

MINISTRE DE L'EDUCATION NATIONALE

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple - Un But - Une Foi

—0—

UNIVERSITE DE BAMAKO
Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

ANNEE UNIVERSITAIRE 2002-2003

N° 53 /

**ETUDE DE QUELQUES PARAMETRES
HEMATOLOGIQUES ET
BIOCHIMIQUES A
DONEGUEBOUGOU : L'EXPERIENCE
D'INTRODUCTION DES BONNES
PRATIQUES DE LABORATOIRE AU
MRTC/DEAP/FMPOS**

THESE

*Présentée et soutenue publiquement le...../.../...../ àHeures devant
la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie du Mali
par Monsieur Mamadou Nianfou KEITA
pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (DIPLOME D'ETAT)*

Jury :

Président :	Professeur Dapa Aly DIALLO
Membres :	Professeur Flabou BOUGOUDOGO Docteur Souleymane DIALLO
Co-directeur de thèse :	Docteur Mounirou BABY
Directeur de thèse :	Professeur Ogobara K. DOUMBO

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2002 - 2003

ADMINISTRATION

DOYEN : MOUSSA TRAORE - PROFESSEUR

1^{ER} ASSESSEUR : MASSA SANOGO - MAITRE DE CONFERENCES

2^{EME} ASSESSEUR : GANGALY DIALLO - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

SECRETAIRE PRINCIPAL : YENIMEGUE ALBERT DEMBELE - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

AGENT COMPTABLE : YEHIHA HIMINE MAIGA - CONTROLEUR DE TRESOR

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	OrthopédieTraumatologie - Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-phtisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Mohamed TOURE	Pédiatrie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-Entérologie

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. & PAR GRADE

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	OrthopédieTraumatologie, Chef de D.E.R.
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L.
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aïda SOW Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE Gynéco-Obstétrique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE Gynéco-Obstétrique
Mr. Mamadou TRAORE Gynéco-Obstétrique
Mr Sadio YENA Chirurgie Générale
Mr Filifing SISSOKO Chirurgie Générale

5. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Mr Mamadou L. DIOMBANA Stomatologie
Mr Sékou SIDIBE Orthopédie. Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO Anesthésie - Réanimation
Mr Tiéman COULIBALY Orthopédie Traumatologie
Mme TRAORE J. THOMAS Ophtalmologie
Mr Nouhoum ONGOIBA Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Zanafon OUATTARA Urologie
Mr Zimogo Zié SANOGO Chirurgie Générale
Mr Adama SANGARE Orthopédie - Traumatologie
Mr Youssouf COULIBALY Anesthésie - Réanimation
Mr Samba Karim TIMBO ORL
Mme TOGOLA Fanta KONIPO ORL
Mr Sanoussi BAMANI Ophtalmologie
Mr Doulaye SACKO Ophtalmologie
Mr Issa DIARRA Gynéco-obstétrique
Mr Ibrahim ALWATA Orthopédie - Traumatologie

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO Chimie Générale & Minérale
Mr Bréhima KOUMARE Bactériologie-Virologie
Mr Siné BAYO Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Mr Gaoussou KANOUTE Chimie analytique
Mr Yéya T. TOURE Biologie
Mr Amadou DIALLO Biologie
Mr Moussa HARAMA Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO Parasitologie - Mycologie **Chef de D.E.R.**

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Amadou TOURE	Histoembryologie
Mr. Flabou Bougoudogo	Bactériologie-Virologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdrahamane S. MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie
Mr.Massa SANOGO	Chimie Analytique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F.M. TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie, Biologie Animale
Mr Abdrahamane TOUNKARA	Biochimie
Mr Ibrahim I. MAIGA	Bactériologie - Virologie
Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Amagana DOLO	Parasitologie
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie

5. ASSISTANTS

Mr Mounirou BABY	Hématologie
Mr Mahamadou A. THERA	Parasitologie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine Interne
Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAIGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie, Chef de DER
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie
Mr Bah KEITA	Pneumo-Phtisiologie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Leprologie
Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro-entérologie
Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mr Mamady KANE	Radiologie
Mme Tatiana KEITA	Pédiatrie
Mr Diankiné KAYENTAO †	Pneumo-Phtisiologie
Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Mahamadou B. CISSE	Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie

5. ASSISTANT

Mr Cheick Oumar GUINTO	Neurologie
------------------------	------------

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR

Mr Boubacar Sidiki CISSE Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Arouna KÉITA † Matière Médicale
Mr Ousmane DOUMBIA Pharmacie Chimique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boulkassoum HAIDARA Législation
Mr Elimane MARIKO Pharmacologie, **Chef de D.E.R.**

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Drissa DIALLO Matière Médicales
Mr Alou KEITA Galénique
Mr Ababacar I. MAIGA Toxicologie
Mr Yaya KANE Galénique

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA Santé Publique, **Chef de D.E.R.**

2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

Mr Moussa A. MAIGA Santé Publique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sanoussi KONATE Santé Publique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G. TOURE Santé Publique
Mr Adama DIAWARA Santé Publique
Mr Hamadoun SANGHO Santé Publique
Mr Massambou SACKO Santé Publique

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Bokary Y. SACKO	Biochimie
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Arouna COULIBALY	Mathématiques
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie Médicale
Mr Yaya COULIBALY	Législation

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. Doudou BA	BROMATOLOGIE
Pr. Babacar FAYE	PHARMACODYNAMIE
Pr. Eric PICHARD	PATHOLOGIE INFECTIEUSE
Pr. Mounirou CISS	HYDROLOGIE
Pr. Amadou Papa DIOP	BIOCHIMIE

Aux membres du jury

A notre Maître et président de jury
Professeur Dapa A. Diallo

Professeur titulaire d'hématologie,
Chef du service d'hématologie – oncologie médicale à l'hôpital National du
Point G,

Responsable du laboratoire d'hématologie de la FMPOS

Cher maître vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce
jury de thèse malgré vos multiples préoccupations.

Votre sollicitude vis à vis de vos élèves et vos malades n'est que le
témoignage lumineux de votre sens élevé de l'humanité et de vos qualités
scientifiques et pédagogiques immenses.

Tout le mérite de ce travail vous revient. C'est l'occasion ici de vous dire
infiniment merci pour tout ce que vous nous avez appris. Croyez en notre
reconnaissance et notre grande admiration.

A notre Maître et juge
Professeur Flabou Bogodougou

Ancien chef de la section Bactériologie – Virologie de l'I.N.R.S.P.,
Directeur général actuel de cet institut, chargé de cours de Virologie et
bactériologie à la FMPOS et à l'ESS (Ecole Secondaire de la Santé).

Vos qualités scientifiques ne sont plus à démontrer. Vos innombrables
attributions sautent à l'œil.

Votre nomination à la tête du plus grand institut de recherche de ce pays
confirme vos mérites tant scientifiques que sociaux.

Cher maître, retrouvez ici l'expression de ma profonde gratitude.

**A notre Maître et juge
Docteur Souleymane Diallo**

Pharmacien Biologiste des services de Santé des Armées

Maître assistant de Bactériologie -Virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'OdontoStomatologie

Colonel de l'Armée malienne

Chef de service du laboratoire HGT

Nous avons été impressionnés par vos grandes connaissances scientifiques, votre rigueur, votre capacité d'action et votre souci du travail bien fait. Nous avons beaucoup appris à vos cotés.

Nous voudrions vous assurer de notre sincère reconnaissance.

**A notre Maître et co-directeur de thèse
Docteur Baby Mounirou**

Spécialiste en hématologie et maladies du sang

Assistant en hématologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie.

Superviseur du laboratoire de biologie clinique pour les essais de vaccins antipaludiques au MRTC.

Nous avons vite admiré vos qualités humaines scientifiques et pédagogiques. Votre simplicité, votre disponibilité constante et votre dynamisme font de vous un maître admiré de tous.

Soyez remercié ici, des conseils et encouragements que vous n'avez cessé de nous prodiguer durant tout ce temps.

**A notre Maître et Directeur de thèse
Professeur Ogobara K. Doumbo**

Professeur titulaire de Parasitologie-Mycologie

Médecin chef du Département d'épidémiologie des Affections Parasitaires

Directeur du cours d'épidémiologie pour Cadres Supérieurs de la Santé en
Afrique,

Chef de DER à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-
stomatologie

Chevalier de l'ordre national du Mali,

Chevalier de la légion d'honneur de France,

Scientifique émérite, pédagogue chevronné, humaniste convaincu,

L'immensité de votre savoir a fait de vous un être dont la lumière brille sur les
5 continents.

Cher Maître, nous vous disons tout simplement MERCI.

DEDICACES

- Louange à **DIEU**, le tout puissant, miséricordieux, pour m'avoir donné la chance et la force nécessaire pour réaliser ce modeste travail. Je rends grâce à dieu de m'avoir donné le courage de bien finaliser ce travail.

Je dédie ce travail :

- A mon père **Nianfou KEITA** pour l'effort fourni.
- A ma mère **Kany COULIBALY** pour la souffrance subie, le sacrifice consenti, et l'effort fourni.
- A ma grand-mère M'Bassira Damba. Reposes en paix.
- A ma grand-mère Saniba COULIBALY pour l'effort fourni et le soutien moral.
- A mes frères et sœurs Samba, Niacalimba, Bantan, Drissa, Harouna, Lountanding, Fatoumata et Fadjigui. Que le tout miséricordieux fasse que nous restions uni !
- A mes oncles et tantes maternels et paternels, retrouvez ici toute notre gratitude.
- A tous mes cousins et cousines pour tous les bons moments passés ensemble dans la tendresse. Recevez ici toute mon estime.

REMERCIEMENTS :

- A tous les professeurs chargés de cours à la FMPOS : Pour la qualité de l'enseignement que j'ai reçu d'eux.
- A l'école fondamentale de la mission catholique de Kassama et Dombia.
- A mes maîtres, Dr Abdoulaye Dabo, Dr Amagana Dolo, Dr Kassoum Minta, Dr Mahamadou Diakité, Dr Abdoulaye Djimé, Dr Amed Ouattara, Dr Mahamadou Théra, Dr Moctar Diallo, Dr Kassoum Kayentao, Dr Alassane Dicko, Dr Issiaka Sagara, Dr Belco Poudiougou, Dr Habib Beavogui, Dr Boubacar Maïga, Dr Moussa Sogogba, Dr Aïssata Angoïba, Mr Mamadou Wele, Mr Mamadou Bah, Mr Seydou Diarra, Mr Sékou Touré.
Merci des conseils et des encouragements.
- Au Docteur Mady Sissoko et Mr Moussa Boniface Dembélé pour tout l'aide apportée dans la réalisation de ce travail.
- A Mamoudou KEITA pour vos conseils et votre grande qualité d'écoute.
- A mes aînés :
Dr Yacouba Cissoko, Dr Mamadou Tékété, Dr Issa Diarra, Dr Modibo Daou, Dr Didier Doumtabé, Dr Bakary Fofana, Dr Hama Maïga, Dr Aïssata Diarra, Dr Mohamed Maïga.
- A mes collègues :

Dr Moussa Fofana, Dr Ousmane Guindo, Abdoulaye Katilé, Dr Charles Harama, Mamadou Mounkoro, Garba Mahamane Nassirou, Djelika Diabaté.
- A mes cadets :
Demba Dembélé, Ina Ouloguem, Oumou Keita, Modibo Coulibaly, Souleymane Dama, Zoumana Traoré, Daouda Tolo, Renion Saye, Ibrahim Cissé.

- Au personnel :
Mme Coulibaly Assa, Souleymane Karambé, Dr Richard Sakaï,
Cheik Oumar Coulibaly.
- Aux chauffeurs :
Aly Djiguiba, Abinème Doumbo, Moussa Niaré, Mamadou Diarra.
- A mes amis et collègues de la FMPOS :
Dr Maki Diallo, Dr Souleymane Fomba, Dr Fadouba Sidibé, Lassana
Konaté, Drissa Traoré, Adama Sangaré.
- A mes frères et amis : Dr Mady KEITA, Fademba KEITA, Kariatou
Doumbia, Moussa SISSOKO, Damakan KEITA, Filimady KEITA,
Lassana KONATE.
- A la famille Filifing Keita, souleymane DIALLO, Fadiala Sissoko et
Famousa Keita à Keniéba.
- A la famille Koly Keita et Hawa Samassa et son mari Mignenta à
Garantibougou.
- A la famille Djéliké Sissoko à Kayes.

SOMMAIRE

	Pages
CHAPITRE I : INTRODUCTION	1
OBJECTIFS	
1- Objectifs généraux	4
2- Objectifs spécifiques	4
CHAPITRE II : GENERALITES	5
2.1- Les bonnes pratiques de laboratoire	5
2.1.1- Principes des bonnes pratiques de laboratoire (BPL)	5
2.1.1.1- Organisation et personnel de l'installation d'essai	6
2.1.1.2- Programme d'assurance qualité (QA)	6
2.1.1.3- L'installation	7
2.1.1.4- Appareils, matériaux et réactifs	7
2.1.1.5- Systèmes d'essai	8
2.1.1.6- Eléments d'essai et de référence	8
2.1.1.7- Modes opératoires normalisés (MON)	9
2.1.1.8- Réalisation de l'étude	9
2.1.1.9- Etablissement du rapport sur les résultats de l'étude	9
2.1.1.10- Stockage et conservation des archives et des matériaux	10
2.1.2- Règles de base de biosécurité en BPL	10
2.1.2.1- La tenue	10
2.1.2.2- Lavage des mains	10
2.1.2.3- Utilisation des gants	11
2.1.2.4- Utilisation de l'eau de javel	11
2.1.2.5- Entretien de la pailleuse	12
2.1.2.6- Signalisation du risque chimique	12
2.1.2.7- Conduite à tenir en cas d'accident	12
2.1.2.8- Elimination des pipettes Pasteur	13
2.1.2.9- Gestion des déchets	13
2.1.2.10- Prévention des risques biologiques	14
2.2- Les paramètres biologiques évalués au cours des essais vaccinaux	15
2.2.1- L' hémogramme	15
2.2.1.1- Définition	15
2.2.1.2- Principes de fonctionnement des automates	15
2.2.1.3- Les paramètres de l'hémogramme	16
2.2.2- L'Alanine aminotransférase (ALAT)	19
2.2.2.1- Définition	19
2.2.2.2- Les valeurs normales	20

2.2.2.3- Les variations physiologiques	21
2.2.2.3- Les étiologies des transaminases élevées	21
2.2.2.4- Mesure de l'activité de l'enzyme	22
2.2.3- La créatinine	22
2.2.3.1- Définition	22
2.2.3.2- Méthodes d'exploration	23
2.2.3.3- Signification des variations pathologiques	24
2.2.3.4- Méthodes de dosage	24

CHAPITRE III : METHODOLOGIE

3.1- lieu d'étude	26
3.1.1- Démographie	27
3.1.2- Climat, végétation et faune	27
3.1.3- Hydrographie	27
3.1.4- Infrastructures socio-sanitaires	27
3.1.5- Activités économiques	27
3.2- Période d'étude	28
3.3- Type d'étude	28
3.4- Technique d'échantillonnage	28
3.5- Critères d'inclusion et non inclusion	28
3.5.1- critères d'inclusion	28
3.5.2- critères de non-inclusion	28
3.6- Organisation pratique du travail	28
3.7- Technique d'étude	30
3.7.1- Evaluation clinique	30
3.7.1.1- Mesure de la température axillaire	30
3.7.1.2- Palpation de la rate	30
3.7.2- Techniques de laboratoire	30
3.7.2.1- Mise en place des procédures de BPL	30
3.7.2.2- Prélèvement du sang veineux	30
3.7.2.3- Prélèvement du sang capillaire	31
3.7.2.4- L'hémogramme	32
3.7.2.5- Les tests biochimiques	34
3.7.2.6- Test de grossesse	35
3.8- Considération éthique	37
3.9- Analyse des données	37
3.10- Définitions opérationnelles	38

CHAPITRE IV : RESULTATS	39
4.1- Les acquis dans le laboratoire de biologie clinique du MMVDU en matière de BPL	
4.1.1- La documentation	38
4.1.1.1- Les différents types de document	39
4.1.1.2- L'archivage	40
4.1.1.3 - Plan de rédaction des MON du laboratoire clinique du MMVDU	40
4.1.2- Le Personnel	41
4.1.3- Inventaire et suivi du stock	41
4.1.4- Identification des locaux et équipements	42
4.1.5- Maintenance	42
4.1.6- Contrôle de qualité	42
4.1.6.1- Le contrôle de qualité interne	42
4.1.6.2- L'évaluation externe de la qualité	43
4.1.7- Gestion des déchets	43
4.1.7.1- Types de déchets gérés au laboratoire de biologie clinique du MMVDU	43
4.1.7.2- Stockage des déchets	44
4.1.7.3- Collecte des déchets	45
4.1.7.4- Destruction des déchets	45
4.1.8- Prévention des risques biologiques	46
4.1.8.1- Prévention technique du risque biologique dans le laboratoire clinique du MMVDU	46
4.2- Les paramètres biologiques	51
4.2.1- Caractéristiques de la population d'étude	51
4.2.2- Distribution de l'indice plasmodique selon l'âge	52
4.2.3- Fréquence de la fièvre selon l'âge	53
4.2.4- Distribution de l'indice splénique selon l'âge	54
4.2.5- Résultat du profil biochimique	55
4.2.6- Etude des paramètres de l'hémogramme	59
CHAPITRE V : COMMENTAIRE ET DISCUSSION	67
CHAPITRE VI : CONCLUSION	73
CHAPITRE VII : RECOMMANDATIONS	74
CHAPITRE IX : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	75
CHAPITRE X : RESUME	80
CHAPITRE XI : ANNEXES	82

SOMMAIRE

	Pages
CHAPITRE I : INTRODUCTION	1
OBJECTIFS	
1- Objectifs généraux	4
2- Objectifs spécifiques	4
CHAPITRE II : GENERALITES	5
2.1- Les bonnes pratiques de laboratoire	5
2.1.1- Principes des bonnes pratiques de laboratoire (BPL)	5
2.1.1.1- Organisation et personnel de l'installation d'essai	6
2.1.1.2- Programme d'assurance qualité (QA)	6
2.1.1.3- L'installation	7
2.1.1.4- Appareils, matériaux et réactifs	7
2.1.1.5- Systèmes d'essai	8
2.1.1.6- Eléments d'essai et de référence	8
2.1.1.7- Modes opératoires normalisés (MON)	9
2.1.1.8- Réalisation de l'étude	9
2.1.1.9- Etablissement du rapport sur les résultats de l'étude	9
2.1.1.10- Stockage et conservation des archives et des matériaux	10
2.1.2- Règles de base de biosécurité en BPL	10
2.1.2.1- La tenue	10
2.1.2.2- Lavage des mains	10
2.1.2.3- Utilisation des gants	11
2.1.2.4- Utilisation de l'eau de javel	11
2.1.2.5- Entretien de la paillasse	12
2.1.2.6- Signalisation du risque chimique	12
2.1.2.7- Conduite à tenir en cas d'accident	12
2.1.2.8- Elimination des pipettes Pasteur	13
2.1.2.9- Gestion des déchets	13
2.1.2.10- Prévention des risques biologiques	14
2.2- Les paramètres biologiques évalués au cours des essais vaccinaux	15
2.2.1- L' hémogramme	15
2.2.1.1- Définition	15
2.2.1.2- Principes de fonctionnement des automates	15
2.2.1.3- Les paramètres de l'hémogramme	16
2.2.2- L'Alanine aminotransférase (ALAT)	19
2.2.2.1- Définition	19
2.2.2.2- Les valeurs normales	20

2.2.2.3- Les variations physiologiques	21
2.2.2.3- Les étiologies des transaminases élevées	21
2.2.2.4- Mesure de l'activité de l'enzyme	22
2.2.3- La créatinine	22
2.2.3.1- Définition	22
2.2.3.2- Méthodes d'exploration	23
2.2.3.3- Signification des variations pathologiques	24
2.2.3.4- Méthodes de dosage	24

CHAPITRE III : METHODOLOGIE

3.1- lieu d'étude	26
3.1.1- Démographie	27
3.1.2- Climat, végétation et faune	27
3.1.3- Hydrographie	27
3.1.4- Infrastructures socio-sanitaires	27
3.1.5- Activités économiques	27
3.2- Période d'étude	28
3.3- Type d'étude	28
3.4- Technique d'échantillonnage	28
3.5- Critères d'inclusion et non inclusion	28
3.5.1- critères d'inclusion	28
3.5.2- critères de non-inclusion	28
3.6- Organisation pratique du travail	28
3.7- Technique d'étude	30
3.7.1- Evaluation clinique	30
3.7.1.1- Mesure de la température axillaire	30
3.7.1.2- Palpation de la rate	30
3.7.2- Techniques de laboratoire	30
3.7.2.1- Mise en place des procédures de BPL	30
3.7.2.2- Prélèvement du sang veineux	30
3.7.2.3- Prélèvement du sang capillaire	31
3.7.2.4- L'hémogramme	32
3.7.2.5- Les tests biochimiques	34
3.7.2.6- Test de grossesse	35
3.8- Considération éthique	37
3.9- Analyse des données	37
3.10- Définitions opérationnelles	38

CHAPITRE IV : RESULTATS	39
4.1- Les acquis dans le laboratoire de biologie clinique du MMVDU en matière de BPL	
4.1.1- La documentation	38
4.1.1.1- Les différents types de document	39
4.1.1.2- L'archivage	40
4.1.1.3 - Plan de rédaction des MON du laboratoire clinique du MMVDU	40
4.1.2- Le Personnel	41
4.1.3- Inventaire et suivi du stock	41
4.1.4- Identification des locaux et équipements	42
4.1.5- Maintenance	42
4.1.6- Contrôle de qualité	42
4.1.6.1- Le contrôle de qualité interne	42
4.1.6.2- L'évaluation externe de la qualité	43
4.1.7- Gestion des déchets	43
4.1.7.1- Types de déchets gérés au laboratoire de biologie clinique du MMVDU	43
4.1.7.2- Stockage des déchets	44
4.1.7.3- Collecte des déchets	45
4.1.7.4- Destruction des déchets	45
4.1.8- Prévention des risques biologiques	46
4.1.8.1- Prévention technique du risque biologique dans le laboratoire clinique du MMVDU	46
4.2- Les paramètres biologiques	51
4.2.1- Caractéristiques de la population d'étude	51
4.2.2- Distribution de l'indice plasmodique selon l'âge	52
4.2.3- Fréquence de la fièvre selon l'âge	53
4.2.4- Distribution de l'indice splénique selon l'âge	54
4.2.5- Résultat du profil biochimique	55
4.2.6- Etude des paramètres de l'hémogramme	59
CHAPITRE V : COMMENTAIRE ET DISCUSSION	67
CHAPITRE VI : CONCLUSION	73
CHAPITRE VII : RECOMMANDATIONS	74
CHAPITRE IX : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	75
CHAPITRE X : RESUME	80
CHAPITRE XI : ANNEXES	82

I- INTRODUCTION

Le paludisme (palus = marais) ou malaria (mauvais air) est une érythrocytopathie fébrile hémolysante due à un protozoaire du genre *Plasmodium* transmis par la piqure infectante de la femelle d'un moustique du genre *Anopheles*.

La mortalité et la morbidité sont importantes à travers le monde principalement dans les régions tropicales et subtropicales. En 1997, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a rapporté 300 à 500 millions de nouveaux cas de paludisme clinique par an, dont 2-3 millions de décès attribuables au paludisme seul ou en association avec d'autres pathologies [39].

En Afrique sub-saharienne, un enfant sur cinq meurt de paludisme et ses manifestations cliniques représentent 20-30% des motifs de consultation [22].

Au Mali le paludisme constitue 48% des motifs de consultation dans la population générale dont 59,8% chez les enfants de 0 à 5 ans. Le taux de létalité du paludisme grave et compliqué au service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel Touré est de 15,3% [38]. Le paludisme se rencontre sur presque tout le territoire et les trois espèces parasitaires responsables de cette pathologie coexistent (*Plasmodium falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale*).

P. falciparum est responsable des accès pernicioeux (neuropaludisme) et souvent mortels et représente 85 à 95% de la formule parasitaire [18].

Les échecs des campagnes d'éradication menées jusqu'à présent sont essentiellement dus à la résistance acquise du vecteur, l'anophèle femelle, aux insecticides et celle progressive du parasite aux drogues classiques notamment à la chloroquine. Aujourd'hui, pratiquement tous les médicaments antipaludiques semblent être touchés à des degrés divers par la chimiorésistance qui s'étend géographiquement et en intensité [42]. De plus, l'emploi de drogues efficaces telles que l'amodiaquine ou l'association sulfadoxine/pyriméthamine a dû être réduit à cause d'effets secondaires sérieux [3]. Les vaccins constituent à cet effet les outils privilégiés de lutte contre les maladies infectieuses les plus bénéfiques en santé publique. De nouvelles stratégies de lutte antipaludiques deviennent nécessaires. La vaccination en diminuant l'incidence des accès palustres, sera un atout majeur dans la lutte contre ce fléau.

Le centre de recherche et de formation sur le paludisme (MRTC) de l'université du Mali, en partenariat avec l'institut national de la santé (NIH) des Etats-Unis a conduit depuis 1996 des études de préparation de sites à Donéguebougou en vue de tester les futurs candidats vaccins antipaludiques à savoir la MSP1-42 (Protéine de Surface du Mérozoïte) et AMA-1 (Antigène Apicale de Membrane-1).

La MSP-1 est une protéine à la surface du mérozoïte de *Plasmodium falciparum* et est essentielle dans le processus d'invasion du globule rouge par le mérozoïte (Blackman et al. 1991). Elle a un poids moléculaire de 190 kDa et est synthétisée au cours de la schizogonie érythrocytaire par une seule copie du gène de 1,5 Kb se trouvant au niveau du chromosome 9. Cette protéine polymorphe subit deux clivages protéolytiques, le premier conduisant aux fragments p33, p83 et p42 qui se trouvent à la surface du mérozoïte dès la rupture du schizonte. Le polymorphisme génétique du fragment 42 kDa a été décrit [26]. Au moment de l'invasion de l'érythrocyte a lieu le second clivage ayant comme cible le fragment de 42 kDa et aboutit aux fragments de 33 kDa et de 19 kDa (Cooper et al., 1993). Le fragment de 19 kDa est exprimé à la surface de l'érythrocyte durant la phase d'invasion du parasite et est la cible des anticorps anti-MSP-1. Des essais de vaccination effectués dans le modèle *Plasmodium cynomolgi*/singes avec le fragment de 19 kDa exprimé sous forme de protéine recombinante dans le système *Baculovirus* ont montré chez le singe une protection puissante et de longue durée contre les souches homologues et hétérologues.

L'AMA-1 [12] est une protéine de poids moléculaire 83 kDa synthétisée au cours du stade érythrocytaire par les formes matures de *Plasmodium falciparum*. Elle est initialement localisée dans les organites apicaux. Cette protéine subit un clivage protéolytique pour donner un fragment de 66 kDa qui sera exprimé à la surface du mérozoïte durant la phase d'invasion du globule rouge (Howell S. A et al, 2001). L'antigène AMA-1 est un candidat potentiel pour la vaccination contre les stades érythrocytaire de *Plasmodium falciparum* (Crewther P.E et al, 1990). Des essais de vaccination effectués dans le modèle *Plasmodium fragile*/singes et *Plasmodium chabaudi adami*/souris avec AMA-1 exprimée sous forme de protéine recombinante dans le système *Baculovirus* a montré une protection chez le singe (Collins, W. E et al., 1994) et la souris (Anders, R. F et al., 1998).

Donéguebougou est une zone d'endémie palustre où la transmission est saisonnière et intense. Après analyse des résultats de l'étude de l'incidence par âge, par sexe et par an [16], ce site a été choisi pour y effectuer des essais cliniques de phase I des candidats vaccins dans le but d'évaluer leur

tolérance chez l'homme. Les études réalisées en 1999-2000 dans ce site ont montré que la morbidité palustre ne varie pas significativement d'une année à l'autre alors que le paludisme affecte principalement les enfants de moins de 5 ans [16].

Mais jusqu'ici, l'importance avait été surtout mise sur les résultats et moins sur les conditions et les circonstances dans lesquelles ces derniers étaient obtenus. Il s'agissait là d'une lacune pouvant influencer sur la fiabilité des données générées par notre département.

Toutes les évaluations de laboratoire doivent désormais suivre impérativement les exigences et règlements en cours des bonnes pratiques de laboratoire (BPL) pour l'acceptation des données sur le plan international. Pour ces essais contre le paludisme, la capacité de respecter les normes BPL doit être développée et maintenue au MRTC.

Au Mali comme dans la majorité des pays d'Afrique de l'Ouest, les références des paramètres biologiques que les laboratoires utilisent proviennent des données récoltées en Europe ou en Amérique [43]. Plusieurs études ont montré que les profils, hématologiques et biochimiques de la population caucasienne sont différents de ceux de la population africaine [5, 9, 11, 15, 25]. Ces variations sont dues au statut nutritionnel et aux facteurs génétiques et environnementaux. Nous comptons avoir au terme de cette étude, la distribution des paramètres biologiques mesurés dans la population générale. Ces standards nous permettront d'inclure des volontaires sains dans les essais cliniques et par la suite d'évaluer leur tolérance aux candidats vaccins tout au long des différentes phases d'évaluation de l'efficacité des candidats vaccins.

OBJECTIFS

Objectifs généraux :

- Etudier la distribution de certains paramètres hématologiques, biochimiques et les indices paludométriques de la population de Donéguébougou en vue des essais de vaccin antipaludique,
- Développer des procédures de Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) au sein du laboratoire de biologie clinique du MMVDU / MRTC.

Objectifs spécifiques :

- 1- Développer les compétences en BPL du personnel du laboratoire de biologie clinique de l'unité de développement clinique du vaccin antipaludique (MMVDU) aux Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL),
- 2- Mettre en place un système d'assurance et de contrôle de qualité au laboratoire de biologie clinique du MMVDU /MRTC,
- 3- Développer des mesures de biosécurité au sein de l'ensemble des unités du MRTC / DEAP,
- 4- Décrire la distribution des paramètres de l'hémogramme dans la population de 6 mois à 45 ans de Donéguébougou,
- 5- Etudier la distribution de la créatinine et des ALAT sériques dans la population de 6 mois à 45 ans de Donéguébougou,
- 6- Etablir les normes biologiques de la population de 6 mois - 45 ans de Donéguébougou.

II- GENERALITES

2.1 - Les bonnes pratiques de laboratoire (BPL)

L'activité de recherche clinique s'inscrit dans une filière biomédicale et pharmaceutique qui va de la recherche fondamentale, à la recherche appliquée, de la production à la commercialisation industrielle du produit de l'expérimentation.

La recherche clinique constitue le fondement du progrès médical pour l'approche diagnostique et thérapeutique des maladies, et pour l'amélioration des soins aux malades. Les Bonnes Pratiques Cliniques (BPC) et les bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) rassemblent les exigences du concept d'assurance qualité au cours des essais cliniques.

Les résultats de l'analyse de biologie médicale vont être une donnée décisive pour le diagnostic et la prescription des soins. C'est pourquoi la recherche de la qualité doit être la préoccupation essentielle et constante de tout biologiste. La bonne exécution des analyses de biologie médicale est une des conditions déterminantes de cette qualité. Ce souci ne peut être satisfait en l'absence de référence. Ainsi il existe :

- Aux Etats-Unis le CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendment). L'exécution des tests dans un but de diagnostic, de prévention, de traitement, de surveillance, de bilan de santé et contrôle après traitement doivent satisfaire aux exigences du CLIA 88.

- En France, le guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA) [1]. Le guide contient les règles et recommandations qui constituent le plus souvent un rappel de tout ce qu'il convient de se procurer, d'organiser, de vérifier, de respecter, d'étudier, de conserver pour l'exactitude et la précision des résultats. Les laboratoires sont soumis à des exigences concernant l'organisation de leurs pratiques, exigences contenues dans le GBEA.

2.1.1-Principes des BPL

Les BPL portent sur le processus d'organisation et sur les conditions dans lesquelles les analyses en laboratoire et sur le terrain sont planifiées, effectuées, surveillées, enregistrées, consignées et archivées. Ce processus est destiné à promouvoir la qualité et la validité des données expérimentales et à améliorer l'acceptation au niveau international des données obtenues conformément à ces principes.

2.1.1.1- Organisation et personnel

La conduite des essais doit veiller au respect des principes relatifs aux Bonnes Pratiques de laboratoire et Cliniques [1, 23].

Le personnel est l'ensemble des personnes occupant réellement une fonction au sein du laboratoire. La direction doit s'assurer qu'un nombre suffisant de personnes qualifiées par la formation et par l'expérience, ainsi que d'installations, équipements et matériaux appropriés sont disponibles pour que l'étude se déroule en temps voulu et de façon adéquate.

Le personnel minimal d'un laboratoire est composé d'un biologiste, d'un technicien et d'une secrétaire. Les directeurs et responsables de laboratoire ont le devoir d'assurer la formation permanente de leur personnel dans le domaine de la biologie médicale [1].

Dans le cadre des essais, l'investigateur principal des essais s'assurera que les phases de l'étude qui lui sont déléguées se déroulent conformément aux principes de BPC et BPL.

Le personnel participant à la réalisation de l'étude doit être bien informé des parties des principes des BPL et doit avoir accès au protocole de l'étude et aux modes opératoires normalisés qui s'appliquent à sa participation à l'étude. Il incombe au personnel de l'étude d'enregistrer les données brutes de manière rapide et précise conformément aux principes des BPL. Il doit prendre les précautions d'hygiène nécessaires pour réduire au minimum le risque auquel il est exposé et pour assurer l'intégrité des données. Il doit avertir les personnes compétentes de tout état de santé et de toute affection dont il a connaissance et qui peut influencer sur l'étude.

Tout le personnel exerçant dans un laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale est soumis aux règles du secret professionnel.

2.1.1.2- Programme d'assurance qualité (AQ)

L'assurance qualité est l'ensemble des actions préétablies et systématiques nécessaires pour qu'un produit ou un service satisfasse aux exigences de qualité. Dans le domaine de la biologie médicale, l'assurance qualité permet de maîtriser l'organisation des tâches conduisant à la qualité et couvre notamment les temps :

- pré-analytique, cette phase comprend la collecte, le transport et la réception des échantillons au laboratoire,
- per-analytique qui correspond à l'analyse des échantillons,
- post-analytique qui se rapporte à la gestion des données et à la documentation systématique.

La mise en place d'un système d'assurance qualité dans un laboratoire clinique permet d'acquérir la reconnaissance internationale de sa compétence et de sa fiabilité.

Le programme de l'AQ doit être confié à une ou plusieurs personnes, désignées par la direction et directement responsables devant celle-ci, qui ont l'expérience des méthodes d'essai.

Le contrôle de qualité interne représente l'ensemble des procédures mises en œuvre dans un laboratoire en vue de permettre un contrôle de qualité des résultats d'analyse au fur et à mesure de l'exécution de ces analyses. Des procédures opératoires en décrivent l'utilisation ainsi que les actions à prendre en cas d'anomalies constatées.

L'évaluation externe de la qualité correspond au contrôle par un organisme extérieur, de la qualité des résultats fournis par un laboratoire.

Ce contrôle rétrospectif, permet une confrontation inter-laboratoires en vue d'améliorer la qualité du travail de l'ensemble des participants. L'organisme extérieur adresse les mêmes échantillons aux différents laboratoires, rassemble les résultats obtenus, les analyse et les transmet avec commentaires aux laboratoires participants.

2.1.1.3- L'installation

L'installation est l'ensemble des structures qui concourent à l'exécution de l'essai clinique.

Les dimensions, la construction et la localisation doivent être conformes à la réglementation en vigueur pour permettre de réduire au minimum les perturbations qui pourraient altérer la validité de l'étude.

L'agencement de l'installation d'essai doit permettre une séparation suffisante des différentes activités, de manière à assurer une exécution correcte de chaque étude.

L'installation doit disposer de salles et de locaux appropriés pour le diagnostic, le traitement et le contrôle des maladies, le stockage des fournitures et équipements ainsi que pour les archives.

Il faut également disposer d'installations permettant de collecter, de stocker et d'évacuer les déchets de façon appropriée, et définir des procédures de décontamination et de transport.

2.1.1.4- Appareils, matériaux et réactifs

Les appareils, notamment les systèmes informatiques validés utilisés pour l'obtention, le stockage et la consultation des données et pour la régulation des facteurs d'environnement qui interviennent dans l'étude doivent occuper

un emplacement correct, être de conception appropriée et avoir une capacité suffisante.

Les appareils utilisés dans une étude doivent être périodiquement inspectés, nettoyés, entretenus et étalonnés conformément aux modes opératoires normalisés (MON). Les relevées de ces activités doivent être conservées. L'étalonnage doit, s'il y a lieu, être rapporté à des normes nationales ou internationales.

Les appareils et les matériaux utilisés dans une étude ne doivent pas interférer de façon préjudiciable avec le système d'essai.

Les produits chimiques, les réactifs et les solutions doivent être étiquetés.

2.1.1.5- Systèmes d'essai

Le système d'essai signifie tout système biologique, chimique ou physique ou, toute combinaison de ceux-ci qui est utilisée dans une étude.

Systèmes d'essai physiques et chimiques :

Les appareils utilisés pour l'obtention des données chimiques et physiques doivent occuper un emplacement correct, être de conception appropriée et avoir une capacité suffisante.

L'intégrité des systèmes d'essai physiques et chimiques doit être vérifiée.

Systèmes d'essai biologiques :

Il faut créer et maintenir des conditions convenables pour le stockage, le logement, la manipulation et l'entretien des systèmes d'essai biologiques, afin d'assurer de la qualité des données.

Il faut tenir des registres mentionnant l'origine, la date et l'état d'arrivée des systèmes d'essai. Tous les renseignements nécessaires à une identification correcte des systèmes d'essai doivent figurer sur leur logement ou leur récipient.

2.1.1.6- Eléments d'essai et de référence

Un élément d'essai est un article qui fait l'objet d'une étude.

Un élément de référence ou élément de contrôle représente tout article utilisé en vue de fournir une base de comparaison avec l'élément d'essai.

Les éléments d'essai et de référence doivent faire l'objet de réception, de manutention, d'échantillonnage et de stockage. Il faut tenir des registres mentionnant la caractérisation, la date de réception et d'expiration ainsi que les quantités reçues et utilisées dans les études. Il faut définir les méthodes de manipulation, d'échantillonnage et de stockage qui assurent le maintien de l'homogénéité et de la stabilité dans toute la mesure du possible et évitent une contamination ou un mélange.

Les récipients de stockage doivent porter des renseignements d'identification, la date d'expiration et les instructions particulières de stockage.

2.1.1.7- Modes opératoires normalisés (MON)

Le laboratoire doit posséder les MON ou "Standard Operating Procedures" (SOP) écrits, approuvés par le responsable du laboratoire, qui doivent assurer la qualité et l'intégrité des données obtenues.

Les révisions des MON doivent être approuvées et documentées.

Chaque section ou zone distincte de l'installation doit avoir un accès immédiat aux MON correspondant aux travaux qui s'y effectuent.

Des ouvrages, méthodes d'analyses, articles et manuels publiés peuvent servir de compléments à des MON.

On doit disposer de MON pour les catégories suivantes d'activités et dont la liste n'est pas exhaustive : éléments d'essai et de références, les appareils, matériels et réactifs, le système d'essai, la collecte, l'identification et la manipulation des spécimens, le mécanisme d'assurance de qualité.

2.1.1.8- Réalisation de l'étude

Pour une étude, il convient d'établir un protocole écrit avant le début des travaux. Le protocole de l'étude doit être approuvé par le directeur de l'étude qui le date et le signe, et sa conformité aux BPL doit être vérifiée par le personnel d'assurance de qualité. Il doit être également approuvé par la direction de l'étude.

Les amendements apportés au protocole de l'étude doivent être justifiés et approuvés par le directeur puis conservés avec le protocole de l'étude.

Les déviations du protocole de l'étude doivent être décrites, expliquées, déclarées et datées en temps utile par le directeur de l'étude et par le ou les responsables principaux des essais, puis conservées avec les données brutes de l'étude. L'étude doit se dérouler conformément au protocole arrêté.

2.1.1.9- Etablissement du rapport sur les résultats de l'étude

Il faut établir un rapport final pour chaque étude. Pour les études à court terme, un rapport final normalisé pourra être préparé et s'accompagner d'un complément particulier à l'étude.

Les responsables principaux des essais ou les scientifiques participant à l'étude doivent signer et dater le rapport final. Les corrections et additions apportées à un rapport final doivent se présenter sous forme d'amendements et doivent être signées et datées par le directeur.

2.1.1.10- Stockage et conservation des archives et des matériaux

L'archivage consiste à conserver et à classer les documents produits ou conçus par le laboratoire ou par d'autres services.

Les archives s'enrichissent des procédures opératoires et d'enregistrements qualité.

Les éléments suivants seront conservés dans les archives pendant au moins 15 ans à partir de la fin d'étude :

- le protocole de l'étude, les données brutes et le rapport final de chaque étude ;
- des rapports sur toutes les inspections réalisées conformément au programme d'assurance de qualité, ainsi que le schéma directeur ;
- les relevés des qualifications, de la formation, de l'expérience et des descriptions des tâches du personnel ;
- des comptes rendus et des rapports relatifs à l'entretien et à l'étalonnage de l'équipement ;
- les documents relatifs à la validation des systèmes informatiques et le dossier chronologique de tous les modes opératoires normalisés ;

En l'absence d'une période de conservation requise, l'élimination définitive de tout matériel d'étude, d'échantillon des éléments d'essai et de référence ainsi que des spécimens doit être justifiée et étayée par des documents.

Seul le personnel autorisé par la direction aura accès aux archives. Toute entrée et sortie de matériel archivé doit être correctement consignée.

Si une installation ou un dépôt d'archives cesse ses activités et n'a pas de successeur légal, les archives doivent être remises aux donneur(s) d'ordre de la ou des études.

2.1.2- Règles de bases de biosécurité en BPL [21]

Le respect des bonnes pratiques de laboratoire (BPL) exige dans un laboratoire le savoir être et le savoir-vivre.

2.1.2.1- La tenue : le port de tenue exige une blouse non inflammable, propre, couvrante (en particulier les manches), fermée et réservée au laboratoire. Les femmes doivent avoir les cheveux attachés, les ongles courts et ne porter aucun bijoux, de bague et de bracelet.

2.1.2.2- Le lavage des mains : la finalité du lavage des mains est d'éliminer la flore transitoire. Ce lavage est réalisé après avoir enlevés les gants à la fin du travail de paillasse, lorsqu'on éternue ou qu'on se mouche et à la sortie du laboratoire.

Ce lavage est réalisé de la manière suivante :

- après avoir retroussé les manches, mouiller les mains,
- recueillir une dose de savon liquide,
- se savonner 30 secondes environ en insistant sur les espaces interdigitaux, le dos des mains et les poignets,
- rincer abondamment et essuyer les mains avec un essuie-main jetable,
- fermer le robinet avec l'essuie-mains qui est éliminé dans une poubelle.

2.1.2.3- Utilisation des gants : les gants doivent être conformes aux normes françaises reconnues par la norme européenne NF EN 455-1 (mai 94), NF / EN 455-2 (avril 95) et adaptés à la taille des mains d'où la nécessité de proposer au moins trois tailles : petite, moyenne et grande.

Les gants doivent être utilisés à bon escient en cas de risques de contacts et de projections de produits potentiellement contaminés et en cas de lésions visibles de la peau. Les changer à chaque souillure et les enlever à la fin de chaque manipulation.

Le retrait des gants sur les mains sans se contaminer se fait comme suit :

- Saisir le gant à quelques centimètres du bord, le retourner jusqu'à l'apparition des doigts,
- Avec les doigts encore protégés par le gant retourné, dégager l'autre main par retournement complet du gant qui sera jeté avec les déchets contaminés,
- Finir d'enlever le premier gant qui sera jeté dans le conteneur,
- Procéder à un lavage des mains.

2.1.2.4- Utilisation de l'eau de javel : l'eau de javel est un désinfectant commercialisé sous différentes formes :

-Solution en bouteilles (1,5 litres à 2 litres), titrant 12 degrés chlorométriques, stable, se conserve six mois.

-Solution concentrée en berlingot (250 ml) titrant 48 degrés chlorométriques (départ d'usine), diluée au $\frac{1}{4}$ (QSP 1 litre d'eau) pour obtenir une solution à 12 degrés chlorométriques, se conserve peu : un à deux mois

-Comprimés de dichloroisocyanurate de sodium d'utilisation facile mais d'activité désinfectante moindre : 25 comprimés dans un litre d'eau pour obtenir de l'eau de javel à 12 degrés chlorométriques.

L'eau de javel doit être utilisée seule et ne doit pas être utilisée sur des appareils ou des matériels oxydables.

A partir de la solution mère de 12 degrés chlorométriques, les dilutions sont effectuées de manière à obtenir une solution à 1,2 degrés chlorométriques pour la désinfection de la paillasse.

2.1.2.5- Entretien de la paillasse : En cas de contamination apparente, la paillasse doit être nettoyée avec un agent tensioactif à l'aide d'un papier absorbant. Ensuite on rince abondamment à l'eau et on désinfecte avec de l'eau de javel à 1,2 degrés chlorométriques fraîchement préparée puis on rince abondamment à l'eau.

A la suite de la contamination accidentelle de la paillasse par renversement accidentelle du matériel biologique infectieux, on procède à la désinfection de la manière suivante :

- Délimiter la zone avec des mains gantées et absorber le maximum à l'aide d'un papier absorbant,
- Verser un agent tensioactif en évitant les projections et essuyer de l'extérieur vers l'intérieur à l'aide d'un papier absorbant,
- Verser de l'eau de javel à 3 degrés chlorométriques en recouvrant largement la zone contaminée et laisser agir pendant 10 à 15 minutes,
- Essuyer de l'extérieur vers l'intérieur à l'aide d'un papier absorbant et pratiquer ensuite un cycle complet de nettoyage-désinfection de la paillasse.

2.1.2.6- Signalisation du risque chimique : tout produit dangereux doit être étiqueté et accompagné de sa fiche de donnée de sécurité. L'étiquette doit donner des indications sur le nom du produit, la nature du danger, la date de préparation du produit en cas de dilution ou reconstitution.

2.1.2.7- Conduite à tenir en cas d'accident

- En cas de projection sur les muqueuses et dans les yeux d'un produit potentiellement infectieux, il faut rincer abondamment à l'eau ou au sérum physiologique, ensuite consulter un médecin.
- En cas de contact du produit infectieux avec la peau sans lésion provoquée, il faut nettoyer la zone atteinte à l'eau et au savon, puis rincer. Ensuite il faut désinfecter avec de l'eau de javel à 1,2 degrés chlorométriques ou de l'alcool à 70° ou de la polyvidone iodée en solution dermique pure.
- En cas de piqûre ou blessure, nettoyer la zone cutanée lésée à l'eau et au savon, puis rincer. Ensuite désinfecter par un bain prolongé d'au moins 5 minutes dans un désinfectant comme l'eau de javel à 1,2 degrés chlorométriques ou de l'alcool à 70° ou de la polyvidone iodée en solution dermique pure.

Dans tous les cas il faut demander qu'un conseil médical soit pris dans l'heure qui suit et déclarer l'accident de travail dans les 24 heures.

2.1.2.8- Elimination des pipettes Pasteur

La décontamination des pipettes Pasteur doit se faire à l'eau de javel. La partie contaminée des pipettes doit être immergée totalement dans un bac de 30 cm de hauteur équivalent au $\frac{3}{4}$ de la longueur des pipettes. La durée de contact doit être suffisante et l'eau de javel doit être active à 1,2 degrés chlorométriques. Les pipettes doivent être ensuite transférées dans des conteneurs prévus pour l'élimination par la filière des déchets "verre".

2.1.2.9- Gestion des déchets

Le producteur du déchet est responsable du devenir de ses déchets jusqu'à leur élimination totale. La gestion des déchets repose sur un suivi spécifique de la filière liée à leur nature.

Déchets sans risques : Ces déchets sont liés à l'activité technique de laboratoire et sont assimilés aux déchets ménagers. Leur conditionnement se fait dans des sacs doublés, fermés, identifiés. L'incinération se fait dans un centre d'ordures ménagères.

Déchets infectieux, coupants et piquants : Ces déchets comprennent les produits biologiques, les tubes plastiques ayant contenu un produit biologique, les gants, les papiers souillés, la verrerie et les aiguilles. Leur conditionnement se fait dans des récipients étanches et rigides à usage unique, hermétiquement fermés et identifiés. Le traitement se fait dans un centre autorisé.

Déchets chimiques : Parmi ces déchets, on a les solvants, les colorants, les produits cancérigènes et mutagènes. Leur tri se fait en fonction de leur nature afin d'éviter les mélanges des produits incompatibles. Le conditionnement se fait dans les emballages d'origine et le stockage dans un local ventilé. Le traitement se fait dans un centre agréé.

Déchets mixtes : Ces déchets comprennent la verrerie jetable, les produits biologiques traités chimiquement. Il faut évaluer les risques résiduels après la manipulation. On procède ensuite à un traitement successif de chacun des risques évalués selon un ordre adapté en s'assurant que le traitement n'entraîne pas un déplacement du risque. Le déchet sera éliminé suivant une des filières précitées.

2.1.2.10- Prévention des risques biologiques

Prévenir un risque, c'est d'abord le connaître. Afin d'harmoniser la lutte contre les risques biologiques, l'organisation mondiale de la santé (OMS), puis l'Union européenne ont élaboré des définitions et une classification précises des agents biologiques.

Définition des agents biologiques

- Les agents biologiques sont des micro-organismes, y compris les micro-organismes génétiquement modifiés, les cultures cellulaires et les endoparasites humains susceptibles de provoquer une infection, une allergie ou une intoxication.
- Le micro-organisme est une entité microbiologique, cellulaire ou non, capable de se reproduire ou de transférer du matériel génétique.
- La culture cellulaire est le résultat de la croissance in vitro de cellules isolées d'organismes multicellulaires.

Classification des agents biologiques

Les agents biologiques sont classés en quatre groupes du plus faible au plus important.

Groupe 1 : ce sont les agents biologiques non susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme.

Groupe 2 : comprend les agents biologiques pouvant provoquer une maladie chez l'homme et constituer un danger pour les travailleurs ; leur propagation dans la collectivité est peu probable ; il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficaces.

Exemple : adénovirus, virus de la varicelle, de la grippe, *Entamoeba histolytica*, schistosomes.

Groupe 3 : représente les agents biologiques pouvant provoquer une maladie grave chez l'homme et constituer un danger sérieux pour les travailleurs ; leur propagation dans la collectivité est possible, mais il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace.

Exemple : Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), *Bacillus anthracis*, *Salmonella typhi*, virus de la fièvre jaune, *Plasmodium falciparum*.

Groupe 4 : regroupe les agents biologiques qui provoquent des maladies graves chez l'homme et constituent un danger sérieux pour les travailleurs ; le risque de leur propagation dans la collectivité est élevé ; il n'existe généralement ni prophylaxie ni traitement efficaces.

Exemple : Virus ebola.

Les voies de pénétration :

Les voies de contamination peuvent être aérienne, digestive, cutanée ou conjonctivale.

- Voie aérienne : la contamination se fait par inhalation d'aérosols microbiens, par agitation, pipetage, centrifugation, usage de seringues sans bouchon.
- Voie digestive : le pipetage oral est le plus fréquemment à l'origine des contaminations digestives. De même, l'ingestion de microbes peut se faire par le port d'objets souillés à la bouche, par l'alimentation au laboratoire.
- Voie cutanée : la contamination se fait par effraction de la peau après:
 - piqûre par une aiguille souillée,
 - coupure ou égratignure par de la verrerie cassée contaminée,
 - éclaboussure de produits biologiques sur une peau excoriée,
- Voie conjonctivale : la contamination peut se faire par projection dans l'œil de gouttes de produits biologiques, d'aérosols infectant la muqueuse conjonctivale.

2.2- Les paramètres biologiques évalués au cours des essais vaccinaux

2.2.1- L' hémogramme

2.2.1.1- Définition [5]

C'est une technique de mesure permettant l'analyse quantitative et qualitative des éléments figurés du sang à savoir les globules rouges, les globules blancs et les plaquettes.

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

2.2.1.2- Principes de fonctionnement des automates

Deux procédés sont utilisés par les appareils de mesure [20] :

La détection du volume des particules par variation d'impédance

Cette technique a été mise au point par COULTER. Le principe repose sur la détection de la charge électrique spécifique à chaque type de cellule. 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.

La détection optique

Le principe consiste à faire passer le sang dans un micro-canal dont le très faible diamètre contraint les cellules à passer une par une. Ce micro-canal est traversé transversalement par un faisceau lumineux. L'interaction comporte également une diffusion et une diffraction de la lumière dépendant de plusieurs paramètres dont la taille et la forme de la cellule. La lumière est essentiellement recueillie par une cellule photoélectrique et chaque variation d'intensité lumineuse est convertie en signal électrique.

2.2.1.3- Les paramètres de l'hémogramme [5]

L'hémogramme permet de mesurer le nombre absolu de cellules contenues par unité de volume de sang.

□ L'analyse quantitative

Mesures quantitatives sur les globules rouges et leur contenu

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

Nombre normal des globules rouges

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

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

Le nombre de globules rouges varie de :

- 4,5 à $6,2 \cdot 10^{12}/l$ chez l'homme,
- 4 à $5,4 \cdot 10^{12}/l$ chez la femme et l'enfant jusqu'à la puberté,
- 3,6 à $5 \cdot 10^{12}/l$ chez l'enfant à partir de 1 an,
- 5 à $6 \cdot 10^{12}/l$ chez le nouveau-né.

L'hématocrite

Il représente le volume occupé par les globules rouges dans un volume sanguin donné, prélevé sur anticoagulant. Il est obtenu manuellement par centrifugation rapide. Sa valeur est calculée de plus en plus par les automates à partir du volume globulaire moyen.

L'hématocrite varie en fonction de l'âge et du sexe et les valeurs usuelles se situent entre :

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

Taux d'hémoglobine

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

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

Volume et contenu des globules rouges

Le contenu des globules rouges dépend de la quantité d'hémoglobine synthétisée au cours de l'érythropoïèse et du volume de l'hématie. On les apprécie essentiellement par le calcul des constantes dites de Wintrobe : volume globulaire moyen (VGM), concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) et teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH).

-Calcul du Volume Globulaire Moyen (VGM): Il se fait en divisant le volume globulaire compris dans 1 mm³ de sang (fourni par l'hématocrite)

par le nombre de globules rouges contenus dans le même volume (fourni par la numération).

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

La normale se situe entre 85 et 95 μ^3 . En dessous de 85 μ^3 , on parlera de *microcytose*, au-dessus de 95 μ^3 de *macrocytose*, dans les limites normales de *normocytose*.

Il existe chez le petit enfant une microcytose (75-80 μ^3) qui semble physiologique.

-Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH): Le calcul consiste à diviser le résultat du dosage d'hémoglobine par celui de l'hématocrite. On apporte ainsi la quantité d'hémoglobine à l'unité de volume de globules rouges :

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

Le résultat normal est compris entre 0,32 et 0,36 généralement exprimé en pourcentage (%). La CCMH peut être abaissée en dessous de 32 quand le contenu en hémoglobine des globules rouges par unité de volume est insuffisant : il y a *hypochromie*. Lorsque la CCMH est comprise entre 32 et 36, il y a *normochromie*. En revanche, il n'existe pas d'*hyperchromie*.

-Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (TCMH): La TCMH a moins d'intérêt physiologique que la CCMH ou le VGM. Elle s'obtient en divisant le résultat du dosage de l'hémoglobine par le nombre de globules rouges et indique le poids moyen d'hémoglobine par globule, soit l'état normal 29 ± 2 pg. Elle dépend à la fois du contenu en hémoglobine par unité de volume et du volume globulaire.

La numération des réticulocytes

Les réticulocytes sont des globules rouges jeunes qui sont identifiables dans le sang environ 24 h. La durée de vie des globules rouges est d'environ 120 jours. Ces réticulocytes représentent donc environ 1% des globules rouges.

Le nombre normal des réticulocytes est entre 25000 et 100000 mm^3 pour un taux d'hémoglobine normal.

Etude quantitative des globules blancs

Les globules blancs ou leucocytes sont des cellules mobiles possédant tous des organites fondamentaux des cellules animales et qui jouent le rôle de défense de l'organisme. Le comptage des globules blanc est fait sur le même prélèvement que les globules rouges et par le même appareil. Les valeurs normales sont 4 à 10000/ mm^3 chez l'adulte.

Etude quantitative des plaquettes

Ce sont des petites cellules de 2 à 4 μm de diamètre anucléés dans lesquelles on distingue seulement quelques granulations colorées. Les plaquettes sont les principaux acteurs de l'hémostase primaire. Les compteurs électroniques les plus perfectionnés assurent simultanément sur le même prélèvement des comptes de globules rouges, des globules blancs et des plaquettes. L'intervalle de variation normale est très large de 150000 à 450000 par mm^3 .

□ Analyse qualitative

Elle est réalisée en étalant une fine goutte de sang sur une lame de verre et en l'examinant au microscope après coloration. Le colorant le plus utilisé est le May-Grunwald-Giemsa. Cet examen au microscope permet d'étudier la morphologie des hématies et de faire la « formule sanguine ». Elle permet en outre de différencier les lymphocytes, les polynucléaires neutrophiles basophiles et éosinophiles et les cellules immatures éventuelles.

2.2.2- L'Alanine aminotransférase (ALAT)

2.2.2.1- Définition

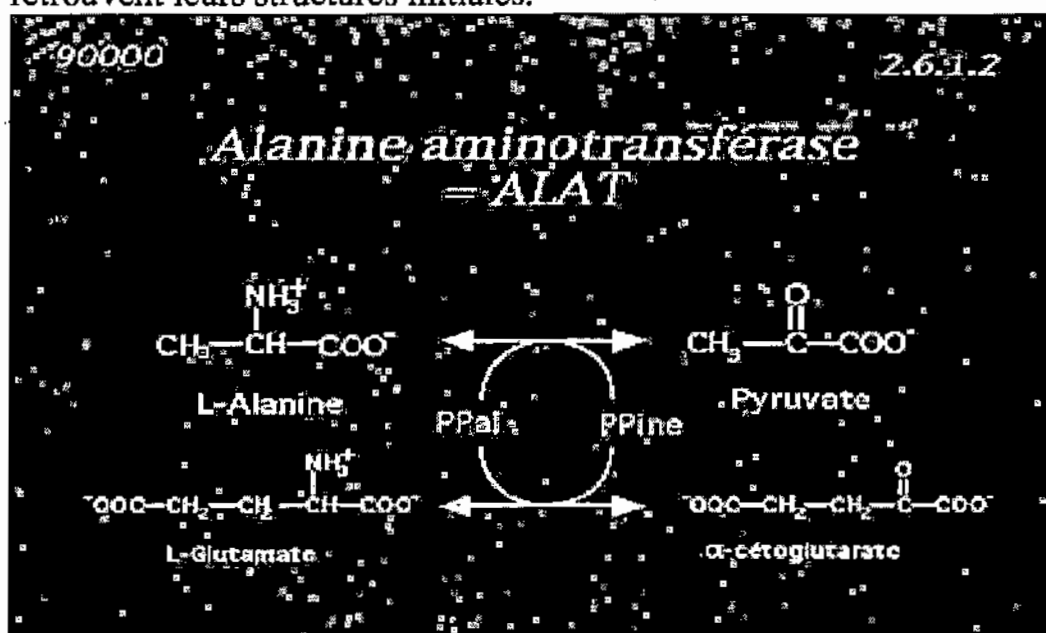
L'ALAT encore appelée la transaminase glutamique pyruvate (TGP) est une enzyme intracellulaire qui intervient dans la synthèse et la dégradation des acides aminés [41].

Elle est donc impliquée dans le métabolisme protéique, glucidique (la néoglucogenèse en particulier) et lipidique par le pyruvate formé.

L'ALAT catalyse le transfert du groupement NH_2 d'une fonction α - amine sur un récepteur cétonique.

L'ALAT 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.



source: www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/REbioch/POLY.Chp.5.6.html

Figure 1 : Réaction catalysée par l'ALAT

Les valeurs normales sériques de l'ALAT varient entre 5 et 55 UI/L (cinétique à 37°C) et la demi-vie est de 47± 10 heures. Les durées de conservation en tube fermé sont de trois jours au maximum à 4-25°C. Par contre l'enzyme est instable à -25°C.

L'ALAT est essentiellement trouvée au niveau du foie (où elle est exclusivement cytoplasmique), mais elle se rencontre aussi par ordre de concentration décroissante, dans le rein, cœur, le muscle squelettique, le pancréas, la rate, les poumons et le sérum [40].

2.2.2.2- Les valeurs normales

Les valeurs normales de l'activité sérique des transaminases sont différentes d'un laboratoire à un autre ; une valeur élevée signifie qu'une anomalie est présente mais ne définit pas une maladie. Les valeurs de l'ALAT dans une

population ne suit pas une distribution « gaussienne » mais plutôt une courbe logarithmique. Les limites de référence de l'ALAT sont définies à partir d'un échantillon de population sélectionnée appelée population de référence en tenant compte des critères de non inclusion. La population de référence prend en compte une population de 20 à 30 ans.

2.2.2.3- Les variations physiologiques [40]

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. 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 (21).

Enfin, l'ALAT est plus élevée lorsque la consommation de cigarettes est supérieure à 20 par jour [30]. L'activité sérique des transaminases diminue pendant la grossesse et lors du déficit en vitamines B6.

2.2.2.3- Les étiologies des transaminases élevées [29]

Suivant le contexte et la clinique nous avons :

- les hépatites virales (A,B,C,D) ;
- les hépatites médicamenteuses et toxiques ;
- les hépatites auto-immunes ;
- la mononucléose, la tuberculose ;
- l'infection par le cytomégalo virus, l'herpès ;
- la leptospirose et les rickettsioses ;
- les parasitoses (paludisme), les arboviroses (fièvre jaune, dengue) ;
- l'hémochromatose, la maladie de Wilson ;

- l'infarctus du myocarde, les myopathies, la cytolysse musculaire.

Le foie constitue un cible de toxicité des vaccins.

2.2.2.4- 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 :

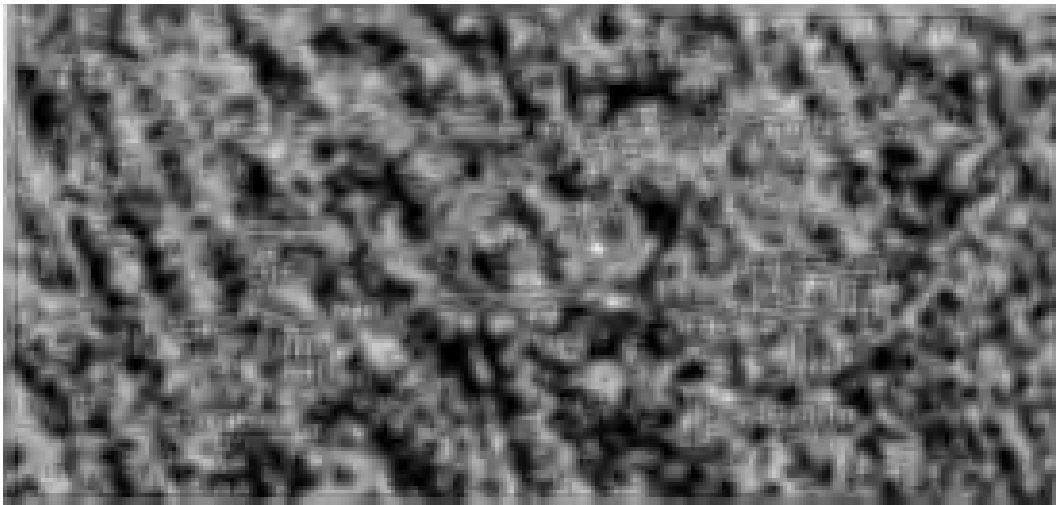
- soit une propriété physique : c'est la méthode calorimétrique, qui consiste à mesurer la quantité de chaleur dégagée lorsque l'on ajoute du substrat en excès à un milieu adéquat contenant l'échantillon d'enzyme à doser.
- Soit une propriété cinétique : c'est la mesure de l'activité, la mesure est faite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

2.2.3- La créatinine

2.2.3.1- Définition [19]

La créatinine est un constituant azoté non protéique, provenant de la déshydratation de la créatine, elle-même présente dans le muscle strié où elle permet le stockage de l'ATP (Adénosine Triphosphate) sous forme de créatine phosphate ou phosphagène par une réaction catalysée par la créatine kinase (CK). La créatinine plasmatique et urinaire est le reflet de la masse musculaire globale.

Au niveau du néphron, la créatinine subit la filtration glomérulaire ; elle n'est par la suite ni absorbée ni excrétée au niveau du tubule. Sa clairance mesure le volume du filtrat glomérulaire formé par seconde.



Source :

www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/CNbioch/POLY.Chp.11.2.html

Figure 2 : Réaction de catabolisme de la créatine

2.2.3.2- Méthodes d'exploration

Détermination de la créatinine sanguine

Le sang total renferme de la créatinine et de la créatine. 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. Elle ne dépend ni du régime, ni de l'exercice physique, ni même d'autres influences biologiques. C'est le constituant sanguin dont le taux est le plus fixe.

La créatinine sanguine ne varie pratiquement que dans les lésions rénales. Son taux varie, chez l'adulte, de 50 à 105 $\mu\text{mol/l}$.

Notion de clairance

La notion de clairance domine la biologie néphrologique ; elle établit le rapport entre la quantité de substance apportée par le plasma au niveau du rein et la quantité de substance éliminée par le rein. C'est le coefficient d'épuration plasmatique ou nombre de ml de plasma totalement épurés par le rein dans l'unité de temps. Ce volume théorique s'exprime en ml/s ou ml/minute.

Clairance = 2 ml/seconde pour 1,73 m² de surface corporelle.

$$C = \frac{UV}{P}$$

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).

2.2.3.3- Signification des variations pathologiques

Valeur pronostique dans le cadre du syndrome biologique de rétention azotée

Un taux d'urée sanguine entre 8 et 12 mmol/l associé à une créatininémie à 88 $\mu\text{mol/l}$ permet d'affirmer le caractère extra-rénal de cette azotémie. Par contre une urée à 17 mmol associée à une créatininémie à 220 $\mu\text{mol/l}$ signifie une insuffisance rénale modérée.

Une azotémie à 33 mmol et une créatininémie à 600 $\mu\text{mol/l}$ témoigne d'une insuffisance rénale avancée.

Valeur pronostique et surveillance de la thérapeutique

Tout au long de l'évolution d'une néphropathie, la valeur de la créatininémie et la clairance de la créatinine mesurent le degré d'insuffisance rénale et motivent de ce fait les attitudes thérapeutiques, alors que le taux d'urée sanguine et urinaire mesurent surtout le catabolisme azoté.

2.2.3.4- Méthodes de dosage

Le sérum ou le plasma peuvent être utilisés différemment.

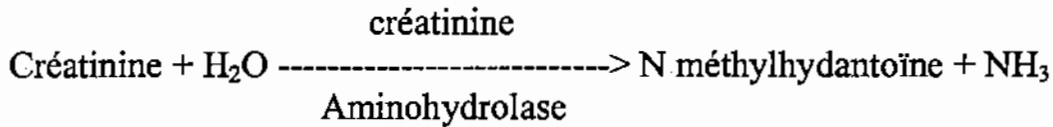
Les échantillons de sérum ou de plasma ou d'urines peuvent être conservés plusieurs jours à l'abri de l'évaporation.

Méthodes enzymatiques

La spectrorélectométrie

C'est le cas de l'appareillage Boehringer "Reflotron Plus®".

L'analyse est basée sur une hydrolyse enzymatique de la créatinine entraînant la production d'ammoniac et une migration sélective de l'ammoniac à travers une membrane semi perméable vers une couche contenant un indicateur (bleu de bromophénol). Le changement de couleur produit par l'ammoniac peut être mesuré à 600 nm par réflectométrie.



$\text{NH}_3 + \text{bleu de bromophénol} \xrightarrow{\hspace{2cm}} \text{coloration bleue.}$

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 de 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.

Réaction de Jaffé : coloration picrique

On opère directement sur les urines, mais pour le sérum ou le plasma, sur un défécât trichloracétique en méthode manuelle, ou après dialyse en cas d'automatisation en flux continu.

Après purification 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 492 nm.

On reproche à cette technique de Jaffé son manque de spécificité. Les protéines, le glucose, l'acide ascorbique, les corps cétoniques peuvent en effet interférer sur la coloration.

Méthode picratosodique après adsorption-élution par la bentonite

La purification préalable de la créatinine est effectuée par adsorption sur bentonite. Ensuite l'élution de la créatinine est effectuée par le réactif de Jaffé. Après oxydation par l'iode des substances interférentes, son extraction est réalisée à l'éther.

III- METHODOLOGIE

3.1- Lieu d'étude:

L'étude a été effectuée dans le village de Donéguébougou (figure n°3), situé à 17 km 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 Sikoro, à l'est par les villages de Sirababougou et de Torodo, à l'Ouest par le village de Banambani.

Donéguébougou est situé à une altitude de 345,5 m.

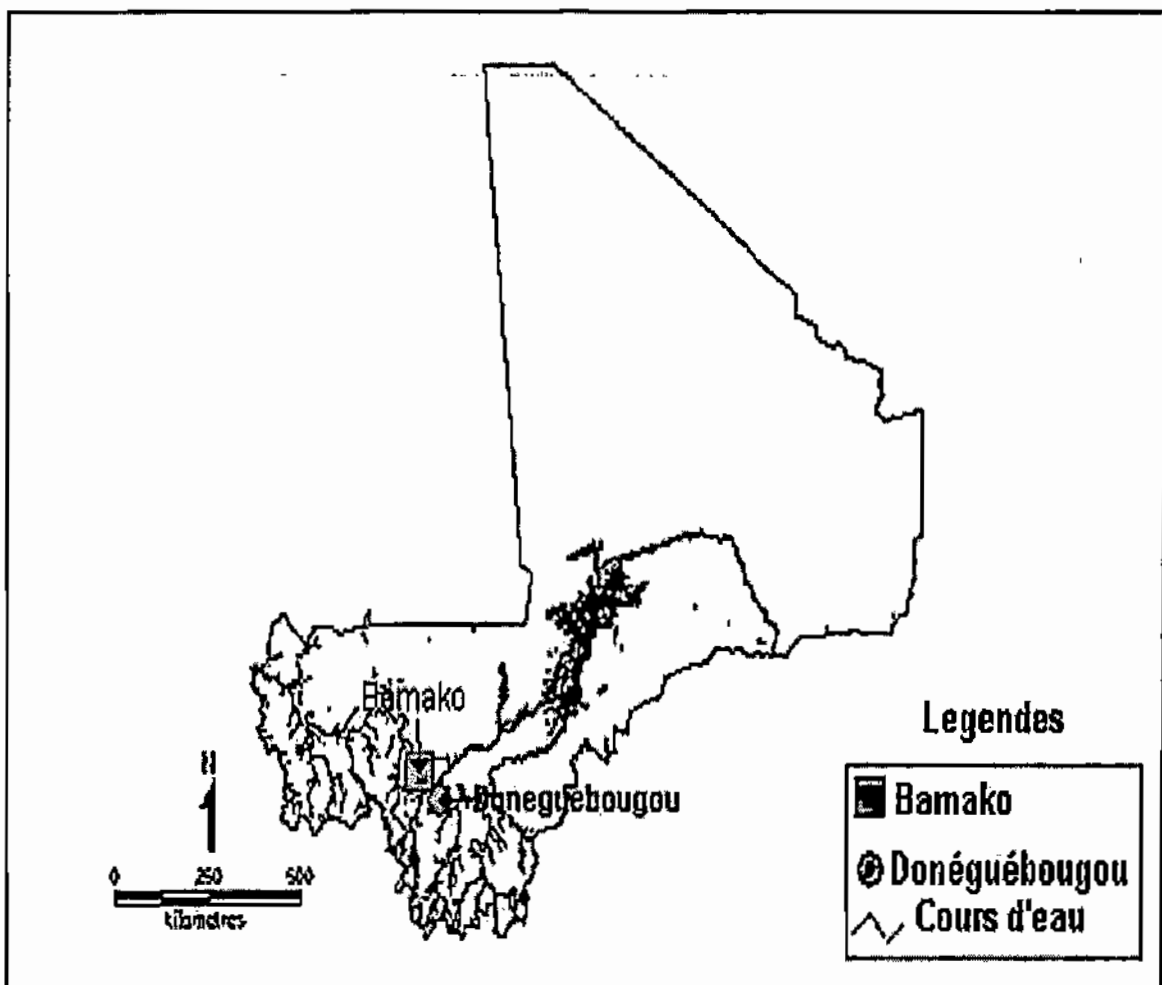


Figure N° 3 : Localisation du site d'étude

Source: GIS/RS du MRTC/FMPOS - Bamako - Mali. Janv 2003

3.1.1- Démographie:

La population est estimée à 1254 habitants (recensement en juin 2001). Plus de la moitié de la population est représentée par les enfants de moins de 15 ans. Le taux de croissance naturel est de 2,3. La population est composée essentiellement de Bambara, de Malinkés et de Peulhs.

Les religions pratiquées sont l'animisme, le christianisme et l'islam.

3.1.2- Climat, végétation et faune:

Le village de Donéguébougou se situe dans une zone climatique nord soudanienne. L'année au cours de laquelle alternent la mousson et l'harmattan est divisée en deux saisons :

- une saison des pluies de juin à octobre avec un maximum de pluies en Août,
- une saison sèche chaude de mars à avril et froide de novembre à février.

La végétation est de type savane arborée avec un tapis herbacé plus ou moins dense. L'arbre le plus fréquent est le karité (*Vitellaria paradoxa*).

La faune est constituée par de nombreux insectes d'importance médicale dont le groupe des Culidae (les Anopheles, Culex et Aedes). Parmi les vertébrés on rencontre les reptiles et plusieurs espèces d'oiseaux et de petits mammifères.

3.1.3- Hydrographie:

Une rivière (le Koba), alimentée par les eaux de pluie se trouve au sud du village de Donéguébougou. Ce cours d'eau constitue un gîte permanent pour le développement des anophèles pendant une bonne partie de l'année [17].

3.1.4- Infrastructures socio-sanitaires

Le village de Donéguébougou possède une case de santé depuis 1995 avec l'initiative de « Self help project » de l'ambassade américaine. Un petit laboratoire du MRTC est logé dans la case de santé. Il y a aussi une école primaire construite avec l'aide financière de l'ambassade du Canada.

3.1.5- Activités économiques

L'économie du village repose essentiellement sur l'agriculture et le maraîchage. On distingue deux types de cultures: les cultures vivrières (riz, sorgho, patates, manioc, bananes, arachide), et les cultures potagères (oignons, pomme de terre, aubergine).

3.2- Période d'étude

L'étude s'est déroulée en juillet 2002. Nous avons effectué un passage correspondant au début de la saison de transmission.

3.3- Type d'étude

Il s'agissait d'une étude transversale à passage unique.

3.4- Technique d'échantillonnage

Le recensement a été effectué par concessions dans lesquelles chaque ménage est recensé individuellement en donnant un numéro d'identification à la concession, au ménage puis à l'individu.

La méthode de la probabilité proportionnelle à la population (PPP) [7] a été appliquée pour choisir les sujets. Le ménage dans la concession a constitué la grappe. Les ménages ont été sélectionnés de façon aléatoire et tous les membres de la famille ont été inclus jusqu'à atteindre l'effectif recherché par classe d'âge. Les sujets ont été inclus par classe d'âge de 6 mois -5 ans, 6-10 ans, 11-15 ans et 16 - 45 ans. La taille de l'échantillon était de 198 volontaires. Les tests hématologiques n'ont pas été faits chez 7 sujets et les tests biochimiques chez 9 sujets. Trois sujets ont présenté une fausse thrombopénie.

3.5- Critères d'inclusion et de non-inclusion

3.5.1- Critères d'inclusion :

Ont été inclus dans cette étude, tous les volontaires :

- résidant à Donéguébougou,
- âgés de 6 mois à 45 ans,
- ayant signé un consentement éclairé.

3.5.2- Critères de non inclusion :

- les sujets ayant des signes cliniques de maladie aiguë, potentiellement mortelle exigeant des soins médicaux urgents,
- les femmes enceintes.

3.6- Organisation pratique du travail :

Une campagne d'information et de sensibilisation a été faite auprès de la population quelques jours avant le passage. Elle a consisté en une rencontre avec le chef du village et ses conseillers, les jeunes du village et les chefs de famille. La rencontre avait pour but d'expliquer le protocole et à l'obtenir le

consentement éclairé. Au cours de ce passage le travail était organisé de la manière suivante :

Poste1 : poste d'identification, ce poste était animé par trois guides. Le travail consistait à identifier chaque enfant à travers la carte qui porte son numéro d'ordre, son numéro d'identification, son nom, le nom de sa mère et celui du chef de famille. Les adultes étaient identifiés par leur numéro d'ordre, leur numéro d'identification et leur nom. L'identification et la présence du volontaire étaient mentionnées dans un registre de recensement. Après confirmation de tous ces paramètres et la prise du poids, le sujet était dirigé vers le poste 2.

Poste 2 : appelé poste clinique, il est constitué de deux médecins. Les différents paramètres cliniques étaient évalués notamment la palpation de la rate et toutes les autres anomalies cliniques étaient recherchées. Après examen clinique, les sujets présentant des signes cliniques de paludisme ou de toute autre maladie étaient pris en charge gratuitement.

Poste3 : poste de prélèvement.

Ce poste était constitué de cinq biologistes dont deux s'occupaient de l'inscription de la date, du nom, le numéro du volontaire et les initiales de celui qui prélève sur les tubes EDTA et SST (tube de séparation du sérum), sur la lame et le confettis. L'heure du prélèvement était également mentionnée sur les tubes. Deux autres étaient chargés du prélèvement du sang veineux sur un tube EDTA et SST, et du sang capillaire pour la confection de la goutte épaisse, de l'hématocrite du confettis et pour la détermination du taux d'hémoglobine sur l'Hemocue.

La troisième personne était chargée de la lecture immédiate de l'Hemocue®. L'effectivité de chaque prélèvement était mentionnée sur la feuille de prélèvement des échantillons.

Les gouttes épaisses et les confettis étaient gardés respectivement dans les boîtes de collection OMS et dans les cartons à l'abri des mouches et de la poussière. Les échantillons ont été transportés par véhicule à Bamako aussitôt après le prélèvement. La centrifugation, la lecture des tubes à hématocrite, les tests hématologiques et biochimiques ont été effectués au laboratoire de biologie clinique du MMVDU à Bamako le même jour.

Une partie du personnel de laboratoire était à Bamako pour faire le contrôle de qualité des différents appareils et la réception des échantillons.

3.7- Technique d'étude.

3.7.1- Evaluation clinique.

3.7.1.1- La mesure de la température axillaire :

Cette mesure était faite en plaçant le thermomètre électronique dans le creux axillaire pendant une durée fixe. Tout enfant ayant une température supérieure ou égale à 37° 5 C était considéré comme fébrile.

3.7.1.2- La palpation de la rate :

Les splénomégalies étaient classées suivant la classification de Hackett décrite comme suit:

rate 0 : rate normale, non palpable même en inspiration forcée.

rate I : rate palpable à la respiration normale.

rate II : rate palpable sur la ligne mamelonnaire gauche, ne dépassant pas une ligne horizontale passant à égale distance entre le rebord costal et l'ombilic.

rate III : rate dépassant cette ligne sans franchir l'ombilic.

rate IV : rate dépassant l'ombilic sans franchir l'horizontale passant à égale distance entre l'ombilic et la symphyse pubienne.

rate V : rate dépassant cette ligne horizontale.

3.7.2- Techniques de laboratoire.

3.7.2.1- Mise en place des procédures de BPL

Elle a été faite par la formation initiale des agents du laboratoire au NIH.

Le personnel local a été ensuite formé par deux techniciens du NIH à travers la visualisation des cassettes vidéo, des exposés oraux, des jeux de rôle, la manipulation des appareils, la documentation des actions correctives, la répartition des tâches au personnel et la rédaction des MON.

3.7.2.2- Prélèvement du sang veineux.

Tous les volontaires ont été soumis au prélèvement du sang veineux au pli du coude, le matin entre 8 h 00 et 13 h 00.

Le transport des échantillons : Les prélèvements veineux sur les tubes SST, chargés sur un portoir, ont été conservés entre 2°C et 8°C dans la glacière durant le transport.

Les prélèvements veineux sur les tubes EDTA, chargés sur un portoir, ont été maintenus à la température ambiante et bien protégés dans un carton.

La durée maximum du transport entre Donéguébougou et le laboratoire de BPL était d'une heure de temps.

La réception des échantillons : Tous les échantillons étaient enregistrés à leur réception sur la fiche de réception d'échantillon. Les données à enregistrer étaient: le numéro d'étude du volontaire, la date et l'heure de la réception ainsi que les initiales du technicien.

Chaque échantillon devait répondre à certaines exigences:

- Respect du délai entre le prélèvement et la réception au laboratoire : au plus 4 heures pour les tubes SST, le même jour pour les tubes EDTA.

- Volume du prélèvement suffisant : tubes remplis au 2/3.

Les échantillons hémolysés (tubes SST) ou présentant des caillots (tubes EDTA) ont été rejetés. Toutes les insuffisances ont fait l'objet d'une documentation sur la feuille de réception et la feuille de rejet.

3.7.2.3- Prélèvement du sang capillaire

La confection des confettis

Après désinfection du troisième doigt à l'alcool, une ponction capillaire était effectuée à l'aide du vaccinostyle. Après élimination de la première goutte à l'aide d'un coton sec, une à trois gouttes de sang étaient déposées sur les deux cercles du papier filtre (Scheilcher & Schuell- Keene, USA) portant la date, les initiales du préleveur et le numéro d'identification du patient. Les confettis étaient ensuite séchés à l'abri des mouches et de la poussière. Après séchage, les confettis étaient enveloppés et acheminés dans un carton au laboratoire.

La réalisation de la goutte épaisse (GE)

La lame porte objet (VWW Scientific) était numérotée et le sang provenant de la ponction digitale était déposée au centre. A l'aide d'une seconde lame, on procède à la defibrination mécanique par des mouvements circulaires de sorte à avoir un diamètre d'environ 1 cm. Les lames étaient ensuite séchées dans les boîtes de collection OMS puis colorées et lues à Donéguébougou.

Coloration de la goutte épaisse : La coloration des lames après séchage a été effectuée au Giemsa (Sigma, St Louis, USA) à 3% dans de l'eau distillée à pH 7,2 pendant 45 minutes. Au bout des 45 minutes la fine pellicule superficielle était chassée en ajoutant de l'eau distillée. Les lames sont ensuite rincées et séchées sur un râtelier.

Lecture de la goutte épaisse : La lecture des gouttes était effectuée à Donéguébougou et à Baniako à l'aide d'un microscope optique (Olympus Optical co, Japan) en immersion (Stephens Scientific-riverdale, USA) à

l'objectif 100. La méthode quantitative leucocytaire a été utilisée pour quantifier la parasitémie. Les parasites et les leucocytes étaient comptés en même temps sur la lame. Lorsque le nombre de leucocytes atteint 300, le compte est arrêté. La parasitémie par mm^3 de sang était obtenue par la formule suivante: $P = (X / Y) 7500$ parasites par mm^3 de sang .

X représente le nombre de parasites compté au microscope

Y représente le nombre de leucocytes comptés (300 leucocytes)

7500 étant la moyenne leucocytaire par mm^3 de sang chez l'homme.

Le contrôle de qualité des lames a été effectué à Bamako.

3.7.2.4- L'hémogramme

L'hémogramme a été réalisé sur un compte globale de dix paramètres : Coulter AcT*-10.

Le système Coulter compte et mesure avec précision la taille des cellules. 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 une 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 contrôle de qualité

Cette procédure permet de vérifier les performances du système Coulter Act-10. Ce contrôle utilisant le AcT-Tron doit être fait quotidiennement avant le test sur les échantillons.

Après avoir allumé l'analyseur AcT-10, il faut la mettre sur le mode AcT-Tron en activant l'icône mode d'analyse. Le numéro de lot du contrôle doit être enregistré et sauvegardé en activant l'icône "ID".

Le contrôle AcT-10 doit être homogénéisé en retournant doucement le tube 50 fois pendant une minute. Ensuite, il faut plonger la sonde aspirante dans le tube de contrôle et appuyer sur le bouton situé derrière la sonde. Quand la sonde remonte, retirer le tube et le reboucher. Puis imprimer le résultat en touchant l'icône "Imprimer".

Les résultats ainsi affichés sur l'écran doivent être comparés à ceux du fabricant se trouvant sur la notice accompagnant le même lot de contrôle. Si les valeurs sont hors limites, retester le contrôle après homogénéisation.

Sur l'écran apparaissent les valeurs des paramètres suivants :

- Globules blancs : WBC ($10^3/\mu\text{l}$)
- Globules rouges : RBC ($10^6/\mu\text{l}$)
- Hémoglobine : Hgb (g/dl)
- Hématocrite : Hct (%)
- Volume Globulaire Moyen : MCV(fl)
- Teneur Corpusculaire moyenne en Hémoglobine : MCH (pg)
- Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine : MCHC (g/dl)
- Plaquettes : Plt ($10^3/\mu\text{l}$)

Analyse des échantillons

L'échantillon

L'analyse se fait sur un prélèvement veineux collecté dans les 24 heures sur l' EDTA (Lavender top tubes). Le Système Coulter AcT-10 aspire 12 μl de sang pour chaque test. Les prélèvements doivent être conservés à la température ambiante en raison de la numération des plaquettes. Les tubes doivent être placés sur l'homogénéisateur bidirectionnel en attendant le test hématologique.

Procédures

Après la réalisation du contrôle de qualité, il faut appuyer sur l'icone "sang total" pour analyser les échantillons. Ensuite on procède à la saisie et à la sauvegarde du numéro d'étude de l'échantillon en touchant sur l'icone "sauvegarde".

Enfin on présente le tube à la sonde de l'analyseur Coulter puis on appuie sur le bouton d'aspiration situé derrière la sonde. Après aspiration on retire le tube. 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 referer au manuel des procédures spéciales pour y apporter une action corrective. L'échantillon doit être retester à chaque fois que le taux d'hémoglobine est ≥ 15 g/dl, le taux d'hématocrite est $\geq 0,50$ et le taux de plaquettes est $< 100.10^9/\text{l}$.

Il existe des exigences opératoires pour que les résultats soient fiables:

- Température de la salle, comprise entre 16 et 35°C
- Taux d'humidité de la salle, comprise entre 30 et 85% (sans condensation)

3.7.2.5 - Les tests biochimiques

La détermination de la créatinine et de l'alanine amino transférase sériques a été réalisée sur le Reflotron Plus®.

Nettoyage et vérification du système optique

Le nettoyage régulier de la chambre de mesure permet à l'instrument de donner des résultats corrects et fiables. Le nettoyage incorrect ou impropre peut être la source de résultats erronés. Le nettoyage se fait avec un tampon de nettoyage saturé avec de l'isopropanolol à 70%. Les différentes parties du système optique à nettoyer sont le dispositif de chauffage supérieur, le dispositif de chauffage moyen, la tête magnétique et la fente d'insertion de la bandelette. Ensuite il faut attendre 10 minutes pour le séchage.

Le principe de la vérification du système optique est basé sur la mesure de la réflectivité de la zone de test d'une bandelette dite "check", à trois différentes longueurs d'onde : 567, 642, et 951 nm. Les valeurs obtenues lors de cette lecture sont comparées avec celles attendues selon le fabricant.

Le contrôle de qualité

Le contrôle de qualité doit être fait à chaque test pour garantir l'exactitude des résultats des analyses effectuées sur le Reflotron.

Reconstitution des sera de contrôles: Les sera de contrôles anormal (Precipath®) et normal (Precinorm®) utilisés pour vérifier le bon fonctionnement du système sont sous forme de lyophilisat dans des flacons.

A l'aide d'une pipette de 1000 µl, on ajoute 2 x 1000 µl d'eau désionosée dans chaque flacon. Puis on ferme et remue doucement les flacons en leur imprimant des petits mouvements de rotation. Il faut attendre 30 minutes pour une dissolution complète. Les contrôles après reconstitution, conservés à -20 °C ne sont plus utilisables au delà de 30 jours.

Dosage des sera contrôles: Avant chaque série de paramètre biochimique à doser, le contrôle de qualité doit être réalisé à l'aide d'une bandelette test du paramètre concerné.

On doit saisir à l'aide du clavier, le nom du contrôle à tester (Precinorm® ou Precipath®) et le numéro de lot du contrôle. A l'aide de la pipette spéciale du Reflotron munie d'un cône, on dépose 32 µl du sérum au niveau du centre de la zone rouge de la bandelette en poussant le bouton-poussoir de la pipette au deuxième cran. Ce dépôt doit se faire avec un mouvement lent et la

pipette tenue au-dessus de la bandelette en formant un angle de 45°. Il faut éviter à cette étape de toucher la bandelette avec le cône ou de former des bulles d'air. Puis on insère la bandelette horizontalement dans la chambre de mesure avec la zone réactive et la partie portant l'abréviation du test orientées vers le haut, et s'assurer d'avoir entendu un clic. Le délai entre le dépôt du sérum et l'insertion de la bandelette dans la chambre de lecture ne doit pas excéder 15 secondes.

Le résultat apparaît automatiquement et est imprimé. Les résultats des contrôles Precinorm® et Precipath® obtenus ont été comparés aux fourchettes de valeurs inscrites (25 °C) sur la notice accompagnant le même lot de contrôles en cours d'utilisation.

Analyse des échantillons

Centrifugation des échantillons

Les tubes Vacutainer® SST doivent être centrifugés à 2600 tours par minute pendant 10 minutes. Après la séparation du sérum, les aliquotes de sérum ont été transférés dans des cryotubes étiquetés portant le numéro d'étude du sujet et la date de prélèvement.

Dosage des échantillons

Le principe est basé sur la lecture magnétique par le Reflotron d'une bandelette réactive imprégnée de sérum. Le réchauffement de la bandelette par l'appareil favorise la réaction entre l'échantillon et le réactif, ce qui se traduit par un changement de couleur dont l'intensité est mesurée par le système optique du Reflotron Plus.

La technique de dosage des échantillons est la même que celle des sera de contrôle.

3.7.2.6- Test de grossesse

Le fabricant du kit de ce test est le laboratoire BIOTRON®

Principe

Il s'agit d'une réaction immunologique qualitative de type sandwich, permettant la détection d'HCG dans les urines. Ce test consiste à faire diffuser l'urine à travers un dispositif absorbant ; le conjugué anticorps/colorant contenu dans le dispositif, se lie à l'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 \geq à 25 mIU/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 le fonctionnement correct du dispositif de réaction et des réactifs.

Procédure du test

Après avoir enlevé le "paquet de réaction" de son emballage de papier d'aluminium, remplir le compte-gouttes d'urines et le tenir verticalement au-dessus du "paquet de réaction". Ensuite verser 6 gouttes d'urines sans bulles d'air dans le puits du côté de la région "T" et lire le résultat après 5 minutes.

Interprétation du résultat

-L'apparition d'une bande de couleur rose au niveau de la région "C" de la fenêtre d'observation indique la bonne conduite du test.

- Si la bande colorée apparaît à la fois dans la région "C" et "T", alors le résultat est positif. L'apparition d'une seule bande dans la région "C" avec absence dans la région "T" témoigne un résultat est négatif.

- Si aucune bande n'apparaît dans la région "C" et "T", soit l'urine a été déposée dans la fausse fenêtre ou soit le dispositif d'essai a été détérioré. Dans tout les cas le test est à reprendre.

Les limites

- La protéinurie, l'hématurie, la contamination par les grosses bactéries ainsi que les détergents peuvent entraîner une augmentation du taux de HCG dans les urines,
- Faux positifs : Les patients souffrant des maladies trophoblastiques ou des teratomes testiculaires ou ovariens peuvent donner des faux résultats positifs,
- Faux négatifs : Une urine trop diluée ou de spécificité trop basse ainsi que certaines conditions pouvant entraîner la dénaturation de HCG comme le pH, la température, la contamination par les métaux lourds peuvent donner des faux négatifs,
- Les échantillons ayant des concentrations de HCG <25mIU/mL seront détectés comme négatifs.

3.8- Considérations éthiques

Le protocole et le formulaire de consentement éclairé ont été approuvés par le comité d'éthique de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS) et du NIAID.

Le consentement éclairé pour l'ensemble du village et le consentement individuel des sujets à l'étude ont été obtenus.

Il a été prévu la prise en charge des cas de paludisme, de bilharziose urinaire, de parasitoses intestinales et de l'infection par *W.bancrofti*.

Une compensation en céréales a été faite aux sujets participant à l'étude pour le temps perdu.

3.9- Gestion et analyse des données

Les données recueillies sur le terrain ont été transcrites sur les feuilles de travail et les rapports de formulaire de cas. Ces données ont été soumises à un contrôle de qualité sur le terrain et à Bamako.

On a procédé à une saisie sur Excel (Microsoft office 98) et à une double saisie et réconciliation sur Access 2000.

L'analyse a été faite sur SPSS (version 10.1) et EpiCalc 2000 avec calcul des moyennes, de l'écart type, des fréquences. Les tests statistiques utilisés ont été le chi carré corrigé de Yates, le test exact de Fischer, le test de Student pour la comparaison de deux moyennes et l'analyse de variance Anova pour la comparaison de plus de 2 moyennes. Le degré de signification des tests a été fixé à une probabilité $p < 0,05$.

3.10- Définitions opérationnelles

Anémie : elle était définie par un taux d'Hb < 11 g/dl chez les sujets de moins de 6 ans et 12 g/dl chez les sujets de plus de 6 ans.

Leucopénie : elle était définie par un nombre de GB < 3000.10⁶ /l.

Hyperleucocytose : on parlera d'hyperleucocytose lorsque le nombre de GB > 15000.10⁶/l chez les sujets de moins de 6 ans et >10000.10⁶/l pour les sujets de plus de 6 ans.

Microcytose : elle était définie par un VGM < 70 fl chez les sujets de moins de 6 ans et < 80 fl chez les sujets de plus de 6 ans.

Normocytose : lorsque le VGM était compris entre 70 et 98 fl chez les sujets de moins de 6 ans et 80- 98 fl pour les sujets de plus de 6 ans.

Macrocytose : elle était définie par un VGM > 98 fl.

Hypochromie : elle était provoquée lorsque la TCMH était inférieure à 27 pg.

Thrombopénie : elle était définie par un nombre de plaquettes était < 150.10⁹ /l.

Thrombocytose : elle était provoquée lorsque le nombre de plaquettes était > 450. 10⁹/l.

Lymphocytose : elle est définie par un taux de lymphocytes > 8000. 10⁶/l chez les sujets de moins de 6 ans et 4000.10⁶ /l chez les sujets de plus de 6 ans.

Lymphopénie : lorsque le taux de lymphocytes était < 1,5.10⁹/l.

Créatininémie sérique : le taux normal se situe entre 44-97 UI/l chez l'homme et 44-80 UI/l chez la femme, selon le kit utilisé .

Transaminasémie sérique (ALAT) : selon le kit utilisé, le taux est inférieur ou égal à 38 UI/l chez la femme et 41 UI/l chez l'homme.

IV- RESULTATS

4.1- Les acquis du laboratoire de biologie clinique du MMVDU en matière de BPL

4.1.1- La documentation

La documentation est l'ensemble des dossiers, sous quelque forme que ce soit, dans lesquels sont décrits ou consignés les méthodes, le déroulement ou les résultats d'un essai, les facteurs associés à un essai et les mesures prises.

4.1.1.1- Les différents types de document

Les différents types de document que nous avons générés sont :

Les documents sources

Ce sont les documents dans lesquels sont enregistrées pour la première fois les données.

Nos documents sources sont composés par les imprimés des appareils ou "printouts", les feuilles de paillasse et les supports électroniques.

Les différentes feuilles de paillasse utilisées sont les feuilles d'enregistrement des données (log sheet), les feuilles de travail (work sheets) et les fiches de vérification (check lists).

Les feuilles de paillasse aident à la collecte, à la réception et au stockage des échantillons, au report des résultats et des actions correctives lors des procédures d'analyse ainsi que dans l'exécution des procédures générales quotidiennes notamment pour l'enregistrement des températures.

Les feuilles de paillasse utilisées au cours des techniques d'analyse, comportent la date, le mois, l'identité de l'appareil, le type d'analyse, le numéro de lot des réactifs de contrôle et ou des bandelettes tests.

Le support informatique permet la saisie et l'analyse des données, ainsi que le suivi du stock des réactifs et des consommables.

Les documents essentiels

Ce sont des documents permettant l'évaluation, individuelle et collective, du déroulement d'une étude et de la qualité des données produites.

Nos documents sont composés par tous les documents sources, les modes opératoires normalisés (MON), les rapports d'assurance qualité, les dossiers du personnel, enfin les contrats et correspondances.

Les différents SOPs élaborés concernent :

- les procédures générales quotidiennes,
- la collecte et le traitement des échantillons,
- la maintenance des appareils,

- les techniques d'analyse à savoir le calibrage, le contrôle de qualité et l'analyse des échantillons,
- la prévention des risques biologiques,
- la gestion des déchets.

Les dossiers du personnel comportent les relevés des qualifications, de la formation et de l'expérience du personnel.

4.1.1.2- L'archivage

Nous avons archivé nos documents dans des classeurs. Ces classeurs ont été rangés sur les étagères ou dans les armoires.

Chaque appareil comportait :

- un classeur pour la conservation des feuilles d'enregistrement utilisées pour la maintenance et la technique d'analyse,
- un classeur pour les imprimés,
- les manuels d'utilisation.

L'archivage comportait également des classeurs pour les MON approuvés, le suivi du personnel, le contrôle de qualité externe, les réactifs et les consommables.

4.1.1.3 - Plan de rédaction des MON du laboratoire clinique du MMVDU

Les éléments nécessaires qui ont servi à la rédaction de nos MON sur une technique sont les suivants :

- 1- Le nom de l'institution,
- 2- Le titre de la technique, le numéro de la page en bas de la feuille (exemple : Page 1 sur 3), mentionner "DRAFT ou BROUILLON" en haut de chaque page si le MON n'est pas encore approuvé,
- 3- L'objectif du MON,
- 4- Domaine d'application : le ou les noms des catégories de personnel qui vont appliquer la technique,
- 5- Les références ayant servi à la rédaction du MON (manuels, articles, ouvrages),
- 6- L'historique : numéro de la version qui change à chaque révision du MON (Ex : 1.0 et 1.1 correspondant respectivement à la création et à la première révision du MON), la date de rédaction et d'approbation, le ou les noms ainsi que la signature des personnes qui l'ont approuvé.
- 7- Le principe de la technique,
- 8- Le type de spécimen utilisé dans la technique,
- 9- Matériels et équipements nécessaires à la réalisation de la technique,

- 10 - Les précautions de sécurité,
- 11 - La procédure de la technique,
- 12 - Le report des résultats,
- 13 - Les limites de la technique,
- 14 - Les annexes citant les différentes feuilles de travail utilisées au cours de la technique,
- 15 - La formation énumérant les noms et les signatures des différentes personnes qui ont été formées pour l'exécution de la technique conformément au MON.

4.1.2- Le Personnel

Le personnel du laboratoire est composé d'un responsable scientifique, professeur en hématologie ; d'un superviseur, assistant en hématologie ; d'un pharmacien, d'un interne en pharmacie et d'un technicien de laboratoire. Le superviseur est responsable de l'assurance qualité.

Un dossier est tenu pour toutes les personnes travaillant au laboratoire de biologie clinique du DEAP. Ce dossier contient toutes les informations concernant la qualification, la formation et l'expérience du personnel, un formulaire de dépôt d'écriture de chiffres et de signature, un formulaire de vaccination contre le VBH.

Dans le cadre de l'instauration des bonnes pratiques de laboratoire (BPL) dans le laboratoire clinique de l'unité de recherche vaccinale (MMVDU), le personnel a subi une formation avec certification par les instituts nationaux de la santé des Etats-Unis (NIH). Cette formation a porté sur les bonnes pratiques de laboratoire, la prévention des risques biologiques, la manipulation des appareils et la documentation des actions correctives.

L'ensemble du personnel du DEAP a été également formé en bonnes pratiques cliniques et de laboratoire par la tenue des ateliers.

4.1.3- Inventaire et suivi du stock

Nous avons enregistré sur le fichier Excel tout réactif, matériel ou équipement reçus au laboratoire. Pour tout article reçu, nous avons enregistré le nom, le nom de la firme de fabrication, le numéro de catalogue, le nombre en stock, le nombre d'unité par paquet ou par boîte, le prix unitaire, la date de réception et d'expiration.

L'inventaire est fait tous les mois pour assurer un approvisionnement continu.

4.1.4- Identification des locaux et équipements

Nos équipements et locaux sont identifiés par des codes.

Les équipements sont constitués par le système informatique, les réfrigérateurs, les congélateurs et les appareils servant à exécuter les analyses.

L'emplacement de chaque équipement est indiqué dans un MON prévu à cet effet.

4.1.5- La maintenance

Nous avons effectué la maintenance des différents appareils d'analyse, de la paillasse et du laboratoire.

La maintenance quotidienne consistait au nettoyage de la surface externe des appareils et la prise de la température du laboratoire, des réfrigérateurs, des congélateurs et celle de la chambre froide au matin et au soir.

Le contrôle de qualité était effectué une fois par semaine sur le Coulter AcT-10® et sur le Reflotron Plus®.

Tous les trois mois, l'extérieur et l'intérieur des réfrigérateurs sont nettoyés.

Tous les six mois, nous procédions :

- au nettoyage et la lubrification du "rotor" à l'aide de la vaseline, au nettoyage du grillage de l'unité de réfrigération ainsi qu'à la vérification de la vitesse de centrifugation à l'aide du tachomètre pour la centrifugeuse 5810R,
- à l'inspection des brosses du moteur ainsi que la vérification de la vitesse de rotation à l'aide du tachomètre pour la microcentrifugeuse à hématocrite,
- à la vérification du calibrage des pipettes par la méthode gravimétrique.

Ces différentes opérations ont été consignées sur des feuilles d'enregistrement pour la maintenance. La maintenance des appareils et le nettoyage de la paillasse étaient assurés par le personnel de paillasse.

Le nettoyage du laboratoire est quotidien et était assuré par un manœuvre.

4.1.6- Contrôle de qualité

4.1.6.1- Le contrôle de qualité interne: Ce contrôle est réalisé par le personnel du laboratoire. Le contrôle de qualité interne au laboratoire de biologie clinique du MMVDU était réalisé sur le Reflotron®, le Coulter® AcT10 et sur l'Hemocue® pour le calibrage et le contrôle de qualité. Ce contrôle permet d'assurer la qualité des résultats d'analyse au fur et à mesure

de l'exécution de ces analyses. Des procédures opératoires en décrivent l'utilisation ainsi que les actions à prendre en cas d'anomalies constatées.

4.1.6.2- L'évaluation externe de la qualité: Elle correspond au contrôle par un organisme extérieur, de la qualité des résultats fournis par un laboratoire. Dans cette optique, le laboratoire clinique du MMVDU entretient un contrat avec le "College of American Pathologist" (CAP).

Le contrôle de qualité externe a concerné le dosage de la créatinine et de la transaminase (ALAT) sériques pour la biochimie. Pour l'hématologie, le contrôle était effectué sur les différents paramètres de l'hémogramme. Pour cela le CAP envoyait cinq échantillons pour chaque test. De nos jours quatre contrôles ont été faits par le CAP qui se sont révélés excellents (score 100%) dont deux pour la biochimie et deux pour l'hémogramme.

Ce contrôle rétrospectif effectué trois fois par an, permet une confrontation inter-laboratoires des résultats en vue d'améliorer la qualité du travail de l'ensemble des participants. L'organisme extérieur adresse les mêmes échantillons aux différents laboratoires, rassemble les résultats obtenus, les analyse et les transmet avec commentaires aux laboratoires participants.

4.1.7- Gestion des déchets

4.1.7.1- Types de déchets gérés au laboratoire de biologie clinique du MMVDU

Les différents types de déchets que nous avons générés sont :

Déchets infectieux:

L'exposition à un déchet contenant des agents pathogènes très virulents, peut aboutir à une contamination et par conséquent au développement d'une maladie transmissible. Ces déchets comprennent les gants, les papiers buvards contaminés par le liquide biologique.

Déchets chimiques: Ce sont les déchets inflammables, corrosifs ou toxiques tels que les solvants organiques. Ces déchets sont générés par les trois reactifs du Coulter à savoir la solution de lyse, le diluant et la solution de rinçage.

Les objets tranchants: Ce sont des déchets pouvant piquer ou déchirer tels que les aiguilles de prélèvement, les vaccinostyles, les morceaux de verre.

Les déchets non dangereux : Comprennent les déchets assimilables aux ordures ménagères comme les morceaux de papier.

4.1.7.2- Stockage des déchets

Nous avons géré ces déchets de la manière suivante:

Déchets solides infectieux

-Tous les déchets (sauf les objets tranchants) ayant été contaminés avec du sang, un tissu ou des exsudats humains, ont été jetés dans un sacnet rouge ou orange,

-Tous les objets tranchants (vaccinostyles, aiguilles, lames porte-objets, tubes et flacons en verre) ont été jetés dans un conteneur étanche à parois dures placé sur la paille (voir section objets tranchants).

- Une fois remplis, les sachets étaient fermés avec un cordon et jetés dans un grand carton vidé chaque jour par le manoeuvre à l'incinérateur.

Déchets liquides infectieux

Tous les déchets liquides étaient déversés dans un conteneur étanche, en plastique qui est clairement marqué avec une étiquette mentionnant le danger biologique ou "biohazard".

- Une fois le conteneur rempli au 2/3, le niveau était complété avec de l'eau de Javel concentrée puis laissé toute la nuit.
- Le conteneur était vidé dans la toilette le lendemain.

Objets tranchants

-Les aiguilles de prélèvement et tout autre objet tranchant ont été jetés dans un conteneur rouge, rigide placé sur la paille. Ces conteneurs étaient clairement marqués avec une étiquette "biohazard".

-Ne jamais dévisser l'aiguille avec la main.

-Ne jamais jeter les aiguilles de prélèvement dans les sachets roses.

-Ne jamais trop remplir le conteneur pour objets tranchants.

-Une fois rempli, le conteneur était scellé et placé dans le grand sacnet orange. Les sachets étaient fermés avec un cordon et déposés dans un grand carton.

Déchets chimiques

Les déchets générés par l'analyseur Act-10 étaient évacués comme suit:

-avant de brancher le conteneur de déchets à l'analyseur Coulter, y mettre d'abord 0,5 litre d'eau de Javel concentrée.

-quand l'analyseur indique le remplissage du conteneur de déchets, détacher le et ajouter 0,5 litre d'eau de Javel concentrée.

-laisser le flacon toute la nuit et vider le, le lendemain matin dans l'évier.

Déchets non dangereux

- tous les déchets non dangereux (papiers et cartons) étaient jetés dans la poubelle ordinaire ne portant pas la mention " Biohazard".

-Les solutions non dangereuses (alcool) étaient déversées dans l'évier.

4.1.7.3- Collecte des déchets

En fin de journée toutes les poubelles ont été vérifiées. Une fois qu'elles étaient remplies, la collecte était faite comme suit:

- Les petits sachets rouges de paille étaient fermés avec un cordon et déposés dans le grand sachet orange à même le sol
- Le conteneur pour objets tranchants, une fois rempli, était scellé et déposé dans le grand sachet orange à même le sol.
- Les grands sachets oranges étaient attachés avec un cordon et placés dans un grand carton.

Chaque matin le manoeuvre enlevait le grand carton..

4.1.7.4- Destruction des déchets

Au laboratoire de BPL du MRTC / DEAP:

- Chaque jour, après port de gants de ménage, le manoeuvre transportait les déchets biologiques à l'incinérateur.
- Il a brûlé tous les déchets avec une allumette après les avoir aspergés de pétrole.
- Les déchets non dangereux étaient jetés au dépotoir.

Sur le terrain à Donéguébougou

Après examen des urines, le reste des échantillons était déversé dans la fosse septique du centre de santé.

La destruction par incinération des autres déchets était faite le 1^{er} et le 15 de chaque mois en procédant comme suit :

- attacher un morceau de tissu à l'extrémité d'une tige, qui dépasse d'au moins 50 cm la profondeur de la fosse d'incinération,
- soulever le couvercle de la fosse,

- y verser 2 litres de pétrole,
- imbiber le tissu de pétrole et l'allumer,
- plonger le torchon ainsi formé dans la fosse tout en se tenant à l'écart et le retirer aussitôt après inflammation,
- laisser la fosse ouverte jusqu'à incinération totale c'est à dire quand il n'y a plus de dégagement de fumée.
- refermer la fosse

4.1.8- Prévention des risques biologiques

4.1.8.1- Prévention technique du risque biologique dans le laboratoire clinique du MMVDU

Les consignes pratiques d'hygiène et de sécurité

Nous avons adopté les consignes suivantes :

- le port de la blouse réservée uniquement au laboratoire,
- le port de gants jetables, à enlever avant toute autre opération conformément aux règles de base de biosécurité en BPL,
- considérer tout prélèvement comme potentiellement contaminé, pour tous les sujets,
- l'hygiène rigoureuse des mains : lavage fréquent des mains conformément aux règles de base de biosécurité en BPL,
- le nettoyage du plan de travail et des instruments à l'aide de l'eau de javel à 10% avant et après toute manipulation et chaque fois qu'un produit biologique est renversé,
- l'interdiction de fumer, de stocker et de consommer des boissons et des aliments dans le laboratoire,
- le prélèvement à la bouche formellement proscrit,
- l'utilisation du matériel à usage unique ; précaution dans la manipulation des aiguilles et des seringues souillées, et dans l'utilisation des centrifugeuses,
- les aiguilles doivent être jetées dans des conteneurs spéciaux imperforables qui doivent permettre de les désadapter,
- le traitement approprié de tous les déchets et matériel souillés par l'eau de javel à 10% et ou par incinération,
- le contrôle et un entretien périodique du matériel et des installations,
- la limitation du personnel autorisé à pénétrer dans le laboratoire,
- la formation continue du personnel sur les risques encourus.

Conduite à tenir en cas d'accident

Nous avons pratiqué les procédures suivantes pour le nettoyage des liquides organiques.

Procédure de nettoyage des liquides organiques

- 1-Mettre des gants en latex à usage unique,
- 2-Couvrir le spécimen biologique de papier absorbant,
- 3-Imprégner délicatement le papier absorbant avec de l'eau de javel à 10%,
- 4-Laisser en contact pendant 10 à 15 minutes,
- 5.Retirer le papier absorbant et essuyer de l'extérieur vers l'intérieur la surface contaminée,
- 6.Eliminer le papier absorbant, ôter les gants, et jeter l'ensemble dans la poubelle pour objets contaminés,
- 7-Laver les mains,
- 8-Mettre une nouvelle paire de gants. Essuyer la surface contaminée avec de l'eau de javel à 10 % et laisser sécher,
- 9-Jeter les gants et laver les mains une nouvelle fois.

Procédure de nettoyage des liquides organiques comportant des débris de verre et/ou des objets tranchants

- 1-Mettre des gants en latex à usage unique,
- 2-Couvrir le spécimen biologique de papier absorbant,
- 3-Imprégner délicatement le papier absorbant avec de l'eau de javel à 10%
- 4-Laisser en contact pendant 10 à 15 minutes,
- 5-A l'aide d'une pelle à ordures et d'un balai, ramasser et jeter les déchets dans une poubelle pour « tesson de bouteilles »,
- 6-Oter les gants souillés et les jeter dans la poubelle pour ordures contaminées,
- 7-Laver les mains,
- 8-Mettre une nouvelle paire de gants. Essuyer la surface contaminée avec de l'eau de javel à 10 % et laisser sécher,
- 9-Jeter les gants et laver les mains,
- 10-Rinser la pelle et le balai avec de l'eau de javel à 10 % et laisser sécher,
- 11-Eliminer le papier absorbant et les gants dans la poubelle pour ordures contaminées et laver les mains.

Conduite à tenir en cas d'exposition à un produit potentiellement infectieux

- Rester calme,
- Donner immédiatement les premiers soins :

- 1- En cas de projection sur les muqueuses et dans les yeux, rincer abondamment à l'eau (eau courante) ou au sérum physiologique pendant 15 minutes,
- 2- En cas de piqûre, de blessure ou de contact avec la peau, nettoyer rigoureusement la zone avec une solution de polyvidone iodée à 10 % en solution dermique pure pendant 15 minutes.

-Notifier l'accident au superviseur.

Prise en charge des accidents d'exposition au sang

Tout accident d'exposition au liquide organique du personnel de laboratoire doit être signalé aussi tôt que possible et documenté en y précisant la ou les voies de l'exposition ainsi que les circonstances dans lesquelles a lieu l'accident.

La personne source doit être identifiée par son numéro d'étude pour la connaissance de son statut sérologique pour le HIV, le VBH et VCH. Cette sérologie ne peut être faite qu'avec son accord. Tout dépistage à l'insu ou sous contrainte est proscrit. En l'absence de données biologiques due au refus de la personne source ou d'une recherche impossible ou, dans l'attente des résultats, on se basera sur le contexte clinique et sur des arguments épidémiologiques pour décider d'un éventuel traitement.

Pour orienter la décision de traitement, les principaux éléments à prendre en compte sont les suivants :

- Le délai depuis l'exposition ; dans le cas d'accidents professionnels, il est en général court,
- La sévérité de l'exposition, le risque de transmission étant directement lié à la profondeur de la blessure et au type d'aiguille ou de matériel en cause,
- La nature du liquide biologique en cause,
- Le statut sérologique et clinique de la personne source.

Prophylaxie pour le virus B de l'hépatite (VHB) après exposition

Dans le laboratoire de biologie clinique de l'unité de recherche vaccinale, le seul moyen prophylactique contre l'infection par le VHB est la vaccination Anti-VHB par ENGERIX B®. Tout le personnel est vacciné par la première et la deuxième dose de ce vaccin, la vaccination étant prévue en trois doses.

Prophylaxie : L'utilisation du moyen prophylactique par la vaccination Anti-VHB est déterminée par le statut VHB de la victime et du patient-source.

• 1er cas : La victime est vaccinée correctement et protégée c'est -à -dire un taux d'anticorps Anti-HBs > 10 UI/ml. La prophylaxie n'est pas recommandée quel que soit le statut VHB du patient-source.

· 2ème cas : La victime n'est pas protégée c'est -à -dire non vaccinée ou ayant un taux d'anticorps Anti-HBs < 10 UI/ml. La victime doit être vaccinée avec une série de trois doses du vaccin Anti-VHB dont la première dose dans les 24 heures qui suivent l'exposition.

* Le patient-source est antigène HBs (Ag HBs) positif : Injecter une série de trois doses du vaccin anti-VHB.

* La sérologie VHB du patient-source est inconnue et ou, ne peut être obtenue dans les 48 heures. Dans ce cas, on procède à la vaccination Anti-VHB.

Suivi sérologique : il est obligatoire si le patient-source est infecté par le VHB (Ag HBs +) ou inconnu et si la victime n'est pas vaccinée ou quand elle est considérée comme non protégée. Il comprend les dosages de l'Ag HBs et des Ac Anti-HBs dans les 24 heures, à 6, 12 semaines et à 6 mois.

En outre la recherche de l'Ag VHB sera effectuée chez toute personne présentant des signes compatibles avec la phase aiguë de l'hépatite B quelle que soit la durée de l'exposition.

Prophylaxie pour le virus de l'immunodéficience humaine (VIH)

Prophylaxie : les médicaments antiretroviraux pour la prophylaxie anti-VIH sont disponibles au laboratoire de biologie clinique. Ces médicaments sont composés par le sulfate d'Indinavir à 400 mg (CRIXIVAN®) sous forme de capsules et par l'association Zidovudine (300mg)-Lamivudine (150 mg) (COMBIVIR®) sous forme comprimée.

➤ 1ere situation : La sérologie VIH du sujet source est connue.

*1 er cas : La sérologie VIH du patient source est négative. La prophylaxie n'est pas indiquée.

*2ème cas : la sérologie VIH du patient-source est positive. Le traitement prophylactique doit être initié dans les 36 heures qui suivent l'accident, au-delà de ce délai, il est estimé inutile.

La bithérapie par l'association Zidovudine (AZT) et Lamivudine (3TC) suffit s'il s'agit d'une blessure superficielle ou de la projection d'un faible volume de sang sur la muqueuse ou lorsque l'infection VIH de la personne source est asymptomatique. La Zidovudine et Lamivudine peuvent être sous forme de comprimés séparés ou sous forme associée (COMBIVIR®).

La trithérapie se fait par l'association de la Zidovudine, de Lamivudine et de l'Indinavir, et cela en cas d'une blessure à haut risque avec une aiguille creuse contenant du sang ou d'une coupure avec un instrument contaminé par du sang ou lorsque l'infection VIH de la personne source est au stade SIDA.

Le traitement dure quatre semaines en cas de tolérance aux médicaments.

➤ 2ème situation : la sérologie VIH du patient source n'est pas connue.

*1^{er} cas : La blessure n'est pas due à une aiguille creuse contenant du sang ou à une coupure avec un instrument contaminé par du sang. La prophylaxie est déconseillée en l'absence de tout facteur de risque de la personne source.

*2ème cas : la blessure est à haut risque avec une piqûre profonde avec aiguille creuse contenant du sang ou coupure avec instrument tranchant souillé de sang et où le patient-source est à haut risque. En l'absence de sérologie VIH, les données épidémiologiques et cliniques disponibles au moment de l'accident peuvent permettre de suspecter soit une infection VIH évoluée, soit une primo-infection VIH symptomatique. Dans ce cas, on peut prescrire la prophylaxie par la trithérapie jusqu'à connaissance de la sérologie VIH du patient.

Suivi sérologique: il est obligatoire si le patient-source est infecté par le VIH (sérologie VIH +) ou le patient-source est inconnu ou la sérologie VIH du patient-source est inconnue. Des sérologies VIH sont effectuées dans les 36 heures après exposition puis à 6, 12 semaines et à 6 mois. Si le patient est à la fois exposé au VIH et au virus de l'hépatite C (VHC), des sérologies VIH et VHC sont effectuées à 12 mois après exposition.

Le test HIV sera effectué chez tout personnel présentant une maladie compatible avec les syndromes aigus du SIDA (Syndrome Immuno Déficience Humaine) quelle que soit la durée d'exposition.

Prophylaxie pour le virus de l'hépatite C après exposition

Prophylaxie : Aucune thérapeutique à visée prophylactique après un accident d'exposition au sang (AES) n'est proposée actuellement

Suivi sérologique : il est obligatoire si le patient-source est infecté par le VHC (sérologie VHC +) ou si le patient-source est inconnu ou si sa sérologie VHC est inconnue. La sérologie VHC est effectuée dans les heures qui suivent l'accident et à 12 mois.

4.2- Les paramètres biologiques

4.2.1- Caractéristiques de la population d'étude

Tableau I : distribution de la population d'étude selon l'âge et le sexe à Donéguébougou.

Classes d'âge	Masculin	Féminin	Total
6 mois-5 ans	20	21	41 (20,70)
6-10 ans	20	19	39 (19,69)
11-15 ans	22	16	38 (19,19)
16-45 ans	40	40	80 (40,40)
Total	102	96	198 (100,00)

La classe d'âge 16-45 ans était la plus représentée dans notre population d'étude (40,40%). On ne notait pas de différence statistiquement significative entre les classes d'âge réparties en fonction du sexe (Chi² de Yates = 0,82 ; P=0,84).

Le sex-ratio était de 1,06 en faveur de la population masculine.

4.2.2- Distribution de l'indice plasmodique selon l'âge**Tableau II : Répartition de l'indice plasmodique par classes d'âge à Donéguébougou.**

Classes d'âge	IP (%)	Total (n)
6 mois-5 ans	14,63	41
6-10 ans	51,28	39
11-15 ans	44,73	38
16-45 ans	10,00	80
Total	25,75	198

Chi² = 33,08 ; $p < 10^{-6}$

L'analyse du tableau II, montre que l'indice plasmodique était plus élevé chez les sujets de 6-10 ans (51,28 %) et plus faible chez les sujets de 16-45 ans.

4.2.3- Fréquence de la fièvre selon l'âge

Tableau III : Fréquence de la fièvre selon l'âge des sujets d'étude à Donéguébougou.

Classes d'âge	Fièvre-	Fièvre+ (%)	Total
6 mois-5 ans	26	15 (36,58)	41
6-10 ans	34	5 (12,82)	39
11-15 ans	36	2 (12,05)	38
16-45 ans	70	10 (5,05)	80
Total	166	32 (16,16)	198

Chi2 = 17,07, p = 0,0006

Le tableau III montre que la fréquence de la fièvre était inversement proportionnelle à l'âge. Les enfants de 6 mois-5 ans étaient significativement plus touchés que les autres.

4.2.4- Distribution de l'indice splénique selon l'âge

Tableau IV : distribution de l'indice splénique selon l'âge des sujets d'étude à Donéguébougou.

Classes d'âge	IS (%)	Total (n)
< 2 ans	0	9
2 - 9 ans	4,60	65
10 - 45 ans	3,20	124
Total	3,53	198

Les indices spléniques (IS) les plus élevés ont été observés chez les sujets de 2 - 9 ans. Cependant l'IS ne variait pas de façon statistiquement significative en fonction des classes d'âge ($p = 0,9$).

4.2.5- Résultats biochimiques**Tableau V :** Distribution des valeurs de la créatininémie (en %) chez les sujets de sexe masculin à Donéguébougou.

CREAT.	6 mois-5 ans	6-10 ans	11-15 ans	16-45 ans	Total
<44,2 $\mu\text{mol/l}$ (%)	20 (100)	16 (88,88)	12 (54,54)	1 (2,63)	49 (50)
>97 $\mu\text{mol/l}$	0	0	0	1	1

Tableau VI : Distribution des valeurs de la créatininémie (en %) chez les sujets de sexe féminin à Donéguébougou.

CREAT.	6 mois-5 ans	6-10 ans	11-15 ans	16-45 ans	Total
<44,2 $\mu\text{mol/l}$ (%)	17 (100)	18 (94,73)	13 (81,25)	5 (12,82)	53 (58,24)
>80 $\mu\text{mol/l}$	0	0	0	1	1

L'analyse des tableaux V et VI montre que dans les deux sexes 54,12 % des valeurs de la créatinine étaient en deçà du seuil de détection de l'instrument utilisé.

La créatinine augmentait significativement avec l'âge (p bilatéral de fischer $<10^{-6}$).

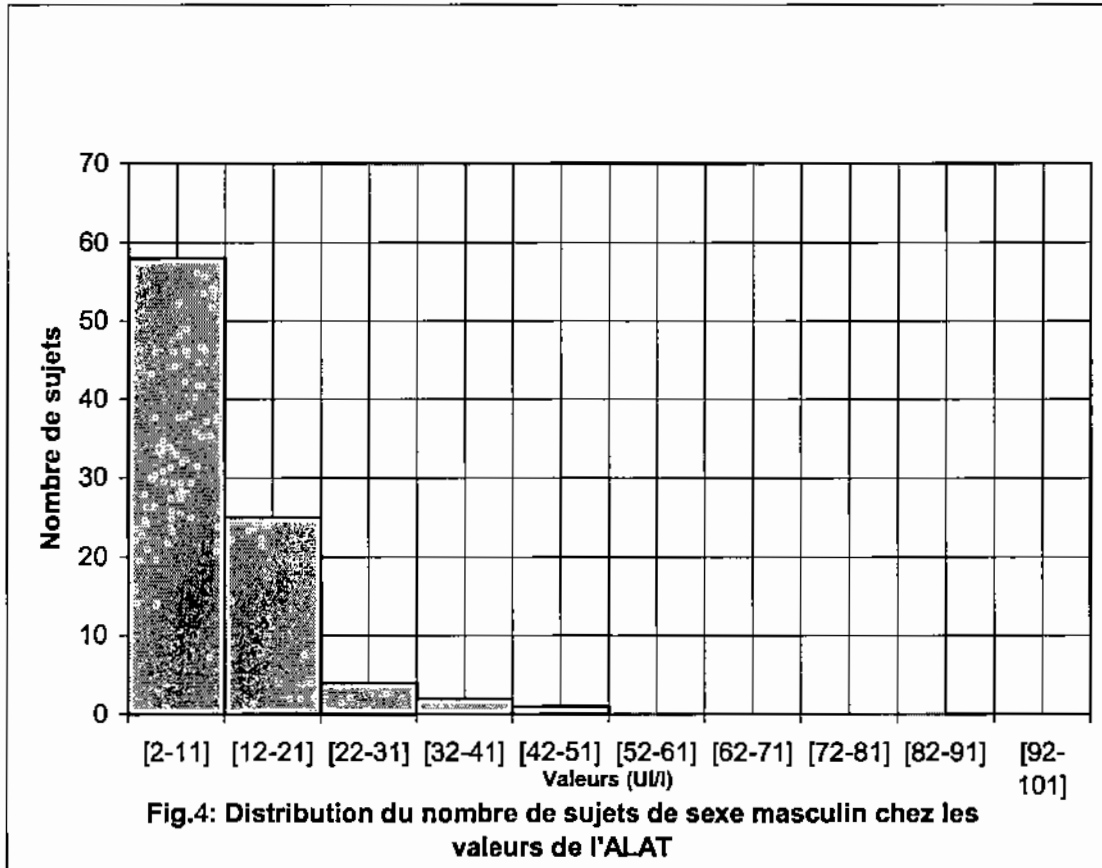
Les valeurs maximales de la créatinine étaient respectivement de 98,80 et de 86,60 $\mu\text{mol/l}$ dans les sexes masculin et féminin.

Le dosage de la créatinine sérique n'a pas été fait chez 9 sujets.

Tableau VII : valeurs moyennes de l'ALAT selon l'âge et le sexe, chez les sujets d'étude à Donéguébougou.

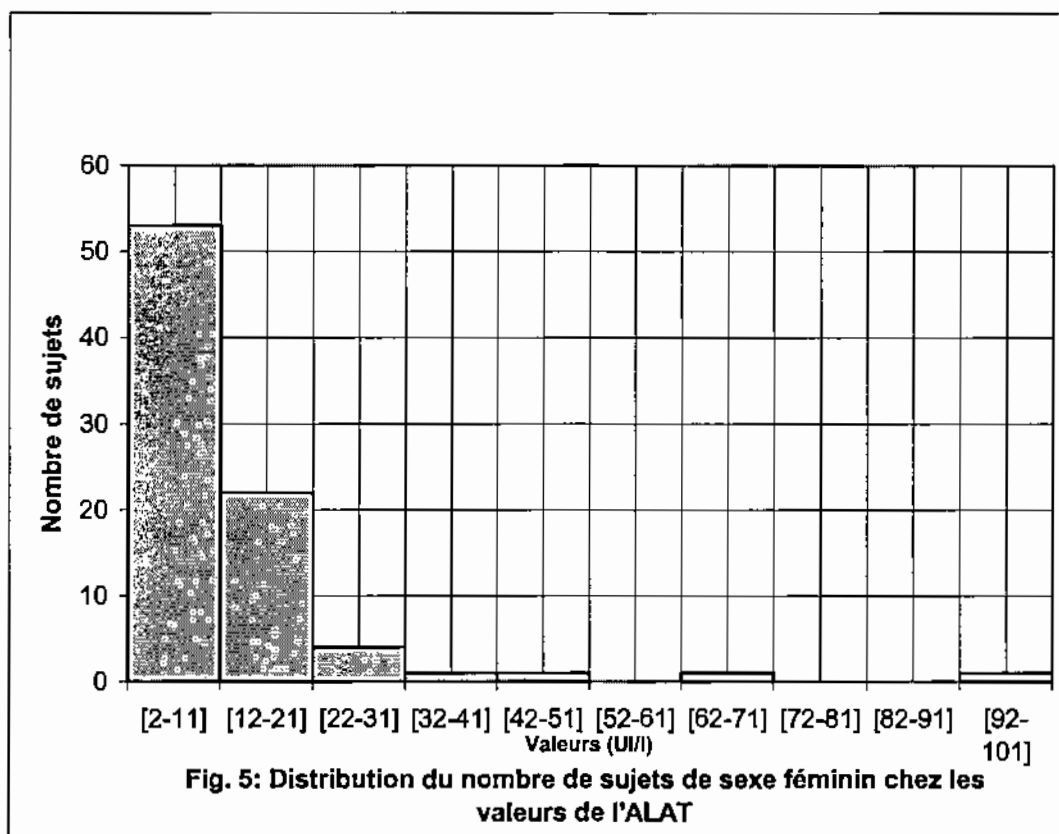
Classes d'âge	Masculin		Féminin		Total
	m	σ	m	σ	
6 mois-5ans	10,48	7,66	15,67	20,72	
n		20		17	37
6-10 ans	13,89	9,29	17,41	15,97	
n		18		19	37
11-15 ans	14,08	9,25	13,65	8,63	
n		22		16	38
16-45 ans	11,75	4,71	10,40	4,85	
n		38		39	77

Dans le sexe féminin l'activité sérique de l'ALAT diminuait significativement avec l'âge ($p= 0,04$). Les taux étaient au contraire comparables en fonction des classes d'âge dans le sexe masculin.

Distribution des valeurs de l'ALAT chez les sujets de sexe masculin

L'observation de la figure montre que la distribution des valeurs de l'ALAT chez les sujets du sexe masculin se fait de façon décroissante. La majorité des sujets ont une transaminasémie entre 2 et 21 UI/l.

En effet un seul sujet a une transaminasémie supérieure à la valeur limite normale du kit utilisé (41 UI/l).

Distribution des valeurs de l'ALAT chez les sujets de sexe féminin

L'observation de la figure montre que la distribution des valeurs de l'ALAT chez les sujets du sexe féminin se fait également de façon décroissante. La majorité des sujets ont une transaminasémie entre 2 et 21 UI/l.

Trois sujets ont présenté des valeurs supérieures à la valeur limite normale du kit utilisé (38 UI/l).

4.2.6- Etude des paramètres de l'hémogramme**Tableau VIII : moyennes des paramètres de l'hémogramme par classes d'âge chez les sujets de sexe masculin.**

Hemog.	6 mois-5 ans (n=20)		6 - 10 ans(n=20)		11 - 15 ans (n=21)		16 - 45 ans (n*=39)		P
	m	σ	m	σ	m	σ	m	σ	
GB ($10^9/l$)	9,65	2,26	7,98	1,45	6,87	1,40	6,14	1,80	$< 10^{-6}$
GR ($10^{12}/l$)	4,65	0,72	4,45	0,35	4,71	0,64	5,12	0,45	7.10^{-5}
Hb(g/dl)	11,36	1,58	11,75	0,89	12,46	1,58	14,26	1,16	$< 10^{-6}$
Hct (%)	35,44	4,80	36,16	2,66	38,35	5,00	43,97	3,33	$< 10^{-6}$
VGM (fl)	76,57	5,44	81,37	4,58	81,47	4,85	86,00	6,69	$< 10^{-6}$
TCMH (pg)	24,58	2,28	26,47	1,67	26,50	2,00	27,96	2,54	6.10^{-6}
CCMH (g/dl)	32,07	0,86	32,52	0,45	32,53	0,70	32,45	0,74	0,13
Plt ($10^9/l$)	357,95	139,37	281,90	81,27	235,66	60,31	237,18	64,14	$< 10^{-6}$
Lym (%)	50,71	10,45	48,08	6,31	46,09	8,22	52,82	11,76	0,006
Lym($10^9/l$)	4,88	2,00	3,84	0,91	3,19	0,96	5,20	2,47	$< 10^{-6}$

Tableau IX: résultats des moyennes des paramètres de l'hémogramme par classe d'âge chez les sujets de sexe féminin.

Hemogr	6 mois-5 ans (n=19)		6-10 ans (n*=19)		11 - 15 ans (n=14)		16 - 45 ans (n*=39)		P
	m	σ	m	σ	m	σ	m	σ	
GB ($10^9/l$)	9,77	3,58	7,53	1,92	7,42	1,50	6,60	1,77	5.10^{-5}
GR ($10^{12}/l$)	4,60	0,62	4,77	1,03	4,51	0,28	4,58	0,48	0,65
Hb(g/dl)	11,60	1,76	12,46	2,09	12,31	0,75	12,67	1,34	0,112
Hct (%)	35,95	5,34	38,31	6,47	37,71	1,98	39,20	3,95	0,107
VGM (fl)	78,18	6,28	80,95	5,65	83,63	5,38	85,77	6,68	2.10^{-4}
TCMH (pg)	25,24	2,36	26,38	2,11	27,30	2,07	27,75	2,62	0,002
CCMH (g/dl)	31,75	2,15	32,53	0,55	32,65	0,46	32,30	0,79	0,10
Plt ($10^9/l$)	312,15	86,38	285,33	74,39	279,64	84,23	262,39	73,68	0,16
Lym (%)	52,82	11,76	46,67	7,87	43,62	10,06	46,02	8,19	4.10^{-6}
Lym($10^9/l$)	5,20	2,47	3,48	0,98	3,25	1,03	3,02	0,89	0,025

A l'analyse des tableaux VIII et IX, il ressort que :

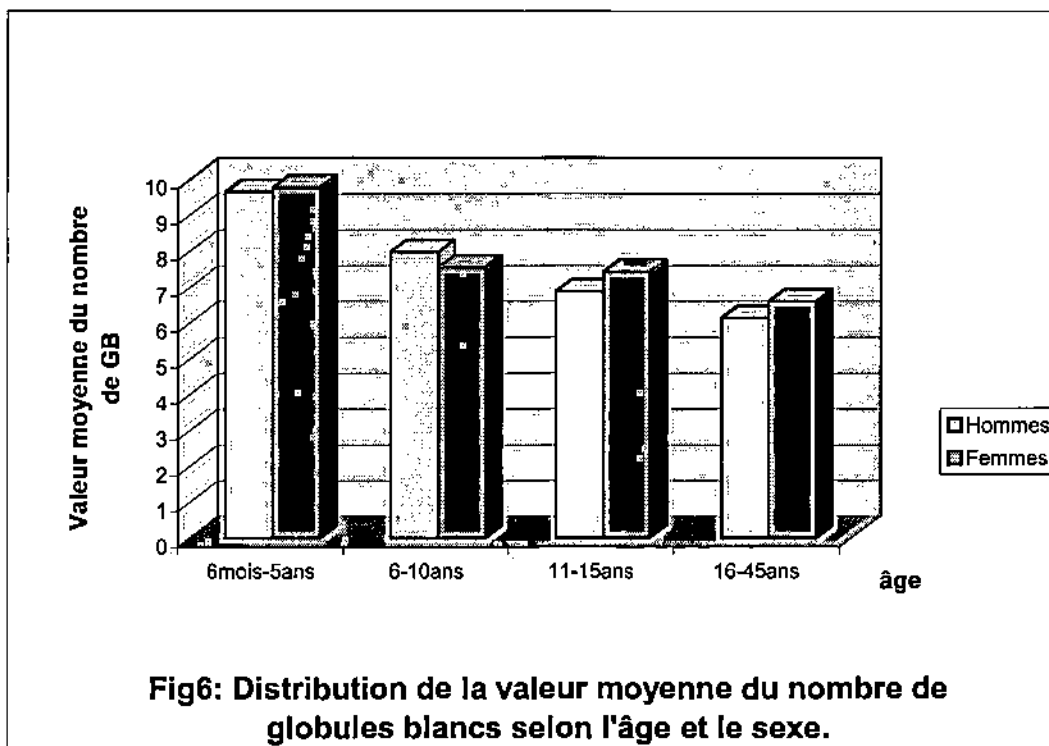
- chez les sujets de sexe masculin, seule pour la CCMH, une différence statistiquement significative n'a pu être trouvée,
- chez les sujets de sexe féminin, une différence statistiquement significative n'a pu être trouvée pour la quasi totalité des paramètres érythrocytaires, et les plaquettes.

Tableau X: résultats des anomalies rencontrées à l'hémogramme chez les sujets dans la population d'étude à Donéguébougou.

Anomalies de l'hémogr.	6 mois-5 ans	6-10 ans	11-15 ans	16-45 ans	Total (%)
Macrocytose isolée	0	0	0	1	1 (0,5%)
Microcytose Isolée	2	8	4	8	22 (11,5%)
Anémie microcytaire	6	10	5	2	23 (12%)
An. microcyt. hypochrome	6	10	5	2	23 (12%)
An. normocyt. normochrome	2	8	3	3	16 (8,3%)
Anémie macrocytaire	0	0	0	1	1 (0,5)
Hyperleucocyt.	1	4	1	4	10 (5,2%)
Leucopénie	0	0	0	0	0
Lymphocytose	1	16	8	8	33 (17,2%)
Lymphopénie	0	0	0	2	2 (1 %)
Thrombocytose	7	0	0	1	8 (4,2%)
Tbrombopénie	2	2	2	5	11 (5,8%)

Profil de la distribution des paramètres de l'hémogramme

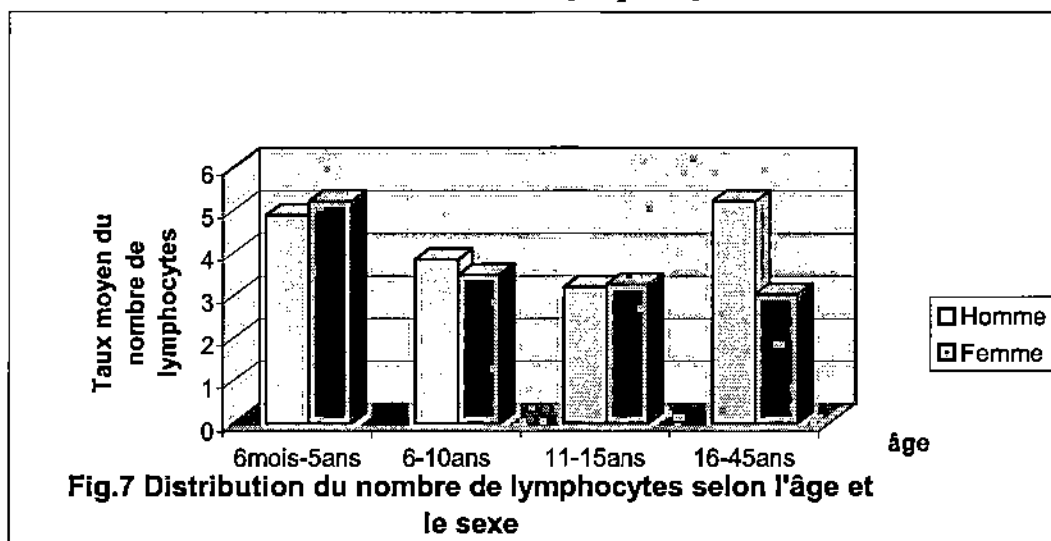
- Distribution de la numération des globules blancs



Le taux moyen de globules blancs diminuait significativement avec l'âge dans les 2 sexes ($p < 10^{-6}$ et $p = 0,00005$ respectivement dans les sexes masculin et féminin).

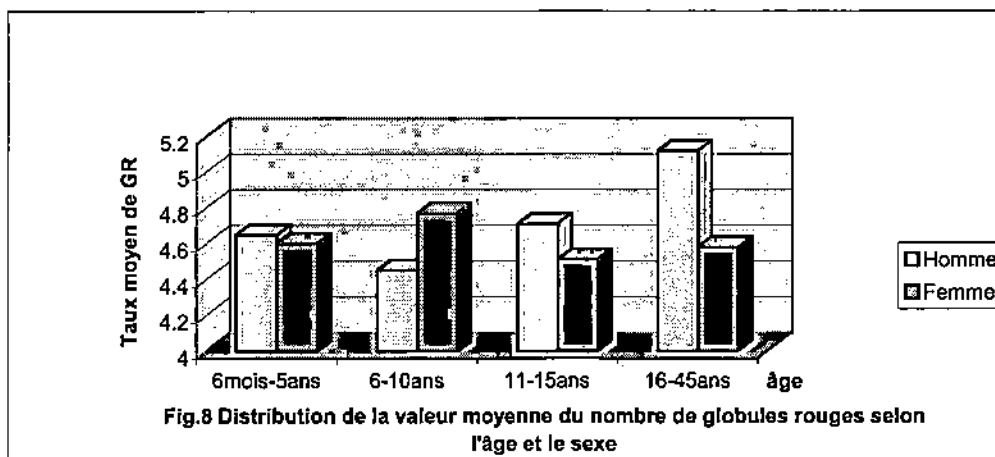
Les taux étaient comparables entre les classes d'âge des deux sexes.

- Distribution de la numération des lymphocytes

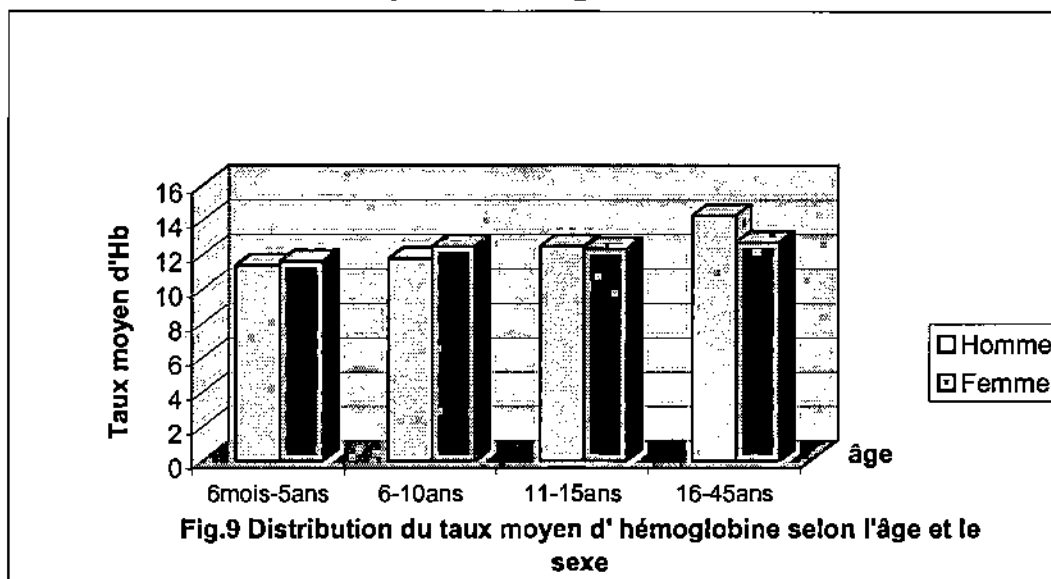


Cette figure nous montre une diminution significative de la lymphocytose chez l'homme de 6 mois à 15 ans pour augmenter à partir de 16 ans ($p < 10^{-6}$). Chez la femme, elle diminuait avec l'âge quelle que soit la tranche d'âge considérée ($p = 0,0004$). Les taux ne variaient pas entre les deux sexes dans les tranches d'âge.

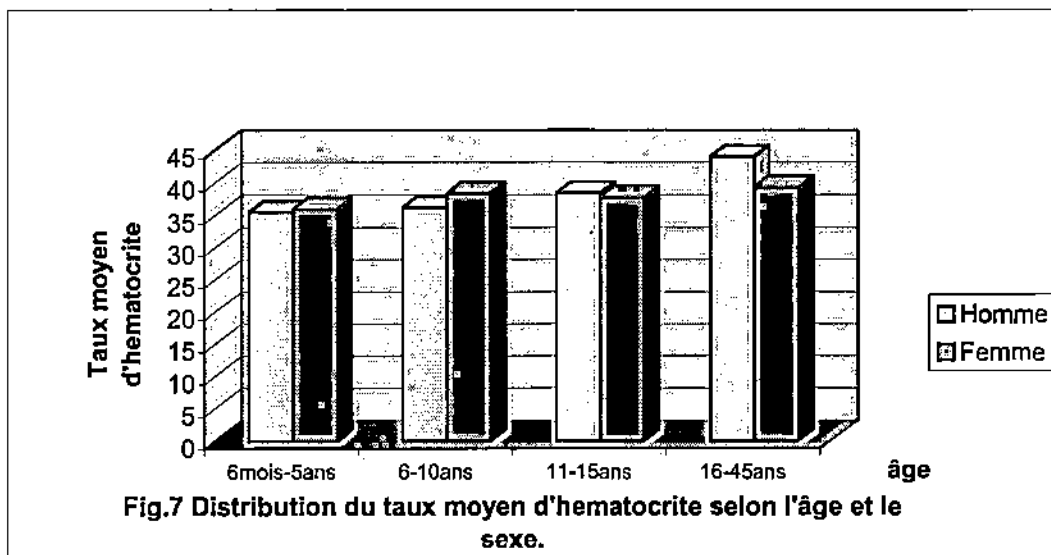
-Distribution de la numération des globules rouges



Le taux moyen de globules rouges diminuait chez les sujets de sexe masculin de 6 mois à 10 ans pour augmenter par la suite ($p < 10^{-6}$). Par contre chez les sujets de sexe féminin, les taux étaient comparables. Le nombre de globules rouges est plus bas chez la femme à partir de 16 ans ($p = 0,000002$).

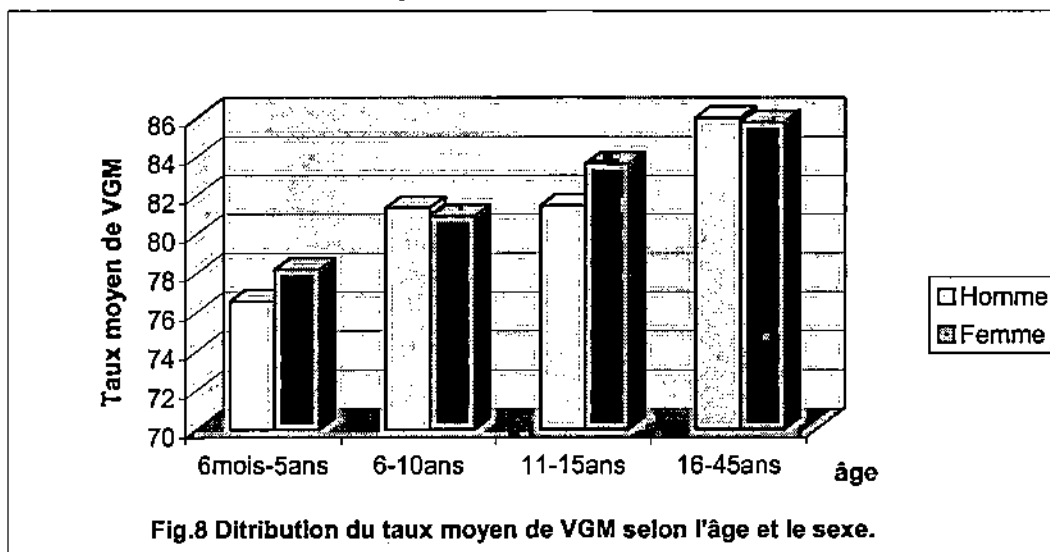
-Distribution du taux moyen d'hémoglobine

L'hémoglobinémie chez les hommes augmentait significativement avec l'âge ($p < 10^{-6}$). Chez les femmes, les taux ne variaient pas ($p = 0,11$). L'hémoglobinémie est plus basse chez la femme par rapport à l'homme à partir de 16 ans ($p < 10^{-6}$).

-Distribution du taux moyen d'hématocrite

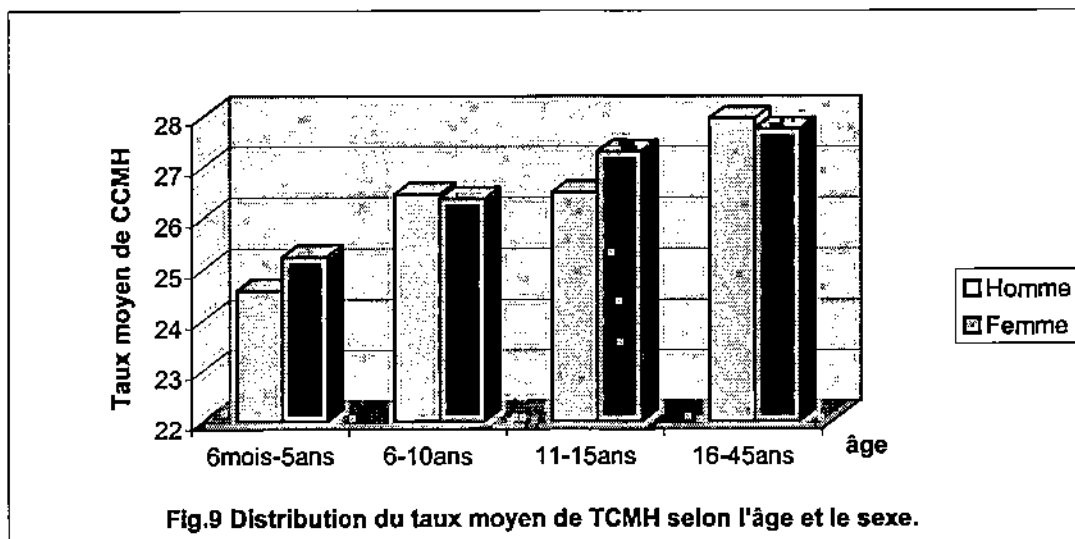
La distribution du taux moyen d'hématocrite montre une augmentation avec l'âge chez l'homme ($p < 10^{-6}$). Les taux étaient comparables dans les classes d'âge du sexe féminin ($p = 0,10$). L'hématocrite est plus élevé chez l'homme que chez la femme dans la tranche d'âge 16-45 ans.

- Distribution du taux moyen de VGM



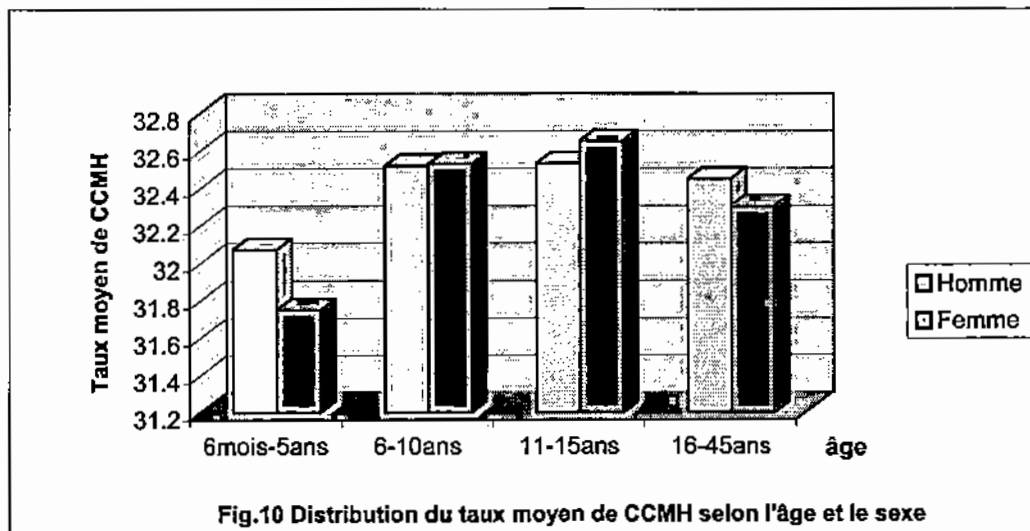
Le taux moyen de VGM augmentait de façon significative par rapport à l'âge chez l'homme ($p < 10^{-6}$) et chez la femme ($p = 0,0004$). Les taux étaient comparables dans les classes d'âge des deux sexes.

- Distribution du taux de TCMH selon l'âge et le sexe



Cette figure nous montre une augmentation significative de la TCMH avec l'âge chez l'homme ($p = 0,000006$) et chez la femme ($p = 0,002$). Aucune différence n'a été observée entre les classes d'âge des deux sexes.

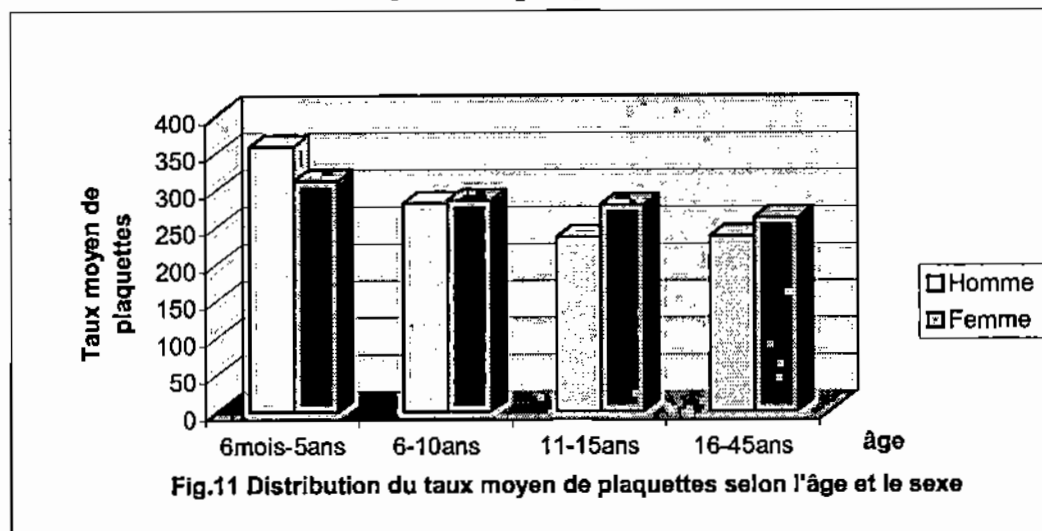
- Distribution du taux moyen de CCMH



Le taux de CCMH ne variait pas avec l'âge aussi bien chez l'homme ($p=0,13$) que chez la femme ($p=0,10$).

Ce taux ne variait pas entre les classes d'âge des deux sexes.

-Distribution du taux moyen des plaquettes



D'après cette figure, le taux moyen de plaquettes diminuait avec l'âge chez l'homme ($p < 10^{-6}$). Par contre cette variation n'est pas statistiquement significative chez la femme ($p = 0,16$).

Les taux de plaquettes étaient comparables entre les deux sexes dans les classes d'âge.

V- COMMENTAIRES ET DISCUSSION

□ Questions méthodologiques

L'échantillonnage

La méthode de la probabilité proportionnelle à la population (PPP) (7) a été appliquée pour recruter nos sujets en considérant comme grappe le ménage dans la concession. Cependant l'inclusion de tous les membres de la famille des ménages sélectionnés de façon aléatoire n'a pas permis d'avoir des taux comparables par classe d'âge. La classe d'âge 16-45 ans a été majoritaire (40,40 %).

La phase analytique

Cette phase se rapporte sur l'analyse des échantillons. En ce qui concerne les tests biochimiques sur le Reflotron Plus®, on a constaté que :

- 54% des sujets d'étude ont eu des valeurs de créatininémie (<44,2 UI/l) non détectables par le Reflotron Plus®,
- la transaminasémie sérique de 1 sujet (< 2,64 UI/l) était inférieure à la limite de détection de l'appareil.

□ Données paludométriques

L'indice plasmodique était variable en fonction de l'âge avec un pic dans la tranche d'âge 6-10 ans. Ce constat a été fait par Yalcouyé (42) en 2001 dans ce village. Comme cet auteur, nous avons trouvé une plus grande fréquence des accès fébriles avant l'âge de 5 ans.

L'indice splénique était comparable dans les classes d'âge.

□ Profil biologique

La phase pré-analytique recouvre la collecte, le transport et la réception des échantillons au laboratoire. Par rapport à cette phase :

- les tests biochimiques n'ont pas été faits chez 9 sujets dont 4 du sexe masculin et 5 du sexe féminin. Ceci s'explique par des cas d'hémolyse au nombre de 8 et un cas de non-prélèvement sanguin.
- les tests hématologiques n'ont pas été faits chez 7 sujets dont 2 du sexe masculin et 5 du sexe féminin. Les raisons de ce constat sont la formation de caillot pour 2 cas, 3 cas d'hémolyse, un cas non prélevé et un cas dont le tube n'a pas été identifié.
- trois sujets ont présenté une fausse thrombopénie (taux de plaquette < $150.10^9/l$).

➤ L'hémogramme

Les globules rouges :

Le nombre de globules rouges dans notre enquête était comparable dans les deux sexes par classes d'âge de 6 mois-5ans ($p=0,814$), 6-10 ans ($p=0,41$), 11-15 ans ($p=0,27$). C'est à partir de la tranche d'âge 16-45 ans qu'apparaît la différence entre les deux sexes avec un taux plus bas chez les femmes ($p=0,000002$). Ce constat a été retrouvé dans plusieurs études (14, 2). Ceci pourrait s'expliquer dans notre étude par le fait qu'avant l'âge de 16 ans, les garçons et les filles ne présentent pas encore de différenciation hormonale très marquée susceptible d'induire des variations biologiques importantes en fonction du sexe (13).

Par rapport au sexe masculin, le nombre de globules rouges diminuait de 6 mois à 10 ans pour augmenter de 11 à 45 ans ($p=0,00007$). Les travaux de Dufer J. et al (1990) (10) ont montré que le nombre de globules rouges chez l'homme augmentait entre la tranche d'âge 4-25 ans pour ensuite diminuer avec l'âge. Par contre aucune différence n'a été observée par classe d'âge dans le sexe féminin ($p=0,65$).

L'hémoglobine.

On constate que l'hémoglobinémie augmente significativement avec l'âge dans notre enquête chez les hommes ($p < 10^{-6}$). Ce résultat a été confirmé par l'institut régional de la santé de France (14) et par une étude américaine NHANES II (Second National Health and Nutrition Examination) portant sur 1454 enfants sains âgés de 1 à 11 ans(45). Chez les sujets de sexe féminin, l'hémoglobinémie ne variait pas significativement avec l'âge ($p = 0,11$).

L'hémoglobinémie plus basse chez la femme par rapport à l'homme a été observée dans notre étude dans la classe d'âge 16-45 ans ($p < 10^{-6}$). Ce constat a été rapporté par l'étude de l'institut Pasteur de Madagascar (2000) (27) portant sur 35 hommes et 32 femmes d'âge compris entre 18 et 45 ans. Ce phénomène très souvent rapporté dans des populations d'origine différente (31, 32) peut s'expliquer par des pertes physiologiques en fer plus importantes chez la femme d'une part, et par une stimulation érythropoïétique d'origine androgénique plus importante chez l'homme d'autre part (13). Bao et al. (2) ont observé cette différence entre les filles et les garçons à partir de la tranche d'âge 12 - 17 ans et appartenant aux deux communautés, blanche et noire.

Nous n'avons pas observé de variation significative du taux d'hémoglobine en fonction des classes d'âge dans le sexe féminin ($p = 0,11$).

Les taux d'hémoglobine de la tranche d'âge 16-45 ans sont comparables à ceux obtenus par l'Institut Pasteur de Madagascar aussi bien chez les hommes ($14,26 \pm 1,03$ g/dl *versus* $14,63 \pm 2,72$ g/dl ; $p = 0,44$) que chez les femmes ($12,67 \pm 1,34$ g/dl *versus* $13,58 \pm 2,09$ g/dl ; $p = 0,08$).

Plusieurs auteurs rapportent que l'hémoglobine présente des faibles valeurs dans les populations de race noire (31, 9) ; nous avons retrouvé ce phénomène dans notre étude par rapport aux résultats d'une étude menée aux Etats-Unis par Reed et al. (28) portant sur 166 sujets adultes de race blanche. Les taux moyens d'hémoglobine étaient en effet inférieurs chez les hommes ($14,26 \pm 1,16$ g/dl *versus* $15,26 \pm 1,03$ g/dl ; $p < 10^{-6}$) et chez les femmes ($12,67 \pm 1,34$ g/dl *versus* $13,53 \pm 0,97$ g/dl ; $p < 10^{-6}$).

Tous les cas d'anémie microcytaire dans notre étude étaient hypochromes avec une fréquence de 12%. L'anémie normocytaire normochrome a été rencontrée dans 8,3% des cas.

L'anémie macrocytaire n'a été rencontrée que dans 0,5% des cas.

L'hématocrite

Le taux d'hématocrite augmentait significativement avec l'âge chez les sujets de sexe masculin ($p < 10^{-6}$) alors qu'ils étaient comparables en fonction de l'âge dans le sexe féminin.

La comparaison du taux d'hématocrite selon le sexe a montré que les femmes présentent un taux plus bas à partir de 16 ans ($p < 10^{-6}$). Cette observation faite par plusieurs auteurs (27, 31, 32) serait due à des différences hormonales entre les deux sexes à l'âge de la puberté (13).

Le taux d'hématocrite de la classe d'âge 16-45 ans des femmes est comparable à celui rapporté par l'Institut Pasteur de Madagascar ($39,20 \% \pm 3,95$ *versus* $40,6 \% \pm 67$). Par contre le taux rapporté chez les hommes, était supérieur à celui observé au cours de notre enquête ($46,6 \% \pm 4,9$ *versus* $43,97 \% \pm 3,33$; $p = 0,007$).

Les constantes érythrocytaires

Dans notre enquête le taux de VGM augmentait de façon significative avec l'âge chez les hommes ($p < 10^{-6}$) et les femmes ($p = 0,0002$). Ces résultats rejoignent la littérature (14, 34).

Les taux de VGM selon le sexe étaient comparables à ceux obtenus par l'Institut Pasteur de Madagascar (27) pour la même tranche d'âge (18-45 ans) aussi bien pour les hommes ($86,00 \pm 6,69$ fl *versus* $87,4 \pm 11,4$ fl) que pour les femmes ($85,77 \pm 6,68$ fl *versus* $86,4 \pm 11,6$ fl).

La CCMH augmentait avec l'âge chez les hommes jusqu'à 15 ans pour diminuer ensuite ($p=0,008$). Par contre les taux moyens étaient comparables chez les femmes ($p=0,13$). Les taux étaient comparables dans la classe d'âge 16-45 ans des deux sexes, ce qui est contradictoire aux données de l'institut régional de la santé de France (14).

Les taux moyens du TCMH dans notre étude augmentaient significativement avec l'âge au niveau des deux sexes.

Les leucocytes

Les résultats de cette étude ont montré une diminution significative de la leucocytose totale avec l'âge chez les hommes ($p<10^{-6}$) et les femmes ($p=0,00005$). Une telle diminution a été déjà rapportée par Cranendonk et al. (6) dans une étude portant sur 1216 sujets âgés de 0 à 16 ans. L'étude de Bao et al. (2) a aussi confirmé la diminution de la leucocytose totale avec l'âge chez les sujets de race blanche et noire.

Aucune différence statistiquement significative de la leucocytose n'a été observée en fonction du sexe dans la classe d'âge 16-45 ans ($p=0,25$). Les différentes études réalisées sur cette variable dans différentes populations de plus de 15 ans donnent des résultats contradictoires (14, 36).

Dans notre étude, l'hyperleucocytose s'observait chez 4% des sujets alors qu'aucun cas de leucopénie n'a été constaté.

Les lymphocytes

La lymphocytose diminuait significativement avec l'âge chez les hommes ($p<10^{-6}$) et les femmes ($p=0,0004$). Tarrallo P. et al. (1990) (35) ont rapporté cette variation de la lymphocytose par rapport à l'âge à propos des sujets âgés de 4 à 65 ans. Des résultats similaires (2, 24) ont été rapportés par comparabilité des taux des lymphocytes en fonction de l'âge et du sexe (14). La lymphocytose a été observée chez 17,2% des sujets et la lymphopénie chez 1% de la population d'étude.

Les plaquettes

Notre enquête nous avons observé une diminution significative du taux de plaquettes avec l'âge chez les sujets du sexe masculin ($p<10^{-6}$). Ce résultat confirme l'étude de Bao et al. (2). Alors que les taux étaient comparables chez les sujets de sexe féminin, ($p=0,16$).

Les taux de plaquettes étaient comparables en fonction du sexe dans la classe d'âge 16-45 ans ($p=0,07$). Les différentes études réalisées selon les populations donnent des résultats contradictoires (14). Pour cette classe d'âge, les taux sont comparables à ceux obtenus par l'Institut Pasteur de

Madagascar (27) pour les hommes ($237,18 \pm 64,14.10^9/l$ versus $249 \pm 40.10^9/l$; $p = 0,35$) et pour les femmes ($262,39 \pm 73,68.10^9/l$ versus $275 \pm 31.10^9/l$; $p = 0,36$).

Dans cette enquête, 4,2% des sujets avaient une thrombocytose et 5,8% une thrombopénie.

➤ La créatinine

Dans notre étude, la limite de détection de l'appareil utilisé (Reflotron ®) pour les valeurs inférieures à $44,2 \mu\text{mol/l}$ ne permettait pas d'établir les taux moyens de créatininémie sérique.

En effet 50 % des hommes ont des valeurs non détectables ($< 44,2 \mu\text{mol/l}$) et 55,21 % des femmes ont une créatininémie $< 44,2 \mu\text{mol/l}$. Dans les 2 sexes, les taux étaient en dessous de la limite de détection, avant l'âge de 6 ans. Les valeurs extrêmes de la créatininémie étaient de $98,80 \mu\text{mol/l}$ et $86,60 \mu\text{mol/l}$, respectivement dans les sexes masculin et féminin.

Les valeurs supérieures au norme du kit utilisé ont été observée chez 2 sujets de la tranche d'âge 16-45 ans dont un homme ($98,80 \text{ UI/l}$) et une femme ($86,60 \mu\text{mol/l}$).

Le nombre d'individus dont la créatininémie sérique n'a pas été détectée diminuait significativement avec l'âge aussi bien chez les hommes que chez les femmes.

Ce constat permet d'observer une augmentation significative de la créatininémie sérique avec l'âge. Ces observations renforcent les résultats établis par Bensadoun et al. (4) et de Yapo et al. (44) portant sur 184 enfants ivoiriens âgés de 0 à 15 ans.

Cette activité sérique de la créatinine par rapport à l'âge s'expliquerait par l'importance de l'activité physique de l'adulte et de la masse musculaire (8).

➤ L'Alanine aminotransférase (ALAT)

Les taux moyens de l'ALAT étaient dans les normes du fabricant utilisé dans les deux sexes. Chez les hommes un sujet avait une valeur supérieure à la norme ($43,60 \text{ UI/l}$) alors que chez les femmes 3 sujets ($44,60$; $68,50$ et $92,80 \text{ UI/l}$) tous appartenant à la tranche d'âge 16-45 ans.

Les taux de l'ALAT étaient comparables en fonction du sexe masculin quel que soit l'âge.

Chez les sujets de sexe féminin, le taux était significativement plus élevé chez les enfants (6mois-15 ans) par rapport aux adultes ($p=0,04$).

Tembely (2002) a observé chez les donneurs de sang au Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) de Bamako que les transaminases et l'âge

n'étaient aucunement liés (37). Cependant, certains auteurs avaient trouvé une valeur plus élevée de l'ALAT entre 25 et 35 ans (33).

Dans notre étude ces résultats s'expliqueraient en partie par le faible effectif de notre échantillon d'étude et l'absence des personnes âgées. En effet c'est surtout chez ces derniers qu'on constate une variation des transaminases par rapport aux adultes.

La distribution des valeurs de l'ALAT suivant les sujets décrivait une courbe décroissante de type logarithmique pour laquelle 80-90 % des valeurs étaient comprises entre 2 et 21 UI/l.

VI- CONCLUSION

Au terme de cette étude nous pouvons conclure que :

- Les résultats observés et surtout la conformité des conditions de travail aux normes internationales montrent que le MRTC possède désormais un laboratoire de biologie clinique répondant aux normes internationales de BPL pour conduire des essais vaccinaux contre le paludisme avec un personnel formé en matière de biosécurité, d'assurance et de contrôle de qualité,

- L'indice splénique était comparable selon les classes d'âge. L'indice plasmodique était plus élevé dans la classe d'âge 6-10 ans (51,28%). La fréquence des cas de fièvre diminuait avec l'âge avec un pic se situant dans la tranche d'âge 6 mois-5 ans (36,58%),

- La distribution des paramètres de l'hémogramme était différente en fonction des classes d'âge dans la population de Donéguébougou. Cette différence entre les sexes qui concernait surtout la lignée rouge était observée à partir de 16 ans. Le nombre de globules rouges, le taux d'hémoglobine et d'hématocrite étaient en effet plus faible dans le sexe féminin,

- Les anomalies de l'hémogramme étaient fréquentes dans cette population. Ces anomalies concernaient toutes les cellules du sang et parmi elles la lymphocytose (17,2%) et l'anémie microcytaire hypochrome (12 %) étaient les plus fréquentes,

- Le taux sérique de la créatinine qui était différent selon les classes d'âge dans la population de Donéguébougou, augmentait avec l'âge,

- L'activité sérique de l'ALAT ne variait pas dans les classes d'âge des sujets du sexe masculin. Cette activité était plus élevée chez les sujets de 6 mois-15 ans que chez les adultes (16-45 ans) dans le sexe féminin ($p=0,04$). En revanche cette activité n'était pas statistiquement significative en fonction des classes d'âge des deux sexes.

Une forte proportion de nos sujets d'étude (80-90 %) ont une transaminasémie comprise entre 2 et 21 UI/l.

VII- RECOMMANDATIONS

Au regard de ces résultats certaines recommandations s'imposent :

- ❖ Communiquer les résultats aux autorités régionales et nationales,
- ❖ Poursuivre cette surveillance pour étudier la saisonnalité de la variation de ces paramètres biologiques dans la population de Donéguébougou,
- ❖ Effectuer une étude similaire sur un plus grand nombre de sujets,
- ❖ Mettre à la disposition du laboratoire de biologie clinique du MMVDU un appareil de dosage de la créatinine ayant une sensibilité plus élevée que le Reflotron Plus,
- ❖ Aux autorités sanitaires et politiques :
 - Instaurer les BPL dans les laboratoires d'analyse des hôpitaux par la formation du personnel,
 - Inclure le module sur les bonnes pratiques cliniques et de laboratoire dans le programme d'enseignement de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie (FMPOS).

VIII- BIBLIOGRAPHIE

- 1- Arrêté du 2 novembre 1994 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale.** NOR : SPSP9403408A
- 2- BAO W, DALFERES ER, SRINIVASAN SR, WEBBER LS, BERENSON GS.** Normative distribution of complete blood count from early childhood through adolescence : the Bogalusa Heart Study. *Pre Med* 1993 ; 22 :825-37.
- 3- BASCO L K, RUGGERI C & LE BRAS J** In: Molécules antipaludiques. Mécanismes d'action, mécanismes de résistance, relations structure-activité des schizonticides sanguins. (MASSON, ed.). *Paris, Milan, Barcelone, 1994, 364 p.*
- 4- BENSADOUN G, RAVINET L, LUCCIONI F.** Bilan lipidique : valeurs moyennes chez l'ivoirien. Etude effectuée sur 1368 personnes.
Méd Afr Noire, 1983 ; 30 : 453-7
- 5- BERNARD J, LEVY JP, VARET B, CLAUVEL JP, RAIN JD, SULTAN Y.** Hématologie, 8éd. Paris : Masson, 1996.
- 6- CRANENDONK E, VAN GENNIP AH, ABELING NGGM, BEHRENDT H.** References values for automated cytochemical differential count of leucocytes in children 0-16 years old : comparison with manually obtained counts from wright-stained smears. *J Clin Chem Clin Biochem* 1985 ; 23 :663-7.
- 7- DAVIS, F, BREMAN, JG, ROISIN, A J & HABA, F.** Monitoring selective components of primary health care : methodology and community assessment of vaccination, diarrhoea, and malaria practices in Conakry, Guinea. ACSI-CCCD team. *Bull.world Health Organ* 1989 ; 67 : 675-684.
- 8- DIA C O**
Détermination des valeurs fréquentes de la créatininémie d'une population de référence.
Thèse de Doctorat Pharm. 1989, 43, 127 p.

9- DREYFUS. Anémies : données biologiques utiles au diagnostic. Dans: Breton-Gorius J, Reyes F, Rochant H, Rosa J, Vernant JP. L'hématologie de Bernard Drefus. Paris : *Medecine-sciences Flammarion*, 1992 :291-294.

10-D UFFER J. Hémogramme : érythrocytes, hémoglobine, volume globulaire moyen, hémocrite. Dans: *Siest G, Henry J, Schiele F, éditeurs. Références en biologie clinique. Paris : Elsevier ; 1990. p. 43-56.*

11- ENGLAND JM, BAIN BJ. Total and differential leucocyte count. *Br J Haematol* 1976 ; **33** :1

12- ESCALENT AA et al. Polymorphism in the gene encoding the apical membrane antigen (AMA-1) of *Plasmodium falciparum*. X. Asembo Bay Cohort Project. *Mol Biochem Parasitol* 2001;**113** :279-87.

13- GONZALEZ SILVA M, BERNARD DM, GABEZON I. Hematologic values and iron levels in a rural student population. *Sangre* 1994 ; **39** : 309-404.

14- Institut Régional pour la Santé. Hématologie. La Riche : ISRA, Département Statistiques et Epidémiologie ; 1991.

15- J. BASSIMBLIE, R CABANNES, A SANGARE, D TEA. Normes hématologiques de l'enfant africain vivant en milieu tropical africain.

Med Afr, noire 90.

16- KAMATE B. Effets du niveau de transmission et de l'âge sur l'incidence du paludisme simple à Sotuba et Donéguébougou. *Thèse Médecine 2002, FMPOS.*

17- KAYENTAO K. Epidémiologie du paludisme et évaluation du traitement de l'accès palustre simple à la chloroquine dans le village de Donéguébougou. *Thèse de Médecine, Bamako, 1997.*

18- KOITA O. Evaluation épidémiologique du paludisme le long du tronçon de la route trans-saharienne du Mali. *Thèse de Pharmacie, Bamako, 1988 ; N°26.*

19- PIERRE VALDIGUIE.

Biochimie clinique, *Collection Biologie Médicale*, 1993.

20- POTRON G, CULIOLI-PICKEL B, BECHAR C, DROULE C, NGUVEN P, ADZIZIAN JC. Automatisation en hématologie. *Encycl Med chir (Paris-France). Sang*, 13000 B 10,7 – 1990, 19p.

21 -Note d'information n°666 DGS/DH/DRT du 28 octobre 1996, abrogée par la **circulaire DGS/DH/DRT n°98-228 du 9 avril 1998**.

22- OMS. Stratégie mondiale de lutte antipaludique. Genève 1992.

23- Ordonnance sur les bonnes pratiques de laboratoire du 2 février 2000 (Etat le 18 décembre 2001) du Département fédéral de l'intérieur de la Suisse.

24- PANARO A, AMATI A, DI LORETI M, FELLE R, FERRANTE M, PAPADIA AM et al. Lymphocytes subpopulations in pediatric age. Definition of reference values by flow cytometry. *Allergol Immunopathol (Madr)* 1991 ; 19 :109-12.

25- QUARANTA JF, PESCE A, CASSUTO JP. *L'hémogramme*, Paris : Masson, 1990.

26- THOMAS A W, WATERS, AP & CARR, D. Analysis of variation in PF83, an erythrocytic merozoite vaccine candidate antigen of *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol* 1990, 42:285-7.

27- RAKOTO ALSON O, RATSITORAHINA M, PFISTER P, LAGANIER R, DROMIGNY JA. Estimation des valeurs normales de l'hémogramme à Madagascar. *Arch Institut Pasteur de Madagascar* 2000 ; 66 (1&2) :68-71.

28- REED WW, DIEHL LF. Leukopenia, neutropenia, and reduced hemoglobin levels in healthy american blacks. *Arch Intern Med* 1991 ; 151 :2181-4.

29- REMY AJ et LARREY D. Exploration biologique hépatique. *Encycl Méd Chir.* (Elsevier, Paris), Hépatologie, 7007.B.10, 1997, 4p.

- 30- ROBINSON D, WHITEHEAD TP.** Effect of body mass and others factors on serum liver enzyme levels in men attending for well population screening. *Ann Clin Biochem* 1989 ; 26 :393-400.
- 31- SAXENA S, WONG ET.** Heterogeneity of common hematologic parameters among racial, ethnic, and gender subgroups. *Arch Path Lab Med* 1990 ;114 :175-719.
- 32- SHIGA S, KOYANAGI I, KANNAGI R.** Clinical reference values for laboratory hematology tests calculated using the iterative truncation method with correction : Part 1.
Reference values for erythrocyte count, hemoglobin quantity, hematocrit and other erythrocyte parameters including MCV, MCH, MCHC and RDW. *Rinsho Byori* 1990 ; 38 :93-103.
- 33- SHERMAN KE.** Alanine aminotransferase in clinical practice. *A review in Arch Intern Med* 1991 ; 151 :260-5.
- 34- Société française d'hématologie, Collège des Hématologistes français.** Diagnostic, pronostic, traitement et surveillance des polyglobulies. Conférence de consensus, 21 juin 1993. *Paris : ANDEM ; 1993.*
- 35- TARALLO P.** Leucocytes totaux et formule leucocytaire. *In : Siest G, Henny J, Schiele F, éditeur. References en biologie clinique. Paris : Elsevier ; 1990.p.369-83.*
- 36- TARALLO P.** Plaquettes (numération).*In : Siest G, Henny J, Schiele F, éditeur. References en biologie clinique. Paris : Elsevier ; 1990.p.473-83.*
- 37- TEMBELY K.** Les transaminases chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako.
Thèse Pharmacie 2002, FMPOS
- 38- TRAORE A M**
Analyse de la situation du paludisme au MALI et les stratégies de prise en charge des formes graves et compliquées dans le service de Pédiatrie de l'hôpital National Gabriel Touré.
Thèse de Médecine, Bamako, 2001

- 39- **UNDP/WORLD BANK/WHO** Special programme for research and Training in Tropical Diseases (TDR). TDR Twelfth Program report. 1997, 57-76.
- 40- **VINCENT-VIRY M.** Alanine aminotransferase. In : **Siest J ; Schiele S.** *Références en biologie clinique.* Paris, Elsevier Eds, 1990 , 77-92.
- 41- **WEIL J H.** Biochimie générale. Paris : Masson, 1970, 1994.
- 42- **WERNSDORFER W H.** (1991). The development and spread of drug-resistant malaria. *Parasitol Today*, 1991 ; 7: 297-303.
- 43- **YALCOUE D.** L'anémie associée à l'infection palustre dans une population de 0 à 20 ans en zone périurbaine et rurale au Mali.
Thèse Pharmacie 2000, FMPOS
- 44- **YAPO A E** et all. Profil biochimique de référence normal de l'enfant ivoirien de 0 à 15 ans. *Med Af Noire* 1999 ; 46(1).
- 45- **YIP R, JOHNSON C, DALLMAN PR.** Age-related changes in laboratory values used in the diagnosis of anemia and iron deficiency.
Am J Clin Nutr 1984 ; 39 :427-36.

ANNEXES



325 Waukegan Road
Northfield, Illinois 60093-2750

Advancing Excellence

2 0 0 3

EXCEL Evaluation
XL-A 2003

E V A L U A T I O N

PAGE 1 OF 5

KIT ID: 16257745

KIT MAILED: 02/10/2003

ORIGINAL EVALUATION: 04/16/2003 10:35

SHIPMENT: 2003 XLA
CAP NUMBER: 7179396-01 KIT# 1
INSTITUTION: C/O AMERICAN EMBASSY
ATTENTION: RICHARD SAKAI PHD
CITY/STATE: BAMAKO

SPECIAL HANDLING REASON
International Address

COPIED TO:

CAP
DIEMERT

The next Hematology/Urinalysis and Clinical Microscopy/Coagulation/Transfusion Medicine Survey, 2003 XL-D, is scheduled to ship on May 5.

C/O AMERICAN EMBASSY
RICHARD SAKAI PHD
FACULTY OF MEDICINE PHARMACY
AND ODONTO-STOMATOLOGY/ POINT G
BAMAKO
MALI

0001 00465

2003



325 Waukegan Road
Northfield, Illinois 60093-2750

Advancing Excellence

SHIPMENT: 2003 XLA
CAP NUMBER: 7179396-01 KIT# 1
INSTITUTION: C/O AMERICAN EMBASSY
ATTENTION: RICHARD SAKAI PHD
CITY/STATE: BAMAKO

EXCEL Evaluation
XL-A 2003

EVALUATION

PAGE 2 OF 5
KIT ID: 16257745
KIT MAILED: 02/10/2003
ORIGINAL EVALUATION: 04/16/2003 10:35

TEST UNIT OF MEASURE YOUR REPORTED METHOD	EVALUATION AND COMPARATIVE-METHOD STATISTICS								PLOTS OF THE RELATIVE DISTANCE OF YOUR RESULTS FROM TARGETS AS PERCENTAGES OF ALLOWED DEVIATION									
	GRADED AGAINST METHOD COMPARATIVE METHOD (If Applicable)	SPECIMEN	YOUR RESULT	MEAN	SD	NUMBER OF LABS	SDI	LIMITS OF ACCPABILITY LOWER UPPER		-100=LOWER LIMIT	0=TARGET	100=UPPER LIMIT	TEST EVENT	-100	-50	0	50	100
Hemoglobin g/dL COULTER ACT 8/10	FH2-01	15.9	15.85	0.31	76	+0.2	14.7	17.0										
	FH2-02	5.5	5.77	0.14	76	-1.9	5.3	8.2	XL-A 2003				1	-1	-2			
	FH2-03	8.3	8.37	0.19	78	-0.4	7.7	9.0										
	FH2-04	12.3	12.36	0.27	78	-0.2	11.4	13.3										
	FH2-05	14.2	14.45	0.33	78	-0.8	13.4	15.5	XL-G 2002	2	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematocrit % COULTER ACT 8/10	FH2-01	46.0	44.96	1.27	76	+0.8	42.2	47.7										
	FH2-02	16.1	16.24	0.46	76	-0.3	15.2	17.3	XL-A 2003				2	-1	-	-	-	-
	FH2-03	23.6	23.56	0.59	76	+0.1	22.1	25.0										
	FH2-04	35.3	33.95	0.87	76	+1.6	31.9	36.0										
	FH2-05	40.8	41.19	0.94	76	-0.4	38.7	43.7	XL-G 2002				1	-1	-1	-1		
White Blood Cell Count x 10E9/L COULTER ACT 8/10	FH2-01	17.0	16.97	0.41	77	+1.1	14.0	19.1										
	FH2-02	2.9	3.03	0.11	78	-1.2	2.5	3.5	XL-A 2003				1	-12	-1			
	FH2-03	8.0	7.97	0.21	77	+0.1	6.7	9.2										
	FH2-04	19.7	19.60	0.51	78	+0.2	16.6	22.6										
	FH2-05	5.4	5.46	0.15	78	-0.4	4.6	6.3	XL-G 2002				1	-	-	-	-	-
Red Blood Cell Count x 10E12/L COULTER ACT 8/10	FH2-01	5.64	5.474	0.141	77	+1.2	5.14	5.81										
	FH2-02	2.57	2.560	0.073	76	+0.1	2.40	2.72	XL-A 2003				11	-1	-	-	-	-
	FH2-03	3.16	3.108	0.079	77	+0.7	2.92	3.30										
	FH2-04	4.36	4.149	0.111	78	+1.9	3.90	4.40										
	FH2-05	5.04	5.029	0.119	78	+0.1	4.72	5.34	XL-G 2002				2	-	-	-	-	-
Platelet Count x 10E9/L COULTER ACT 8/10	FH2-01	363	333.8	16.4	78	+1.8	250	418										
	FH2-02	227	216.3	12.5	77	+0.9	162	271	XL-A 2003				1	-	-	-	-	-
	FH2-03	82	78.1	5.0	76	+0.8	58	98										
	FH2-04	544	508.9	20.7	78	+1.7	381	637										
	FH2-05	282	278.5	12.7	78	+0.3	208	349	XL-G 2002				2	-	-	-	-	-



325 Waukegan Road
Northfield, Illinois 60093-2750

Advancing Excellence

2003

EXCEL Evaluation
XL-A 2003

PAGE 3 OF 5

KIT ID: 16257745

KIT MAILED: 02/10/2003

ORIGINAL EVALUATION: 04/16/2003 10:35

SHIPMENT: 2003 XLA
CAP NUMBER: 7179396-01 KIT# 1
INSTITUTION: C/D AMERICAN EMBASSY
ATTENTION: RICHARD SAKAI PHD
CITY/STATE: BAMAKO

EVALUATION

TEST UNIT OF MEASURE YOUR REPORTED METHOD	EVALUATION AND COMPARATIVE-METHOD STATISTICS								PLOTS OF THE RELATIVE DISTANCE OF YOUR RESULTS FROM TARGETS AS PERCENTAGES OF ALLOWED DEVIATION				
	GRADED AGAINST METHOD COMPARATIVE METHOD (If Applicable)	SPECIMEN	YOUR RESULT	MEAN	SD	NUMBER OF LABS	SDI	LIMITS OF ACCPTABILITY LOWER UPPER		-100=LOWER LIMIT	0=TARGET	100=UPPER LIMIT	TEST EVENT
MCV fL COULTER ACT 8/10		FH2-01	81.5[30]	82.23	0.74	74	-1.0						
		FH2-02	82.4[30]	83.39	0.72	74	-1.4						
		FH2-03	74.8[30]	75.84	0.76	74	-1.4						
		FH2-04	81.0[30]	81.83	0.60	73	-1.4						
		FH2-05	81.0[30]	81.98	0.62	75	-1.6						
Lymphocytes % COULTER ACT 8/10		FH2-01	19.9	20.00	0.61	59	-0.2	18.1	21.9				
		FH2-02	29.9	32.63	1.30	59	-2.1	28.7	36.6	XL-A 2003			
		FH2-03	25.8	26.09	0.85	57	-0.3	23.5	28.7				
		FH2-04	12.3	12.75	0.78	59	-0.6	10.4	15.1				
		FH2-05	37.7	38.34	1.23	59	-0.5	34.6	42.1	XL-G 2002		1-13	



325 Waukegan Road
Northfield, Illinois 60093-2750

Advancing Excellence

2003

EXCEL Evaluation
XL-A 2003

EVALUATION

SHIPMENT: 2003 XLA
CAP NUMBER: 7179396-01 KIT# 1
INSTITUTION: C/O AMERICAN EMBASSY
ATTENTION: RICHARD SAKAI PHD
CITY/STATE: BAMAKO

PAGE 4 OF 5
KIT ID: 16257745
KIT MAILED: 02/10/2003
ORIGINAL EVALUATION: 04/16/2003 10:35

EXCEPTION REASON CODES APPEARING IN THIS EVALUATION :

[30] Scientific committee decision.

0001 00468



2003

EXCEL Evaluation
XL-A 2003

EVALUATION

SHIPMENT: 2003 XLA
CAP NUMBER: 7179396-01 KIT# 1
INSTITUTION: C/O AMERICAN EMBASSY
ATTENTION: RICHARD SAKAI PHD
CITY/STATE: BAMAKO

PAGE 5 OF 5
KIT ID: 16257745
KIT MAILED: 02/10/2003
ORIGINAL EVALUATION: 04/16/2003 10:35

CAP					
REFERENCE#: 7179396			SUBSPECIALTY: Hematology		
	PROFICIENCY EVENT 2002 2	PROFICIENCY EVENT 2002 3	PROFICIENCY EVENT 2003 1		
	SUMMARY OF YOUR RESPONSES		SUMMARY OF YOUR RESPONSES		CUMULATIVE CLIA '88
REGULATED ANALYTE	TEST EVENT ACCEPT TOTAL %	TEST EVENT ACCEPT TOTAL %	TEST EVENT ACCEPT TOTAL %	CURRENT EVENT PERFORMANCE INTERPRETATION	PERFORMANCE INTERPRETATION
Cell ID/Flow Differential		XLG 5 5 100	XLA 5 5 100	Satisfactory	Successful
Erythrocyte Count		XLG 5 5 100	XLA 5 5 100	Satisfactory	Successful
Hematocrit		XLG 5 5 100	XLA 5 5 100	Satisfactory	Successful
Hemoglobin		XLG 5 5 100	XLA 5 5 100	Satisfactory	Successful
Leukocyte Count		XLG 5 5 100	XLA 5 5 100	Satisfactory	Successful
Platelet Count		XLG 5 5 100	XLA 5 5 100	Satisfactory	Successful
Hematology		30 30 100	30 30 100	Satisfactory	Successful

CHECKED BY.....

DATE.....

0001 00469



325 Waukegan Road
Northfield, Illinois 60093-2750

Advancing Excellence

2 0 0 3

XL CHEMISTRY
XL-B 2003

E V A L U A T I O N

SHIPMENT: 2003 XLB
CAP NUMBER: 7179396-01 KIT# 1
INSTITUTION: C/O AMERICAN EMBASSY
ATTENTION: RICHARD SAKAI PHD
CITY/STATE: BAMAKO

PAGE 1 OF 4
KIT ID: 16257770
KIT MAILED: 03/17/2003
ORIGINAL EVALUATION: 05/05/2003 16:51

SPECIAL HANDLING REASON
International Address

COPIED TO:

CAP
DIEMERT

The next Chemistry Survey, 2003 XL-E, is scheduled to ship on June 16.

C/O AMERICAN EMBASSY
RICHARD SAKAI PHD
FACULTY OF MEDICINE PHARMACY
AND ODONTO-STOMATOLOGY/ POINT G
BAMAKO
MALI

0001 00240



325 Waukegan Road
Northfield, Illinois 60093-2750

Advancing Excellence

2003

XL CHEMISTRY
XL-B 2003

EVALUATION

SHIPMENT: 2003 XLB
CAP NUMBER: 7179396-01 KIT# 1
INSTITUTION: C/O AMERICAN EMBASSY
ATTENTION: RICHARD SAKAI PHD
CITY/STATE: BAMAKO

PAGE 4 OF 4
KIT ID: 16257770
KIT MAILED: 03/17/2003
ORIGINAL EVALUATION: 05/05/2003 16:51

CAP															
REFERENCE#: 7179396			SUBSPECIALTY: Routine Chemistry												
REGULATED ANALYTE	PROFICIENCY EVENT 2002 2		PROFICIENCY EVENT 2002 3		PROFICIENCY EVENT 2003 1	CUMULATIVE CLIA '88 PERFORMANCE INTERPRETATION									
	SUMMARY OF YOUR RESPONSES		SUMMARY OF YOUR RESPONSES		SUMMARY OF YOUR RESPONSES		CURRENT EVENT PERFORMANCE INTERPRETATION								
TEST	EVENT	ACCEPT	TOTAL	%	TEST	EVENT	ACCEPT	TOTAL	%	TEST	EVENT	ACCEPT	TOTAL	%	PERFORMANCE INTERPRETATION
ALT	XLE	5	5	100	XLH	5	5	100		XLB	5	5	100		Satisfactory
Creatinine	XLE	5	5	100	XLH	5	5	100		XLB	5	5	100		Satisfactory
Routine Chemistry		10	10	100		10	10	100			10	10	100		Satisfactory
CHECKED BY.....															
DATE.....															



**UNITE DE DEVELOPPEMENT DE VACCINS CONTRE
LE PALUDISME AU MALI
PROCEDURE OPERATOIRE STANDARD**

Laboratoire de Biologie Clinique pour essais vaccinaux SOP N°:ML-002-00	REFLOTRON PLUS NETTOYAGE DE LA CHAMBRE DE MESURE ET VERIFICATION DE LA PERFORMANCE DU SYSTEME OPTIQUE (CLEAN & CHECK KIT)	Original
--	--	-----------------

OBJET

Cette procédure décrit le nettoyage et la technique de vérification du système optique du Reflotron par l'utilisation d'un Kit.

DOMAINE D'APPLICATION

Pharmaciens ou médecins, techniciens de laboratoire, internes en Médecine ou en Pharmacie, travaillant au sein du MMVDU.

DOCUMENTS DE REFERENCES

- 1-SOP ML-002-02: Reflotron Plus Technique d'Analyse
- 2-Notice du Kit Clean & Check (Roche, 1999).
- 3- Manuel de l'utilisateur du Reflotron (Boehringer Mannheim Corp.1992)
- 4-Manuel des SOP du laboratoire d'Hématologie de la FMPOS

HISTORIQUE

<u>Version</u>	<u>Objet de la création</u>	<u>Date d'application</u>
1.0	Création du document	10/10/2002

APPROBATION

Redacteur Dr. Baby Mounirou	Chercheur	Redacteur (Signature)	Date 11/10/2002
Approbateur Pr. Dapa Diallo	Responsable du laboratoire	Signature 	Date d'approbation 10/10/2002
Approbateur		Signature	Date d'approbation

Sommaire:

I-Principe

II-Matériel et Réactifs

III-Description de la chambre de mesure

IV- Mesures de Sécurité et Précautions

V-Nettoyage de la chambre de mesure

VI-Mode opératoire de l'utilisation de la bandelette Check

VII-Report des Résultats

VIII-Conservation et stabilité

IX-Annexes

X-Formation

I-Principe:

Le nettoyage régulier de la chambre de mesure permet à l'instrument de donner des résultats corrects et fiables. Un nettoyage incorrect ou impropre peut être la source de résultats incorrects ou d'autres dysfonctionnements de l'appareil. Le principe de la vérification du système optique est basé sur la mesure de la réflectivité de la zone de test d'une bandelette dite "check", à trois différentes longueurs d'onde : 567, 642, et 951 nm. Les valeurs obtenues lors de cette lecture sont comparées avec celles attendues selon le fabricant.

II-Matériel et Réactifs:

1-Kit Reflotron "Clean and Check" contenant 16 tampons de nettoyage saturés avec de l'isopropanol à 70%, et 15 bandelettes Check.

2-Gants en latex

3-Système Reflotron

III- Description de la chambre de mesure :

Elle comprend:

1. le dispositif de chauffage supérieur
2. l'orifice
3. le dispositif de chauffage moyen
4. la tête magnétique
5. la fente d'insertion de la bandelette
6. la broche de retention de la bandelette
7. la manette de libération de la bandelette

NB: familiarisez-vous avec ces différentes parties en utilisant le Manuel de l'opérateur du Reflotron.

IV-Mesures de Sécurité et Précautions

Porter des gants de protection en latex et une blouse pendant toute la durée de la procédure.

V- Nettoyage de la chambre de mesure:

1-la chambre de mesure doit être nettoyée, et le Reflotron calibré au moins une fois par jour avant de procéder au contrôle de qualité du Reflotron, ou tous les 100 tests.

2-Nettoyer la surface de travail avec une solution de Javel à 10%, et y placer du papier absorbant propre.

3-S'assurer que le Reflotron est éteint en vérifiant que le bouton d'allumage situé derrière l'instrument est sur "0", avant de commencer le nettoyage.

4-Vérifier qu'il n'ya pas de bandelette test dans la chambre de mesure.

5- Ouvrir la chambre de mesure en pressant le bouton de commande d'ouverture du couvercle.

6-A l'aide d'un tampon de nettoyage fraîchement extrait de son emballage:

a- Essuyer délicatement le dispositif de chauffage supérieur et l'orifice pour enlever les saletés et restes de sang

b- Essuyer délicatement le dispositif de chauffage moyen

c- Essuyer délicatement la tête magnétique

d- Essuyer la fente d'insertion des bandelettes, accorder une attention particulière aux bords de la fente

e- Laisser sécher 10 minutes

f- S'assurer que la chambre de mesure est en position fermée et replacer le couvercle

NB: avant d'insérer une nouvelle bandelette, vérifier que la broche de retention de la bandelette est en position supérieur, si non pousser la dans cette position.

7-Vous pouvez procéder maintenant à la vérification du système optique

V- Mode opératoire de l'utilisation de la bandelette Check (Calibration)

1-Après avoir nettoyé la chambre de mesure, allumer le Reflotron en mettant le bouton d'allumage sur "1", attendre que le message "READY" apparaisse sur l'écran.

2-Vérifier que la bandelette Check contenue dans le tube plastique clair (c'est à dire la bandelette en cours d'utilisation), n'a pas été utilisée 5 fois en comptant le nombre de traits marqués au bic. Si le nombre d'utilisation de la bandelette a atteint 5, sortir une nouvelle bandelette Check de la canette, et refermer immédiatement afin de protéger les autres bandelettes.

Vérifier que la date de péremption inscrite sur la canette n'est pas dépassée.

Si une canette est ouverte pour une première fois, y inscrire la date d'ouverture et vos initiales.

3-Eviter de: toucher à la zone de test grise de la bandelette, l'essuyer ou y appliquer un quelconque échantillon. Si cela arrivait, éliminer la bandelette et procéder avec une nouvelle bandelette.

4-Ouvrir la porte de la chambre de lecture, insérer la bandelette Check avec la zone grise de test et la partie portant l'abréviation de Check orientées vers le haut; s'assurer d'avoir entendu un clic et refermer la chambre.

5-Le message "**READING CODE**" apparaît et à la fin de la lecture, 3 valeurs sont affichées. Comparer les avec les valeurs portées sur la canette d'où est issue la bandelette.

6-Si les résultats sont dans les limites acceptables, sortir la bandelette de la chambre de mesure.

NB:Une bandelette Check peut être utilisée 5 fois au maximum, si elle reste propre.

7-Placer la bandelette utilisée dans le tube plastique réservé à cet effet après y avoir marqué un trait (un trait correspond à une utilisation).

Porter sur le tube le numéro de lot, la date d'expiration de la bandelette et vos initiales.

8-Si les valeurs sortent des limites acceptables inscrites sur la canette:

a)Sortir la bandelette Check de la chambre de mesure, la jeter et Refaire la calibration avec une nouvelle bandelette Check.

b)Si les valeurs sont toujours hors limites, nettoyer le système optique comme décrit ci-haut (IV 1 à 6).Laisser sécher et refaire le test avec une bandelette Check neuve.

c)Si les résultats sont toujours en dehors des limites données par le fabricant, ne jamais passer les contrôles, ni les échantillons de patients. Et contacter une des personnes comme décrit ci-dessous.

VI Report des Résultats:

1-Trois valeurs sont données pour les résultats: minimale, moyenne et maximale. Ces valeurs doivent être comparées à celles portées sur la canette d'où est issue la bandelette Check utilisée pour la calibration.

2-Prendre l'imprimé du résultat et y porter vos initiales.Ranger l'imprimé dans le classeur du Reflotron utilisé.

3-Enregistrer les résultats sur la feuille de paillasse "Reflotron Daily Maintenance Log Sheet", qui est rangée également dans le classeur Reflotron .

4- Si les résultats sont en dehors des limites données par le fabricant, ne jamais passer les contrôles, ni les échantillons de patients.

Contactez le superviseur du laboratoire ou son adjoint. S'ils ne sont pas disponibles, joindre David Diemert par e-mail (ddiemert@niaid.nih.gov). Si le problème persiste, on contactera le responsable du laboratoire (le Professeur Dapa Diallo).

VII- Conservation et stabilité:

Conserver les bandelettes Check à la température du laboratoire, dans les tiroirs sous la paillasse.

Fermer immédiatement la canette après y avoir retiré une bandelette afin d'éviter la poussière et l'humidité.

Les bandelettes non utilisées et bien conservées sont stables jusqu'à leur date d'expiration inscrite sur la canette.

Une bandelette Check peut être utilisée jusqu'à 5 fois maximum, si elle ne comporte pas de rayure et /ou de saletés. La bandelette en cours d'utilisation doit être tenue séparément des bandelettes neuves, et mention doit être faite du nombre d'utilisation porté au bic à la partie opposée à la zone grise de test près de l'abréviation de Check (CHK).

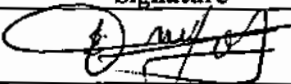


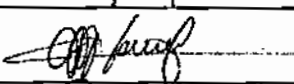


Porter toujours la date d'ouverture sur les canettes.

IX-Annexes

Feuille de paillasse "Reflotron Daily Maintenance Log Sheet"

X-Formation

Les personnes dont les noms suivent ont été formées à cette procédure opératoire et ont fait preuve de maîtrise quant à son application.

Nom	Signature	Date
Amagana Dolo		21/01/03
David Diemert		22/01/03
Mady Sissoko		21/11/02
Mamadou Keïta		21-11-02
Mounirou Baby		21/11-02
Moussa Dembélé		21/11/02

Fiche signalétique

Nom : **KEITA**

Prénom : **Mamadou Nianfou**

Nationalité : Malienne

Date de soutenance : Juillet 2003

Ville de soutenance : Bamako

Titre : Etude de quelques paramètres hématologiques et biochimiques à Donéguébougou : une expérience d'introduction des Bonnes Pratiques de Laboratoire au MRTC / DEAP/ FMPOS.

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

Secteur d'intérêt : Epidémiologie, Parasitologie, Hématologie, Biochimie.

RESUME

Nous avons effectué durant l'année 2002 la mise en place des procédures de BPL au laboratoire de biologie clinique du MMVDU à Bamako et un passage transversal du 11 au 22 juillet à Donéguébougou pour évaluer la distribution des paramètres biologiques qui seront évalués au cours des essais vaccinaux chez les sujets de 6 mois à 45 ans.

Il ressort de ces travaux les observations suivantes :

L'unité de recherche vaccinale du DEAP possède un laboratoire de biologie clinique fonctionnel répondant aux normes internationales de BPL et un personnel qualifié pour conduire des essais vaccinaux contre le paludisme au Mali.

L'IS était comparable dans les classes d'âge ($p = 0,11$) dans notre population d'étude de Donéguébougou.

L'IP augmentait significativement à partir de l'âge de 6 ans, pour diminuer à partir de 16 ans.

La fréquence des cas de fièvre était plus élevée avant l'âge de 16 ans, avec un pic se situant dans la tranche d'âge de 6 mois-5 ans (36,58%), $p = 0,0006$

La distribution des paramètres de l'hémogramme était différente dans les classes d'âge des deux sexes. La différence entre les filles et les garçons apparaît à l'âge de 16 ans avec un taux plus bas du nombre de globules rouges ($p = 0,000002$), d'hémoglobine ($p < 10^{-6}$) et d'hématocrite ($p < 10^{-6}$) chez la femme.

Le taux sérique de la créatinine était différent dans les classes d'âge des deux sexes, cette activité augmentait avec l'âge.

Nous n'avons pas observé de différence quant à l'activité sérique de l'ALAT selon le sexe masculin. Cette activité est plus élevée chez les sujets de 6 mois-15 ans par rapport aux adultes (16-45 ans) selon le sexe féminin.

La distribution des valeurs de l'ALAT suivant les sujets de la population d'étude se fait selon une courbe décroissante de type logarithmique ; la majorité des sujets ayant des valeurs comprises entre 2 et 21 UI/l.

Mots clés : Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL), paramètres hématologiques, biochimiques.

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 de 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'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque.