

Ministère de l'Enseignement Supérieur
Et de la Recherche Scientifique

REPUBLIQUE DU MALI

UN PEUPLE - UN BUT - UNE FOI

**UNIVERSITE DES SCIENCES DES
TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES
DE BAMAKO**



U.S.T.T-B

ANNEE UNIVERSITAIRE 2021-2022



**FACULTE DE MEDECINE ET
D'ODONTO-STOMATOLOGIE**

N°.....

THESE

**EVALUATION DES NORMES BIOLOGIQUES DES
ADULTES A BAMAKO DANS LES PERSPECTIVES
D'UN ESSAI CLINIQUE DE CANDIDAT VACCIN
CONTRE LE PALUDISME.**

Présentée et soutenue publiquement le 16/06/2022 devant la
Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie.

Par : M. Issiaka SACKO

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine
(Diplôme d'État).

Jury

Président : Pr Mahamadou Ali THERA
Membre : Dr Mahamadou Soumana SISSOKO
Membre : Dr Amatigué ZEGUIME
Co- Directeur : Pr Karim TRAORE
Directeur : Pr Agrégé Abdoulaye Kassoum KONE



**DEDICACES ET
REMERCIEMENT**

Dédicaces

Je dédie ce travail

ALLAH AZAWADJAL Le Tout Puissant, le Tout Clément, l'Omniscient, l'Omnipotent, le Tout Sachant, le Tout miséricordieux, le Très miséricordieux, Celui qui subsiste par Lui-même de m'avoir prêté une longue vie pour élaborer ce travail, de m'avoir donné le courage et la santé nécessaires pour y parvenir. Puisse-t-Il continuer à nous assister, nous protéger et guider nos pas pour des siècles et des siècles et par la suite nous accorder une meilleure fin afin d'accéder à son Paradis éternel. Amen Au Prophète MOHAMED « Paix et salut d'ALLAH sur Lui » de nous avoir montré que la connaissance précède l'adoration et également de nous avoir montré la voie pour atteindre ALLAH. « J'atteste qu'il n'y a de DIEU qu'ALLAH et que MOHAMED (PSL) est Son Messager » et j'atteste qu'il a bien transmis Son Message.

A mon Père Karim Sacko

Vous êtes à l'origine de ce que je suis aujourd'hui car vous avez suivi du début jusqu'à maintenant, vous m'avez appris le sens de l'honneur, de la dignité, de l'humilité, de la justice et du pardon. Sachez que je ferais tout pour être le fils que vous avez toujours voulu que je sois et que vous soyez fier de moi. Je prie le bon dieu de vous accorde une longue vie dans la sante. Amen

A mes mères Mariam Sacko et Fatou Coulibaly

Ce travail est le couronnement de votre patience, votre endurance mais surtout de votre bonne foi envers les autres. Vos affections, amours, conseils et dévouements pour la réussite de vos enfants n'ont jamais fait défaut, ce travail est le vôtre. Que le Bon Dieu te garde encore longtemps auprès de nous dans la meilleure santé et dans le bonheur. Amen

A mes frères et Sœurs : Sékou, Aboubacar, Mahamadou, Abdoul A, Ibrahim et Kadidiatou

Je suis conscient de la fierté et la confiance dont vous affichez à mon égard, je vous donnerai toujours le meilleur de moi.

- A la mémoire de mon Maitre du collègue et des amis, feus Oumar Coulibaly, Badra Ali Samaké, Abdramane Y Cissé, Bakary Camara :

J'aurai tant aimé que vous soyez avec moi pour cette occasion mais le destin en a décidé autrement et vous resterez à jamais dans mon cœur. Dormez en paix que le Bon Dieu vous accueille dans son paradis. Amen !

REMERCIEMENTS

A ma chère patrie, le MALI (Un Peuple-Un But-Une Foi) :

En cette période difficile suite à l'insécurité grandissante et au terrorisme, je prie pour que la paix, la stabilité et le bien-être collectif qui étaient les tiennes te reviennent

A tous mes enseignants du primaire, du secondaire ainsi que du lycée, Au corps professoral de la faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie, Pour m'avoir aidé et soutenu à parcourir ce long chemin, je vous remercie tous pour vos efforts. Votre soutien et votre confiance en moi ont été sans faille, ce travail est le vôtre.

A ma Famille, SACKO : L'un des motifs de satisfaction pour les membres d'une famille est de voir réussir l'enfant qu'ils ont vu naître et grandir. Ce travail est le vôtre. En témoignage de mon respect et de mon profond attachement, je souhaite qu'Allah nous garde uni dans la paix.

A mes Oncles, Tantes, Cousins et Cousines

Aux personnels du MRTC/DEAP/BMP : particulièrement Pr Mahamadou A Théra, Pr Abdoulaye K Koné, Pr Karim Traoré, Dr Amadou Niangaly, Dr Souleymane Dama, Ismaël Théra, Sekouba Mariko, Niaré et Haby j'ai été touché par la bienveillance et la sympathie avec lesquelles vous m'avez accueilli et enseigné. Veuillez accepter ma profonde gratitude pour l'aide considérable que vous m'avez apportée.

Dr Drissa Coulibaly : cher Maître, mes sincères remerciements pour votre extrême courtoisie, vos enseignements, votre disponibilité et vos multiples conseils qui m'ont été d'un grand soutien. Puisse Allah vous le rendre. Amen

A mes ami(es) et Aînés : Dr Sidiki Diawara, Dr Cheick Oumar Coulibaly, Dr Oumar Dembélé Dr Moussa S Camara, Dr Seydina Oumar Maguiraga, Dr Birama Sangaré, Dr Ousmane N'Diaye, Dr Salif Thiam, Dr Ahmed Konaté, Dr Souleymane Magassouba, Dr Aichata Dao, Kaou Bathily, Dr Mohamed Dramé, Dr El Hadj Mahamane Maiga, Dr Hamady Sissoko, Aichata Doucouré, Oumar Souaré, Fatoumata Théra, Souleymane Babouya, Dr Mahamadou Ouédraogo.

Au personnel du Cabinet'' LA REFERENCE''.

A l'Association des Etudiants Soninké et Sympathisants du Mali :

Merci à vous pour l'accueil et ces merveilleux moments partage ensemble.

A la 11è promotion du numerus clausus feu ''Pr Gangaly Diallo'' Merci pour les moments passés ensemble, pour votre aide et soutien. A tous mes collègues de cette promotion qui sont décédés que vos âmes reposent en paix. Amen !

Au LEO clubs du Mali particulièrement Bamako Kéléyan : merci pour ces moments de joies, d'entraide, de partage aux nécessités.

A la Renaissance Convergence Syndicale ma lère la famille à la faculté merci pour ces merveilleux moments et surtout de m'avoir donné la chance ce de Codirigé le sous-groupe le plus dynamique de la faculté "LES EXPERTS".

Autres :

A tous ceux que je n'ai pas pu citer et qui me sont chers. Cela est loin d'être une volonté délibérée de ma part et n'altère en rien au fait que je vous porte dans mon cœur. Veuillez donc m'en excuser.



**HOMMAGES AUX MEMBRES
DU JURY**

A notre Maître et Président du jury

Pr Mahamadou Ali Thera MD, PhD, MPH

- Professeur Titulaire de parasitologie-mycologie médicale à la FMOS
- Membre de l'académie des sciences du Mali
- Membre de l'académie africaine des sciences
- Chevalier de l'ordre national du Mali
- Directeur scientifique du Bandiagara Malaria Project (BMP)

Cher maitre, permettez-nous de vous remercier de l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de présider ce jury. Nous avons beaucoup admiré vos immenses qualités humaines, sociales et scientifiques tout au long de ce travail. Vous avez cultivé en nous, le sens du travail bien fait. Votre simplicité, votre disponibilité, votre rigueur, votre dynamisme font de vous un maître apprécié de tous. Trouvez ici, cher maître l'expression de notre profonde gratitude et de notre indéfectible disponibilité.

A notre Maître et Juge :

Professeur Mahamadou Soumana Sissoko MD, MSPH, PhD

- Maître de recherche à la Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie (FMOS) et à la Faculté de Pharmacie (FAPH),
- Médecin chercheur au MRTC/DEAP/FMOS/FAPH,
- Directeur adjoint du MRTC-Parasitologie

Cher Maître, nous sommes très heureux de votre présence dans ce jury. Vous nous avez honorés par la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail. Votre désir profond de valoriser la profession fait de vous un homme respectable. Recevez ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

A notre Maître et Juge

Dr Amatigué ZEGUIME, PharmD

- Lab. manager du MRTC Clinical laboratory (CAP-Lab.) au MRTC/DEAP
- Pharmacien chercheur au MRTC/DEAP.

Nous vous remercions vivement pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail. Nous sommes très sensibles à votre gentillesse et à votre profond humanisme.

Que ce travail soit pour nous l'occasion de vous exprimer notre admiration ainsi que notre gratitude.

Veillez croire, cher Maître, en nos sentiments les plus respectueux.

A notre Maître et Co-directeur de Thèse

Pr Karim Traoré, MD, DES, PhD

- Maître de Recherche, parasitologie-Mycologie médicale à la FMOS
- DES en maladies infectieuses et tropicales
- Master en anthropologie biologique-Ethique

Cher Maître, ce travail est avant tout le fruit de vos efforts. Nous avons apprécié vos qualités humaines et scientifiques tout au long de ce travail. Votre disponibilité constante ; votre simplicité, votre amour pour le travail bien fait et surtout votre patience font de vous un maître respectable et admiré. Merci pour votre soutien et les conseils que vous nous avez prodigués. Permettez-nous cher maître de vous adresser l'expression de notre profond respect et de nos sincères remerciements.

A notre maitre et directeur de Thèse

Pr agrégé Abdoulaye Kassoum Koné MD, PhD

- Professeur agrégé de Parasitologie-Mycologie à la FMOS
- Responsable adjoint de l'unité de diagnostic des parasitoses au MRTC
- Enseignant-chercheur à la FMOS

Cher Maître, Vous nous avez fait un immense honneur en nous acceptant dans votre équipe de recherche médicale. Nous vous remercions de la confiance que vous nous avez placée en nous proposant ce travail. Tout au long de ce travail nous avons apprécié vos grandes qualités scientifiques et humaines, vos enseignements et surtout votre sens élevé de la responsabilité et de la rigueur dans le travail. Vous nous avez cultivé l'esprit d'équipe, l'endurance, la persévérance, le travail bien fait et surtout la patience. Que ce travail soit pour nous le moyen de vous exprimer une fois de plus notre disponibilité et notre haute considération.

Sigles et abréviations

ALAT : Alamine amino-transférase

ASAT : Asparagine amino-transférase

CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

CK : Créatine kinase

CLSI : Clinical laboratory standard institut

DEAP : Département d'épidémiologie des affections parasitaire

GGT : Gamma glytanyl transférase

HCG : Hormone gonadotrophine chorionique

HK : Hexokinase

IC : Intervalle de confiance

ICH/GCP : Conférence internationale d'harmonisation/Bonne pratique clinique

MRTC: Malaria research and training center

NAC : N-acetyl cystéine

NADP : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NFS : Numération formule sanguine

OMS : Organisation mondiale de la santé

PCR : Polymerase chain réaction

QBC : Quantitative Buffy coat

QS 21 : Quillaja saponaria

TCMH : Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine

WHO: World health organization

Table des matières

I.	Introduction.....	16
II.	Objectifs de l'étude	19
1.	Objectif général.....	19
2.	Objectifs spécifiques	19
III.	Généralités :.....	21
1.	Chapitre sur les normes	23
2.	Types de vaccins antipaludiques.....	25
3.	Développement clinique d'un vaccin antipaludique	28
4.	Explorations de laboratoire couramment utilisé dans l'essai cliniques pour l'évaluation de l'innocuité et la tolérance des produits d'investigation	
IV.	Méthodologie.....	48
1.	Cadre d'étude :.....	48
2.	Type et période d'étude	48
3.	Population d'étude	48
4.	Taille de l'échantillon	48
5.	Critères d'inclusion et d'exclusion	49
6.	Technique de laboratoire	49
7.	Collecte et gestion des données	50
8.	Considérations éthiques.....	51
V.	Résultats.....	53
1.	Caractéristiques sociodémographiques des participants	53
2.	Caractéristiques biologiques des participants.....	54
3.	Intervalles de référence des paramètres biologiques	61
VI.	Commentaires et Discussion.....	68

EVALUATION DES NORMES BIOLOGIQUES DES ADULTES A BAMAKO DANS LES PERSPECTIVES D'UN
ESSAI CLINIQUE DE CANDIDAT VACCIN CONTRE LE PALUDISME.

VII. Conclusion.....	73
VIII. Recommandations	75
IX . Références bibliographiques	77

TABLES DES ILLUSTRATIONS

Tableau I : Répartition selon les caractéristiques sociodémographiques des participants	534
Tableau II : Distribution des valeurs hématologiques par sexe.....	55
Tableau II : Distribution des valeurs hématologiques par sexe (Suite)	56
Tableau II: Distribution des valeurs hématologiques par sexe (Suite)	57
Tableau III: Distribution des valeurs biochimiques par sexe	58
Tableau III: Distribution des valeurs biochimiques par sexe (Suite).....	59
Tableau IV: Distribution des valeurs de l'ionogramme par sexe	60
Tableau V : Intervalles de référence des paramètres hematologiques.....	62
Tableau V: Intervalles de référence des paramètres hematologiques (Suite)	63
Tableau V: Intervalles de référence des paramètres hematologiques (Suite)	64
Tableau VI: Intervalles de référence des paramètres biochimiques	65
Tableau VI: Intervalles de référence des paramètres biochimiques(Suite)	66
Tableau VII : Comparaison des valeurs hématologiques avec celles d'autres études...72	
Tableau VIII : Comparaison des valeurs biochimiques avec celles d'autres études...73	



INTRODUCTION

I. Introduction

Le paludisme reste une préoccupation majeure dans le monde et dans les pays au sud du Sahara en particulier. D'après le dernier rapport, le nombre de cas de paludisme a été estimé à 241 millions en 2020 contre 227 millions en 2019, soit une hausse de près de 14 millions de cas. Près de 95 % des cas de paludisme ont été enregistrés dans la région Afrique de l'OMS. (1). En plus des stratégies thérapeutiques et de prévention actuellement mis en œuvre, le développement de vaccins antipaludiques efficace et bien tolérés reste une voie privilégiée pour l'élimination du paludisme. Les études de Phase I ont pour but d'évaluer la tolérance et la réponse immune induite par le candidat vaccin. Tous les essais cliniques doivent répondre aux standards réglementaires des bonnes pratiques cliniques telles que définis par la conférence internationale de l'harmonisation (ICH/GCP). Selon les principes de ICH/GCP, l'objectif d'un essai de phase I est de montrer la tolérance d'un produit expérimental chez l'être humain. Cela passe par diverses évaluations cliniques et de laboratoires chez les sujets soumis au produit expérimental. Cette évaluation est toujours faite selon des valeurs de références prédéfinies. Pour une mesure précise de la toxicité potentielle d'un candidat vaccin sur le tissu hématopoïétique et d'autres organes, il est nécessaire d'avoir comme base de mesure, la distribution normale dans la population locale de paramètres tel le taux d'hémoglobine, le nombre de leucocytes, les plaquettes sanguines, le taux de la créatinine sérique, le niveau sérique des enzymes hépatiques. L'expérience des études pré cliniques et des essais précédents de vaccins antipaludiques a montré que les modifications de ces paramètres biologiques reflètent le niveau de toxicité des candidats vaccins. Au Mali et dans la majorité des pays d'Afrique de l'Ouest, les références des paramètres biologiques que les laboratoires utilisent proviennent de données récoltées en Europe ou en Amérique (1).

L'application des normes biologiques universelles à toutes les populations a toujours été problématique. En effet, la diversité de l'espèce humaine se caractérise aussi par une variabilité biologique plus ou moins importantes selon la population étudiée. Les conditions environnementales et socioculturelles pourraient constituer des déterminants importants de cette variabilité.

Les essais de phase I portent sur les volontaires sains. Il est indispensable de disposer des valeurs normales locales des paramètres biologiques non seulement pour évaluer la tolérance du candidat vaccin, mais aussi pour un choix approprié des critères d'inclusion et d'exclusion qui permettent de dépister les sujets les plus aptes à être inclus dans l'étude.

**EVALUATION DES NORMES BIOLOGIQUES DES ADULTES A BAMAKO DANS LES PERSPECTIVES D'UN
ESSAI CLINIQUE DE CANDIDAT VACCIN CONTRE LE PALUDISME.**

Dans le cadre de la conduite d'essais cliniques précédents de phase I, le MRTC a réalisé des études de détermination des normes biologiques chez les enfants et les adultes à Donéguébougou et à Bandiagara (2). Ces normes, ainsi que d'autres décrites par d'autres équipes au Mali, dans d'autres pays ont permis de confirmer une variabilité inter et intra-populationnelle des normes biologiques (3–6) . Ces normes ont servi de références pour les paramètres biologiques dans la conduite de plusieurs essais cliniques dans ces localités, mais également dans les soins thérapeutiques dans certaines communautés (7). Pour une meilleure évaluation de la tolérance biologique des produits dans les essais cliniques de phase I et d'assurer une meilleure protection des volontaires, il est nécessaire de déterminer la distribution des normes biologiques dans chaque population cible de la zone d'étude avant d'implémenter les essais.

Cette étude rentre dans ce cadre en en vue d'un essai de vaccin antipaludique.



OBJECTIFS

II. Objectifs de l'étude

1. Objectif général

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer les paramètres biologiques chez les adultes maliens vivant à Bamako,

2. Objectifs spécifiques

- Déterminer la distribution des paramètres hématologiques dans la population des adultes vivant à Bamako ;
- Déterminer la distribution des paramètres biochimiques dans la population des adultes vivant à Bamako.
- Déterminer les références hématologiques et biochimiques pour la population d'adultes sains à Bamako
- Etablir le seuil/grade de toxicité des paramètres biologiques.



GENERALITES

III. Généralités :

1. Chapitre sur les normes

L'aide à l'interprétation des examens de biologie médicale est l'une des préoccupations majeures des biologistes médicaux, notamment dans le cadre de la phase post-analytique.

La présentation des comptes rendus de laboratoire revêt donc une importance toute particulière : la mention d'intervalles de références dûment validés en regard de chaque résultat quantitatif peut aider les cliniciens (et les biologistes) à interpréter ces comptes rendus. Le concept de valeurs de référence a été conçu dans les années 1970 par un groupe scandinave puis développé et complété par de nombreux travaux de sociétés nationales (française et espagnole), ainsi qu'à l'échelon international, notamment au sein de l'IFCC-LM et du NCCLS aux États-Unis au cours des années 1980. Des documents issus d'organismes publics ou de normalisation ont institutionnalisé ces recommandations issues des sociétés savantes. Ainsi le GBEA et la norme ISO 15189 pour les laboratoires de biologie médicale et la directive 98/79/CE pour les industriels du diagnostic in vitro, prescrivent à des titres divers l'utilisation ou la mention de limites de références sur les comptes rendus d'analyse et sur les notices des réactifs de laboratoire. Les publications élaborées au cours de ces dernières décennies avaient en partie vieilli et ne correspondaient pas toujours aux besoins exprimés par les professionnels. Un groupe de travail commun au Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) et à l'International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC-LM) a donc révisé les documents publiés précédemment. Un document commun a été publié sous le titre « Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical laboratory: Approved Guideline-Third Edition – C28-A3 11 ».

Les définitions qui suivent ont été approuvées par la Fédération internationale de chimie clinique et de médecine de laboratoire (IFCC-LM), l'International Council for Standardization in Haematology (ICSH) ainsi que par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), puis par le CLSI. Elles ont été reprises intégralement dans le dernier document publié conjointement par l'IFCC et le CLSI

– Valeur observée : valeur d'un analyte, obtenue par une observation ou une mesure d'un sujet à tester, qui doit être comparée à des valeurs de référence, une distribution de référence, des limites de référence ou un intervalle de référence ;

- Distribution de référence : la distribution des valeurs de référence ;
- Individu de référence : une personne sélectionnée sur la base de critères bien définis ;
- Population de référence : un groupe constitué de tous les individus de référence ;
- Intervalle de référence : l'intervalle entre deux limites de référence (celles-ci incluses) par exemple l'intervalle à 95 % d'hommes apparemment en bonne santé de 18 à 65 ans ;
- Limites de référence : une valeur dérivée de la distribution de référence et utilisée dans un but descriptif ;
- valeurs de référence : la valeur obtenue par l'observation ou la mesure d'une quantité définie sur un individu de référence

L'intervalle de référence correspond à l'intervalle spécifié de la distribution des valeurs obtenues à partir de populations de sujets sains. Il est généralement défini pour un intervalle correspondant à 95 % de la population, centré sur la médiane. Il peut varier en fonction du type d'échantillon primaire retenu et de la méthode utilisée. Dans certains cas, une seule limite de référence peut être retenue, habituellement une limite supérieure. La détermination de l'intervalle de référence repose sur des calculs statistiques. Il est purement descriptif d'une population

Les limites de référence (définissant un intervalle de référence) sont associées à une population de référence bien définie, généralement constituée de personnes en bonne santé. Elles permettent de comparer une valeur observée (un résultat de patient) aux données de référence obtenues à partir de ce groupe de sujets bien définis. Elles constituent un des éléments contributifs à la prise de décision médicale en tenant compte des spécificités propres à la personne examinée. Les limites de référence sont descriptives d'un état de santé donné et peuvent, parfois, dans des conditions bien définies servir de limites de décision. Les limites de décision médicales sont utilisées par le clinicien comme un seuil en-dessous ou au-dessus duquel une action médicale est recommandée. Alors que les limites de référence sont généralement au nombre de deux (limites supérieure et inférieure), le nombre de limites de décision est variable suivant l'examen de laboratoire concerné et le contexte clinique. Elles reposent sur une évaluation clinique et sont établies soit par des méthodes statistiques (par ex. : méthode bayésienne), soit à partir d'études épidémiologiques ou enfin, très fréquemment, par consensus. Dans certains cas, pour quelques analytes, les limites de référence sont remplacées par des limites de décision établies par un

consensus national ou international (ex. : cholestérol total, hémoglobine glyquée...). Pour ces analytes, il est inutile de déterminer des limites de référence ou de valider celles de la littérature. Enfin, on gardera à l'esprit que la comparaison d'un résultat de laboratoire à une limite de référence ou de décision n'est pas la seule voie d'interprétation d'un examen de biologie médicale : comme l'a rappelé à nouveau Dalton à propos de la mesure de la créatinine sérique (mais cette réflexion vaut également pour de multiples autres analytes), une variation même faible d'une valeur observée (même à l'intérieur de l'intervalle de référence) peut avoir une signification physiopathologique (soit pour le diagnostic, soit pour le monitoring d'un traitement ou encore la prévention) (8).

2. Types de vaccins antipaludiques

Il existe différents types de vaccins antipaludiques

2-1- Les Vaccins pré-érythrocytaires ou hépatiques

Pendant le stade hépatique, le parasite mûrit dans les hépatocytes. Une immunité à médiation cellulaire (la réponse Th1) est donc pensée comme critique. Cela implique des lymphocytes qui peuvent alors cibler et détruire les cellules du foie infectées, détruisant ainsi les parasites se développant. L'immunité spécifique envers les stades hépatiques ne peut être réalisée que par une action coordonnée des cellules T CD8 et des anticorps spécifiques, qui collaborent avec les cellules Natural killer (NK) et les macrophages (MA). L'interféron-gamma (IFN- γ) y joue un rôle important (9).

Puisque les antigènes du stade hépatique peuvent être exposés relativement longtemps, augmentant avec l'exposition à l'infection naturelle, ils peuvent renforcer la réponse immune du vaccin (10).

Les vaccins dirigés contre le stade pré-érythrocytaire ont pour objectif de prévenir l'infection des hépatocytes et/ou de détruire les hépatocytes infectés. Les mécanismes immunitaires effecteurs comprennent des anticorps contre la surface du sporozoïtes et l'IFN- γ produit par des cellules CD8+ et T CD4+. Les bénéficiaires principaux sont les enfants dans les zones endémiques, les voyageurs et les résidents non immuns de zones à faible transmission. Des candidats vaccins de ce type tels que Mosquirix, GSK vaccines et PfSPZ sont en cours de développement.

Le Mosquirix, GSK vaccines est constitué de particules chimériques contenant l'antigène HBs (antigène S de l'hépatite B) et une portion de la protéine circumsporozoïtaire (CSP) fusionnée à cet antigène.

D'autres antigènes comme la LSA1, LSA3, PfEXP1, STARP, SALSA et TRAP/SSP2 sont aussi inclus dans des vaccins contre les stades pré-érythrocytaires en cours de développement (10).

2-2- Les Vaccins érythrocytaires

Pendant le stade érythrocytaire, le parasite est caché dans les globules rouges. Puisque les globules rouges n'expriment pas les molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité I ou II, la réaction immunitaire est à la charge des anticorps et les processus associés.

Par exemple, la médiation cellulaire cytotoxique dépendante des anticorps et le complément lytique pourraient jouer un rôle dans l'élimination des globules rouges infectés (10).

Les vaccins dirigés contre le stade sanguin asexué ont pour objectif de réduire le niveau de la parasitémie et la maladie. Ils agissent en permettant le blocage de l'infection des hématies avec des anticorps et/ou la destruction des hématies infectées. Leurs bénéficiaires seraient les enfants des zones endémiques. Un exemple de ce type de vaccin est celui basé sur la protéine de surface MSP-1 développé à l'Institut Pasteur de Paris. Il s'agit d'une protéine MSP-119 produite par baculovirus. D'autres vaccins contre les stades asexués érythrocytaires comprennent les antigènes AMA1, GLURP, HRP- 1, MSP1, MSP2, MSP3, RAP- 2, RESA, SERA ou PfEMP1 (10).

Des mécanismes multiples qui pourraient induire une immunité protectrice ont été identifiés, comme les anticorps qui agissent réciproquement avec les récepteurs superficiels des érythrocytes et interdisent leur invasion par les mérozoïtes, les anticorps qui aident à détruire les parasites intra-érythrocytaires par les monocytes, anticorps directement dirigés contre les antigènes de surface des mérozoïtes qui obtiennent une agglutination des mérozoïtes libres et facilitent leur phagocytose, ou les anticorps qui empêchent l'attache d'érythrocytes infectés à l'endothélium vasculaire, pour ne pas mentionner des cytokines comme l'IFN- α , Le TNF- α ou IL-12, qui peuvent obtenir par médiation la mise à mort du parasite. Le défi majeur rencontré par les vaccins qui ont pour but de répondre à ce type de questions est le haut polymorphisme et la variabilité des antigènes du mérozoïte (11).

Des chercheurs s'intéressent de plus près au stade érythrocytaire asexué du parasite de la malaria, qui cause la maladie clinique. L'immunité des stades érythrocytaires est pensée pour être obtenue par médiation par des anticorps qui bloquent l'invasion, opsonisent les érythrocytes infectés ou les

réponses à médiation cellulaire qui éliminent les parasites via une sur-régulation de médiateurs inflammatoires. Ils sont particulièrement intéressés par le rôle que les lymphocytes T CD4 naturels ou induits par le vaccin jouent dans l'immunité à médiation cellulaire.

Ils ont utilisé des modèles de rongeurs pour comprendre les réactions immunitaires à l'infection et la pathologie induite par le stade érythrocytaire du parasite.

Leurs premières études de souris immunisées avec deux des vaccins candidats principaux, MSP1-19 et AMA-1, ont démontré que les cellules T CD4 + sont certainement critiques pour l'induction d'une immunité agissant comme un effecteur (anticorps indépendant) et/ou comme des cellules helper (anticorps dépendant).

2-3- Les Vaccins ciblant le stade sexué du parasite

La réaction immunitaire aux stades sexués dépend du transfert de l'anticorps de l'hôte chez le moustique pendant le repas sanguin. L'anticorps humain neutralise alors les stades sexuels avant qu'il n'ait l'opportunité de mûrir et de se développer en sporozoïte (10).

Des vaccins contre le stade sexué visent à prévenir la transmission par des anticorps pouvant bloquer le développement du parasite chez le vecteur. Les récipiendaires de ces vaccins seraient des populations vivant dans des zones de faible transmission. Ce type de vaccin serait utile en combinaison avec des vaccins ciblant d'autres stades de développement du parasite. Les antigènes susceptibles de susciter la production d'anticorps bloquant la transmission comprennent Pfs230, Pfs48/45, Pfs27/25, Pfs28, Pfs25 et Pfs16 (10).

3 Développement clinique d'un vaccin antipaludique

Le développement clinique d'un vaccin suit une série logique d'évaluations liées les unes aux autres dans un processus itératif qui vise à définir les caractéristiques du produit en termes de tolérance, de réponse immunitaire induite, de schéma de vaccination et d'efficacité. Au terme du développement clinique, le candidat vaccin antipaludique devient un vaccin aux indications précises. Le développement clinique intervient suite aux études sur le modèle animal et représente un parcours de combattant jalonné d'essais cliniques chez l'homme.

Les modèles animaux ne peuvent reproduire de façon satisfaisante l'infection à *P. falciparum*, ni la réponse immune qu'induirait un vaccin chez l'homme (12).

Les conclusions de ces essais ne peuvent être extrapolées à l'homme de façon fiable. Il est impératif que le candidat vaccin antipaludique soit testé sur les sujets à risque de paludisme vivant en zone d'endémie, et qui aussi bénéficieraient le plus du vaccin.

Dans le cas des vaccins des stades sanguins asexués, les essais d'efficacité à petite échelle, conduits en zone de forte incidence du paludisme apparaissent comme le chemin le plus court dans le développement clinique pour arriver à un produit fini et commercialisable (13,14).

Ces essais en zone d'endémie exigent qu'ils y existent des sites capables de les conduire. Les candidats vaccins antipaludiques doivent être rigoureusement évalués. Les études sur l'efficacité et les effets secondaires interviennent avant et après la mise sur le marché du vaccin pour usage. Les évaluations avant la mise sur le marché ("prelicensing vaccine trials") comportent classiquement 3 phases :

3-1- Les Essais de Phase I

Ils correspondent à la première administration du candidat vaccin chez l'homme. Ces essais évaluent la tolérance et l'immunogénicité du candidat vaccin. Le nombre de volontaires est réduit : environ (**n=10-120**) personnes, d'abord chez les adultes puis chez les enfants. En phase I on peut aussi tester différentes doses et différents schémas de vaccination. Les essais en phase I portant sur des participants non exposés au paludisme ont été dénommés essais de phase Ia et ceux chez les participants vivant en zone d'endémie et naturellement exposés au paludisme ont été dénommés essai de phase Ib.

3-2- Les Essais de Phase II

Le but de ces essais est d'établir la preuve de la protection conférée par le candidat vaccin. Un effectif plus important est inclus (**n=200-600**) ; cette phase évalue l'efficacité, l'immunogénicité et continue d'évaluer la tolérance du vaccin. On distingue les essais de phase 2a, où la protection est évaluée suite à « un challenge artificiel » ; c'est-à-dire à une épreuve d'infection expérimentale des participants. Les essais de phase 2b portent sur les populations réellement à risque et exposées à l'inoculum parasitaire naturel.

Dans le processus du développement clinique, la décision critique de poursuivre le développement du vaccin, est pris suite aux résultats obtenus en phase II.

3-3- Les Essais de Phase III

Ils confirment l'efficacité du candidat vaccin qui a donné ses preuves en phase II. Ces essais portent sur un grand échantillon (**n=1200-15000**) Les critères de jugement peuvent comprendre la mortalité liée au paludisme ou l'incidence des formes graves et compliquées. La phase III permet aussi d'évaluer le niveau et la durée de protection, l'importance des effets secondaires dans une plus large population. Les résultats de phase III sont critiques pour l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché.

3-4- Les Essais de phase IV

Ces essais comportent les évaluations après la mise sur le marché ("post-licensing monitoring") du vaccin. Il s'agit non seulement de l'évaluation continue de l'efficacité du vaccin, mais aussi de l'amélioration des pratiques vaccinales et de la détection des effets secondaires rares.

Ils visent à améliorer le mode d'administration, à réduire au maximum les doses, à mettre au point un système de chaîne de froid pratique surtout pour les pays chauds, à rechercher d'autres indications sur le terrain, à mettre au point les grandes lignes opérationnelles pour la conduite des programmes de vaccinations sur le terrain (formation des agents ou des équipes mobiles, instruments utilisés, surveillance et évaluation des programmes de vaccination; améliorer et rationaliser la gestion, extension des zones d'intervention) (15).

3-5- Les Adjuvants vaccinaux

Les adjuvants sont utilisés pour améliorer l'immunogénicité et l'efficacité du vaccin en améliorant la présentation de l'antigène aux cellules immunitaires spécifiques de l'antigène dans le but de conférer une protection à long terme contre les agents pathogènes ciblés.

Les vaccins sont constitués de molécules antigéniques diluées dans un liquide, mais ces antigènes en solution n'induisent pas souvent de réponse immunitaire satisfaisante, surtout quand il s'agit de vaccins atténués qui ne peuvent pas parfaitement imiter une infection naturelle et des vaccins sous-unitaires qui se réduisent parfois à des simples peptides. Les adjuvants sont utilisés comme constituant des vaccins et la plupart des temps ils sont indispensables pour l'installation d'une réponse immune protectrice. L'utilisation des adjuvants dans la formulation des vaccins permet d'obtenir des taux plus élevés d'anticorps avec moins d'antigène.

S'ils sont efficaces, les adjuvants ne sont pas dépourvus d'effets secondaires car ils peuvent être responsables de fièvres, d'une allergie, voire même du déclenchement de maladies auto-immunes. Les chercheurs s'emploient actuellement à utiliser des adjuvants efficaces avec moins d'effets secondaires.

3-6- Quelques adjuvants utilisés

Le QS-21 : Quillaja saponaria 21 (Stimulon™ QS-21 Adjuvant), est un produit naturel dérivé de l'écorce de Quillaja saponaria, une espèce originaire du Chili et de l'Argentine.

L'AS01 : est un système adjuvant vaccinal à base de liposomes contenant deux immunostimulants: le 3- O -désacyl-4'-monophosphoryl lipide A (MPL) et la saponine QS-21.

Le MPL : Monophosphoryl lipide A, est un dérivé du Lipopolysaccharide (LPS) de *Salmonella minnesota* R595

L'hydroxyde d'aluminium AlOOH (**Alhydrogel®**)

Le CPG 7909, constitué d'oligodésoxynucléotides riches en séquences (Cytosine phosphorothioate et Guanine).

4. Explorations de laboratoire couramment utilisées dans l'essai clinique pour l'évaluation de l'innocuité et la tolérance des produits d'investigation

4-1 L'Hémogramme (16)

Appelé aussi Numération Formule Sanguine (NFS), l'hémogramme permet de comptabiliser les éléments du sang, à savoir les globules rouges (hématies), les globules blancs (leucocytes) et les plaquettes :

- les globules rouges contiennent l'hémoglobine, la protéine de transport de l'oxygène ;

- les globules blancs ont comme fonction principale de protéger l'organisme contre les infections causées par des bactéries, des champignons ou des virus ;
- les plaquettes interviennent quant à elles dans le processus de coagulation en comblant les brèches dans les vaisseaux sanguins abîmés.

L'hémogramme permet une analyse quantitative et qualitative des éléments figurés du sang.

Les techniques de numération des cellules sanguines se fondent sur le comptage direct, au microscope, des globules obtenus dans un volume déterminé de liquide, dilué suivant une proportion connue.

L'hémogramme est de plus en plus réalisé par des automates.

4-1-1 Les Paramètres de l'hémogramme (16–18).

❖ L'analyse quantitative

Mesure quantitative sur les globules rouges et leur contenu :

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

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

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

***L'Hématocrite :**

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

40% à 54% chez l'homme,
35% à 47% chez la femme,
36% à 44% chez l'enfant à partir de 1 an,
44% à 62% chez le nouveau-né.

***Le taux d'hémoglobine :**

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

13 à 18g/100ml chez l'homme,
12 à 16g/100ml chez la femme,
2 à 16g/100ml chez l'enfant (>2ans),
14 à 20g/100ml chez le nouveau-né.

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

Le contenu des globules rouges dépend de la quantité d'hémoglobine synthétisée au cours de l'érythropoïèse et du volume de l'hématie.

On les apprécie essentiellement par le calcul des constantes de Wintrobe :

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

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

Il se fait en divisant le volume globulaire compris dans 1mm³ de sang (fourni par l'hématocrite) par le nombre de globules rouges contenus dans le même volume (fourni par la numération).

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

La normale se situe entre 85 et 95fl. En dessous de 85fl, on parlera de microcytose, au-dessus de 95fl de macrocytose, dans la limite normale de normocytose.

Il existe chez le petit enfant une microcytose (75-80fl) qui semble physiologique.

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

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

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

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

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

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

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

***La numération des réticulocytes :**

Les réticulocytes sont des précurseurs directs des globules rouges qui acquièrent leur maturité 24 heures après leur passage dans le sang périphérique. Ils sont caractérisés par une substance reticulo-filamenteuse qui est mise en évidence après coloration par le bleu de méthylène. La numération se fait sur frottis mince après coloration au bleu de crésyl brillant. Le nombre de réticulocyte est déterminé après un décompte de 1000 GR. La numération des réticulocytes dans le sang permet d'apprécier la production médullaire visant à maintenir un taux normal de GR dans le sang circulant. Elle varie souvent avec l'âge. Ainsi les valeurs normales pour un taux d'hémoglobine normal sont :

Nouveau-né :150.000/mm³ (150.109/l)

Enfant : 10.000 à 100.000/mm³ (10 à 100.109/l)

Adulte : 25.000 à 100.000/mm³ (25 à 100.109/l)

Étude quantitative des globules blancs :

Les globules blancs ou leucocytes sont des cellules mobiles possédant tous des organites fondamentaux des cellules animales et qui jouent le rôle de défense de l'organisme. Le comptage des globules blancs est fait sur le même prélèvement que les globules rouges et par le même appareil. Les valeurs normales sont de 4 à 10000/mm³ chez l'adulte.

Étude quantitative des plaquettes

Ce sont des petites cellules de 2 à 4µm de diamètre, anucléés dans lesquelles on distingue seulement quelques granulations colorées. Les plaquettes sont les principaux acteurs de l'hémostase primaire. Les compteurs électroniques les plus perfectionnés assurent simultanément sur le même prélèvement des comptes de globules rouges, des globules blancs et des plaquettes. L'intervalle de variation normale est très large de 150000 à 450000 par mm³.

❖ Analyse qualitative

Elle est réalisée en étalant une fine goutte de sang environ 10µl sur une lame de verre et en l'examinant au microscope après coloration. Le colorant le plus utilisé est le May-Grunwald-Giemsa. Cet examen au microscope permet d'étudier la morphologie des hématies et de faire la « formule sanguine ».

Elle permet en outre de différencier les lymphocytes, les monocytes, les polynucléaires neutrophiles, basophiles, et éosinophiles et cellules immatures éventuelles.

4-2 Les Analyses Biochimiques (19).

Il s'agit d'un ensemble de procédures chimiques permettant d'estimer les quantités des constituants des liquides biologiques (sang, urines, épanchements, sécrétions, etc..). La plupart des maladies ont en effet des répercussions sur leur composition et leur étude peut aider au diagnostic et au suivi de nombreuses maladies.

4-2-1 Les Transaminases Hépatiques

La fonctionnalité du foie peut être mesurée par les enzymes appelés transaminases (ASAT-ALAT) qui sont des enzymes importants de l'organisme dont le rôle est de transférer un groupe amine lors de nombreux processus chimiques se déroulant au niveau hépatique (19).

Ils catalysent en présence d'une coenzyme, le pyridoxal-5-phosphate, le transfert des groupes d'alpha – aminés de l'acide - aspartique ou de l'alanine sur le groupe alpha-cétonique de l'acide - céto glutarique pour produire l'acide oxaloacétique et l'acide pyruvique.

Nous avons donc :

L'Alanine Amino-Transférase (ALAT) ou Glutamate Pyruvate Transaminase

Bien qu'abondant dans le foie, on le trouve dans le rein, le cœur, les muscles squelettiques, la rate, les poumons.

Toute altération de ces organes libère des transaminases dont les valeurs normales se situent pour les ASAT entre 20 et 40 UI/l et pour les ALAT entre 20 et 40 UI/l (20).

Une altération de la fonction hépatique résulte d'une augmentation de ces enzymes dans le sang. Les causes de l'élévation de ces enzymes peuvent être de plusieurs ordres puisque leurs origines sont nombreuses.

Les causes hépatiques (avec élévation des ALAT) :

Les hépatites virales ou microbiennes, l'hépatite toxique ou médicamenteuse, alcoolique, l'insuffisance cardiaque et l'état de choc, les infiltrations hépatiques (tuberculose, sarcoïdose, lymphomes), l'obstruction veineuse (syndrome de Budd Chari), les stéatoses hépatiques aiguës.

Les causes musculaires et cardiaques (avec élévation des ASAT) : Il s'agit de l'infarctus du myocarde, les myocardites, l'arrêt cardiaque (en particulier si massage cardiaque), la chirurgie cardiaque, les injections intra musculaires répétées, les polymyosites, les dermatomyosites, l'hypothyroïdie, l'hyperthermie maligne.

Méthodes de dosages de l'ALAT :

L'alanine amino transférase (ALAT) est mesurée à l'aide de trois méthodes.

Deux de ces méthodes, la technique de dinitrophénylhydralazine colorimétrique (21,22) et le dosage enzymatique fluorescent sont rarement utilisées (23). Une 3^{ème} méthode enzymatique basée sur l'œuvre de Wróbleswski et La Due (24) est la technique la plus fréquemment utilisée pour déterminer les concentrations de l'ALAT dans le sérum. Une procédure modifiée de Wróbleswski et La Due ont été proposées comme procédure recommandée par la Fédération internationale de chimie clinique (FICC) (25).

La méthode développée afin d'être utilisée avec l'analyseur Piccolo Abaxis est une modification de la procédure recommandée par la Fédération internationale de chimie clinique (FICC).

Dans cette réaction, l'ALAT catalyse le transfert d'un groupe amine de L-alanine en α -cétoglutarate afin de former du L-glutamate et du pyruvate. Le lactate déshydrogénase (LDH) catalyse la conversion du pyruvate en lactate. En même temps, la NADH est oxydée en NAD⁺.

Le taux de variation de la différence d'absorbance entre 340 nm et 405 nm est causé par la conversion de NADH en NAD⁺ et est directement proportionnel à la quantité d'ALAT présente dans l'échantillon.

L'Asparagine Amino-Transférase (ASAT) ou Glutamate Oxaloacétique Transaminase.

Il se retrouve dans le cœur, le foie, les muscles squelettiques, le rein, le pancréas, la rate, les poumons, les globules rouges.

Méthodes de dosage de l'ASAT :

Le test de l'aspartate aminotransférase (ASAT) se base sur la méthode de dosage de Karmen (26), telle que modifiée par Bergmeyer (27). La méthode de Référence de la Fédération internationale de chimie clinique (FICC) utilise la technique Karmen /Bergmeyer de couplage de malate déshydrogénase (MDH) et nicotinamide dinucléotide réduite (NADH) dans la détection de l'ASAT dans le serum (27,28). Le lactate déshydrogénase (LDH) est ajouté à la réaction dans le but de réduire l'interférence causée par le pyruvate endogène.

L'ASAT catalyse la réaction de L-aspartate et α -cétoglutarate en oxalate et Lglutamate.

L'oxaloacétate est converti en malate et en NADH est oxydée en NAD⁺ par le catalyste MDH.

Le taux de variation d'absorbance à 340nm/405nm causé par la conversion de NADH en NAD⁺ est directement proportionnel à la quantité de l'ASAT présente dans l'échantillon.

4-2-2 L'Albumine :

L'albumine représente en fait plusieurs molécules qui ont des propriétés identiques. Elle représente plus de la moitié des protéines de l'organisme. C'est elle qui permet par son pouvoir oncotique de retenir l'eau dans le secteur intra vasculaire (dans le sang). Les valeurs normales de l'albumine sont comprises entre 35 et 50 g/l. Le taux d'albumine est augmenté dans tous les états de déshydratation par perte d'eau de l'organisme : diabète insipide, pertes rénales, pertes digestives, pertes cutanées (hypersudation). Il est diminué dans tous les excès d'eau de l'organisme (hyperhydratation), toutes les hémodilutions.

Les diminutions de synthèse de l'albumine, se voient dans les maladies du foie (cirrhoses, hépatites aiguës), les syndromes inflammatoires importants, les dénutritions importantes. Aussi les pertes d'albumine se voient dans diverses causes de pathologies comme les glomérulonéphrites, et le syndrome néphrotique observés lors des altérations de la fonction rénale, les entéropathies exsudatives, et le syndrome de malabsorption au cours des pertes digestives, et les causes cutanées de brûlures et dermatites exfoliantes.

Méthodes de dosages de l'Albumine

Les premières méthodes utilisées pour mesurer l'albumine comprennent les techniques de fractionnement et la teneur en tryptophane des globulines. Ces méthodes sont très compliquées à effectuer et n'ont pas une haute spécificité.

Deux techniques immunochimiques sont considérées comme des méthodes de référence mais elles sont coûteuses et longues. Les procédures Piccolo Abaxis basées sur les techniques de fixation de colorant sont les plus utilisées pour mesurer l'albumine. Le vert de bromocrésol (BCG) est la méthode de fixation de colorant la plus utilisée mais elle risque de surestimer la concentration d'albumine, surtout à l'extrémité inférieure de la gamme normale (29). Le pourpre de bromocréol (BCP) est le plus spécifique des colorants (30). Le pourpre de bromocréol, lorsque lié à l'albumine, vire du jaune au bleu.

L'absorbance maximale varie en fonction du changement de couleur.

4-2-3 Les Phosphatases Alcalines (PAI) :

Les phosphatases alcalines sont des enzymes présentes pratiquement dans tout l'organisme surtout dans le foie et les os. En cas de suspicion d'atteinte de ces organes, le dosage des phosphatases alcalines oriente le diagnostic et permet de surveiller l'efficacité du traitement.

Les valeurs exactes dépendent du type de dosage réalisé. Les valeurs suivantes sont données pour indication :

Adulte (< 60 ans) de 40 à 100 UI/l

Adulte (> 60 ans) de 50 à 130 UI/l

- Une diminution du taux des phosphatases alcalines est rencontrée dans, l'hypothyroïdie, les anémies sévères, l'insuffisance hépatique sévère, l'hypophosphatasemie congénitale.
- Une élévation du taux des phosphatases alcalines se rencontre dans, les maladies osseuses, les métastases osseuses, la maladie de Paget, l'ostéomalacie, l'ostéodystrophie rénale, et l'hyperparathyroïdie.

Les maladies hépatobiliaires telles que les obstructions biliaires (calculs, tumeurs, kystes, hémobilie), les hépatites, les infiltrations hépatiques, les abcès hépatiques, la sarcoïdose, et les septicémies.

Méthodes de dosages de la PAI

Les premières techniques utilisées pour mesurer la phosphatase alcaline ont été développées il y a 60 ans. L'utilisation de phosphate p-nitrophényl(p-NPP) à augmenter la vitesse de la réaction.

La fiabilité de cette technique a été améliorée de façon considérable par l'utilisation d'un tampon à ions métalliques afin de maintenir la concentration des ions de magnésium et de zinc dans la réaction

(31).

La méthode de référence utilisée par l'American Association for Clinical Chemistry (AACC) (32) utilise la p-NPP en tant que substrat et tampon à ions métalliques.

La procédure Piccolo est une modification des méthodes AACC et IFCC (33).

La phosphatase alcaline hydrolyse la p-NPP dans un tampon à ions métalliques et forme le p-nitrophénol et phosphate.

3-2-4 L'Amylase :

L'amylase est une enzyme digestive sécrétée par le pancréas et les glandes salivaires (parotides) qui permet la digestion des sucres lents. Les valeurs de l'amylase dépendent de la technique de dosage et du mode d'expression des résultats. Chez l'adulte les résultats sont compris entre 10 et 90 UI/l.

Le taux de l'amylase est élevé dans toutes les affections pancréatiques (Les pancréatites aiguës, les pancréatites chroniques, les kystes ou les cancers pancréatiques mais de façon inconstante, les cholécystites, l'infarctus du mésentère, les péritonites). Dans les affections des glandes salivaires : les parotidites (en particulier lors des oreillons), les tumeurs ou les lithiases des glandes salivaires.

Méthodes de dosages de l'amylase :

Pour sa détermination, des méthodes chromolytiques qui utilisent la p-nitrophénylglycoside comme substrat ont récemment été développées (34). Ces dosages ont une meilleure spécificité pour l'amylase pancréatique que pour l'amylase salivaire et sont faciles à contrôler.

Dans la méthode Piccolo, le substrat, 2-chloro-p-nitrophényl- α -D-maltotrioside (CNPG3), réagit avec l' α -amylase dans l'échantillon du patient, libérant du 2-chloro-p-nitrophénol (CNP). La libération de CNP crée une variation de couleur.

La réaction est mesurée bichromatiquement à 405 nm et 500 nm. La différence d'absorbance résultant de la formation de CNP est directement proportionnelle à l'activité de l' α -amylase dans l'échantillon.

4-2-5 La Gamma Glutamyl Transférase (GGT) :

Les gammas glutamyl transférases sont des enzymes qui participent au métabolisme des acides aminés. Ils sont présents dans le foie, le rein, et le pancréas. Les valeurs normales sont inférieures à 35 UI/l.

Les causes hépatiques de l'élévation du taux de ces enzymes sont : les hépatites virales ou microbiennes, l'hépatite toxique ou médicamenteuse, la Cirrhose hépatique d'origine alcoolique, médicamenteuse, les maladies des voies biliaires (souvent associées à une augmentation des phosphatases alcalines).

Les causes non hépatiques de l'élévation du taux de ces enzymes sont : l'alcoolisme chronique (spécificité à 80%), l'infarctus du myocarde, l'insuffisance cardiaque, l'insuffisance rénale aiguë, le syndrome néphrotique, maladie neurologique.

Méthode de dosages de la GGT

La méthode de dosage de la GGT, recommandée par la Fédération internationale de chimie clinique (FICC), se base sur le substrat L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide, l'autre étant la glycylglycine (20). Abaxis a modifié la méthode de la FICC pour qu'elle réagisse à 37°C. L'ajout d'une solution contenant la gamma glutamyl transférase aux substrats L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide et glycylglycine (gly-gly) entraîne la formation de L- γ -glutamyl-glycylglycine (glu-gly-gly) et de 3-carboxy-4-nitroaniline.

L'absorbance de ce taux de réaction est mesurée à 405nm. La production 3-carboxy 4-nitroaniline est directement proportionnelle à l'activité de la GGT dans l'échantillon.

4-2-6 La Bilirubine Totale :

La bilirubine est une substance normalement présente dans l'organisme. Elle provient de la dégradation de l'hémoglobine (bilirubine libre). Puis elle est captée par le foie (bilirubine conjuguée) et dégradée. C'est la bilirubine qui est responsable de la jaunisse. Les valeurs normales chez l'adulte : Bilirubine totale 3 à 10 mg/l ou 5 à 17 μ mol/l, Bilirubine libre (indirecte) : 2 à 7 mg/l ou 3 à 12 μ mol/l, Bilirubine conjuguée (directe) : 1 à 3 mg/l ou 2 à 5 μ mol/l.

Le taux de la bilirubine non conjuguée ou libre est augmenté dans les cas d'hémolyses importantes surtout les anémies hémolytiques congénitales ou acquises, les hémolyses médicamenteuses, toxiques ou infectieuses, les accidents transfusionnels. Les captations ou conjugaisons hépatiques insuffisantes sont observées dans la Maladie de Gilbert, celle de Griggler Najajr, et dans la prise de Rifampicine (antibiotiques antituberculeux).

Le taux de la bilirubine conjuguée est augmenté dans les affections hépatiques et biliaires notamment les différents types d'hépatite (virale, toxique, médicamenteuse), les anomalies métaboliques rares (maladie de Rotor, de Dubin Johnson), les affections biliaires, la lithiase biliaire, les pancréatites, le cancer du pancréas ou des voies biliaires.

Méthodes de dosages de la bilirubine totale

Typiquement, les niveaux de bilirubine totale ont été mesurés par des tests utilisant l'acide sulfanilique diazoté (35). Une nouvelle méthode plus spécifique qui utilise l'enzyme bilirubine oxydase a été développée (36,37).

En plus de l'utilisation du test plus dans l'analyseur Piccolo, l'échantillon pouvant être testé immédiatement après avoir été prélevé spécifiquement de la bilirubine totale, la photodégradation du mélange à analyser est minimisée.

Dans la procédure enzymatique, la bilirubine est oxydée par l'oxydase de bilirubine en biliverdine.

La bilirubine est quantifiée comme étant la différence d'absorbance entre 467nm et 550nm. La quantité de bilirubine dans l'échantillon est proportionnelle à la différence entre les mesures de l'absorbance initiale et finale.

4-2-7 Protéine Totale

Une protéine, ou aussi appelé protide, est une macromolécule composée par une chaîne (ou séquence) d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques. En général, on parle de protéine lorsque la chaîne contient 100 acides aminés. Dans le cas contraire, on parle de peptides et polypeptides. Les protéines remplissent des fonctions très diverses : de catalyse, transport, communication, signalisation, reconnaissance (38).

La détermination de sa valeur peut orienter les médecins à diagnostiquer les troubles suivants : Maladies du foie, des reins et de la moelle osseuse ; troubles métaboliques et nutritionnels.

Méthodes de dosages de la PT

La méthode de protéine totale est une modification de la réaction de Biuret connue pour sa précision, son exactitude et sa spécificité (23).

Développé au départ par Riegler (39) et modifiée par Weichselbaum (40), Doumas, et al (41); ont proposé une réaction du biuret comme choix de méthode de référence de protéine totale. Dans la réaction de biuret, la solution protéique est traitée à l'aide d'ions de cuivre {Cu (II) dans un milieu très alcalin. Du tartrate de sodium et de potassium et de l'iodure de potassium sont ajoutés afin d'empêcher respectivement la précipitation de l'hydroxyde de cuivre et l'auto - réduction du cuivre.

Les ions Cu (II) réagissent créant des liens peptides entre les atomes d'oxygène carbonyle et d'azote amidé afin de former un complexe coloré.

La quantité de protéine totale présente dans l'échantillon est directement proportionnelle à l'absorbance du complexe Cu-protéine. Le test de protéine totale est une réaction en point final et l'absorbance est mesurée comme étant la différence d'absorbance entre 550nm et 850nm.

4-2-8 Le Chlore :

Les variations du chlore sont habituellement parallèles à celles du sodium. La chlorémie normale est comprise entre 95 et 115 mmol/l. On parle d'hypochlorémie pour des valeurs inférieures à 95 mmol/l.

Elle peut être la conséquence d'une diminution de la quantité de sel due à des pertes digestives (vomissement, diarrhées), rénales (prise de diurétiques, insuffisance rénale avec perte de sel, insuffisance surrénalienne), cutanées (brûlures étendues, transpiration). Elle peut être la conséquence d'une augmentation de la quantité d'eau (sécrétion inappropriée d'hormone anti-diurétique (SIADH), apport excessif d'eau, l'insuffisance cardiaque, l'insuffisance rénale, l'insuffisance hépatique). On parle d'hyperchlorémie pour des valeurs > à 115mmol/l. Elle peut être la conséquence d'une diminution de la quantité d'eau (diarrhées, vomissement, sudation importante, perte d'eau importante (diabète insipide, diabète sucré), exercice intense.

Méthode de dosages du Chlore

La méthode est basée sur la détermination d'une activation chloro-dépendante de l'activité de l'alpha -amylase. Une alpha-amylase désactivée est réactivée en ajoutant l'ion chlorure, ce qui permet au calcium de se réassocier à l'enzyme. La réactivation de l'activité de l'alpha-amylase est proportionnelle à la concentration des ions chlorure dans l'échantillon. L'alpha-amylase réactivée convertit le substrat, 2-chloro-p-nitrophényl-alpha-D-maltotrioside (CNPG3) en 2-chloro-pnitrophénol (CNP) produisant une coloration et de l'alpha-maltotriose (G3).

La réaction est mesurée bi chromatiquement, et l'accroissement d'absorbance est directement proportionnel à l'activité de l'alpha amylase réactivée et à la concentration de chlore dans l'échantillon.

4-2-9 Le Sodium (Natrémie) : L'ion sodium (Na^+) est très important dans le maintien de l'hydratation d'un organisme. Il représente l'essentiel des cations (ions positifs) du milieu extracellulaire.

Son rôle est important dans l'hypertension artérielle, et dans le maintien de l'hydratation chez le patient insuffisant cardiaque. La natrémie représente schématiquement le rapport entre la quantité de sel et la quantité d'eau présente dans l'organisme.

Les variations de sa concentration traduisent une modification de la quantité de sodium ou d'eau dans l'organisme (mouvement hydrique). Les mesures de la natrémie sont importantes pour objectiver les troubles. Sa répétition se justifie pour vérifier la correction de l'anomalie. La natrémie normale est comprise entre 135 et 145mmol/l.

Les résultats sont identiques à tous les âges de la vie.

On parle d'hyponatrémie quand le taux de la natrémie est inférieur à 135mmol/l. Elle peut être la conséquence d'une diminution de la quantité de sel au cours des pertes digestives (vomissement, diarrhées), des pertes rénales (prise de diurétiques, l'insuffisance rénale avec perte de sel, l'insuffisance surrénalienne), des pertes cutanées (brûlures étendues, transpiration). Elle peut être la conséquence d'une augmentation de la quantité d'eau au cours des sécrétions inappropriées d'hormones anti-diurétiques (SIADH), des apports excessifs d'eau, de l'insuffisance rénale, l'insuffisance cardiaque, insuffisance hépatique.

On parle d'hypernatrémie quand le taux de la natrémie est supérieur à 145 mmol/l. Elle peut être la conséquence d'une diminution de la quantité d'eau, diarrhées, vomissements, sudation important, perte d'eau importante (diabète insipide, diabète sucré), exercices intenses. Elle peut être la conséquence d'une augmentation de prise de sel ou un traitement par les hormones minéralo corticoïdes.

Méthode de dosages du sodium

Il existe des méthodes colorimétriques et enzymatiques qui permettent de mesurer la concentration de sodium à l'aide d'instruments de chimie clinique standard (42–44).

Dans la réaction enzymatique d'Abaxis, la b-galactosidase est activée par le sodium de l'échantillon. L'enzyme activée catalyse la réaction o-nitrophényl-b-D-galactopyranoside (NPG) en nitrophénol et galactose.

4-2-10 Le Potassium :

L'ion potassium (K^+) est très important dans l'organisme. Il représente le principal cation (ion positif) du milieu intra-cellulaire.

Ses anomalies sont fréquemment à l'origine de troubles cardio-vasculaires. La kaliémie normale est comprise entre 3,5 et 5,5 mmol/l ou entre 3,5 et 5,5 mEq/l, mais les seuils dépendraient en partie des laboratoires.

Une hypokaliémie peut se rencontrer au cours des pertes digestives (diarrhées, vomissement), dans l'hyperaldostéronisme (traitement corticoïde), l'acidose tubulaire rénale, l'hyperglycémie, l'alcalose métabolique.

Une Hyperkaliémie se rencontre dans les apports de potassium exogène, l'insuffisance surrénalienne (ou traitement antialdostérone), l'hémolyse, le crush syndrome, la chimiothérapie, les exercices intenses, l'insuffisance rénale chronique.

Méthodes de dosage du potassium

Des méthodes spectrophotométriques permettant de mesurer la concentration de potassium sur les instruments d'étalonnage biologique standard ont été développées.

La méthode enzymatique utilisée par Abaxis est fondée sur l'activation du pyruvate kinase avec le potassium et donne une excellente linéarité ainsi qu'une sensibilité négligeable aux substances endogènes (44–46). L'interférence provenant du sodium et de l'ion l'ammonium est minimisé par l'ajout de Kryptofix et de glutamate déshydrogénase respectivement.

Dans la réaction enzymatique couplée, le pyruvate kinase (PK) déphosphore le phosphénolpyruvate (PEP) afin de former le pyruvate.

Le lactate déshydrogénase catalyse la conversion du pyruvate en lactate. Le taux de variation de l'absorbance causé par la conversion de la NADH en NAD^+ est directement proportionnel à la quantité de potassium dans l'échantillon.

4-2-11 La Créatinine (créatininémie) :

La créatinine dans l'organisme provient de la dégradation de la créatine qui est d'une part contenue dans l'alimentation d'autre part produite par l'organisme (principalement localisée dans les muscles). La créatinine est exclusivement éliminée par les reins, ce qui en fait un très bon marqueur de la fonction rénale.

Les valeurs normales sont de 7 à 13 mg/l (62 à 115 mmol/l) chez l'homme et de 5 à 10 mg/l (44 - 88 mmol/l) chez la femme. Les normes dépendent aussi du poids du patient. Le véritable marqueur de la fonction rénale est la clairance de la créatinine qui se calcule à partir de la créatininémie, du poids, et du sexe. La formule de Cockcroft : $Fx (140 - \text{âge}) \times \text{poids (kg)} / \text{créatinine plasmatique}$ est utilisé, F= 1,04 pour la femme et 1,23 pour l'homme.

Le taux de la créatinine peut être diminué (en cas d'hémodilution, de dénutrition sévère, dans certains cas de myopathie). Le taux de la créatinine s'élève par accumulation dans toutes les infiltrations rénales, par augmentation de production dans les cas de rhabdomyolyse ou de crush syndrome.

Méthodes de dosages de la créatinine

La méthode de Jaffé, introduite en 1886, est toujours utilisée de façon courante pour déterminer les niveaux de créatinine dans le sang. La méthode de référence actuelle combine l'utilisation de la terre à foulon (floridine) et la technique de Jaffé afin d'accroître la spécificité de la réaction (47,48). Il existe des méthodes enzymatiques qui sont plus spécifiques pour la créatine que les diverses modifications de la technique de Jaffé (49–51).

Les méthodes qui utilisent l'enzyme créatine amidohydrolase éliminent le problème de l'interférence de l'ion ammonium présent dans les techniques qui utilisent la créatine iminohydrolase (20).

Deux cuvettes sont utilisées pour déterminer la concentration de créatinine dans l'échantillon. La créatine endogène est mesurée dans la réaction de blanc, qui est soustraite de la combinaison de la créatine endogène et de la créatine formée à partir des réactions enzymatiques dans la cuvette d'essai. Lorsque la créatine endogène est éliminée des calculs, la concentration de créatinine est proportionnelle à l'intensité de la couleur rouge produite. La réaction au point final est mesurée comme étant la différence d'absorbance entre 550nm et 630nm.

3-2-12 La Créatine Kinase (CK) ou Créatine Phosphokinase :

C'est une enzyme qui apporte de l'énergie dans les différents tissus. Les tissus les plus riches en CK sont les muscles striés, le cœur et le cerveau. Chacun de ces tissus à un type particulier de CK que l'on peut séparer. Les valeurs normales des CK sont comprises entre 10 et 200 UI/l. Une élévation du taux des CK s'observe dans des affections cardiaques (l'infarctus myocarde, myocardites, arrêt cardiaque, chirurgie cardiaque), musculaires (les rhabdomyolyses, les

polymyosites, les dermatomyosites, les dystrophies musculaires, l'hyperthermie maligne, et l'hypothyroïdie).

Méthodes de dosages de la C K :

La procédure de mesure de la CK utilisée par Piccolo (Abaxis) est une version modifiée de la méthode employée par la Fédération internationale de la chimie clinique (FICC). Les modifications clés sont la fraction de volume des échantillons, le tampon et la température. La N-acétyl cystéine (NAC) est ajoutée afin de réactiver la CK (52). Le magnésium est utilisé en tant que cofacteur pour la CK et l'hexokinase.

L'EDTA est ajouté en tant que stabilisant pour la NAC et afin de retenir les divers cations, tel le calcium et le fer, qui inhibent la CK. P1, P5-di (adénosine-5) penta phosphate et adénosine monophosphate (AMP) ont également été ajoutés afin d'inhiber l'adénylate kinase, une autre enzyme d'érythrocyte et du muscle squelettique qui réagit aux substrats utilisés pour mesurer la CK. La créatine kinase catalyse la formation de créatine et d'ATP à partir de créatine phosphate et d'ADP à un pH de 6,7.

Avec l'hexodinaise comme catalyste, l'ATP réagit avec le D-glucose afin de former de l'ADP et du Dglucose-6-phosphate (G-6-P), qui réagit à la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP) en présence de glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6- PDH) afin de produire du G-6-P et de la NADPH.

La formation de NADPH est mesurée en fonction de la différence en absorbance à 340nm par rapport à 405nm. Cette différence d'absorbance est directement proportionnelle à l'activité de la créatine kinase dans l'échantillon.

4-2-13 Le Glucose :

Le glucose est le principal sucre de l'organisme. C'est lui qui apporte l'énergie à la plupart des cellules.

Il obéit à une régulation très précise qui fait que sa concentration reste constante alors même que les apports alimentaires sont discontinus et sa consommation variable dépendant pour une bonne part des efforts du patient. Cette régulation très précise peut être altérée au cours de certaines maladies. La glycémie à jeun permet le dépistage du diabète. Chez l'adulte les valeurs normales sont entre 0,6 et 1,10 g/l soit 3,3 à 6,16 mmol/l.

On parle de diabète quand deux glycémies en jeun sont retrouvées supérieures à 1,26g/l. Le déficit de fonction de l'insuline conduit généralement au diabète. Les hyperglycémies > 1,26 g/l sont dues, au diabète insulino-dépendant ou non insulino-dépendant, les maladies pancréatiques (pancréatite aiguë ou chronique), les maladies endocriniennes (le phéochromocytome, l'hypercorticisme, la corticothérapie, et l'hypothyroïdie). Les hypoglycémies de 1,10g/l sont dues à un surdosage de médicaments hypoglycémisants chez le diabétique, la malnutrition ou un jeûne prolongé, une sécrétion par l'organisme d'un excès d'insuline (insulinome, polyadénomatoïse), l'insuffisance endocrinienne (surrénale, hypophysaire), et à un trouble hépatique (hépatite aiguë, intoxication alcoolique aiguë).

Méthodes de dosages du glucose :

Les premières mesures de concentration de glucose ont été effectuées à l'aide de méthode de réduction du cuivre (53,54).

Le manque de spécificité des techniques de réduction du cuivre a conduit au développement de procédures quantitatives qui utilisent les enzymes hexokinase et glucose oxydase. Le test au glucose incorporé au disque de réactif au Méthyle 8 est une version modifiée de la méthode hexokinase qui a été proposée comme base pour la méthode de référence en (23,54).

La réaction de glucose avec l'adénosine triphosphate (ATP), catalysée par l'hexokinase (HK), produit du glucose-6-phosphate (G-6-P) et de l'adénosine diphosphate (ADP). Le glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH) catalyse la réaction de G-6-P en 6-phosphogluconate et la réduction de nicotinamide adénine dinucléotide (NAD⁺) en NADH.

4-2-14 L'Hormone HCG (Hormone Gonadotrophique Chorionique)

Aussi appelée improprement béta-HCG, est sécrétée uniquement chez la femme enceinte dès le début du développement de l'embryon aux environs du neuvième jour de la grossesse.

Elle est sécrétée au moment de la nidation, c'est à dire au moment où l'embryon se fixe dans la paroi utérine, par ce qui deviendra le placenta. Son rôle est de maintenir le corps jaune, qui est une petite formation à l'intérieur de l'ovule, dont le rôle est de sécréter la progestérone elle-même nécessaire à la nidation.

En clair, pour que l'ovule se fixe et que l'embryon se développe, l'organisme a besoin de la progestérone, laquelle nécessite le corps jaune, lui-même tributaire de l'hormone HCG. Son rôle dans la grossesse est donc fondamental et c'est cette hormone qui est recherchée lors d'un test de grossesse. Les tests de grossesse peuvent se pratiquer dans l'urine ou dans le sang.

Un test positif indique un certain niveau d'hormone HCG dans les urines et évoque une très forte probabilité de grossesse. La plupart du temps, ces tests se positivent 2 semaines après le début de la grossesse, c'est-à-dire au moment où devraient commencer les règles suivantes.

Ils sont utilisables dès le jour présumé des règles, mais il est préférable d'attendre au moins deux à trois jours après cette date avant de réaliser le test.

Les tests ne sont pas équivalents en termes de sensibilité. Les plus rencontrés sont ceux qui peuvent détecter 40 à 50 UI (unité internationale) d'hormones par litre (UI/L) mais on trouve encore des tests qui ne détectent que 100 UI/L. Les tests précoces (2 à 3 jours avant la date présumée des règles) détectent un seuil de 25 UI/L.

Le test utilisé au laboratoire a une sensibilité de 25 UI/L.

Limite des tests urinaires

Il existe certaines situations où un test urinaire de grossesse est positif alors qu'il n'y a pas de grossesse en cours ou bien le contraire (test négatif alors qu'une grossesse est en cours). On parle alors de faux positifs et de faux négatifs.

Notre étude avait pour but d'établir des normes de références pour les paramètres hématologiques et biochimiques chez les adultes vivant à Bamako et/ou environnants afin de servir de références pour la conduite des essais cliniques de vaccins antipaludiques



METHODOLOGIE

IV. Méthodologie

1. Cadre d'étude :

L'étude a lieu dans l'enceinte de la FMOS au Point G dans la commune II du district de Bamako. Le District de Bamako a été créé par l'Ordonnance N° 77-44/CMNL (Comité Militaire de Libération Nationale) portant réorganisation territoriale et administrative de la République du Mali. Cette ordonnance a réparti le District en 6 communes dont chacune regroupe plusieurs quartiers. Le district de Bamako est une collectivité dotée d'une personnalité morale et d'une autonomie financière. La population du District de Bamako est de 1. 120 002 habitants (Direction Nationale des Statistiques et de l'Informatique, 1999), et couvre une superficie de 267 km². Le District de Bamako est situé en latitude à 12°4 Nord et en longitude à 7°59 Est. Il appartient à la zone soudanienne. Les limites des communes sont comme suit : la Commune 1 et 2 à l'Est de la ville, la Commune 3 au Centre, la commune IV à l'Ouest et les Communes V et VI sur la rive droite du fleuve Niger.

La commune II

Elle est limitée par la Commune I à l'Est, la Commune III à l'Ouest, le Fleuve Niger au Sud et par la préfecture de Kati au Nord. Elle est composée des quartiers de Missira I, Missira II, Hippodrome, Zone industrielle, Niarela, Bozola, Médine, Bagadadji, N'golonina, le Sans-fils et le Point G.

2. Type et période d'étude

Il s'agissait d'une étude transversale avec un passage unique réalisé du 14 Octobre au 24 Octobre 2021.

3. Population d'étude

Il s'agissait des adultes âgés de 18 à 55 ans résidant en commune II du district de Bamako.

4. Taille de l'échantillon

La taille de l'échantillon déterminée conformément aux directives publiées de la CLSI (Clinical & Laboratory Standard Institute), directive C28A3. La CLSI recommande d'inclure au moins 120 sujets par sous-groupe d'observation. Notre échantillon était constitué de 246 participants : 123 de sexe féminin et 123 de sexe masculin (6).

5. Critères d'inclusion et d'exclusion

5-1 Critères d'inclusion

- Sujets âgés de 18 à 55 ans, de sexe masculin ou féminin
- Sujets en bonne santé apparente confirmée par le bref historique et l'examen physique
- Volonté de participer à l'étude documentée par un consentement éclairé signé.

5-2 Critères de non-inclusion

- Signes cliniques de maladie aiguë ou chronique respiratoire, cardiovasculaire, gastro-intestinale, hépatique ou génito-urinaire ; ou toute autre condition clinique qui pourraient influencer l'évaluation des paramètres biologiques
- Alcoolisme chronique connu
- Prise actuelle ou dans les 14 jours précédant de médicaments antipaludiques
- Grossesse clinique ou par un examen positif de l'urine pour la présence de β -HCG.

6. Technique de laboratoire

6-1 Collecte des échantillons :

Les volontaires ont fait l'objet d'un entretien pour un bref rappel historique, un examen physique, et une prise de sang veineux de 5 ml de sang total respectivement sur tube EDTA pour l'hémogramme et sur tube hépariné lithum pour la biochimie après ponction veineuse.

6-2 Phase pré analytique :

Les tubes EDTA ont été utilisés et leur traitement ont pour 3 h,

Les tubes hépariné lithuim ont été utilisés et leur traitement a pris 2h,

Certains résultats n'ont pas été rendus dans les cas où la préanalytique n'était respecté

6-3 Traitement des échantillons de sang

Biochimie : Les échantillons ont été centrifugés à 3000 rpm pendant 10 mn pour récupérer le sérum à l'aide d'une centrifugeuse (Eppendorf). Les dosages biochimiques qui ont été faits sur l'analyseur ABX Pentra C200 et Kenza 450

Hémogramme : L'automate DxH500 Beckman Coulter micros a été utilisé pour l'analyse .

6-3 Matériels utilisés :

Tubes de prélèvement avec K2 EDTA 5.4mg (Vacutainer®) comme anticoagulant

Tubes de prélèvements lithium héparine (BD- acutainer®)

Aiguilles de prélèvements de marque acutainer®

Adaptateurs pour prélèvements (acutainer® Brant)

Garrot

Tampon d'alcool

Embouts de 200 μ l et 1000 μ l

Portoirs

Une centrifugeuse

Tests contrôle positifs et négatifs (Normal)

Test urinaire de grossesse

Le test de grossesse sur l'urine a été effectué avec des cassettes réactives en suivant les procédures indiquées par le fabricant. En cas de résultats douteux, un test sanguin sera utilisé.

Tous les tests inclus dans cette étude ont été réalisés dans le laboratoire de biologie clinique du MRTC à Bamako et au laboratoire du Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM).

7. Collecte et gestion des données

Les données démographiques et cliniques ont été collectées directement dans des tablettes en utilisant le logiciel RedCap. Les résultats sur les imprimées des automates ont été saisies dans la base de données. Les données ont ensuite été exportées vers Microsoft Excel. Les analyses ont été réalisées avec le logiciel SPSS version 23.0.

Nous avons testé la normalité de la distribution des différents paramètres en utilisant le test de Kolmogorov-Smirnov et le test de Shapiro-Wilk. L'existence d'un $p < 0,05$ était en faveur d'une distribution non normale. Le test Mann-Whitney a été utilisé pour la comparaison des valeurs obtenues chez les hommes et femmes. Les valeurs moyennes avec l'écart-type et l'intervalle de confiance autour de la moyenne ont été déterminées pour chaque paramètre.

Les valeurs limites de référence ont été déterminées la méthode non-paramétrique en considérant le 2,5ème et le 97,5ème centile des valeurs observées.

Les intervalles de confiance à 90% autour des valeurs limites ont été déterminés. Les références ont été calculées séparément selon le genre dans les cas où les valeurs observées dans les deux sexes n'étaient pas comparables (p du test de Mann-Whitney inférieur à 0,05).

8. Considérations éthiques

L'étude a été conduite en conformité avec les Bonnes Pratiques Cliniques selon la Conférence Internationale d'Harmonisation (CIH/BPC), la Déclaration d'Helsinki et la réglementation applicable au Mali. Le protocole d'étude a été approuvé par le comité d'éthique institutionnel de l'USTTB, lettre d'approbation N° 2021/225/USTTB du 16 septembre 2021. Nous avons obtenu la permission communautaire des autorités locales du Point G. Nous avons obtenu le consentement éclairé de tous les volontaires. Nous avons veillé au respect de la confidentialité des participants en attribuant à chacun un numéro d'identification unique. Les documents de l'étude étaient gardés dans des cantines fermées à clé et étaient accessibles seulement à des personnes autorisées. Les participants ont bénéficié d'une compensation de 2000 FCFA pour le temps perdu du fait de la participation à l'étude.



RESULTATS

V. Résultats

1. Caractéristiques sociodémographiques des participants

Un total de 246 volontaires a été dépisté. Parmi eux, 246 (123 hommes et 123 femmes) ont été inclus.

Tableau I : Répartition selon les caractéristiques sociodémographiques des participants

Paramètre	N	Moyenne	Écart-type	95% IC	P
Age					
Masculin	123	23,9268	7,33079	22,6183-25,2353	0,001
Féminin	123	27,4309	8,80674	25,8589-29,0028	
Poids					
Masculin	123	66,2276	10,06521	64,4311-68,0242	0,783
Féminin	123	66,6667	14,54257	64,0709-69,2624	

L'âge moyen chez les hommes était de 23,9 ans \pm 7,3 écart-type (95% IC [22,6-25,2]) contre 27,4 ans \pm 8,8 écart-type (95% IC [25,8-29,0]) chez les femmes.

2. Caractéristiques biologiques des participants

Tableau II : Distribution des valeurs hématologiques par sexe

Paramètres	N	Moyenne	95% IC	p
Globule rouge	10 ⁶ /μL			
Masculin	123	5,0664	4,9789-5,1540	0,000
Féminin	123	4,4631	4,3829-4,5433	
Taux d'hémoglobine	g/dl			
Masculin	123	14,7348	14,5403-14,9293	0,000
Féminin	123	12,9167	12,7266-13,1069	
HCT	%			
Masculin	123	44,3642	43,7926-44,9359	0,000
Féminin	123	39,2228	38,6745-39,7710	
VGM	fL			
Tous	246	88,1589	87,3165 – 89,0013	0,747
TCMH	pg			
Sexes Combinés	246	29,1695	28,8637 – 29,4753	0,614

Tableau II : Distribution des valeurs hématologiques par sexe (Suite)

Paramètres	N	Moyenne	95% IC	p
CCMH	g/dl			
Masculin	123	33,2187	33,0918-33,3456	0,000
Féminin	123	32,9268	32,8092-33,0445	
Plaquettes	103/ μ L			
Masculin	123	270,17	258,44-281,90	0,000
Féminin	123	329,76	315,05 – 344,46	
Globules blancs	10 ³ / μ L			
Masculin	123	5,3493	5,1131-5,5856	0,005
Féminin	123	5,9490	5,6056-6,2924	
Lymphocytes	103/ μ L			
Masculin	123	2,2847	2,1834-2,3860	0,007
Féminin	123	2,5067	2,3800-2,6333	
Neutrophiles	103/ μ L			
Masculin	123	2,1780	2,0218-2,3343	0,000
Féminin	123	2,8528	2,6159-3,0898	

Tableau II : Distribution des valeurs hématologiques par sexe (Suite)

Paramètres	N	Moyenne	95% IC	p
Basophiles	103/ μ L			
Tous	246	0,0282	0,0237 – 0,0327	0,858
Eosinophiles	103/ μ L			
Masculin	123	0,3689	0,2803-0,4574	0,000
Féminin	123	0,1215	0,1012-0,1419	
Monocytes	10 ³ / μ L			
Tous	246	0,4877	0,4693 – 0,5062	0,421

Dans l'ensemble, le nombre moyen de globules blancs était 5600 par mm³, IC à 95% [5,43-5,85]. Le nombre moyen de globules rouges était de 4760 par mm³ avec un IC à 95% [4,69-4,83]. Le taux moyen d'hémoglobine était de 13,82 g/dl IC à 95% [13,64-14]. Le nombre moyen de plaquettes étaient de 299960 par mm³, IC à 95% [289,9-310,03]. Les neutrophiles avaient une moyenne à 2,51 pour un intervalle de référence (2,36-2,66). Pour les lymphocytes, le nombre moyen était de 2390 par mm³ avec IC à 95% [2,31-2,47].

Tableau III : Distribution des valeurs biochimiques par sexe

Paramètres	N	Moyenne	95% IC	p
Créatinémie	μmol/L			
Masculin	113	78,6991	76,1644-81,2338	0,000
Féminin	116	57,8966	56,0779-59,7152	
ALAT	U/L			
Masculin	115	18,9652	16,4446-21,4859	0,245
Féminin	117	16,6581	13,6643-19,6519	
ASAT	U/L			
Tous	232	17,8017	15,8508 –19,7526	0,001
LDH	U/L			
Tous	232	218,09	210,51 – 225,68	0,753
Bilirubine	μmol/L			
Masculin	112	8,8304	8,0384-9,6223	0,003
Féminin	114	7,2456	6,5511-7,9401	

Tableau III : Distribution des valeurs biochimiques par sexe (Suite)

Paramètres	N	Moyenne	95% IC	p
Albumine	g/L			
Tous	232	45,6983	45,3434 – 46,0532	
Protéines totales	g/L			
Tous	230	81,0957	80,5116 – 81,6797	0,522
Créatine phosphokinase (CPK)	U/L			
Masculin	62	277,49	227,28-327,70	0,000
Féminin	56	149,21	130,36-168,07	
Phosphatases alcalines	UI/L			
Masculin	115	111,19	100,39-122,00	0,000
Féminin	117	81,0940	73,7626-88,425	

Tableau IV : Distribution des valeurs de l'ionogramme par sexe

Paramètres	N	Moyenne	95% IC	p
Bicarbonate	mmol/L			
Tous	26	26,4769	24,9907 – 27,9631	0,739
Phosphore	mmol/L			
Masculin	115	1,0618	1,0150-1,1086	0,041
Féminin	117	1,1209	1,0881-1,1538	
Potassium	mmol/L			
Masculin	39	4,4421	4,3002-4,5839	0,002
Féminin	45	4,1296	3,9932-4,2659	
Calcium	mmol/L			
Masculin	115	2,3622	2,3293-2,3951	0,004
Féminin	117	2,2954	2,2639-2,3269	
Sodium	mmol/L			
Tous	232	136,93	136,56 – 137,31	0,998

La créatinémie moyenne était de 68,16 $\mu\text{mol/L}$, IC à 95% [66,10-70,21]. Le taux moyen de l'ALAT était de 17,8 U/L ; IC à 95% [15,85-19,75]. Le taux moyen de l'ASAT était de 21,67 U/L IC à 95% [20,48-22,85].

Le taux moyen de la bilirubine était 8,0310 $\mu\text{mol/L}$; IC à 95% [7,4986 – 8,5633].

Pour le bicarbonate seulement 26 participants ont été évalué, le taux moyen de bicarbonate était de 26,47 mmol/L avec un IC à 95% [24,99-2,96]. Les taux moyens de potassium et de sodium étaient respectivement : 4,27 mmol/l, IC à 95% [4,17-4,37] ; 136,93 mmol/l ; IC à 95% [136,56-137,45]. Pour la Créatine phosphokinase (CPK), le taux moyen était de 216,61 U/L avec un IC 95% [186,74-246,49].

Le taux moyen de protéine totale était de 81,09 g/l avec un IC à 95% [80,51 – 81,68]. Pour le calcium, le taux moyen était de 2,33 mmol/L avec un IC à 95% [2,305 – 2,35].

Pour la LDH, le taux moyen était de 218,09 U/L avec un IC à 95% [210,51 – 225,68]. Le taux moyen d'albumine était de 45,6983 g/L avec un IC à 95% [45,34 – 46,05].

Pour l'ensemble de ces paramètres la distribution n'était pas normale ($p < 0,05$).

3. Intervalles de référence des paramètres biologiques

Tableau V : Intervalles de référence des paramètres hématologiques

Paramètres	Intervalle de valeur de Référence
Globule blanc ($10^3/\mu\text{L}$)	
Masculin	3,32 – 8,09
Féminin	3,28 – 10,74
Globule rouge ($10^6/\mu\text{L}$)	
Masculin	4,18 – 6,06
Féminin	3,57 – 5,32
Taux d'Hémoglobine (g/dl)	
Masculin	12,94 – 16,57
Féminin	10,52 – 15,09
HCT (%)	
Masculin	38,50 – 50,50
Féminin	31,90 – 45,90
VGM (fl)	
Tous	73,00 – 97,80

Tableau V : Intervalles de référence des paramètres hématologiques (Suite)

Paramètres	Intervalle de valeur de Référence
TCMH (pg)	
Tous	23,70 – 32,20
CCMH (g/dl)	
Masculin	31,80-34,60
Féminin	31,50-34,00
Plaquettes (10³/μL)	
Masculin	159,20-389,50
Féminin	181,50-472,90
Lymphocytes (10³/μL)	
Masculin	1,35-3,60
Féminin	1,43-4,29
Neutrophiles (10³/μL)	
Masculin	0,94-4,47
Féminin	1,38-5,48

Tableau V : Intervalles de référence des paramètres hématologiques (Suite)

Paramètres	Intervalle de valeur de Référence
Basophiles ($10^3/\mu\text{L}$)	
Tous	0,01 – 0,06
Eosinophiles ($10^3/\mu\text{L}$)	
Masculin	0,02-2,25
Féminin	0,01-0,48
Monocytes ($10^3/\mu\text{L}$)	
Tous	0,31 – 0,77

L'intervalle de référence pour les globules blancs était de 3320– 8090/ mm^3 de sang pour les hommes contre 3280–10740 / mm^3 de sang pour les femmes.

Pour les globules rouges, l'intervalle de référence était de 4180– 6060 / mm^3 de sang pour les hommes et 3570–5320/ mm^3 de sang pour les femmes. L'intervalle de référence pour les plaquettes était de 159200– 389500 / mm^3 de sang pour les hommes et 181500–472900/ mm^3 de sang pour les femmes.

Quant au taux d'hémoglobine, L'intervalle de référence pour les hommes était 12,94–16,57 g/dl pour les hommes contre 10,52–15,09 g/dl pour les femmes.

Pour le VGM, l'intervalle de référence pour les deux sexes était de 73,00–97,80 fl.

L'intervalle de référence pour les lymphocytes était de 1350– 3600/ mm^3 de sang pour les hommes et 1430–4290/ mm^3 pour les femmes.

En ce qui concerne les neutrophiles, les valeurs de référence se situaient entre 940 et 4470 /mm³ de sang pour les hommes et 1380–5480/mm³ de sang pour les femmes.

Tableau VI : Intervalles de référence des paramètres biochimiques

Paramètres	Intervalle de valeur de Référence
Créatinémie (µmol/L)	
Masculin	49,00-102,00
Féminin	38,00-77,00
ALAT (U/L)	
Tous	8,00 – 36,00
ASAT (U/L)	
Masculin	14,00-42,00
Féminin	12,00-32,00
LDH (U/L)	
Tous	132,00 – 290,00
Bilirubine (µmol/L)	
Masculin	3,00-19,00
Féminin	3,00-15,00
Albumine (g/L)	
Tous	42,00 – 50,00
Phosphatases alcalines (UI/L)	
Masculin	49,00-276,00
Féminin	42,00-154,00

**Tableau VI : Intervalles de référence des paramètres biochimiques
 (Suite)**

Paramètres	Intervalle de valeur de Référence
Bicarbonate (mmol/L)	
Tous	24,00 – 31,10
Phosphore (mmol/L)	
Masculin	0,62-1,68
Féminin	0,72-1,46
Potassium (mmol/L)	
Masculin	3,50-5,22
Féminin	3,27-5,03
Calcium (mmol/L)	
Masculin	2,13-2,77
Féminin	2,04-2,67
Sodium (mmol/L)	
Tous	131,00 – 142,00
Protéines totales (g/L)	
Tous	73,00 – 88,00
Créatine phosphokinase (CPK) (U/L)	
Masculin	6,1-829
Féminin	63-310

L'intervalle de référence de la créatinémie était de 49,00– 102 et 38,00– 77,00 $\mu\text{mol/l}$ respectivement pour les hommes et pour les femmes. Pour l'ALAT, la valeur de référence était de 7,00– 46 U/L pour les : hommes et 7,00– 46 U/L pour les femmes. L'intervalle de référence pour l'ASAT était de 14,00– 42 U/L pour les hommes et 12,00– 32 U/L pour les femmes. Quant à la LDH, l'intervalle de référence était de 132,00 – 290,00 U/L aussi bien pour les hommes que les femmes. L'intervalle de référence était de 3,00– 19 pour les hommes $\mu\text{mol/l}$ et 3,00– 15,00 $\mu\text{mol/l}$ pour les femmes pour la bilirubine. Pour l'albumine, l'intervalle de référence était de 41,00– 51g/l pour les hommes et 40,00– 51,00 g/l pour les femmes. L'intervalle de référence pour la Phosphatase alcaline, était de 49,00– 276 UI/L pour les hommes et 3,00– 15,00 UI/L pour les femmes. Quant au bicarbonate, l'intervalle d de référence était de 24,00–31,10 mmol/L aussi bien pour les hommes que pour les femmes. L'intervalle de référence était pour le phosphore était de : 0,62– 1,68 mmol/L pour les hommes et 0,72–1,46 mmol/l pour les femmes. Quant au potassium l'intervalle de référence était de : 3,50– 5,22 mmol/L pour les hommes et 3,72– 5,03mmol/l pour les femmes. En ce qui concerne le calcium, l'intervalle de référencé pour les hommes était de 2,13– 2,77 mmol/L et 2,04–2,67mmol/l pour les femmes. Pour le sodium, l'intervalle de référence était de 131,00– 142,00 mmol/L pour les deux sexes.

Quant à la protéine totale, l'intervalle de référence était de 73,00 –88,00 g/L aussi bien pour les hommes que pour les femmes. Pour la créatine Phosphatase Kinase, l'intervalle de référence pour les hommes était de 6,14– 829 U/L et de 63,00-310,00 U/L pour les femmes.



**COMMENTAIRES ET
DISCUSSION**

VI. Commentaires et Discussion

Les différentes variables mesurées en biologie varient en fonction des individus, dans des limites données chez les individus en bonne santé (intervalles de référence) et l'interprétation des résultats des examens biologiques chez un patient dépendent notamment des intervalles de référence déterminés pour chaque constituant.

Dans la perspective d'un essai clinique de phase 1a, dont l'objectif essentiel est l'évaluation de l'innocuité et la tolérance ; nous avons réalisé une étude de détermination des valeurs de référence biologique (hématologique et biochimiques) pour servir dans l'interprétation des résultats de laboratoire. Les directives de la Clinical & Laboratory Standard Institute (CLSI), recommande d'inclure au moins 120 sujets par sous-groupe d'observation. Dans notre cas, nous avons recruté 123 femmes et 123 hommes âgés de 18 à 55 ans en bonne santé apparente.

Excepté l'ionogramme qui a été réalisé au Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM), les autres tests ont été réalisés par le laboratoire clinique du MRTC. Les laboratoires du MRTC et du CICM sont tous accrédités.

Dix-huit paramètres hématologiques et quatorze paramètres biochimiques ont été mesurés.

La distribution des valeurs du VGM, de la TCMH, des basophiles et des monocytes dans les deux sexes étaient comparables ($p > 0,05$). Pour les autres paramètres hématologiques, il y avait une différence significative entre les deux sexes ($p < 0,05$).

De façon générale les valeurs de références des constituants hématologiques étudiés dans l'échantillon globale, sont assez proches des valeurs rapportées par Koné B et al au Mali qui avait trouvé une différence significative entre les sexes aux niveaux des GR, GB, HB au CHU du Point G à Bamako (3).

Nos valeurs sont aussi proches de celles rapportées par David K. Dosoo et al à Kintampo au Ghana (55) et proches aussi des résultats apporté par Kieh MW et al au Libéria (7).

Le nombre de GR, le taux d'hémoglobine étaient élevés pour les hommes que pour les femmes alors que le nombre de GB était plus élevé chez les femmes. Cette différence peut être due menstrues et des infections auxquelles les femmes sont plus exposées.(56)

Dans une étude des normes réalisées par David K. Dosoo et al à Kintampo au Ghana (55) chez les adultes âgés de 18 à 59 ans, l'intervalle de référence pour l'ALAT était de 8-54 U/L hommes et 6-51 U/L pour les femmes. Ces intervalles sont très proches des nôtres. Pour la créatinémie, nos intervalles de référence sont peu différents de ceux de la population de Kintampo au Ghana pour laquelle l'intervalle de référence était de 56-199 $\mu\text{mol/L}$ pour les hommes et 47-110 $\mu\text{mol/L}$ pour les femmes.

Nos valeurs en ALAT et ASAT étaient assez proche de l'étude de Beavogui AH et al en Guinée avec la créatinine élevés pour les hommes (25,5 -115,3 $\mu\text{mol/L}$) que pour les femmes (26,4-91,06 $\mu\text{mol/L}$) bien que leur tranches d'âges était inférieur à la nôtre (16-45ans). L'élévation de la créatinine chez les hommes que les femmes peuvent être en raison de l'influence hormonale comme les androgènes (6).

**EVALUATION DES NORMES BIOLOGIQUES DES ADULTES A BAMAKO DANS LES PERSPECTIVES D'UN
ESSAI CLINIQUE DE CANDIDAT VACCIN CONTRE LE PALUDISME.**

Comparaison des valeurs hématologiques et biochimiques avec celles d'autres études

Tableau VII : Comparaison des valeurs hématologiques avec celles d'autres études

Pays	Mali		Liberia		Ghana		Cap LAB-Mali	
References	Etude		Kieh et Al		Dosoo DK et Al		Cap Lab	
Age	18-55 ans		≥ 18 ans		18 - 56 ans		15- 82 ans	
Période d'étude	2021		2015 - 2017		2012		2008 - 2010	
Localités	Urbain		Urbain/Rural		Rural		Urbain	
Genres	Masculin	Féminin	Masculin	Féminin	Masculin	Féminin	Masculin	Féminin
n	123	123	1407	1122	351	340	238	246
GB (10³/µl)	3.32 – 8.06	3.28 – 10.74	3.3 - 8.5	3.6 - 9.7	3.3–11.2	3.3–10.6	4.09 - 11.0	4.02 - 11.42
GR (10/µl)	4.18- 6.06	3.57- 5.32	4.3– 6.5	3,8– 5,8	3,6–7,0	3.1– 5.9	NA	NA
HGB (mg/dL)	12.94 – 16.57	10.52 – 15.05	11.5 - 16.9	9.9 - 15	10.7- 18.8	8.2- 16.2	13.4 - 16.7	11.5 - 14.9
PLT (10³/µl)	159.20 – 389.50	181.50 – 472.90	119.4 - 325.6	136.1 - 376.6	86–348	111–416	172 - 398	185 - 445

**EVALUATION DES NORMES BIOLOGIQUES DES ADULTES A BAMAKO DANS LES PERSPECTIVES D'UN
ESSAI CLINIQUE DE CANDIDAT VACCIN CONTRE LE PALUDISME.**

❖ Tableau VIII : Comparaison des valeurs biochimiques avec celles d'autres études

Pays	Mali		Burkina Faso		France		Guinée	
Références	Etude		Böhler et Al		Xavier et Al		Beavogui et Al	
Age	18-55 ans		18-78 ans		16 - 49 ans		16 - 45 ans	
Période d'étude	2021		2004 - 2005		2008 - 2010		2011 -2013	
Localités	Urban		Urban/Rural		Rural		Rural	
Genres	Masculin	Féminin	Masculin	Féminin	Masculin	Féminin	Masculin	Féminin
n	123	123	97	89	19393	13526	208	206
CRT (µmol/L)	49,00-102,00	38,00-77,00	NA	NA	NA	NA	25.5 - 115.3	26.4 - 90.6
ALAT (U/L)	7,00 – 46,00	7,00 – 46,00	NA	NA	NA	NA	9.1 - 46.1	9.1 - 47.1
ASAT (U/L)	14,00-42,00	12,00-32,00	NA	NA	NA	NA	13.56-49.15	10.37-44.69



CONCLUSION

VII. Conclusion

Les résultats obtenus au cours de cette étude ont permis d'établir les intervalles de référence pour les paramètres hématologiques et biochimiques qui seront d'un bénéfice immense pour les essais cliniques et pour prise en charge des patients du site d'étude en particulier.



RECOMMANDATIONS

VIII. Recommandations

Au terme de notre étude, vu les résultats obtenus nous formulons les recommandations suivantes

Aux Chercheurs

- Etendre ces études à d'autres populations maliennes
- Utiliser ces résultats pour servir de valeur de référence non seulement pour les essais cliniques mais aussi pour la prise en charge de ces populations
- Faire une large diffusion de ces résultats aux autorités sanitaires nationales,

Aux Autorités

- Intégrer ces résultats dans les politiques nationales de prise en charge des patients afin de mieux d'orienter les praticiens dans le diagnostic et d'éviter les prescriptions à tort.
- Encourager la détermination des normes locales dans autres populations du Mali



REFERENCES

XIX.. Références bibliographiques

1. Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Rapport 2021 sur le paludisme dans le monde, Données et tendances régionales. 2021
2. Guindo MA, Shott JP, Saye R, Diakité ML, Sanogo S, Dembele MB, et al. Promoting good clinical laboratory practices and laboratory accreditation to support clinical trials in sub-Saharan Africa. *Am J Trop Med Hyg.* avr 2012;86(4):573-9.
3. Kone B, Maiga M, Baya B, Sarro Y, Coulibaly N, Kone A, et al. Establishing Reference Ranges of Hematological Parameters from Malian Healthy Adults. *J Blood Lymph.* 2017;7(1):154.
4. Eller LA, Eller MA, Ouma B, Kataaha P, Kyabaggu D, Tumusiime R, et al. Reference Intervals in Healthy Adult Ugandan Blood Donors and Their Impact on Conducting International Vaccine Trials. *PLoS ONE.* 11 déc 2008;3(12):e3919.
5. Béavogui AH, Touré AA, Camara D, Doumbouya A, Sylla MM, Touré S, et al. Haematological and Biochemical Reference Values for Healthy Population of Maferinyah Rural Community in Guinea. *BioMed Res Int.* 3 août 2020;2020:8605485.
6. Kieh MW, Browne SM, Grandits GA, Blie J, Doe-Anderson JW, Hoover ML, et al. Adult and paediatric haematology and clinical chemistry laboratory reference limits for Liberia. *Afr J Lab Med.* 25 nov 2020;9(1):1080.
7. V S, M A, None M, T N, S V, C E, et al. Baseline haematological and biochemical reference values for healthy male adults from Mali. *Pan Afr Med J [Internet].* 4 janv 2019 [cité 4 janv 2022];32. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31068998/>
8. (Henny J. Établissement et validation des intervalles de référence au laboratoire de biologie médicale. *Ann Biol Clin (Paris).* 1 avr 2011;69(2):229-37.
9. DI D, N MA. Immune response to pre-erythrocytic stages of malaria parasites. *Curr Mol Med [Internet].* mars 2006 [cité 4 janv 2022];6(2). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16515509/>
10. Girard MP, Reed ZH, Friede M, Kieny MP. A review of human vaccine research and development: malaria. *Vaccine.* 19 févr 2007;25(9):1567-80.

11. Kwiatkowski D, Marsh K. Development of a malaria vaccine. *Lancet Lond Engl.* 6 déc 1997;350(9092):1696-701.
12. Heppner DG, Cummings JF, Ockenhouse C, Kester KE, Lyon JA, Gordon DM. New World monkey efficacy trials for malaria vaccine development: critical path or detour? *Trends Parasitol.* sept 2001;17(9):419-25.
13. Stowers AW, Miller LH. Are trials in New World monkeys on the critical path for blood-stage malaria vaccine development? *Trends Parasitol.* sept 2001;17(9):415-9.
14. Goldenthal KL, Falk LA, Ball L, Geber A. Prelicensure evaluation of combination vaccines. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 15 déc 2001;33 Suppl 4:S267-273.
15. Didierlaurent AM, Laupèze B, Di Pasquale A, Hergli N, Collignon C, Garçon N. Adjuvant system AS01: helping to overcome the challenges of modern vaccines. *Expert Rev Vaccines.* 2 janv 2017;16(1):55-63.
16. Lévy JP Bernard J. Et Clauvel JP - Rain JD - Varet B *Abrégé d'hématologie (1972) | crealivres [Internet]. [cité 3 janv 2022]. Disponible sur: <https://www.abebooks.fr/Abr%C3%A9g%C3%A9-dh%C3%A9matologie-L%C3%A9vy-Bernard-Clauvel-Rain/22407060687/bd>*
17. N. IFRAH, R. FAUCHET *Hématologie - - 9782743000608 - Livre - Unitheque.com [Internet]. [cité 3 janv 2022]. Disponible sur: <https://www.unitheque.com/hematologie/biologie-medicale/em-inter/Livre/47547>*
18. Gentilini M. *Médecine tropicale.* Paris: Flammarion; 1986.
19. Pascal Dieusaert *Guide pratique des analyses médicales, 6e ed. - broché - Achat Livre | fnac [Internet]. [cité 3 janv 2022]. Disponible sur: <https://livre.fnac.com/a8239390/Pascal-Dieusaert-Guide-pratique-des-analyses-medicales-6e-ed>*
20. David. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry.* *JAMA.* 24 août 1994;272(8):644-5.
21. Tonhazy NE, White NG, Umbreit WW. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. *Arch Biochem.* août 1950;28(1):36-42.
22. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol.* juill 1957;28(1):56-63.
23. *Clinical Chemistry Theory Analysis and Correlation Second Edition HArdback Book [Internet]. eBay. [cité 3 janv 2022]. Disponible sur: https://www.ebay.com/itm/132230724889?_ul=ML*
24. Wroblewski F, Ladue JS. Serum glutamic pyruvic transaminase in cardiac with hepatic disease. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N.* avr 1956;91(4):569-71.

25. Bergmeyer HU, Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. III. IFCC method for alanine aminotransferase. Eur J Clin Chem Clin Biochem J Forum Eur Clin Chem Soc. 1 janv 1980;18(8):521-34.
26. Karmen A. A note on the spectrometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. J Clin Invest. janv 1955;34(1):131-3.
27. Bergmeyer HU, Herder M, Moss DW. Provisional Recommendations on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentrations of Enzymes. Clin Chem. 1 avr 1978;24(4):720-1.
28. J Clin, Chem Clin Biochem Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase.. janv 1977;15(1):39-51.
29. Webster D, Bignell AH, Attwood EC. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta Int J Clin Chem. 31 mai 1974;53(1):101-8.
30. Pinnell AE, Northam BE. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromocresol purple. Clin Chem. janv 1978;24(1):80-6.
31. C Petit Clerc ,M Delisle , M Martel ,C Fecteau ,N Brière Mechanism of action of Mg²⁺ and Zn²⁺ on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn²⁺ and Mg²⁺ alkaline phosphatases - PubMed [Internet]. [cité 4 janv 2022]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1142/>
32. Tietz NW, Burtis CA, Duncan P, Ervin K, Petitchlerc CJ, Rinker AD, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem. mai 1983;29(5):751-61.
33. Bowers GN, Bergmeyer HU, Hørder M, Moss DW. International Federation of Clinical Chemistry. Committee on Standards. Expert Panel on Enzymes. Approved recommendation (1978) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 1. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chim Acta Int J Clin Chem. 15 oct 1979;98(1-2):163F-174F.
34. Wallenfels K, Földi P, Niermann H, Bender H, Linder D. The enzymic synthesis, by transglucosylation of a homologous series of glycosidically substituted malto-oligosaccharides, and their use as amylase substrates. Carbohydr Res. 1 mars 1978;61(1):359-68.
35. Malloy HT, Evelyn KA. THE DETERMINATION OF BILIRUBIN WITH THE PHOTOELECTRIC COLORIMETER. J Biol Chem. juill 1937;119(2):481-90.

36. Murao S, Tanaka N. A New Enzyme « Bilirubin Oxidase » Produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. *Agric Biol Chem.* 1 oct 1981;45(10):2383-4.
37. Perry B, Doumas BT, Buffone G, Glick M, Ou CN, Ryder K. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem.* févr 1986;32(2):329-32.
38. Stryer L, Berg JM, Tymoczko JL. *Biochimie.* Flammarion Médecine-Sciences; 2003. 1052 p.
39. Riegler E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. *Z Für Anal Chem.* avr 1914;53(4-5):242-5.
40. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Pathol.* mars 1946;10:40-9.
41. Doumas BT, Bayse DD, Carter RJ, Peters T Jr, Schaffer R. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem.* 1 oct 1981;27(10):1642-50.
42. Helgeson RC, Czech BP, Chapoteau E, Gebauer CR, Kumar A, Cram DJ. Host-guest complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Am Chem Soc.* 1 août 1989;111(16):6339-50.
43. Kumar A, Chapoteau E, Czech BP, Gebauer CR, Chimenti MZ, Raimondo O. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem.* sept 1988;34(9):1709-12.
44. Berry MN, Mazzachi RD, Pejakovic M, Peake MJ. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem.* nov 1988;34(11):2295-8.
45. van Pelt J. Enzymatic determinations of sodium, potassium, and chloride in serum compared with determinations by flame photometry, coulometry, and ion-selective electrodes. *Clin Chem.* mai 1994;40(5):846-7.
46. Hübl W, Wejborra R, Shafti-Keramat I, Haider A, Hajdusich P, Bayer PM. Enzymatic determination of sodium, potassium, and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion-selective electrodes. *Clin Chem.* août 1994;40(8):1528-31.
47. Knoll E, Stamm D. Spezifische Kreatininbestimmung im Serum. *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 1970 [cité 3 janv 2022];8(6). Disponible sur: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cclm.1970.8.6.582/html>
48. Haeckel R. Simplified determinations of the « true » creatinine concentration in serum and urine. *J Clin Chem Clin Biochem Z Klin Chem Klin Biochem.* juill 1980;18(7):385-94.
49. Ga M, Rj B, Dm B. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem* [Internet]. sept 1975 [cité 4 janv 2022];21(10). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1157307/>

50. An enzymic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer - PubMed [Internet]. [cité 4 janv 2022]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7055892/>
51. Enzymic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement - PubMed [Internet]. [cité 4 janv 2022]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6872208/>
52. Recommended method for the determination of creatine kinase in blood modified by the inclusion of EDTA. The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology (SCE) - PubMed [Internet]. [cité 4 janv 2022]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/118509/>
53. Folin O, Wu H. A SYSTEM OF BLOOD ANALYSIS. J Biol Chem. 1 mai 1919;38(1):81-110.
54. Nelson N. A PHOTOMETRIC ADAPTATION OF THE SOMOGYI METHOD FOR THE DETERMINATION OF GLUCOSE. J Biol Chem. 1 mai 1944;153(2):375-80.
55. Dosoo DK, Kayan K, Adu-Gyasi D, Kwara E, Ocran J, Osei-Kwakye K, et al. Haematological and biochemical reference values for healthy adults in the middle belt of Ghana. PloS One. 2012;7(4):e36308.
56. GILLES (H.M.), GILLES (H.M.). Vade-mecum pour la prise en charge du paludisme grave et compliqué. Genève: OMS; 1991.



ANNEXES

ANNEXE I

Modes opératoires :

Biochimie : pour sa réalisation, nous avons utilisé un automate ABX Pentra C200

- Allumer la machine en position “power On”
- Après les tests contrôle (Normal)
- Appuyer sur open le tiroir de l’analyseur s’ouvre,
- Prélever 120ml de sérum à l’aide de micropipette calibré à 200µl
- Puis l’introduire dans le disque de réactif de la machine et déposé dans le tiroir
- de l’analyseur ABX Pentra C200 en suite appuyer de nouveau sur close et le tiroir se
- referme dès lors l’analyse commence.

L’analyseur calcule et imprime automatiquement les concentrations du mélange à analyser.

Au terme de l’analyse quand apparaît <<Print>> sur l’écran de la machine introduire la carte et appuyer sur Print.

**EVALUATION DES NORMES BIOLOGIQUES DES ADULTES A BAMAKO DANS LES PERSPECTIVES D'UN
ESSAI CLINIQUE DE CANDIDAT VACCIN CONTRE LE PALUDISME.**

ANNEXE II

Modes opératoires

Hémogramme : Elle a été réalisée à l'aide d'un automate d'hématologie de type ABX Micros 60.

- Allumer la machine en position "power On" ;
- Tester la machine avec les tests contrôle (Normal) ;
- Agiter doucement le tube pour bien homogénéiser le sang (mouvement répété de retournement) avant de l'introduire dans l'appareil ;
- Introduire le tube dans la machine ;
- Lancer l'analyse en appuyant sur OK ;
- Attendre l'affichage de "print" sur l'écran de lecture;
- Cliquer sur print pour imprimer le résultat à la fin de l'analyse.
- Expression des résultats : Ont été imprimés sur papiers les résultats fournis par l'automate.

FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom : Sacko

Prénom : Issiaka

Nationalité : Malienne

Date de soutenance : xx xx 2022

Ville de soutenance : Bamako

Titre : EVALUATION DES NORMES BIOLOGIQUES DES ADULTES A BAMAKO DANS LES PERSPECTIVES D'UN ESSAI CLINIQUE DE CANDIDAT VACCIN CONTRE LE PALUDISME.

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS).

Secteur d'intérêt : Santé publique, Biologie et essais cliniques.

Résumé :

Les valeurs de référence sont très importantes dans les essais cliniques pour l'évaluation de la tolérance des produits d'investigation et aussi dans la prise en charge des patients. L'objectif était d'établir les valeurs de référence hématologiques et biochimiques des adultes en bonne santé apparente vivants à Bamako.

Un total de 266 volontaires composé de 123 hommes et de 123 femmes âgés de 18 à 55 ans résidant dans la Commune III du district de Bamako a participé à l'étude. Les valeurs moyennes des paramètres hématologiques et biochimiques avec un intervalle de confiance à 95% ont été déterminées.

Les valeurs limites de référence de 13 paramètres hématologiques et de 14 paramètres biochimiques ont été déterminées par sexe par la méthode non-paramétrique en considérant le 2,5ème et le 97,5ème centile des valeurs observées. Les intervalles de confiance à 90% autour des valeurs limites ont été déterminés.

L'intervalle de référence pour les globules blancs était de 3320– 8090/ mm³ de sang pour les hommes et de 3280–10740 / mm³ de sang pour les femmes.

L'intervalle de référence pour les globules rouges était de 4180– 6060 /mm³ de sang pour les hommes et 3570–5320/mm³ de sang pour les femmes. L'intervalle de référence pour les plaquettes était de 159200– 389500 / mm³ de sang pour les hommes et 181500–472900/mm³ de sang pour les femmes.

Quant au taux d'hémoglobine, L'intervalle de référence pour les hommes était 12,94–16,57 g/dl pour les hommes contre 10,52–15,09 g/dl pour les femmes. L'intervalle de référence de la créatinémie était de 49,00– 102,00 et 38,00– 77,00 µmol/l respectivement pour les hommes et pour les femmes. Pour l'ALAT, la valeur de référence était de 7,00– 46 U/L pour les : hommes et 7,00– 46 U/L pour les femmes.

Les résultats obtenus au cours de cette étude ont permis d'établir les intervalles référence pour les paramètres hématologiques et biochimiques qui seront d'un bénéfice immense pour les essais cliniques et aussi la prise en charge des patients du site d'étude en particulier.

Mots clés : Paramètres hématologiques et biologiques, Intervalle de référence.

Fiche signalétique anglais

Abstract en anglais

Name: Sacko

First name: Issiaka

Nationality: Malian

Defense date: xx xx 2022

Defense city: Bamako

Title: EVALUATION DES NORMES BIOLOGIQUES DES ADULTES A BAMAKO DANS LES PERSPECTIVES D'UN ESSAI CLINIQUE DE CANDIDAT VACCIN CONTRE LE PALUDISME.

Place of deposit: Library of the Faculty of Medicine and Odontostomatology (FMOS).

Sector of interest: Public health, Biology and clinical trials

Reference values are very important in clinical trials for the assessment of the tolerance of investigational products and also in the management of patients. The objective was to establish the hematological and biochemical reference values of apparently healthy adults living in Bamako.

A total of 266 volunteers composed of 123 men and 123 women aged between 18 and 55 residing in Commune III of the district of Bamako participated in the study. Mean values of hematological and biochemical parameters with a 95% confidence interval were determined.

The reference limit values of 13 haematological parameters and 14 biochemical parameters were determined by sex using the non-parametric method, considering the 2.5th and 97.5th percentiles of the values observed. The 90% confidence intervals around the limit values were determined.

The reference range for white blood cells was 3320–8090/mm³ of blood for men and 3280–10740/mm³ of blood for women. The reference range for red blood cells was 4180–6060 /mm³ of blood for men and 3570–5320/mm³ of blood for women. The reference range for platelets was 159200–389500/mm³ of blood for men and 181500–472900/mm³ of blood for women.

As for the hemoglobin level, the reference range for men was 12.94–16.57 g/dl for men versus 10.52–15.09 g/dl for women. The serum creatinine baseline range was 49.00–102.00 and 38.00–77.00 μmol/L for males and females, respectively. For ALT, the reference value was 7.00–46 U/L for men and 7.00–46 U/L for women.

The results obtained during this study made it possible to establish the reference intervals for the hematological and biochemical parameters which will be of immense benefit for the clinical trials and also the management of the patients of the study site in particular.

The questionnaire if it is allowed

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

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

Je le jure !!!