

Ministère de l'Enseignement
Supérieur et de la recherche scientifique

République du Mali
Un peuple-Un but-Une foi



U.S.T.T-B

**Université des Sciences, Techniques et
Technologie de Bamako**



**FACULTE DE PHARMACIE
TITRE**

***LA PLACE DES PATHOLOGIES ET ANOMALIES BIOLOGIQUES
EXCLUANT LES VOLONTAIRES DES ESSAIS CLINIQUES DE
VACCINS ANTIPALUDIQUES (VACCIN PfSPZ) A
DONGUEBOUGOU EN 2014 et 2016, AU MALI.***

Présentée et soutenue publiquement le 08 / 12 / 2018 devant le jury de la Faculté de Pharmacie du Mali par

M. Sidiki Pérou

Pour obtenir le grade de Docteur en pharmacie (Diplôme d'Etat) Thèse N°

Jury

Président : Pr. Boubacar Traore

Membres :

Dr. Aboubacar Tiétiè Bissan

Co-directeur : Dr. Mahamadou Soumana Sissoko

Directeur : Professeur agrégé Bourèma KOURIBA

Dédicace

Je dédie ce travail à :

- Dieu d'amour le créateur, le miséricordieux, l'omniscient, l'alpha et l'Omega
- A son fils unique Jésus Christ mon sauveur et mon seigneur qui veille sur moi nuit et jour.
- A Mon Papa Inogo Pérou :

Papa toi qui a su m'éduquer avec beaucoup de rigueur les mots me manquent pour te remercier. Comment puis-je te récompenser, Papa, si ce n'est par le travail bien fait. Voici que je te présente un cadeau, accepte le comme le fruit de tes efforts. Par ta simplicité et ton humilité tu es et tu resteras pour nous un père exemplaire. Soucieux de l'avenir de tes enfants tu es toujours présent à nos côtés. Tes conseils, ton accompagnement ne nous ont jamais fait défaut et me donnent le courage d'aller toujours de l'avant. C'est toi, papa qui a fait de moi l'homme que je suis devenu aujourd'hui. Les mots me manquent pour énumérer tout le bonheur que ta présence nous procure. Que le seigneur te donne longue vie et qu'il te garde longtemps à nos côtés. Amen

- A ma regrettée Mère Mariam Pérou

La préoccupation de toute mère est la bonne éducation de ses enfants.

Je te dois ma vie maman; toi qui m'a enfanté et tout ce que je suis c'est grâce à toi. Les mots n'exprimeront pas assez ce que j'éprouve en ce jour Maman. Ton dévouement, ta bravoure, ta modestie, ton amour, tes conseils font de toi une mère exemplaire. Maman tu es partie au moment où l'arbre que tu as planté a commencé à fructifier. Maman bien aimée sache que je garderai toujours les leçons de vie que tu nous as inculqué. Dors en paix Maman bienaimée !

- A mes grands-pères et Grandes mères : Asseguerem Pérou, Abdoulaye Pérou, Philippe Pérou, Yamonon Pérou, Ediougo Pérou, Yatiguem Pérou, Yaibem Tèmè et Aminata Pérou. Vous qui m'avez accueillie et veillé sur moi pendant tout ce temps. Que Dieu le tout puissant puisse vous garder à nos côtés longtemps et surtout bien portant.
- A mon oncle Ogobara Pérou : Tonton toi qui a consenti tant d'efforts sur tous les plans en me donnant des conseils en m'encourageant, en me soutenant financièrement. Tonton tu m'as toujours fait comprendre l'importance de la rigueur dans le travail. Tonton par tes actes positifs tu m'as fait comprendre qu'un bien fait n'est jamais perdu. Comment puis-je te récompenser si ce n'est que par ce travail et pour te dire que tu es l'être presque parfait et cela pour ne pas dire parfait car on nous as toujours appris à l'école

qu'un être parfait n'existe pas. Sinon si cela pouvait être attribué comme qualificatif à un être humain j'allais dire que j'ai un oncle parfait.

- **A ma tante Bintou Pérou :** Toi qui m'as accueillie et soutenu depuis mes études primaires jusqu'au jour d'aujourd'hui. Malgré mes caprices d'adolescence tu m'as toujours considéré comme ton propre fils. Merci ma tante.
- **A mon oncle Mamoudou Pérou et ma tante Aïcha Dolo :** Vous avez toujours veillé sur moi tel que la poule le fait pour ses poussins. Recevez ici mes sincères remerciements et soyez récompenser par ce modeste travail.
- **A mes oncles et Tantes du Village :** Yatenoubè Pérou Yanaye Poudiougou, Abdoulaye Pérou, Soumaïla Pérou, Kadidia Kodio, Kadidia Pérou, Salimata Pérou. Beaucoup d'entre vous m'ont vu naître et grandir. Et tonton Abdoulaye toi qui m'a fait comprendre que qui aime chatie. Merci et recevez ce modeste travail comme le fruit des efforts que vous avez forgé pour ma réussite.
- **A mon oncle Oumar Pérou et ma Tante Kadidia Tèmè à Ségou :** Comment puis-je oublier tonton toi qui te souci de la bonne éducation des enfants de la famille partout où ils sont. Saches que tes efforts consentis ne seront jamais vains et tes bons conseils je les mettrai toujours en application pour être le reflet de la famille partout où je serai. Merci pour tout et recevez avec ma tante ce travail comme une récompense.
- **A mes oncles et Tantes à Bamako :** Aly, Lèwènidjou, Issa, Alassane, Feu El hadj, Ibrahim, Drissa, Adama, Safiatou, Mata, Mariam, Bintou, Isabelle, Mama, Tabita, Aïssata, Hawa, Monique, Batogoma. Par vos efforts je n'ai eu ni faim ni soif. Durant toutes ces années vous avez su me supporter malgré mes caprices. Veilliez recevoir ce travail comme le fruit de vos efforts consentis à mon égard.
- **A Joséphine Pérou** après tant d'années d'endurance te voilà presque au bout du tunnel. Garde cet élan et tout ira bien. Courage !
- **A mes compagnons de Banconi :** Abdoulaye Guirou, MouctarPérou, Kalilou Kané, Abdoulaye Ouologuem, Amadou Dolo, Oumar Pérou, Moussa Kodio, Arouna Saye, Ansiguè Pérou, Hamidou Pérou, Ali Touré et Youssouf Thienta. Merci les gars et on est ensemble.
- **A mon Ami Alpha Pérou :** mon pote je dis tout simplement voici le grand jour que tu as tant attendu. Merci de m'avoir accompagné aussi bien dans les bons comme les mauvais moments.

- A mes enseignants du primaire et du lycée notamment Mr Boureima Kouriba et Mr Harouna Dolo comment puis-je oublier votre bien fait. Que le bon Dieu vous le récompense au centuple.
- A mes camarades du lycée en particulier Ibrahim Keïta et Adama Soumano retrouvez ici mes sincères remerciements.

Remerciements

➤ **Une mention spéciale pour le maître de mes maîtres Feu Pr Ogobara**

DOUMBO :

Eminent professeur, le grand rassembleur, l'humaniste, l'homme de science de renommée internationale, l'homme qui s'est toujours soucié des autres telles sont quelques-unes de vos qualités cher maître. Vous êtes partis cher maître mais vous resterez toujours dans notre cœur et nous nous efforceront á suivre sans relâche la voie que vous avez tracée pour les jeunes.

Dormez en paix cher maître et que le bon Dieu vous accueille dans son paradis.

Amen!

➤ **Une mention spéciale pour Dr Charles ARAMA :**

Cher maitre, c'est un privilège pour nous d'avoir bénéficié de votre enseignement d'immunologie depuis la 3^{eme} année de pharmacie, vos encadrements dans les travaux pratiques notamment l'ELISA. Vos conseils, corrections et suggestions dans la réalisation de cette thèse ont été et sont d'un apport capital. Votre disponibilité, votre générosité votre rigueur scientifique et votre qualité d'encadreur font de vous un maître admiré de tous. Cher maitre nous vous réitérons notre profonde gratitude et notre indéfectible reconnaissance. Nous n'oublierons jamais vos bienfaits. Que Dieu vous accorde longévité et santé. Amen !!

➤ **Une mention spéciale pour Dr Agnès GUINDO :** Elite de la recherche biomédicale vous avez été plus qu'une patronne. En plus de me recruter et me former vous m'avez toujours conseillé et soutenu. Les mots ne me suffiront pas pour vous exprimer ma vive reconnaissance et ma gratitude. Merci à vous, je vous souhaite santé, bonheur et succès dans toutes vos activités. Je vous en serais toujours reconnaissant.

➤ **Mes profonds remerciements à tout le personnel du Cap-Lab :** Dr Zéguime, M.Doucouré, M.Ouologuem, M.Souleymane Traoré, M.Amadou Konaté, M.Sintry, M.Kanouté, Mlle.Aïcha, M.Samaké, M.Tolo, M.Djiguiba, M.Dembélé, M.Togora Mlle Korotoumou, M.Doumbia, M. Tangara

➤ **Mes remerciements au personnel du site de Donéguébougou** Dr Katilé,Dr Samaké,Dr Kamaté,Dr Guindo, Mr Togola, les guides Bakossa, Yacouba, Youssouf ,Boua, Tiécoura, Yacouba Kolon. Merci pour vos conseils et vos soutients.

- Aux volontaires et à toute la population de Donéguébougou et villages environnants
- A mes camarades de promotion en particulier Seydou Douyon, Noé Saye, Bréhima Sanogo, Abdoulaye Keïta, Balla Diarra, Talata Thienta, Habibatou Camara, Lamine Boïté, Aïchata Fané, Adama Cissé, Aly Koné, Diakalia Traoré merci pour aussi bien les bons et les mauvais moments passés ensemble.
- Mention spéciale pour mon camarade Ousmane Yossi plus qu'un ami tu es et tu demeureras mon frère jumeau. Le chemin a été long et avec beaucoup d'obstacles mais grâce au bon Dieu qui nous a toujours fortifier nous voilà au bout du tunnel. Merci frère.
- Aux personnels de la pharmacie Djiguiya et pharmacie Ben SARL. Merci de m'avoir accueilli à bras ouverts. Je vous en serai toujours reconnaissant.
- Aux Thésards du MRTC en particulier Sadio Diarra, Seydou Sangaré, Adama Ouattara, Modibo Traoré, Togo, Djiguiba, Henda Doucouré.
- A tout le personnel du MRTC/DEAP merci pour votre humanisme
- A mes frères et sœurs : Amadou, Yamono, Yama, Fatou, Edjouko, Oumar, Bani, Djeneba, Moussa, Youssouf
- A toute la population de mon beau village Bandé.
- A Dr Amadou Din merci de m'avoir accueilli à la faculté. Tu as pris soin de moi comme ton frère de lait. Merci cher aîné je t'en serai toujours reconnaissant.

Hommages aux
membres du jury

A notre maître de président du jury :

Pr Boubacar TRAORE

- Professeur titulaire de Parasitologie-Mycologie
- Doyen de la faculté de pharmacie (FAPH)
- Directeur scientifique du laboratoire clinique du MRTC
- Responsable de l'unité Paludisme/Grossesse et Immuno-pathologie du Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires

Cher maître c'est un immense honneur pour nous de vous avoir comme notre président de jury malgré vos multiples occupations. Votre rigueur scientifique, votre humanisme, votre souci du travail bien fait font de vous un maître admiré de tous.

Cher maître veuillez accepter l'expression de notre grande admiration.

A notre maitre et juge :

Dr. Aboubacar Dit Tiétiè BISSAN

➤ Maître assistant de Biologie Clinique

Cher maitre nous sommes très honorés que vous ayez accepté de siéger dans ce jury malgré vos multiples occupations. Votre approche facile, votre spontanéité, votre disponibilité, votre générosité votre rigueur scientifique font de vous un maître admiré de tous.

Cher maître veuillez accepter notre profonde considération et notre profonde reconnaissance.

A notre Maître et Codirecteur de thèse :

Dr Mahamadou Soumana SISSOKO

- Docteur en Médecine,
- PhD en Santé Publique,

- Chargé de recherche en Bio-statistique/Santé Publique à la Faculté de Pharmacie (FAPH).

- Médecin chercheur au MRTC/DEAP/FMOS-FAPH,

Cher maître nous sommes très honorés que vous aillez codirigé notre thèse.

Votre disponibilité, votre générosité votre rigueur scientifique et votre qualité d'encadreur font de vous un maître admiré de tous.

Cher maître nous vous réitérons notre profonde gratitude et notre indéfectible disponibilité.

A notre Maître et Directeur de thèse :

Professeur Agrégé Bourèma KOURIBA

- Professeur Agrégé d'Immunologie,
- Responsable de l'Unité d'Immunologie Cellulaire et Moléculaire des Parasites du MRTC/DEAP,
- Directeur Scientifique du Centre d'Infectiologie Charles Mérieux du Mali,
- Président de la Société Malienne d'Immunologie.

Nous avons été émerveillés par la qualité de vos cours d'immunologie en troisième année de pharmacie. Votre courage, votre rigueur scientifique, votre disponibilité, votre compréhension, votre générosité, votre sens élevé pour le respect de la dignité humaine sont entre autres des qualités enviées de tous.

En acceptant de nous accueillir dans votre unité vous avez fait apparaître votre détermination de transmettre votre savoir à la nouvelle génération.

Vous resterez pour nous un exemple à suivre. Vous avez accepté de diriger ce travail malgré vos multiples occupations.

Permettez-nous de vous réitérer, cher maître l'expression de notre profonde gratitude et de notre indéfectible disponibilité.

Table des Matières

<u>I. Introduction.....</u>	<u>1</u>
<u>II. Objectifs.....</u>	<u>5</u>
<u>III. Généralités.....</u>	<u>7</u>
<u>III.1. Généralités sur le paludisme.....</u>	<u>8</u>
<u>III.1.1 Cycle biologique du paludisme.....</u>	<u>8</u>
<u>III.1.2 Immunologie du paludisme.....</u>	<u>10</u>
<u>III.1.3 Clinique sur le paludisme.....</u>	<u>12</u>
<u>III.2 Généralités sur le vaccin.....</u>	<u>14</u>
<u>III.2.1 Différents types de vaccins antipalustres.....</u>	<u>14</u>
<u>III.2.2 Difficultés de la mise au point d'un vaccin antipalustre.....</u>	<u>16</u>
<u>III.3 Généralités sur l'essai vaccinal.....</u>	<u>17</u>
<u>III.3.1 Population d'étude d'un essai vaccinal.....</u>	<u>17</u>
<u>III.3.2 Critères d'éligibilité d'un essai vaccinal.....</u>	<u>18</u>
<u>III.3.3 Différentes phases du développement clinique d'un vaccin.....</u>	<u>18</u>
<u>III.3.4. Les candidats vaccins antipaludiques testés au Mali.....</u>	<u>19</u>
<u>III.4 Généralités sur les paramètres du screening.....</u>	<u>28</u>
<u>III.4.1 Electrocardiogramme.....</u>	<u>28</u>
<u>III.4.2 Paramètres biochimiques.....</u>	<u>29</u>
<u>III.4.3 Paramètres hématologiques :(Hémogramme).....</u>	<u>36</u>
<u>III.4.4 Paramètres sérologiques.....</u>	<u>41</u>
<u>III.4.5 Autres paramètres.....</u>	<u>43</u>
<u>IV. Méthodologie.....</u>	<u>45</u>
<u>IV.1. Lieu d'étude.....</u>	<u>46</u>

<u>IV.1.1 Historique.....</u>	<u>46</u>
<u>IV.1.2 Relief.....</u>	<u>46</u>
<u>IV.1.3 Climat, Faune et Flore.....</u>	<u>46</u>
<u>IV.2. Population.....</u>	<u>47</u>
<u>IV.3. Infrastructures Socio-sanitaires.....</u>	<u>47</u>
<u>IV.4. Période et type d’Etude.....</u>	<u>48</u>
<u>IV.5. Population d’Etude.....</u>	<u>48</u>
<u>IV.6. Sélection des volontaires.....</u>	<u>48</u>
<u>IV.6.1. Critères d’inclusion:.....</u>	<u>48</u>
<u>IV.6.2. Critères de non inclusion.....</u>	<u>48</u>
<u>IV.7. Organisation pratique du travail.....</u>	<u>48</u>
<u>IV.7.1. Poste clinique.....</u>	<u>48</u>
<u>IV.7.2 Salle d’électrocardiogramme.....</u>	<u>48</u>
<u>IV.7.3. Poste de prélèvement.....</u>	<u>49</u>
<u>IV.7.4 Techniques de laboratoire.....</u>	<u>49</u>
<u>IV.8. Collecte, saisie et analyse des données.....</u>	<u>51</u>
<u>IV.9. Aspects éthiques.....</u>	<u>52</u>
<u>V. Résultats.....</u>	<u>53</u>
<u>V.1-Résultats sociodémographiques sur les volontaires.....</u>	<u>54</u>
<u>V.2 Résultats d’électrocardiogramme.....</u>	<u>57</u>
<u>V.3-Résultats de sérologie.....</u>	<u>58</u>
<u>V.4-Résultats d’Hématologie.....</u>	<u>59</u>
<u>V.5-Résultats de Biochimie.....</u>	<u>60</u>
<u>V.6-Résultats de chimie des urines.....</u>	<u>62</u>
<u>V.7-Résultats de test de grossesse.....</u>	<u>63</u>
<u>VI. Commentaires et Discussions.....</u>	<u>64</u>
<u>VII. Conclusion.....</u>	<u>70</u>
<u>VIII. Recommandations.....</u>	<u>72</u>
<u>IX. Références.....</u>	<u>74</u>
<u>X. Annexes.....</u>	<u>81</u>

Liste de Tableaux	Pages
Tableau I : Liste des candidats vaccins antipaludiques au Mali.....	20
Tableau II : Répartition des volontaires selon le sexe, l'année, l'âge moyen et la médiane d'âge.....	54
Tableau III: Nombre des volontaires éligibles et non n'éligibles selon l'année.....	55
Tableau IV: Distribution des volontaires selon les anomalies diagnostiquées.....	56
Tableau V: Résultat de l'électrocardiogramme selon l'année.....	57
Tableau VI: Résultat de l'électrocardiogramme selon la tranche d'âge.....	57
Tableau VII: Distribution des 3 viroses chez les volontaires en 2014 et 2016.....	58
Tableau VIII: Distribution des 3 viroses par sexe et par année.....	58
Tableau IX: Distribution des cas de coinfection virale par année.....	59
Tableau X : Distribution des anomalies des paramètres hématologiques par année et par sexe.....	59
Tableau XI : Distribution des anomalies de paramètres biochimiques selon le sexe des volontaires en 2014 et en 2016.....	61
Tableau XII : Distribution de DFG selon le sexe et l'année.....	61
Tableau XIII : Distribution des paramètres chimiques des urines par sexe et par année ...	62
Tableau XIV: Distribution des volontaires selon les résultats du test de grossesse en 2014 et en 2016.....	63
Tableau XV: Tableau récapitulatif des réactifs de l'ELISA.....	84

Liste des Figures	Pages
Figure 1 : Cycle de <i>Plasmodium falciparum</i> et mécanismes immunitaires de l'hôte à chaque phase du cycle du parasite.....	10
Figure 2 : Un électrocardiogramme normal.....	28
Figure 3 : Métabolisme de la créatine.....	30
Figure 4 : Réaction de dégradation de la créatinine.....	33
Figure 5 : Activité de l'ALAT.....	34
Figure 6 : Polynucléaire Neutrophile sur frottis.....	38
Figure 7 : Polynucléaire éosinophile sur un frottis.....	39
Figure 8 : Polynucléaire basophile sur un frottis.....	40
Figure 9 : Les plaquettes sur un frottis sanguin.....	41
Figure 10 : Répartition des volontaires par village et par année.....	55
Figure 11 : Taux d'éligibilité par année.....	56
Figure 12 : Distribution des volontaires séropositifs par virus et par année.....	58
Figure 13 : Distribution des anomalies de paramètres hématologiques par année.....	60
Figure 14 : Distribution des créatinémies élevées et d'ALAT élevées en 2014 et en 2016...60	
Figure 15 : Distribution des paramètres chimiques des urines par année.....	62
Figure 16 : Ecran de l'appareil ABX Pentra C200 après la connexion.....	94
Figure 17 : Ecran principal de l'appareil ABX Pentra C200.....	95
Figure 18 : Ecran de l'inventaire des réactifs.....	96

Liste des abréviations

Ac : Anticorps

ADN : Acide désoxyribonucléique

Ag : Antigène

AgHBc : Antigène de capsid du Virus de l'Hépatite B

AgHBe : Antigène d'enveloppe du virus de l'Hépatite B

ALA : Alanine

ALT : Alanine amino-transferase

AMA1 : Apical Membrane Antigene 1

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ARN: Acide ribonucléique

Asn: Asparagine

AS01: Adjuvant System 1

AST : Aspartate Aminotranferase

BSA: Bovin Serum Albumin

CCC : Communication pour le changement de comportement

CCMH: Concentration Corpusculaire moyenne en Hémoglobine

CD36 : Classe de Différenciation 36

CESAC : Centre d'Ecoute, de Soins, d'Animation et de Conseil

CNTS : Centre National de Transfusion Sanguine

CQ : Contrôle de Qualité

CSA : Chondroitin Surface Antigen

CSP : Circum Sporozoite Protein

DFG : Débit de Filtration Glomérulaire

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DEAP : Département d'Épidémiologie des Affections Parasitaires

ECG: Electro Cardio Gramme

ECP : Eosinophil Cationic Protein

EDTA: Ethylene Diamine Tetra-acétique Acid

ELISA: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

EPA: Exoprotein A

Mis en forme : Justifié, Ne pas ajuster l'espace entre le texte latin et asiatique, Ne pas ajuster l'espace entre le texte et les nombres asiatiques

Mis en forme : Police :12 pt

Mis en forme : Anglais (États Unis)

ET : Ecart-type
FAPH: Faculté de Pharmacie
FMOS: Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie
Hb : Hémoglobine
HBV : Virus de l'Hépatite B
HCG : Human Chorionic Gonadotrophin
HCl : Acide Chlorhydrique
HCV: Virus de l'Hépatite C
HIV: Human Immunodeficiency Virus
ICAM1: Intracellular Adhesion Molecule 1
IDR: Indice de Distribution des globules Rouges
IgE: Immunoglobuline E
IgG: Immunoglobuline G
Kb: Kilo Base
Km: Kilomètre
LBMA: Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée
MBP : Major Basic Protein
MDRD: Modification of the Diet in Renal Disease
MGG : May Grunwald Giemsa
ml: Millilitre
µl: Microlitre
MRTC: Malaria Research and Training Center
MSP1: Merozoite Surface Protein1
NaCl : Chlorure de Sodium
NAD /NADH: Nicotinamide Adenine Dinucléotide
NIH: National Institute Health
NK: Natural Killer
NO : Nitric Oxide
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
Pfs25: Antigène du gamétocyte de *Plasmodium falciparum*
Pvs28: Antigène du gamétocyte de *Plasmodium vivax*
Plt : Plaquette
PM : Poids Moléculaire
PNN : Polynucléaire Neutrophile

Mis en forme : Anglais (États Unis)

PNE : Polynucléaire Eosinophile

PNB : Polynucléaire Basophile

Pro : Proline

QA : Quality Assurance

RTS,S : Fusion protéique entre l'antigène circumsporozoite protéin du *Plasmodium falciparum* et HbsAg (Antigène de surface du virus d'hépatite B)

SST: Serum Separator Tube

TCMH: Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

TDR : Test de Diagnostic Rapide

Th1 : Lymphocyte T Helper

TMB: Tetramethylbenzidine

TNF α : Tissu Necrosis Factor α

USTTB : Université des Sciences, Techniques et de Technologies de Bamako

UV : Ultraviolet

VCAM : Vascular Cellular Adhesion Molecule

VGM : Volume Globulaire Moyen

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VPM : Volume Plaquettaire Moyen

WBC : White Blood Cell

Mis en forme : Français (France)

Mis en forme : Français (France)

Mis en forme : Français (France)

Définitions de quelques termes :

- ✓ **Schizogonie** : Cycle de reproduction asexuée notamment chez les sporozoaires et autres protozoaires
- ✓ **Sporogonie** : cycle de reproduction sexuel consistant en la formation des sporozoïtes par méiose du zygote, le sporogone.
- ✓ **Innocuité**: Terme désignant l'absence de nocivité.
- ✓ **Immunogénicité** : C'est la capacité d'un corps étranger introduit dans l'organisme (vaccin) à produire une réponse immune dirigée contre lui.
- ✓ **Clairance de la créatinine** : C'est le coefficient d'épuration plasmatique ou nombre de ml de plasma totalement épurés par le rein dans l'unité de temps.
- ✓ **ELISA** : C'est un test Immunoenzymatique analytique quantitative ou qualitative consistant à doser un anticorps ou un antigène dans le sérum

I. INTRODUCTION

Le paludisme est une érythrocytopathie fébrile, hémolysante due à la présence et à la multiplication dans les hépatocytes ensuite dans l'érythrocyte d'un hématozoaire du genre *Plasmodium* transmis à un hôte vertébré par la piqûre d'un moustique femelle du genre *Anopheles*. Selon les estimations de l'organisation mondiale de la santé (OMS), 216 millions de nouveaux accès palustres cliniques sont survenus à l'échelle mondiale en 2016 et 445 000 personnes sont décédées du paludisme. Plus de 90% de ces décès sont survenus en Afrique subsaharienne, les autres victimes se trouvant pratiquement toutes en Asie du Sud-Est et en Amérique du Sud [1]. La quasi-totalité de ces décès sont imputables à *Plasmodium falciparum* et les enfants africains de moins de 5 ans en sont les victimes les plus fréquentes avec un taux élevé de morbidité et de mortalité. En plus des enfants, les femmes enceintes (majoritairement les primigestes) paient aussi un lourd tribut avec un risque d'accouchement prématuré et un faible poids à la naissance. Le paludisme a donc un impact négatif sur l'économie et l'éducation dans un pays où il est endémique. Le paludisme est endémique environ dans 91 pays en 2016 contre 108 en 2000 [2]. Cependant, les adultes qui vivent depuis l'enfance dans des zones caractérisées par une forte transmission palustre et qui continuent de résider dans ces zones sont prémunis (maintiennent une immunité contre le *plasmodium* après une exposition répétitive) et ne risquent généralement pas de mourir de paludisme.

Les campagnes d'éradication menées contre le paludisme ont connu des échecs du fait de la complexité du cycle de vie du *Plasmodium*, de sa résistance aux antipaludiques, des échecs observés dans la lutte anti-vectorielle et la compréhension incomplète des paramètres immunitaires assurant la protection contre la maladie ; le développement d'un vaccin antipalustre est l'outil qui permettrait le contrôle de l'infection voire même son éradication. De nos jours pratiquement tous les médicaments antipaludiques semblent être touchés à des degrés différents par la chimiorésistance qui s'étend géographiquement et en intensité [3].

Les stratégies de lutte contre le paludisme sont :

- ✓ La chimio prophylaxie chez les femmes enceintes (traitement présomptif intermittent), les touristes et les militaires ;
- ✓ La prise en charge précoce des cas cliniques (TDR et CTA) ;
- ✓ La chimio-prévention du paludisme saisonnier chez les enfants de moins de 5 ans en Zone sahélienne ;
- ✓ La chimio-prévention du paludisme des nourrissons en Afrique ;
- ✓ La réduction du contact homme-vecteur par l'utilisation des supports imprégnés d'insecticide ;

- ✓ La pulvérisation intra-domiciliaire avec les insecticides ;
- ✓ La recherche et le développement d'un vaccin anti palustre [4].

Les vaccins constitueront à cet effet un outil essentiel de lutte contre ce fléau. Les efforts de développement de vaccin antipaludique se sont concentrés essentiellement sur trois étapes du cycle biologique de *P. falciparum* notamment la phase hépatique (l'invasion des hépatocytes par les sporozoïtes), la phase érythrocytaire (l'invasion des hématies par les mérozoïtes) et les vaccins bloquant la transmission. La vaccination ciblant le stade hépatique (cliniquement silencieux) de l'infection fournira idéalement une immunité protectrice stérile, empêchant la progression de l'infection au stade sanguin et aux manifestations cliniques de la maladie, ainsi qu'à la transmission des parasites aux moustiques.

Le centre de recherche et de formation sur le paludisme (MRTC) de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), en partenariat avec l'institut national de la santé (NIH) des Etats Unis a mené depuis les années 1996 des études de préparation du site de Donéguébougou pour tester des candidats vaccins antipaludiques.

Pour effectuer un essai clinique il faut des volontaires qui ne souffrent d'aucune maladie chronique et qui doivent avoir des paramètres biologiques dans les normes selon le protocole. Pour avoir une taille suffisante de volontaires en bonne santé il faut beaucoup d'analyses biologiques et des examens paracliniques *in vivo* et une grande partie des volontaires recrutés sont exclus durant ce stade de sélection (screening).

Les conditions biologiques constituant les critères d'inclusion et de non inclusion sont quasiment les mêmes pour les essais cliniques de vaccins antipaludiques. Puisqu'il s'agit d'avoir des volontaires ayant le cœur, le foie, les reins et le tissu hématopoïétique en bon état. Et n'être pas en état de grossesse pour les femmes.

Les résultats de ces analyses sont interprétés en se basant sur des valeurs de références dites normes biologiques.

Les valeurs de références ou normes biologiques ont pour intérêts de déterminer les différentes valeurs que peuvent prendre les résultats de tests biologiques d'un groupe d'individus bien définis. Bien que ces normes biologiques soient importantes dans les études cliniques, cependant Il y a eu peu d'études sur les normes biologiques dans la population africaine [5]. Dans les pays en voie de développement comme le Mali l'interprétation des résultats d'analyses biologiques se fait en fonction des valeurs de références récoltées dans des pays développés comme les pays de l'Europe et certains pays d'Amérique. C'est pour cela Vincent-Very et al. ont conclu que l'établissement des valeurs de référence pour chaque type de population donnée a une importance sur le plan scientifique et diagnostique [6]. À ces

tests biologiques s'ajoute l'électrocardiogramme qui est un examen indispensable au dépistage, au diagnostic et à la prise en charge des maladies cardiovasculaires. Le screening est une étape cruciale qui s'appuie sur ces valeurs de références pour inclure ou exclure les volontaires dans les essais cliniques.

Le présent travail a pour but d'évaluer la place des pathologies et des conditions biologiques anormales excluant les volontaires des essais cliniques de vaccins antipaludiques à Donéguébougou, Mali.

II. OBJECTIFS

Pour atteindre le but de ce travail nous nous sommes fixés comme objectifs :

Objectif principal:

Evaluer les différentes conditions biologiques excluant les volontaires de 2 essais cliniques de vaccin antipaludique en 2014 et 2016.

Objectifs spécifiques:

1. Mesurer la fréquence des cas d'ECG anormal, des cas de Créatinémie élevée, des cas d'hépatites (ALAT) et anomalies hématologiques (NFS) au cours du dépistage chez les volontaires de l'essai clinique de vaccin antipaludique à Donéguébougou.
2. Déterminer la fréquence de l'Hépatite B, l'Hépatite C et du VIH au cours du dépistage chez les volontaires de l'essai clinique de vaccin antipaludique à Donéguébougou.
3. Déterminer le taux des anomalies urinaires révélées par les bandelettes (protéinurie et hématurie) au cours du dépistage chez les volontaires de l'essai clinique de vaccin antipaludique à Donéguébougou.
4. Déterminer la fréquence des femmes en état de grossesse au cours du dépistage chez les volontaires de l'essai clinique de vaccin antipaludique à Donéguébougou.

III GENERALITES

III.1 Généralités sur le paludisme :

Le paludisme est un problème majeur de santé publique, les moyens utilisés jusqu'à présent dans la lutte contre ce fléau se sont montrés insuffisants en raison de la complexité du cycle de vie du parasite, qui échappe au système immunitaire de l'hôte.

Les agents causaux du paludisme sont: *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* et *P. knowlesi* qui est une espèce simienne qui peut infester l'homme [7]. Le *P. ovale* se subdivise en 2 sous-espèces qui sont: *P. ovale curtisi* (forme classique) et *P. ovale wallikeri* [8]. Pour en finir avec la présentation des différents parasites responsables du paludisme, il faudrait signaler l'existence d'une autre espèce simienne qui peut accidentellement infecter l'homme. Il s'agit de *Plasmodium cynomolgi* [4]. Parmi ces espèces de Plasmodies, *P. falciparum* est de loin la plus redoutable car elle est responsable du neuropaludisme et des décès liés au paludisme. Sa virulence est due en partie à la capacité des hématies parasitées à former des rosettes avec des hématies non parasitées et à cytoadhérer dans les capillaires des organes nobles comme le cerveau, les poumons, l'intestin et le placenta [9]. Par sa variabilité antigénique il peut échapper à la réponse immunitaire de l'hôte [10].

III.1.1. Cycle biologique du paludisme:

Tous les parasites du paludisme ont besoin de deux hôtes dans leur cycle de vie: l'hôte définitif où a lieu le développement sexué (anophèle femelle) et l'hôte intermédiaire (l'homme par exemple) où se produit le développement asexué. Le cycle asexué ou schizogonie se passe chez l'homme tandis que chez l'*Anopheles* femelle se déroule le cycle sexué ou sporogonie.

➤ Schizogonie intra-hépatocytaire:

L'anophèle femelle lors de son repas sanguin inocule les sporozoïtes dans la circulation sanguine avec sa salive et ceux-ci circulent pendant une courte période (2-30 min) avant de pénétrer dans les hépatocytes. Dans les hépatocytes, les sporozoïtes se transforment en schizontes pré-érythrocytaires qui engendrent des mérozoïtes (stade hépatique de 5-15 jours), mais chez *P. ovale* et *P. vivax* il y a la formation d'hypnozoïtes (formes dormantes). Un sporozoïte unique qui se divise peut donner naissance à un schizonte multinuclé de 30.000 mérozoïtes filles. Les mérozoïtes issus des schizontes hépatiques sont libérés dans la circulation sanguine et la phase érythrocytaire du cycle débute.

➤ Schizogonie érythrocytaire:

Une fois dans la circulation sanguine les mérozoïtes pénètrent activement dans les érythrocytes, où ils se transforment d'abord en ring (anneaux) (0-24h), puis en trophozoïte

(24-35h) et par la suite en schizonte (35-48h) où les mérozoïtes sont produits. Les mérozoïtes sont libérés dans la circulation sanguine après la rupture des schizontes pour entamer un nouveau cycle érythrocytaire selon l'espèce [11].

➤ **Cycle sexué ou sporogonie:**

Après plusieurs cycles asexués schizogoniques, certains mérozoïtes érythrocytaires se différencient en gamétocytes mâles et femelles sous l'effet de la pression immunitaire et médicamenteuse. En prenant son repas sanguin sur un sujet infesté, l'*Anopheles* absorbe les différents stades du parasite et les éléments asexués sont digérés. Les gamétocytes femelles se transforment en macro gamètes. La microgametogenèse transforme le gamétocyte mâle en microgamètes par exflagellation et division nucléaire. La fécondation d'un macrogamète par un microgamète donne naissance à un zygote qui se transforme en ookinète mobile. Ce dernier traverse la paroi de l'estomac de l'*Anopheles* et forme un oocyste à l'intérieur duquel s'individualisent les sporozoïtes haploïdes (N chromosomes). À la maturité l'oocyste éclate et libère les sporozoïtes qui migrent dans la glande salivaire de l'*Anopheles*. Ils sont inoculés à l'homme lors d'un repas sanguin infectant [11].

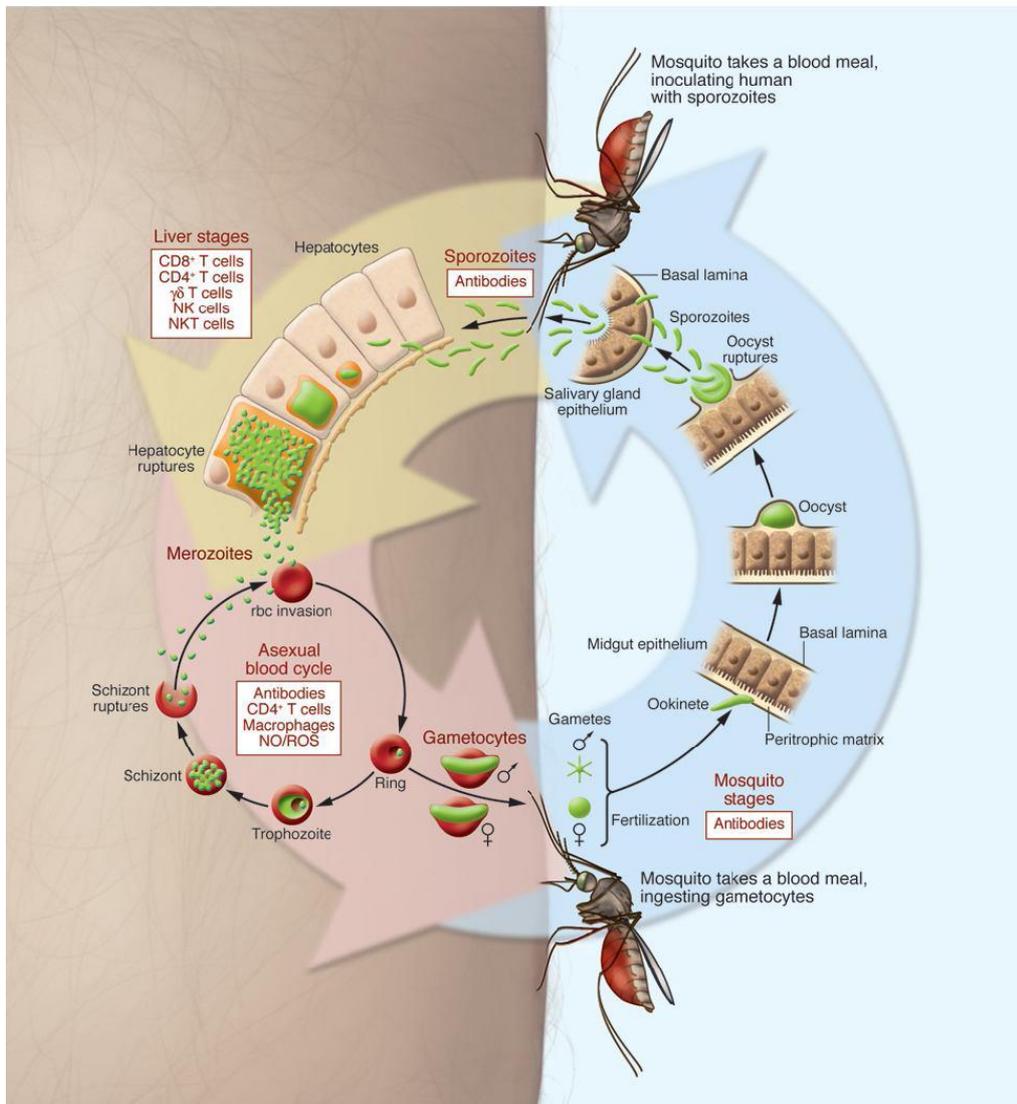


Figure1: Cycle de *Plasmodium falciparum* et mécanismes immunitaires de l'hôte à chaque phase du cycle du parasite.

Source :[https://encryptedtbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcQBPr95re3L58tEki5G_IZ0iUQEgYIPRfzu-tVOBquGwpIV4OBS]

III.1.2. Immunologie du paludisme

Lors d'une infection palustre l'organisme humain se défend par deux mécanismes immunitaires qui sont:

- **L'immunité naturelle ou innée :**

Elle se traduit chez l'homme par un état réfractaire au parasite dès le premier contact, relevant de la constitution génétique de l'homme. Certaines personnes sont protégées du fait qu'elles n'ont pas des conditions optimales pour la pénétration ou le développement des parasites:

✓ Le type hémoglobinique du globule rouge (hémoglobines S et F);

Concernant l'hémoglobine 2 mécanismes de protection possibles sont avancés :

- la suppression de la croissance des parasites dans les globules rouges défectueux ;
- et un accroissement de la clairance splénique des érythrocytes infectés [12].

S'agissant de l'hémoglobine F les mécanismes de protection peuvent être :

Un taux élevé d'invasion parasitaire dans les hématies contenant HbF, ayant comme conséquence peu de parasites disponibles pour l'invasion des hématies contenant HbA ; et la croissance lente à l'intérieur des hématies contenant HbF [12].

✓ L'équipement enzymatique intraérythrocytaire (déficit en glucose 6 phosphate déshydrogénase);

Une réplication réduite des parasites dans les hématies déficitaires en G6PD peut être le mécanisme probable de protection contre le paludisme à *P. falciparum* [12].

✓ Et la nature des récepteurs membranaires de l'hématie (absence de facteur de Duffy)

L'antigène Duffy est une molécule de la membrane érythrocytaire indispensable à l'adhésion de *P. vivax* sur l'hématie. Son absence empêcherait l'invasion des érythrocytes par *P. vivax* [12].

✓ Les cellules de l'immunité innée qui sont: les granulocytes (les polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et basophiles), monocytes/macrophages, les cellules dendritiques et les tueuses naturelles;

Les monocytes/Macrophages : Les monocytes/macrophages secrètent des facteurs solubles comme les cytokines et libèrent l'oxyde nitrique (NO), les radicaux libres oxygénés (O_2^- , OH⁻) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) nuisibles pour le parasite.

Les granulocytes : Les granulocytes interviennent dans la protection contre le paludisme en phagocytant le parasite.

Les cellules NK : Elles sont impliquées dans la destruction des cellules parasitées.

Les cellules Dendritiques : Ces cellules interviennent comme cellules présentatrice d'antigène.

✓ Le système de complément;

Ce système nommé C joue un rôle important dans la défense contre les pathogène par l'opsonisation, la réponse inflammatoire, l'élimination des complexes antigène-anticorps ou par destruction des pathogènes [13].

➤ **L'immunité acquise:**

Elle est une réponse spécifique, impliquant la réponse humorale et cellulaire, un état immunitaire acquis progressivement, provoqué et entretenu par la présence du parasite dans l'organisme ou l'exposition en zone d'endémie. Cette immunité progressivement acquise, éphémère et incomplète, est capable de limiter la charge parasitaire sans stériliser le réservoir parasitaire. De nombreux mécanismes protecteurs, à la fois humoraux, cellulaires et mixtes, spécifiques (déclenchés par la présence du parasite) ou non spécifiques, sont mis en jeu. Le système immunitaire spécifique intervient par des mécanismes effecteurs dirigés contre les différents stades évolutifs du *Plasmodium* (mérozoïtes, schizontes, gamètes et sporozoïtes). Les anticorps (Ac) peuvent inhiber certaines fonctions du parasite, agglutiner les formes libres, favoriser la phagocytose spécifique ou activer la cytotoxicité des macrophages ou des lymphocytes tueurs. L'immunité spécifique à médiation cellulaire est moins bien connue. Les cellules immunocompétentes peuvent détruire le parasite, en déclenchant une hypersensibilité retardée, par cytotoxicité directe ou indirecte médiée par les Ac. Ces mécanismes humoraux et cellulaires, spécifiques ou non interviennent de façon synergique pour limiter la parasitémie.

III.1.3 Clinique sur le paludisme:

- **Signes cliniques:** Les signes de l'infection palustre dépendent des espèces du parasite et l'état immunologique du patient. Parmi les multiples formes que présente le paludisme On en citera:
- ✓ **Paludisme simple:** Simple fièvre souvent associée à des frissons, sueurs, céphalées, myalgies, malaise, anorexie ou nausées. Chez l'enfant, elle peut être associée à des douleurs abdominales, diarrhées et vomissements. Une anémie est fréquente chez l'enfant et la femme enceinte.
 - ✓ **Paludisme Grave:** La fièvre est pernicieuse avec une hyperthermie: au-dessus de 38,5°C pouvant atteindre 42°C :
 - Anémie: La destruction des globules rouges selon la durée et l'intensité peut entraîner une anémie.
 - Fièvre bilieuse hémoglobinurique: Manifestation grave du paludisme à *P. falciparum* observée chez les sujets non prémunis ou à chimio prophylaxie irrégulière par la quinine.

Elle se manifeste par une hémolyse brutale avec frissons, fièvre, vomissements, ictère, anémie et hémoglobinurie.

- Neuropaludisme (Paludisme cérébral): C'est un accès pernicieux cérébral polymorphe dans ses manifestations, il a comme signes les troubles de conscience ou de comportement, les convulsions ou coma.
- Néphrite (inflammation rénale) et insuffisance rénale
- Hypoglycémie
- Troubles électrolytiques et acido-basiques: Dus à l'hypovolémie, déshydratation et acidose respiratoire ou métabolique avec élévation du taux de lactate dans le sang et dans le liquide céphalo-rachidien.
- Œdème pulmonaire aigu
- Collapsus cardio-vasculaire

➤ **Impact de l'accès palustre sur certains paramètres hématologiques et biochimiques :**

○ **Paramètres hématologiques :**

Le paludisme peut s'accompagner le plus souvent d'anémie (destructions des globules rouges), thrombopénie (certains auteurs suggèrent que la destruction périphérique induite par le paludisme, dans lequel les complexes immuns générés par les antigènes paludéens conduisent à la séquestration des plaquettes altérés), et une leucopénie (séquestration des lymphocytes dans certains organes surtout la rate) [14].

○ **Paramètres Biochimiques :**

Le paludisme peut s'accompagner d'une créatinémie élevée [15] et de transaminases élevées [14].

➤ **Diagnostic Biologique:**

La microscopie (goutte épaisse et frottis mince) reste la méthode de référence dans le diagnostic du paludisme. La goutte épaisse consiste à mettre une goutte de sang (environ 10µl) sur une lame, triturer en formant un cercle d'environ un centimètre de diamètre, laisser sécher à l'air libre, le colorer avec le May Grünwald Giemsa (MGG) dilué à 3% pendant 45 minutes ou 10% durant 15-20 minutes, laver délicatement de préférence avec de l'eau distillée (PH=7,2), laisser sécher la lame ensuite passer à l'observation

microscopique avec l'objectif 100. Cette technique est capable de détecter les faibles parasitémies jusqu'à 5 parasites / μ l de sang.

✓ Le frottis mince: Consiste à réaliser un étalement monocellulaire des éléments sanguins. Déposer une petite goutte de sang (3-5 μ L) à l'extrémité d'une lame. Avec une deuxième lame tenue à 45 degrés par rapport à la première, toucher la goutte de sang puis l'étaler d'un mouvement bref sur la première lame pour obtenir un étalement fin. Sécher aussitôt en agitant la lame. Fixer le frottis avec de l'alcool (méthanol 70%) et laisser sécher. Colorer au MGG à 3% pendant 45 minutes ou à 10% pendant 15-20 minutes et passer à l'observation microscopique avec l'objectif 100. Le frottis a pour avantage de distinguer les différentes espèces.

✓ Les autres techniques sont entre autres:

- Le test de diagnostic rapide (TDR),
- La Polymerase Chain Reaction (PCR),
- La Quantitative Buffy Coat (QBC)
- L'Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)

➤ **Traitement:** Les Combinaisons Thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) qui sont Artémether/Luméfantine, Artésunate-Amodiaquine, sont recommandées dans le traitement du paludisme non compliqué par le PNLP au Mali. L'Artémether en première intention et la quinine en formes parentérales sont réservées pour le traitement des formes graves et compliquées. Le traitement préventif intermittent du paludisme est réservé aux femmes enceintes et la Chimio-prévention du paludisme saisonnier (CPS) aux enfants de moins de 5 ans.

III.2. Généralités sur le vaccin:

Le vaccin est une préparation antigénique avec ou sans adjuvant qui, une fois introduite dans l'organisme, induit une réponse immunitaire protectrice apte à s'opposer à l'infection de l'organisme par un micro-organisme.

III.2.1. Différents types de vaccins antipalustres:

➤ Vaccins du stade hépatique:

Ce sont les types de vaccins qui visent à prévenir l'infection de l'homme par la forme métacyclique infestante du *Plasmodium* qui est le sporozoïte. Le mécanisme de cette immunité protectrice n'est pas totalement élucidé mais les lymphocytes joueraient un rôle très important dans la destruction des hépatocytes infectés. Car une expérience de vaccination chez des souris dépourvues de lymphocytes T CD8 n'ont pas été protégées par cette

immunisation [16]. Ces vaccins sont constitués de sporozoïtes entiers atténués par irradiation tel que le PfSPZ NF54 ou d'une partie antigénique du sporozoïte comme la protéine Circumsporozoïte (CSP) [17]. Les anticorps produits contre ce type de vaccin préviendraient l'invasion des cellules hépatiques et par conséquent assureront une protection contre l'accès palustre s'ils étaient efficaces à 100%. Le plus avancé des vaccins de ce stade est le RTS, S qui est constitué de la protéine Circumsporozoïte du *P. falciparum* (RTS) et de la protéine de surface du virus de l'hépatite B (S). Beaucoup d'études se sont accentuées sur l'épitope immunodominant constitué d'un tetrapeptide répétitif (Asn-Ala-Asn-Pro). Le RTS, S est un bon stimulus à la fois de la réponse cellulaire de type Th1 et de la réponse humorale avec une forte production d'anticorps de type IgG. Des résultats d'un essai de phase II en Afrique ont montré que le RTS, S assure une protection de 30-50% mais cette protection est d'une courte durée (12mois) [18]. Il existe d'autres candidats vaccin de ce stade tel que le long synthetic peptide du Liver Stage Antigen (LSA-1 et le LSA-3) [19].

✓ **Vaccins du stade érythrocytaire (vaccins antimerozoïtes):**

Ces vaccins consistent à stopper le cycle érythrocytaire et par la suite éviter la survenue des manifestations cliniques et les complications notamment le neuropaludisme, l'anémie sévère, la défaillance rénale. Les complications provoquées par l'infection à *Plasmodium falciparum* seraient dues à l'adhésion des globules rouges infectés à l'endothélium vasculaire par l'intermédiaire de CD36, InterCellular Adhesion Molecule 1 (ICAM1), vascular cellular adhesion molecule (VCAM) et la E-selectine, au placenta grâce à la Chondroïtine sulfate A (CSA). La séquestration des globules rouges infectés peut entraîner un dysfonctionnement des organes à travers une obstruction microvasculaire et le largage des cytokines synthétisées telles que le Tumour Necrosis Factor alpha (TNF α) et d'autres médiateurs tel que l'oxyde nitrique (NO). Les molécules les plus étudiées pour le développement de ce type de vaccins sont «l'Apical membrane Antigen 1» (AMA1) et le «Merozoïte Surface Protein» (MSP).

✓ **Vaccins bloquant la transmission (vaccins antigametocytes):**

Ces vaccins ont pour cible les gamétocytes, le zygote et l'ookinète ce qui interrompt le développement du *Plasmodium* dans le tube digestif de l'*Anopheles*. Ils induisent la production des immunoglobulines dirigées contre les formes sexuées du parasite afin d'empêcher leur évolution au stade de sporozoïte dans la glande salivaire de l'*Anopheles* [20]. Le Pfs25, le Pfs230 et le Pfs28 sont les plus étudiés parmi ce genre de vaccin. La réponse humorale dirigée contre le Pfs28 bloque la transmission du *Plasmodium falciparum* de l'homme au moustique et agit en synergie avec celle du Pfs25 s'ils sont utilisés en

combinaison [21] . Ce genre de vaccin ne protège pas directement la personne vaccinée mais plutôt son entourage.

III.2.2 Difficultés de la mise au point d'un vaccin antipaludique:

L'infection plasmodiale érythrocytaire asexuée est naturellement une infection chronique. Cela signifie que le parasite, au cours de son évolution et de son adaptation à son hôte humain, a su développer une stratégie efficace pour échapper au système immunitaire d'individus immunocompétents. Si on souhaite mettre au point un vaccin antipaludique conférant une immunité stérilisante, il faut «faire mieux que la nature». La variabilité et la complexité antigénique du *Plasmodium*, la sélection de l'adjuvant et l'inadaptation du modèle rare disponible sont les principaux obstacles dans la mise au point d'un vaccin antipaludique.

➤ La complexité et la variabilité antigénique:

La variabilité antigénique peut permettre à certains parasites d'échapper à la réponse immune de l'hôte. Les *Plasmodiums* expriment un grand nombre d'antigènes (probablement 5300 chez *P. falciparum*) qui diffèrent d'un stade parasitaire à l'autre. Les antigènes exprimés sont souvent polymorphes d'un clone parasitaire à l'autre et certains antigènes sont polymorphes au sein d'un même clone parasitaire.

➤ Inadéquation de modèles rares disponibles:

Il n'y a pas un modèle animal semblable à l'être humain pour l'étude de l'immunogénicité de *Plasmodium falciparum*. Néanmoins certains animaux comme le singe, les rongeurs et certains oiseaux ont rendu un important service aux chercheurs. Particulièrement les singes malgré le fait qu'ils ne présentent pas des signes cliniques du paludisme mais sont réceptifs à l'infestation du paludisme, même s'il est difficile d'évaluer les effets d'un éventuel vaccin contre les infections palustres dues à *P. falciparum* chez ces singes.

➤ La sélection des adjuvants:

Les adjuvants par définition sont des substances susceptibles d'augmenter l'intensité ou de diriger la réponse immunitaire contre un antigène administré simultanément. Ils font partie des composantes du vaccin et sont indispensables à l'efficacité de très nombreux vaccins. 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 inactivés qui ne peuvent pas parfaitement imiter une infection naturelle et des vaccins sous-unitaires qui se réduisent parfois à des simples peptides. L'utilisation des adjuvants dans la formulation des vaccins permet d'obtenir des taux plus élevés d'anticorps avec moins d'antigène. Cependant les adjuvants ne sont pas dépourvus

d'effets secondaires car ils peuvent être responsables de fièvres, d'allergie, voire même du déclenchement de maladies auto-immunes. Les chercheurs s'emploient actuellement à utiliser des adjuvants efficaces avec moins d'effets secondaires. Le choix idéal est l'adjuvant qui est très immunostimulant mais présentant moins d'effets secondaires.

III.3. Généralités sur l'essai vaccinal:

L'essai vaccinal a pour but de mesurer les données probantes sur l'innocuité et l'efficacité du candidat vaccin administré à l'homme. De plus en plus de candidats vaccins sont évalués dans des essais cliniques. Ces essais font suite à des études précliniques menées *in vitro* puis sur des modèles animaux pour vérifier l'innocuité, évaluer l'immunogénicité et, parfois, donner des indications sur l'efficacité potentielle des réponses immunes induites. Le vaccin doit être entièrement caractérisé (en incluant fabrication, formulation, contrôle de qualité, production et stabilité uniformes démontrées) et approuvé pour des essais chez l'homme par une autorité expérimentée en matière d'enregistrement. Les conditions acceptables de stockage doivent être définies et la voie d'administration doit être spécifiée. Ces essais cliniques comprennent 4 différentes phases dont le résultat d'une phase constitue une condition *sine qua non* dans la réalisation de la phase suivante. Pour réaliser chacune des phases d'un essai vaccinal nous avons besoin des volontaires bien portants. Le volontaire après le consentement éclairé ou l'assentiment et l'examen clinique, doit passer d'abord faire l'électrocardiogramme ensuite aller au laboratoire d'analyse biomédicale pour des prélèvements sanguins, d'urine et parfois de selles. Ces prélèvements sont analysés afin de pouvoir apporter des éclaircissements sur l'état de santé du volontaire au préalable. Le screening est crucial pour certifier l'état de santé des volontaires afin de pouvoir les enrôler dans l'essai vaccinal. Ces examens font partie des critères d'inclusion et de non inclusion.

III.3.1. Population d'étude d'un essai vaccinal:

La population d'étude d'un essai vaccinal est l'ensemble des personnes auxquelles s'adresse l'étude. En général cette population semble très vague d'où la nécessité de prélever un échantillon représentatif de la population pour effectuer l'étude. Définir cette population consiste à savoir:

- La population à laquelle s'adresse l'étude qu'on va réaliser et à laquelle on souhaiterait généraliser si le vaccin est efficace (extrapolation des résultats)
- Formulation des critères d'éligibilité pour que l'estimation de l'effet du vaccin soit valide (validité interne de l'étude).

III.3.2. Les critères d'éligibilité d'un essai vaccinal:

C'est l'ensemble des critères d'inclusion et de non inclusion dans un essai clinique.

Ils sont définis soigneusement dès la rédaction du protocole de recherche, servant à former une population d'étude homogène, permettant de généraliser l'étude et également les similitudes ou différences entre les études.

➤ Les critères d'inclusion:

Les critères d'inclusion constituent l'ensemble des conditions standardisées que doit avoir un volontaire pour prendre part à un essai vaccinal. Ces critères permettent de définir avec précision la population sur laquelle le vaccin doit être testé. L'âge, le sexe, et surtout les conditions médicales sont les principaux critères. Ils permettent d'obtenir un échantillon représentatif de la population cible.

➤ Les critères de non inclusion:

Ils ne constituent pas le négatif des critères d'inclusion mais servent à protéger le participant (éviter les contre-indications) et à rendre faisable l'étude.

III.3.3. Les différentes phases de développement clinique d'un vaccin:

➤ Phase I:

Les essais de Phase I ont pour objectif d'évaluer chez l'homme l'innocuité et l'immunogénicité des vaccins. Elle se subdivise en Ia et Ib.

La phase Ia se passe chez des volontaires adultes généralement immunologiquement naïfs vis-à-vis du paludisme vivants dans le pays où est développé le vaccin. Ensuite viennent les essais de phase Ib qui doivent être produits chez des adultes puis des enfants semi-immuns (vivant en zone d'endémie) car l'exposition naturelle au paludisme peut influencer sur l'immunogénicité et l'innocuité des vaccins. Cette phase ne nécessite que quelques dizaines de volontaires.

➤ Phase II:

Elle vise à évaluer l'efficacité potentielle du vaccin et à déterminer la posologie optimale.

En plus cette phase fournit des informations sur la tolérance due et nécessite 100 à 200 volontaires. Elle se subdivise en Phase IIa et IIb.

La phase IIa se passe chez les volontaires qui résident dans les zones indemnes du paludisme tandis que la phase IIb se déroule chez les volontaires des zones impaludées.

➤ Phase III:

Elle aussi se subdivise en IIIa et IIIb. Dans cette phase les essais sont effectués sur la population cible naturellement exposée au paludisme qui bénéficiera du vaccin s'il reçoit l'autorisation de mise sur le marché (AMM). Cette phase simule ou produit la future utilisation souhaitable du vaccin. Elle nécessite des effectifs variables mais toujours plus élevés par rapport aux phases précédentes. L'objectif primaire est l'étude du rapport entre la tolérance et l'immunogénicité (IIIa) ; l'objectif secondaire est l'évaluation du rapport entre le coût et l'immunogénicité, celle de la réduction du nombre d'administrations (schéma vaccinal approprié), de la facilité d'emploi du vaccin et les associations vaccinales possibles (IIIb). Parmi les candidats vaccins antipaludiques seul le RTS S a atteint cette phase. Les résultats de cette phase conditionnent l'octroi de l'AMM.

➤ **Phase IV:**

Après la mise sur le marché du vaccin la recherche doit se poursuivre en phase IV. Elle complète les informations obtenues à la suite des phases pré commerciales. Les objectifs sont l'évaluation du rapport risque/bénéfice et, plus accessoirement, celui du coût. La mesure de la prévalence et de l'importance des effets indésirables ou des facteurs de risques associés constitue les principaux sujets de recherche de cette phase. On documente la sécurité d'emploi, les stratégies vaccinales potentielles, l'amélioration du calendrier vaccinal et les associations vaccinales possibles pour faciliter la diffusion.

III.3.4. Les candidats vaccins antipaludiques testés au Mali:

Le développement d'un vaccin suit des étapes successives reliées les unes aux autres dans une procédure répétitive qui a pour but de définir les caractéristiques du candidat vaccin en termes de l'innocuité ou tolérance, d'immunogénicité, d'efficacité et de durabilité des réponses immunitaires induites par le candidat vaccin. Le Mali à travers le MRTC dans le souci d'éliminer le paludisme a commencé à tester les candidats vaccins antipaludiques d'abord à Bandiagara en 2003 puis sur beaucoup d'autres sites de recherche en l'occurrence Donéguébougou et Bancoumana. Les différents travaux d'essais vaccinaux menés au Mali sont résumés dans le tableau suivant:

Tableau I: Liste des candidats vaccins antipaludiques au Mali

N°	Titre	Auteurs	Date	Lieu	Type de vaccins
1	Safety and Allele-Specific Immunogenicity of a Malaria Vaccine in Malian Adults: Results of a Phase I Randomized Trial (FMP1/AS02A)	Mahamadou A Thera et al. [23]	2003	Bandiagara	Vaccin érythrocytaire
2	Safety and Immunogenicity of an AMA-1 Malaria Vaccine in Malian Adults: Results of a Phase 1 Randomized Controlled Trial	Mahamadou A Thera et al. [24]	2008	Bandiagara	Vaccin érythrocytaire
3	Safety and Immunogenicity of an AMA1 Malaria Vaccine in Malian Children: Results of a Phase 1 Randomized Controlled Trial	Mahamadou A Thera et al. [24]	2006	Bandiagara	Vaccin érythrocytaire
4	A Field Trial to Assess a Blood-Stage Malaria Vaccine	Mahamadou A Thera et al. [25]	2008	Bandiagara	Vaccin érythrocytaire

5	Phase 1 randomized controlled trial to evaluate the safety and immunogenicity of recombinant <i>Pichia pastoris</i> - expressed <i>Plasmodium falciparum</i> apical membrane antigen 1 (PfAMA1- FVO [25- 545]) in healthy Malian adults in Bandiagara	Mahamadou A Thera et al. [26]	2016	Bandiagara	Vaccin érythrocytaire
6	Impact of a Plasmodium falciparum AMA1 Vaccine on Antibody Responses in Adult Malians	Alassane Dicko et al. [27]	2004	Donéguébougou	Vaccin érythrocytaire
7	Phase 1 Study of a Combination AMA1 Blood Stage Malaria Vaccine in Malian Children	A. Dicko et al. [28]	2006	Donéguébougou	Vaccin érythrocytaire
8	A randomized and controlled Phase 1 study of the safety and immunogenicity of the AMA1-C1/Alhydrogel® + CPG 7909 vaccine for Plasmodium falciparum malaria in semi-immune Malian adults	Issaka Sagara et al. [29]	2007	Donéguébougou	Vaccin érythrocytaire

9	Evaluation de la tolérance et de l'immunogénicité de l'immunisation par voie intraveineuse avec des sporozoïtes NF54 de <i>Plasmodium falciparum</i> atténués par irradiation (Vaccin PfSPZ) chez les Adultes Africains Bien Portants	Mahamadou S Sissoko et al. [30]	2014	Donéguébougou	Vaccin du stade pré-érythrocytaire
10	Etude double aveugle à doses croissantes et randomisée, contrôlée par placebo pour évaluer l'Innocuité, l'Immunogénicité et l'Efficacité Protectrice des sporozoïtes de <i>Plasmodium falciparum</i> NF54 atténués par irradiation (vaccin PfSPZ) chez les adultes africains en bonne santé au Mali	Mahamadou S Sissoko et al. [31]	2016	Donéguébougou	Vaccin du stade pré-érythrocytaire

11	Clinical Study phase IIb-3 to evaluate the immunogenicity, efficiency and safety for vaccine candidate, mérozoïtes surface protein-3 long synthetic peptide (MSP3) Adjuvant in aluminum hydroxide against <i>Plasmodium falciparum</i> Clinical Malaria in healthy Children aged 12-48 Months in Mali	Mahamadou S Sissoko et al. [32]	2011	Donéguébougou	Vaccin érythrocytaire
12	Essai de Phase I avec Escalade de Dose, en Double Aveugle, Randomisé, Contrôlé de la Tolérance et de l'Immunogénicité des Vaccins Pfs25M-EPA/AS01 et Pfs230D1M-EPA/AS01, Vaccins Bloquant la Transmission du <i>Plasmodium falciparum</i> , à Dose Complète et Fractionnaire chez les adultes au Mali (en cours).	Issaka Sagara et al. [33]	2017	Donéguébougou	Vaccin Bloquant la transmission

13	A randomized controlled phase 2 trial of the blood stage AMA1-C1/Alhydrogel malaria vaccine in children in Mali	Issaka Sagara et al. [34]	2006	Bancoumana	Vaccin érythrocytaire
14	Phase 1 Study of the Safety and Immunogenicity of BSAM-2/Alhydrogel®+CPG 7909, an Asexual Blood Stage Vaccine for <i>Plasmodium falciparum</i> Malaria in Adults in the US and in Bancoumana, Mali	Issaka Sagara et al. [35]	2011	Bancoumana	Vaccin érythrocytaire
15	Phase 1 Study of the Safety and Immunogenicity of Pfs230D1M-EPA/Alhydrogel® and Pfs25M-EPA/Alhydrogel®, a Transmission Blocking Vaccine against <i>Plasmodium falciparum</i> Malaria, in Adults in the US and Mali	Issaka Sagara et al. [36]	2015	Bancoumana	Vaccin Bloquant la transmission

16	Essai de Phase 1 avec Escalade de Dose, en Double Aveugle, Randomisé, Contrôlé de la Tolérance et de l'Immunogénicité des Vaccins Pfs25M-EPA/AS01 et Pfs230D1M-EPA/AS01, Vaccins Bloquant la Transmission du <i>Plasmodium falciparum</i> , à Dose Complète et Fractionnaire chez les adultes au Mali (en cours).	Issaka Sagara et al. [37]	2017	Bancoumana	Vaccin Bloquant la transmission
----	---	---------------------------	------	------------	---------------------------------

17	A double blind, randomized, controlled phase IIB study to evaluate the immunogenicity, efficiency and safety of <i>Plasmodium falciparum</i> vaccine candidate, Mérozoite surface protein-3 long synthetic peptide (MSP3) adjuvant in aluminum hydroxide versus rabies vaccine in healthy children aged 12-48 months in Mali	Mahamadou S Sissoko [38]	2008	Sotuba	Vaccin érythrocytaire
18	Clinical Study phase IIb-3 to evaluate the immunogenicity, efficiency and safety for vaccine candidate, mérozoïtes surface protein-3 long synthetic peptide (MSP3) Adjuvant in aluminum hydroxide against <i>Plasmodium falciparum</i> Clinical Malaria in healthy Children aged 12-48 Months in Mali	Mahamadou S Sissoko [39]	2011	Bougoula Hameau	Vaccin érythrocytaire

III.4 Généralités sur les paramètres du screening:

III.4.1 Electrocardiogramme:

➤ **Définitions:**

- L'ECG est l'enregistrement de l'activité électrique du cœur sur papier millimétrique dans le temps et correspondant à la dépolarisation et à la repolarisation du myocarde.
- La dépolarisation représente l'état actif et commence avant la contraction mécanique des cavités.
- La repolarisation est le retour à l'état de repos ou polarisé. L'enregistrement se fait de la manière suivante:

Onde P -----> courbe de dépolarisation auriculaire

Complexe QRS -----> courbe de dépolarisation ventriculaire

Onde T -----> courbe de repolarisation ventriculaire

PR et ST-----> intervalles entre les courbes de chaque cycle

➤ **Système de conduction du cœur:**

Le lieu normal d'origine de l'influx dans le cœur est le nœud sino auriculaire. Ensuite les oreillettes se dépolarisent et enfin, les ventricules.

➤ **Electrocardiogramme normal:**

L'ECG normal est enregistré sur papier millimétré se déroulant à la vitesse de 25 mm/seconde. Donc 1mm sur l'axe des x représente 1 millivolt.

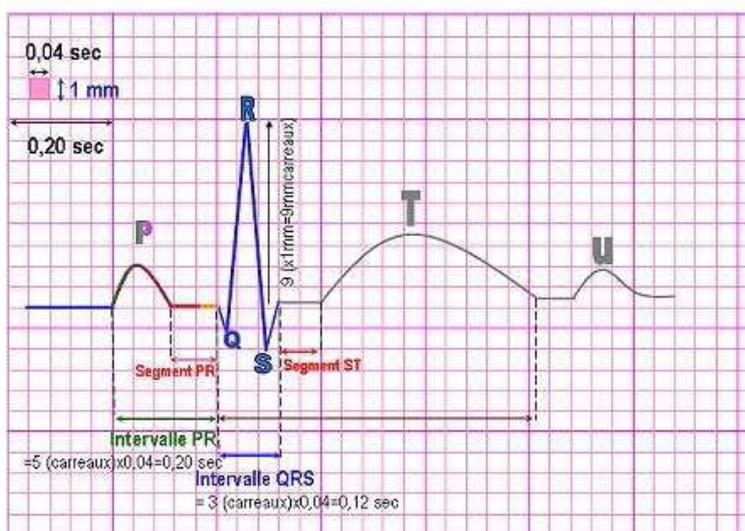


Figure 2 : un électrocardiogramme normal

III.4.2 Paramètres biochimiques:

Il existe une constance dans la composition chimique des milieux biologiques selon les moments et périodes de vie lorsque l'organisme est considéré comme «normal». Les paramètres biochimiques caractérisent les différentes substances de l'organisme dont la concentration est relativement constante et dont le degré de variation permet de juger l'état fonctionnel de l'organisme [40]. L'appréciation quantitative de ces substances par le dosage et la comparaison des résultats obtenus avec des valeurs dites normales ou constantes biologiques permettent de mettre en évidence un état pathologique éventuel. Ces valeurs dites normales résultent d'études statistiques effectuées sur un grand nombre de sujets considérés bien portants et représentatifs de la population dont on veut déterminer les constantes biologiques [41]. Dans le cadre de notre étude nous nous intéressons à deux paramètres biochimiques: la créatinémie qui est un bon indicateur de la fonction rénale et l'alanine aminotransferase (ALAT) pour explorer la fonction hépatique.

➤ **Créatinine:**

✓ **Définition:**

Le terme créatinine fut probablement employé la première fois en 1847 par Justus Von Liebig lorsqu'il décrivit la substance obtenue après avoir chauffé de la créatine en présence de sels minéraux [42]. La créatinine est un composé azoté non protéique, provenant de la créatine par déshydratation de celle-ci en milieu acide. C'est le constituant azoté dont le taux est le plus fixe [43]. Elle subit la filtration glomérulaire et sa clairance mesure le volume du filtrat glomérulaire formé par seconde. Clairance = 2 ml/seconde pour 1,73 m² de surface corporelle.

Catabolisme de la créatine

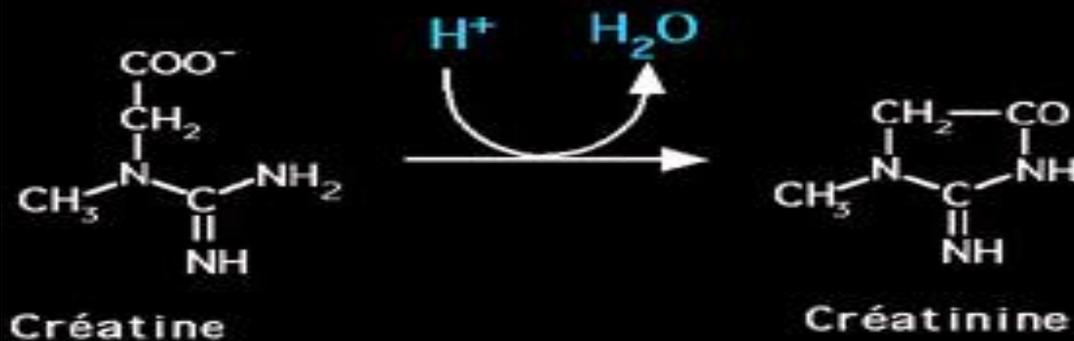


Figure 3: Métabolisme de la créatine

[[source:http://www.chups.jussieu.fr/biochimie/CNbioch/CN_09_pict.jpg]].

✓ Méthodes d'exploration:

- Détermination de la créatinémie:

Le sang total renferme de la créatine et de la créatinine. La créatine se trouve surtout dans les globules rouges à des taux faibles, alors que la créatinine est également répartie entre les globules et le plasma. La concentration en créatinine totale du sang est remarquablement constante chez un sujet donné, en fonction de sa masse musculaire. La créatinine sanguine varie dans les lésions rénales [43]. Son évaluation permet d'apprécier un dysfonctionnement de la filtration rénale.

Le dosage de la créatinine, s'il reflète bien la capacité de filtration glomérulaire, manque toutefois de sensibilité.

- Variation physiologique

o Augmentation :

La créatinémie est élevée en cas d'activité physique intense, d'alimentation riche en protéines animales et en cas de prise de certains médicaments comme les contraceptifs oraux.

Elle est plus élevée chez les hommes que chez les femmes, peut être élevée chez le nouveau-né de façon transitoire (se régularise le mois suivant) et peut augmenter de pair avec l'âge [44].

o Diminution :

La créatinémie peut s'abaisser en cas : d'hémodilution, dénutrition sévère, certaines myopathies, dystrophie musculaire (liste non exhaustive).

- **Clairance de la créatinine:**

Elle établit le rapport entre la quantité de cette substance apportée par le plasma au niveau du rein et la quantité de cette substance éliminée par le rein. Elle représente le rapport entre le débit de la filtration glomérulaire (DFG) et sa concentration dans le sang. Ce volume théorique s'exprime dans le cadre des unités du système international (SI) en ml/seconde.

$$C = \frac{U \cdot V}{P}$$

C = clairance = volume de plasma totalement épuré,

U = concentration urinaire par litre,

P = concentration plasmatique par litre,

V = volume d'urines émises en une seconde (ou une minute).

Actuellement la formule la plus utilisée pour le calcul de la clairance est le MDRD (Modification of the Diet in Renal Disease) :

$$Cl = 186 \times (\text{créatinémie en } \mu\text{mol/l} / 88,4)^{-1,154} \times \text{âge}^{-0,203}$$

A multiplier par 0,742 si sexe féminin et multiplier par 1,21 si sujet de peau noire

- **Signification des variations pathologiques:**

Le taux de créatinine connaît une augmentation dans les cas d'insuffisance rénale ou d'activité physique ou musculaire intense. Si la quantité de créatinine est plus élevée que les mesures moyennes indiquées, cela peut en effet indiquer un mauvais fonctionnement des reins. Cependant, le taux de créatinine varie d'un individu à l'autre mais aussi selon le mode de vie. Par exemple, chez un grand sportif la créatinémie sera logiquement plus élevée puisque les muscles auront travaillé plus que la moyenne et qu'ils auront donc dégradé plus de créatinine. Donc tout au long de l'évolution d'une néphropathie, ceux sont les valeurs de la créatininémie et de la clairance de la créatinine qui mesurent le degré d'insuffisance rénale et motivent de ce fait les attitudes thérapeutiques.

- **Méthodes de dosages:**

La créatinine peut être mesurée dans le sang et les urines par deux grands types de techniques: d'une part, les méthodes dérivées de la classique réaction de Jaffé, dites colorimétriques et, d'autre part, les méthodes enzymatiques.

- **Recommandations avant de faire le prélèvement :**

Sujet de préférence à jeun, pas d'activité physique intense, exclure l'alimentation riche en protéines animales [44].

- **Réaction de Jaffé:**

En 1886, Jaffé décrit la réaction, qui portera son nom, entre le picrate et la créatinine, qui, en milieu alcalin, donne une solution de couleur rouge-orange [43]. Après défécation à l'acide trichloracétique, on utilise la réaction de Jaffé. La créatinine au contact d'un picrate alcalin donne une coloration orange. La créatine ne donnant pas cette réaction, la créatinine préformée est dosée seule. La lecture est effectuée à 510 nm. Les analyseurs modernes peuvent mesurer à partir du sérum, plasma ou urines la cinétique d'obtention de la coloration. On reproche à cette réaction de Jaffé son manque de spécificité. Les protéines, le glucose, l'acide ascorbique, les corps cétoniques peuvent en effet interférer sur la coloration. Malgré ces réserves, le dosage colorimétrique de la créatinine est encore aujourd'hui très utilisé et satisfait les exigences de la clinique néphrologique.

- **Méthodes enzymatiques:**

- **La spectrorélectométrie:**

L'analyse est basée sur une hydrolyse enzymatique de la créatinine par la créatine aminohydrolase entraînant la production N-méthylhydantoïne et ce dernier donnant une coloration bleue en réagissant avec le bleu de bromophénol.

Le changement de couleur produit par l'ammoniac peut être mesuré à 600 nm par réflectométrie.

Créatinine

Créatinine + H₂O -----> N méthylhydantoïne + NH₃

Aminohydrolase

NH₃ + bleu de bromophénol -----> coloration bleue.

- **Méthode enzymatique lecture UV:**

Dans ce cas la créatinine est catalysée sous l'action de plusieurs enzymes pour générer le pyruvate et le NADH. Ce dernier sous l'action de la lactate déshydrogénase va entraîner la formation du lactate et du NAD⁺. La cinétique décroissante de disparition du NADH suivie à 340 ou 366 nm est proportionnelle à la quantité de créatinine initiale présente. Dans la méthode enzymatique la plus utilisée de nos jours, la créatinine est d'abord dégradée en créatine par la créatininase (ou créatinine amidohydrolase). La créatine est ensuite convertie par la créatinase en sarcosine [45] qui est, elle-même convertie en formaldéhyde, glycine et

eau oxygénée par une sarcosine peroxydase [46]. La production d'eau oxygénée est quantifiée par une dernière réaction enzymatique (qui peut varier selon les fabricants).

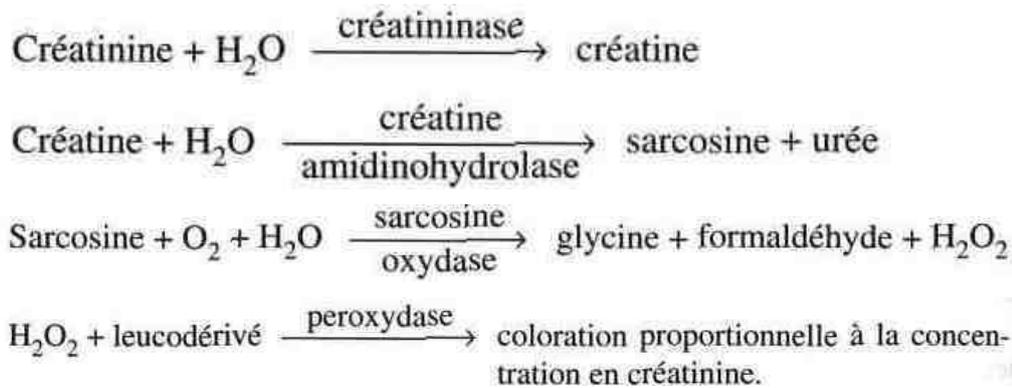


Figure 4: Réaction de dégradation de la créatinine [43]

➤ **L'alanine aminotransferase (ALAT):**

✓ **Définition et rôle:**

L'ALAT, acronyme d'Alanine Amino Transférase, aussi appelée Transaminase Glutamique Pyruvique (GTP) est une enzyme intracellulaire faisant partie des transaminases. Elle est présente essentiellement dans les muscles striés, muscles à commande volontaire, et surtout dans le foie. Cette enzyme principalement trouvée dans le foie, est normalement présente dans le sérum à basse concentration, mais libérée dans le sang en plus grande quantité lorsque les lésions des membranes entraînent une augmentation de la perméabilité voire une nécrose des hépatocytes [47]. Elle est impliquée dans le métabolisme protéique, glucidique (la néoglucogenèse en particulier) et lipidique par le pyruvate formé. L'ALAT catalyse le transfert du groupement NH₂ d'une fonction amine sur un récepteur cétonique. Elle catalyse le transfert de la fonction amine de l'alanine vers l'α-cétoglutarate qu'elle transforme en glutamate. Dans un premier temps, l'ALAT se lie à l'alanine puis transfère la fonction amine sur un coenzyme lié: le phosphate de pyridoxal (PPal) qui devient phosphate de pyridoxamine (PPine) sans cesser d'être lié à l'enzyme. L'enzyme se dissocie alors du pyruvate. Dans le second temps, l'enzyme liée au phosphate de pyridoxamine, forme un complexe avec l'α-cétoglutarate, puis transfère la fonction amine du coenzyme qui redevient phosphate de pyridoxal, vers le second substrat qui est transformé en glutamate. Enfin, le complexe ALAT-glutamate se dissocie, l'enzyme et son coenzyme retrouvent leurs structures initiales.

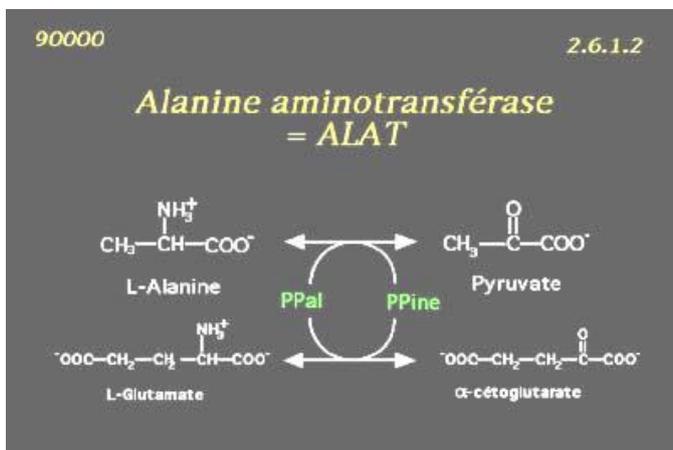


Figure5: Activité de l'ALAT

[source:http://www.chups.jussieu.fr/biochimie/CNbioch/CN_02_pict.jpg].

Les valeurs normales:

Les valeurs normales de l'activité sérique des transaminases sont différentes d'un laboratoire à un autre, une valeur élevée indique la présence d'une anomalie mais ne définit pas une maladie.

Les variations physiologiques:

Les valeurs normales diffèrent d'un laboratoire à un autre du fait de la technique de dosage, mais aussi de la taille de population témoin considérée ou du fait de variations démographique ou géographique. Dans la pratique quotidienne, au moment du prélèvement, certaines situations liées à l'échantillon peuvent influencer, le plus souvent modérément, les résultats du dosage comme l'exercice physique, la position assise ou debout, la stase veineuse ou l'hémolyse.

- **Diminution:**

L'activité sérique de l'ALAT diminue pendant la grossesse et lors du déficit en vitamines B6.

- **Augmentation:**

Une activité sérique augmentée de l'ALAT est plus souvent observée chez l'homme que chez la femme, chez les sujets d'origine hispanique ou indienne aux Etats-Unis, entre 25 et 35 ans et chez les mariés [48]. Enfin, l'ALAT est plus élevée lorsque la consommation de cigarettes est supérieure à 20 par jour [49]. L'augmentation du taux de TGP signe en effet une cytolyse hépatique qui permet de suivre l'évolution d'une affection hépatique et une rechute éventuelle de cette affection. Dans les hépatites aiguës, l'augmentation des transaminases

mais surtout des TGP commence avant même que l'ictère ne soit déclaré [43]. L'augmentation des transaminases est le seul signe biologique des hépatites anictériques. Dans les hépatites chroniques, l'augmentation des transaminases est modérée, elle traduit l'atteinte parenchymateuse par nécrose cellulaire. Les obstructions des voies biliaires provoquent aussi une augmentation modérée des transaminases. Le retour à la normale est rapide.

✓ **Les étiologies des transaminases élevées:**

Suivant le contexte et la clinique il y a:

- **En pathologie cardiaque:**

L'augmentation de l'ASAT (GOT) dans l'infarctus du myocarde survient habituellement 6 à 8 heures après le début des signes cliniques pour atteindre une valeur maximale après 24 à 36 heures. Le retour à la normale se fait en général dans les 5 jours. L'ALAT (GPT) n'est que peu ou pas augmentée.

- **En pathologie musculaire:**

Certaines myopathies et principalement la dystrophie musculaire progressive type Duchenne provoquent une élévation de l'ASAT (GOT).

- **En pathologie hépatique:**

ASAT (GOT) et ALAT (GPT) sont des indicateurs de souffrance cellulaire. L'augmentation est variable selon le type de pathologie:

- Dans l'hépatite virale aiguë, les valeurs maximales atteintes s'échelonnent de 30 à 100 fois la limite supérieure des valeurs de référence; l'ALAT augmente plus fortement que l'ASAT.
- Dans l'hépatite toxique les valeurs des transaminases peuvent être comparables à celles obtenues lors de l'hépatite virale aiguë.
- Dans l'hépatite alcoolique, l'élévation est plus modérée et le rapport ASAT/ALAT augmenté.
- L'augmentation est modérée lors d'ictères obstructifs.
- Lors de cirrhose, l'augmentation ne dépasse généralement pas 4 à 5 fois la limite supérieure des valeurs de référence.
- Le cancer primaire ou secondaire du foie provoque une majoration souvent modérée des transaminases, l'augmentation porte alors davantage sur l'ASAT (GOT).

✓ **Mesure de l'activité de l'enzyme:**

En général, le dosage des enzymes se fait de manière indirecte, en évaluant une propriété proportionnelle à la concentration d'enzyme :

- Soit une propriété physique : C'est la méthode calorimétrique, qui consiste à mesurer la quantité de chaleur dégagée lorsque l'on ajoute du substrat en excès à un milieu adéquat contenant l'échantillon d'enzyme à doser.
- Soit une propriété cinétique : C'est la mesure de l'activité enzymatique, la mesure est faite dans les conditions particulières où cette dernière est proportionnelle à la concentration de l'enzyme.

Ce procédé s'adapte parfaitement à l'analyse avec les automates et consiste à suivre l'évolution de la réaction en fonction du temps. La substance dont on mesure la vitesse de disparition ou d'apparition doit posséder une propriété spectrale spécifique dans l'UV ou le visible. L'enregistrement des variations d'absorbance en fonction du temps est la technique la plus simple, la plus rapide et la plus spécifique.

III.4.3 Paramètres hématologiques (Hémogramme):

➤ Définition:

C'est l'analyse quantitative et qualitative des éléments figurés du sang [50] . L'hémogramme consiste à:

- ✓ Faire la numération des cellules sanguines circulantes dans 1mm^3 de sang périphérique
- ✓ Calculer les constantes hématométriques
- ✓ Établir la formule leucocytaire
- ✓ Étudier leur morphologie

➤ Principe de fonctionnement des automates d'Hémogramme :

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

- ✓ La détection du volume des particules par variation d'impédance:
 - Appelé encore, principe Coulter du nom de son inventeur: elle est la méthode de référence.
 - L'appareil utilise les variations d'une résistance électrique afin de déterminer la taille des cellules sanguines.
 - Les cellules en passant à travers une ouverture déplacent un volume égal de conducteur. De plus un courant électrique est appliqué au niveau de cette ouverture. Chaque passage d'une cellule à travers l'ouverture provoque alors une augmentation de la résistance électrique. Cette augmentation est traduite en impulsions électriques dont la hauteur est directement proportionnelle au volume cellulaire. La détermination de la taille de la cellule

est donc basée sur le déplacement du liquide et on obtient par conséquent la mesure du volume cellulaire (c'est- à- dire le VGM) directement.

✓ La mesure optique:

Elle associe la cytométrie en flux et la diffraction lumineuse. La source de lumière peut être un laser ou une lampe au tungstène. La cytométrie en flux consiste globalement à faire défiler une à une des cellules devant un faisceau laser. Plus précisément, on utilise d'abord un système d'hydrofocalisation qui va permettre de canaliser les cellules et de les faire passer en file indienne. Lors de leur passage à travers le laser, elles émettent des signaux lumineux qui sont analysés par l'ordinateur associé au cytomètre. Ces signaux peuvent être de plusieurs natures comme par exemple une diffraction de la lumière par la cellule qui est alors liée à sa taille ou un signal de fluorescence émis spontanément par la cellule ou parce qu'elle a été marquée par un antigène, une coloration.

➤ **Les paramètres de l'hémogramme:**

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

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

➤ **Analyse quantitative:**

Dans le cadre de notre travail nous nous intéressons à 4 paramètres de l'hémogramme à savoir le nombre total de globules blancs ou leucocytes par unité de volume, le nombre de granulocyte qui est une sous-population de leucocyte, le taux d'hémoglobine et le nombre de plaquettes par unité de volume.

✓ **Globules blancs ou leucocytes:**

Les globules blancs ou leucocytes sont des cellules mobiles possédant tous des organites fondamentaux des cellules animales et qui jouent un important rôle dans la défense de l'organisme. Le comptage des globules blancs est fait sur le même prélèvement que les globules rouges et par le même appareil. Il y a différentes sous-populations de leucocytes à savoir les polynucléaires ou granulocytes et les mononuclées.

- **La sous-population des mononuclées comprend:** les monocytes/macrophages (dans le sang/dans les tissus) et les lymphocytes.

- **La sous-population des polynucléaires comprend:**

• **Les polynucléaires neutrophiles (PNN):**

C'est une cellule arrondie avec une taille de 12 à 14 μm , un noyau polylobé (3 à 5 lobes), un cytoplasme contenant de petites granulations marron claires (granulations neutrophiles). Sa durée de vie dans le sang varie de 6-12H. Le polynucléaire neutrophile a des propriétés de phagocytose, et de bactéricide. Le taux sanguin chez l'adulte est compris entre 45-75% soit en valeur absolue $1,7-7,5 \times 10^9/l$.

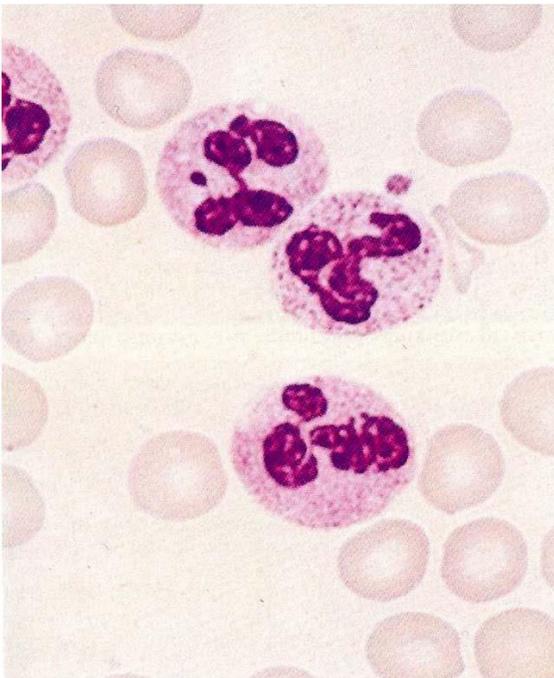


Figure 6: Polynucléaire neutrophile sur un frottis sanguin vu au microscope optique au grossissement 1000 [51]

Source: www.medatice-grenoble.fr

- **Polynucléaire éosinophile (PNE):**

Ces cellules représentent 1 à 3 % des globules blancs. Elles ont une demi-vie dans le sang circulant de 4 à 5 heures puis passent dans les tissus (peau, poumon, tractus digestif) où elles restent 8 à 10 jours. La proportion d'éosinophiles dans les tissus est 100 fois plus importante que celle du sang. Leur diamètre est de 10 à 14 μm , le noyau est généralement bilobé, le cytoplasme apparaît en orangé au MGG, d'aspect granuleux à cause de la présence des granulations spécifiques. Ces granulations sont volumineuses et acidophiles.

Elles interviennent essentiellement dans la destruction des parasites par l'intermédiaire de protéines de haut poids moléculaires (Eosinophil Cationic Protein ECP et la Major Basic Protein - MBP) contenues dans les cristalloïdes des granulations. La membrane plasmique possède un récepteur pour les immunoglobulines de type IgE et pour l'histamine.

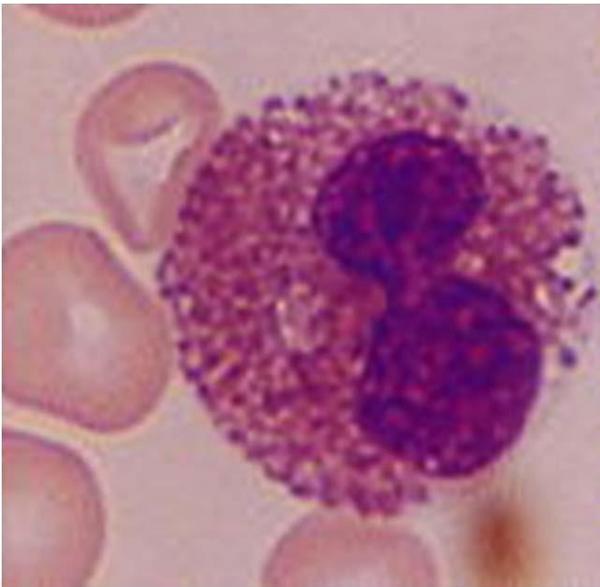


Figure7: Polynucléaire éosinophile sur un frottis sanguin vu au microscope optique au grossissement 1000 [51]

Source: www.medatice-grenoble.fr

- **Polynucléaire basophile(PNB):**

Ces cellules sont les moins nombreuses des polynucléaires, (0 à 1 % de l'ensemble des globules blancs). La durée de vie de ces cellules est de 3 à 4 jours. Leur noyau est irrégulier. Il peut prendre un aspect de trèfle, qui est généralement masqué par les nombreuses granulations métachromatiques (prennent une coloration rouge avec les colorants acides

comme le bleu de toluidine ou le bleu alcalin) qui apparaissent pourpres au May Grunwald Giemsa (MGG).

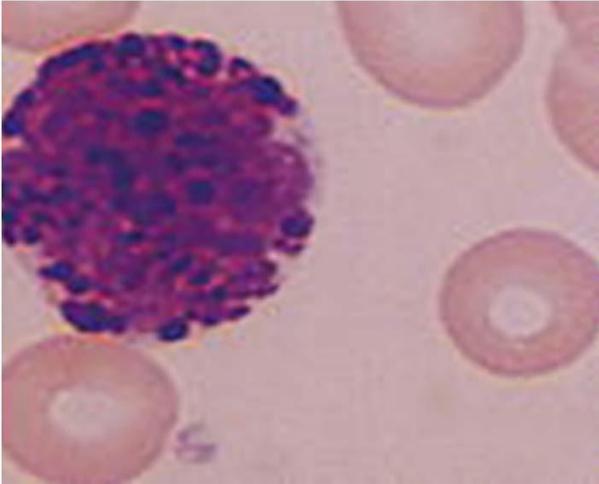


Figure 8: Polynucléaire basophile sur un frottis sanguin vu au microscope optique au grossissement 1000 [51]

Source: www.medatice-grenoble.fr

✓ **Taux d'Hémoglobine:**

L'hémoglobine est un pigment respiratoire qui est responsable du transport de l'oxygène, des poumons jusqu'aux tissus. Cet O_2 est nécessaire. Cette fonction vient de sa capacité à former des liaisons avec l'oxygène, ces liaisons sont de combinaisons chimiques qui sont facilement dissociables. L'hémoglobine a un poids moléculaire (PM) de 64500 daltons et est constitué de 4 chaînes. Chaque chaîne comportant une molécule d'hème.

- Le type de chaîne de globine détermine le type d'hémoglobine.
- La composante principale chez l'adulte: l'hémoglobine A
 - $2\alpha 2\beta$ Hémoglobine A
 - $2\alpha 2\delta$ Hémoglobine A2
 - $2\alpha 2\gamma$ Hémoglobine F (affinité supérieure à l' O_2)

Son dosage sanguin est réalisé par diverses méthodes, notamment celle utilisant l'acide cyanhydrique qui transforme l'hémoglobine et tous ses dérivés en cyan-méthémoglobine qui est dosé sur un spectrophotomètre à 540 nm. Les résultats sont exprimés en gramme par dl de sang (g/dl). Une baisse de taux d'hémoglobine indique une anémie.

✓ **Comptage de plaquette:**

Ce sont des sacs cytoplasmiques de petite taille mesurant entre 2 à 4 μm de diamètre dans lesquelles on distingue seulement quelques granulations colorées. Sa durée de vie dans le sang est comprise entre 7-10 jours. Les plaquettes sont les principales actrices de l'hémostase primaire. Les compteurs électroniques les plus perfectionnés assurent simultanément sur le même prélèvement des comptes de globules rouges, des globules blancs et des plaquettes. L'intervalle de variation normale est très large de 150000 à 450000 par mm^3 .

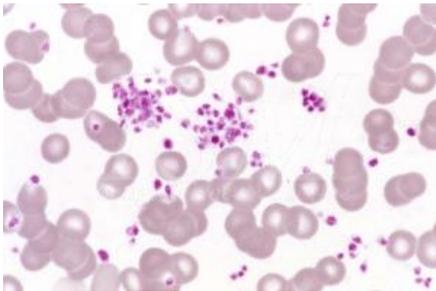


Figure 9 : Les plaquettes sur un frottis sanguin vu au microscope optique au grossissement 1000 Source: <http://www.ismphoto.com/photos/34/010434-66.jpg>

III.4.4 Paramètres sérologiques:

Par définition la sérologie est l'étude des sérums, de leurs propriétés (notamment de leurs particularités immunitaires) et des différentes modifications qu'ils subissent sous l'influence des maladies. Dans le cadre de notre étude nous faisons le dépistage de 3 maladies virales par sérodiagnostic à savoir le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), le virus de l'hépatite C (HCV) et le virus de l'hépatite B (HBV).

➤ Un aperçu sur ces différents virus:

✓ Le virus de l'hépatite B (HBV):

C'est un Adénovirus appartenant à la famille des *Hepadnaviridae*. Son matériel génétique (ADN circulaire bicaténaire de 3200 pb) est contenu dans une capsidie enveloppée. Le génome est composé de 4 gènes qui sont:

- Gène S fait de l'antigène de surface Ag HBs
- Gène C (capsidie) que constituent l'antigène HBc et HBe
- Gène P pour l'ADN polymérase virale avec une activité de transcriptase inverse
- Gène X constitué de protéine transactivatrice

Son diagnostic sérologique par ELISA en sandwich consiste à la mise en évidence de l'antigène HBs dans le sérum

✓ **Le virus de l'hépatite C (HCV):**

C'est un virus à ARN de la famille des *flaviviridae* qui attaque le foie de l'homme. Son génome (ARN monocaténaire de 9,5 kb) est renfermé dans une capsidie enveloppée et comporte le gène de la capsidie (gène c), 2 gènes de l'enveloppe (E1 et E2) et 4 protéines non structurées (NS2 à NS5). C'est un virus qui a pour réservoir uniquement l'Homme. Il a pour cible les hépatocytes. Le diagnostic biologique par ELISA consiste à la quantification des anticorps dirigés contre HCV et détecter les antigènes de la capsidie.

✓ **Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH):**

Le VIH est un rétrovirus et appartient à la sous-famille des *lentivirus*. Le VIH comme tous les rétrovirus possède l'enzyme transcriptase inverse qui permet de transcrire leur génome présent sous forme d'ARN simple brin en ADN. Le génome du VIH comprend environ 10 kb. Trois gènes codant des protéines se trouvent chez ce virus: gag (antigène spécifique de groupe), pol (transcriptase inverse et d'autres enzymes) et env (protéine de l'enveloppe membranaire) [52]. Les gènes se chevauchent, c'est-à-dire qu'ils sont partiellement codés par les mêmes séquences d'ARN mais sont transcrits séparément par l'appareil de synthèse protéique de la cellule hôte. Ce virus a pour principale cible le lymphocyte T CD4+. Son dépistage par ELISA met en jeu un mélange d'antigènes viraux, auparavant extrait de culture cellulaire infectée, maintenant constitué de protéines recombinantes [53]. Le VIH est d'abord dépisté par 2 tests de diagnostic rapides (TDR) différents, en cas de positivité ou de discordance entre les 2 TDR, on effectue 1 troisième test qui est l'Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) qui est plus spécifique mais onéreux par rapport aux TDR.

- **Les tests de diagnostic rapide (TDR):**

Ces tests consistent à mettre en évidence la présence de l'anticorps dirigés contre le VIH dans le sérum du volontaire. L'échantillon de sérum ou de sang total est déposé sur une extrémité puis migre vers une zone où les anticorps se lient à un antigène conjugué à un révélateur de type colloïde de sélénium. Ce mélange continue de migrer jusqu'aux antigènes immobilisés sur la membrane au niveau de la fenêtre de lecture. Les anticorps conjugués au complexe antigène-révélateur se lient spécifiquement aux antigènes et s'immobilisent en formant un trait couleur. En l'absence d'anticorps spécifiques, le conjugué antigène-colloïde traverse la zone de lecture sans produire de signal.

- **Le test ELISA:**

✓ **Principe:**

L'ELISA est une technique Immunoenzymatique de dosage soit d'un anticorps ou d'un antigène. Dans le cas de la détection d'un antigène (sérum), cet antigène sera fixé de façon spécifique sur des anticorps tapissant un support physique (la plaque) et révélé par un second anticorps, appelé anticorps de détection, qui est couplé à une enzyme qui induira la coloration d'un substrat. Elle peut être :

- Qualitative: La présence ou l'absence d'un antigène dans l'échantillon.
- Quantitative: La densité optique ou les unités de fluorescence de l'échantillon sont interpolées sur une courbe d'étalonnage, en général une dilution sérielle de la cible.

III.4.5 Autres paramètres:

➤ La chimie des urines:

La chimie des urines est un examen systématique qui permet d'orienter le diagnostic en mettant en évidence dans l'urine d'éventuels éléments anormaux. Dans le cadre de notre étude nous nous sommes intéressés à 2 éléments qui sont la protéinurie (de protéine dans l'urine) et l'hématurie (d'hématie dans l'urine).

- **Principe:**

Pour l'analyse chimique des urines, on utilise des bandelettes inertes en plastique, garnies par des tampons de différents réactifs pour l'indication des différents paramètres parmi lesquels nous avons le sang et la protéine. Les tampons de réactifs sont attachés à la bandelette par du nylon qui les tient en place, les protège et assure leur mouillage rapide et entier.

- ✓ **La protéinurie:**

La recherche d'une protéinurie permet la mise en évidence d'une atteinte glomérulaire sans oublier que certaines tubulopathies peuvent aussi s'accompagner d'une protéinurie.

- ✓ **Hématurie:**

Elle peut être associée à des nombreuses atteintes de l'appareil urinaire, y compris le cancer de la vessie, du rein, de la prostate, les glomérulonéphrites aiguës, les polykystoses rénales, et les papillomes de la vessie. Vue l'activité principale de nos volontaires (maraichage au bord des rivières), la grande partie des cas d'hématurie peut être due à la schistosomose urinaire causée par *Shistosoma hæmatobium*.

- **Test de grossesse:**

Elle consiste à mettre en évidence dans l'urine ou dans le sérum la présence de chorion-gonadotrophine humaine en anglais Human chorionic gonadotrophin (HCG) qui est une hormone humaine sécrétée par le placenta dès le début de la grossesse.

- **Principe:**

Ce test basé sur une réaction immunologique qualitative de type sandwich, permet la détection d'HCG dans les urines ou le sérum. Il consiste à faire diffuser de l'urine ou du sérum à travers un dispositif absorbant. Le conjugué anticorps/colorant contenu dans le dispositif, se lie à l'anticorps anti-HCG en formant un complexe antigène-anticorps. Ce complexe se lie à l'anticorps anti-HCG dans la zone de réaction positive du dispositif et entraîne la formation d'une bande de couleur rose quand la concentration en HCG est supérieure ou égale à 25 mU/ml. En l'absence de HCG, cette bande de couleur rose n'apparaît pas dans la zone de réaction positive. L'apparition d'une bande de couleur rose dans la zone de réaction négative témoigne du fonctionnement correct du dispositif de réaction et des réactifs.

IV METHODOLOGIE

IV.1.Lieu d'étude:

Notre étude s'est déroulée à Donéguébougou, village situé dans la préfecture de Kati, à 30km au Nord-ouest de Bamako et 17Km au Nord-est de Kati. Il est limité au Nord par le village de N'gara et ses hameaux, au sud par le village de Safounebourgou, à l'Est par les villages de Sirababougou et Torodo, à l'Ouest par le village de Banambani. Ses coordonnées géographiques sont 7°59'5'' longitude Ouest et 12°48'38'' latitude Nord.

IV.1.1 Historique:

Le village de Donéguébougou a été fondé au XIX^{ème} siècle par un chasseur du nom de Donégué Niaré venu de Torodo. De retour d'une chasse, il trouva le site propice à l'agriculture et à la chasse. Il s'y installa près du grand puits sacré qui demeura l'unique puits du village jusqu'à son tarissement dans les années 1960; il est présentement réhabilité. Le natif de Torodo, subjugué par la chasse, fit appel à ses frères, ensemble, ils érigèrent le premier hameau du village qui prit le nom de Donéguébougou qui veut dire en Bambara le hameau de Donégué. Plus tard, les Niaré autochtones furent rejoints par les Diarra et les Diallo.

IV.1.2 Relief:

Il est composé de collines de nature gréseuse, des plaines et des dépressions où coulent des ruisseaux. Le Kouloudian, le Kouloubléni et le Kôkôfè-koulou sont les prolongements du plateau mandingue et sont hauts respectivement de 543, 415 et 400 mètres. Les terrains d'exploitation agricole sont constitués d'une part par les graviers, et d'autre part par des plaines sablo-argileuses.

IV.1.3 Climat, Faune et Flore:

➤ Climat:

Le climat est de type soudanais avec deux vents qui soufflent sur le village: la mousson de direction sud-ouest et l'harmatan de direction nord-est. L'année est divisée en 2 principales saisons:

- ✓ L'une pluvieuse courte qui dure de Juin à Octobre avec un pic de précipitation au mois d'Août et une forte densité anophélienne au mois de Septembre. Les précipitations annuelles atteignent 1800mm de pluie dont le pic est enregistré pendant la saison pluvieuse.
- ✓ Et l'autre sèche plus longue que la précédente qui comprend une saison sèche froide de novembre à février et une saison sèche chaude de mars à Juin avec une moyenne de

température de (31-33°C). Pendant cette période nous enregistrons de petites précipitations.

➤ **Faune:**

Elle est composée par de nombreux insectes qui ont un intérêt médical parmi lesquels nous avons le groupe des *Culicidae* (les *Anophèles Culex* et *Aedes*). Comme vertébrés on rencontre beaucoup de reptiles et de nombreuses espèces d'oiseaux et de petits mammifères.

➤ **Flore:** La végétation est celle d'une savane arborée avec un tapis herbacé dense. Le karité (*Vitellaria paradoxa*) est l'arbre le plus fréquent.

➤ **Hydraulique:**

Une rivière saisonnière (le Koba), principal cours d'eau, alimentée par les eaux de ruissellement se trouve au sud du village de Donéguébougou. Ce cours d'eau constitue un gîte constant pour le développement des *Anopheles* pendant une bonne partie de l'année.

D'autres cours d'eau notamment à l'est du village, le Farani et à l'ouest le Banifarani sont deux cours d'eau qui ne s'assèchent qu'au mois de février. Quant au Koba, il ne se tarit totalement qu'au mois de mars.

IV.2. Population:

Elle est composée principalement de Bambaras suivis de Malinkés et de Peulhs.

Le nombre d'habitants de Donéguébougou et villages environnants était de 7347 habitants en 2014 et 7366 habitants en 2016. La principale activité menée est le maraichage. La culture des céréales, l'élevage et la sylviculture y sont des activités secondaires. Le christianisme et l'islam y sont les principales confessions religieuses. Cependant, l'animisme n'y est pas totalement abandonné.

IV.3. Infrastructures Socio-sanitaires:

Le village possède un dispensaire communautaire construit en novembre 1994. C'est le fruit du partenariat entre le département d'épidémiologie et des affections parasitaires (DEAP) de l'école nationale de la médecine et de la pharmacie (actuelle FMOS et FAPH) et l'Ambassade des Etats-Unis d'Amérique au Mali à travers le projet SELF-HELP. Un centre de recherche du MRTC composé de :

- un bloc de recherche qui comprend une salle d'identification, trois boxes cliniques, une salle des données (Data management), un laboratoire, une salle de préparation du vaccin, une salle de vaccination, une salle de réanimation et une salle d'observation.
- un bloc de consultation externe
- 2 blocs de logement pour le personnel

- un château d'eau et deux groupes électrogènes

Le village a été également doté d'une école fondamentale en décembre 1994 par la coopération canadienne. Les autres édifices publics sont représentés par une mosquée, une église catholique, une église protestante et un centre d'alphabétisation.

IV.4. Période et type d'Etude:

Nous avons effectué une étude prospective descriptive portant sur le screening de deux essais vaccinaux qui se sont déroulés en 2014 et en 2016.

IV.5. Population d'Etude:

Elle était composée de volontaires hommes et femmes âgés de 18 à 50 ans.

En 2014 nous avons recruté 216 volontaires parmi lesquels 87 ont été inclus tandis qu'en 2016, 276 volontaires ont été dépistés dont 80 ont été inclus.

IV.6. Sélection des volontaires:

IV.6.1. Critères d'inclusion:

Les valeurs normales des paramètres biologiques ont été établies chez les adultes maliens à Bancoumana pour nous servir de références.

- Sujets âgés de 18 à 50 ans ayant signé le consentement éclairé
- Sujets résidents à Donéguébougou ou villages environnants
- Sujets n'étant pas exclus par l'examen physique complet

IV.6.2. Critères de non inclusion :

N'ont pas été inclus dans notre étude les sujets qui avaient les critères suivants:

- Toute personne ayant signé le consentement éclairé
- Les sujets étant exclus lors de l'examen clinique

IV.7. Organisation pratique du travail:

IV.7.1. Poste clinique:

Composé de 2 médecins dont chacun occupait une salle médicale. Après le consentement communautaire et individuel chaque volontaire passe à la clinique pour un examen clinique complet et un Electrocardiogramme (ECG) avant d'être orienté vers la salle de prélèvement.

IV.7.2 Salle d'électrocardiogramme:

Occupé par un des médecins qui après l'examen clinique procède à l'électrocardiogramme.

➤ Principe de base de l'ECG

Le cœur est un générateur d'électricité entraînant des variations du champ électrique situé dans le thorax. Il est entouré de tissu permettant une conduction des variations de potentiel.

Ces variations sont enregistrées grâce à un électrocardiographe qui les amplifie et les restitue sous forme d'électrocardiogramme.

IV.7.3. Poste de prélèvement:

Constitué de 3 biologistes et d'un étudiant en pharmacie en année de thèse. Nous avons 2 postes de prélèvement occupés par 2 biologistes. Ces 2 biologistes étaient chargés du prélèvement veineux d'un tube SST 5ml, SST 3.5ml et d'un tube EDTA 2ml. Après le prélèvement de chaque participant ils procédaient à l'étiquetage des tubes. Sur les étiquettes étaient mentionnés: le numéro d'identification et le sexe du participant, la date et l'heure du prélèvement ainsi que les initiales du biologiste qui a prélevé. Les échantillons étaient chargés sur des portoirs appropriés et transportés ensuite dans la salle d'analyse. Un échantillon d'urine était collecté pour chaque volontaire afin de pouvoir détecter une hématurie ou une protéinurie, le test de grossesse pour les femmes effectué par le troisième biologiste et l'étudiant. La centrifugation, les analyses hématologiques et biochimiques ont été effectuées dans la salle d'analyse par l'autre biologiste et l'étudiant. Les sérums du tube SST 5ml ont été aliquotés et envoyés à Bamako pour faire L'ELISA.

IV.7.4 Techniques de laboratoire: Le personnel du laboratoire a été formé aux bonnes pratiques de laboratoires.

➤ **Technique ELISA:**

Elle a été employée pour la détection des antigènes Ag HBs, Ag HCV et HIV. C'était l'ELISA en sandwich et donc l'antigène doit posséder deux épitopes différents qui lui permettront d'être pris en sandwich entre l'anticorps primaire et l'anticorps secondaire.

➤ **L'hémogramme:**

Il a été réalisé avec les automates Coulter Act Diff. Le système Coulter compte et mesure avec précision la taille des cellules sanguines. Le principe repose sur la détection de la charge électrique spécifique à chaque type de cellules. Les cellules sont mises en suspension dans un conducteur fluide. A leur passage à travers un orifice, elles provoquent des vibrations mesurables. Le nombre de vibrations indique le nombre de particules. Chaque particule est identifiée puisque l'amplitude de chaque vibration est proportionnelle au volume de la particule. Le logiciel utilisé par le système Coulter Act Diff, compte non seulement les cellules sanguines mais aussi donne une approche de la formule globulaire et des indices de distributions.

➤ **Analyses biochimiques:**

L'ALAT et la créatinine sérique ont été dosées sur le Pentra C200.

- **Principe de l'analyse:**

Quand un rayon lumineux traverse une solution, son intensité est réduite. La réduction en intensité lumineuse est liée à la longueur d'onde, la longueur du trajet et les caractéristiques de la solution à cette longueur d'onde (concentration de l'échantillon et absorption molaire).

L'absorbance à une longueur d'onde spécifique (A_λ) d'une solution peut être déduite de la mesure de l'intensité de la lumière (I):

$$A_\lambda = -\log(I / I_0)$$

Dans le Pentra C200, I_0 est l'intensité lumineuse à travers l'air et est mesuré sans cuvette avant chaque chargement de cuvette. L'absorbance est proportionnelle à la concentration:

$$A_\lambda = \epsilon \cdot l \cdot c$$

Où ϵ est l'absorption molaire, l la longueur du trajet et c la concentration. Afin d'éviter les effets de certains défauts de cuvette, de variations d'intensité de la lampe et d'interférences d'échantillon, une seconde longueur d'onde peut être utilisée comme référence :

$$A_{Mes} = A_{\lambda 1} - A_{\lambda 2}$$

Le mode opératoire est le même aussi bien pour les contrôles que pour les échantillons.

- **Test de grossesse:**

L'hormone chorionique gonadotrophique en anglais «Human chorionic gonadotrophic» (hCG) est une glycoprotéine sécrétée par le développement du placenta peu de temps après la fécondation. Son apparition précoce juste après la fécondation et l'augmentation de son taux de concentration font d'elle un excellent marqueur de détection précoce d'une grossesse.

- **Limites du test:**

- La protéinurie, l'hématurie, peuvent augmenter le taux de HCG dans les urines,
- Faux positifs: les patients souffrant de maladie trophoblastique ou de tératome testiculaire ou ovarien peuvent donner des faux résultats positifs,
- Faux négatifs: Une urine trop diluée ou de gravité spécifique trop basse ainsi que certaines conditions pouvant entraîner la dénaturation de l'HCG comme le pH, la température, la contamination par les métaux lourds peuvent donner des faux négatifs,
- Les échantillons ayant une concentration en HCG < 25 mU/ml seront détectés négatifs.

- **Chimie des urines:**

- **Description du principe de chaque paramètre:**

- **Le sang (érythrocyte et hémoglobine):**

La détection chimique du sang dans l'urine est fondée sur l'action de la peroxydase des érythrocytes et de l'hémoglobine. Cette dernière et la myoglobine si elles sont présentes, catalysent l'oxydation de l'indicateur du tampon de réactif par le peroxyde organique. L'hémolyse de l'érythrocyte sur le tampon du réactif et la libération de l'hémoglobine va entraîner l'apparition d'une coloration verte. Puisque le tampon absorbe plusieurs μl d'urines, plus d'érythrocytes deviennent visibles après absorption d'un μl .

- **Les protéines:**

Les protéines dans l'urine sont détectées par le tetrachlorophenol. La réaction est indiquée par le virage de la coloration du jaune au vert clair ou au vert.

- **Les limites du test:**

• **Protéines**

Des résultats faux positifs peuvent être trouvés:

- ❖ Dans des urines fortement alcalines
- ❖ Au cours d'un traitement par phénazopyridine
- ❖ En cas de perfusion avec du polyvinylpyrrolidone
- ❖ Quand les résidus de désinfectants contenant de l'ammonium quaternaire ou le chlorohexédil sont contenus dans le récipient

• **Sang:**

- ❖ La présence d'hypochlorites donne des faux positifs. Certaines bactéries peroxydase positives peuvent donner des faux positifs.
- ❖ L'ascorbate, le formaldéhyde, les grandes quantités de nitrites, les traitements avec le captopril diminuent la sensibilité et éventuellement peuvent donner des faux négatifs.
- ❖ Les érythrocytes particulièrement résistants à l'hémolyse⁴ ne sont pas détectés.

IV.8. Collecte, saisie et analyse des données:

Les données ont été reportées dans les CRF. Les dossiers et les échantillons de produits biologiques des participants ne portaient pas leur nom. Ces données ont fait l'objet d'un contrôle de qualité. Un numéro d'étude était attribué à tous les participants. Les données ont été saisies sur le logiciel Microsoft Excel 2010 et analysées avec les logiciels Epi info version 3.5.3 et SPSS version 22.

Les tests de χ^2 ont été utilisés pour comparer les proportions et le test t de Student a permis de comparer les moyennes.

Le seuil de significativité était fixé à $p \leq 0,05$.

IV.9. Aspects Ethiques :

Le protocole a été approuvé par le comité d'éthique de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie (N^o 2013/108/CE/FMPOS et 2015/137/CE/FMPOS). Les règles de bonnes pratiques cliniques et de laboratoire ont été rigoureusement suivies. La participation à l'étude était volontaire. Les participants ont donné leur consentement écrit et étaient libres d'arrêter à tout moment leur participation à l'étude sans conséquence pour eux.

V RESULTATS

V.1-Résultats sociodémographiques des volontaires:

Tableau II : Répartition des volontaires selon le sexe, l'année, l'âge moyen et la médiane d'âge.

		2014	2016
Genre N (%)	Masculin	188 (87%)	187 (68%)
	Féminin	28 (13%)	89 (32%)
	Total	216 (100%)	276 (100%)
Age Médian	Éligibles	23	31,5
	Non éligibles	26	33,5
	Dépistés	25	33
Age moyen ± ET	Éligibles	24,69 ± 4,83	32,37 ± 8,39
	Non éligibles	26,5 ± 4,64	33,48 ± 8,20
	Dépistés	25,64 ± 5,34	33,15 ± 9,42
<i>p</i>		1,25	0,68

Il ressort que les hommes étaient largement en supériorité numérique aussi bien en 2014 qu'en 2016 avec respectivement un sex-ratio de 6,74 et 2,10.

La médiane d'âge des volontaires non éligibles était supérieure à celle des volontaires éligibles aussi bien qu'en 2014 qu'en 2016.

Aussi bien en 2014 qu'en 2016, l'âge moyen des volontaires éligibles était inférieur à celui des volontaires non éligibles avec respectivement $p=1,25$ et $p=0,68$.

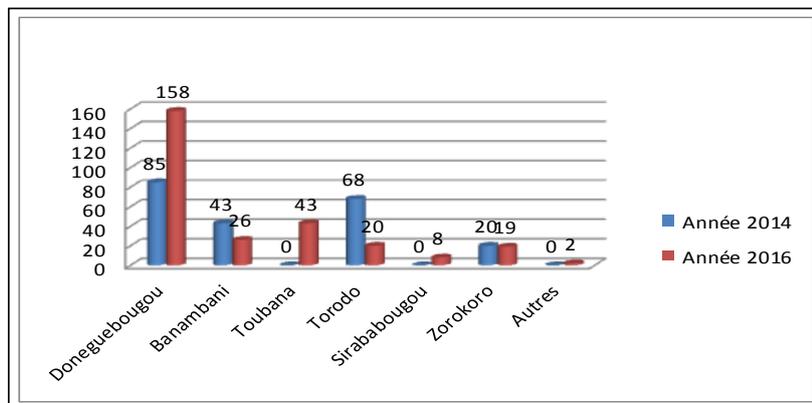


Figure 10 : Répartition des volontaires par village et par année

Cette figure nous montre que la majeure partie des volontaires était de Donéguébougou respectivement 85 en 2014 et 158 en 2016.

Tableau III: Nombre des volontaires éligibles et non éligibles selon l'année

Années	Volontaires éligibles	Volontaires non éligibles	Total
2014	87 (40%)	129 (60%)	216
2016	80 (29%)	196 (71%)	276

En 2014 le nombre de volontaires éligibles était plus élevé que celui de 2016 $\chi^2 = 6,80$
 $p = 0,008$.

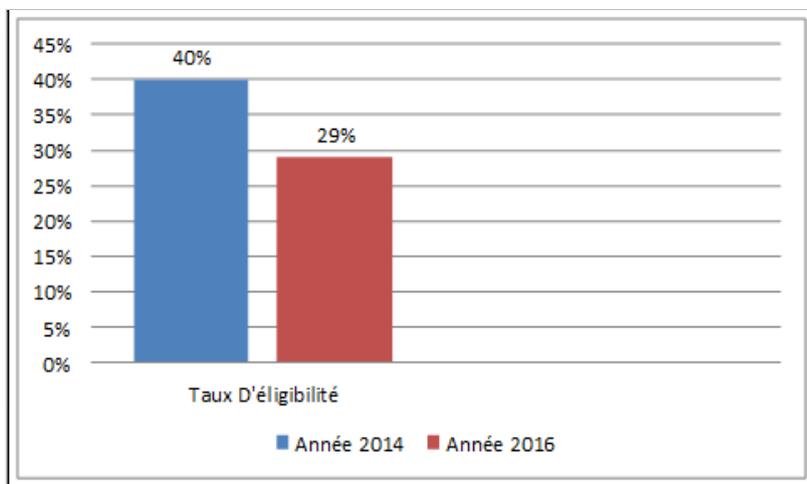


Figure 11: Taux d'éligibilité par année

Le taux d'éligibilité était plus élevé en 2014 soit 40% contre 29% en 2016

Tableau IV: Distribution des volontaires selon les anomalies diagnostiquées

Paramètres	Année 2014 N= 216	Année 2016 N= 276
E C G (%)	44 (21%)	10 (4%)
WBC (%)	6 (3%)	14 (5%)
PNN (%)	11 (5%)	26 (9%)
Taux des Plaquettes sanguines (%)	5 (2%)	3 (1%)
Taux d'Hémoglobine (%)	17 (8%)	35 (13%)
Créatinémie (%)	64 (30%)	88 (32%)
Transaminases (ALAT) (%)	13 (6%)	12 (4%)
Test de HBs (%)	50 (23%)	43 (16%)
Test de HCV (%)	4 (2%)	32 (12%)
Tes de HIV (%)	6 (3%)	4 (1%)
Test de Protéinurie (%)	4 (2%)	10 (4%)
Test d'Hématurie (%)	16 (7%)	51 (18%)
Test de Grossesse (%)	0 (0%)	2 (2%)

On constate que le paramètre qui a été le plus discriminatoire est la créatinémie avec (30%) de volontaires en 2014 et (32%) de volontaires en 2016.

V.2 Résultats d'électrocardiogramme

Tableau V: Résultat de l'électrocardiogramme selon l'année

Année	Normal	Anormal	Maquant	Total
2014 (N=216)	168 (78%)	44 (20%)	4 (2%)	216 (100%)
2016 (N= 276)	264 (96%)	10 (3%)	2 (1%)	276 (100%)

Il ressort qu'en 2016 il y eu moins de cas d'ECG anormal qu'en 2014.

Tableau VI: Résultat de l'électrocardiogramme selon la tranche d'âge

Année	Classe d'âge	Normal	Anormal	Manquant	Total
2014	[18-25]	87 (40,3%)	21 (9,7%)	3 (1,4%)	111 (51,4%)
	[26-30]	46 (21,3 %)	8 (3,7%)	0 (0%)	54 (25%)
	[31-35]	35 (16,2%)	13 (6%)	1 (0,5%)	49 (22,7%)
	[36-40]	0 (0%)	2 (0,9%)	0 (0%)	2 (0,9%)
Total		168(77,8%)	44 (20,3%)	4 (1,9%)	216 (100%)
2016	[18-25]	78(28,2%)	1 (0,4%)	1 (0,4%)	80 (29%)
	[26-30]	36(13%)	0 (0%)	0 (0%)	36 (13%)
	[31-35]	35(12,7%)	3 (1,1%)	0 (0%)	38 (13,8%)
	[36-40]	45(16,3 %)	3 (1,1%)	0 (0%)	48 (17,4%)
	[41-45]	37 (13,4%)	3 (1,1%)	0 (0%)	40 (14,5%)
	[46-50]	33 (11,9%)	0 (0%)	1(0,4%)	34 (12,3%)
Total		264(95,5%%)	10 (3,7%)	2 (0,8%)	276 (100%)

Ce tableau nous montre qu'en 2014 la classe d'âge de 18-25 était la classe d'âge dans laquelle il y a eu plus d'anomalie tandis qu'en 2016 cette classe n'a eu qu'un seul cas de résultat anormal.

V.3-Résultats de la sérologie:

Tableau VII: Distribution des 3 viroses chez les volontaires en 2014 et 2016.

Année	Résultats	Ag HBs	HCV	HIV
2014 (N= 216)	Positif	50 (23%)	4 (2%)	6 (3%)
	Négatif	166 (77%)	212 (98%)	210 (97%)
2016 (N= 276)	Positif	43 (16%)	32 (12%)	4 (1%)
	Négatif	233 (84%)	244 (88%)	272 (99%)

L'Hépatite B était la plus fréquente avec respectivement 23% en 2014 et 16% en 2016. Cette fréquence trop élevée de AgHbs est probablement due à la sensibilité du test utilisé.

Tableau VIII: Distribution des 3 viroses par sexe et par année

Année	Sexe	Ag HBs (%)	HCV (%)	HIV (%)
2014	Homme	46 (24%)	4 (2%)	5 (3%)
	Femme	4 (14%)	0 (0%)	1 (4%)
2016	Homme	34 (18%)	18 (10%)	3 (2%)
	Femme	9 (10%)	14 (16%)	1 (1%)

Il ressort qu'en termes de proportion le pourcentage des hommes séropositifs était plus élevé que celui des femmes excepté le pourcentage de HCV en 2016 et celui de HIV en 2014.

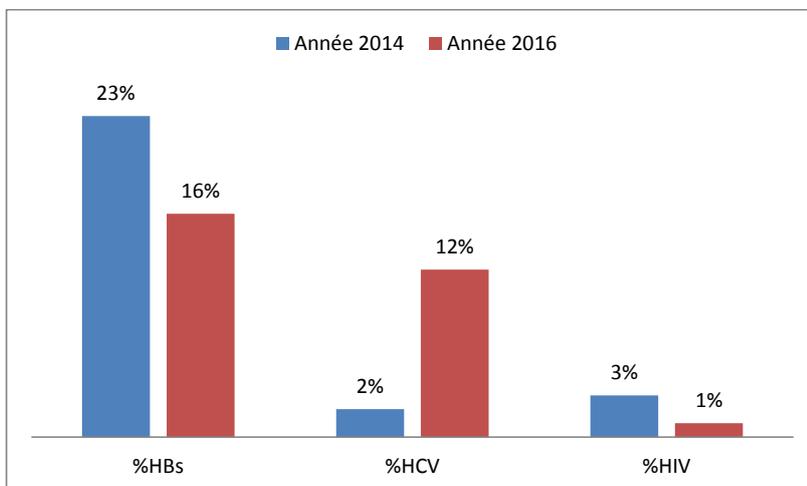


Figure 12: Distribution des volontaires séropositifs par virus et par année.

Nous avons observé que la prévalence de l'hépatite B était la plus élevée avec respectivement 23% en 2014 et 16% en 2016.

Tableau IX: Distribution des cas de coinfection virale par année

Coinfection	AgHBs & HCV	AgHBs & HIV	HCV & HIV
2014 (N= 216)	1 (0,4%)	3 (1,4%)	0 (0%)
2016 (N= 276)	5 (1,8%)	1 (0,3%)	0 (0%)

Il ressort que le cas de coinfection le plus élevé en 2014 était HBs-HIV avec 3 (1,4%) cas tandis qu'en 2016 c'était HBs-HCV avec 5 (1,8%). Cependant, aucun cas de coinfection HCV-HIV n'a été observé.

V.4-Résultats d'Hématologie:

Tableau X : Distribution des anomalies des paramètres hématologiques par année et par sexe.

Paramètres Hématologiques		WBC	PNN	Plaquette	Taux d'Hb
Année 2014	Homme (N= 188)	9 (5%)	9 (5%)	4 (2%)	16 (9%)
	Femme (N= 28)	1 (4%)	2 (7%)	1 (4%)	1 (4%)
Année 2016	Homme (N= 187)	9 (5%)	15 (8%)	2 (1%)	18 (10%)
	Femme (N= 89)	5 (6%)	11 (12%)	1 (1%)	7 (8%)

En 2014 comme en 2016, chez les hommes le paramètre hématologique discriminatoire était le taux d'Hb soit respectivement (9%) et 10% des cas tandis que chez les femmes c'était le polynucléaire neutrophile soit respectivement (7%) et 12% des cas.

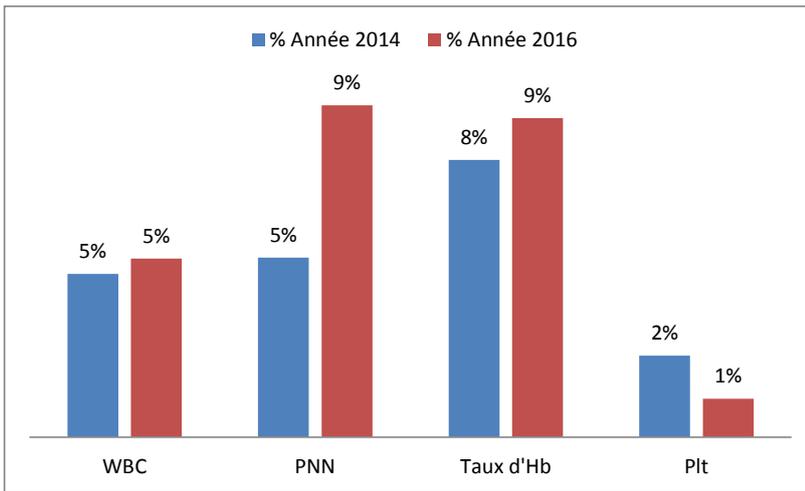


Figure 13: Distribution des anomalies de paramètres hématologiques par année.

Le taux d'Hb était le paramètre dont les cas d'anomalies étaient le plus élevés en 2014 tandis qu'en 2016 c'était le Polynucléaire neutrophile (PNN) et le taux d'Hb.

V.5-Résultats de Biochimie :

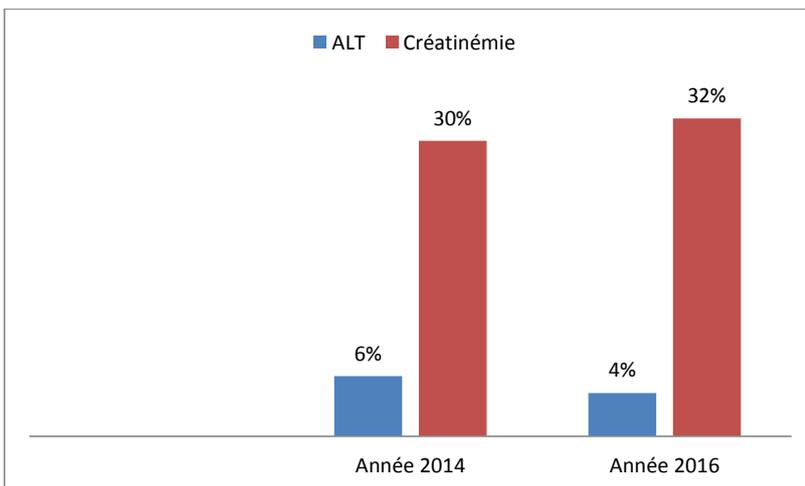


Figure 14 : Distribution des créatinémies élevées et d'ALAT élevées en 2014 et en 2016.

Il ressort que la proportion des volontaires ayant la créatinémie élevée en 2014 (30%) était comparable à celle de 2016 (32%) avec $p=0,76$ donc pas de différence significative.

La proportion des participants ayant une valeur anormalement d'ALAT en 2014 (6%) était légèrement supérieure à celle de 2016 (4%) mais cette différence est statistiquement insignifiante $p=0,51$.

Cette forte fréquence de créatinémie élevée est probablement due à l'intensité de l'effort physique fourni par les participants au cours de leurs activités quotidiennes.

Tableau XI: Distribution des anomalies de paramètres biochimiques selon le sexe des volontaires en 2014 et en 2016.

Paramètres Biochimiques		Créatinémie	ALAT
Année 2014	Homme (N= 188)	45 (24%)	13 (7%)
	Femme (N= 28)	19 (68%)	0 (0%)
Année 2016	Homme (N= 187)	51 (27%)	10 (5%)
	Femme (N= 89)	37 (42%)	2 (2%)

La créatinémie est plus élevée chez les femmes et inversement pour l'ALAT.

Tableau XII : Distribution de DFG selon le sexe et l'année

Année	Sexe	DFG normal (≥ 90)	DFG anormal (< 90)
2014	Homme N=188	177 (94%)	11 (6%)
	Femme N=28	16 (57%)	12 (43%)
2016	Homme N=187	156 (83%)	31 (17%)
	Femme N=89	75 (84%)	14 (16%)

En 2014 la fréquence de DFG anormal était plus élevée chez les femmes tandis qu'en 2016 elle était plus élevée chez les hommes

V.6-Résultats de chimie des urines:

Tableau XIII: Distribution des paramètres chimiques des urines par sexe et par année

Paramètres		Protéinurie	Hématurie
Année 2014	Homme (N= 188)	4 (2%)	15 (8%)
	Femme (N= 28)	0 (0%)	1 (4%)
Année 2016	Homme (N= 187)	9 (5%)	28 (15%)
	Femme (N= 89)	1 (1%)	23 (26%)

La fréquence des cas de protéinurie chez les hommes était légèrement plus élevée en 2016 (5%) qu'en 2014 (2%) avec $p=0,15$ donc statistiquement insignifiant.

La proportion des cas d'hématurie chez les hommes en 2016 (15%) était nettement supérieure à celle de 2014 (8%) $p=0,03$ donc il y avait une différence statistiquement significative. Cette forte fréquence d'hématurie est en grande partie due à la schistosomiase urinaire.

Chez les femmes il n'y a pas eu de cas de protéinurie en 2014 et seulement 1% en 2016 $p=0,57$ pas de différence significative.

Toujours chez les femmes la proportion des cas d'hématurie de 2014 (4%) était nettement inférieure à celle de 2016 (26%) $p=0,01$ donc une différence statistiquement significative.

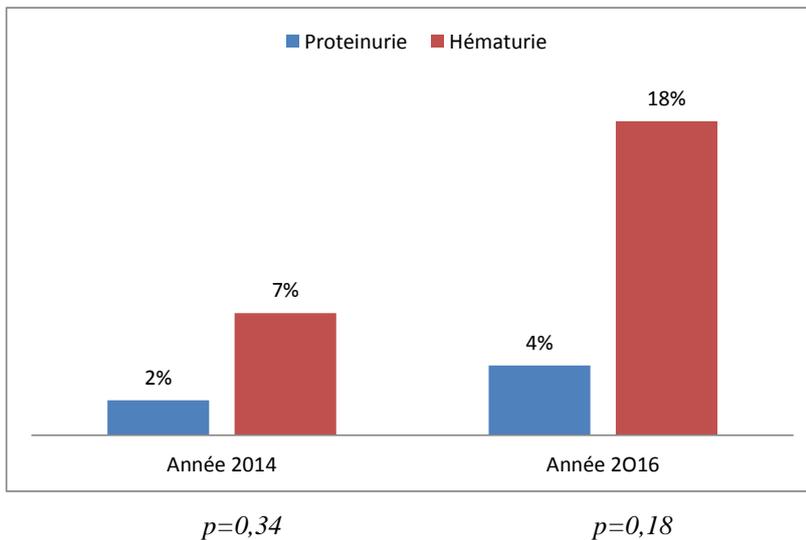


Figure 15: Distribution des paramètres chimiques des urines par année

Nous observons que la proportion des cas d'hématurie était plus élevée que celle de protéinurie.

V.7-Résultats de test de grossesse:

Tableau XIV: Distribution des volontaires selon les résultats du test de grossesse en 2014 et en 2016

Test de grossesse	Année 2014	Année 2016
Positif (%)	0 (0%)	2 (2%)
Négatif (%)	28 (100%)	87 (98%)
Total (%)	28 (100%)	89 (100%)

Deux cas de grossesse ont été observés en 2016, tandis qu'en 2014 il n'y avait pas de cas de grossesse.

VI-COMMENTAIRES ET DISCUSSION

VI.1 Sur le plan Méthodologique:

Le but de notre travail était d'évaluer le taux d'éligibilité des participants aux essais vaccinaux antipaludiques à Donéguébougou et villages environnants en 2014 et en 2016. Donéguébougou était le site choisi en 1993 pour abriter des études épidémiologiques et entomologiques sur le paludisme. Depuis 1998 le village a commencé à abriter des études de préparation pour la conduite d'essais cliniques.

La mise au point de tout produit pharmaceutique en occurrence le vaccin passe par une série de phases d'abord préclinique ensuite clinique. Après fabrication le produit fait l'objet d'un développement préclinique qui mettra en évidence sa tolérance et son efficacité chez les animaux dont les résultats seront indispensables pour mener l'étude clinique chez l'être humain. Ces différentes phases cliniques nécessitent des volontaires en bonne santé selon le produit et le screening est une étape cruciale pour enrôler des volontaires bien portants. Car il est indispensable d'explorer certains organes avant l'introduction de tout nouveau produit dans l'organisme. Et ces organes doivent avoir certains paramètres dans les normes pour justifier leur bon état. Ces normes biologiques varient d'une population à une autre. Dans le cadre de notre étude les organes explorés ont été le foie, le rein et le tissu hématopoïétique. En effet le foie étant un centre de synthèse des composants indispensables de l'organisme et surtout un centre de dégradation de tout produit introduit dans le corps, il est important d'explorer son état (ALAT). En ce qui concerne le rein son exploration (Créatinémie, Hématurie et protéinurie) se justifie du fait de son rôle de filtre de l'organisme. Parce que la quasi-totalité des produits introduits dans l'organisme doit être épurée par le rein. En fin l'examen du tissu hématopoïétique s'explique par le fait que tous les produits passent par le sang ensuite sont distribués aux différents organes grâce à la circulation sanguine. Nous nous sommes servis des normes établies au Mali à Donéguébougou pour identifier les valeurs anormales. En plus de ces organes un volontaire d'un essai vaccinal doit être indemne de certaines maladies virales en l'occurrence l'Hépatite B, l'Hépatite C et le VIH. Aussi le participant doit avoir un ECG normal et enfin les femmes enceintes ne sont pas aptes à prendre part à ces études d'essai vaccinal. Cependant très peu d'études ont porté sur l'évaluation des pathologies et conditions biologiques excluant les volontaires aux essais vaccinaux antipaludiques au Mali.

VI.2 Sur le plan des résultats:

VI.2.1 Paramètres sociodémographiques:

Sur le plan sociodémographique nous avons constaté que dans notre population d'étude les hommes étaient majoritaires par rapport aux femmes avec respectivement un sexe ratio de 6,71 en 2014 et 2,10 en 2016. La majeure partie des volontaires venait de Donéguébougou avec un taux d'éligibilité de 40% en 2014 et de 29% en 2016. L'âge moyen des volontaires éligibles en 2014 était de $24,69 \pm 4,83$ et celui des volontaires non éligibles était de $26,5 \pm 4,64$. En 2016 l'âge moyen des volontaires éligibles était de $32,37 \pm 8,39$ et celui des volontaires non éligibles était de $33,48 \pm 8,20$. Notre taux d'éligibilité de 2014 (40%) était comparable à certains résultats trouvés au Mali notamment celui de Assadou en 2013 (43,3%) [54] avec $p=0,5$ et en 2015 (47,1%) [54] avec $p=0,095$ à Bancoumana celui de M. Thera et al à Bandiagara en 2006 (37%) [22] $p=0,573$ et en 2016 (44,4%) [26] $p=0,5$; celui de Dicko et al à Donéguébougou 2007 (51,3%) $p=0,57$ en 2008 (46,7%) [28] $p=0,322$. Cependant il était nettement différent de celui trouvé par Sagara et al en 2010 à Bancoumana (51%) [34] $p=0,005$, de celui de Matthew B Laurens et Thera à Bandiagara en 2013 (53,6%) [55] $p=0,000$, de celui de B. Hickey en 2016 (71,9%) [56] $p=0,000$, de celui de Adbulah et al en Tanzanie en 2011 (89,9%) [57] $p=0,000$. Ces différences statistiquement significatives peuvent être dues à la classe d'âge des volontaires et à la nature des critères d'exclusion. Notre taux d'éligibilité de 2016 (29%) était comparable à certains résultats obtenus au Mali et ailleurs notamment celui de Sagara en 2010 à Donéguébougou (30%) [34] $p=0,86$ et celui de Hodgson et al en 2015 au Kenya (19,1%) [58] $p=0,09$. Cependant il était différent de celui trouvé par Assadou en 2013 (43,3%) [54] $p=0,004$ et en 2015 (47,1%) $p=0,000$, par Hickey et coll (72%) [56] $p=0,000$. Ces différences sont probablement dues à la nature de critères d'inclusion et à la taille des échantillons mais aussi du fait de la succession des essais cliniques chez les adultes dans cette localité.

VI.2.2 Electrocardiogramme:

Dans notre étude il y a eu peu de cas d'anomalies révélés par l'ECG notamment 20% en 2014 dont la majeure partie était la classe d'âge de 18-25 ans et 3% en 2016.

VI.2.3 Paramètres Biochimiques:

Nous avons constaté que la créatinémie était le paramètre qui a le plus de valeurs anormales avec respectivement 30% en 2014 et 32% en 2016. Ces résultats doivent attirer l'attention des investigateurs et il serait intéressant de chercher à éclaircir l'étiologie de ces cas de créatinémie élevée en se proposant de calculer le DFG. Du point de vue DFG, En 2014 la

fréquence de DFG anormal était plus élevée chez les femmes tandis qu'en 2016 elle était plus élevée chez les hommes.

Ces valeurs étaient nettement supérieures à celle obtenue par M Thera à Bandiagara en 2006 qui était de 1,8% [22] $p=0,000$ et celui trouvé par M. Kéïta en 2003 à Donéguébougou (2 cas sur 80 adultes) soit 2,5% [59] $p=0,000$. Cette différence est probablement due à la différence entre les valeurs de référence utilisées mais aussi aux différentes machines et méthodes utilisées. Elles étaient cependant inférieures à celles obtenues par Siby en 2008 au centre national de transfusion sanguine (CNTS) de Bamako chez les donneurs de sang bien portants 58,3% et 56,81% chez les malades au laboratoire de biologie moléculaire appliquée (LBMA) [60]. Cette différence est probablement due à la taille de notre échantillon. Notre étude nous a montré que la proportion de femmes ayant la créatinémie élevée était supérieure à celle des hommes aussi bien en 2014 qu'en 2016.

La proportion des volontaires ayant L'ALAT élevée n'a pas significativement varié entre 2014 et 2016. Nos résultats de 2014 (6%) et de 2016 (4%) étaient légèrement supérieurs à celui trouvé par Hodgson et al en 2015 (2%) [58] mais ils étaient comparables à celui trouvé par M Thera et al à Bandiagara en 2006 (4,6%) [22].

V I. 2.4 Paramètres hématologiques:

Concernant les paramètres hématologiques le taux d'hémoglobine était le paramètre qui avait plus de valeurs anormales chez les volontaires à savoir 8% en 2014 et 9% en 2016. Nos résultats étaient nettement inférieurs à ceux obtenues par Siby en 2008 au Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) [60] (10 sujets avaient les valeurs inférieurs à la norme et 4 autres avaient la valeur supérieure à la norme) soit 30% [60]. Cette différence peut s'expliquer par la différence qui existe entre nos valeurs de référence. Ils étaient également inférieurs au résultat obtenu par M. Keita à Donéguébougou en 2003 (16,25%) [59].

Les cas de leucopénie aussi bien en 2014 (3%) qu'en 2016 (5%) étaient nettement inférieurs à celui trouvé par Siby au CNTS (28,26%) [60] $p=0,000$. Cette différence peut-être attribué à la différence qu'existe dans les tranches d'âge. Cependant ils étaient comparables à celui trouvé par Hodgson (2%) [58].

Les cas de neutropénie étaient de 5% en 2014 et 9% en 2016. Notre résultat de 2014 était comparable à celui trouvé par Assadou en 2013 (6,1%) [54] $p=0,61$ et à celui de Hodgson (3,4%) [58] $p=0,448$. Cependant notre résultat de 2016 était supérieur à celui de Assadou et de Hodgson. Cette différence est attribuable aux différentes valeurs de référence, aux méthodes utilisées.

Concernant le taux de plaquettes notre résultat de 2014 (2%) et celui de 2016 (1%) étaient légèrement inférieurs à celui de M. Thera (2,7%) [22]. Ces résultats étaient nettement inférieurs à ceux de Siby qui au CNTS a eu 6,52% de thrombopénie et 30,43% de thrombocytose [60]. Cette différence peut-être due aux différentes valeurs de référence utilisées aux méthodes utilisées ou même aux performances des appareils.

V I. 2.5 Sérologie:

➤ Virus de l'Immunodéficience Humaine (V.I.H)

S'agissant du VIH une baisse de fréquence a été observé entre 2014 (3%) et de 2016 (1%). Ces résultats étaient inférieurs à celui obtenu par Assadou à Bancoumana en 2015 (7,5%) [54]. Cette différence peut-être due à certains modes de vie qui peuvent augmenter le risque de transmission. Nos résultats étaient comparables à celui trouvé par Y. Traoré et al (2,18%) [61], à celui trouvé par Agnès à Bancoumana (2,3%) et par M. Korkos (1,4%) [62].

➤ Virus de l'Hépatite B (HBV) :

Concernant l'Hépatite B notre résultat de 2014 (23%) était statistiquement différent de celui obtenu par A.H. Diallo au CNTS (12,1%) [63] $p=0,04$, de celui trouvé par Agnès (9,6%) [64] $p=0,01$. Cette différence peut-être due par le manque d'information de la population sur cette pathologie. Notre résultat de 2016 (16%) était proche de celui trouvé par N. Dembélé à Bamako (14,95%) [65] $p=0,8$. En 2014 nous avons trouvé un résultat (23%) proche de celui trouvé par N. Dembélé à Sikasso (23,15%) [65].

➤ Virus de l'Hépatite C (HCV) :

La prévalence de l'Hépatite C obtenus par notre étude en 2014 (2%) était proche de celui trouvé par Assadou en 2013 (1,4%) [54] et celui de Agnès (1,8%) [64], mais inférieur à celui trouvé par N. Bouaré (4,7%) [66].

Concernant les cas de co-infections nous avons constaté en 2014 un (1) cas de co-infection HBS-HCV (0,4%) proche de celui trouvé par Diallo au CNTS (0,65%) et 3 cas de co-infection HBS-HIV (1,38%) [63].

La prévalence de co-infection HBS-HIV était nettement inférieure à celui obtenu par Diallo au CNTS (12,1%) [63] $p=0,001$ et par Kadidia Koné au CESAC (15,9%) [67] $p=0,0001$. Cette différence peut être expliquée au fait que les études n'ont pas été menées dans la même localité. En 2016 nous avons observé 5 cas de co-infection HBS-HCV (1,8%) et 1 cas de co-infection HBS-HIV (0,36%).

Ces résultats doivent attirer notre attention et pousser notre curiosité à chercher à comprendre pourquoi cette inflation des cas de HCV de 2014 à 2016. Il serait très avantageux de mener des campagnes de sensibilisation à travers des communications pour le changement de comportement (CCC). Ceci nous permettra certainement de diminuer les contaminations si à travers ces CCC nous édifions la population sur les voies et modes de transmissions de ces pathologies.

V I. 2.6 Chimie des urines et test de grossesse:

Nous avons constaté que la proportion des volontaires ayant les cas d'hématurie était plus élevée que celle de protéinurie respectivement 7,4% en 2014 et 18% en 2016. Notre prévalence d'hématurie en 2014 (7,4%) était proche de celui trouvé par Céline Moro (7,03%) [68] $p=0,89$ mais nettement inférieur par rapport à celui de Benzeghadi et Karim en 2015 (41,25%) [69] $p=0,000$. Notre résultat de 2016 (18%) était inférieur à celui de Benzeghadi et Karim (41,25%) [69] $p=0,000$ et supérieur à celui obtenu par Céline Moro (7,03%) [68] $p=0,002$. Ces différences statistiquement significatives peuvent être dues aux différentes tailles d'échantillon et à l'environnement de ces différents milieux. S'agissant de la protéinurie notre résultat de 2014 (2%) et de 2016 (4%) étaient nettement inférieurs à ceux trouvés par EL Fadl (48,6%) [70] $p=0,000$ et par Karim et Benzeghadi (21,5%) [70] $p=0,000$. Cette différence s'explique probablement par le fait que ces auteurs ont réalisé leurs études sur des sujets déjà souffrant. Mais se rapprochaient de celui trouvé par Agnès Scherrer Kirmann (5,7%) [71].

Ces fréquences qui ont presque doublé entre 2014 et 2016 dissimule des zones d'ombres et suscite des investigations pour éclaircir ce rebond.

VII CONCLUSION

Le paludisme est un problème majeur de santé publique surtout en Afrique sub-saharienne.

Beaucoup de stratégies de lutte ont été adoptées par l'OMS à travers les programmes de lutte contre le paludisme.

Les essais cliniques sont au cœur des travaux de ces différentes stratégies de lutte contre le paludisme. Les essais cliniques comportent plusieurs phases et chaque phase comporte des étapes notamment le screening (dépistage) qui est une étape cruciale.

Notre travail consistait à évaluer la fréquence des différentes conditions biologiques excluant les participants lors de 2 essais vaccinaux antipaludiques.

Au Mali nous n'avons pas trouvé une étude qui a spécifiquement traité ce sujet.

Au terme de notre étude nous pouvons conclure que:

- L'hépatite B, l'hépatite C et le VIH étaient beaucoup prévalents dans notre population, elles étaient supérieures par rapport à la prévalence dans d'autres localités et ont fait l'objet de beaucoup de cas de non inclusion des volontaires dans les essais cliniques avec quelques cas de co-infections, à ceux-ci s'ajoute beaucoup de cas de créatinémie élevée ainsi que des cas d'hématurie.
- Les cas de transaminases élevées, la protéinurie, les anomalies des paramètres hématologiques avaient moins de place dans la non éligibilité des volontaires dans les essais cliniques à Donéguébougou en 2014 et 2016.
- Peu de volontaires avaient l'électrocardiogramme anormal et seulement 2 cas de grossesse ont été constatés.

Perspectives :

Au vu de ces résultats il serait intéressant de mener des investigations pour mieux comprendre l'étiologie de certaines de ces anomalies et si possibles chercher à élucider leur corrélation avec le mode de vie de la population dans cette localité.

Mener des campagnes de sensibilisations pour la prévention des pathologies contagieuses surtout virales et éclaircir certaines zones d'ombres (cas de HCV trop élevé en 2016 par rapport à 2014).

VIII RECOMMENDATIONS

Au terme de notre étude nous reformulons les recommandations suivantes:

VIII.1 Aux autorités de:

- De collaborer avec le MRTC qui est aux des populations afin de mettre en place une structure d'éducation de la population sur les viroses (émergentes et ré-émergente) les plus fréquentes et leurs surveillances.
- Encourager la population à participer aux essais cliniques.
- Aider les chercheurs à s'investir pour comprendre l'étiologie des cas de créatinémies élevées.
- Encourager les chercheurs du MRTC à rechercher les facteurs responsables de cette forte fréquence du portage de l'AgHBS et cette flambée d' C entre 2014 et 2016.

VII.2 Aux personnels chercheurs

- De mener des campagnes de sensibilisation dans le but de faire comprendre à la population l'importance de cette lutte contre le paludisme.
- Encourager de telles études dans les autres sites d'essai cliniques pour les études à venir.
- Mener cette étude chez les enfants en utilisant des valeurs biologiques de références locales.
- Suivre en continu la dynamique de ces paramètres dans la population.

VII.3 À la population

- De participer massivement à ces études de recherche afin qu'ensemble on puisse progresser dans la recherche et aller vers l'éradication de ces fléaux.

IX BIBLIOGRAPHIE

1. WORLD HEALTH ORGANIZATION. World malaria report 2017. Geneve; 2017.
2. Organisation mondiale de la Santé. Rapport sur le paludisme dans le monde 2016 - résumé. Geneve: OMS; 2017 mars p. 24.
3. BASCO L. K., RUGGERIC et LE BRAS J. Molécules antipaludiques. Mécanismes d'action, Mécanismes de résistance, relations structure-activité des schizonticides sanguins. Éditions MASSON, Paris-Milan-Barcelone 1994, 364 p.
4. Ogobara K. Doumbo. Actualités sur les vaccins contre le paludisme. Marseille; 2017. (MOOC).
5. Fanta Koïta. Valeurs de reference de l'hémogramme chez les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans a Ouelessebouougou, Mali [Thèse de pharmacie]. [Bamako]: USTTB; 2015.
6. Vincent-Viry M, Henny J, Clerc M, Siest G. Les « Valeurs de référence » sont-elles transférables ? (Résultats d'une étude coopérative internationale). Méd. Afr. Noire, 1986, 33, (5):419-428.
7. White,N.J., Plasmodium knowlesi: the fifth human malaria parasite. Clin.Infect.Dis. 2008. 46: 172-173.
8. Colin J. Sutherland, Tanomsing N, Nolder D, Ogui ke M, Jennison C, Pukrittayakamee S et al . Two Nonrecombining Sympatric Forms of the Human Malaria Parasite Plasmodium ovale Occur Globally. pubmed Infection disease.2010 May 15;201(10):1544-50.
9. White,N.J. and Ho,M., The pathophysiology of malaria. Adv.Parasitol. 1992. 31:83-173.: 83-173.
10. Dzikowski,R., Templeton,T.J., and Deitsch,K., Variant antigen gene expression in malaria. Cell Microbiol. 2006. 8: 1371-1381.
11. Marc Gentilini, Martin Danis et Jean Mouchet. Médecine tropicale (Université Francophone) Paludisme ; ©Edition Marketing/Ellipses, 1991, .
12. Diakité Mahamadou. Impact sur le Paludisme. Ed Sullivan. 2012.
13. Raymond Douyon. Analyse de la réponse anticorps naturelle contre trois antigènes de P.falciparum chez les enfants de 1 à 5 ans vivant à Bandiagara, Mali [Thèse de Pharmacie, FMPOS]. [Point « G »]: Université des Sciences, Techniques et Technologies de Bamako; 2013.
14. HAMRAOUI YASSINE. Perturbations biologiques au cours du paludisme d'importation : à propos de 30 cas. [Thèse de Médecine]. [MEKNES]: UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH; 2016.
15. J. R. Mabiala-Babela,. Paludisme grave associé à une insuffisance rénale aiguë : à propos d'une observation. 2002;

16. HOFFMAN S. L., ISENBARGER D., LONG G. W., SEDEGAH M., SZARFMAN A., WATERS L., HOLLINGDALE M. R., VAN DER MEIDE P. H., FINBLOOM D. S., BALLOU W. R. Sporozoite vaccine induces genetically restricted T cell elimination of malaria from hepatocytes. *Science* 1989 Jun. 2; 244 (4908) p:1078-1081
17. Okies S. Betting on a malaria vaccine. *N.Engl.J.Med.* 353, 1877-1881. 3-112005.
18. Guinovart C, Aponte JJ, Sacarla J, Aide P, Leach A, Bassat Q, Macete E, Dobano C, Lievens M, Loucq C, Ballou WR, Cohen J, and Alonso PL. Insights into longlasting protection induced by RTS,S/AS02A malaria vaccine further results from a phase IIb trial in Mozambique children. *Plosone* 4(4). 2009.
19. Blanca Liliana Perlaza, Jean-Pierre Sauzet, Aissatou Toure Balde, Karima Brahim, Adama Tall, Glampietro Corradin et al. Long synthetic peptides encompassing the Plasmodium falciparum LSA3 are the target of human B and T cells and are potent inducers of B helper, T helper and cytolytic T cell responses in mice. *European Journal of Immunology.* 2001 July 04;31:2200-2209
20. Carter R, Mendis KN, Miller LH, Molineaux L, and Saul A. Malaria transmission blocking vaccine- how can their development be supported? *Nat.Med.* 6(3), 241-244. 2000.
21. DUFFY P. E., KASLOW D. C., A novel malaria protein, Pfs28, and Pfs25 are genetically linked and synergistic as falciparum malaria transmission-blocking vaccines. *Infection and Immunity.* 1997 Mars ; 65 (3) p:1109-1113.
22. Thera MA, Doumbo OK, Coulibaly D, Diallo DA, Sagara I, et al. (2006) Safety and allele-specific immunogenicity of a malaria vaccine in Malian adults: Results of a phase I randomized trial. *PLoS Clin Trials* 1(7): e34. doi:10.1371/journal.pctr.0010034
23. Thera MA, Doumbo OK, Coulibaly D, Diallo DA, Kone AK, et al (2008) Safety and Immunogenicity of an AMA-1 Malaria Vaccine in Malian Adults: Results of a Phase 1 Randomized Controlled Trial. *PLoS ONE* 3(1): e1465. doi:10.1371/journal.pone.0001465
24. Thera MA, Doumbo OK, Coulibaly D, Laurens MB, Kone AK, et al. (2010) Safety and Immunogenicity of an AMA1 Malaria Vaccine in Malian Children: Results of a Phase 1 Randomized Controlled Trial. *PLoS ONE* 5(2): e9041. doi:10.1371/journal.pone.0009041
25. Mahamadou A. Thera et Ogobara K. Doumbo, Drissa Coulibaly, Matthew B. Laurens, Amed Ouattara, Abdoulaye K. Kone et al. A Field Trial to Assess a Blood-Stage Malaria Vaccine. *N Engl J Med* 2011;365:1004-13
26. Mahamadou A. Thera, Drissa Coulibaly, Abdoulaye K. Kone, Ando B. Guindo, Karim Traore, Abdourhamane H. Sallet al. Phase 1 randomized controlled trial to evaluate the safety and immunogenicity of recombinant Pichia pastoris - expressed Plasmodium falciparum apical membrane antigen 1 (PfAMA1 - FVO [25- 545]) in healthy Malian adults in Bandiagara. *Malarial Journal.* 15:442 DOI 10.1186/s12936-016-1466-4

27. Dicko A, Diemert DJ, Sagara I, Sogoba M, Niambele MB, Mahamadoun H. Assadou et al Impact of a Plasmodium falciparum AMA1 Vaccine on Antibody Responses in Adult Malians. PLoS ONE 2(10): e1045. doi:10.1371/journal.pone.0001045
28. Dicko A, Sagara I, Ellis RD, Miura K, Guindo O, Beh Kamat et al (2008) Phase 1 Study of a Combination AMA1 Blood Stage Malaria Vaccine in Malian Children. PLoS ONE 3(2): e1563. doi:10.1371/journal.pone.0001563
29. Issaka Sagara,, Ruth D. Ellis,, Alassane Dicko, Mohamed B. Niambele, Beh Kamate et al.A Randomized, Controlled, Phase 1 Study of the Safety and Immunogenicity of the AMA1-C1/Alhydrogel® + CPG 7909 Vaccine for Plasmodium falciparum Malaria, in Semi-immune Malian Adults. NIH Public Access Author Manuscript. 2009;
30. Mahamadou S. Sissoko, Sara A. Healy, Abdoulaye Katile, Irfan Zaidi, Erin Gabriel, Bourama Kamat et al. Safety, tolerability and efficacy of dose escalating direct venous inoculation with radiation attenuated *Plasmodium falciparum* NF54 sporozoites (pfspsz vaccine) in healthy malian adults.14-I-N010
31. Mahamadou S Sissoko , Sara A Healy et al. Safety and efficacy of PfSPZ Vaccine against *Plasmodium falciparum* via direct venous inoculation in healthy malaria-exposed adults in Mali: a randomized, double-blind phase 1 trial Lancet Infection disease 2017.16-I-N004
32. Mahamadou S Sissoko. Clinical Study phase IIb-3 to evaluate the immunogenicity, efficiency and safety for vaccine candidate, mérozoïtes surface protein-3 long synthetic peptide (MSP3) Adjuvant in aluminum hydroxide against Plasmodium falciparum Clinical Malaria in healthy Children aged 12-48 Months in Mali (non publié).
33. Issaka Sagaraa et coll. Essai de Phase 1 avec Escalade de Dose, en Double Aveugle, Randomisé, Contrôlé de la Tolérance et de l'Immunogénicité des Vaccins Pfs25M-EPA/AS01 et Pfs230D1M-EPA/AS01, Vaccins Bloquant la Transmission du Plasmodium falciparum, à Dose Complète et Fractionnaire chez les adultes au Mali.NIH# 17-I-N006
34. Issaka Sagara, Alassane Dicko, Ruth D. Ellis, Michael P. Fay, Sory I. Diawara, Mahamadoun H. Assadou et al. A Randomized Controlled Phase 2 Trial of the Blood Stage AMA1- C1/Alhydrogel Malaria Vaccine in Children in Mali. Vaccine. 2009 May 18; 27(23): 3090–3098. doi:10.1016/j.vaccine.2009.03.014
35. Issaka Sagaraa et al. Phase 1 Study of the Safety and Immunogenicity of BSAM-2/Alhydrogel®+CPG 7909, an Asexual Blood Stage Vaccine for Plasmodium falciparum Malaria in Adults. 09-I-N134
36. Issaka Sagaraa et al. Phase 1 Study of the Safety and Immunogenicity of Pfs230D1M-EPA/Alhydrogel® and Pfs25M-EPA/Alhydrogel®, a Transmission Blocking Vaccine against Plasmodium falciparum Malaria, in Adults in the US and Mali.
37. Issaka Sagaraa et al. Essai de Phase 1 avec Escalade de Dose, en Double Aveugle, Randomisé, Contrôlé de la Tolérance et de l'Immunogénicité des Vaccins Pfs25M-EPA/AS01 et Pfs230D1M-EPA/AS01, Vaccins Bloquant la Transmission du Plasmodium falciparum, à Dose Complète et Fractionnaire chez les adultes au Mali. FMPOS EC # N° 2016/133/CE/FMPOS

38. Mahamadou S Sissoko et al. A double blind, randomized, controlled phase IIB study to evaluate the immunogenicity, efficiency and safety of Plasmodium falciparum vaccine candidate, Mérozoite surface protein-3 long synthetic peptide (MSP3) adjuvant in aluminum hydroxide versus rabies vaccine in healthy children aged 12-48 months in Mali. (Non publié)
39. Mahamadou S Sissoko et al. Clinical Study phase IIB-3 to evaluate the immunogenicity, efficiency and safety for vaccine candidate, mérozoïtes surface protein-3 long synthetic peptide (MSP3) Adjuvant in aluminum hydroxide against Plasmodium falciparum Clinical Malaria in healthy Children aged 12-48 Months in Mali. (Non publié)
40. OUEDRAOGO Malika Toussida. Etude comparative chez la femme enceinte et la femme non enceinte au Centre Hospitalier National Yalgado Ouédraogo (C.H.N.Y.O) et au Centre Médical Saint Camille de Ouagadougou [Thèse de pharmacie]. [Ouagadougou]: Université de Ouagadougou; 2001.
41. Borel J., Caron J., Chanard J., Gougeon I., Leutenegger M., Maquart F.X., Potron G., Randoux A. et Zeitoun P. Comment prescrire et interpréter un examen de biochimie. 2ème éd. Paris; 1984. 15-36 p.
42. Liebig J. Kreatin und Kreatinin, Bestandtheile des Harns der Menschen. J Prakt Chem 1847;40: 288-292.
43. Pierre Valdiguie. Biochimie clinique. 2e édition. Vol. 275. 2002.
44. Salim Djelouat. COMPRENDRE LA CRÉATININE.
45. Cook JG. Factors influencing the assay of creatinine. Ann Clin Biochem. 1975. 219-232 p.
46. Suzuki M. Purification and some properties of sarcosine oxidase from Corynebacterium sp. J Biochem. 1981. 599-607 p.
47. Weil JH. Biochimie générale. Masson. Vol. 7994. Paris; 1970.
48. Note d'information n° 666 DGS/DH/DRT du 28 octobre 1996, abrogée par la circulaire DGS/DH/DRT. 1998.
49. Robinson D, Whitehead TP. Effect of body mass and others factors on serum liver enzyme levels in men attending for well polulation screening. Ann Clin Biochem. 1989. 393-400 p.
50. Bernard J, Levy JP, Vret B, Clauvel JP, Rain JD, Sultan Y. Hématologie. 8èd. Paris: Masson; 1996.
51. Jean Boutonnat. Cellules du sang et leurs corollaires tissulaires. 2012.
52. Gerd-Rüdiger Burmester Antonio Pezzutto. Atlas de poche d'immunologie. Medecine-Sciences. Paris: Flammarion; 1998. 316 p.
53. Jean-Marie Hureau. Virologie. Vol. 124. Paris; 2007.

54. Assadou H. Mahamadoun, Issaka Sagara, Mamady Kone, Kourane Sissoko, Bourama Kamate, Yacouba Samake et al. Common findings and exclusions during enrollment of adult malian volunteers for malaria vaccine studies. ASTMH; 2016.
55. Laurens MB, Thera MA, Coulibaly D, Ouattara A, Kone AK, et al. (2013) Extended Safety, Immunogenicity and Efficacy of a Blood-Stage Malaria Vaccine in Malian Children: 24-Month Follow-Up of a Randomized, Double-Blinded Phase 2 Trial. PLoS ONE 8(11): e79323. doi:10.1371/journal.pone.0079323
56. Bradley W. Hickey, Joanne M. Lumsden, Sharina Reyes, Martha Sedegah, Michael R. Hollingdale, Daniel A. Freilic et al. Mosquito bite immunization with radiation- attenuated Plasmodium falciparum sporozoites: safety, tolerability, protective efficacy and humoral immunogenicity. Malar J (2016) 15:377 DOI 10.1186/s12936-016-1435-y
57. Salim Abdulla, Nahya Salim, Francisca Machera, Richard Kamata, Omar Juma, Mwanajaa Shomari et al. Randomized, controlled trial of the long term safety, immunogenicity and efficacy of RTS,S/ AS02D malaria vaccine in infants living in a malaria-endemic region. Malaria Journal. 2013, 12:11
58. Susanne H Hodgson, Elizabeth Juma, Amina Salim, Charles Magiri, Daniel Njenga, Sassy Molyneux et al. Lessons learnt from the first controlled human malaria infection study conducted in Nairobi, Kenya. Malaria Journal. (2015) 14:182 DOI 10.1186/s12936-015-0671-
59. Keita Mamadou Niafou. Etude de la distribution des paramètres hématologiques et biochimiques à Donéguébougou : une expérience d'introduction des bonnes pratiques de laboratoire au MRTC/DEAP/FMPOS. [Thèse de pharmacie]. [Donéguébougou]: Université de Bamako; 2003.
60. Sidi SIBY. Etude de la variation des paramètres biochimiques et hématologiques dans le district de BAMAKO [Thèse de Medecine Generale]. [Bamako]: Université de Bamako; 2008.
61. TRAORE Y. Prevention de la transmission mere enfant du vih en milieu hospitalier africain, MALI Médical 2011.BAMAKO-MALI.;5.
62. KORKOSS MAHAMADOU. Etude rétrospective de la prévalence de l'infection a hiv chez les femmes enceintes vues en consultation prénatale du 01 janvier 2008 au 31 décembre 2009 à l'ASACOMSI à propos de 46 cas [Thèse de Médecine Generale]. [Bamako]: USTTB; 2011.
63. Ali Hadou DIALLO. Séroprévalence de la co-infection par les virus b et c de l'hépatite chez les donneurs de sang à BAMAKO. [Thèse de pharmacie]. [Bamako]: USTTB; 2006.

64. Merepen A. Guindo. Frequencies of Hepatitis B, Hepatitis C and HIV Infection Among Volunteers Screened for a Malaria Transmission Blocking Vaccine Trial in Bancoumana, Mali. ASTMH 2013.
65. Nagazanga DEMBELE. Seroprevalence de l'infection par le virus de l'hépatite b (vhb) chez les scolaires ages de 15 a 25 ans a BAMAKO, KOULIKORO ET SIKASSO [Thèse de pharmacie]. [Bamako]: Université de Bamako; 2006.
66. Nouhoum BOUARE. Prévalence comparée des infections VHC et VIH au Mali. [Thèse de Doctorat]. [Liège]: Université de Liège; 2013.
67. KONE KADIDIA. Prévalence de la co-infection Virus de l'immunodéficience humaine/Virus de l'hépatite B au CESAC de Bamako et à l'USAC de la commune V [Thèse de Medecine Generale]. [Bamako]: USTTB; 2010.
68. Celine Moro. Place de la bandelette urinaire en médecine générale dans le cadre du dépistage de la protéinurie chez le sujet à risque ; à propos de 128 cas. [Thèse de Medecine Generale]. [Nancy]: Université Henri Poicare de Nancy; 2010.
69. KARIM KARIMA, BENZEGHADI HAFIDA. Les infections urinaires chez les nourrissons [Thèse de Médecine Générale]. [Algérie]: UNIVERSITE ABOU BAKR BELKAID TLEMCEN; 2015.
70. EL FADL YASSINE. Dépistage de lanéphropathie diabetique averee dans laregion fes-boulemane (Apropos de 1029 cas) [Thèse de Medecine Generale]. Universite SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH; 2010.
71. SCHERRER KIRRMANN Agnès. Dépistage de la maladie rénale chronique en médecine générale. Audit de pratique. [Thèse de Medecine Generale]. [Paris]: UNIVERSITÉ PARIS DIDEROT; 2013.

ANNEXES

Mode opératoire de l'électrocardiogramme :

➤ **Position des électrodes:**

Dérivation frontale: on fixe une électrode à l'extrémité de chaque membre

- Borne rouge : bras droit
- Borne jaune : bras gauche
- Borne noire : pied droit
- Borne verte : pied gauche

Dérivations précordiales : on fixe les électrodes au niveau du thorax

- V1: 4^e espace intercostal, bord droit du sternum
- V2: 4^e espace intercostal, bord gauche du sternum
- V4: 5^e espace intercostal gauche, sur la ligne médio claviculaire
- V3: entre V2 et V4
- V6: prolonge l'horizontale de V4 jusqu'au flanc (sur la ligne axillaire moyenne)
- V5: entre V4 et V6

➤ **Réalisation de l'examen**

- Volontaire allongé, torse nu, sur un plan horizontal (à plat +++)
- Dégraisser les zones cutanées où on applique les électrodes à l'éther
- Étaler une fine couche de pâte conductrice sur les électrodes
- Poser les électrodes
- Les relier à l'appareil
- Demander au volontaire de garder les jambes allongées, les bras le long du corps et de ne pas bouger pendant l'enregistrement de l'ECG.

Matériels et mode opératoire de l'ELISA :

✓ Matériels:

Incubateurs ;

Réfrigérateurs ;

Plaque de microtitration

Pipettes multicanaux 50-300µl; Pipettes pasteur (*Gilson*);

Embouts pour pipette ;

Tubes ependorfs;

Tube Falcon de 15 et 50 ml

Papier hygiénique; Gants; Poubelles

Lecteur de microplaques (*VERSAmax* microplate reader),

Le logiciel Softmaxpro programme.

Tableau XV: Tableau récapitulatif des réactifs de l'ELISA

Type de virus Étiquetage	HBs	HCV	HIV
R1	MICROPLAQUE : 12 barrettes de 8 cupules sensibilisées avec des anticorps monoclonaux anti-HBs (souris)	MICROPLAQUE: 12 barrettes sensibilisées avec un anticorps monoclonal anti-capside du VHC et des antigènes recombinants purifiés (NS3, NS4) et un peptide muté de la région capsidale du VHC	MICROPLAQUE:12 barrettes de 8 cupules sensibilisées avec des anticorps monoclonaux (souris) anti-p24 du VIH1 et des antigènes VIH1 et VIH2 purifiés

R2	SOLUTION DE LAVAGE concentrée (20X) 1 flacon 1 flacon Tampon tris, NaCl, pH = 7,4 Conservateur : ProClin™ 300 (0,04%)	SOLUTION DE LAVAGE concentrée (20X) 1 flacon 1 flacon Tampon tris, NaCl, pH = 7,4 Conservateur : ProClin™ 300 (0,04%)	SOLUTION DE LAVAGE concentrée (20X) 1 flacon 1 flacon Tampon tris, NaCl, pH = 7,4 Conservateur: Merthiolate de Sodium 0,01%
R3	Contrôle négatif: Tampon Tris HCl, contenant de la SAB 2 x 2,5 ml Conservateur: ProClin™ 300 (0,1 %)	Contrôle négatif: Tampon Tris HCl, contenant de la SAB; 1 ml Conservateur: Proclin™ 300 (0,1%)	Contrôle négatif: Plasma humain inactivé par chauffage, négatif en antigène (2,5 ml) HBs et VIH et en anticorps anti-VIH1, anti-VIH2 et anti-VHC Conservateur: Azide de Sodium < 0,1%

R4	<p>CONTRÔLE POSITIF (Humain) Tampon Tris HCl, contenant de la SAB, additionné d'un mélange d'Ag HBs (2,5ml) purifiés des sous-types ad et ay, (humains) Conservateur: ProClin™ 300 (0,1 %)</p>	<p>CONTRÔLE POSITIF flacon de 3ml Sérum humain contenant des anticorps anti-VHC négatif pour l'antigène HBs et pour les anticorps anti-HIV1 et anti-HIV2 dilué dans un tampon Tris HCl contenant de la S.A.B., inactivé photochimiquement Conservateur: Proclin™ 300 (0,1%)</p>	<p>Contrôle positif anticorps VIH Diluant synthétique contenant du plasma humain inactivé (1ml) par chauffage, positif en anticorps anti-HIV, négatif en antigène HBs et en anticorps anti-VHC. Conservateur: ProClin™ 300 < 0,1%</p>
R5		<p>R5a: CONTRÔLE ANTIGÈNE POSITIF Antigène positif synthétique de contrôle contenant un peptide de capsid lyophilisé</p> <p>R5b: DILUANT DU CONTRÔLE ANTIGÈNE Diluant du R5a. Eau contenant un conservateur: Proclin™ 300 (0,5 %)</p> <p>Contrôle positif Ag VIH: Diluant synthétique contenant de l'antigène VIH1 purifié inactivé par la chaleur en présence d'un agent dissociant. Conservateur: ProClin™ 300 < 0,1%</p>	

R6	DILUANT CONJUGUÉ : Tampon Tris HCl pH=7.4 additionné de BSA, de Tween 20, d'immunoglobulines de bœuf et de souris et d'un indicateur coloré témoin de dépôt Conservateurs: Ciprofloxacine (10µg/ml), ProClin™ 300 (0,1 %)	CONJUGUE 1 Anticorps monoclonal murin dirigé contre la capsid du VHC marqué à la biotine. Coloré en violet. Conservateur : Azide de sodium (<0,1%), Cosmocil 0,025%	Conjugué 1 Anticorps polyclonaux (mouton) biotinylés anti-p24 VIH1 coloré en jaune-vert Conservateur : ProClin™ 300 0,5%
R7	CONJUGUÉ Anticorps monoclonaux anti-HBs de souris et anticorps polyclonaux anti-HBs de chèvre couplés à la peroxydase et lyophilisée.	CONJUGUE 2 Anticorps murins anti-IgG humaines marqués 15 ml 2 x 30 ml à la peroxydase et streptavidine marquée à la peroxydase Coloré en vert. Conservateur : Proclin™ 300 (0,5 %)	R7a Conjugué 2 Streptavidine et antigènes VIH1 et VIH2 purifiés marqués à la peroxydase, lyophilisée. R7b Diluant du conjugué 2 Solution de lait écrémé coloré en rouge Conservateur: ProClin™ 300 0,5%

R8	TAMPON SUBSTRAT DE LA PEROXYDASE Solution d'acide citrique et d'acétate de sodium pH 4,0 contenant 0,015% d'H ₂ O ₂ et 4% de diméthylsulfoxyde (DMSO)	TAMPON SUBSTRAT DE LA PEROXYDASE Solution d'acide citrique et d'acétate de sodium pH 4,0 contenant 0,015% d'H ₂ O ₂ et 4% de diméthylsulfoxyde (DMSO)	Tampon substrat Solution d'acide citrique et d'acétate de Sodium pH 4,0, (contenant 0,015% d'H ₂ O ₂ et 4% de DMSO
R9	CHROMOGÈNE coloré en rose: solution contenant du tetraméthyl benzidine (TMB)	CHROMOGÈNE Solution contenant du tétraméthyl benzidine (TMB)	Chromogène Solution contenant de la tetraméthyl-benzidine (TMB)
R10	SOLUTION D'ARRÊT Solution d'acide sulfurique 1 N	SOLUTION D'ARRÊT Solution d'acide sulfurique 1 N	Solution d'arrêt Solution d'acide sulfurique 1 N

Reconstitution des réactifs: Avant utilisation des réactifs de la trousse Monolisa™, les laisser s'équilibrer à la température ambiante (18-30°C). Diluer au 1/20^{ème} la solution de lavage R2 dans de l'eau distillée pour un volume total de 800 ml soit 40ml de PBS (20 X) et 760ml d'eau distillée.

✓ **En ce qui concerne l'Ag HBs:**

- **Conjugué (R6 + R7):**

Taper doucement le flacon de conjugué lyophilisé (R7) sur la pailasse pour détacher toute substance pouvant adhérer au bouchon de caoutchouc. Ensuite l'ouvrir (R7) et y transvaser le contenu d'un flacon de diluant pour conjugué (R6). Reboucher et laisser reposer 10 minutes en homogénéisant de temps en temps pour faciliter la dissolution.

- **Solution de révélation enzymatique (R8 + R9):**

Diluer le réactif R9 dans le réactif R8 au 1/11ème (exemple: 1 ml de réactif R9 dans 10 ml de réactif R8) sachant que 10 ml sont nécessaires et suffisants pour une plaque. Il faut bien homogénéiser. Cette solution reste stable pendant 6 heures à l'obscurité.

✓ **Pour le HCV:**

- **Antigène positif de contrôle (R5a + R5b):**

Remplir le flacon de R5a avec la totalité de la solution du flacon R5b. Reboucher et attendre 10 minutes à température du laboratoire en agitant de temps en temps le flacon par inversion du flacon.

- **Solution de révélation enzymatique (R8 + R9):**

Diluer le réactif R9 dans le réactif R8 au 1/11e (exemple : 1 ml de réactif R9 dans 10 ml de réactif R8) homogénéiser sachant que 10 ml sont nécessaires et suffisants pour une plaque.

✓ **Concernant le HIV:**

- **Solution de travail du conjugué 2: Réactif 7a (R7a) + Réactif 7b (R7b):**

Taper doucement le flacon sur la paillasse pour détacher toute substance pouvant adhérer au bouchon de caoutchouc. Enlever le bouchon avec soin et verser le contenu d'un flacon de diluant conjugué dans le flacon de conjugué lyophilisé. Reboucher et laisser reposer pendant 10 minutes en remuant et en retournant de temps en temps pour faciliter la dissolution.

- **Solution de révélation enzymatique : Réactif 8 (R8) + Réactif 9 (R9):**

Diluer au 1/11 la solution de chromogène (R9) dans le tampon substrat (R8) (exemple: 1 ml de réactif R9 +10 ml de réactif R8). Stable pendant 6 heures à l'obscurité après reconstitution.

➤ **Mode opératoire proprement dit:**

✓ **Test de détection de l'Ag HBs:**

Les plaques sont sensibilisées d'anticorps monoclonaux anti-HBs de la souris, les différentes étapes du test sont les suivantes:

- D'abord la distribution de 100µl du contrôle négatif (R3) dans les puits A1, B1, C1 et D1 puis 100µl du contrôle positif (R4) dans le puits E1 et 100µl de sérums (échantillons à tester) dans les autres puits selon le plan de distribution adopté au préalable.
- Ensuite distribuer 50µl du conjugué dilué (R6+R7) préparer juste quelques minutes avant son utilisation, on homogénéise par 3 aspirations et on recouvre la plaque avec un film adhésif avant de passer à l'incubation (réaction antigène-anticorps) pendant 90 minutes à 37°C.

- Puis on enlève le film adhésif et on procède au lavage avec le liquide de lavage préparé au préalable (R2) 4fois au minimum et chaque fois avec 300µl de R2 dans chaque puits.
- Après s'ensuit la distribution de 100µl du substrat encore appelé solution de révélation de l'activité enzymatique (R8+R9) aussi préparé quelques minutes à l'avance suivant une proportion de 1/11, on laisse agir pendant 30minutes à l'abri de la lumière.
- Enfin après ces 30 minutes on arrête la réaction avec de l'acide sulfurique 1N (H₂SO₄) pendant 4 minutes et on passe à la lecture de la densité optique avec le spectrophotomètre.

✓ **Test de détection des Ac et de l'Ag HCV:**

Les plaques sont sensibilisées avec un anticorps monoclonal anti-capside du VHC et des antigènes recombinants purifiés NS3, NS4) et un peptide muté de la région capsidale du VHC, les différentes étapes du test sont les suivantes:

- On débute par distribuer 100 µl du conjugué1 (R6) dans chaque puits, ensuite 50 µl de contrôle négatif (R3) dans le puits A1, 50 µl du contrôle positif (R4) dans les puits B1, C1, D1 et 50 µl de la solution de travail de l'antigène positif de contrôle (R5a+R5b) dans le puits E1 et les échantillons dans les autres puits selon le plan de distribution prédéfinis. On homogénéise le mélange par 3 aspirations pendant 5 secondes, on recouvre la plaque à l'aide d'un film adhésif et l'incubation s'ensuit et dure 90 minutes à une température de 37°C.
- On retire le film adhésif, s'ensuit le lavage avec 300 µl du liquide de lavage (R2) dans chaque puits et cette action de lavage est répétée au moins 5 fois ensuite distribution rapide de 100 µl du conjugué 2 (R7) dans chaque puits préparé quelques minutes au préalable, la plaque est couverte de film adhésif et on passe à une nouvelle incubation à 37°C pendant une demi-heure.
- S'ensuit un lavage (5 fois minimum), puis on procède à la distribution de 80 µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique (R8+R9) reconstitué quelques minutes avant le lavage, on recouvre la plaque avec un film d'aluminium et on laisse la réaction se développer à l'obscurité à la température ambiante pendant une demi-heure.
- On arrête la réaction en distribuant 100 µl de l'acide sulfurique dans chaque puits et on laisse agir pendant 4 minutes avant de passer à la lecture de la densité optique au spectrophotomètre.

✓ **Test de détection de l'Ag HIV P24 et de l'Anticorps anti-HIV1 et anti-HIV2:**

Les plaques sont sensibilisées avec des anticorps monoclonaux (souris) anti-p24 du VIH1 et des antigènes VIH1 et VIH2 purifiés et les différentes étapes à suivre sont les suivantes:

- On débute par la distribution de 25 µl du conjugué1 (R6) dans chaque cupule puis 75 µL du contrôle positif Ag HIV (R5) dans le puits A1, 75 µl du contrôle positif anticorps HIV (R4) dans le puits B, 75 µl du contrôle négatif (R3) dans les cupules C1,D1,E1 et 75 µl des sérums (échantillons à tester) dans les autres cupules selon le plan de distribution adopté et on homogénéise ce mélange par 3 aspirations, couvrir la plaque avec un film adhésif.
- On incube pendant une heure à 37°C.
- Puis on retire le film adhésif et on lave avec le liquide de lavage (R2) 300 µl dans chaque puits et le lavage est répété au moins 2 fois.
- On distribue 100 µl du conjugué 2 (R7a+R7b) dans tous les puits. Le conjugué 2 doit être bien agité avant utilisation. Couvrir la plaque à l'aide d'un film adhésif et une nouvelle incubation de 30 minutes commence à la température ambiante.
- Après il faut retirer le film adhésif, vider les puits et laver au moins 3 fois comme précédemment. Le volume résiduel doit être moins de 10 µl voire sécher les cupules par retournement de la plaque sur un papier absorbant.
- Ensuite distribution de 80 µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique appelée substrat (R8+R9) préparée au préalable. Laisser la réaction s'effectuer pendant 30 minutes à l'abri de la lumière donc couvrir la plaque avec un film d'aluminium.
- En fin il faut l'ajout de 100 µl de l'acide sulfurique dans toutes les cupules pour stopper la réaction. Essuyer minutieusement le dessous de la plaque et attendre 2 minutes avant de procéder à la lecture de la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre.

Mode opératoire de l'Hémogramme :

✓ Matériels et réactifs:

- Automate Act-DIFF
- Réactif diff Act Pack (lyse et diluant)
- Solution de rinçage Act Rinse
- Imprimante
- Gants, Blouses
- Compresse
- Papier hygiénique
- Homogénéisateur bidirectionnel
- Portoir
- Baguette
- Les masques de protection

✓ Contrôle de qualité (CQ):

Cette procédure consiste à vérifier les performances du système de Coulter Act DIFF. Nous utilisons un lot de contrôles 4C-ES à trois niveaux (bas, normal, élevé) quotidiennement avant l'analyse des échantillons. Le contrôle doit être homogénéisé en retournant doucement le tube 8 fois pendant une minute. Nous inspectons le tube pour voir si la suspension cellulaire est uniforme puis sur l'écran principal nous pressons l'icône QA, ensuite nous choisissons l'icône Analyse du 4C-ES (premier icône en haut à gauche).

Ensuite, choisir le niveau de contrôle et s'assurer que le tube que nous tenons correspond au niveau choisi sur l'écran. Présentons le flacon de contrôle de 4C-ES sous le bec de prélèvement de façon à ce que son extrémité plonge bien et appuyons sur la touche aspirante située derrière la sonde. Une fois que nous entendons le bip sonore, nous procédons au retrait du flacon. Les résultats affichés sur l'écran doivent être comparés systématiquement à ceux du fabricant se trouvant sur la notice accompagnant le même lot de contrôle. Si les valeurs étaient hors limites, le contrôle était testé à nouveau après homogénéisation. Après que les résultats des contrôles soient dans les normes nous remettons les contrôles au réfrigérateur. Les échantillons n'étaient analysés que si les résultats obtenus pour le contrôle étaient acceptables. Tous les résultats étaient imprimés systématiquement et archivés.

✓ Analyse des échantillons:

L'analyse se fait sur un prélèvement veineux sur un tube EDTA entre 30 minutes et 5 heures. Si l'analyse n'est pas effectuée dans les 24 heures, garder l'échantillon au frais (à 4°C) sauf

en cas de nécessité de vérifier la numération des plaquettes, dans ce cas les prélèvements sont gardés à la température ambiante. Le système Act Coulter aspire 12 µl de sang pour chaque test.

✓ **Procédures:**

Après avoir effectué le contrôle de qualité, il faut appuyer sur l'icône sang total pour l'analyse des échantillons. Il faut saisir le numéro d'identification du volontaire dans l'icône ID et le sauvegarder. On débouche le tube bien homogénéisé et sans caillots de sang et on le présente à la sonde de l'analyseur Coulter et on appuie sur le bouton d'aspiration situé derrière la sonde. Après aspiration, il faut retirer le tube et remettre le bouchon. Les résultats s'affichent automatiquement sur l'écran pour chaque paramètre. En présence de lettres ("H" ou "L") ou d'étoiles ("*"), le test de l'échantillon est à reprendre. En cas d'affichage d'un message d'erreur, il faut se référer au manuel des procédures spéciales pour y apporter une action corrective. L'échantillon doit être testé à nouveau chaque fois que l'analyse donne une valeur anormale. L'analyse des échantillons a été effectuée dans les conditions optimales de température située entre 18-30°C et d'humidité de la salle entre 30-85%.

Mode opératoire des analyses biochimiques :

✓ Matériels et réactifs:

- L'appareil Horiba ABX Pentra C200
- L'imprimante
- Le plateau permettant de porter les différentes cassettes
- Les cassettes de réactifs de créatinine et d'ALAT
- Les cuvettes
- Le contrôle de qualité interne (normal et pathologique)
- Le calibrant
- Les échantillons (sérum)
- Gants et blouses
- Pipettes et embouts

• Calibration et contrôle de qualité:

La calibration et le contrôle de qualité quotidiens sont impératifs avant l'analyse des échantillons pour vérifier la performance de l'appareil.

• Reconstitution du calibrant et des contrôles:

✓ Multical:

Reconstituer le contenu du flacon de lyophilisat avec 3ml d'eau distillée, on laisse le flacon à la température ambiante pendant une demi-heure. Agiter avec douceur sans secouement pour éviter la formation de mousse. Retirer le bouchon du flacon, utiliser une pipette pour aliquoter un volume de 350 µl dans les tubes biocups jaunes.

✓ Contrôle:

Reconstituer de la même manière que le multical cette fois-ci avec 5 ml d'eau distillée pour chaque flacon de lyophilisat (normal et pathologique). Aliquoter les contrôles à 350 µl dans les tubes biocups verts pour le contrôle normal et dans les tubes biocups bleus pour le contrôle pathologique. Après les aliquots qui ne doivent pas être utilisés dans l'immédiat sont congelés.

• Démarrage de l'appareil:

Il faut d'abord mettre l'imprimante en marche en appuyant sur le bouton power. Ensuite appuyer sur le bouton marche/arrêt de l'appareil ABX Pentra C200 situé sur la façade droite

- Attendre que l'écran s'allume et soit prêt à être utilisé
- Se connecter en utilisant ABX2 et le mot de passe

- Appuyer sur ok

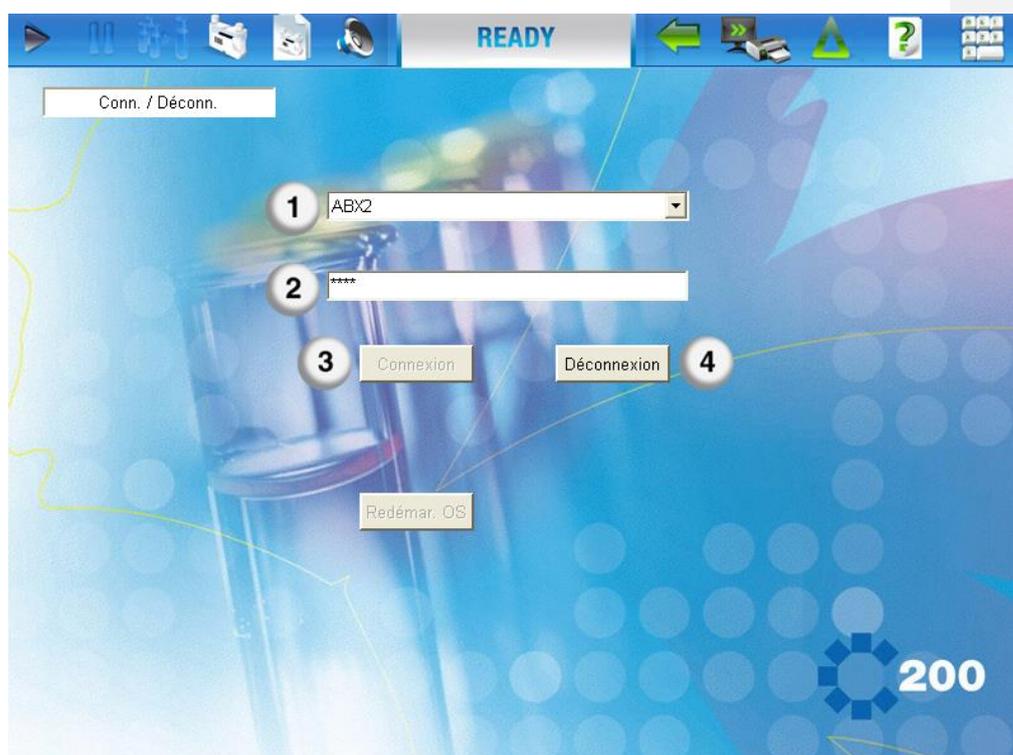


Figure 16: Ecran de l'appareil ABX Pentra C200 après la connexion

- Ensuite appuyer sur le bouton retour pour accéder à l'écran principal



Figure 17: Ecran principal de l'appareil ABX Pentra C200

Après tous ceux-ci il faut procéder à la vérification des cuvettes, des cuvettes usagées, de la clé USB et la connexion de l'imprimante à l'appareil. Il faut également faire l'inventaire des réactifs, scanner les réactifs, la calibration et le contrôle de qualité vont suivre.

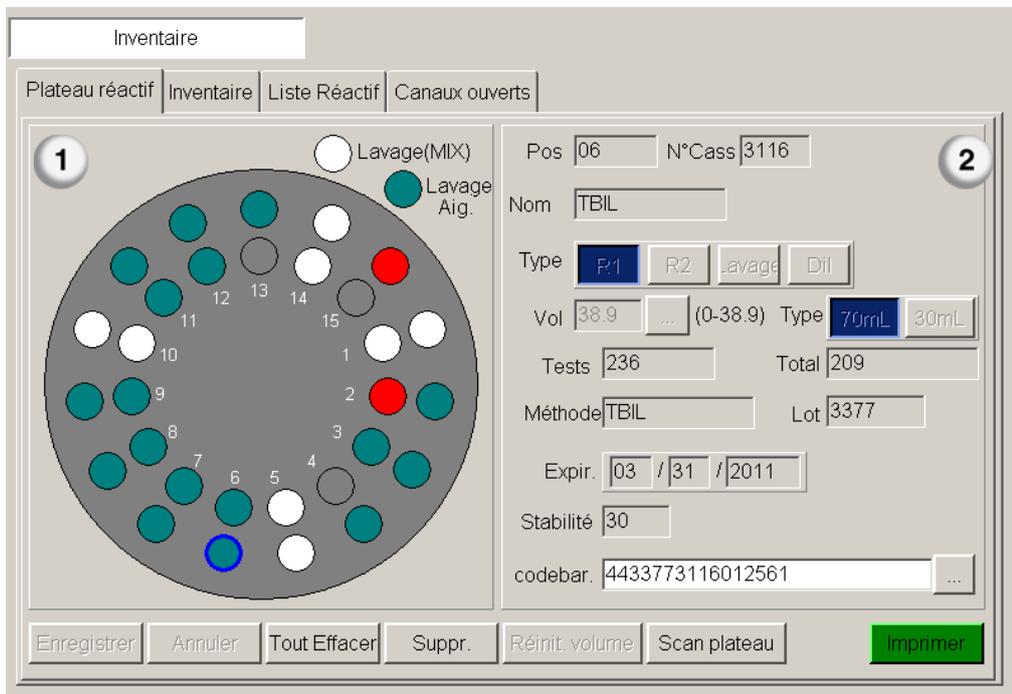


Figure 18: Ecran de l'inventaire des réactifs

- **Calibration:**

Sélectionner une position vide dans la liste de travail.

- Sélectionner Multistandard (exemple) dans la liste déroulante Type.
- Sélectionner la catégorie d'échantillons (Commun) dans la liste déroulante Échantillon : Commun (exemple).
- Sélectionner MCAL (exemple) dans la liste déroulante MS.
- Sélectionner Complet pour une calibration complète ou le numéro du point de calibration pour une calibration à un point dans la liste déroulante N°.
- Sélectionner les tests à calibrer.
- Appuyer sur Enregistrer.

Un ID Ech automatique (950000XX) est attribué aux calibrants. L'appareil attribue automatiquement les positions adéquates pour des multipoints selon la calibration enregistrée pour chaque test.

- **Contrôle:**

- ❖ Sélectionner une position vide dans la liste de travail.
- ❖ Sélectionner Contrôle à partir de la liste déroulante Type.

- ❖ Sélectionner le contrôle approprié à partir de la liste déroulante Contrôle.
- ❖ Sélectionner les tests.
- ❖ Appuyer sur Enregistrer.

Un ID Ech automatique (970000XX) est attribué aux contrôles.

- Ouvrir le couvercle principal.
- Appuyer sur le bouton >> en dessous de la liste de travail.
- Charger les calibrants et les contrôles selon la liste de travail.
- Enlever le couvercle de l'Unité du Conteneur d'Échantillons et de Réactifs (SRCU).
- Charger les godets d'échantillon avec l'adaptateur sur le plateau d'échantillons.
- Après avoir vérifié toutes les conditions, appuyer sur le bouton démarrer pendant 2 secondes puis sur Ok si un message d'alarmes ne s'affiche pas.
- À la fin de l'analyse les résultats sont automatiquement imprimés.

- **Analyse des échantillons:**

Après un bon résultat de calibration et de contrôle qui certifie le bon fonctionnement de l'appareil on peut passer les échantillons.

- **Centrifugation des échantillons:**

Les tubes vacutainer SST contenant le sang étaient centrifugés à 2300 tours par minutes pendant 15 minutes.

Mode opératoire de test de grossesse :

✓ Contrôle de qualité:

Les contrôles KOVA-TROL doivent être toujours conservés au frais entre 2 et 8 °C (avant et après reconstitution) et sont stables pendant une semaine. Si les KOVA-TROL reconstitués doivent être utilisés pendant plus d'une semaine il faut les maintenir en congélation à -15°C. Le contrôle de qualité avec le KOVA-TROL I (normal) et le KOVA-TROL III (anormal élevé) doit être effectué tous les jours avant de procéder à l'analyse des échantillons, et chaque fois qu'un nouveau lot de Kit doit être entamé. Après avoir enlevé le "paquet de réaction" de son emballage de papier d'aluminium, remplir le compte-gouttes KOVA-TROL et le tenir verticalement au-dessus du "paquet de réaction". Ensuite verser 3 à 4 gouttes KOVA-TROL sans faire de bulles d'air dans le puits du côté de la région "T" et lire le résultat après 5 minutes.

❖ Interprétation des résultats:

- L'apparition d'une bande de couleur rose au niveau de la région "C" (contrôle) de la fenêtre d'observation indique la bonne conduite du test.
- L'apparition de deux bandes de couleur rose dont l'une bien située dans la région "C" et l'autre dans la région "T" (zone test), signifie le test positif.
- L'apparition d'une seule bande dans la région "C" avec absence de bande dans la région "T" témoigne que le résultat est négatif.
- Si aucune bande n'apparaît, soit l'urine a été déposée dans la fausse fenêtre soit le dispositif d'essai est détérioré, dans tous les cas le test est à reprendre.
- Enregistrer les résultats des contrôles positif et négatif sur la feuille de paillasse du Pregnancy QC Logsheet. Si les résultats sont acceptables il faut procéder à l'analyse des échantillons.

- Analyse des échantillons:

Après avoir fait le contrôle de qualité (QC) il faut vérifier la gravité spécifique (densité de l'urine) à l'aide d'un réfractomètre si les échantillons sont des urines. Si les échantillons sont des sérums on passe directement à l'analyse des échantillons. Le mode opératoire et l'interprétation des résultats sont les mêmes que ceux des contrôles de qualité.

Mode opératoire de chimie des urines :

- **Procédure du test:**

- **Contrôle de qualité:**

Le contrôle de qualité des niveaux anormal haut et normal doivent être réalisés tous les jours avant de procéder à l'analyse des échantillons, et chaque fois qu'un nouveau lot de bandelette est entamé.

- Plonger instantanément une bandelette (pas plus d'une seconde) dans le flacon de KOVA-Trol III (normal) et une autre dans le flacon de KOVA-Trol I (anormal haut) reconstitué, en s'assurant que le tampon de réactif est bien immergé.
- Eliminer l'excédent en tirant le bord de la bandelette le long de la paroi du récipient.
- Tourner la bandelette sur un côté et taper une fois sur un morceau de papier absorbant pour extraire l'excès du liquide et pour empêcher le mélange possible des produits chimiques.
- Après un temps approprié de réaction (1 minute), lire la bandelette comme suit: tenir la bandelette près des blocs de couleur du côté de la canette des bandelettes réactives en les appariant soigneusement, s'assurer que la bandelette est correctement orientée par rapport au tableau des couleurs sur l'étiquette de la canette.
- La bandelette doit être lue à 60 secondes.
- Si les 2 niveaux de contrôle sont dans les fourchettes de valeurs fournies par le fabricant, le CQ est terminé, retourner les tubes de contrôle de KOVO-Trol dans le réfrigérateur entre 2 et 8 °C.
- Porter les résultats des deux contrôles sur la feuille de paillasse « Urine Dipstick QC logsheet» et indiquer sur cette feuille si les résultats sont acceptables ou pas.

- **Analyse des échantillons:**

Utiliser les bandelettes du même lot que celles ayant servi au contrôle de qualité. S'assurer que la bandelette n'est pas périmée tout en vérifiant la date de péremption portée sur le côté de la canette. L'urine est bien mélangée avant le test. Le mode opératoire est le même que celui de contrôle de qualité. Après 2 minutes d'immersion les changements de couleur ne sont plus considérés.

Fiche signalétique

Nom: Pérou

Prénom: Sidiki

Nationalité: Malienne

Titre: La place des pathologies et anomalies biologiques excluant les volontaires des essais cliniques de vaccins antipaludiques (Vaccin PfSPZ) à Donéguébougou en 2014 et 2016, au Mali

Date de soutenance: 08 /12 /2018

Ville de soutenance: Bamako

Lieu de dépôt: Bibliothèque des Facultés de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie.

Secteur d'intérêt: Santé publique, Epidémiologie et Essai clinique.

Résumé :

Le présent travail avait pour but d'évaluer les différentes conditions biologiques que peuvent avoir les volontaires avant leur inclusion dans les essais cliniques au Mali.

Pour atteindre ce but nous avons effectué une étude sur 216 volontaires en 2014 et 276 volontaires en 2016 tout sexe confondu âgé 18 à 50 ans.

L'électrocardiogramme et l'examen physique ont été effectués par les médecins. Ensuite les volontaires sont passés au laboratoire pour les prélèvements de sang et de l'urine après leur passage au poste clinique. Les prélèvements sanguins du tube EDTA ont été mis en agitation de façon délicate avant leur analyse par les automates. Et les prélèvements sanguins des tubes secs ont été centrifugés après coagulation. Les sérums pour l'ELISA ont été aliquotés et mis en congélation avant leur envoi à Bamako pour l'analyse proprement dite.

Les différentes analyses des échantillons ont été réalisées selon les bonnes pratiques de laboratoire. Les résultats ont été transcrits dans les dossiers des participants et ensuite ont été enregistré dans la base des données (idatafax) pour pouvoir les exploiter.

A l'issue de notre étude il ressort que :

- En 2014, 40% des volontaires qui se sont présentés au laboratoire était éligible tandis qu'en 2016 seulement 29% des volontaires avaient les conditions biologiques optimales pour participer aux essais.
- 20% des volontaires avait l'ECG anormal en 2014 contre seulement 3% en 2016.
- Au dépistage des 3 viroses (HCV, HIV et HBV) la fréquence de HBV était le plus élevée qui était de 23% en 2014 et 16% en 2016.

- S'agissant des paramètres hématologiques le cas de valeurs anormales de l'Hb était le plus important en 2014 (8%) tandis qu'en 2016 c'étaient le taux d'Hb et le nombre absolue de PNN (9%)
- En ce qui concerne les paramètres biochimiques ce sont les cas de créatinémie élevée qui étaient plus nombreux (30%) en 2014 et (32%) en 2016.
- Concernant les bandelettes urinaires les cas d'Hématurie étaient plus fréquents que les cas de protéinurie respectivement 7% en 2014 et 18% en 2016.
- 2 cas de grossesse en 2014 versus 0 cas en 2016.

Nos résultats ont été comparés avec certains résultats trouvés dans la littérature. Dans la littérature les études se sont intéressées à publier les taux d'éligibilité dans son ensemble et ne se sont pas intéressées au taux d'éligibilité par paramètres.

Il ressort au terme de notre étude que les cas de créatinémie élevée étaient la condition biologique anormale la plus élevée aussi bien en 2014 qu'en 2016. Il serait d'un intérêt capital d'éclaircir certaines zones d'ombres que nos résultats montrent. Mener cette étude dans chaque site d'essais clinique aurait une importance capitale pour les études cliniques à venir.

Mots clés : Screening, Essai cliniques, Taux d'éligibilité, Donéguébougou, Mali.

Last Name: Pérou

First Name: Sidiki

Nationality: Malian

Defense City: Bamako

Defense Date: 12/08/2018

Title: The place of biological pathologies and anomalies excluding the volunteers of clinical trials of antimalarial vaccines (PfSPZ vaccine) in Doneguebougou in 2014 and 2016, in MALI.

Storage place: library of the Faculty of medicine, Pharmacy and Dentistry

Interest Areas: Public Health, Epidemiology and Clinical Trial.

Summary:

The present work aimed to evaluate the different biological conditions that volunteers can have before being included in clinical trials in Mali.

To achieve this goal, we conducted a study of 216 volunteers in 2014 and 276 volunteers in 2016, all sexes aged between 18 and 50 years old.

The electrocardiogram and the physical examination were performed by the doctors. Then the volunteers went to the laboratory for blood and urine samples after they went to the clinic.

The blood samples from the EDTA tube were shaken in a delicate manner before being analyzed by the automata. And the blood samples from the dry tubes were centrifuged after coagulation. Sera for the ELISA were aliquoted and frozen before being sent to Bamako for analysis.

The different analyzes of the samples were carried out according to good laboratory practices. The results were transcribed in the participants' files and then recorded in the database (idatafax) in order to exploit them.

At the end of our study it appears that:

- In 2014, 40% of the volunteers who came to the laboratory were eligible, while in 2016 only 29% of the volunteers had the optimal biological conditions to participate in the trials.
- 20% of volunteers had abnormal ECG in 2014 compared to only 3% in 2016.

Screening for 3 viroses (HCV, HIV and HBV) had the highest incidence of HBV, which was 23% in 2014 and 16% in 2016.

- With regard to hematological parameters, the case of abnormal Hb values was the highest in 2014 (8%) whereas in 2016 it was the Hb level and the absolute number of PNN (9%)
- In terms of biochemical parameters, there were more cases of high creatinemia (30%) in 2014 and (32%) in 2016.
- In the case of urine strips, cases of Hematuria were more frequent than cases of proteinuria respectively 7% in 2014 and 18% in 2016.
- 2 cases of pregnancy in 2014 versus 0 cases in 2016.

Our results have been compared with some results found in the literature. In the literature the studies have been interested in publishing the eligibility rates as a whole and have not been interested in the eligibility rate by parameters.

Our study concludes that cases of elevated creatinine were the highest abnormal biological condition in both 2014 and 2016. It would be of great interest to clarify certain areas of shadows that our results show. Conducting this study in each clinical trial site would be of paramount importance for future clinical studies.

Keywords: Screening, Clinical trials, Eligibility rate, Donéguébougou, Mali

SERMENT DE GALIEN

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

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ; d'exercer dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement;

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

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels. Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure!