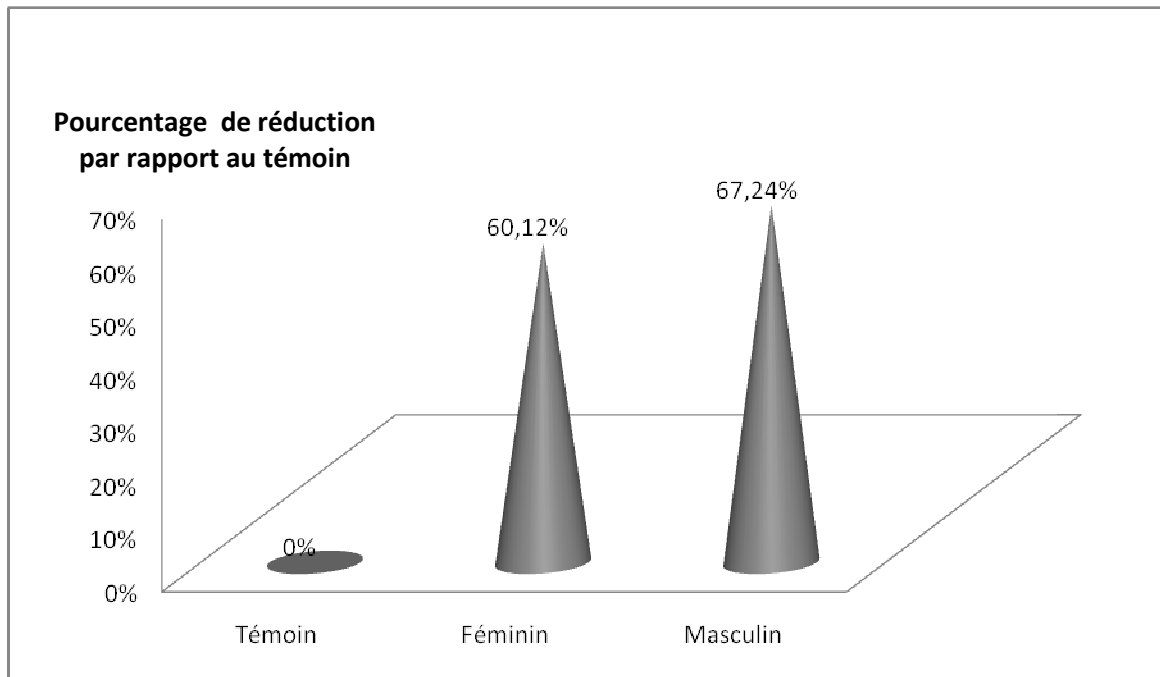
**Tableau VI** : Valeurs moyennes des concentrations en oligoéléments sériques en fonction du sexe

	Fe (mg/L)		Cu (mg/L)		Zn (mg/L)	
	Témoins	Paludéens	Témoins	Paludéens	Témoins	Paludéens
<b>Féminin</b>	1,10 ± 0,18 <sup>α</sup>	0,41 ± 0,05 <sup>β</sup>	1,63 ± 0,15 <sup>α</sup>	0,65 ± 0,03 <sup>β</sup>	0,59 ± 0,06 <sup>α</sup>	0,21 ± 0,01 <sup>β</sup>
<b>Masculin</b>	1,18 ± 0,14 <sup>α</sup>	0,40 ± 0,05 <sup>β</sup>	1,74 ± 0,17 <sup>α</sup>	0,57 ± 0,02 <sup>β</sup>	0,59 ± 0,09 <sup>α</sup>	0,21 ± 0,01 <sup>β</sup>

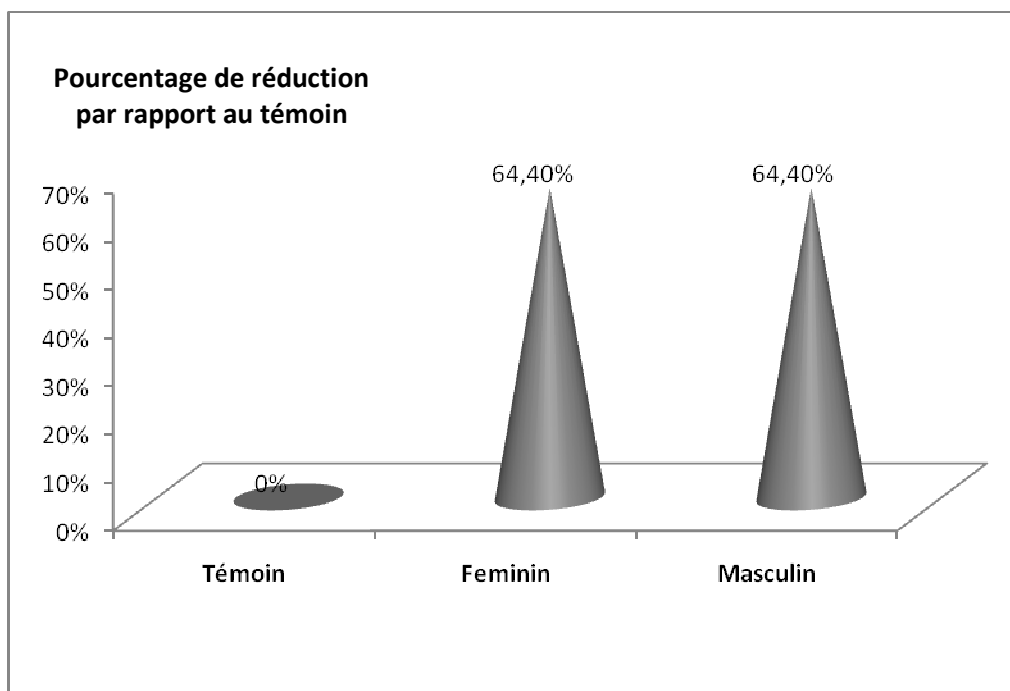
Les valeurs d'une même ligne pour un même oligoélément portant les lettres α et β sont significativement différentes au p < 0,001.



**Figure 15** : Niveau de réduction de la concentration en fer sérique selon le sexe au cours de l'infection palustre



**Figure 16 :** Niveau de réduction de la concentration en cuivre sérique selon le sexe au cours de l'infection palustre



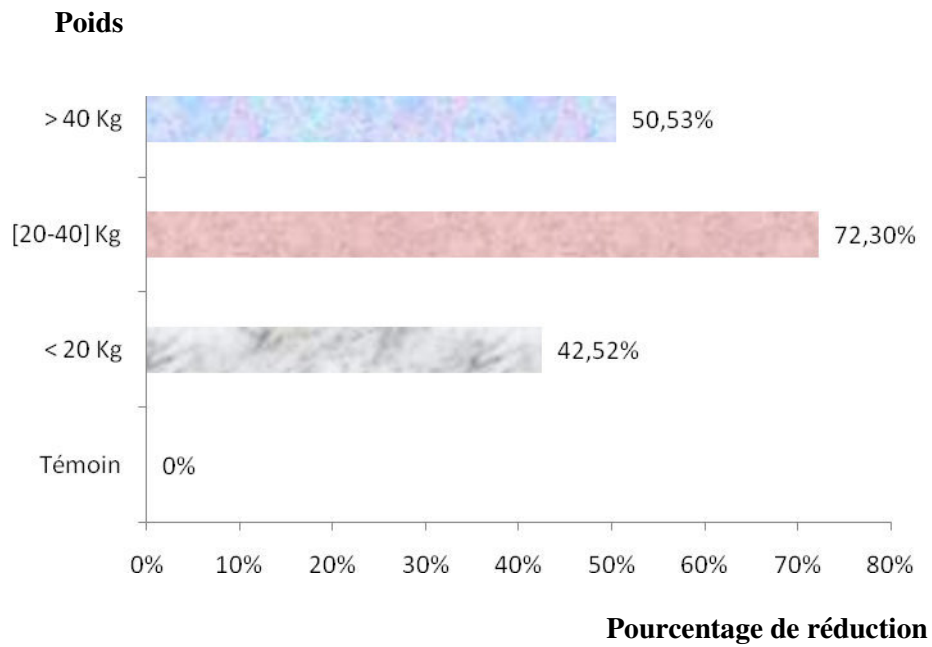
**Figure 17:** Niveau de réduction de la concentration en zinc sérique selon le sexe au cours de l'infection palustre

**Tableau VII :** Valeurs moyennes des concentrations en oligoéléments sériques en fonction du poids

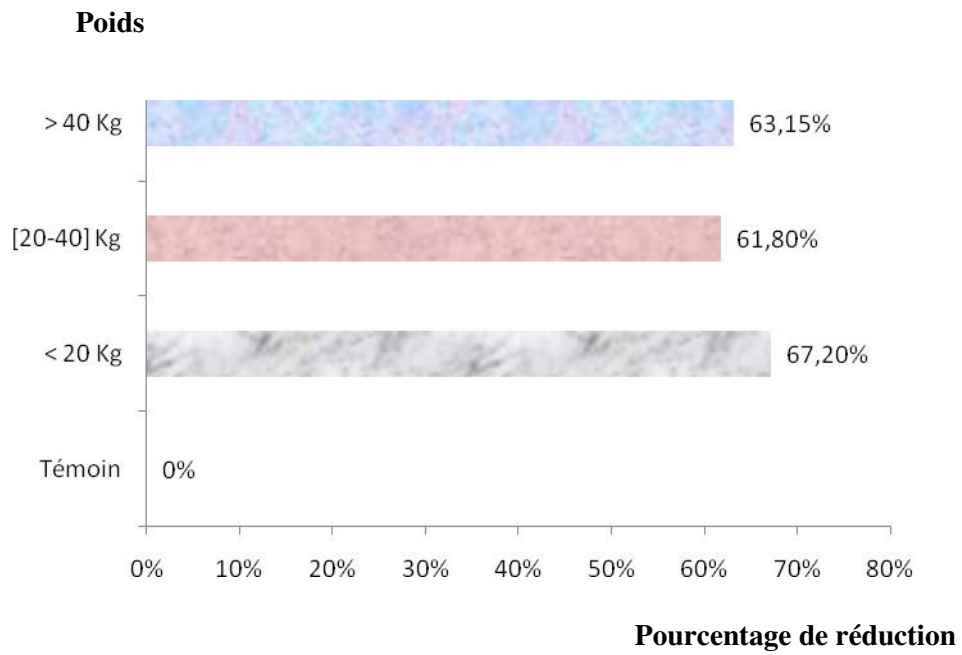
	Fe (mg/L)		Cu (mg/L)		Zn (mg/L)	
	Témoins	Paludéens	Témoins	Paludéens	Témoins	Paludéens
<b>&lt; 20 kg</b>	0,87 ± 0,13 <sup>α</sup>	0,50 ± 0,09 <sup>β</sup>	1,89 ± 0,22 <sup>α</sup>	0,62 ± 0,04 <sup>β</sup>	0,58 ± 0,11 <sup>α</sup>	0,22 ± 0,02 <sup>β</sup>
<b>20-40 kg</b>	1,30 ± 0,17 <sup>α</sup>	0,36 ± 0,04 <sup>β</sup>	1,57 ± 0,12 <sup>α</sup>	0,60 ± 0,03 <sup>β</sup>	0,58 ± 0,05 <sup>α</sup>	0,21 ± 0,01 <sup>β</sup>
<b>&gt; 40 kg</b>	0,93 ± 0,35 <sup>α</sup>	0,46 ± 0,11 <sup>β</sup>	1,71 ± 0,72 <sup>α</sup>	0,63 ± 0,06 <sup>β</sup>	0,73 ± 0,29 <sup>α</sup>	0,22 ± 0,03 <sup>β</sup>

Les valeurs d'une même ligne pour un même oligoélément portant les lettres  $\alpha$  et  $\beta$  sont significativement différentes au  $p < 0,001$ .

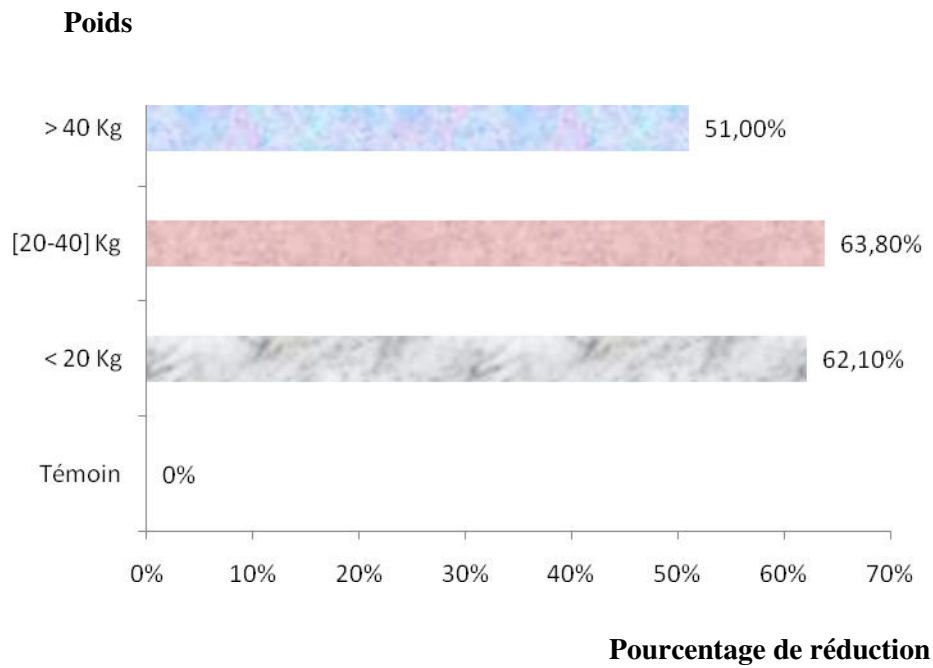




**Figure 18:** Niveau de réduction de la concentration en fer sérique selon le poids au cours de l'infection palustre



**Figure 19 :** Niveau de réduction de la concentration en cuivre sérique selon le poids au cours de l'infection palustre



**Figure 20 :** Niveau de réduction de la concentration en zinc sérique selon le poids au cours de l'infection palustre

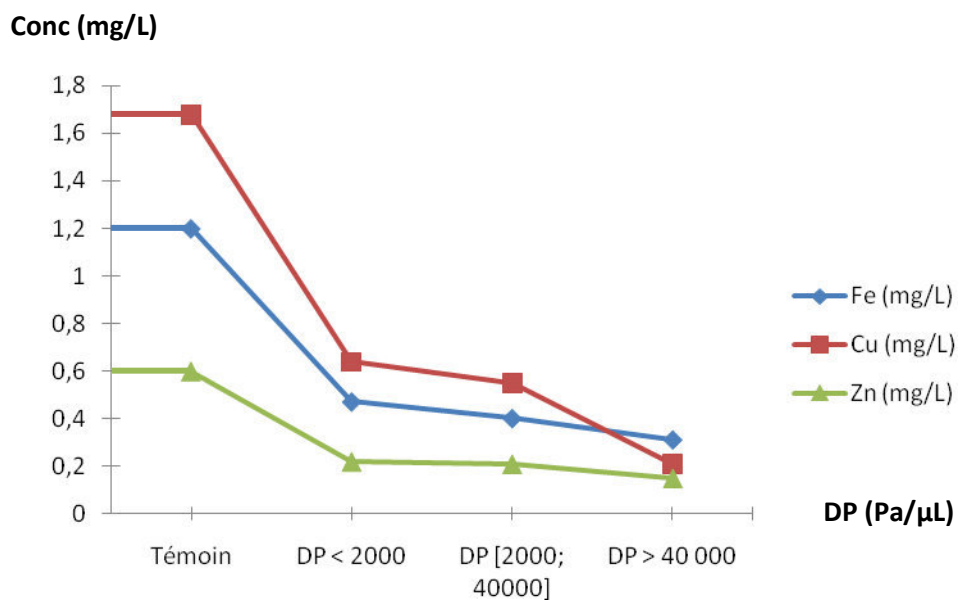
### III.2. Influence de la densité parasitaire sur les concentrations en oligoéléments

Les différentes classes de densité parasitaire (< 2000, [2000-40000], > 40000 parasites asexués par mm<sup>3</sup> de sang) ont montré par rapport aux témoins, une réduction significative des oligoéléments (p < 0,001), tableau VIII. Nous remarquons une chute de la courbe d'évolution du fer, du cuivre et du zinc en fonction de la parasitémie (figure 21). Les niveaux de réduction de ces oligoéléments s'accroissent au fur et à mesure que la parasitémie augmentait DP < 2000 (Fe : 60,83% ; Cu : 61,9% ; Zn : 63,33%) ; DP > 40000 (Fe : 74,16% ; Cu : 70,23% ; Zn : 75%) (figures 22, 23, 24).

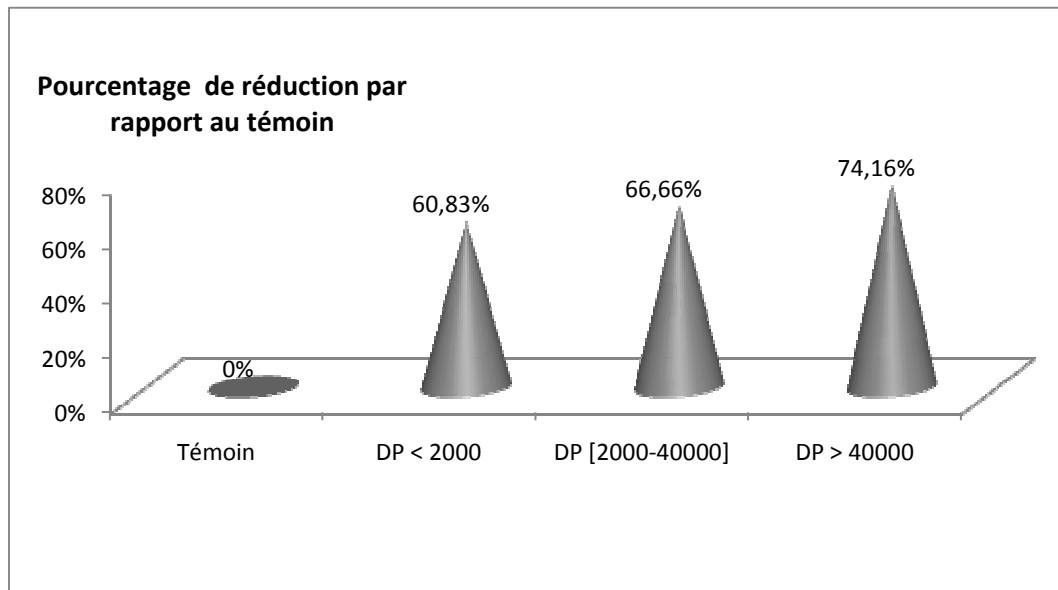
**Tableau VIII :** Concentration moyenne (en mg/L) en oligoéléments sériques selon la densité parasitaire

Oligoéléments	Témoins (n = 41)	Paludéens		
		DP < 2000 (pa/μL) (n = 14)	DP [2000; 40000] (pa/μL) (n = 47)	DP > 40000 (pa/μL) (n = 10)
<b>Fe</b>	1,2 ± 0,78 <sup>α</sup>	0,47 ± 0,31 <sup>β</sup>	0,40 ± 0,32 <sup>β</sup>	0,31 ± 0,27 <sup>β</sup>
<b>Cu</b>	1,68 ± 0,74 <sup>α</sup>	0,64 ± 0,18 <sup>β</sup>	0,55 ± 0,21 <sup>β</sup>	0,50 ± 0,02 <sup>β</sup>
<b>Zn</b>	0,6 ± 0,34 <sup>α</sup>	0,22 ± 0,12 <sup>β</sup>	0,21 ± 0,09 <sup>β</sup>	0,15 ± 0,03 <sup>β</sup>

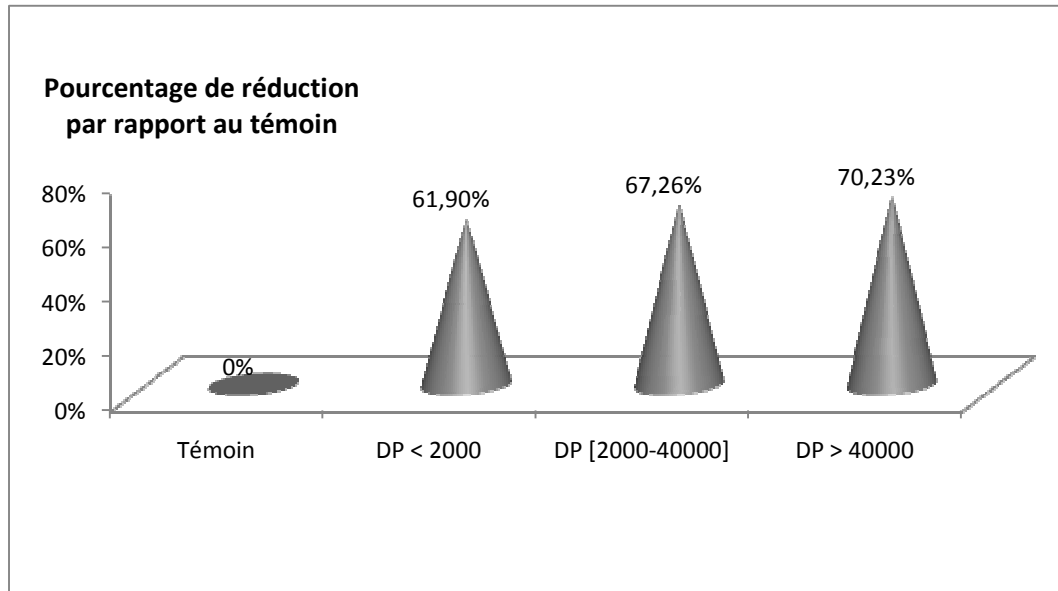
Les valeurs d'une même ligne portant les lettres α et β sont significativement différentes au p < 0,001.



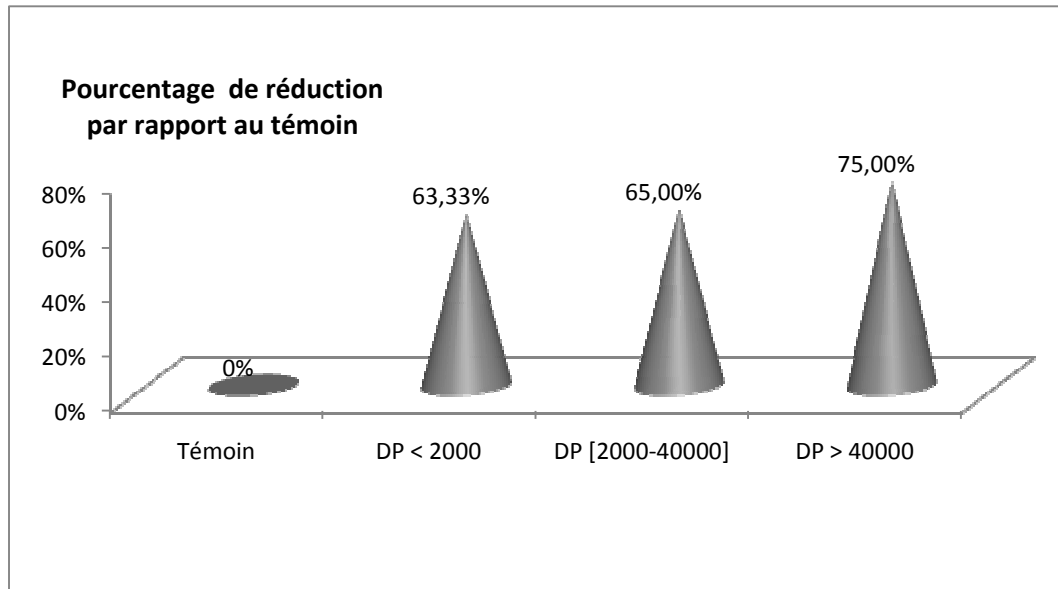
**Figure 21:** Courbe d'évolution de la concentration en oligoéléments selon le portage parasitaire



**Figure 22 :** Réduction de la concentration en fer sérique selon la parasitémie par rapport aux témoins



**Figure 23 :** Réduction de la concentration en cuivre sérique selon la parasitémie par rapport aux témoins



**Figure 24 :** Réduction de la concentration en zinc sérique selon la parasitémie par rapport aux témoins



### III.3. Influence de l'état des plaquettes sur les concentrations des oligoéléments

Les états pathologiques des plaquettes (thrombopénie) ont montré une diminution significative de ces oligoéléments comparée aux mêmes états chez les témoins ( $p < 0,001$ ). Les résultats de ces observations sont consignés dans le tableau IX. Cependant, on a noté au cours du paludisme un niveau de réduction plus important du fer, du cuivre et du zinc en absence qu'en présence de thrombopénie (figures 25, 26, 27).

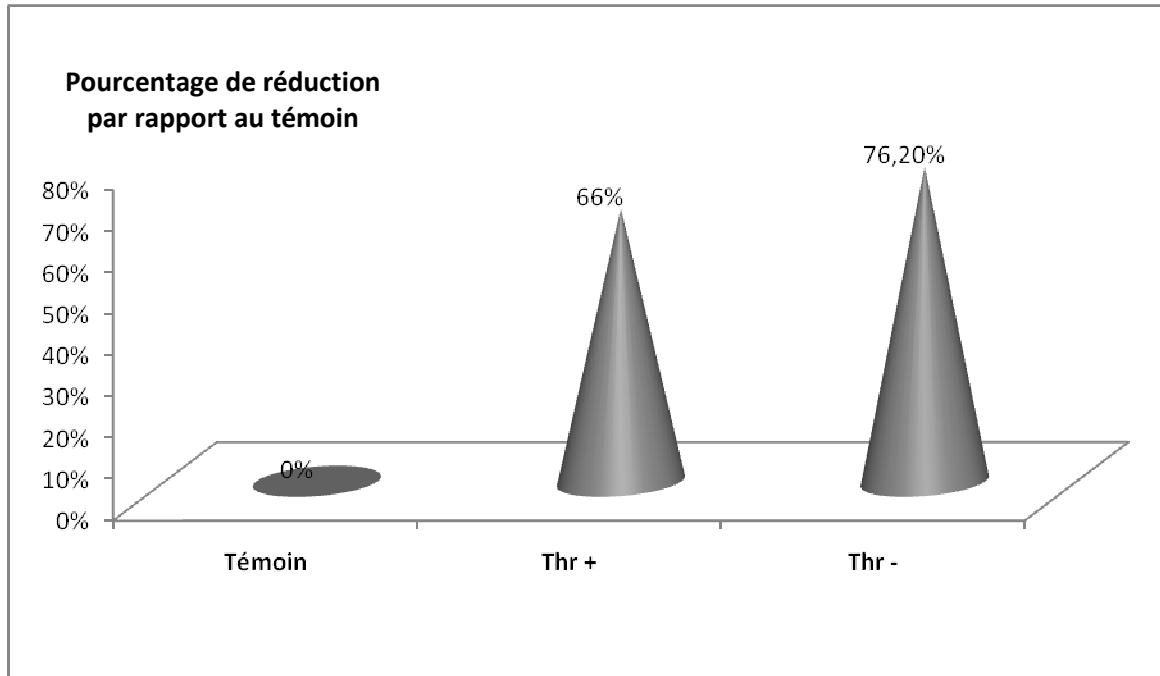
**Tableau IX :** Concentration moyenne en mg/L en oligoéléments sériques des enfants paludéens et non paludéens selon l'état pathologique des plaquettes

Oligoéléments	Témoins		Paludéens	
	Thr + (n=9)	Thr - (n=32)	Thr + (n=50)	Thr - (n=21)
<b>Fe</b>	$1,18 \pm 0,98^{\alpha}$	$1,72 \pm 0,72^{\beta}$	$0,40 \pm 0,3^a$	$0,41 \pm 0,32^b$
<b>Cu</b>	$1,44 \pm 0,28^{\alpha}$	$1,75 \pm 0,8^{\beta}$	$0,60 \pm 0,21^a$	$0,63 \pm 0,12^b$
<b>Zn</b>	$0,36 \pm 0,07^{\alpha}$	$0,66 \pm 0,23^{\beta}$	$0,21 \pm 0,11^a$	$0,22 \pm 0,09^b$

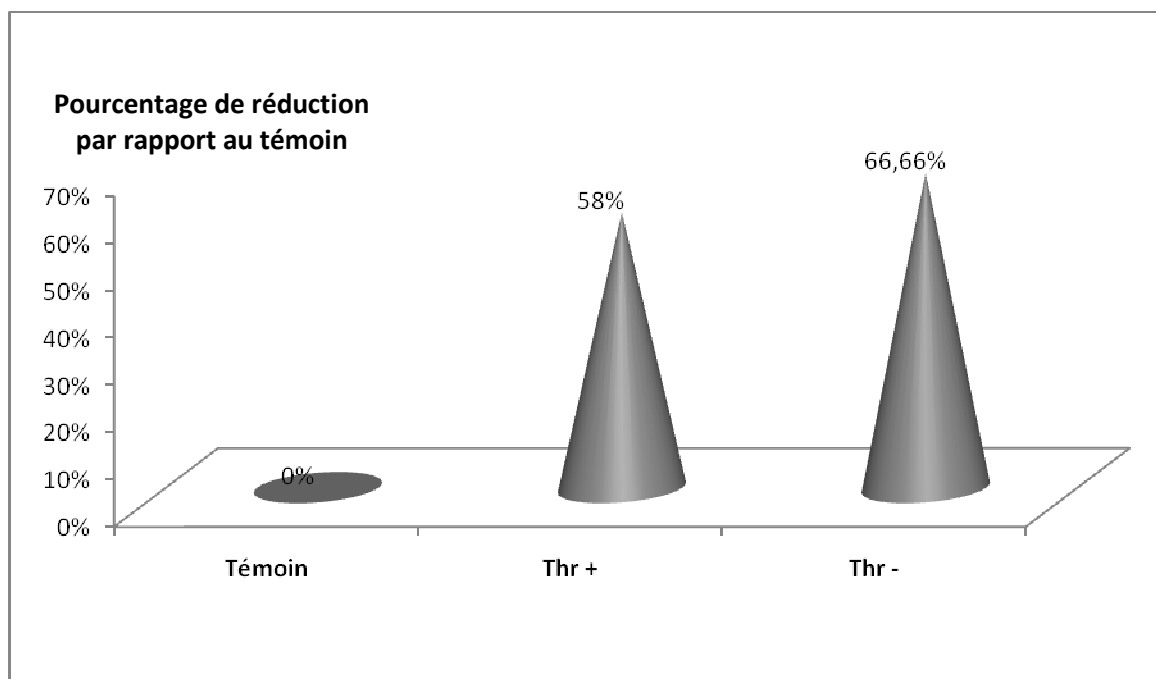
Thr + = présence de thrombopénie

Thr - = absence de thrombopénie

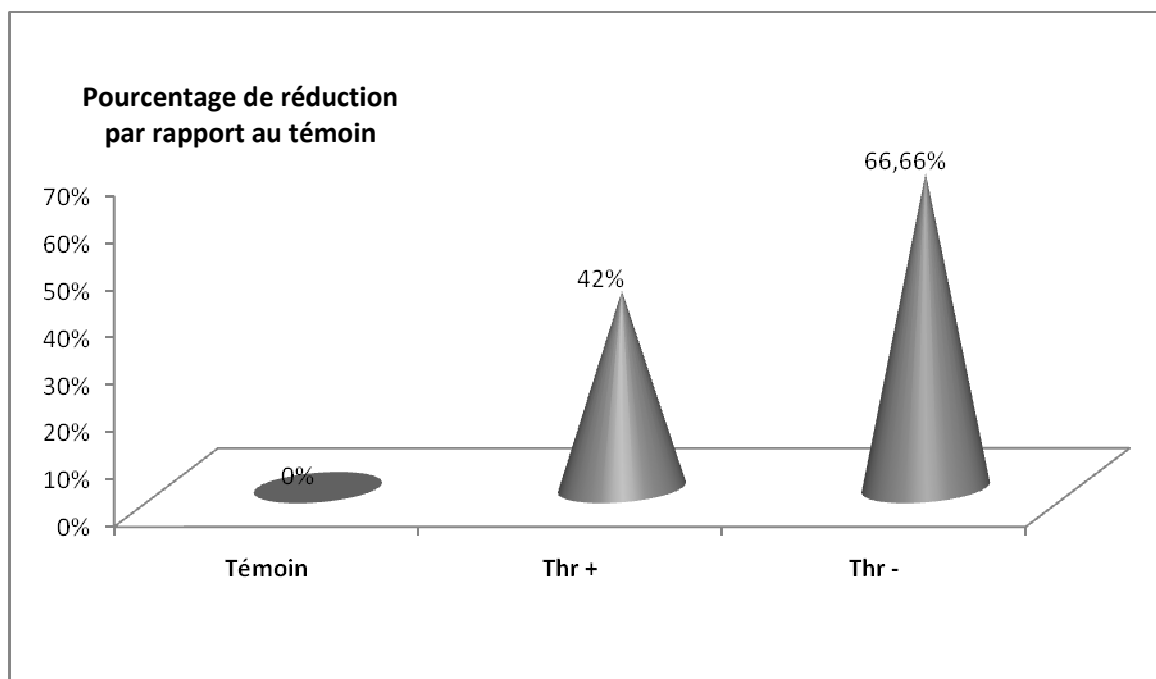
Les valeurs d'une même ligne portant les lettres (a et  $\alpha$  ou b et  $\alpha$ ) et (a et  $\beta$  ou b et  $\beta$ ) sont significativement différentes au  $p < 0,001$ . On a  $p < 0,01$  avec Zn (a et  $\alpha$  ou b et  $\beta$ ) ; pour Fe : b et  $\alpha$  ( $p < 0,01$ ).



**Figure 25:** Réduction de la concentration en fer sérique selon la thrombopénie (Thr+) ou non (Thr-) au cours de l'infection palustre



**Figure 26:** Réduction de la concentration en cuivre sérique selon la thrombopénie (Thr+) ou non (Thr-) au cours de l'infection palustre



**Figure 27 :** Réduction de la concentration en zinc sérique selon la thrombopénie (Thr+) ou non (Thr-) au cours de l'infection palustre

### **III.4. Influence de l'état des globules rouges sur les concentrations des oligoéléments**

On a noté une diminution de la concentration des oligoéléments sériques, chez les sujets paludéens, comparée aux témoins selon qu'ils soient anémiés ou non ( $p < 0,001$ ) ; les résultats sont présentés dans le tableau X. Par ailleurs, les niveaux de réduction des oligoéléments au sein de la population paludéenne, étaient élevés chez les sujets anémiés comparés aux non anémiés (figures 28, 29, 30). Il a été observé que la réduction de tous les oligoéléments était presque similaire chez les anémiés (Fe : 66% ; Cu : 64% ; Zn : 66%).

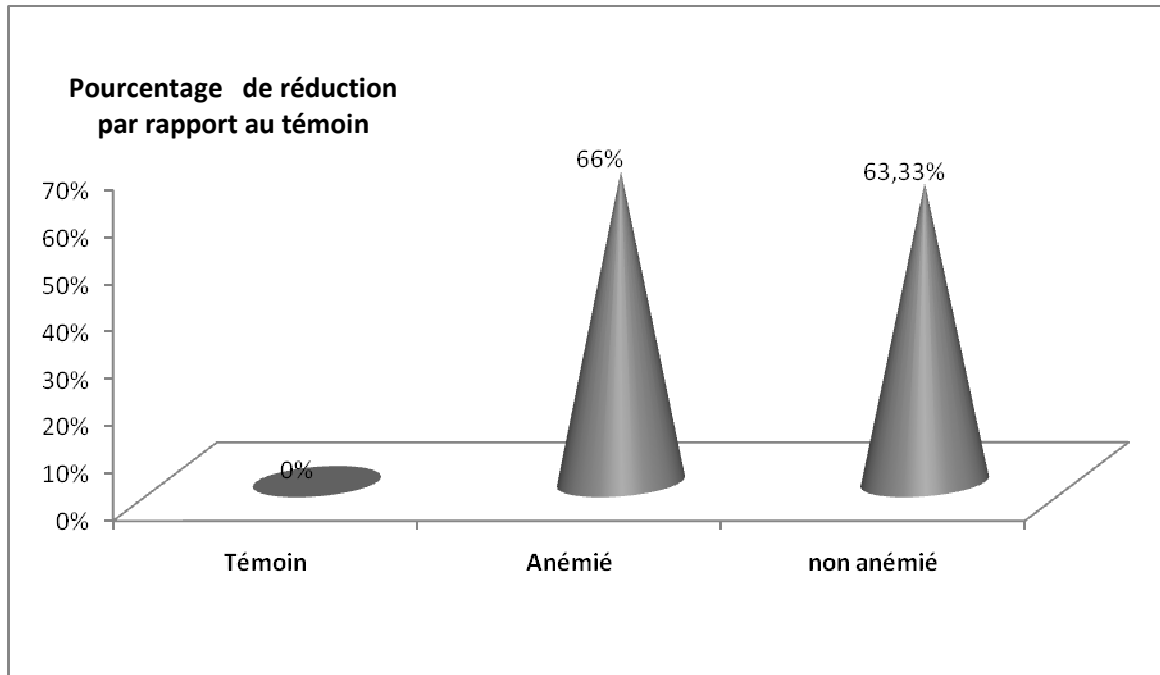
Les états anémiques (microcytaires, hypochrome et normocytaires) ont montré dans l'ensemble une nette réduction significative des oligoéléments comparée aux mêmes états chez les témoins ( $p < 001$ ) ; les résultats de cette observation sont consignés dans les tableaux XI et XII.

Par ailleurs, les états d'hypochromie comparés aux états microcytaires observés au cours du paludisme, ont présenté des valeurs presque superposables. De plus, ces valeurs au sein de chaque état anémique ont montré un niveau de réduction maximal pour le fer et le zinc (hypochromie, Fe : 75% ; Zn : 68% contre Cu : 66%); (microcytaire, Fe : 66% ; Zn : 66% contre Cu : 64%). Les résultats sont présentés dans les figures 31, 32, 33, 34, 35 et 36.

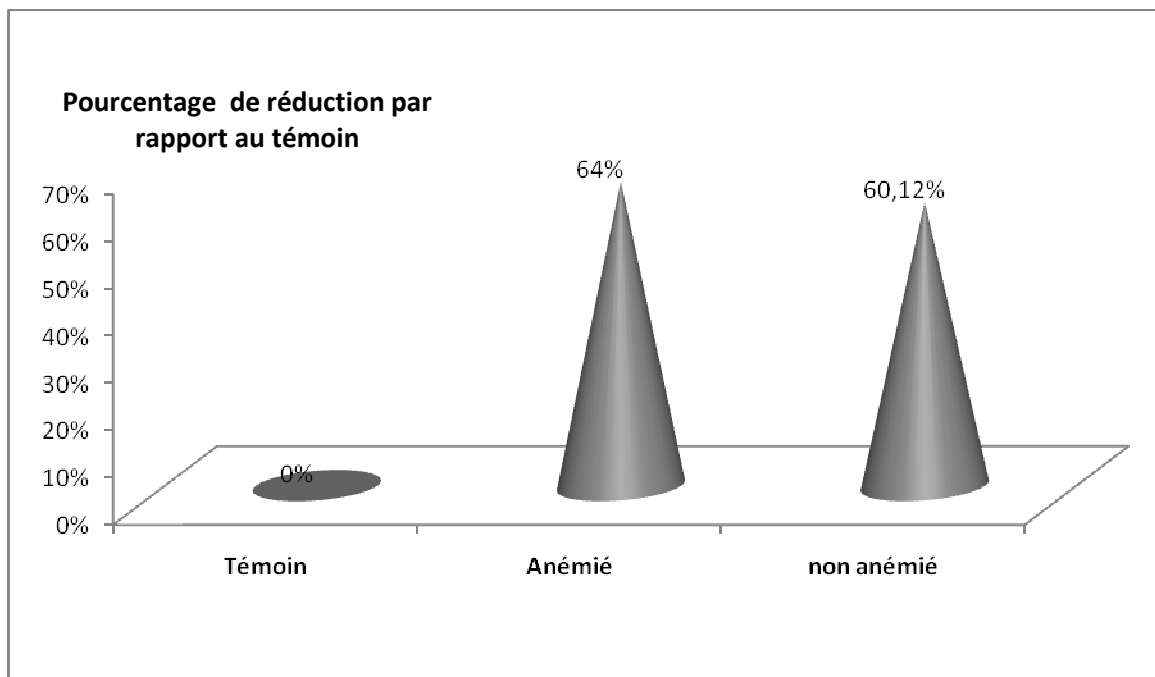
**Tableau X :** Concentration moyenne (en mg/L) en oligoéléments sériques des enfants paludéens et non paludéens selon le profil hématologique

Type de sujet	Variation de l'hémoglobine	
	Non anémié	Anémié
<b>Témoins</b>	(n = 7)	(n = 34)
Fe	1,2 ± 0,63 <sup>α</sup>	1,17 ± 0,8 <sup>β</sup>
Cu	1,63 ± 0,32 <sup>α</sup>	1,69 ± 0,75 <sup>β</sup>
Zn	0,46 ± 0,09 <sup>α</sup>	0,62 ± 0,36 <sup>β</sup>
<b>Paludéens</b>	(n = 8)	(n = 63)
Fe	0,44 ± 0,37 a	0,40 ± 0,30 b
Cu	0,65 ± 0,23 a	0,60 ± 0,18 b
Zn	0,21 ± 0,04 a	0,21 ± 0,1 b

Les valeurs pour un même oligoélément portant les lettres (a et α ou b et α) et (a et β ou b et β) sont significativement différentes au p < 0,001. On a p < 0,01 avec : Cu (a et α) ; Zn (a et α, ou a et β). On a p < 0,05) avec Fe (b et α ou a et β).

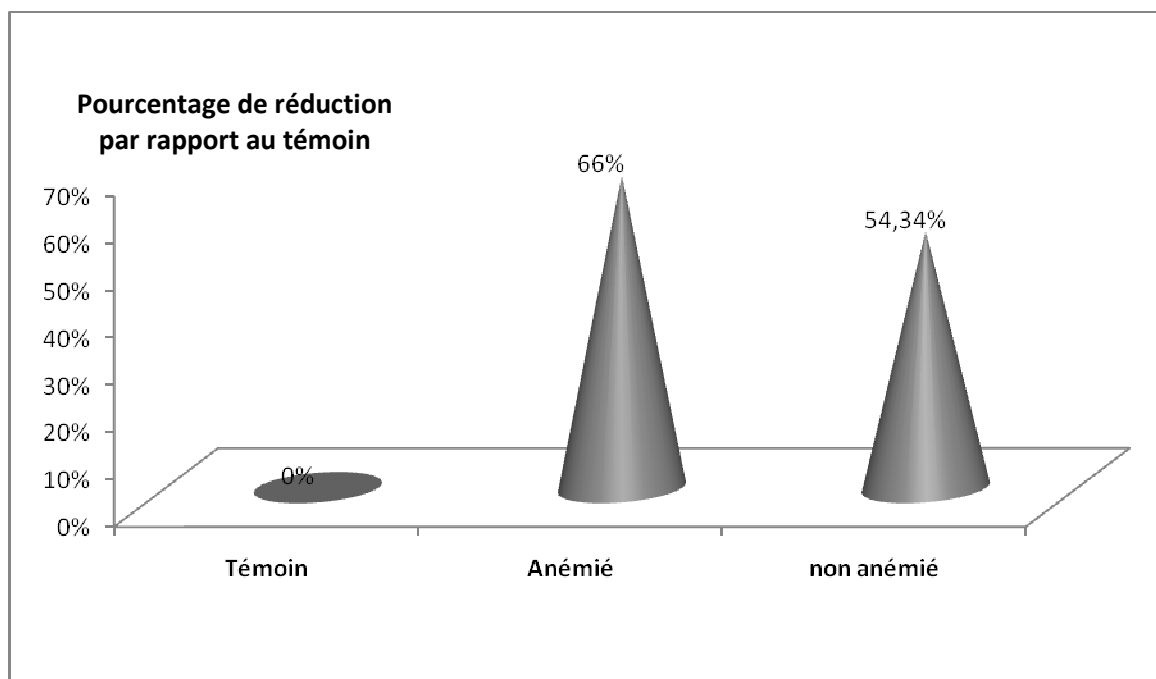


**Figure 28:** Réduction de la concentration en fer sérique selon l'anémie ou non au cours de l'infection palustre



**Figure 29:** Réduction de la concentration en cuivre sérique selon l'anémie ou non au cours de l'infection palustre





**Figure 30:** Réduction de la concentration en zinc sérique selon l'anémie ou non au cours de l'infection palustre

**Tableau XI :** Concentration moyenne (en mg/L) en oligoéléments sériques des enfants paludéens et non paludéens selon l'anémie hypochrome

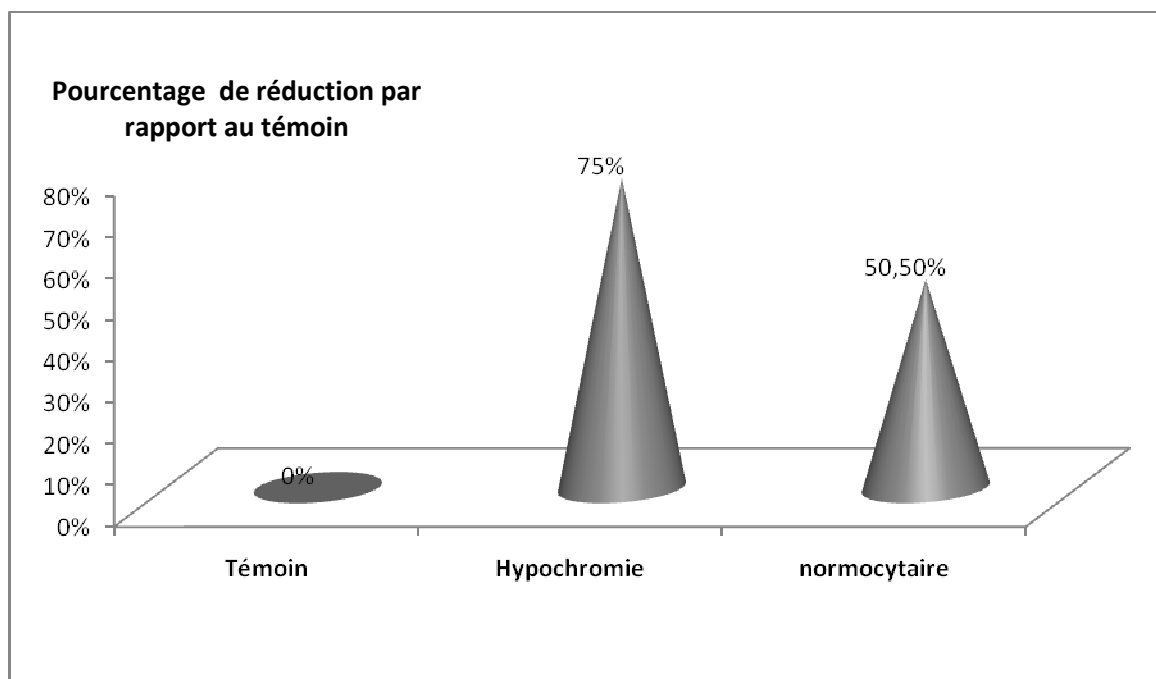
Type de sujet	Valeur de la TCMH	
	Hypochromie	Normocytaire
<b>Témoins</b>	(n = 16)	(n = 25)
Fe	1,36 ± 0,84 <sup>α</sup>	0,99 ± 0,7 <sup>β</sup>
Cu	1,77 ± 0,9 <sup>α</sup>	1,62 ± 0,62 <sup>β</sup>
Zn	0,68 ± 0,34 <sup>α</sup>	0,53 ± 0,11 <sup>β</sup>
<b>Paludéens</b>	(n = 41)	(n = 30)
Fe	0,34 ± 0,22 a	0,49 ± 0,38 b
Cu	0,61 ± 0,21 a	0,61 ± 0,14 b
Zn	0,22 ± 0,1 a	0,21 ± 0,09 b

Les valeurs pour un même oligoélément portant les lettres (a et α ou b et α) et (a et β ou b et β) sont significativement différentes au  $p < 0,001$ .

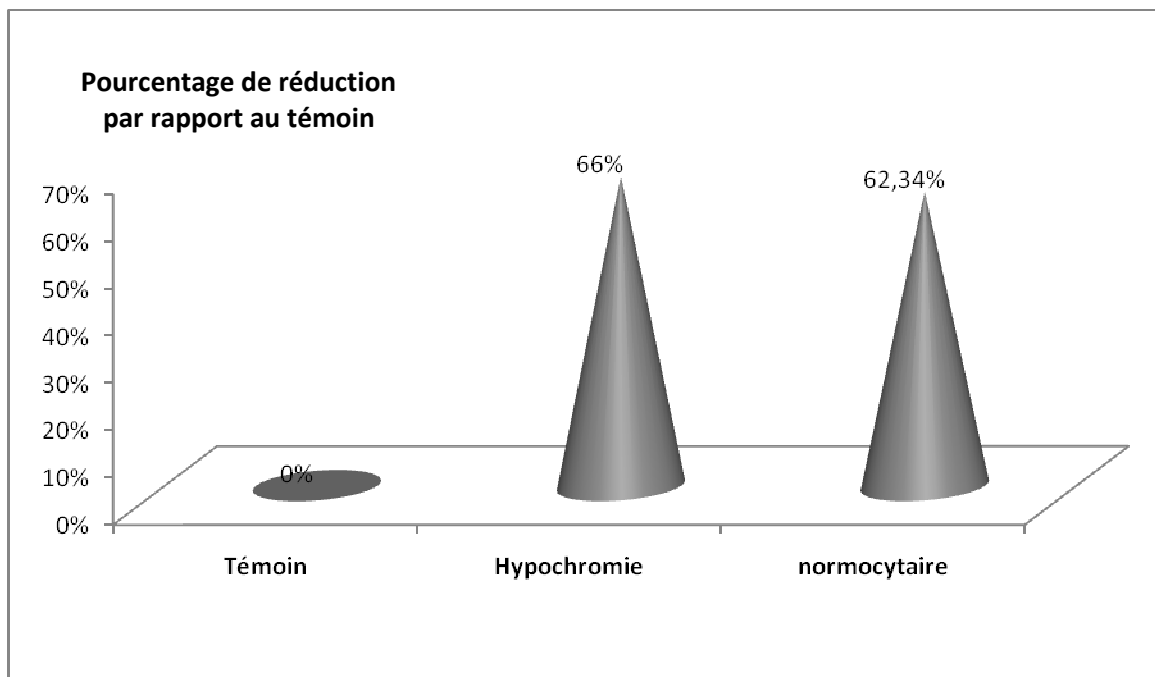
**Tableau XII :** Concentration moyenne (en mg/L) en oligoéléments sériques des enfants paludéens et non paludéens selon l'anémie microcytaire

Type de sujet	Valeur du volume moyen des Globules rouges	
	Microcytaire	Normocytaire
<b>Témoins</b>	(n = 16)	(n = 25)
Fe	1,25 ± 0,75 <sup>α</sup>	1,07 ± 0,79 <sup>β</sup>
Cu	1,70 ± 0,81 <sup>α</sup>	1,67 ± 0,7 <sup>β</sup>
Zn	0,67 ± 0,34 <sup>α</sup>	0,54 ± 0,35 <sup>β</sup>
<b>Paludéens</b>	(n = 41)	(n = 30)
Fe	0,43 ± 0,33 a	0,37 ± 0,27 b
Cu	0,62 ± 0,23 a	0,59 ± 0,11 b
Zn	0,23 ± 0,1 a	0,19 ± 0,07 b

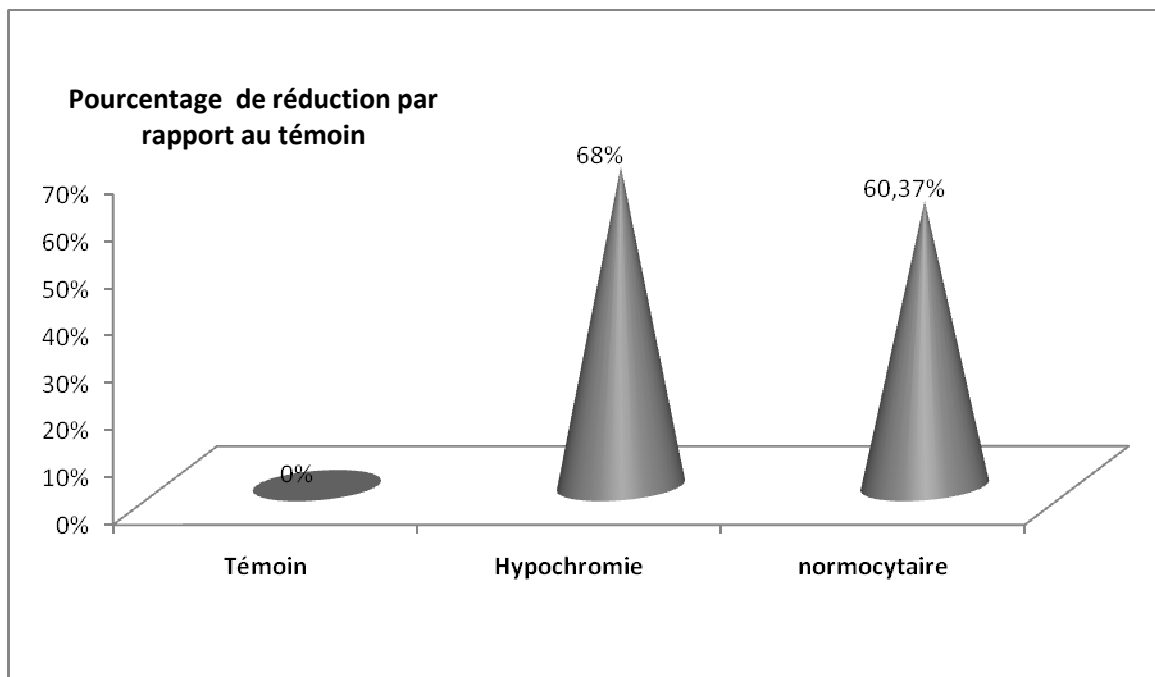
Les valeurs pour un même oligoélément portant les lettres (a et α ou b et α) et (a et β ou b et β) sont significativement différentes au p < 0,001.



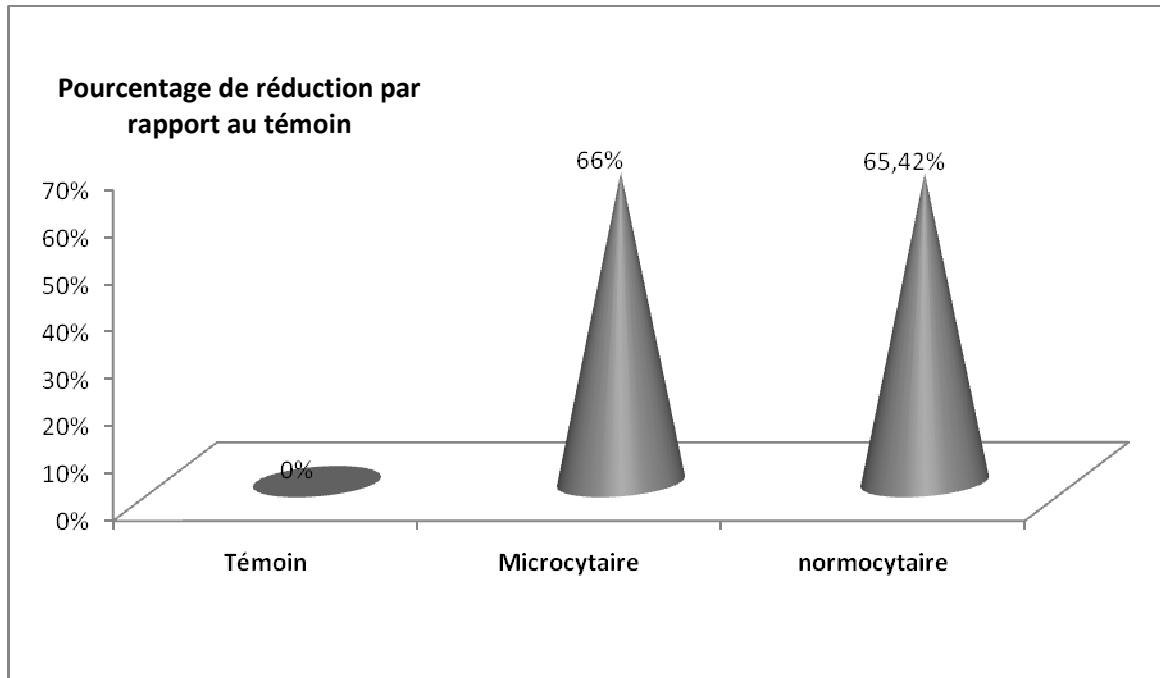
**Figure 31** : Réduction de la concentration en fer sérique selon l'anémie hypochrome ou non au cours de l'infection palustre



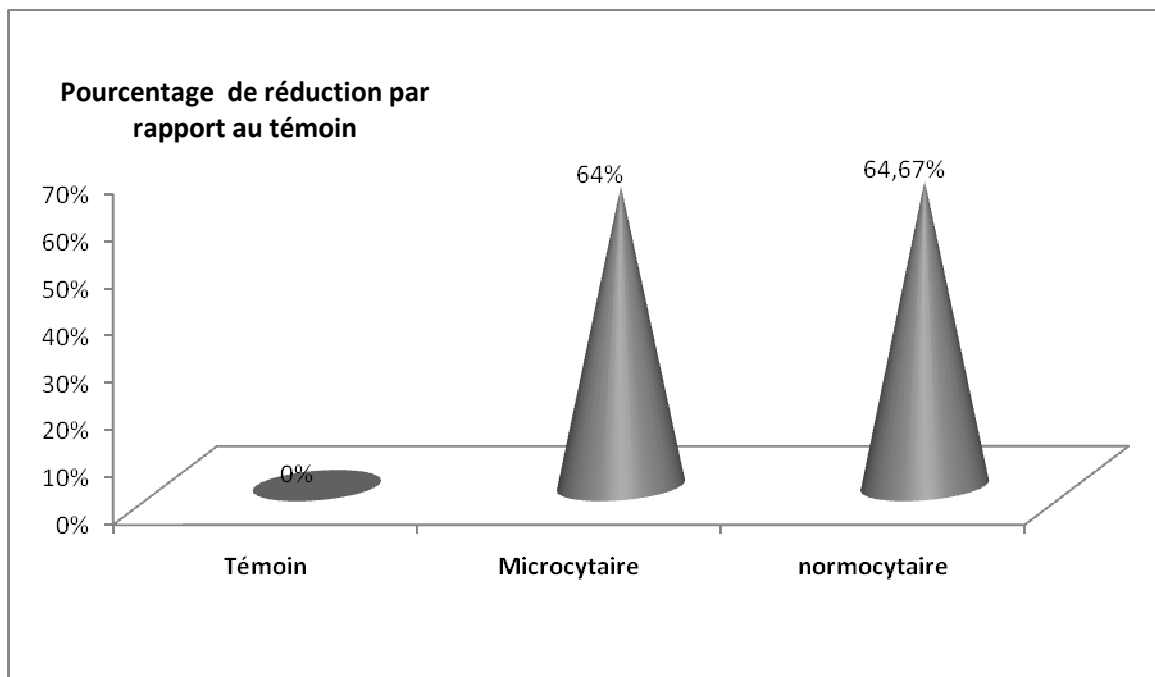
**Figure 32 :** Réduction de la concentration en cuivre sérique selon l'anémie hypochrome ou non au cours de l'infection palustre



**Figure 33 :** Réduction de la concentration en zinc sérique selon l'anémie hypochrome ou non au cours de l'infection palustre

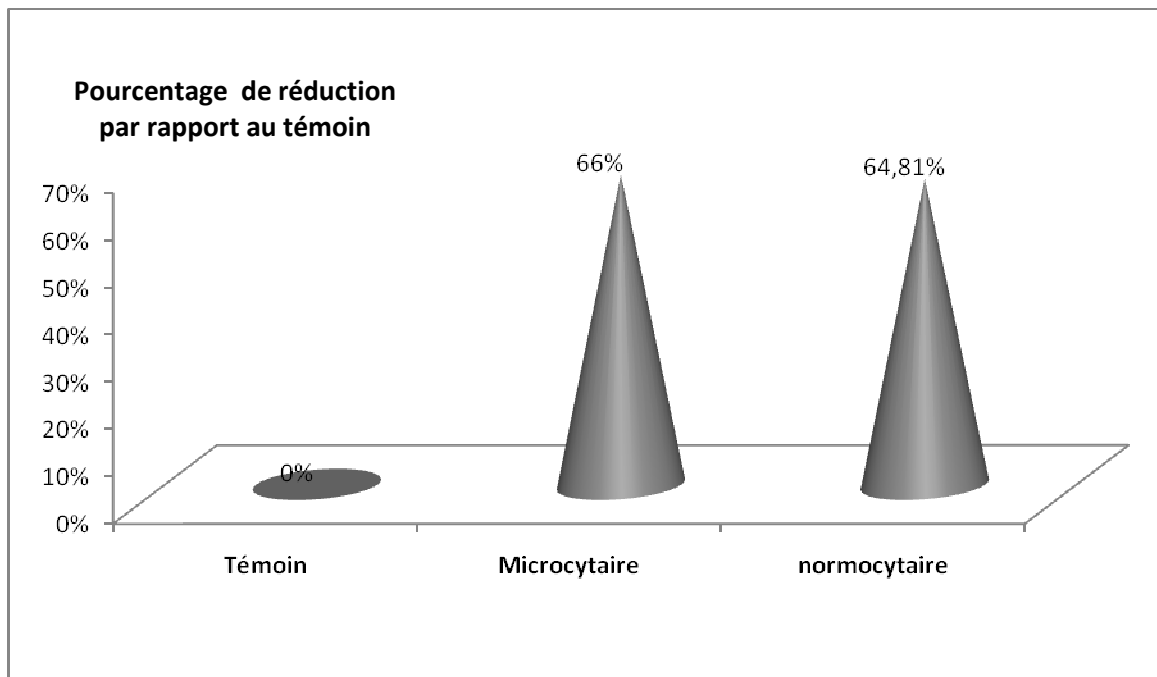


**Figure 34:** Réduction de la concentration en fer sérique selon l'anémie microcytaire ou non au cours de l'infection palustre



**Figure 35:** Réduction de la concentration en cuivre sérique selon l'anémie microcytaire ou non au cours de l'infection palustre





**Figure 36:** Réduction de la concentration en zinc sérique selon l'anémie microcytaire ou non au cours de l'infection palustre

#### IV. Etude des vitamines A (rétinol) et E (tocophérol)

##### IV.1. Influence de la présence du parasite sur les concentrations des vitamines

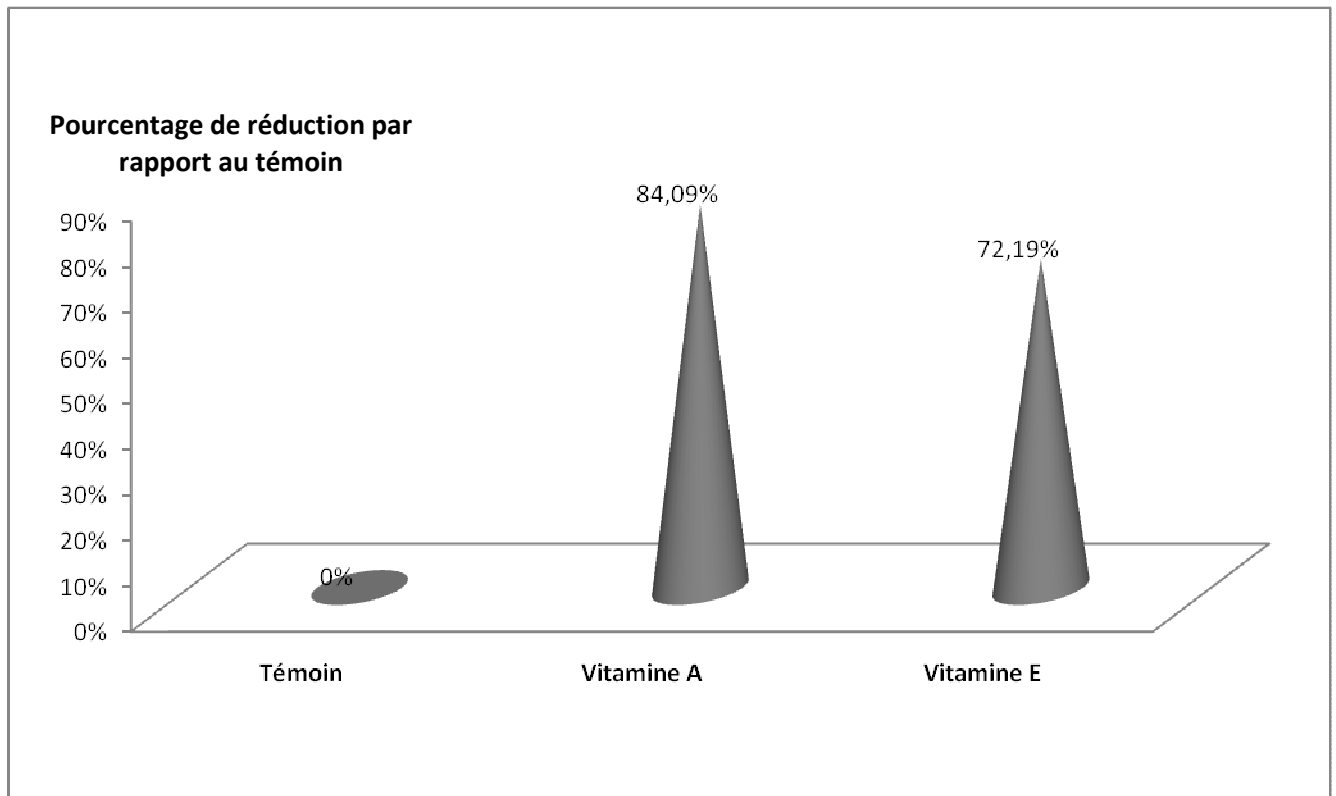
##### IV.1.1. Influence sur les valeurs moyennes globales des vitamines

Les valeurs de vitamine A et E sériques mesurées chez les enfants paludéens ont montré une réduction majeure de ces micronutriments, comparée aux témoins ( $p < 0,001$ ), tableau XIII. Le pourcentage de réduction de la vitamine A était largement supérieur à celui de la vitamine E (vitamine A : 84,09% contre 72,19% pour la vitamine E) (figure 37).

**Tableau XIII** : Concentrations moyennes globales en mg/L en vitamines A et E sériques de la population paludéenne et non paludéenne

<b>Vitamines</b>	<b>Témoins (n = 80)</b>	<b>Paludéens (n = 80)</b>
<b>Vitamine A</b>	0.44 ± 0.02 <sup>α</sup>	0.07 ± 0.01 <sup>β</sup>
<b>Vitamine E</b>	9.46 ± 0.64 <sup>α</sup>	2.63 ± 0.35 <sup>β</sup>

Les valeurs d'une même ligne portant les lettres  $\alpha$  et  $\beta$  sont significativement différentes au  $p < 0,001$ .



**Figure 37:** Réduction globale des concentrations en vitamines A et E au cours de l'infection palustre

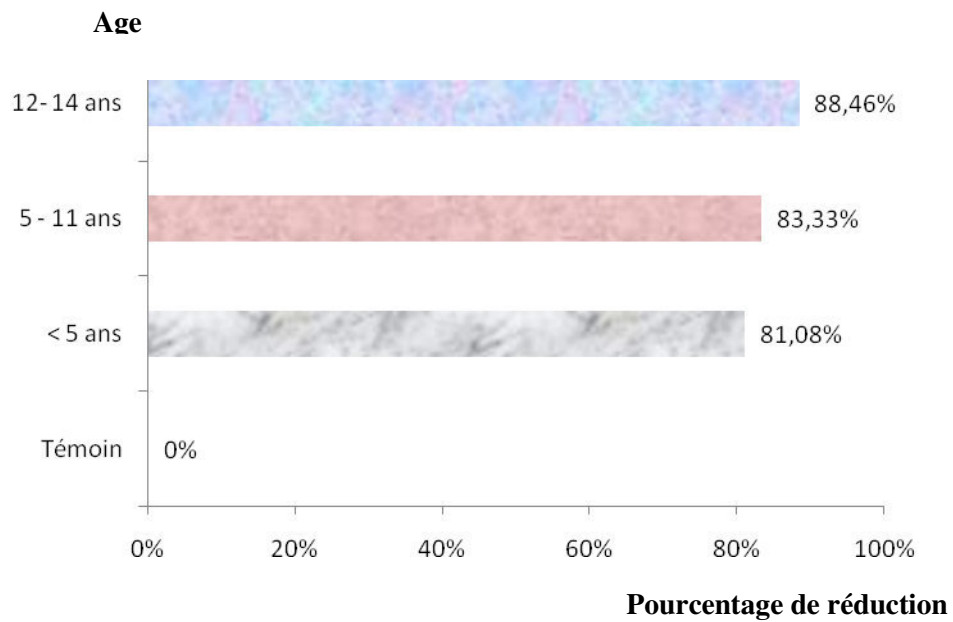
#### **IV.1.2. Influence selon l'âge, le sexe et le poids**

L'influence du paludisme sur les valeurs sériques des vitamines A et E a montré les mêmes effets selon l'âge, le sexe et le poids des sujets au cours de cette étude. On a noté au cours du paludisme une diminution significative des concentrations sériques des vitamines comparées aux témoins (tableaux XIV, XV, XVI). Les niveaux de réduction des vitamines étaient variables et considérables. Selon l'âge, la vitamine A, a montré un niveau de réduction plus accru chez les enfants de 12-14 ans (88,46%) (figure 38). Quant à la vitamine E, elle a montré un niveau de réduction plus accru chez les moins de 5 ans (86,21%) (figure 39). Selon le sexe, le niveau de réduction est plus marqué avec la vitamine E chez les filles (78,31%) et la vitamine A chez les garçons (83,72%) (figures 40, 41). Selon le poids, on a noté un niveau de réduction accru avec la vitamine A chez les enfants ayant un poids > 40 kg (figure 42) et avec la vitamine E pour un poids < 20kg (figure 43).

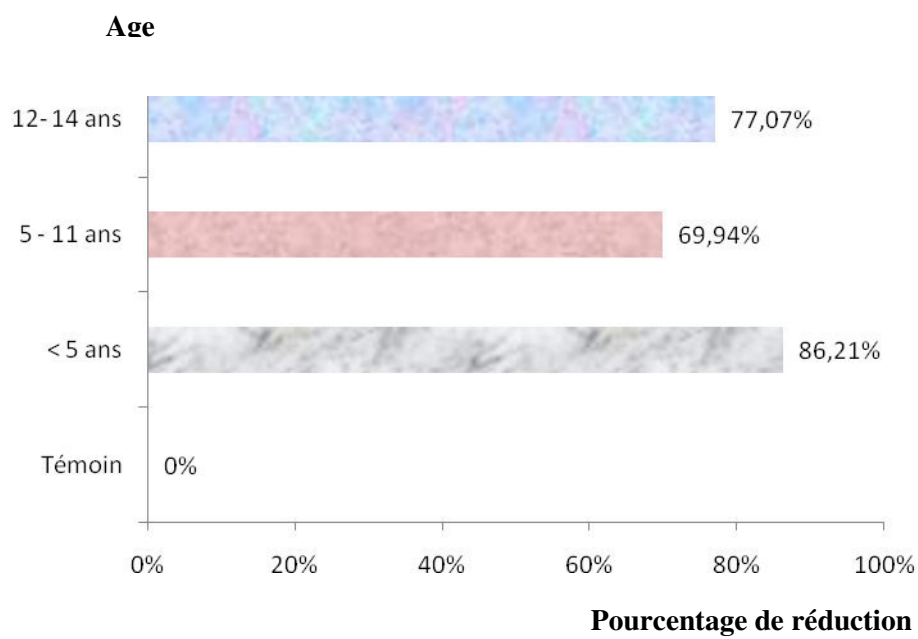
**Tableau XIV:** Concentrations moyennes en vitamines A et E sériques en fonction de l'âge des sujets paludéens et témoins

	Vitamine A (mg/L)		Vitamine E (mg/L)	
	Témoins	Paludéens	Témoins	Paludéens
<b>2 - 4 ans</b>	0,37 ± 0,25 <sup>α</sup>	0,07 ± 0,04 <sup>β</sup>	15,93 ± 15,89 <sup>α</sup>	2,19 ± 1,3 <sup>β</sup>
<b>5-11 ans</b>	0,42 ± 0,17 <sup>α</sup>	0,08 ± 0,07 <sup>β</sup>	8,75 ± 8,33 <sup>α</sup>	2,87 ± 2,63 <sup>β</sup>
<b>12-14 ans</b>	0,52 ± 0,19 <sup>α</sup>	0,06 ± 0,03 <sup>β</sup>	10,73 ± 11,67 <sup>α</sup>	2,46 ± 1,70 <sup>β</sup>

Les valeurs d'une même ligne pour une même vitamine portant les lettres α et β sont significativement différentes au p < 0,001.



**Figure 38** : Niveau de réduction de la concentration en vitamine A selon l'âge au cours de l'infection palustre



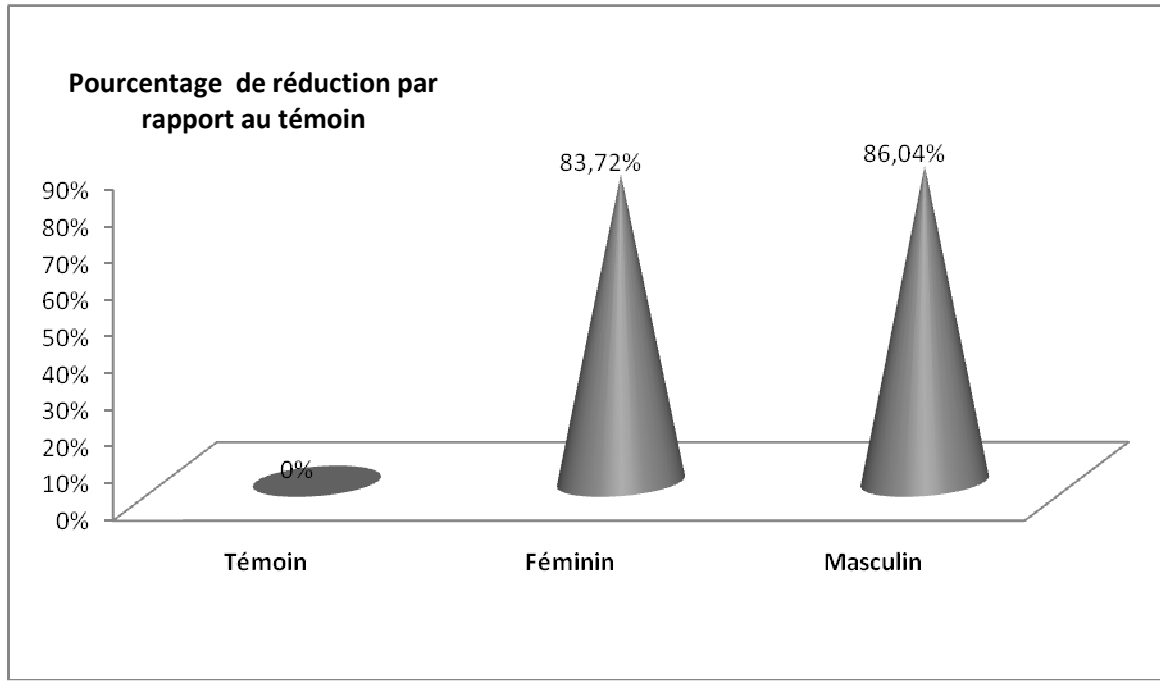
**Figure 39:** Niveau de réduction de la concentration en vitamine E selon l'âge au cours de l'infection palustre

**Tableau XV** : Concentration moyennes en vitamines A et E sériques en fonction du sexe des sujets paludéens et témoins

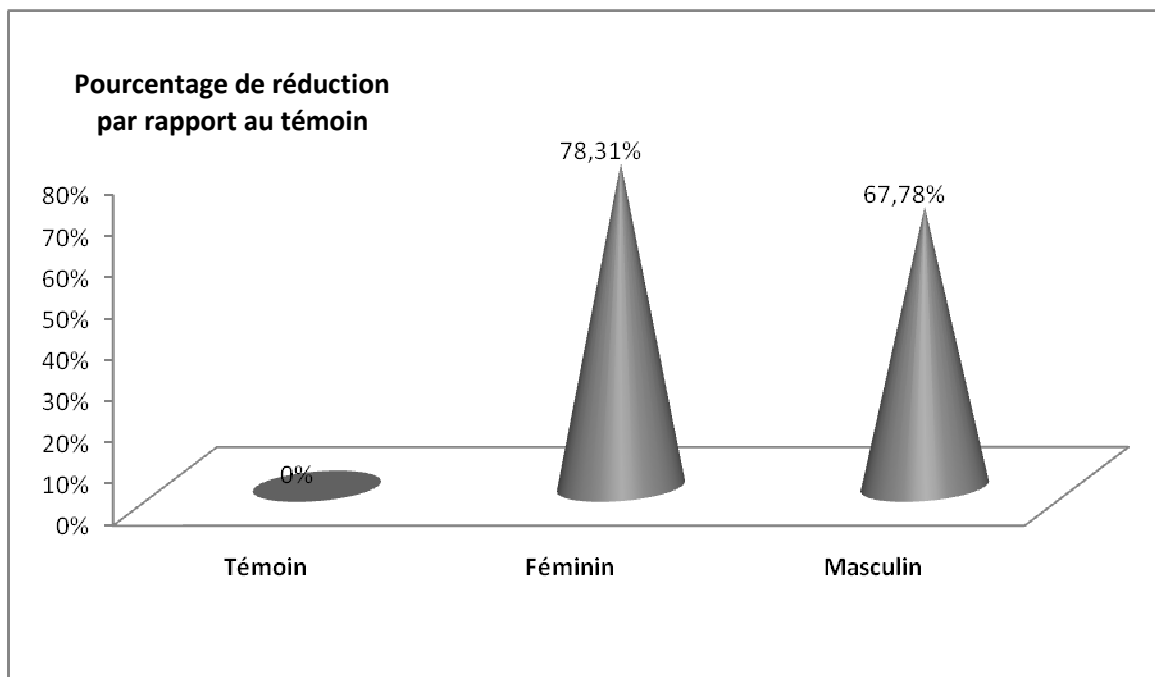
	Vitamine A (mg/L)		Vitamine E (mg/L)	
	Témoins	Paludéens	Témoins	Paludéens
<b>Féminin</b>	0,43 ± 0,20 <sup>α</sup>	0,07 ± 0,06 <sup>β</sup>	9,64 ± 7 <sup>α</sup>	2,09 ± 2,54 <sup>β</sup>
<b>Masculin</b>	0,43 ± 0,17 <sup>α</sup>	0,07 ± 0,06 <sup>β</sup>	9,25 ± 6,16 <sup>α</sup>	2,98 ± 2,49 <sup>β</sup>

Les valeurs d'une même ligne pour une même vitamine portant les lettres  $\alpha$  et  $\beta$  sont significativement différentes au  $p < 0,001$ .





**Figure 40:** Niveau de réduction de la concentration en vitamine A selon le sexe au cours de l'infection palustre

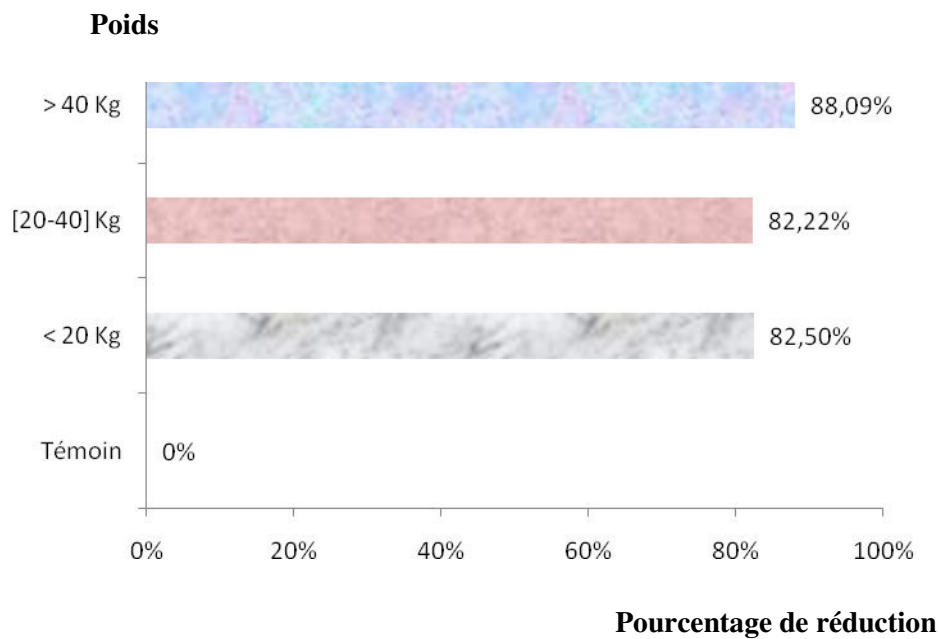


**Figure 41** : Niveau de réduction de la concentration en vitamine E selon le sexe au cours de l'infection palustre

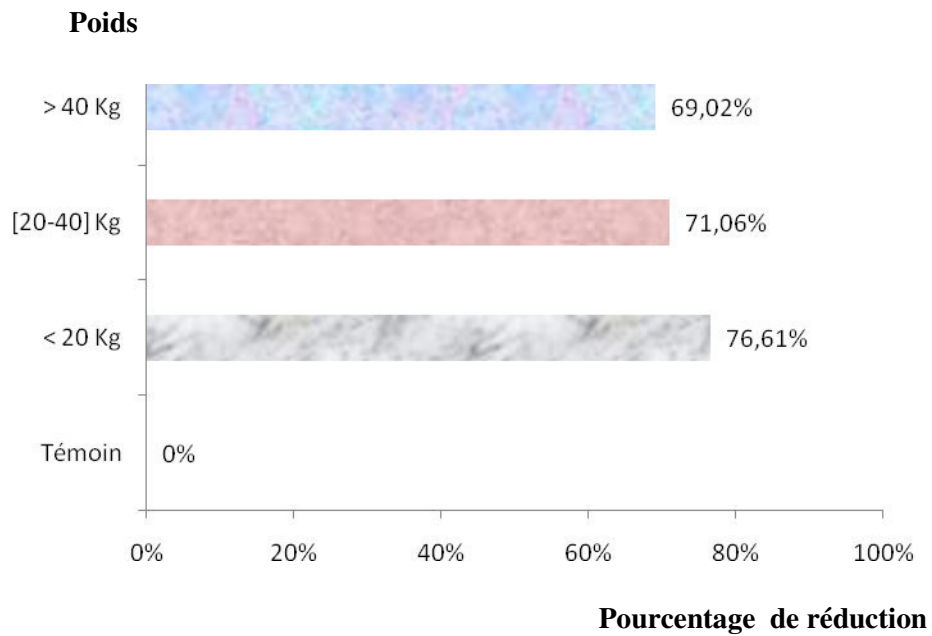
**Tableau XVI :** Concentrations moyennes en vitamines A et E sérique en fonction du poids des sujets paludéens et témoins

	Vitamine A (mg/L)		Vitamine E (mg/L)	
	Témoins	Paludéens	Témoins	Paludéens
<b>&lt; 20 kg</b>	0,40 ± 0,19 <sup>α</sup>	0,07 ± 0,06 <sup>β</sup>	10,52 ± 5,89 <sup>α</sup>	3,04 ± 2,46 <sup>β</sup>
<b>20-40 kg</b>	0,45 ± 0,19 <sup>α</sup>	0,08 ± 0,07 <sup>β</sup>	9,09 ± 5,63 <sup>α</sup>	2,63 ± 2,44 <sup>β</sup>
<b>&gt; 40 kg</b>	0,42 ± 0,15 <sup>α</sup>	0,05 ± 0,03 <sup>β</sup>	9,17 ± 6,37 <sup>α</sup>	2,84 ± 2,06 <sup>β</sup>

Les valeurs d'une même ligne pour une même vitamine portant les lettres α et β sont significativement différentes au p < 0,001.



**Figure 42 :** Niveau de réduction de la concentration en vitamine A selon le poids au cours de l'infection palustre



**Figure 43:** Niveau de réduction de la concentration en vitamine E selon le poids au cours de l'infection palustre

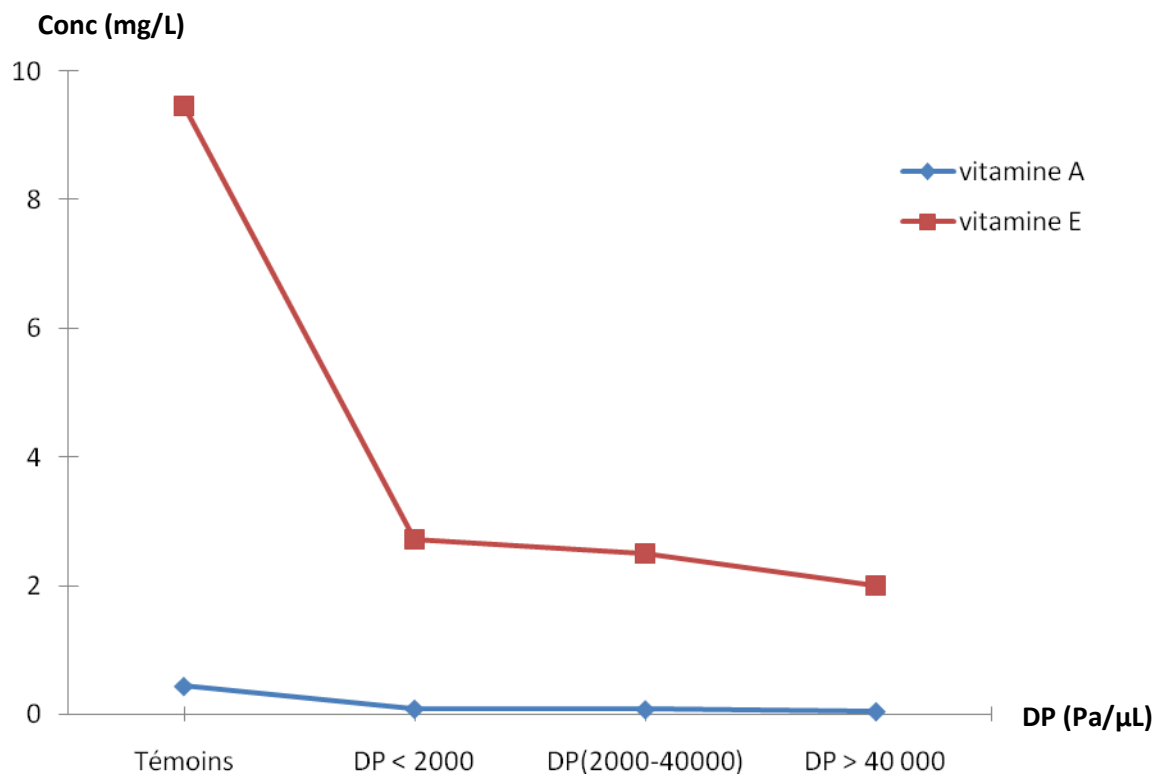
#### IV.2. Influence de la densité parasitaire sur les concentrations des vitamines

On a noté avec les différentes classes de densités parasitaires définies, une réduction significative des vitamines par rapport aux témoins ( $p < 0,001$ ) (tableau XVII). De même la courbe d'évolution chutait au fur et à mesure que la parasitémie augmentait (figure 44). Les niveaux de réduction des vitamines ont montré un maximum pour des parasitémies  $> 40\ 000$  soit 90,9% pour la vitamine A et 78,85% pour la vitamine E (figures 45, 46).

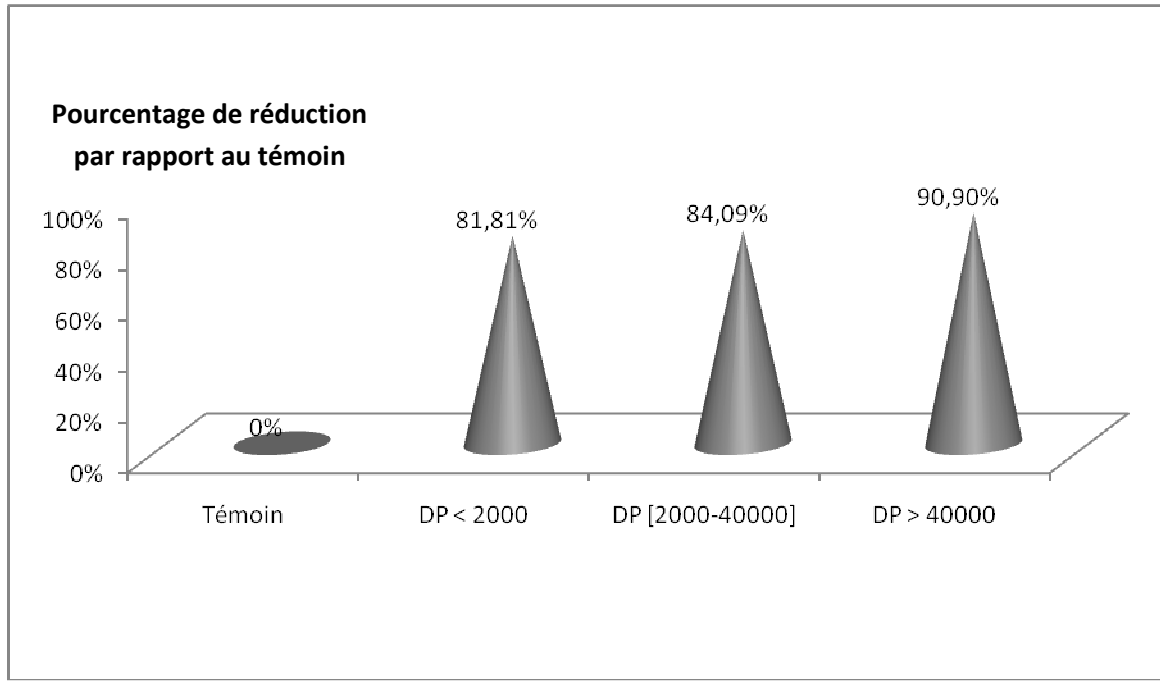
**Tableau XVII :** Concentrations moyennes (en mg/L) en vitamines A et E sérique selon la parasitémie

Vitamines	Témoins (DP =0) N= 80	DP < 2000 N= 9	DP (2000-40000) N= 32	DP > 40000 N= 39
Vitamine A	$0,44 \pm 0,02^{\alpha}$	$0,08 \pm 0,07^{\beta}$	$0,09 \pm 0,07^{\beta}$	$0,04 \pm 0,04^{\beta}$
Vitamine E	$9,46 \pm 0,64^{\alpha}$	$3,1 \pm 2,72^{\beta}$	$2,62 \pm 2,50^{\beta}$	$2,23 \pm 2^{\beta}$

Les valeurs d'une même ligne portant les lettres  $\alpha$  et  $\beta$  sont significativement différentes au  $p < 0,001$ .

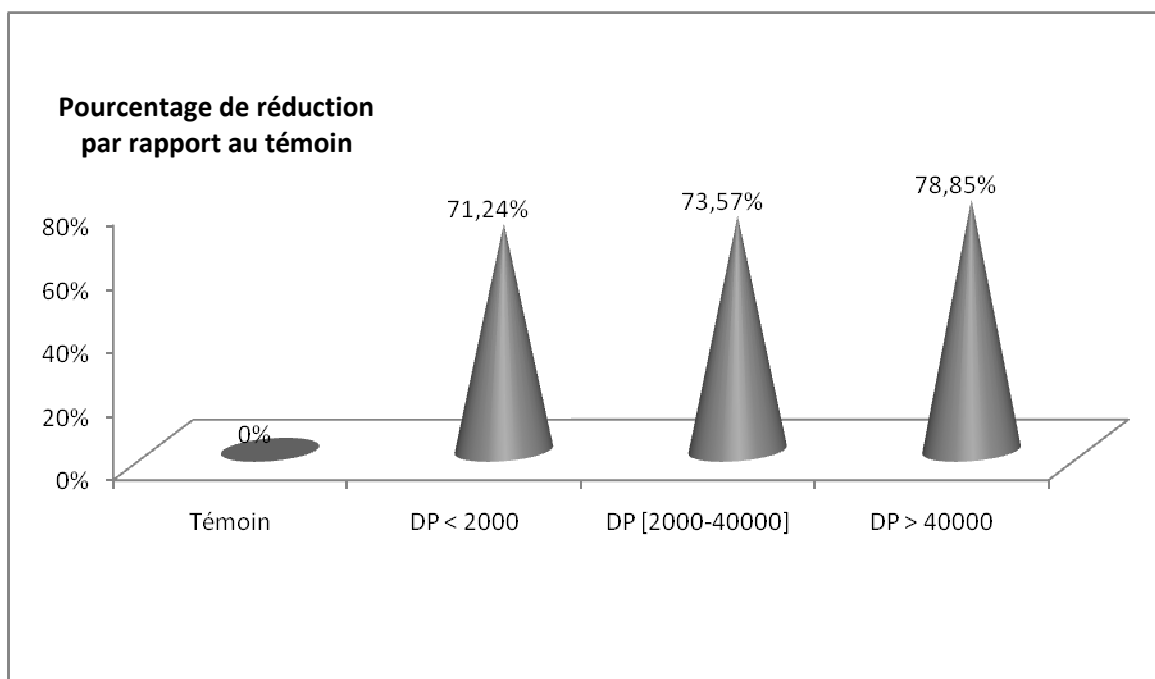


**Figure 44:** Courbe d'évolution de la concentration en vitamines A et E selon le portage parasitaire



**Figure 45:** Réduction de la concentration en vitamine A selon la biomasse parasitaire au cours de l'infection palustre





**Figure 46:** Réduction de la concentration en vitamine E selon la biomasse parasitaire au cours de l'infection palustre

### IV.3. Influence de l'état des plaquettes sur les concentrations des vitamines

Il a été noté une diminution de la concentration des vitamines dans les cas de thrombopénie observés ou non chez les enfants au cours du paludisme par rapport aux témoins ( $p < 0,001$ ) (tableau XVIII). Par ailleurs, les niveaux de réduction des vitamines étaient trouvés plus élevés en présence qu'en absence de thrombopénie. Vitamine E (Thr+ :79,18% ; Thr - : 67,87%) (figures 47 et 48).

**Tableau XVIII :** Concentrations moyennes en vitamines A et E sérique des sujets paludéens et non paludéens selon l'état pathologique des plaquettes

Type de sujet	Vit A (Thr+) mg/L	Vit A (Thr-) mg/L	Vit E (Thr+) mg/L	Vit E (Thr-) mg/L
<b>Non paludéens</b>				
effectif	10	70	10	70
Moyenne	$0,44 \pm 0,20^{\beta}$	$0,43 \pm 0,18^{\beta}$	$12,83 \pm 12,01^{\beta}$	$9,09 \pm 5,21^{\beta}$
<b>paludéens</b>				
effectif	59	21	59	21
Moyenne	$0,07 \pm 0,06^{\alpha}$	$0,08 \pm 0,07^{\alpha}$	$2,50 \pm 2,26^{\alpha}$	$3,24 \pm 2,92^{\alpha}$

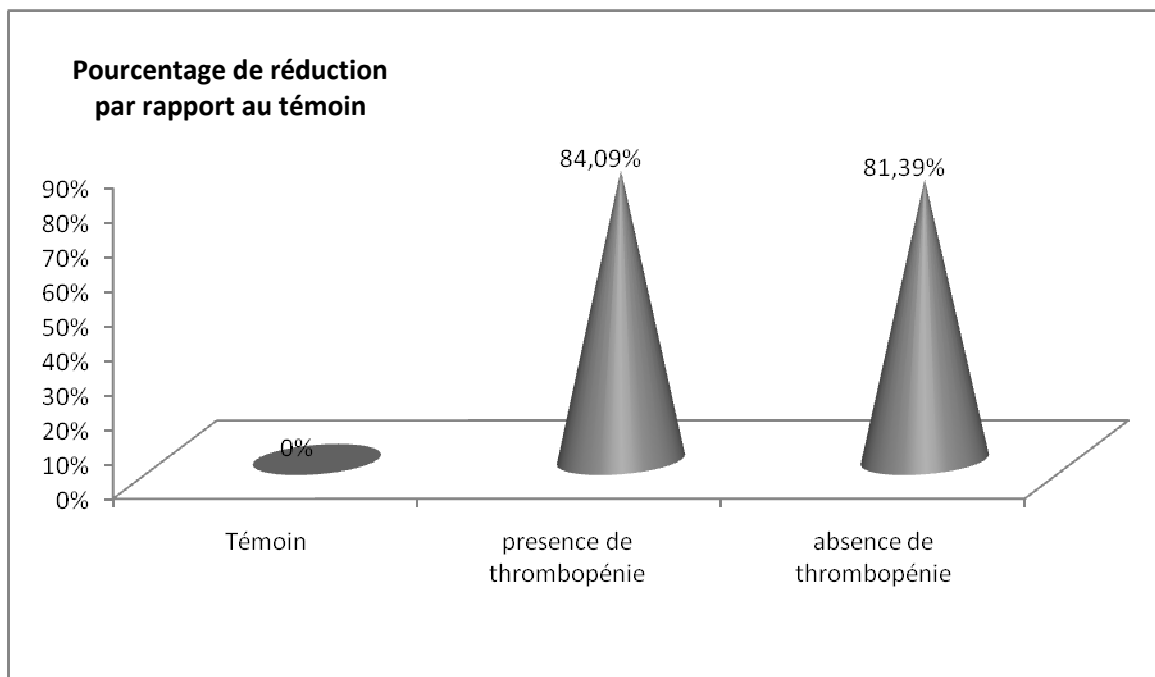
Les valeurs d'une même colonne portant les lettres  $\alpha$  et  $\beta$  sont significativement différentes au  $p < 0,001$ .

Thr + = présence de thrombopénie

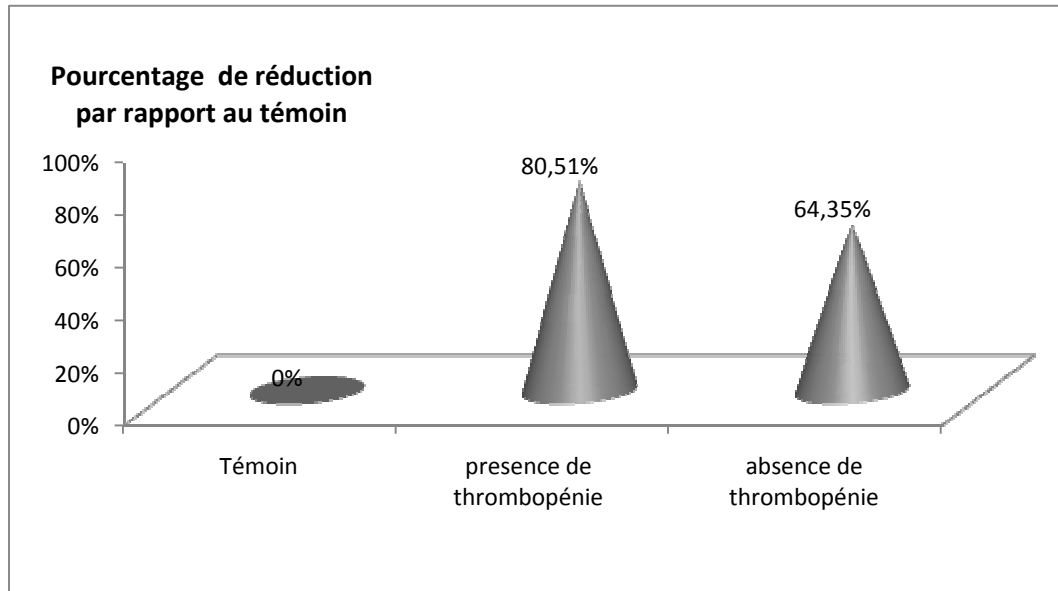
Thr - = absence de thrombopénie

Vit A = vitamine A

Vit E = vitamine E



**Figure 47:** Réduction de la concentration en vitamine A sérique selon l'état des plaquettes au cours de l'infection palustre



**Figure 48 :** Réduction de la concentration en vitamine E sérique selon l'état des plaquettes au cours de l'infection palustre

#### IV.4. Influence de l'état des globules rouges sur les concentrations des vitamines

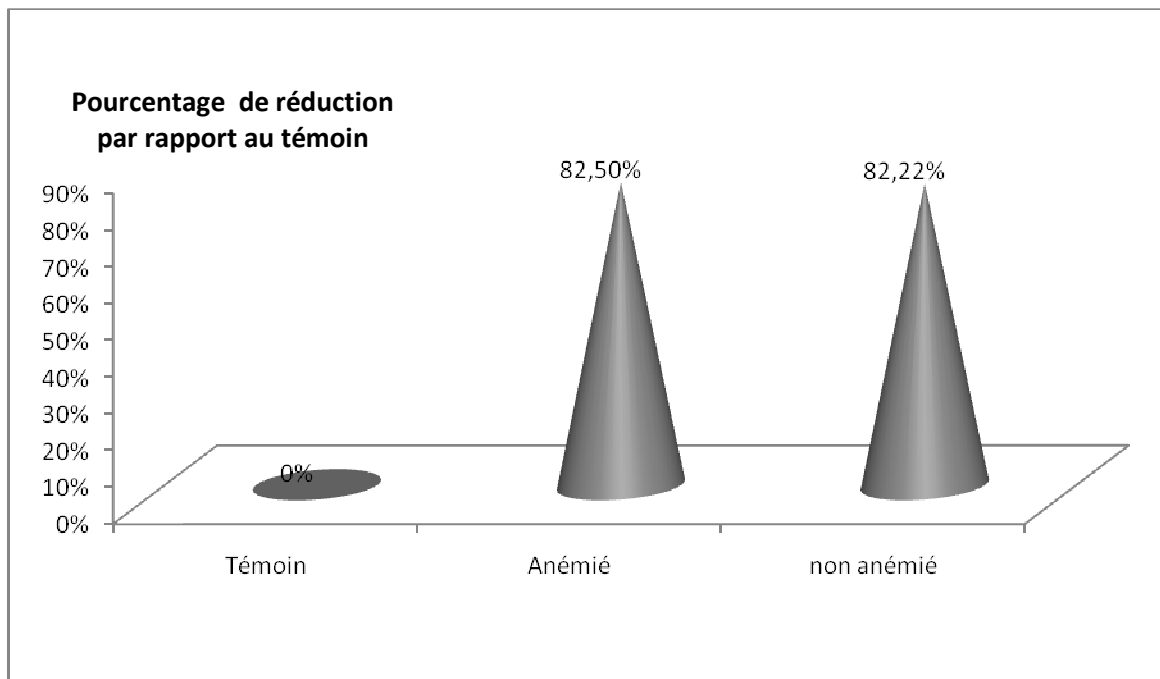
On a noté une réduction de la concentration des vitamines au cours de l'anémie, chez les sujets paludéens par rapport aux témoins ( $p < 0,001$ ) (tableau XIX). Les pourcentages de réduction des vitamines au cours du paludisme étaient significativement bas en présence qu'en absence d'anémie. Vit E (79,39% contre 43,87%), vit A (82,5% contre 82,22%) ; figures 49, 50. Les états microcytaire et hypochrome observés au cours du paludisme ont aussi montré une réduction significative des vitamines par rapport aux témoins ( $p < 0,001$ ) (tableaux XX, XXI). Cependant, on a noté au cours du paludisme un pourcentage de réduction moins significatif de ces états par rapport à l'état normocytaire. (figures 51, 52, 53 et 54).

**Tableau XIX :** Concentrations moyennes en vitamines A et E sériques des sujets paludéens et non paludéens selon le profil hématologique

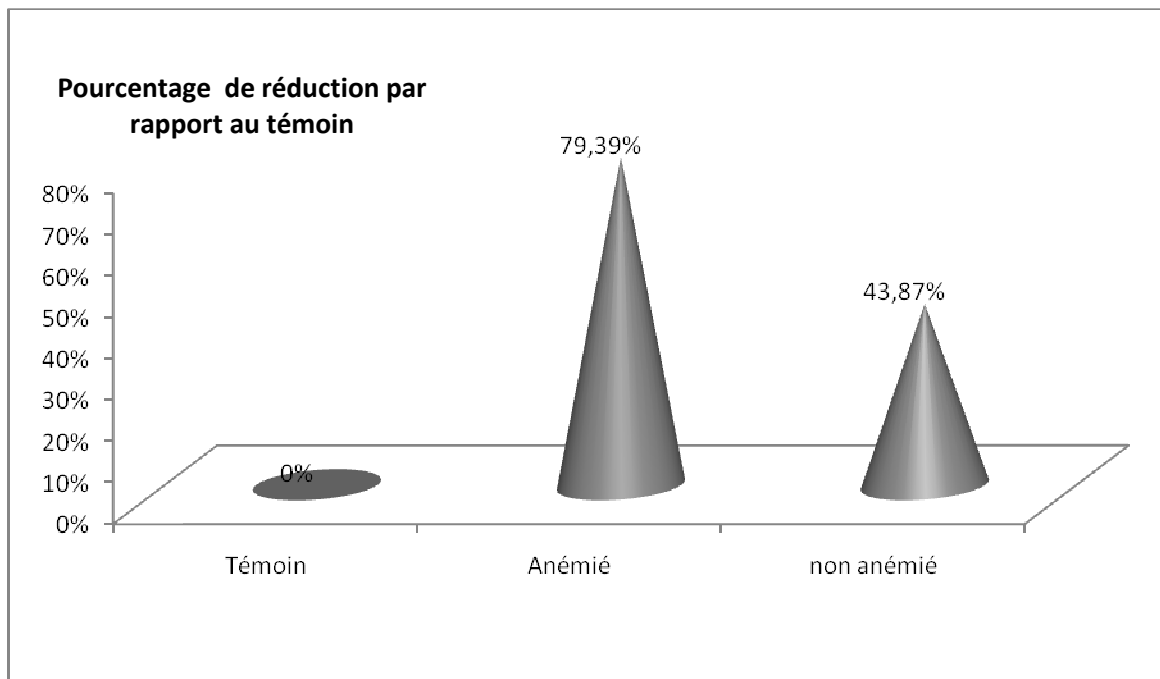
Type de sujet	Vit A (mg/L) anémié	Vit A (mg/L) non anémié	Vit E (mg/L) anémié	Vit E (mg/L) non anémié
<b>Non paludéens</b>				
effectif	32	48	32	48
Moyenne	$0,4 \pm 0,02^{\beta}$	$0,45 \pm 0,02^{\beta}$	$11,21 \pm 0,98^{\beta}$	$8,25 \pm 0,8^{\beta}$
<b>Paludéens</b>				
effectif	69	11	69	11
Moyenne	$0,07 \pm 0,01^{\alpha}$	$0,08 \pm 0,02^{\alpha}$	$2,31 \pm 0,32^{\alpha}$	$4,63 \pm 1,47^{\alpha}$

Les valeurs d'une même colonne portant les lettres  $\alpha$  et  $\beta$  sont significativement différentes au  $p < 0,001$ . Pour Vit E non anémié on a :  $p < 0,01$ .

Vit A = vitamine A  
Vit E = vitamine E



**Figure 49** : Réduction de la concentration en vitamine A sérique selon le profil hématologique des enfants paludéens par rapport aux témoins



**Figure 50:** Réduction de la concentration en vitamine E sérique selon le profil hématologique des enfants paludéens par rapport aux témoins

**Tableau XX:** Concentrations moyennes des vitamines A et E sériques des sujets paludéens et non paludéens selon l'état pathologique des globules rouges (valeur de VGM)

Type de sujet	Vit A (mg/L) micro	Vit A (mg/L) normo	Vit E (mg/L) micro	Vit E (mg/L) normo
<b>Non paludéens</b>				
effectif	36	44	36	44
Moyenne	0,4 ± 0,15 <sup>β</sup>	0,46 ± 0,21 <sup>β</sup>	11,27 ± 8,57 <sup>β</sup>	7,97 ± 3,86 <sup>β</sup>
<b>paludéens</b>				
effectif	42	38	42	38
Moyenne	0,09 ± 0,08 <sup>α</sup>	0,05 ± 0,04 <sup>α</sup>	2,59 ± 2,41 <sup>α</sup>	2,82 ± 2,5 <sup>α</sup>

Les valeurs d'une même colonne portant les lettres α et β sont significativement différentes au p < 0,001.

Micro = microcytaire  
 Normo = normocytaire  
 Vit A = vitamine A  
 Vit E = vitamine E

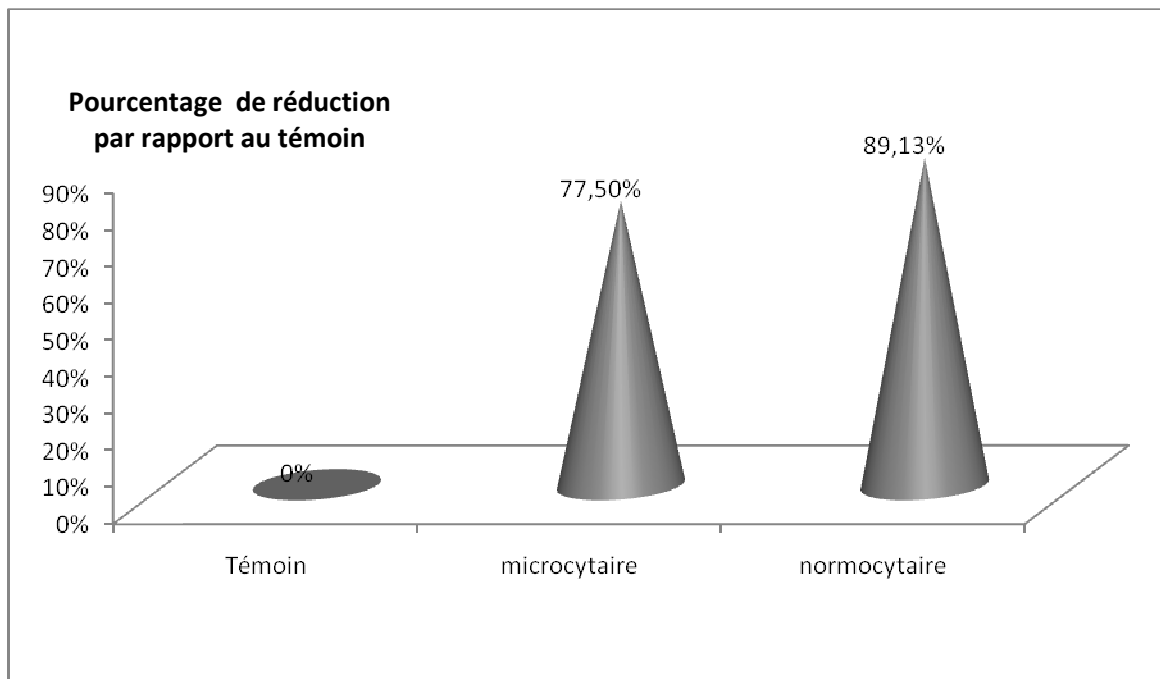


**Tableau XXI:** Concentrations moyennes en vitamines A et E sériques des sujets paludéens et non paludéens selon l'état pathologique des globules rouges (valeur de la TCMH)

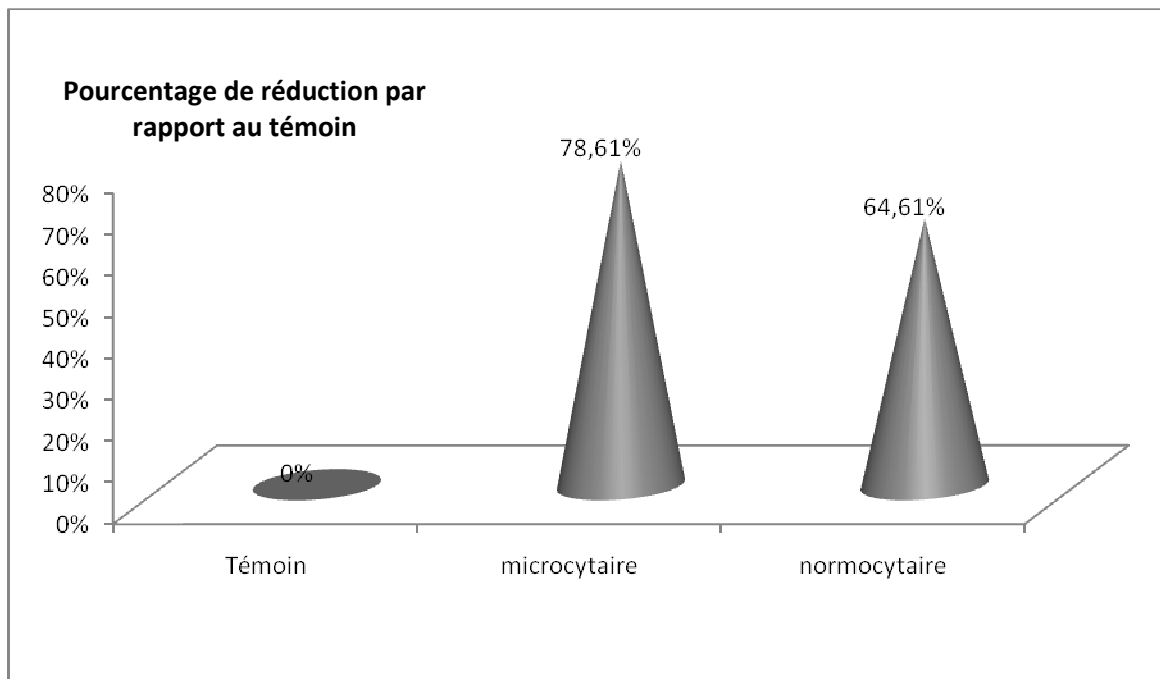
Type de sujet	Vit A (mg/L) hypo	Vit A (mg/L) normo	Vit E (mg/L) hypo	Vit E (mg/L) normo
<b>Non paludéens</b>				
effectif	25	55	25	55
Moyenne	0,38 ± 0,15 <sup>β</sup>	0,46 ± 0,19 <sup>β</sup>	12,55 ± 9,79 <sup>β</sup>	8,05 ± 3,79 <sup>β</sup>
<b>Paludéens</b>				
effectif	40	40	40	40
Moyenne	0,08 ± 0,08 <sup>α</sup>	0,06 ± 0,05 <sup>α</sup>	2,58 ± 2,52 <sup>α</sup>	2,69 ± 2,52 <sup>α</sup>

Les valeurs d'une même colonne portant les lettres α et β sont significativement différentes au p < 0,001.

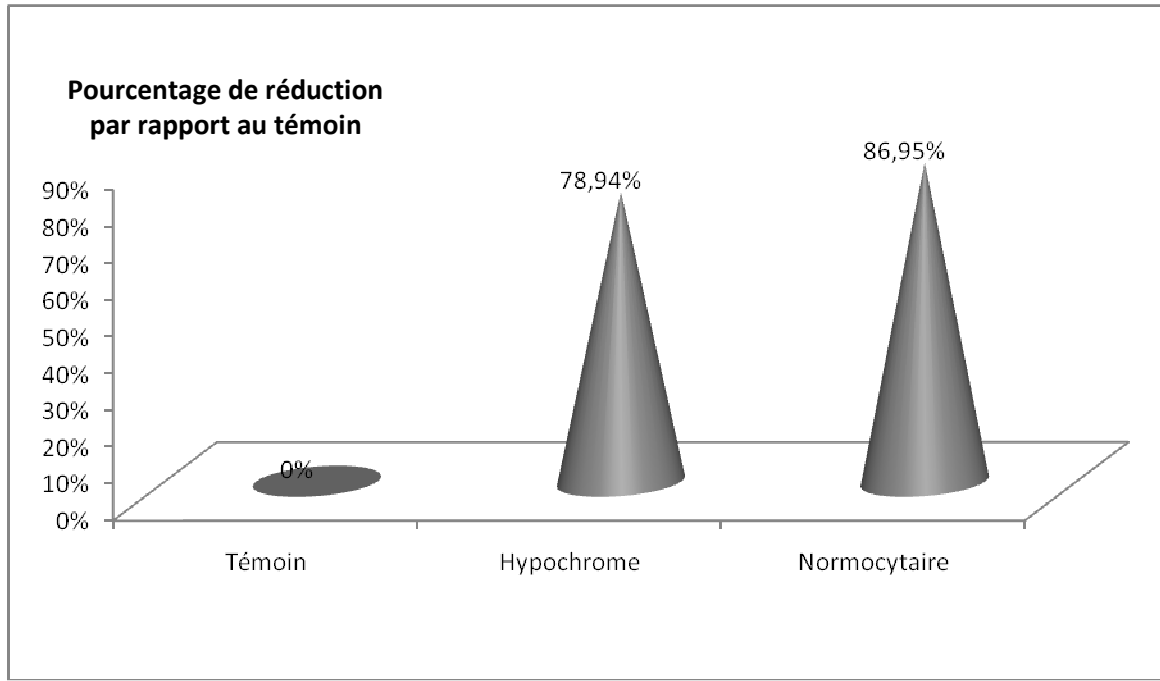
Hypo = hypochrome  
 Normo = normocytaire  
 Vit A = vitamine A  
 Vit E = vitamine E



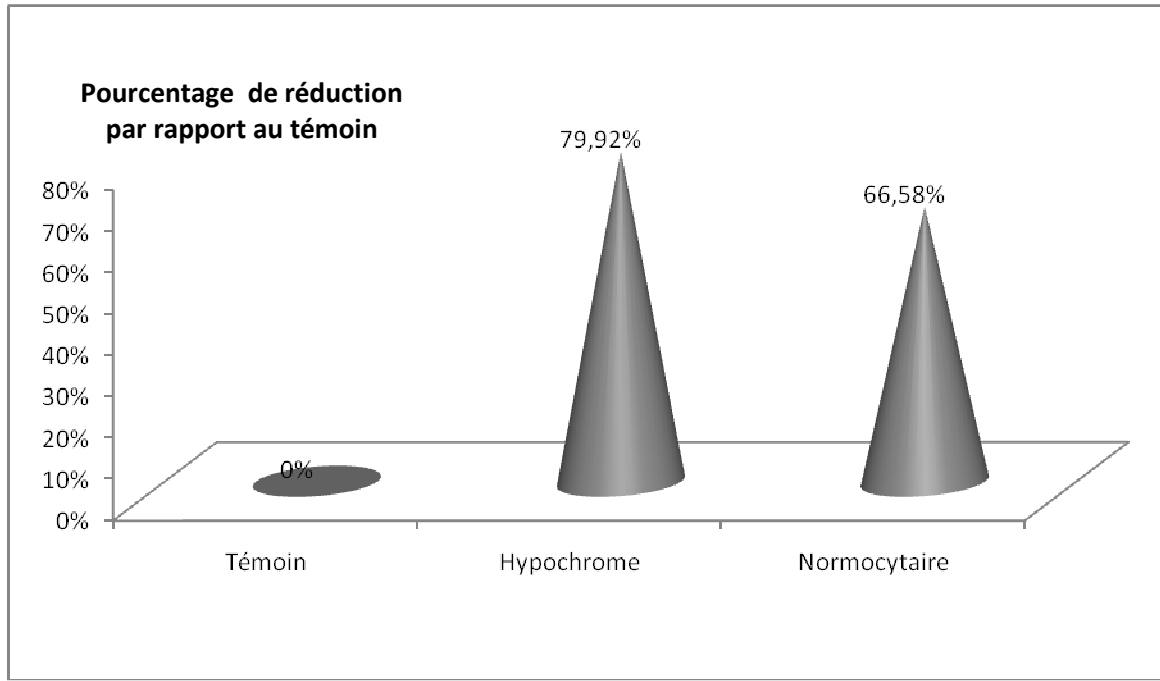
**Figure 51** : Réduction de la concentration en vitamine A sérique selon l'anémie microcytaire ou non des enfants paludéens par rapport aux témoins



**Figure 52:** Réduction de la concentration en vitamine E sérique selon l'anémie microcytaire ou non des enfants paludéens par rapport aux témoins



**Figure 53:** Réduction de la concentration en vitamine A sérique selon l'anémie hypochrome ou non des enfants paludéens par rapport aux témoins



**Figure 54:** Réduction de la concentration en vitamine E sérique selon l'anémie hypochrome ou non des enfants paludéens par rapport aux témoins

# DISCUSSION

Les résultats ont montré dans l'ensemble, une réduction significative du fer, du cuivre, du zinc et des vitamines A et E sériques au cours de l'infestation palustre et des états pathologiques des globules rouges et plaquettes associés à cette infection.

### **Les oligoéléments sériques au cours du paludisme à *Plasmodium falciparum***

La réduction des concentrations sanguines de fer, de cuivre et de zinc sériques observée chez les enfants souffrant du paludisme corroborent les travaux de certains auteurs qui ont associé l'infestation palustre aux faibles concentrations en micronutriments chez les enfants (Prasad, 2001; Nusseblatt and Semba, 2002; Muller et Kappes, 2007). Les faibles concentrations de ces micronutriments seraient dues à *Plasmodium*, l'agent causal du paludisme (Osey et Hamer, 2008; Zeba *et al.*, 2008 ; Wander *et al.*, 2009).

*Le fer* joue un rôle important chez *Plasmodium*, car il permet d'assurer son métabolisme tout comme chez les autres eucaryotes. Ainsi, l'absence de fer ou sa déficience dans l'organisme hôte parasite serait préjudiciable au parasite qui en a besoin pour sa survie (Gera and Sachdev, 2002 ; Schaible et Kaufmann, 2004). Cependant, chez l'hôte, cette déficience compromet les réponses immunes à médiation cellulaire (Field *et al.*, 2002). Toutefois, certains auteurs ont montré qu'une déficience modérée en fer dans un organisme infecté par *Plasmodium* pourrait constituer une protection contre l'agent pathogène et ainsi représenter une adaptation nutritionnelle à cette infection en zone endémique (Wander *et al.*, 2009). Des études effectuées chez des jeunes camerounais ont ainsi montré l'existence de corrélations positives et significatives entre les apports en fer et la parasitémie. Ainsi, les apports en fer favoriseraient l'infestation palustre et donc une élévation de la densité parasitaire (Fokou et Ponka, 2009). Le fer est un élément essentiel de l'hémoglobine, protéine qui transporte et stocke l'oxygène dans l'organisme. Le fer intervient dans le métabolisme oxydatif, la prolifération cellulaire et d'autres processus physiologiques (Oppenheimer, 2001; Monsigny *et al.*, 2004; Françoise and Gordon, 2005). Cet oligoélément est important pour tous les organismes pathogènes connus. A l'état libre, il représenterait, pour ces organismes, un élément indispensable pour leur métabolisme, ce qui leur permettrait de "proliférer" et ainsi de manifester leur état de virulence (Lynch, 2007).

La pénétration d'un agent pathogène dans un organisme génère des facteurs réactifs oxydants. La NF-kB encouragé par le flux oxydant, régulerait l'expression de nombreux gènes qui interviendraient dans la réponse immune contre cet agent pathogène (Owuor and Kong, 2002).

*Le zinc* est un cofacteur de la super oxyde dismutase (enzyme anti oxydante). Il réduit de 50% l'activation de ce facteur nucléaire et protège ainsi les cellules contre la peroxydation des membranes par ces espèces oxydatives réactives (Abdulla *et al.*, 2003). En effet, les facteurs

oxydants moduleraient l'expression des gènes de structure qui codent pour les enzymes antioxydants tels que la superoxyde dismutase avec le zinc comme cofacteur et la glutathion peroxydase avec le sélénium comme cofacteur (Owuor, 2002 ; Holgrem, 2003). Le flux oxydant généré au cours des infections est aussi préjudiciable pour le parasite (Muller and Kappes, 2007). Ainsi, le zinc et tout comme *le cuivre* qui sont des cofacteurs de la superoxyde dismutase (SOD), pourraient être utilisés par *Plasmodium falciparum* pour contourner le flux oxydant généré au cours de l'infection. Cette action pourrait justifier la réduction des concentrations sériques de ces oligoéléments, observés au cours de l'infestation palustre dans notre étude. Le zinc permet d'inhiber les réactions oxydatives induites par le fer ou le cuivre, lesquels interviennent dans la formation d'espèces oxydatives réactives (ROS) (Mezzetti *et al.*, 1998, Karakas *et al.*, 2001 ; Valko *et al.*, 2006). Une concentration sanguine faible en zinc augmenterait le rapport sanguin cuivre/zinc. L'augmentation de ce rapport exposerait le sujet aux effets néfastes des ROS dont la destruction des membranes cellulaires (Mezzetti *et al.*, 1998). En outre, le zinc participe à la restauration du système immunitaire dans la défense de l'organisme contre l'agent pathogène. Sa faible concentration dans l'organisme hôte permet au parasite d'exprimer son métabolisme et donc sa virulence (Prasad, 2000 ; Nusseblatt and Semba, 2002 ; WHO, 2002).

L'expression de la virulence du parasite à l'intérieur de l'organisme hôte est traduite par une destruction des globules rouges et des plaquettes sanguines expliquant les formes anémiques et la thrombopénie observés au cours du paludisme (Latger-Cannard *et al.*, 2009). Dans notre étude, cela se remarque à travers les effectifs élevés des sujets présentant ces états pathologiques dans la population paludéenne par rapport à la population non paludéenne. Aussi, les formes anémiques associées à l'infection du *Plasmodium falciparum* seraient-elles liées à la déficience des oligoéléments comme le fer, le cuivre et le zinc (Wongsrichanalai *et al.*, 2002; Olivares *et al.*, 2007). L'expression de la virulence de *Plasmodium* par la cytopénie et la réduction de la concentration sanguine de ces oligoéléments indispensables au bon fonctionnement de l'organisme contribuerait à fragiliser davantage l'état physiologique des patients.

*Les plaquettes* jouent un rôle essentiel dans la coagulation sanguine par conversion du fibrinogène en fibrine (Monsigny *et al.*, 2004). Elles pourraient ainsi empêcher la dissémination des mérozoïtes issus de l'éclatement des globules rouges à travers l'organisme en séquestrant préférentiellement les globules rouges parasités pour donner le temps à l'organisme d'engager une réponse immunitaire contre le parasite (Gleuher, 2009). A ce titre, elles auraient une fonction protectrice. Des études réalisées par certains auteurs ont montré que les plaquettes humaines et de souris se lieraient aux hématies infectées et tueraient le parasite. Leur destruction au cours du



paludisme faciliterait la fluidité du sang donc une bonne circulation et dissémination du parasite à travers l'organisme. Les mérozoïtes libérés après éclatement des globules rouges parasités pourront ainsi circuler aisément et infecter des globules rouges sains. Cette situation permettra ainsi aux parasites d'assurer librement leur métabolisme à travers les nutriments qu'ils auront aussi bien exporté qu'importé du milieu extracellulaire et proliférer en infectant d'autres globules rouges. La conséquence sera donc une réduction de ces micronutriments du plasma de l'hôte.

Par ailleurs, la réduction des oligoéléments est indépendante de l'âge, du sexe et du poids des sujets. Il n'existe aucune corrélation entre ces différentes variables et les faibles concentrations en micronutriments déterminés. Cependant, étant donné que les enfants de la zone d'étude sont également soumis à l'effet conjoint de la malnutrition et de l'infection palustre, l'effet associatif de ces deux facteurs contribuerait à baisser davantage la concentration sanguine en micronutriments. De ce qui précède, les faibles concentrations en oligoéléments déterminées dans cette étude seraient donc tributaires de la multiplication du parasite chez les enfants infectés par *Plasmodium falciparum*.

### **Vitamine A sérique au cours du paludisme à *Plasmodium falciparum***

La réduction de la vitamine A observée au cours de l'infection palustre dans notre étude, est en accord avec les travaux réalisés par certains auteurs dans d'autres pays endémiques, qui ont montré un lien entre cette diminution et le portage parasitaire chez les enfants infectés. Ces auteurs ont, en effet, noté une augmentation de la densité parasitaire en relation avec les valeurs sériques faibles de cette vitamine. (Sturchler, 1987 ; Filteau, 1993 ; Calis *et al.*, 2008 et Miguel et Malcom, 2009).

D'une manière générale, la réduction de la vitamine A sérique chez un individu serait le fait, soit d'une diminution de la prise alimentaire de cette vitamine (Thurnham et Singkamani, 1991), soit d'une mauvaise absorption du fait d'une infection par les parasites intestinaux (Brooker *et al.*, 1999). Cette réduction peut-être également le fait d'une perte directe de cette vitamine par excrétion urinaire, suite à une infection aigüe (Stephensen *et al.*, 1994 ; Miltra *et al.*, 1998) ou d'un défaut de transport de cette vitamine dans le plasma par la RBP (Rétinol binding protein) (Rosales *et al.*, 1996). Toutefois, les enfants paludéens de la présente étude vivent dans la même zone (village) que les témoins et auraient, d'après nos investigations, les mêmes habitudes alimentaires. Cependant, les concentrations en vitamine A mesurées chez ces témoins ont présenté une concentration moyenne normale égale à  $0,44 > 0,2$  mg/L (taux normal). Cette observation exclut donc l'hypothèse d'une diminution de l'apport en cette vitamine chez les

enfants atteints du paludisme dans cette zone. De plus, les enfants enrôlés et finalement inclus n'ont présenté aucun signe qui relève d'autres infections pouvant interférer avec l'infection à *Plasmodium falciparum* après examen clinique et biologique. En définitive, les faibles concentrations sanguines en vitamine A observées chez ces sujets et qui ont montré, par ailleurs, une diminution significative au fur et à mesure de l'augmentation de la densité parasitaire, seraient dues à l'infection du *Plasmodium falciparum*.

La vitamine A agit comme un régulateur de plus de 300 gènes à travers son métabolite actif qui est l'acide rétinoïque. Ce micronutriment diminuerait la production de cytokines inflammatoires induites par le paludisme, particulièrement celle du facteur de nécrose (TNF $\alpha$ ). Cette situation accroîtrait l'élimination d'érythrocytes infectés par *P. falciparum* par l'intermédiaire d'une sur-régulation de l'expression du CD36 sur des monocytes et macrophages humains (Serghides et Kain, 2001 ; 2002). Le parasite pourrait donc utiliser certaines voies pour piéger cette vitamine A (Mizuno *et al.*, 2003), dont la diminution de la concentration contribuerait à fragiliser les réponses immunes de l'hôte (Ross et Gardner, 1994 ; Omer, 2000). La réduction de cette vitamine A indépendamment de l'âge, du sexe et du poids des sujets paludéens dont les effets sont perceptibles à travers les niveaux de réduction calculés, permettrait ainsi au parasite d'exprimer librement son métabolisme et donc sa virulence.

Les cas d'anémie constatés au cours du paludisme chez les enfants ayant montré une réduction considérable de la vitamine A par rapport aux témoins justifient les travaux de Calis *et al.* (2008), qui ont mesuré un taux de rétinol sérique faible chez des patients victimes d'une anémie sévère résultant d'une infestation palustre. La déficience de la vitamine A perturbe la synthèse de l'hémoglobine (Hodges *et al.*, 1978). Cette vitamine serait impliquée dans l'érythropoïèse, la réduction de l'anémie et la mobilisation du fer des tissus (Semba et Bloem, 2002). La thrombopénie qui se traduit par un taux de plaquettes sanguines anormalement faible, est une anomalie fréquente et précoce au cours du paludisme causé par *Plasmodium falciparum*. Les plaquettes auraient une fonction protectrice pendant les stades précoces de la phase érythrocytaire. La modulation de la croissance du parasite par les plaquettes donnerait le temps à l'organisme d'engager une réponse immunitaire contre les parasites (Gleuher, 2009). Cette situation pourrait amener *Plasmodium falciparum* qui lutte également pour sa survie dans l'organisme hôte à stimuler non seulement la destruction des plaquettes sanguines, mais aussi à fragiliser tous autres acteurs du système immunitaire comme la vitamine A et le zinc.

### **Vitamine E sérique au cours du paludisme à *Plasmodium falciparum***

La réduction de la vitamine E (tocophérol) au cours du paludisme observée dans notre étude, est connue chez les travaux de certains auteurs, qui ont montré une diminution de l' $\alpha$ -tocophérol sérique total chez des patients atteints de paludisme par rapport aux témoins en bonne santé (Wozencraft *et al.*, 1984). La vitamine E mesurée chez les témoins qui ont presque les mêmes habitudes alimentaires et vivant dans la même zone d'étude que les enfants souffrant de paludisme, a montré une valeur normale moyenne de 9,46 mg/L.

La diminution de la concentration sérique de la vitamine E selon certains auteurs, pourrait être le fait de la réponse de la phase aigüe due à l'infestation palustre. En effet, pour ces auteurs, il existe une corrélation négative entre les marqueurs biochimiques de la fonction hépatique chez des patients atteints de paludisme sévère et les taux plasmatiques de l' $\alpha$ -tocophérol plasmatique (Davis *et al.*, 1994). D'ailleurs, il est à noter que dans notre étude, il a été observé une diminution progressive du taux sérique de cette vitamine au fur et à mesure que la densité parasitaire augmente. La vitamine E, au même titre que d'autres molécules antioxydantes, permet de protéger l'organisme contre la peroxydation des membranes cellulaires, induite par le flux d'espèces réactives oxydatives lors de l'infection (Cuvelier *et al.*, 2003 ; Muller et Kappes, 2007 ; Osey et Hamer, 2008). Dans la présente étude, les concentrations de vitamine E sont élevées chez les sujets anémiés par rapport aux non anémiés. En effet l'éclatement des globules rouges par les parasites asexués à l'origine de l'anémie, sont le théâtre d'espèces réactives oxydatives qui nécessitent la présence de vitamine E pour leur élimination à l'instar de la vitamine C (Griffiths *et al.*, 2001 ; Muller et Kappes, 2007). Cette situation permettrait de limiter les dommages causés par le flux oxydant sur les membranes cellulaires. Des études réalisées au niveau des cellules infectées par *Plasmodium* chez la souris avaient montré une augmentation de la concentration des vitamines E et C en réaction au stress oxydant généré par le parasite (Stocker *et al.*, 1985, 1986). Le flux d'espèces réactives de l'oxygène généré suite à l'intrusion du parasite dans un organisme hôte est aussi bien dommageable pour le patient que pour le parasite. En effet, le manque de vitamine E rend le parasite plus vulnérable aux espèces réactives oxydatives. Ainsi, comme l'auraient indiqué certains auteurs dans des études menées sur des modèles animaux, une protection contre le paludisme serait assurée lors d'un régime alimentaire déficient en vitamine E chez la souris (Godfrey, 1957 ; Levander *et al.*, 1989). Cette observation laisserait entrevoir le bénéfice d'une carence en vitamine E pour le rétablissement du patient de son accès palustre (Eaton *et al.*, 1976 ; Davis *et al.*, 1994).

# CONCLUSION ET PERSPECTIVES

## CONCLUSION

Cette étude qui a été réalisée en zone d'endémie palustre nous a permis d'appréhender les effets exercés par *Plasmodium falciparum* sur les valeurs sanguines de cinq micronutriments indispensables au bon fonctionnement de l'organisme.

Le *Plasmodium falciparum* exerce un effet dommageable sur les concentrations sanguines des oligoéléments (fer, cuivre, zinc) et des vitamines (vitamine A, vitamine E). Ceci s'est traduit par une baisse significative de ces micronutriments chez les enfants paludéens par rapport aux enfants non paludéens ( $p < 0,001$ ). La diminution des valeurs sanguines d'oligoéléments chez les enfants paludéens est fonction de la densité parasitaire. Les états pathologiques des globules rouges (microcytose, hypochromie) et des plaquettes sanguines (thrombopénie) associés à l'infestation palustre ont montré aussi une baisse significative de ces micronutriments.

Si la vitamine A diminue la production de cytokines inflammatoires induites par l'infection palustre due à *Plasmodium*, particulièrement celle du facteur de nécrose (TNF $\alpha$ ), l'action de la vitamine E quant à elle, est essentiellement liée à son pouvoir antioxydant capable de protéger l'organisme contre la peroxydation des membranes cellulaires.

La diminution des micronutriments au cours de l'accès palustre dû à *Plasmodium falciparum* comme montrée dans cette étude devrait attirer davantage l'attention sur des mesures correctives à apporter dans l'alimentation. Etant donné l'importance de certains oligoéléments indispensables pour le métabolisme de *Plasmodium*, il est tout à fait indiqué de surveiller les apports nutritionnels en tenant compte des besoins en micronutriments aussi bien chez le sujet que chez le parasite. En effet, il se pourrait qu'une supplémentation en fer, en cuivre et en vitamine E permette une multiplication intense de *Plasmodium* au cours de l'accès palustre ; tandis qu'une supplémentation en zinc et en vitamine A réduira sûrement la biomasse parasitaire de *Plasmodium*.

Les aliments utilisés en Côte d'Ivoire qui contiendraient donc des concentrations variables de ces micronutriments devraient faire l'objet d'études minutieuses afin de déterminer exactement leur composition nutritionnelle. Les résultats obtenus serviront à une formulation alimentaire pour les programmes nationaux de lutte contre certaines affections, comme celui de la lutte contre le paludisme (PNLP).

## **PERSPECTIVES**

- Il serait important de coupler l'étude de l'infection palustre à *P. falciparum* à d'autres nutriments essentiels : sélénium, calcium, magnésium, acide-aminés essentiels; acides gras essentiels, acide folique, vitamines B1, B6, B12, C et D aux fins de quantifier les effets de variations et de prêter une attention particulière à notre alimentation.
- Il faut également au plan nutritionnel, étudier la composition nutritionnelle des aliments consommés en Côte d'Ivoire afin de formuler un aliment à consommer en cas d'accès palustre pour certains programmes nationaux de santé.

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Abdulla M, Arnaud P, Bost M, Chazot G, Ciaffei L, Garnon S, Masironi R (2003).** Rapport du congrès de Monastir "Eléments trace, minéraux et vitamines : nouveaux aspects fonctionnels et cliniques chez l'homme". *J Trace Elem*; 10 (30) : 1-4.

**Abidi SL, Mounts TL (1997).** Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separations of tocopherols. *J Chromatogr A*; 782 : 25-32.

**Ahiboh H, Oga AS, Yapi HF, Kouakou G, Boua KD, Edjeme N, Monnet D (2008).** Anémie, métabolisme du fer et protéines de la réaction inflammatoire au cours du paludisme. *Bull Soc Pathol Exot* ; 101(1) : 25-28.

**Aké M, Poby AG, Malan KA, Tebi A, Monnet D (2001).** Effets de la supplémentation en vitamine A sur les marqueurs de la nutrition dans la prise en charge de la malnutrition de l'enfant. *Ann Biol Clin* ; 59 : 417-21.

**Allain P (2004).** Les médicaments. *Pharm Cdm*; Ed Paris; 150p.

**Alvarez Uribe MC, Uscategui PRM, Lopez BC, Baracaldo BCM, Astro I, Noy BV (2004).** Plasma retinol concentration according to pubertal maturation in school children and adolescents of Medellin, Colombia. *Eur J Clin Nutr*; 58:456-461.

**Amat-Roze JM, Remy G (1982).** Paysage épidémiologique du paludisme dans l'espace ivoiro-voltaïque. *Med Trop* ; 42: 383-392.

**Anonyme (1981).** International Union of Pure and Applied Chemistry and International Union Of Biochemistry and Molecular Biology Joint Commission on Biochemical Nomenclature of tocopherols and related compounds: recommendations. *Eur J Biochem*; 123:473-475.

**Archibald HM, Bruce-Chwatt LJ (1956).** Suppression of malaria with pyrimethamine in Nigerian school children. *Bull World Health Organ*; 15:775-784.

**Artur Y, Cals MJ, Clerc M, Covi G, Crates de Paulet A, Cruz-Pastor M et al. (1994).** Actualisation des données relatives aux tocophérols en biochimie clinique. *Ann Biol Clin Paris*; 52: 9-31

**Ash DM, Tatala SR, Frongillo EA Jr, Ndossi GD, Latham MC (2003).** Randomized efficacy trial of a micronutrient-fortified beverage in primary school children in Tanzania. *Am J Clin Nutr*; 77(4): 891-8.



**Assiznadi JK, Agbodjan-Djossou OA, Ayewada K, Cisse-Amegatse O, Balaka B, Atakouma DY, Gbadoe AD (2001).** Prise en charge du paludisme. Service de Pédiatrie, CHU Tokoin, Togo. *Développement et Santé*; n°153.

**Atanda HL, Bon JC, Force-Barge P, Porte J, Rodier J (1997).** Contribution à l'étude de l'anémie chez l'enfant en milieu tropical. *Méd Afr Noire* ; 44(1): 40-44.

**Bannister LH, Hopkins JM, Fawler RE, Krishna S, Mitchell GH (2000).** A brief illustrated guide to the ultrastructure of Plasmodium falciparum asexual blood stages. *Parasitol Today*; 16: 427-33.

**Barrett EP, Joyner LG, Halenda PP (1951).** The determination of pore volume and area distributions in porous substances. I.computation from nitrogen isothermes. *J Am Chem Soc*; 73(1): 373-380.

**Baunaure F and Langsley G (2005).** Trafic protéique dans le globule rouge infecté par Plasmodium. *M/S*; 21(5):523-529.

**Beris Ph, Tobler A (1997).** Diagnostic de l'anémie. *Méd et Hyg*; 55 : 1812-1816.

**Bernard S (1985).** Biochimie clinique : Instruments et techniques de laboratoire. Diagnostics médico-chirurgicaux *Ed CID*; 392p.

**Bhaskaram P (2002).** Micronutrient malnutrition, infection, and immunity: an overview. *Nutr Res*; 60:440-445.

**Biesalski HK, Erhardt JG (2007).** Diagnosis of nutritional anaemia: laboratory assessment of iron status. In Kraemer K, Zimmermann MB. Nutritional anaemia. Base, *Sight and life press*; 37-43.

**Blacque A, Belair A, Fossey BM, Fourestier (1991).** Dictionnaire des constants Biologiques en Médecine. Applications cliniques pratiques. 6è édition. Paris: *Maloine Editions* ; 846 p.

**Bonvehi JS, Coll FV, Rius IA (2000).** Liquid chromatographic determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils, formulated preparations, and biscuits. *J Assoc Off Anal Chem Int*; 83: 627-634.

**Bourée P, Torossian A (1994).** Thrombopénie au cours du paludisme, étude de 242 cas. *Presse Med*; 23 (9): p 449.

- Bradley-Moore AM, Greenwood BM, Bradley AK, Kirkwood BR, Gilles HM (1985).** Malaria chemoprophylaxis with chloroquine in young Nigerian children. III. Its effect on nutrition. *Ann Trop Med Parasitol*; 79: 575-584.
- Bremen J (2001).** The ears of the hippopotamus : manifestation, determinants, and estimates of the malaria burden. *Am J Trop Hyg*; 64(1,2S): 1-11.
- Brisel WR (1977).** Magnitude of the host nutritional responses to infection. *am j clin nutr*; 30: 1236-1247.
- Brooker S, Peshu N, Warn PA, Mosobo M, Guyatt HL, Marsh K, Snow RW (1999).** The epidemiology of hookworm infection and its contribution to anaemia among pre-school children on the Kenyan coast. *Trans R Soc Trop Med Hyg*; 93:240-246.
- Brown K, Wehler S, Peerson J (2001).** The importance of zinc in human nutrition and estimation of the global prevalence of zinc deficiency. *Food Nutr Bull*, 22: 113-125.
- Calis JC, Phiri KS, Faragher EB, Brabin BJ, Bates I, Cuevas LE et al. (2008).** Severe anemia in Malawian children. *NEJM*; 358:888-899.
- Catignani GL, Bieri JG, Bashor MM, Turley CP, Brewster MA, Nichoalds (1983).** Simultaneous determination of retinol and tocopherol in serum or plasma by liquid chromatography (proposed selected method). *Clin Chem*; 29: 708-712.
- Cuvelier C, Dotreppe O, Istasse L (2003).** Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann Méd Vét* ; 147 :315-324.
- Dametriou JA, Henry DC, Cannon and Winkelman JW (1974).** Vitamins. In *Clinical Chemistry, Principles and Technics, 2<sup>nd</sup> ed, R J Eds, Harper and Row, Hagerstown, Md* ; 1400-1403.
- Davis TM, Binh TQ, Danh PT, Dyer JR, St John A, Garcia-Webb P, Anh TK (1994).** Serum vitamin A and E concentrations in acute falciparum malaria: modulators or markers of severity? *Clin Sci*; 87: 505-51.
- Disler PB, Lynch SR, Charlton RW, Torrance JD, Bothwell TH (1975).** The effect of tea on iron absorption. *Gut*; 16 : 193-200.

- Djaman J, Abouamou S, Busco L, Koné M (2004).** Limites de l'efficacité de la chloroquine et de la sulfadoxine-pyriméthamine au nord de la ville d'Abidjan (Côte d'Ivoire) : étude couplée in vivo/in vitro. *Cahiers Santé*; 14: 205-9.
- Don G, Catherine L, D'Arcy L, Keith G, Chris S (2002).** Biologie 11. *Chenelière/McGraw-Hill* ; xv : 688p.
- Dorosz P (2001).** Guide pratique des médicaments. *ed Maloine, Paris* ; 398p.
- Dorosz P (2004).** Vitamines, sels minéraux et oligo-éléments. 2<sup>ème</sup> édition revue et augmentée. Paris, *Maloine* ; 154p.
- Dossou-Yovo J, Doannio JMC, Diarrassouba S, Chauvancy G (1998).** Impact d'aménagements de rizières sur la transmission du paludisme dans la ville de Bouaké, Côte d'Ivoire. *Bull Soc Path Ex*; 91: 327-333.
- Dossou-Yovo J, Doannio JMC, Riviere F, Chauvancy G (1995).** Malaria in Côte d'Ivoire wet savannah region : the entomological input. *Trop Med Parasitol* ; 46: 263-269.
- Dupin H (1992).** Alimentation et nutrition humaines. *ed ESF, Paris* ; 1533p.
- Eaton JW, Eckman JR, Berger E, Jacob HS (1976).** Suppression of malaria infection by oxidant-sensitive host erythrocytes. *Nature*; 264:758-760.
- Ekvall H (2003).** Malaria and anemia. *Current Opinion Haematol*; 10: 108-114.
- El-Sohemy A, Baylin A, Spiegelman D, Ascherio A (2002).** Campos H. Dietary and adipose tissue gamma-tocopherol and risk of myocardial infarction. *Epidemiology*. 13:216-23.
- Eva S. Wintergerst, Silvia Maggini, Dietrich H. Hornig, Bayer Consumer Care Ltd, Basel and Reinach, Switzerland (2007).** Contribution of Selected Vitamins and Trace Elements to Immune Function. *Ann Nutr Meta*; 51:301-323.
- Evans H.M., Emerson O.H., Emerson G.A (1936).** The isolation from wheat-germ oil of an alcohol,  $\alpha$ -tocopherol, having the properties of vitamin E. *J Biol Chem*; 113(1): 319-332.
- Favier A, Maljournal B (1980).** Données récentes sur la biochimie de certains oligo-éléments. In *Problèmes Actuels de Biochimie Appliquée*. 11e série. Paris, *Masson*; 1-74.
- Field CJ, Johnson IR, Schley PD (2002).** Nutrients and their role in host resistance to infection. *J Leukoc Biol* ; 71:16-32.

- Filteau SM, Morris SS, Abbott RA, Tomkins AM , Kirkwood BR, Arthur P, Ross DA, Gyapong JO, Raynes JG (1993).** Influence of morbidity on serum retinol of children in a community-based study in northern Ghana. *Am J Clin Nutr* ; 58: 192-197.
- Fokou E, Ponka R (2009).** Étude de relation entre infection à *Plasmodium falciparum* chez les élèves camerounais de Ngali II et leurs apports nutritionnels. *Nutr Clin Mét* ; 23(3) : 102-108.
- Garnham PCC (1967).** Malaria parasites and other haemosporidia, *Am J Trop Med Hyg*; 16: 561-563.
- Gera T, Sachdev HPS (2002).** Effects of iron supplementation on incidence of infectious illness in children : systematic review. *Br Med J* ; 325 :1142-1151.
- Gerbouin-Rerolle P, Dupin H (1993).** Aliments et valeur nutritionnelle. Paris, Centre International de l'Enfance ; 205 : 75p.
- Gey KF, Moser UK, Jordan P, Stahelin HB, Eichholzer M, Ludin E (1993) .** Increased risk of cardiovascular disease at suboptimal plasma concentrations of essential antioxidants: an epidemiological update with special attention to carotene and vitamin C. *Am J Clin Nutr* 57: 787-797.
- Gleuher LM (2009).** Les plaquettes sanguines tuent les parasites paludéens intraérythrocytaires. *M / S*; 323: 797-800.
- Godfrey DG (1957).** Antiparasitic action of dietary cod liver oil upon *Plasmodium berghei* and its reversal by vitamin E *Exp Parasitol*; 6:555–565.
- Greenwood BM, Bojang K, Whitty CJ, Targett GA (2005).** « Malaria », *Lancet* ; 365 : 1487-1498.
- Greenwood BM, Mutabingwa T (2002).** « Malaria in 2002 », *Nature*; 415:670-2.
- Griffiths MJ, Ndungu F, Baird KL, Muller DP, Marsh K, Newton CR (2001).** Oxidative stress and erythrocyte damage in Kenyan children with severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Br J Haematol*; 113(2): 486-91.
- Grover-Kopec E, Kawano M, Klaver R, Blumenthal B, Ceccato P, Connor S (2005).** «An online operational rainfall-monitoring resource for epidemic malaria early warning systems in Africa» *Malar J*; 4: 6.

- Hay SI, Guerra CA, Tatem AJ, Noor AM, Snow RW (2004).** « The global distribution and population at risk of malaria : past, present, and future ». *Lancet Infect Dis*; 4(6) :327-336.
- Hirscheberg J (1999).** Production of high-value compounds :carotenoids and vitamin E. *Curr Opin Biotechnol*;10:186-191.
- Hodges RE, Sauberlich HE, Mohanram M (1978).** Hematopoietic studies in vitamin A deficiency. *Am J Clin Nutr*; 31: 876-885.
- Holgrem A (2003).** Redox regulation of genes and cell function In: Critical review of oxidative stress and aging. Vol II RG Cutler and H Rodriguez Eds. *World Scientific*; 102-111.
- Jackson AA (2007).** Anaemia in severe undernutrition. In Kraemer K, Zimmermann MB. Nutritional anaemia. Basel, *Sight and life press*; 215-230.
- Jacobson BE, Lockitch G (1988).** Direct determination of selenium in serum by graphite-furnace atomic absorption spectrometry with deuterium background correction and a reduced palladium modifier: age-specific reference ranges. *Clin Chem*; 34(4):709-714.
- Janiszowskaw, Pennock JF (1976).** The biochemistry of vitamin E in plants. *Vitam Horm*; 34:77-105.
- Jason J, Archibald LK, Nwanyanwu OC, Sowell AL, Buchanan I, Larned J, Bell M, Kazembe PN, Dobbie H, Jarvis WR (2002).** Vitamin A levels and immunity in humans. *Clin Diagn Lab Immunol*; 9(3): 616-21.
- Jeffrey S, Pia M (2002).** The economic and social burden of malaria. *Nature*; 415 :680-685.
- Karakas Z, Demirel N, Tarakcioglu M, Mete N (2001).** Serum zinc and copper levels in southeastern Turkish children with giardiasis or amebiasis. *Biol Trace Elem Res Winter*;84(1-3):11-8.
- Kirschvink N (2001).** Etude du rôle des F2-isoprostanes en tant que marqueur et acteur du stress oxydant pulmonaire.(PhD Thesis). Université de Liège; 303 p.
- Kitchen SF (1949).** Symptomatology : general considerations. Falciparum malaria. Quartan malaria. Vivax malaria. In malariology. Ed. by M F Boyd Saunders, Philadelphia-London ; 2: 966-1016.
- Klevay LM (1975).** Coronary heart disease: the zinc/copper hypothesis. *Am J Clin Nutr*; 28: 764-774.

**Koné M, Penali LK, Houdier M, Assoumou A, Coulibaly A (1990).** Evaluation in vivo de la sensibilité de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine à Abidjan. *Bull Soc Path Ex* ; 83: 187-192.

**Krishnan S, Krishnan AD, Mustafa AS, Taltwar GP et Ramalingastvami Y (1976).** Effect of vitamin A and under nutrition of the susceptibility of rodents to a malarial parasite *plasmodium bergliei*. *j nutr*; 106:784-791.

**Labat L (2010).** La préparation des matrices biologiques pour l'analyse des métaux. *Ann Toxicol Anal* ; 22(2): 81-88.

**Latger-Cannard V, Bibes B, Dao A, Fohlen-Walter A, Buisine J, Rabaud C et al. (2002).** Infection à *Plasmodium* et cytopénie. *Ann Biol Clin* ; 60(2) : 213-6.

**Levander OA, Ager ALJ, Morris VC, May RG (1989).** Qinghaosu, dietary vitamin E, selenium, and cod-liver oil: effect on the susceptibility of mice to the malarial parasite *Plasmodium yoelii*. *Am J Clin Nutr*; 50:346-352.

**Lindroth P, Mopper K (1979).** High performance liquid chromatographic determination of subpicomole amount of amino acids by precolumn fluorescence derivatization with o-phthalaldéhyde. *An Chem*; 51(11).

**Lönnerdal B, Kelleher S (2007).** Iron metabolism in infants and children. *Food Nutr Bull*; 28(4): S491-S499.

**Lynch S (2007).** Iron metabolism. In Kraemer K, Zimmermann MB. Nutritional anaemia. Basel, *Sight and life press*; 59-76.

**Marsden PD (1964).** The Sukuta Project. A longitudinal study of health in Gambian children from birth to 18 months of age. *Trans R Soc Trop Med Hyg*; 58:455-489.

**McGregor IA (1982).** Malaria: nutritional implications. *Rev Infect Dis* ; 4:798-804.

**Mendis K, Sina B, Marchesini P, Carter R (2001).** « The neglected burden of *Plasmodium vivax* malaria », *Am J Trop Med*; 64(1-2): 97-106.

**Menendez C, Fleming AF, Alonso PL (2000).** Malaria-related anaemia. *Parasitol Today*; 16: 469-476.

**Mens PF, Schoone GJ, Kager PA, Schallig HDFH (2006).** Detection and identification of human *Plasmodium* species with real-time quantitative nucleic acid sequence-based amplification. *Malar J*; 5:80.

- Metzger A, Mukasa G, Shankar AH , Ndeezi G, Melikian G, Semba RD (2001).** Antioxidant status and acute malaria in children in kampala, Uganda ; *Am J Trop Med Hyg*; 65:115-119.
- Mezzetti A, Pierdomenico SD, Costantini F (1998).** Copper/zinc ratio and systemic oxidant load : effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Rad Biol Med*; 25: 676-681.
- Miguel ASJ, Malcom EM (2009).** Malaria and vitamin A deficiency in African children: a vicious circle? *Malar J*; 8:134.
- Miller LH, Barush DI, Marsh K, Doumbo OK (2002).**The pathogenic basis of malaria. *Nature*; 415:613-679.
- Miltra AK, Alvarez JO, Stephensen CB (1998).** Increased urinary retinol loss in children with severe infections. *Lancet*; 351: 1033-1034.
- Mizuno Y, Kawazu SI, Kano S, Watanabe N, Matsuura T, Ohtomo H (2003).** In-vitro uptake of vitamin A by *Plasmodium falciparum*. *Ann Trop Med Parasitol*; 97:237-243.
- Monsen ER, Cook JD (1979).** Food iron absorption in human subjects. V. Effects of the major dietary constituents of a semisynthetic meal. *Am J Clin Nutr* ; 32 : 804-808.
- Monsigny M, Duverger E, Bourgerie S (2004).** Dictionnaire de biochimie moderne. Paris ; *Ellipses* ; 346 p.
- Mouchet J, Carnevale P, Coosemans M, Julvez J (2004).** Biodiversité du paludisme dans le monde. *John Libbey Eurotext*. 428 p.
- Muller S and Kappes B (2007).** Vitamin and co-factor biosynthesis pathways in *Plasmodium* and other apicomplexan parasites. *Trends Parasitol*; 23(3): 112-121.
- Murray MJ, Murray AB, Murray MB (1975).** Refeeding malaria and hyperferraemia. *Lancet I*; 653-654.
- Nusseblatt V, Semba K (2002).** Micronutrient malnutrition and pathogenesis of malarial anemia. *Actu tropica*; 82 : 321-337.
- Nyakeriga AM, Troye-Blomberg M, Chemtai AK, Marsh K, Williams TN (2004).** Malaria and nutritional status in children living on the coast of Kenya. *Am J Clin Nutr*; 80:1604-1610.
- Nyakeriga AM, Troye-BM , Dodman JR, Alexander ND, Bäck R, Kortok M et al. (2004).** Iron deficiency and malaria among children living on the coast Kenya. *J Infect Dis* ; 190:439-447.

- Nzeyimana I, Henry MC, Dossou-Y J, Doannio JMC, Diawara L, Carnevale P (2002).** Epidémiologie du paludisme dans le sud-ouest forestier de la Côte d'Ivoire (région de Taï). *Bull Soc Pathol Exot* ; 95: 89-94.
- Oelofse A, Van Raaij JM, Benade AJ, Dhansay MA, Tolboom JJ, Hautvast JG (2002).** Disadvantaged black and coloured infants in two urban communities in the Western Cape, South Africa differ in micronutrient status. *Public Health Nutr*; 5(2): 289-94.
- Olivares M, Hertrampf E, Uauy R (2007).** Cooper and zinc interactions in anaemia: A public health perspective. In Kraemer K, Zimmermann MB. Nutritional anemia Basel, *Sight and life press*; 99- 109.
- Omer FM, Kurtzhals JA, Riley EM (2000).** Maintaining the immunological balance in parasitic infections: a role for TGF-beta? *Parasitol Today*; 16(1): 18-23.
- OMS (2000).** Severe falciparum malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* ; 94, s1-s90.
- OMS (2001).** Iron deficiency anaemia. Assessment, prevention, and control: a guide for programme managers. Geneva, Switzerland; xiii:114 p.
- OMS (2002).** Surveillance of resistance to antimalarial drugs, report of WHO consulting. *WHO/CDS/CSR/EPH;17* Genève : OMS, 35p.
- OMS (2003).** Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs. *Trans du paludisme* ;7-8.
- OMS (2005).** Communicable disease control in emergencies. A field manual. <http://www.who.int/infectious-disease-news/IDdocs/whocds200527/whocds200527full.pdf>.
- OMS (2006).** Guidelines for the Treatment of Malaria. Geneva, WHO, *WHO/HTM/MAL/1108*.
- OMS / UNICEF / IAEA / (2007).** IZiNCG Executive summary. Recommendations for indicators of population zinc status. Report of Interagency Meeting on Zinc Status Indicators. *Food Nutr Bull* ; 28: S399-S400.
- Oppenheimer SJ (2001).** Iron and its relation to immunity and infectious disease. *J Nutr*; 131: 616-635.
- Osey AK, Hamer DH (2008).** Prise en charge du paludisme pédiatrique: rôle des interventions nutritionnelles. *Ann Nestlé*; 66 :31-47.
- Owuor ED, Kong AN (2002).** Antioxidants and oxidants regulated signal transduction pathways. *Biochem Pharmacol*; 64: 765-770.



**Pages F, Orlandi-Pradines E, Corbel V (2007).** Vecteurs du paludisme : biologie, diversité, contrôle et protection individuelle. *J med mal*; 153-16.

**Pattanasin S, Proux S, Chompasuk D, Luwiradaj K, Jacquier P, Looareesuwan S, Nosten F (2003).** Evaluation of a new Plasmodium lactate dehydrogenase assay for the detection of malaria. *Transact Royal Soc Trop Med*; 97: 672-4.

**Pennock JF, Hemming FM, Kerr JD, A (1964).** Reassessment of tocopherol chemistry. *Biochem Biophys Res Commun* ; 17 : 542-548.

**Pinta M (1980).** Spectrometry d'absorption atomique. Application à l'analyse chimique. Paris, Masson, 2e ed ; 2: 696 p.

**Prasad AS (2000).** Effects of zinc deficiency on immune function. *J Trace Elem Exp Med*; 13: 1-20.

**Prasad AS (2001).** Discovery of human zinc deficiency : impact on human health. *Nutrition*; 17 : 685-687.

**Prasad AS (2003).** Zinc deficiency. *BMJ*; 326:409-410.

**Purtill DOT et Connors DH (1975).** Fatal infections in protein-calorie malnourished children with thymolymphatic atrophy. *Arch dis child*; 50:149-152.

**Ramakrishnan SP (1954).** - Studies on *Plasmodium berghei*. Effect of different quantities of the same diet on the course of blood-induced infection in rats. *Indian J Malaria*; 8 :S9-96.

**Rogier C (2000).** Prophylaxie antipalustre et chimiosensibilité de *Plasmodium falciparum* en Côte d'Ivoire. Doc. dactylographié; 9 p.

**Rosales FJ, Ritter SJ, Zolfaghari R, Smith JE, Ross AC (1996).** Effects of acute inflammation on plasma retinol, retinol-binding protein, and its mRNA in the liver and kidneys of vitamin A-sufficient rats. *J Lipid Research*; 37: 962-971.

**Rosales FJ, Topping JD, Smith JE, Shankar AH, Ross AC (2000).** Relation of serum retinol to acute phase proteins and malarial morbidity in Papua New Guinea children. *Am J Clin Nutr*; 71: 1582-1588.

**Ross AC, Gardner EM. (1994).** The function of vitamin A in cellular growth and differentiation, and its roles during pregnancy and lactation. *Adv Exp Biol*; 352: 187-200.

**Schaible UE, Kaufmann SHE (2004).** Iron and microbial infection. *Nat Rev Microbiol* 2:946-953.

**Schaison G, Baruchel A, Leblanc T (1995).** Pathologie du globule rouge, Hématologie de l'enfant. Flammarion, Paris ; *Médecine-Sciences*; 41-179.

**Scrimshaw NS, Taylor CE, Gordon JE (1968).** Effects of infections on nutritional status. Interactions of nutrition and infection. *Monogr Ser World Health Organ*; 57: 44-46.

**Sebahoun G (1998).** Erythroïèse. In Sebahoun G, eds. Hématologie Clinique et biologique. Rueil Malmaison Cedex, Arnette;19-28.

**Semba RD (1998).** The role of vitamin A and related retinoids in immune function. *Nutr Rev*; 56: S38-48.

**Semba RD, Bloem MW (2002).** The anemia of vitamin A deficiency : epidemiology and pathogenesis. *Eur J Clin Nutr*; 56(4):271-81.

**Serghides L, Kain KC (2001).** Peroxisome proliferator-activated receptor gamma-retinoid X receptor agonists increase CD36-dependent phagocytosis of *Plasmodium falciparum*-parasitized erythrocytes and decrease malaria-induced TNF-alpha secretion by monocytes/macrophages. *J Immunol*; 166: 6742-6748.

**Serghides L, Kain KC (2002).** Mechanism of protection induced by vitamin A in falciparum malaria. *Lancet*; 359: 1404-1406.

**Serjeant GR, Grandison Y, Mason K, Serjeant B, Sewell A (1980).** Hematological indices in normal negro children : a Jamaican cohort from birth to five years. *Clin Lab Haematol*; 2: 169-178.

**Seyrek A, Kocyigit A, Erel O (2005).** Essential trace elements selenium, zinc, copper, and iron concentrations and their related acute-phase proteins in patients with vivax malaria. *Biol Trace Elem Res*; 106 (2): 107-15.

**Shankar A (2001).** Nutritional modulation of immunity and infection. In *Present knowledge in nutrition* 8<sup>th</sup> edition. Edited by Bowman BARR, Washington, DC : International Life Sciences Institute Press.

**Sharp PT, Harvey P (1980).** Malaria and growth studdiig in young children of the highlands of papua new guinea. *Med J*;23:132-140.

- Sies H (1991).** Role of reactive oxygen species in biological processes. *J Mol Med*; 69: 965-968.
- Snow R, Craig M, Deichmann U, Marsh K (1999).** Estimating mortality, morbidity and disability due to malaria among African's non pregnant population. *Bulletin World Health Organization*; 77(8):624-640.
- Snow RW, Craig MH, Newton CRJC, Steketee RW (2003).** The public health burden of *Plasmodium falciparum* malaria in Africa: Deriving the numbers. Bethesda, Maryland, Disease Control Priorities Project, Fogarty International Center, *National Institutes of Health*; 11:1-75.
- SPILF (1999).** Conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse : Prise en charge et prévention du paludisme d'importation à *Plasmodium falciparum*. HIA Bégin, Saint-Mandé. [www.infectiologie.com/site/medias/\\_documents/consensus/palu99.pdf](http://www.infectiologie.com/site/medias/_documents/consensus/palu99.pdf).
- Sowell AL, Huff DL, Yeager PR, Caudill SP, Gunter EW (1994).** Retinol,  $\alpha$ -tocopherol, lutein/zeaxanthin,  $\beta$ -cryptoxanthin, lycopene,  $\alpha$ -carotene, trans- $\beta$ -carotene, and four retinyl esters in serum determined simultaneously by reversed-phase HPLC with multiwavelength detection. *Clin Chem*; 40: 411-416.
- Stephensen CB, Alvarez JO, Kohatsu J, Hardmeier R, Kennedy JI, Gammon RB (1994).** Vitamin A is excreted in the urine during acute infection. *Am J Clin Nutrition*; 60: 338-392.
- Stocker R, Hunt NH, Buffinton GD, Weidemann MJ, Lewis-Hughes PH, Clark IA (1985).** Oxidative stress and protective mechanisms in erythrocytes in relation to *Plasmodium vinckei* load. *Proc Natl Acad Sci USA*; 82:548-551.
- Stocker R, Weidemann MJ, Hunt NH (1986).** Possible mechanisms responsible for the increased ascorbic acid content of *Plasmodium vinckei*-infected mouse erythrocytes. *Biochim Biophys Acta*; 881:391-397.
- Stoltzfus RJ, Chwaya HM, Montresor A, Albonico M, Savioli L, Teilsch JM (2000).** Malaria, hookworms and recent fever are related to anaemia and iron status indicators in 0- to 5- y old Zanzibari children and these relationships change with age. *J Nutr*; 130: 1724-1733.
- Strickland GT, Kostinas JE (1970).** Folic acid deficiency complicating malaria. *amer j trop med hyg*; 19:910-915.
- Sturchler D, Tanner M, Hanck A, Betschart B, Gautschi K, Weiss N et al. (1987).** A longitudinal study on relations of retinol with parasitic infections and the immune response in children of Kikwawila village, Tanzania. *Acta Trop*; 44:213-227.

**Surai PF (2002).** Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction. Nottingham University Press : *Nottingham*; 27-128.

**Talman AM, Domarle O, McKenzie FE, Arie F, Robert V (2004).** Gametocytogenesis: the puberty of *Plasmodium falciparum*. *Malar J*; 3:24.

**Threlfall DR (1971).** The biosynthesis of vitamins E and K and related compounds. *Vitam Horm*; 29:153-200.

**Thurnham DI, Northrop-Clewes C (2007).** Infection and the etiology of anaemia. In Kraemer K, Zimmermann MB. Nutritional anaemia. *Basel Sight and life press*; 231-256.

**Traber MG, Kamal-Eldin A (2007).** Oxidative stress and vitamine E in anaemia. In Kraemer K, Zimmermann MB. Nutritional anaemia. *Basel Sight and life press*; 155-187.

**Trape JF (1985).** Rapid evaluation of malaria parasite density and standardization of thick smear examination for epidemiological investigations. *Trans R Soc Trop Med Hyg*; 79(2):181-184.

**US (1980).** Environmental Protection Agency. Ambient water quality for copper. Office of Water Regulations and Standards, Criteria and Standards Division, Washington, DC; PB81-117475.

**Ukaejiifo EQ, Iaacs-Sodeye Wa, Adiguin ES, Padeola A (1979)** Normal haematological values in adult Nigerians. *Niger Med J*; 9:117-119.

**Ursell, Amanda (2001).** Guide pratique des vitamines et minéraux. Montréal, Québec, éditions *Hurtubise HMH Ltée* ; 128p.

**Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.*;160(1):1-40.

**Vassault A (1996).** Cahier de formation biochimie: Assurance qualité SFBC, *Ed Egoprime*, Tome III, Paris, 221 p.

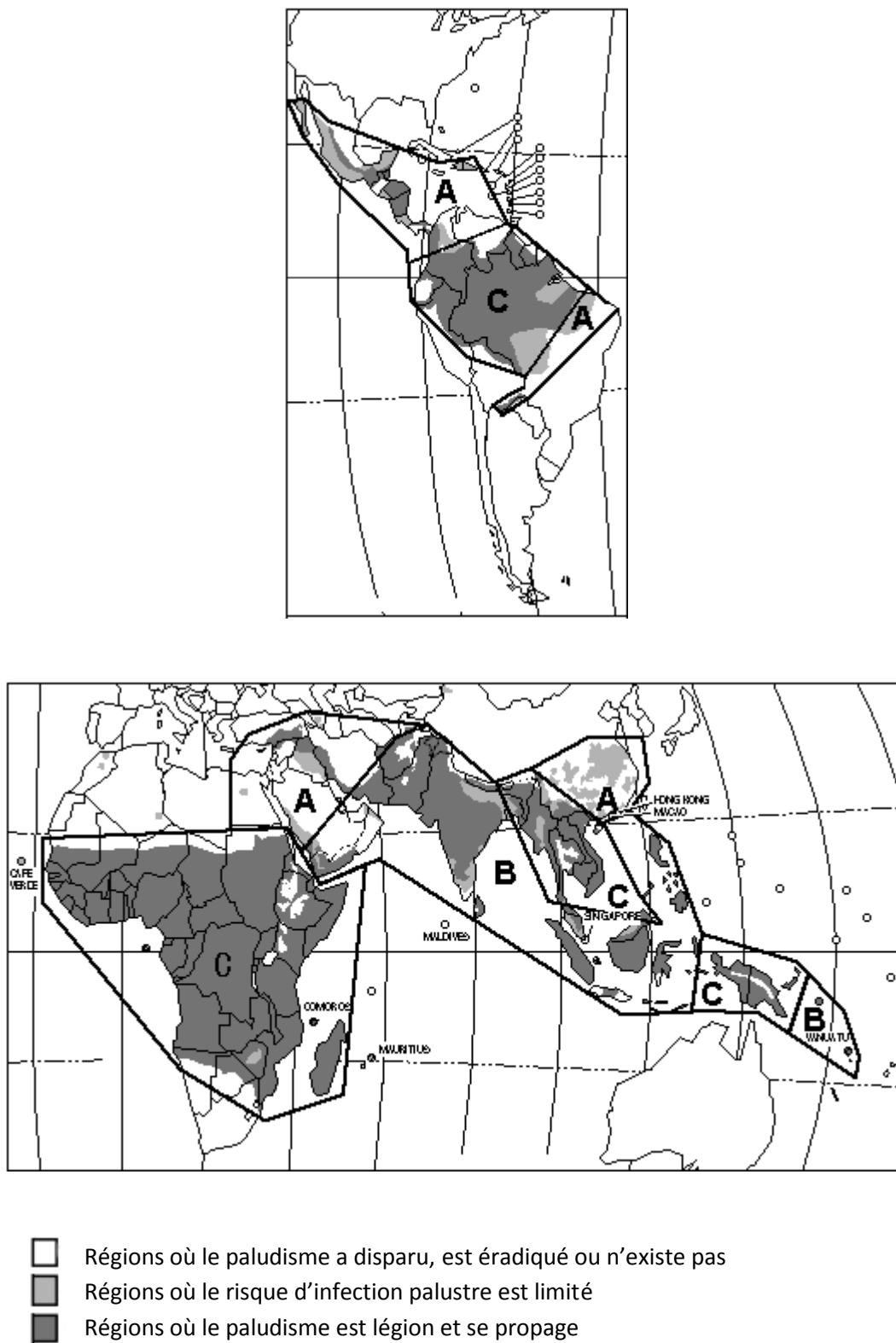
**Villamor E, Fawzi WW (2005).** Effects of vitamin a supplementation on immune responses and correlation with clinical outcomes. *Clin Microbiol Rev*; 18: 446-464.

**Wander K, Shell-Duncan B, McDade TW (2009)** Evaluation of Iron Deficiency as a Nutritional Adaptation to Infectious Disease: An Evolutionary Medicine Perspective. *Am J Hum Bio*; 21(2):172-9.

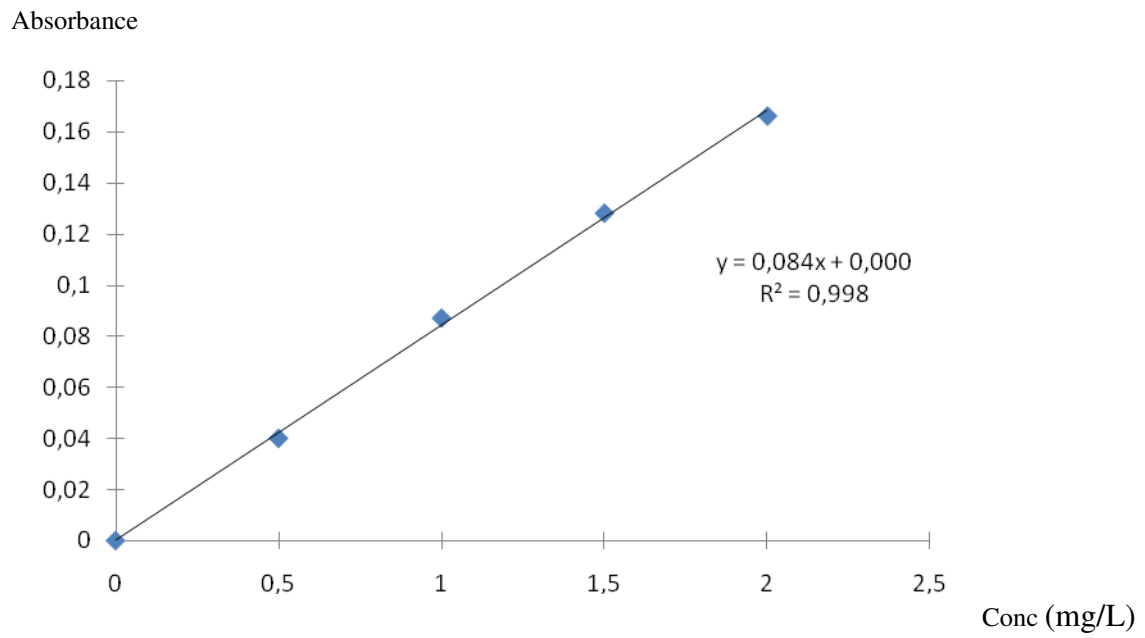
- Warhurst DC, Williams JE (1996).** « Laboratory diagnosis of malaria », dans *J Clin Pathol*; 49: 533-38.
- Weil J-H (2001).** Biochimie Générale. Dunod, Paris, 9ème edition. 655p.
- Wenlock RW (1979).** The epidemiology of tropical parasitic diseases in rural zambia and the consequences for public health. *J trop hited hyg*; 82: 90-98.
- West KP (2002).** Extent of vitamin A deficiency among preschool children and women of reproductive age. *J Nutr*; 132:2857-2866.
- White NJ (2008).** *Plasmodium knowlesi*: the fifth human malaria parasite. *Clin Infect Dis*; 46:172-173.
- Williams DM, Lee GR, Cartwright GE (1973).** Mitochondrial iron metabolism. *Fed Am Soc Exp Biol*; 32: p 924.
- Wongsrichanalai C, Pickard A, Wernsdorfer W, Meschnick S (2002).** Epidemiology of drug-resistant malaria. *Lancet*; 2: 209-218.
- Wozencraft AO, Dockrell H, Tarvern J, Targett GA, Playfair JH (1984).** Killing of human malaria parasites by macrophage secretory products. *Infect Immun*; 43:664–669.
- Zaman Z, Fielden P, Frost PG (1993).** Simultaneous determination of vitamins A and E and carotenoids in plasma by reversed-phase HPLC in elderly and younger subjects. *Clin Chem* 39: 2229-2234.
- Zeba AN, Sorgho H, Rouamba N, Zongo I, Rouamba J, Guiguemdé RT et al. (2008).** Major reduction of malaria morbidity with combined vitamin A and zinc supplementation in young children in burkina faso. A randomized double blind trial. *Nutr J*; 31:7-7.
- Zimmermann MB (2007).** Interactions between iron and vitamin A, riboflavin, copper, and zinc in the aetiology of anaemia. In Kraemer K, Zimmermann MB. Nutritional anaemia. *Basel Sight and life press*; 199-213.

# ANNEXES

## ANNEXE DES MATERIEL ET METHODES

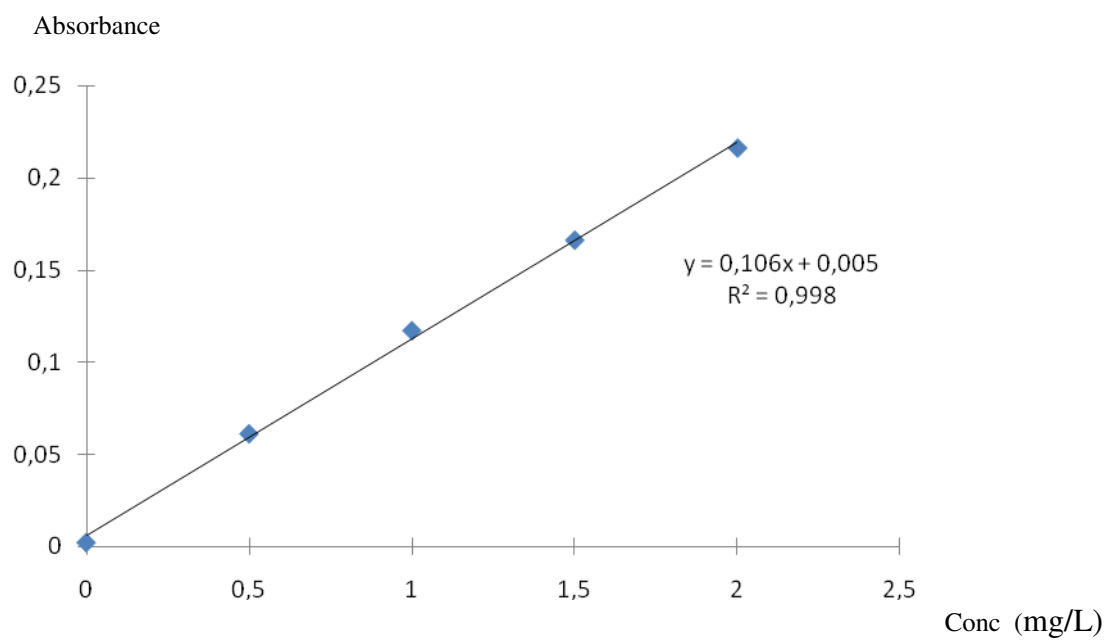


**Figure i :** Régions du monde où le paludisme est endémique (Mouchet *et al.*, 2004)

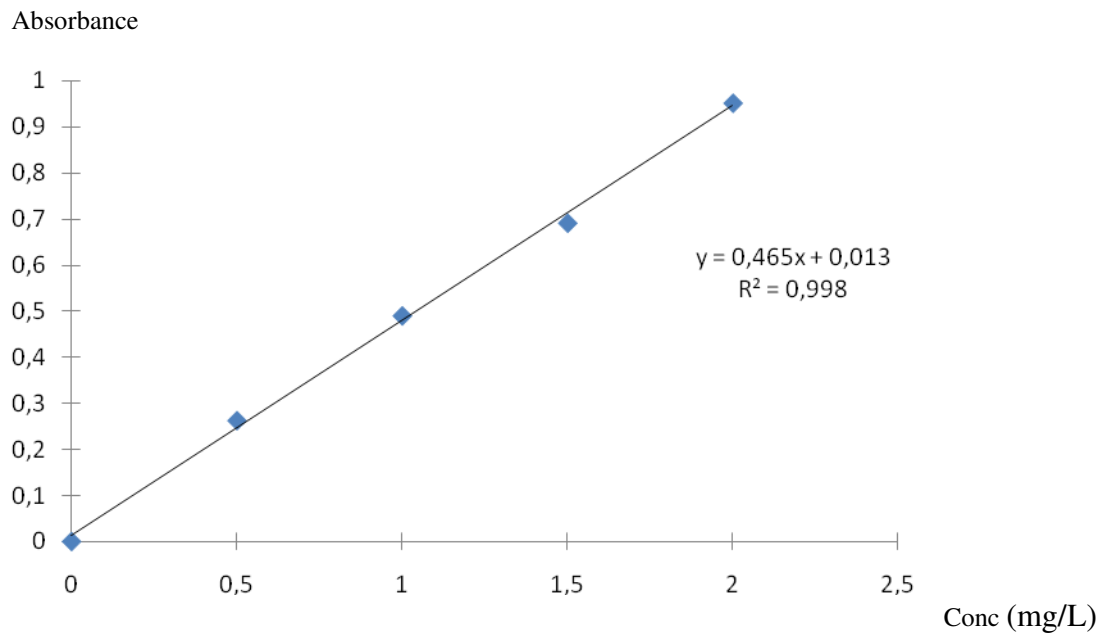


**Figure ii :** Courbe d'étalonnage du fer

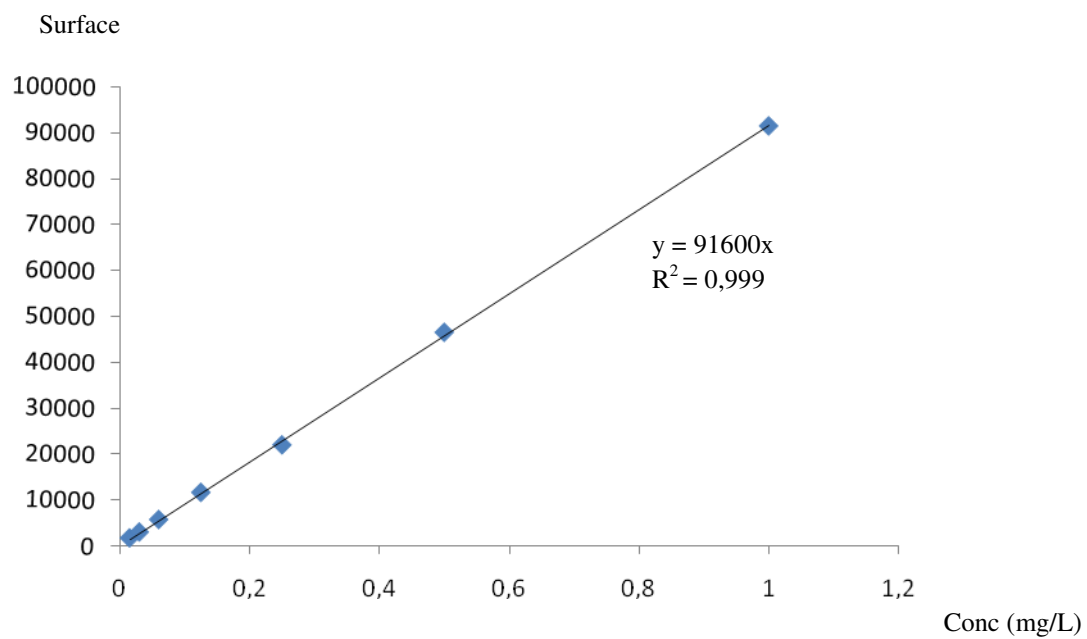




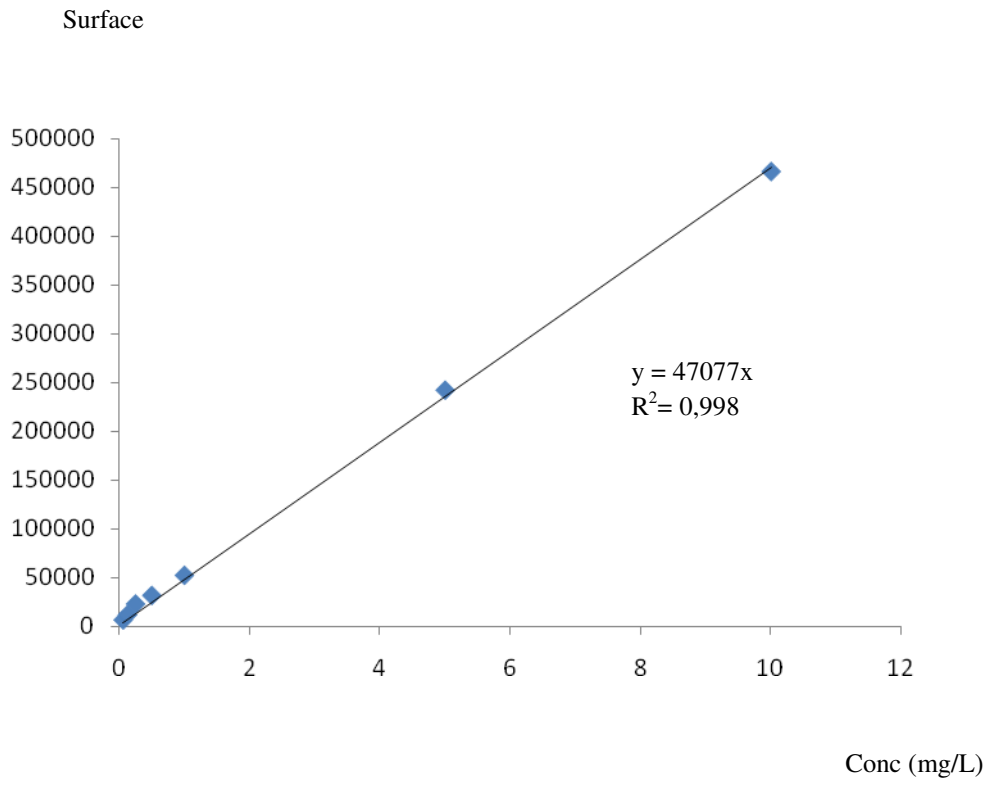
**Figure iii :** Courbe d'étalonnage du cuivre



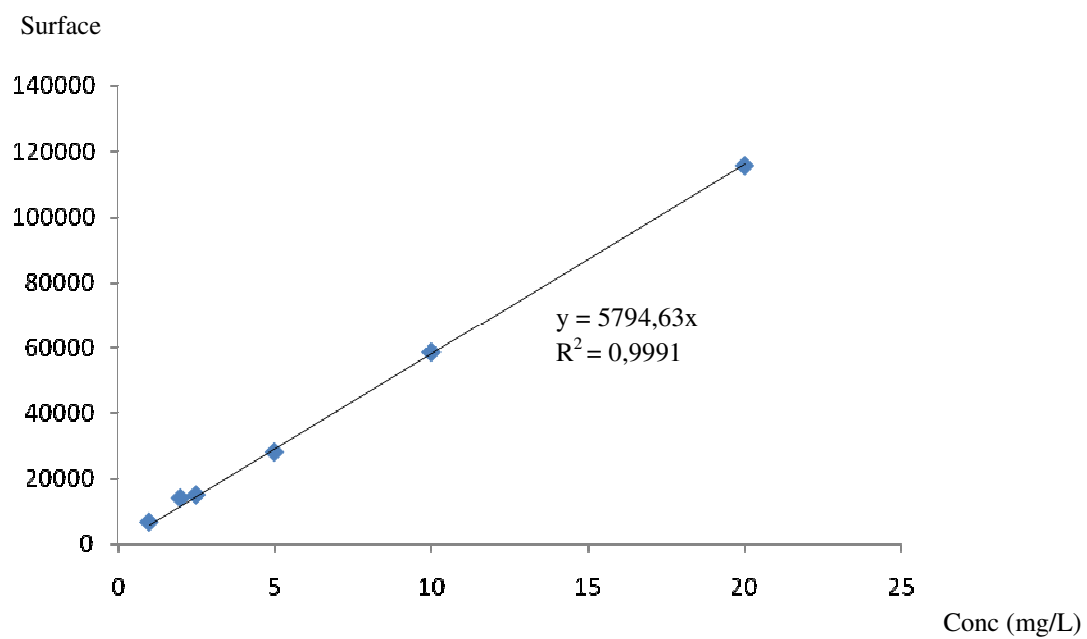
**Figure iv :** Courbe d'étalonnage du zinc



**Figure v :** Courbe d'Etalonnage du Rétinol



**Figure vi :** Courbe d'Etalonnage du Rétinol acétate



**Figure vii:** Courbe d'Etalonnage du Tocophérol

## ANNEXE DES PUBLICATIONS

---

### Publication 1

---

**Melaine G. M'boh**, Félix H. Yapi, Hugues T. Ahiboh, A. Yapo, Brice K. Bla & Joseph A. Djaman (2010). The effect of *falciparum* malaria infection on the quantity of trace elements (iron, copper, zinc) in the blood in children of Côte d'Ivoire. *Agric. Biol. J. N. Am.*, 1 (4):565-570

---

### Publication 2

---

**Melaine Gervais M'boh**, Michelle Aké, Félix HouphouëtYapi, Yves Soko, AdouYapo & Joseph Djaman (2010). Blood level of Vitamins A and E in Ivorian (Côte d'Ivoire) Children Affected by *falciparum* malaria. *E. J. S. R.*, 44 (1) : 159-166

## The effect of *falciparum* malaria infection on the quantity of trace elements (iron, copper, zinc) in the blood in children of Côte d'Ivoire

Melaine G. M'boh<sup>1</sup>, Félix H. Yapi<sup>1</sup>, Hugues T. Ahiboh<sup>2</sup>, A. Yapo<sup>1</sup>, Brice K. Bla<sup>1</sup>, Joseph A. Djaman<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Pharmacodynamie-biochimique, UFR Biosciences, Université de Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22

<sup>2</sup> Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université de Cocody, Côte d'Ivoire, BP V34 Abidjan 22

<sup>3</sup> Département de Biochimie Médicale & Fondamentale, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, 01 BP 490 Abidjan 01

Prof Joseph DJAMAN, 22 BP 582 Abidjan 22, Tel/Fax 225 22 44 44 73, E-mail: [djamanj@yahoo.fr](mailto:djamanj@yahoo.fr)

### ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of the parasitaemia, pathological states on the concentration of trace elements (iron, copper, zinc) during *falciparum* malaria infection. Malaria diagnosis among enrolled children aged between 2 and 14 years was based on clinical grounds as the presence of fever (axillary temperature  $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$ ) and confirmed by laboratory test (parasite research in a thick and thin Giemsa-stained blood films). Haematological parameters and Serum iron, copper and zinc concentrations were determined by automated analyzer labelled SEAC<sup>TM</sup> Genius model and atomic absorption spectrometry (AAS) respectively. Of the 112 enrolled children, 71 (63.4%) were affected by malaria, while 41 (36.6%) others were uninfected. The outcome showed that the levels of trace elements in serum were very significantly lower in children having malaria according to parasitaemia, and malaria pathological states of platelets and red blood cells compared to those of healthy children ( $p < 0.001$ ). *Falciparum* malaria has a damageable effect on the quantity of trace elements (iron, copper and zinc) in children living in Abidjan. In view of the importance of interest of these micronutrients, the significant variation has to be paid attention to, to check nutritional recovery in infected children, to avoid worsening his pathological state.

**Key words:** *falciparum* malaria, trace elements, children, Côte d'Ivoire

### INTRODUCTION

Malaria is an important public health problem in developing countries. *Plasmodium falciparum* a pathogenic agent of malaria remain a major cause of morbidity and mortality of children under five years in these countries (Jeffrey and Pia, 2002; Mouchet *et al.*, 2004). In Côte d'Ivoire, malaria is the first reason of consultation and unfortunately childhood mortality (Nzeyimana *et al.*, 2002).

The increase and persistence to drug resistance to the standard medication (chloroquine and antifolate), to the usual insecticides (Owuor and Kong, 2002; Djaman *et al.*, 2004; Bremen, 2008) and the increase of mortality rate linked to this pathology allow us to investigate about factors which could lead to malaria infection.

Some authors have associated malaria acquisition

and its severity (or *Plasmodium* virulence) to the concentrations of micronutrients in children: the protection against acute infection through a moderated deficiency in iron (Nyakeriga *et al.*, 2004; Wander *et al.*, 2009); the reduction of risk of fever and clinical malaria episodes through a zinc supplementation (Seyrek *et al.*, 2005; Zeba *et al.*, 2008) and the cooper associated with zinc, which the reduction of the ratio cooper/zinc is an increasing factor of the oxidative stress (Mezzetti *et al.*, 1998).

However, data about significant variation of these micronutrients in course of infections in developing countries where we encounter malnutrition and infection problem together need to be solved and kept under surveillance. This study would allow us watch nutritional recovery in endemic area, to avoid an excess or deficiency of these micronutrients which could worsening pathological state of patient.

The aim of this study is to assess the effects of *Plasmodium falciparum* on the trace elements (iron, copper, zinc) in the children living in Abidjan (Côte d'Ivoire).

## MATERIALS AND METHODS

**Study site and participants:** The study was conducted in Anokoua Kouté village, from July to October 2008 in the district of Abobo which lies 15 km to the north of Abidjan. Malaria is hyper-endemic, with transmission peaking during the rainy season (June, July, and September). The village has a health center where the children were examined. Children aged from 2 to 14 years were enrolled. Eligibility criteria were: plan to reside in the village, no intestinal parasite infection, no micronutrients supplementation (trace elements and vitamins), parental consent for the child's participation. Patients did not receive antimalarial treatment before enrolment. One hundred and twelve children were enrolled at the local health centre. Children were diagnosed positive to malaria if thick and thin Giemsa-stained blood films showed the presence of *Plasmodium* species, temperature  $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$  and no other obvious cause for the illness. The others uninfected by *Plasmodium* constituted our control population. The parents or guardians agreed to participate and provide useful information about their children. They were duly informed for objectives and methodology of this study.

**Laboratory methods:** Blood samples of children were collected for *P. falciparum* research, survey of hematological parameters and blood concentration of trace elements.

Blood slides were stained with 5% Giemsa stain. The asexual parasites densities were estimated by counting parasites against 200 white blood cells, assuming a standard leukocyte count of 8000/ $\mu\text{L}$  (Trape, 1985). Parasites densities was classify in three groups: A (parasite density  $< 2000$  per  $\mu\text{L}$ ); B (parasite density between 2000 and 40000 per  $\mu\text{L}$ ) and C (parasite density  $> 40000$  per  $\mu\text{L}$ ). Pathological states of red blood cells and platelets associated with malaria, have been diagnosed in the following manner: we have measured haemoglobin (Hb) level, mean erythrocyte cell volume (MCV), haemoglobin corpuscular concentration (MCHC) and hemoglobin corpuscular level (MCH) by automated analyzer, SEAC<sup>TM</sup> Genius model. The usual values of haematological parameters are those reported by Ukaejiofo *et al.* (1979) and Sergeant *et al.* (1980). Anemia has been diagnosed for haemoglobin level  $< 11\text{g/dL}$  for children aged 2 and 4 years;  $< 11.5\text{ g/dL}$  between 5 and 11 years and under 12g/dl for children

between 12 and 14 years (WHO, 2001). Microcythaemia has been diagnosed for MCV value  $< 76\text{ pg}$ ; Hypochromia for MCHC value  $< 30\text{ g/dl}$  or MCH values  $< 25\text{ pg}$  (Ukaejiofo *et al.*, 1979; Sergeant *et al.*, 1980). Normocythaemia was observed for VGM values between 80 and 95 pg (Blaque-Bélaire *et al.*, 1991), and thrombopenia about platelets (PLT) value  $< 100.10^3/\text{mm}^3$ .

Blood trace elements in patients compared with uninfected population have been measured in the following manner: Iron, cooper and zinc blood concentrations were realized by atomic absorption spectrometry (Pinta, 1980), with Varian spectrometer (Pattern Varian AA20®, France). Cathodic lamp fed for electricity round about 300 V removed atom of blood samples. Atom concentration was obtained from standard curves, of the multistandard solution (1000 ppm) about 0.5; 1; 1.5 and 2 ppm. Concentrations of dilutions were done with Nitric acid solution (0.03 N) (Barrett *et al.*, 1951).

**Statistical analysis:** The analyses were realized by using graphpad prism 5 demo software. The paired t-test was used to compare means. A p-value  $< 0.05$  was considered as statistically significant.

**Ethical considerations:** Informed consent and ethical approval was obtained from participants and ethical committee respectively.

## RESULTS AND DISCUSSION

Seventy one (thirty six girls and thirty five boys) of the 112 children enrolled in the study were diagnosed positive to malaria. Forty one (twenty three girls and eighteen boys) uninfected by *Plasmodium* constituted effectively our control population. So, the prevalence of malaria was found with a ratio 71/112 (63.4 %) versus 41/112 (36.6%) in uninfected children.

Haematological parameters (MCH, MCHC, MCV, HCT, Hb and PLT) were lower in malaria subjects than that observed for others uninfected subjects (Table I and II). Low concentrations of iron ( $0.41 \pm 0.3\text{ mg/L}$ ), cooper ( $0.61 \pm 0.19\text{ mg/L}$ ) and zinc ( $0.21 \pm 0.1\text{ mg/L}$ ) blood were observed in the infected group compared to the uninfected group ( $p < 0.001$ ) that is about 65% (Table II). Each parasite group density defined ( $< 2000/\mu\text{L}$ ; between 2000 and 40000/ $\mu\text{L}$  and  $> 40000/\mu\text{L}$ ) showed a lower concentration of trace elements in the blood comparatively to uninfected subjects and the values has been lowered when parasite density increased (Table II).

Blood trace elements measured about pathological states of red blood cells and platelets observed or no in course of malaria, showed a significant decrease



when we compared with uninfected subjects (Table III and IV).

**Table 1: Haematological parameters and mean values in serum of iron, copper and zinc between infected and uninfected population by *Plasmodium***

	Uninfected population (n=41)	Infected population (n=71)
Fe (mg/l)	1.2 ± 0.78	0.41 ± 0.3 <sup>***</sup>
Cu (mg/l)	1.68 ± 0.74	0.61 ± 0.19 <sup>***</sup>
Zn (mg/l)	0.6 ± 0.34	0.21 ± 0.1 <sup>***</sup>
MCHC (g/dl)	32.92 ± 1.39 <sup>ns</sup>	32.54 ± 2.15
MCH (pg)	36.7 ± 1.95 <sup>**</sup>	25.03 ± 5.87
MCV (pg)	78.04 ± 4.94 <sup>**</sup>	73.79 ± 8.63
HCT (%)	36.27 ± 5.71 <sup>ns</sup>	27.49 ± 5.76
Hb (g/dl)	10.9 ± 2.26 <sup>ns</sup>	9.09 ± 1.82
PLT (10 <sup>3</sup> /μl)	197.3 ± 26.1 <sup>**</sup>	135.61 ± 96.67
WBC (10 <sup>3</sup> /μl)	7.4 ± 3.15 <sup>ns</sup>	7.67 ± 3.37
RBC (10 <sup>6</sup> /μl)	3.76 ± 0.78 <sup>ns</sup>	3.13 ± 3.32

<sup>\*\*\*</sup>Very significant difference (p < 0,001); Comparison of mean values of trace elements in serum between infected and uninfected subjects  
<sup>ns</sup>no significant difference (p > 0,05) ; <sup>\*\*</sup>significant difference (p <0,01)

**Table 2: Trace elements and haematological parameters between uninfected and infected population according to parasite density**

	Uninfected children (n = 41)	Infected children (n = 71)		
		DP < 2000 (n = 14)	DP [2000; 40000] (n = 47)	DP > 40000 (n = 10)
Fe (mg/l)	1.2 ± 0.78	0.47 ± 0.31 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.32 <sup>b</sup>	0.31 ± 0.27 <sup>c</sup>
Cu (mg/l)	1.68 ± 0.74	0.64 ± 0.18 <sup>a</sup>	0.55 ± 0.21 <sup>b</sup>	0.50 ± 0.02 <sup>c</sup>
Zn (mg/l)	0.6 ± 0.34	0.22 ± 0.12 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.15 ± 0.03 <sup>c</sup>
MCHC (g/dl)	32.92 ± 1.39 <sup>ns</sup>	32.63 ± 1.85 <sup>ns</sup>	32.52 ± 1.69 <sup>ns</sup>	31.58 ± 3.70 <sup>ns</sup>
MCH (pg)	36.7 ± 1.95	29.6 ± 2.49 <sup>ns</sup>	24.17 ± 2.83 <sup>ns</sup>	23.75 ± 7.47 <sup>**</sup>
MCV (pg)	78.04 ± 4.94	73.95 ± 6.65 <sup>ns</sup>	72.96 ± 5.83 <sup>ns</sup>	72.62 ± 17.03 <sup>**</sup>
HCT (%)	36.27 ± 5.71	27.87 ± 4.82 <sup>ns</sup>	26.72 ± 8.21 <sup>ns</sup>	25.11 ± 6.68 <sup>ns</sup>
Hb (g/dl)	10.9 ± 2.26	9.08 ± 1.58 <sup>ns</sup>	8.81 ± 1.14 <sup>ns</sup>	8.75 ± 2.96 <sup>ns</sup>
PLT (10 <sup>3</sup> /μl)	197.3 ± 26.1	130.5 ± 67.94 <sup>**</sup>	120.2 ± 78.4 <sup>**</sup>	72.9 ± 25.36 <sup>**</sup>
WBC (10 <sup>3</sup> /μl)	7.04 ± 3.15	7.33 ± 2.61 <sup>ns</sup>	7.61 ± 3.06 <sup>ns</sup>	8.78 ± 5.29 <sup>ns</sup>
RBC (10 <sup>6</sup> /μl)	3.76 ± 0.78	3.68 ± 1.15 <sup>ns</sup>	3.36 ± 0.59 <sup>ns</sup>	3.28 ± 1.02 <sup>ns</sup>

<sup>a, b, c</sup> Very significant difference against control subjects (p < 0,001) ; <sup>\*\*</sup> significant difference (p <0,01) ; <sup>ns</sup> no significant difference (p > 0,05)

**Table 3: Trace elements values between infected and uninfected population according to pathological state of blood platelets**

	Infected subjects		Uninfected subjects	
	Thrombopenia (n=50)	No thrombopenia (n=21)	Thrombopenia (n=9)	No thrombopenia (n=32)
Fe (mg/l)	0.40 ± 0.3	0.41 ± 0.32	1.18 ± 0.98a <sup>***</sup> b <sup>**</sup>	1.72 ± 0.72c <sup>***</sup> d <sup>***</sup>
Cu (mg/l)	0.60 ± 0.21	0.63 ± 0.12	1.44 ± 0.28a <sup>***</sup> b <sup>***</sup>	1.75 ± 0.8c <sup>***</sup> d <sup>***</sup>
Zn (mg/l)	0.21 ± 0.11	0.22 ± 0.09	0.36 ± 0.07a <sup>***</sup> b <sup>***</sup>	0.66 ± 0.23c <sup>***</sup> d <sup>***</sup>

a : comparison between uninfected and infected subjects showing thrombopenia;  
b : comparison between thrombopenia subjects uninfected and no thrombopenia subjects infected;  
c : comparison between no thrombopenia subjects uninfected and thrombopenia subjects infected;  
d : comparison between uninfected and infected subjects showing no thrombopenia  
<sup>\*\*</sup> Significant difference (p <0,01) ; <sup>\*\*\*</sup> Very significant difference (p <0,001)

**Table IV: comparison of trace elements values between infected and uninfected population according to pathological state of blood cells**

	Infected subjects		Uninfected subjects	
	Anaemia (n=63)	No anaemia (n=8)	Anaemia (n=34)	No anaemia (n=7)
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
Fe (mg/l)	0.40 ± 0.30	0.44 ± 0.37	1.17 ± 0.8	1.2 ± 0.63
Cu (mg/l)	0.60 ± 0.18	0.65 ± 0.23	1.69 ± 0.75	1.63 ± 0.32
Zn (mg/l)	0.21 ± 0.1	0.21 ± 0.04	0.62 ± 0.36	0.46 ± 0.09
	Microcythaemia (n = 41)	Normocythaemia (n = 30)	Microcythaemia (n = 16)	Normocythaemia (n = 25)
	<b>E</b>	<b>F</b>	<b>G</b>	<b>H</b>
Fe (mg/l)	0.43 ± 0.33	0.37 ± 0.27	1.25 ± 0.75	1.07 ± 0.79
Cu (mg/l)	0.62 ± 0.23	0.59 ± 0.11	1.70 ± 0.81	1.67 ± 0.7
Zn (mg/l)	0.23 ± 0.1	0.19 ± 0.07	0.67 ± 0.34	0.54 ± 0.35
	Hypochromia (n = 41)	Normocythaemia (n = 30)	Hypochromia (n = 16)	Normocythaemia (n = 25)
	<b>I</b>	<b>J</b>	<b>K</b>	<b>L</b>
Fe (mg/l)	0.34 ± 0.22	0.49 ± 0.38	1.36 ± 0.84	0.99 ± 0.7
Cu (mg/l)	0.61 ± 0.21	0.61 ± 0.14	1.77 ± 0.9	1.62 ± 0.62
Zn (mg/l)	0.22 ± 0.1	0.21 ± 0.09	0.68 ± 0.34	0.53 ± 0.11

Significant difference between states (p)

Haematological profile:

iron: C and (A:p <0,001; B: p <0,05); D and (A:p <0,001; B: p <0,05);  
copper: C and (A:p <0,001; B: p <0,001); D and (A:p <0,001; B: p <0,001);  
zinc: C and (A:p <0,001; B: p <0,01); D and (A:p <0,001; B: p <0,01);  
MCH:  
iron: G and (E: p < 0,001; F: p < 0,001); H and (E: p < 0,001; F: p < 0,001)  
copper: G and (E: p < 0,001; F: p < 0,001); H and (E: p < 0,001; F: p < 0,001)  
zinc: G and (E: p < 0,001; F: p < 0,001); H and (E: p < 0,001; F: p < 0,001)

## DISCUSSION

The reduction of serum trace elements concentration in infected population justifies works of some authors who associated malaria infestation to nutrients concentration in children (Nusseblatt and Semba, 2002; Muller and Kappes, 2007). In their opinion, variability concentration of these nutrients in population suffering from malaria is assigned to *Plasmodium* infection (Zeba *et al.*, 2008; Wander *et al.*, 2009). Parasites of eukaryotic cells would use ways to trap iron for their metabolism. So, a moderate deficiency of this nutrient in infected population might protect against acute infection in children and represent a nutritional adaptation to endemic infectious disease stress (Gera and Sachdev, 2002; Wander *et al.*, 2009). Iron is an essential element of haemoglobin which transports and stocks oxygen in organism, playing a function in oxidative metabolism, cellular proliferation and others physiological processes (Oppenheimer, 2001; Monsigny *et al.*, 2004; Baunaure and Langsley, 2005). This nutrient is important for all pathogens organisms we know; in free state it may encourage their virulence (Lynch, 2007).

In other ways, infections in organism generate reactive oxidants factors which encourage a nuclear factor (NF- $\kappa$ B), which regulate genes expression in immune response against pathogens agents (Owuor and Kong, 2002). Zinc is a fundamental anti-oxidant element which would reduce about 50% activation of this nuclear factor. It protects cells against membrane peroxidation (Unesco, 2003). In effect, these reactive oxidants factors produced in course of infection which are dangerous for *plasmodium*'s survival, would modulate expression of structural genes encoding for antioxidants enzymes as superoxide dismutase and glutathione peroxydase (Holgrem, 2003). Zinc and copper participate to the functionality of superoxide dismutase: an antioxidant such as vitamins A, C and E. Thus, these nutrients (zinc and copper) might partly be used by *Plasmodium* to fight the oxidant flow generated in course of infection; that would explain their reduction in infected children as it has been obtained in the present study. The result is in conformity with those of Shankar (2000) where during the acute phase response, zinc is redistributed from plasma to lymphocytes and to the liver, causing decreased zinc plasma concentrations and a microbiostatic environment (Beisel *et al.*, 1995). In other ways, zinc participate to the restoration of immune function; its reduction would encourage the virulence of *Plasmodium*, because parasite would find

through the deficiency of subject's immunity a free way to express its metabolism and so its virulence (Prasad, 2000; Nusseblatt and Semba, 2002). Increasingly, the reduction of zinc concentration might unbalance the ratio cu/zn, so it would increase the oxidative stress in patients and would worsening their pathological state by the negative effects of oxidants reactive factors (Mezzetti *et al.*, 1998).

Anemia types would be associated to *Plasmodium* manifestation (by a direct destruction and ineffective erythropoiesis and the effect of nitric oxide which can inhibit the enzyme *methionine synthase*) in infected children but also would take place in nutritional deficiency of these trace elements such as copper, iron and zinc (Wongsrichanalai *et al.*, 2002; Olivares *et al.*, 2007, Pradhan, 2009). The cohabitation of these two aspects (parasite manifestation and nutritional deficiency of trace elements) creates damage in the health of infected population. Platelets are playing a fundamental function by converting of fibrinogen into fibrin for blood coagulation (Monsigny *et al.*, 2004); their elimination in course of malaria would facilitate with the blood flow, the circulation and propagation of *Plasmodium*.

## CONCLUSION

*Plasmodium falciparum* has a damageable effect on trace elements (iron, copper and zinc) in serum of children living in Abidjan (Côte d'Ivoire). This study takes its importance in prevention and fighting against malaria in Côte d'Ivoire where malnutrition is more associated to malaria infection since the civil war of 2002.

It has been to understand the variability of blood trace elements concentrations (iron, copper and zinc) in course of malaria in high endemic area in Côte d'Ivoire, which significant value would lead to avoiding excess or deficiency of these trace elements, which could encourage *Plasmodium* infection. Being given that the obtained results showed the low values of traces elements among children infected by *falciparum* malaria, these data will help the National Malaria Control Programme to target control strategies aimed at reducing malaria morbidity in ivoirien population.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank sincerely the director of the health center of "Anokoua-kouté" for having permitted this study. We are also grateful to the laboratory technicians for their contribution (reading of the thick and thin Giemsa-stained blood smears).

## REFERENCES

- Barrett, E.P., Joyner, L.S and Halenda, P.P (1951). The determination of pore volume and areadistributions in porous substances. I. Computation from nitrogen isothermes. *J. Am. Chem. Soc.* 73: 373-380.
- Baunaure, F and Langsley, G (2005). Trafic protéique dans le globule rouge infecté par Plasmodium. *Médecine/Sciences.* 21: 523-529.
- Beisel, W.R., Pekarek, R.S., Van Ormer, D and Wannemacher, R.W.Jr (1995). Influence of acute infection on the metabolism of zinc and other trace elements. *Psychopharmacol. Bull.* 7: 34-35.
- Blaque-Bélaïr, A., de Fossey, B.M. and Fourestier, M. (1991). Dictionnaire des constantes biologiques et physiques en médecine: applications cliniques pratiques. 6e éd. Paris : Éditions Maloine. [MO-019028], 846p.
- Bremen J. (2001). The ears of the hippopotamus : manifestation, determinants, and estimates of the malaria burden. *Am. J. Trop. Hyg.* 64 (1, 2 S): 1-11.
- Djaman, J., Abouamou, S., Basco, L. and Koné, M (2004). Limits of the efficacy of chloroquine and sulfadoxine-pyrimethamine in Northern Abidjan (Côte d'Ivoire): Combined in vivo and in vitro studies. *Sante* 14 (4): 205-209.
- Gera, T. and Sachdev, H.P.S (2002). Effects of iron supplementation on incidence of infectious illness in children : systematic review. *Br. Med. J.* 325: 1142-1151.
- Holgreem, A (2003). Redox regulation of genes and cell function. In : Critical review of oxidative stress and aging. Vol II RG Cutler and H Rodriguez Eds. USA : World Scientific, p 102-111.
- Jeffrey, S. and Pia M (2002). The economic and social burden of malaria. *Nature.* 415: 680-685.
- Lynch, S (2007). Iron metabolism. In Kraemer K, Zimmermann MB. *Nutritional anaemia. Basel, Sight and life press.*; pp-59-76
- Mezzetti, A., Pierdomenico, S.D., Costantini, F., Romano, F., De Cesare, D., Cuccurullo, F., Imbastaro, T., Riario-Sforza, G., Di Giacomo, F., Zuliani, G. and Fellin, R (1998). Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Rad. Biol. Med.* 25: 676-681.
- Monsigny, M., Duverger, E. and Bourgerie, S (2004). Dictionnaire de biochimie moderne. Paris, Edition Ellipses,364p.
- Mouchet, J., Carnevale, P., Coosemans, M., Julvez, J., Manguin, S., Richard-Lenoble, D. and Sircoulon J (2004). Biodiversity of Malaria in the World: Editions John Libbey, 420p.
- Muller, S. and Kappes, B (2007). Vitamin and co-factor biosynthesis pathways in Plasmodium and other apicomplexan parasites. *Trends. Parasitol.* 23(3): 112-121.
- Nusseblatt, V. and Semba, K (2002). Micronutrient malnutrition and pathogenesis of malarial anemia. *Acta Tropica.* 82: 321-337.
- Nyakeriga, A.M., Troye-Blonberg, M., Dorfman, J.R., Alexander, N.D., Bäck, R., Kortok, M., Chemtai, A.K., Marsh, K. and Williams, T.N (2004). Iron deficiency and malaria among children living on the coast Kenya. *J. Infect. Dis.* 190: 439-447.
- Nzeyimana, I., Henry, M.C., Dossou-Yovo, J., Doannio, J.M., Diawara, L. and Carnevale, P (2002). Epidemiology of malaria in the southwestern forest of the Ivory Coast (Tai region). *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 95(2): 89-94.
- Olivares, M., Hertrampf, E. and Uauy, R (2007). Cooper and zinc interactions in anaemia: A public health perspective. In Kraemer K, Zimmermann MB. *Nutritional anaemia Basel Slight and life press*; pp. 99-109.
- Oppenheimer, S.J (2001). Iron and its relation to immunity and infectious disease. *J. Nutr.* 131: 616S-635S.
- Owuor, E.D. and Kong AN (2002). Antioxidants and oxidants regulated signal transduction pathways. *Biochem. Pharmacol.* 64:765-770.
- Pinta, M (1980). Spectrométrie d'absorption atomique. Application à l'analyse chimique. Paris, Edition Masson, 696 p.
- Pradhan, P (2009). Malarial anaemia and nitric oxide induced megaloblastic anaemia: a review on the causes of malarial anaemia. *J Vector Borne Dis* 46: 100-108.
- Prasad, A.S (2000). Effects of zinc deficiency on immune functions. *J. Trace. Elem. Exp. Med.* 13 :1-20.
- Sergeant, G.R., Grandison, Y., Mason, K., Sergeant, B., Sewell, A. and Vaidya, S (1980). Heamatological indices in normal negro children : a Jamaican cohort from birth to five years. *Clin. Lab. Haematol.* 2: 169-178.
- Seyrek, A., Kocyigit, A. and Erel, O (2005). Essential trace elements selenium, zinc, copper, and iron concentrations and their related acute-phase proteins in patients with vivax malaria. *Biol. Trace. Elem. Res.*106: 107-115.
- Shankar, A.H (2000). Nutritional modulation of malaria morbidity and mortality. *J. Infect. Dis* 182: S37-S53.
- Trape, J.F (1985). Rapid evaluation of malaria parasite density and standardization of thick smear examination for epidemiological investigations. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 79(2):181-184.
- Ukaejiifo, E.Q., laacs-Sodeye, Wa., Adigun, E.S and Padeola, A (1979) Normal haematological values in adult Nigerians. *Niger. Med. J.* 9(1): 117-119.
- UNESCO (2003). Trace elements, minerals and vitamins : news functional and chemical in human. *News of trace elements* ; 10 : 30.
- Wander, K., Shell-Duncan, B., McDade, T. W (2009), Evaluation of iron deficiency as a nutritional adaptation to infectious disease: An evolutionary medicine perspective, *Am. J. Hum. Biol.*, 21: 2, 172.
- WHO (2001). Iron deficiency anaemia. Assessment, prevention, and control: a guide for programme managers. Geneva, Switzerland, xiii, 114 p.
- Wongsrichanalai, C., Pickard, A., Wernsdorfer, W. and Meschnick, S (2002). Epidemiology of drug-resistant malaria. *Lancet.* 2 (4): 209-218.
- Zeba, A.N., Sorgho, H., Rouamba, N., Zongo, I., Rouamba, J., Guiguemdé, R.T., Hamer, D.H., Mokhtar, N. and Ouedraogo, J-B (2008). Major reduction of malaria morbidity with combined vitamin A and zinc supplementation in young children in burkina faso. A randomized double blind trial. *Nutr. J.* 7 :7.

## **Blood level of Vitamins A and E in Ivorian (Côte d'Ivoire) Children Affected by *falciparum* Malaria**

**Melaine Gervais M'Boh**

*Université de Cocody (Côte d'Ivoire), BP V34 Abidjan*  
E-mail: mbohgervais@yahoo.fr

**Michelle Aké**

*Université de Cocody et Institut National de Santé Publique*  
*BP V47 Abidjan (Côte d'Ivoire)*  
E-mail: mdake@aviso.ci

**Félix Houphouët Yapi**

*Université de Cocody (Côte d'Ivoire), BP V34 Abidjan*  
E-mail: felhouph@yahoo.fr

**Yves Soko**

*Institut National de Santé Publique, BP V47 Abidjan (Côte d'Ivoire)*  
E-mail: sokoyv@yahoo.fr

**Adou Yapo**

*Université de Cocody (Côte d'Ivoire), BP V34 Abidjan*  
E-mail: fyapo@yahoo.fr

**Joseph Djaman**

*Corresponding Author Université de Cocody (Côte d'Ivoire) et Institut Pasteur*  
*de Côte d'Ivoire 01 BP 490 Abidjan 01*  
E-mail: djamanj@yahoo.fr  
Tél: Fax 225 22 44 44 73

### **Abstract**

Given the important role and the positive effects of vitamins, 80 children aged between 2 and 14 years were investigated to evaluate the influence of parasitaemia, pathological states of red blood cells and blood platelets during *falciparum* malaria on the blood rate of vitamins (A, E). Malaria diagnosis was based on clinical grounds as the feverish condition (axillary temperature  $\geq 37^{\circ}\text{C}$ ) and confirmed by laboratory test. The analysis of hematological parameters have been determined by automated analyzer labeled SEAC<sup>TM</sup>, while Liquid Chromatography was used to determine serum vitamins A and E concentrations. Percentages of vitamins reduction in children suffering from *falciparum malaria* compared to control population have been calculated by the ratio. The outcome showed that the levels of vitamins in patient's serum were very significantly lower than that of the control population children according to parasitaemia, and pathological states of blood platelets and red blood cells during *falciparum* malaria ( $p < 0.001$ ). Generally, percentages of vitamins reduction in patients presented a mean higher than 70%. Given the

implication of these two micronutrients in parasite infection, it is interesting in malaria-endemic area to pay attention by checking of their food intake.

**Keywords:** Falciparum malaria, vitamins A and E, children, Côte d'Ivoire

## 1. Introduction

Malaria caused by *Plasmodium falciparum* remains a major cause of morbidity and mortality among African children (Mouchet et al., 2004). Between 300 to 500 million new cases of malaria due to *P. falciparum* are annually registered in the world, with 90% in sub-Saharan and one million children died (Bonner, 2005).

In Côte d'Ivoire as elsewhere in West Africa, falciparum malaria is the first reason of consultation and hospitalization in children population. It is estimated that three and half millions children under the age of five are more exposed mostly sixty three thousand deaths registered every years (Nzeyimana et al. 2002). Resistance to drugs and insecticides used to fight this disease has hampered malaria control efforts (Bremen, 2001).

About thirty micronutrients including vitamins and minerals are essential or indispensable to human's health, children's growth and development (UNESCO, 2003). Vitamin A is essential for maintenance of epithelial surfaces, immune competence, normal functioning of the retina, as well as for growth, embryonic development and reproduction (Muller and Kappes, 2007). In other ways, an infection with *Plasmodium* causes an immune response resulting in the activation of macrophages leading to the production and release of reactive oxygen species (ROS). The vitamin E plays important roles in protection against oxidative stress (Owuor and Kong, 2002; Holgrem, 2003; Muller and Kappes, 2007).

Some authors associated malaria infection to the concentration of these two nutrients. Vitamin E deficiency has a protective effect in malaria patients (Osey and Hamer, 2008); vitamin A supplementation has protective effects against malaria (Rosales et al., 2000; Alvarez et al., 2004; Miguel and Malcom, 2009). Given the evidence of a positive effect of these two micronutrients, it is interesting in malaria-endemic area to study these natural defenses against the parasite.

The purpose of this study is to assess the variation of these nutrients in the course of *P. falciparum* infection in children population living in Abidjan district (Côte d'Ivoire).

## 2. Population and Methods

### 2.1. Study Site and Population

The study was conducted from July to October 2008 in Anokoua Kouté, a village located in the district of Abobo which lies 15 km to the north of Abidjan. Malaria is hyper-endemic, with transmission reaching its peak during the rainy season (June, July, and September). Unfortunately, in this area, as elsewhere in the district of Abidjan, no survey has been performed to evaluate the entomological inoculation rate (EIR). However, in the south-western forest area of Côte d'Ivoire (Region of Taï) the EIR was of 400 infected bites per person-year for *An. gambiae s.l* the most important vector of malaria in Côte d'Ivoire (Nzeyimana et al, 2002).

Children aged between 2 and 14 years were registered in the health center of Anokoua Kouté. They met the following criteria: regular resident in the village, no intestinal parasite infection, no micronutrients supplementation (trace elements and vitamins), no ocular signs of vitamin A deficiency or history of night blindness after a clinical examination. However, only children infected with *P. falciparum*, with an axillary temperature of at least 37.5°C and not having received antimalarial treatments before enrolment were included in the study. The uninfected children by *Plasmodium*

constituted the control population. Patients with viral or bacterial infections, severe malnutrition and/or the signs and symptoms of severe and complicated malaria were excluded.

## 2.2. Laboratory Methods

Blood samples of children were collected for *P. falciparum* research, hematological parameters and blood vitamins concentration determination.

Blood slides were stained with 5% Giemsa stain. The asexual parasites densities were estimated by counting parasites against 200 white blood cells, assuming a standard leukocyte count of 8000/ $\mu\text{L}$  (Trape, 1985). Parasites densities were classified in three groups: - A (parasite density < 2000 per  $\mu\text{L}$ ); - B (parasite density between 2000 and 40000 per  $\mu\text{L}$ ) and, - C (parasite density > 40000 per  $\mu\text{L}$ ).

Pathological states of red blood cells and platelets associated with malaria have been diagnosed after measuring hemoglobin (Hb) level, mean erythrocyte cell volume (MCV), hemoglobin corpuscular concentration (MCHC) and hemoglobin corpuscular level (MCH) by automated analyzer, SEAC<sup>TM</sup> Genius model. The usual values of haematological parameters are those reported by Ukaejiofo et al. (1979) and Sergeant et al. (1980). Anemia has been diagnosed for haemoglobin level < 11g.dL<sup>-1</sup> for children aged 2 and 4 years; < 11.5 11g.dL<sup>-1</sup> between 5 and 11 years and under 12 11g.dL<sup>-1</sup> for children between 12 and 14 years (WHO, 2001). Microcythaemia has been diagnosed for MCV value < 76 pg; Hypochromia for MCHC value < 30 11g.dL<sup>-1</sup> or MCH values < 25 pg. Normocythaemia was observed for VGM values between 80 and 95 pg (Blacque et al., 1991), and thrombopenia about platelets (PLT) value < 100.10<sup>3</sup>. $\mu\text{L}^{-1}$ .

Vitamins A and E in serum of patients and control population were measured by simultaneous determination of these two nutrients by Liquid Chromatography (LC) in isocratic mode (Catignani et al., 1983). The techniques of extraction and analysis parameters concerning these vitamins have been described as follow: To 100  $\mu\text{L}$  of serum, 100  $\mu\text{L}$  of ethanol and 100  $\mu\text{L}$  of retinyl acetate as an internal standard are added. After mixing with a vortex-type mixer for 20 sec to facilitate the deproteinization by ethanol, the sample was extracted with 400  $\mu\text{L}$  of n-hexane by mixing with the vortex for two times for 30 sec. After centrifugation (3500 rpm, 10 min), 300  $\mu\text{L}$  of the supernatant fluid containing vitamins is transferred for evaporation in stream of nitrogen (pressure: 0.5 bar) (Aké et al., 2001), the residue is dissolved in 100  $\mu\text{L}$  of methanol and 20  $\mu\text{L}$  of this solution was injected on to C18 reversed-phase chromatographic column in gradient mode. A chromatographer-type Shimadzu<sup>®</sup> has been used. Chromatographic conditions were: mobile phase methanol/water (98/2, V/V), flow rate (1.5mL/min), temperature of column: 30°C, wavelength: 290 nm. Vitamins A and E was been detected after a stop time of 5 min and 12 min respectively.

## 2.3. Statistical Analysis

The analyses were realized by using graphpad prism 5 demo software. The paired t-test was used to compare means. A p-value < 0.05 was considered as statistically significant. Percentages of vitamins reduction in infected population have been calculated by the ratio (difference between mean values of malaria and control subjects /mean values of control subjects) multiplied by 100

## 2.4. Ethical Considerations

Informed consent and ethical approval was obtained from participants and ethical committee respectively.

## 3. Results

Of the 160 enrolled children in this study, 80 (50%) were diagnosed positive for *falciparum* malaria and has been considered as the infected population, while the eighty uninfected children constituted the

control population. The parasitaemia (Pa) were distributed as follow: 11.25% (9/80) with  $Pa < 2000 \mu\text{L}^{-1}$ ; 40% (32/80) with  $2000\mu\text{L}^{-1} > Pa < 40000 \mu\text{L}^{-1}$ , and 48.75% (39/80)  $Pa > 40000 \mu\text{L}^{-1}$ .

The hematological parameters (MCH, MCV, HCT, Hb and PLT) were lower among children affected by *falciparum* malaria compared with control children (e.g Hb rate was lower among infected children than uninfected children;  $9.12 \pm 1.92 < 10.6 \pm 2.26 \text{ g.dL}^{-1}$ ). It was the same for the serum rates of vitamins [(e.g vitamin A,  $0.07 \pm 0.01 \text{ mg} < 0.44 \pm 0.02 \text{ mg}$ ),  $p < 0.0001$ ] (Table 1).

Furthermore, each parasite group density defined above, showed a low serum vitamins concentration comparatively to control subjects and the values has been lowered when parasite density increased (Table 2). The reduction of vitamins rate (A and E) increases with the parasite density. This rate reached 90.9 % and 78.85 % for the vitamin A and E respectively, when the parasitaemia is superior to 4000 pa/  $\mu\text{L}$  (Table 2).

The rate of blood vitamin measured about pathological states of red blood cells (microcythaemia, hypochromia, normocythaemia) and platelets (thrombopenia) observed in children suffering from malaria, showed a significant decrease when we compared with control children (Tables 3).

#### 4. Discussion

The reduction of vitamin A (retinol) concentration observed among infected children population suffering from falciparum malaria justifies previous studies of some authors who associate malaria infestation virulence to low vitamin A concentration (Muller and Kappes, 2007; Miguel et Malcom, 2009). According to authors, serum retinol concentration presenting low values in the course of malaria would be assigned to *Plasmodium* infection (Alvarez et al., 2004; Calis et al., 2008). So, in our study, the values of vitamin A become more and more low as the parasite density increases. Some authors attributed this situation of the low retinol levels and the increase of the parasitaemia in children to the acute phase response of the infection. They detected an inverse association between serum retinol concentration and malaria parasite density (Thurnham et Singkamani, 1991; Filteau, 1993). Generally, a number of possible mechanisms by which malaria could lead to vitamin A deficiency, have been proposed according to Stephensen, 2001. These mechanisms are described as follow: the reduces intake by the evidence of serum carotenes as observed in malaria patients independently of serum retinol concentrations, suggesting preceding reduced oral intake of carotene-containing compounds (Thurnham et Singkamani, 1991). Malabsorption by association between helminthe infections and malaria impaires absorption of this vitamin (Brooker et al., 1999); the direct loss by urinary retinol losses during severe infection (Stephensen et al., 1994; Miltra et al., 1998) and an impaired plasma carrying capacity of this nutrient by Retinol Binding Protein (RBP) (Rosales et al., 1996).

The 160 enrolled children living in the same area ate almost the same kind of food. Furthermore, control subjects presented a normal serum vitamin A concentration:  $44 \pm 0,02 > 0,2 \text{ mg.L}^{-1}$  (usual value). This situation would exclude the hypothesis of decrease about food vitamin A intake in infected children. Therefore, they didn't present sign of intestinal parasite infections that could interfere with infection of *Plasmodium falciparum*. So, the reduction of vitamin A serum concentration observed would be related to *falciparum* malaria. In fact, vitamin A is an essential nutrient required for maintaining immune function, playing an important role in the regulation of cell-mediated immunity and in hormonal antibody responses (Shankar, 2001; Villamor and Fawzi, 2005). It acts as a regulator of more than 300 genes through its active metabolite (all-trans and 9-cis retinoic acid) on CD36 expression, non-opsonic phagocytic clearance of parasitized erythrocytes, and TNF $\alpha$  production in human monocytes and macrophages (Serghides and Kain, 2001; 2002). *Plasmodium falciparum* would take up the vitamin and therefore remove it from its host to check immune functions (Mizuno et al., 2003). This situation will impair immune function and will give a free way to parasite in the manifestation of its virulence (Ross et Gardner, 1994; Omer and al., 2000).



All the cases of anemia among the 80 children affected by *falciparum* malaria showed a significant decreasing of this vitamin compared to control subjects. According to some authors in a large case-control study in Malawi, 92% of 247 severe anemia cases (mostly malarial anemia) had low levels of serum retinol versus 66% of 262 controls (Calis et al., 2008). Vitamin A deficiency definitively impairs hemoglobin synthesis (Hodges et al., 1978). This vitamin appears to be involved in the pathogenesis of anemia through diverse biological mechanisms, such as the enhancement of growth and differentiation of erythrocyte progenitor cells, potentiation of immunity to infection and reduction of the anemia of infection, and mobilization of iron stores from tissues (Semba et Bloem, 2002). The increase of serum vitamin A in malaria children during microcytaemia and hypochromia states compared to normocytaemia would show the importance of this vitamin in the stimulation of immune function in reaction against *falciparum* malaria during anemia states caused by the parasite. The reduction of vitamin E concentration in children affected by *falciparum* malaria has also been observed in the study. According to previous studies, the low values of serum tocopherol concentration could be explained by the acute phase during parasite infection. It has been observed a reverse correlation between plasma tocopherol and biochemical markers of hepatic function in children with severe malaria (Davis et al., 1994). These results suggest a reduced production of vitamin E by the liver during malaria infestation.

The decrease of vitamin E concentration is associated with the increase of parasite density and the number of children affected by malaria and showing anemia. Vitamin E as others antioxidants play a role in protection of cellular membranes against reactive oxygen species (ROS) generated by *Plasmodium* infection in host (Cuvelier et al., 2003; Muller and Kappes, 2007). The destruction of erythrocytes by the parasite leading to anemia produces and releases reactive oxygen species (ROS). Thus, the need of vitamin E and other oxidants to fight against oxidative stress which causes damages to cellular membranes (Griffiths et al. 2001; Muller and Kappes, 2007). The flow of ROS is damageable for patient but also for the parasite because the lack of this vitamin would render the parasite more vulnerable (Stocker et al., 1985). Some authors stipulated that the decrease of this vitamin by food intake would contribute to have a protective effect in malaria patients (Levander et al., 1989). This situation would suggest a benefic effect of the deficiency of tocopherol to protect malaria subjects. The reduction of vitamin E observed in children infected must be checked in relation with food intake in this zone to avoid an excess of this vitamin. Some studies showed that patients with a deficiency of this vitamin, recovered more quickly than patients presenting an excess of vitamin E (Eaton et al., 1976; Davis et al., 1994). Antioxidant properties of the vitamin E are considered as the principal mechanism, which support antimalarial activity of this molecule (Muller and Kappes, 2007; Osey and Hamer, 2008).

**In conclusion,** *P. falciparum* infection has a damageable effect on blood levels of vitamins A and E in malaria children living in Abidjan (Côte d'Ivoire). This study can be a useful data for National Malaria Control Programme to promote the use of vitamin A in the area of Abobo and elsewhere in the country among the children affected by *falciparum* malaria. However, given that vitamin E deficiency has a protective effect in malaria patient, it will be important to evaluate the level of tocopherol in our food to avoid the aggravation of the pathological state in the course of *falciparum* malaria infection.

## 5. Acknowledgements

The authors are grateful to the directors of the health center of "Anokoua-kouté" and the "National Institute of Public Health" for having permitted this study. They thank all the physicians of the health center of "Anokoua-kouté" for their help, and the laboratory technicians for having read the thick and thin Giemsa-stained blood smears and determines vitamin A and E blood levels by liquid chromatography.

**Table 1:** Hematological parameters and blood vitamins among infected and uninfected children by *Plasmodium falciparum*

	Uninfected population (N = 80)	Infected population (N = 80)
Vitamin A (mg.L <sup>-1</sup> )	0.44 ± 0.02	0.07 ± 0.01***
Vitamin E (mg.L <sup>-1</sup> )	9.46 ± 0.64	2.63 ± 0.35***
MCHC (g.dL <sup>-1</sup> )	33.92 ± 1.39 <sup>ns</sup>	34.54 ± 2.15
MCH (pg)	37.7 ± 1.95**	28.03 ± 5.87
MCV (pg)	80.04 ± 4.94**	74.79 ± 8.63
HCT (%)	39.27 ± 5.71 <sup>ns</sup>	29.49 ± 5.76
Hb (g.dL <sup>-1</sup> )	10.6 ± 2.26 <sup>ns</sup>	9.12 ± 1.82
PLT (10 <sup>3</sup> .µL <sup>-1</sup> )	197.7 ± 26.1**	137.68 ± 96.67
WBC (10 <sup>3</sup> .µL <sup>-1</sup> )	7.8 ± 3.15 <sup>ns</sup>	8.67 ± 3.37
RBC (10 <sup>6</sup> .µL <sup>-1</sup> )	3.86 ± 0.78 <sup>ns</sup>	3.44 ± 3.32

Comparison of mean values of trace elements in serum between infected and uninfected population

\*\*\*Very significant difference (p < 0,0001); \*\* significant difference (p <0,001); <sup>ns</sup> no significant difference (p > 0,05)

**Table 2:** Comparison of blood vitamins A and E concentrations according to parasite density

Nutrients	Uninfected population N = 80	Infected population N = 80		
	DP = 0	DP < 2000 N = 9	DP (2000-40000) N = 32	DP > 40000 N = 39
Vitamin A (mg.L <sup>-1</sup> )	0.44 ± 0.02	0.08 ± 0,07***	0.07 ± 0,09***	0.04 ± 0,04***
PR (%)		81.01	84.09	90.90
Vitamin E (mg.L <sup>-1</sup> )	9.46 ± 0.64	2.72 ± 3.1***	2.50 ± 2.62***	2 ± 2.23***
PR (%)		71.24	73.57	78.85

\*\*\* Very significant difference against control subjects (p < 0,0001)

**Tableau 3:** Blood vitamins A and E concentrations between infected and uninfected population according to pathological state of blood platelets and cells

Hematological parameters		Vitamin A			Vitamin E		
		Malaria population	Control	PR (%)	Malaria population	Control	PR (%)
ThrombopeniaState	Thr +	0.07 ± 0.06*** (n = 59)	0.44 ± 0.20 (n = 10)	84.09	2.5 ± 2.26*** (n = 59)	12.01 ± 2.83 (n = 10)	79.18
	Thr -	0.08 ± 0.07*** (n = 21)	0.43 ± 0.18 (n = 70)	81.39	2.92 ± 3.24*** (n = 21)	9.09 ± 5.21 (n = 32)	67.87
Anemia profil	Anemia	0.07 ± 0.01*** (n = 69)	0.4 ± 0.02 (n = 32)	82.5	2.31 ± 0.32*** (n = 69)	11.21 ± 0.98 (n = 32)	79.39
	Unanemia	0.08 ± 0.02*** (n = 11)	0.45 ± 0.02 (n = 48)	82.22	4.63 ± 1.47** (n = 11)	8.25 ± 0.8 (n = 48)	43.87
Microcytaemiastate	Micro	0.09 ± 0.08*** (n = 42)	0.4 ± 0.45 (n = 36)	77.5	2.41 ± 2.59*** (n = 42)	11.27 ± 8.57 (n = 36)	78.61
	Normo	0.05 ± 0.04*** (n = 38)	0.46 ± 0.21 (n = 44)	89.13	2.82 ± 2.5*** (n = 38)	7.97 ± 3.86 (n = 44)	64.61
hypochromiastate	Hypo	0.08 ± 0.08*** (n = 40)	0.38 ± 0.15 (n = 25)	78.94	2.52 ± 2.58*** (n = 40)	12.55 ± 9.79 (n = 25)	79.92
	Normo	0.06 ± 0.05*** (n = 40)	0.46 ± 0.19 (n = 55)	86.95	2.69 ± 2.52*** (n = 40)	8.05 ± 3.79 (n = 55)	66.58

\*\* very significant difference against control subjects (p < 0.001);

\*\*\* very significant difference against control subjects (p < 0.0001)

Thr + = presence of thrombopenia; Thr - = absence of thrombopenia

Micro = microcytaemia ; Hypo = hypochromia ; Normo = normocytaemia ;

PR: percentage of vitamins reduction

**References**

- [1] Aké, M., Poby A.G., Malan, K.A., Tebi, A., Monnet, D., 2001. Effets de la supplementation en vitamine A sur les marqueurs de la nutrition dans la prise en charge de la malnutrition de l'enfant. *Ann. Biol. Clin.* 59, 417-21.
- [2] Alvarez, U.M.C., Uscategui, P.R.M., Lopez, B.C., Baracaldo, B.C.M., 2004. Plasma retinol concentration according to pubertal maturation in school children and adolescents of Medellin, Colombia. *Eur. J. Clin. Nutr.* 58, 456-461.
- [3] Blacque, A., Belair, A., Fossey, B.M., Fourestier, 1991. Dictionnaire des constants Biologiques en Médecine. Applications cliniques pratiques. 6è édition. Paris: Maloine Editions. 846 p.
- [4] Bonner, J., 2005 « Row erupts over WHO's malaria 'miscalculation' », sur le site du New Scientist. 15:18.
- [5] Bremen, J., 2001. The ears of the hippopotamus : manifestation, determinants, and estimates of the malaria burden. *Am. J. Trop. Hyg.* 64(1,2 S),1-11.
- [6] Brooker, S., Peshu, N., Warn, P.A., Mosobo, M., Guyatt, H.L., Marsh, K., Snow, R.W., 1999. The epidemiology of hookworm infection and its contribution to anaemia among pre-school children on the Kenyan coast. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 93, 240-246.
- [7] Calis, J.C., Phiri, K.S., Faragher, E.B., Brabin, B.J., Bates, I., Cuevas, L.E., de Haan, R.J., Phiri, A.I., Malange, P., Khoka, M., Hulshof, P.J., van Lieshout, L., Beld, M.G., Teo, Y.Y., Rockett, K.A., Richardson, A., Kwiatkowski, D.P., Molyneux, M.E., van Hensbroek, M.B., 2008. Severe anemia in Malawian children. *N.E.J.M.* 358, 888-899.
- [8] Catignani, G.L., Bieri, J.G., Bashor, M.M., Turley, C.P., Brewster, M.A., Nichoalds, 1983. Simultaneous determination of retinol and tocopherol in serum or plasma by liquid chromatography (proposed selected method). *Clin. Chem.* 29,708-712.
- [9] Cuvelier, C., Dotreppe, O., Istasse, L., 2003. Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann. Méd. Vét.* 147, 315-324.
- [10] Davis, T.M., Binh, T.Q., Danh, P.T., Dyer, J.R., St John, A., Garcia-Webb, P., Anh, T.K., 1994. Serum vitamin A and E concentrations in acute falciparum malaria: modulators or markers of severity? *Clin. Sci.* 87, 505–51.
- [11] Eaton, J.W., Eckman, J.R., Berger, E., Jacob, H.S., 1976. Suppression of malaria infection by oxidant-sensitive host erythrocytes. *Nature.* 264, 758–760.
- [12] Filteau, S.M., Morris, S.S., Abbott, R.A., Tomkins, A.M., Kirkwood, B.R., Arthur, P., Ross, D.A., Gyapong, J.O., Raynes, J.G., 1993. Influence of morbidity on serum retinol of children in a community-based study in northern Ghana. *Am. J. Clin. Nutr.* 58, 192–197
- [13] Griffiths, M.J., Ndungu, F., Baird, K.L., Muller, D.P., Marsh, K., Newton, C.R., 2001. Oxidative stress and erythrocyte damage in Kenyan children with severe Plasmodium falciparum malaria. *Br. J. Haematol.* 113(2), 486-91.
- [14] Hodges R.E., Sauberlich H.E., Mohanram M., 1978. Hematopoietic studies in vitamin A deficiency. *Am. J. Clin. Nutr.* 31, 876-885.
- [15] Holgrem, A., 2003. Redox regulation of genes and cell function. In : Critical review of oxidative stress and aging. Vol II RG Cutler and H Rodriguez Eds. World Scientific. pp 102-111.
- [16] Levander, O.A., Ager, A.L.J., Morris, V.C., May, R.G., 1989. Qinghaosu, dietary vitamin E, selenium, and cod-liver oil: effect on the susceptibility of mice to the malarial parasite Plasmodium yoelii. *Am. J. Clin. Nutr.* 50, 346–352.
- [17] Miguel, A.S.J., Malcom, E.M., 2009. Malaria and vitamin A deficiency in African children: a vicious circle? *Malaria J.* 8,134.
- [18] Miltra, A.K., Alvarez, J.O., Stephensen, C.B., 1998. Increased urinary retinol loss in children with severe infections. *Lancet.* 351, 1033-1034.
- [19] Mizuno, Y., Kawazu, S.I., Kano, S., Watanabe, N., Matsuura, T., Ohtomo, H., 2003. In-vitro uptake of vitamin A by Plasmodium falciparum. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 97, 237-243.

- [20] Mouchet, J., Carnevale, P., Coosemans, M., Julvez, J., Manguin, S., Richard-Lenoble, D., Sircoulon, J., 2004. Biodiversity of malaria in the World : E. J. L. 420 p.
- [21] Muller, S., Kappes, B., 2007. Vitamin and co-factor biosynthesis pathways in Plasmodium and other apicomplexan parasites. *Trends Parasitol.* 23(3), 112-121.
- [22] Nzeyimana, I., Henry, M.C., Dossou, Y. J., Doannio, J.M.C., Diawara, L., Carnevale, P., 2002. Epidémiologie du paludisme dans le sud-ouest forestier de la Côte d'Ivoire (région de Taï). *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 95, 89-94.
- [23] Omer, F.M., Kurtzhals, J.A., Riley, E.M., 2000. Maintaining the immunological balance in parasitic infections: a role for TGF-beta? *Parasitol. Today Personal ed.* 16, 18-23.
- [24] Osey, A.K., Hamer, D.H., 2008. Prise en charge du paludisme pédiatrique: rôle des interventions nutritionnelles. *Ann. Nestlé.* 66, 31-47.
- [25] Owuor, E.D., Kong, A.N., 2002. Antioxidants and oxidants regulated signal transduction pathways. *Biochem. Pharmacol.* 64, 765-770.
- [26] Rosales, F.J., Ritter, S.J., Zolfaghari, R., Smith, J.E., Ross, A.C., 1996. Effects of acute inflammation on plasma retinol, retinol-binding protein, and its mRNA in the liver and kidneys of vitamin A-sufficient rats. *J. Lipid Research.* 37, 962-971.
- [27] Ross, A.C., Gardner, E.M., 1994. The function of vitamin A in cellular growth and differentiation, and its roles during pregnancy and lactation. *Advances in experimental medicine and biology.* 352, 187-200.
- [28] Semba R.D., Bloem M.W., 2002. The action of vitamin A deficiency: epidemiology and pathogenesis. *Eur. J. Clin. Nutr.* 56, 271-81.
- [29] Serghides, L., Kain, K.C., 2001. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma-retinoid X receptor agonists increase CD36-dependent phagocytosis of Plasmodium falciparum-parasitized erythrocytes and decrease malaria-induced TNF-alpha secretion by monocytes/macrophages. *J. Immunol.* 166, 6742-6748.
- [30] Serghides, L., Kain, K.C., 2002. Mechanism of protection induced by vitamin A in falciparum malaria. *Lancet.* 359, 1404-1406.
- [31] Serjeant, G.R., Grandison, Y., Mason, K., Serjeant, B., Sewell, A., Vaidya, S., 1980. Haematological indices in normal negro children: a Jamaican cohort from birth to five years. *Clin. Lab. Haematol.* 2, 169-178.
- [32] Shankar, A., 2001. Nutritional modulation of immunity and infection. In: Present knowledge in nutrition. Edited by Bowman BA RR, 8<sup>th</sup> edn. Washington, DC. International Life Sciences Institute Press.
- [33] Stephensen, C.B., Alvarez, J.O., Kohatsu, J., Hardmeier, R., Kennedy, J.I., Gammon, R.B., 1994. Vitamin A is excreted in the urine during acute infection. *Am. J. Clin. Nutrition.* 60, 338-392.
- [34] Stephensen, C.B., 2001. Vitamin A, infection, and immune function. *Ann. Rev. Nutrition.* 21, 167-192.
- [35] Thurnham, D.I., Singkamani, R., 1991. The acute phase response and vitamin A status in malaria. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 85, 194-199.
- [36] Ukaejiofo, E.Q., Iaacs-Sodeye, Wa., Adiguin, E.S, Padeola, A., 1979. Normal haematological values in adult Nigerians. *Niger. Med. J.* 9, 117-119.
- [37] UNESCO, 2003. Trace elements, minerals and vitamins: news functional and chemical in human. *News of trace elements.* 10: 30
- [38] Villiamor, E., Fawzi, W.W., 2005. Effects of vitamin a supplementation on immune responses and correlation with clinical outcomes. *Clinical microbiology reviews.* 18, 446-464.

## **ABSTRACT :**

Given the important role and the positive effects of micronutrients, 262 children aged between 2 and 14 years and living in high malaria endemic zone in Côte d'Ivoire were investigated. The topic was to evaluate the influence of parasitaemia, pathological states of red blood cells and blood platelets during *falciparum* malaria on the blood rate of five micronutrients: trace elements (iron, copper and zinc) and vitamins (A, E). Malaria diagnosis was based on clinical grounds as the feverish condition (axillary temperature  $\geq 37^{\circ}\text{C}$ ) and confirmed by laboratory test. The analysis of hematological parameters has been determined by automated analyzer labeled SEAC<sup>TM</sup>. Atomic absorption spectrometry (AAS) was used to determine serum trace elements concentrations and Liquid Chromatography for the study of serum vitamins A and E. Percentages of micronutrients reduction in children suffering from *falciparum malaria* compared to control population have been calculated by the ratio. With a prevalence of malaria about 55,55% observed, the outcomes showed that the levels of trace elements and vitamins in patient's serum were very significantly lower than that of the control population children according to parasitaemia, and pathological states of blood platelets and red blood cells during *falciparum malaria* ( $p < 0.001$ ). Generally, percentages of trace elements and vitamins reduction in patients presented a mean higher than 50%. *Falciparum malaria* has a damageable effect on the quantity of these micronutrients in children living in Côte d'Ivoire. Given the implication of these micronutrients in parasite infection, it is interesting in malaria-endemic area to pay attention by checking of their food intake.

**Key words:** *Falciparum malaria*, trace elements, vitamins A and E, children, Côte d'Ivoire

## **RESUME :**

Etant donné l'importance et le rôle bénéfique des micronutriments, 262 enfants âgés de 2 à 14 ans vivant en zone endémique palustre de la Côte d'Ivoire nous ont intéressés dans notre étude. Il a été question d'étudier l'influence de la parasitémie et des états pathologiques des plaquettes et des globules rouges associés à cette infection sur les quantités sériques de cinq micronutriments : les oligoéléments (fer, cuivre et zinc) et les vitamines (A, E). Le diagnostic du paludisme s'est fait par les tests cliniques (température axillaire  $\geq 37^{\circ}\text{C}$ ) et confirmé par le test au laboratoire. L'analyse des paramètres hématologiques a été déterminée par un analyseur automatique de type SEAC<sup>TM</sup>. La spectrométrie d'absorption atomique (SAA) a été utilisée pour évaluer les taux sériques des oligoéléments et la chromatographie liquide à haute performance pour l'étude des vitamines A et E. Les pourcentages de réduction des micronutriments chez les enfants paludéens ont été évalués par rapport aux témoins par le calcul du ratio. Avec une prévalence de paludisme estimée à 55,55%, les résultats ont montré une baisse très significative des concentrations sériques des oligoéléments et vitamines chez les sujets paludéens par rapport aux témoins selon la parasitémie, et les états pathologiques des plaquettes et globules rouges associés au paludisme à *falciparum* ( $p < 0,001$ ). Les pourcentages de réduction des oligoéléments et vitamines chez les patients ont présenté dans l'ensemble une hausse de plus de 50%. Le paludisme due à *P. falciparum* exerce un effet dommageable sur les quantités de ces micronutriments chez les enfants ivoiriens. Vu l'implication de ces micronutriments dans l'infection du parasite, il est important en zone endémique d'y accorder une attention particulière en contrôlant notre alimentation.

**Mots clés :** Paludisme à *falciparum*, oligoéléments, vitamines A et E, enfants, Côte d'Ivoire