

*Ministère des enseignements Secondaire,
Supérieur et de la Recherche Scientifique*

REPUBLIQUE

DU MALI



UN PEUPLE-UN BUT-UNE FOI

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



ANNEE UNIVERSITAIRE 2007-2008

N

TITRE

Essai de Phase I d'un candidat vaccin AMA1-C1/Alhydrogel® contre le *Plasmodium falciparum* chez les enfants de 2 à 3 ans à Donéguébougou/Mali.

THESE

Présentée et soutenue publiquement le / 22 / 03 / 2008 devant le jury de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Par Mr **Boubacar Niaré**

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

Jury

**Président
Traoré
Membres**

Pr. Hamar Alassane

**Dr Boubacar Traoré
Dr Issaka Sagara**

**Directeur de thèse
Codirecteur de thèse**

**Pr. Ogobara K. Doumbo
Dr Alassane Dicko**

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2006-2007

ADMINISTRATION

DOYEN: ANATOLE TOUNKARA – PROFESSEUR

1^{er} ASSESSEUR: DRISSA DIALLO – MAÎTRE DE CONFERENCES

2^{ème} ASSESSEUR: SEKOU SIDIBE – MAÎTRE DE CONFERENCES

SECRETAIRE PRINCIPAL: YENIMEGUE ALBERT DEMBELE – PROFESSEUR

AGENT COMPTABLE: MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL- CONTROLEUR DES FINANCES

PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophthalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie – 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 Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-entérologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Mr Sinè BAYO	Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Mr Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique
Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine interne
Mr Boulkassoum HAIDARA	Législation
Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique

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	Orthopédie Traumatologie
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	ORL
Mme SY Assitan SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie-Réanimation
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale Chef de D.E.R.
Mr Abdoul Kader TRAORE dit DIOP	Chirurgie Générale

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophthalmologie
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale
Mr Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale

Mr Sekou SIDIBE
Mr Abdoulaye DIALLO
Mr Tieman COULIBALY
Mme TRAORE J THOMAS
Mr Mamadou L. DIOMBANA
Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE
Mr Nouhoum ONGOÏBA
Mr Sadio YENA
Mr Youssouf COULIBALY

Orthopedie-Traumatologie
Anesthésie-Reanimation
Orthopedie-Traumatologie
Ophtalmologie
Stomatologie
Gynéco-Obstétrique
Anatomie & Chirurgie Générale
Chirurgie thoracique
Anesthésie-Reanimation

3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Issa DIARRA
Mr Samba Karim TIMBO
Mme TOGOLA Fanta KONIPO
Mr Zimogo Zié SANOGO
Mme Djeneba DOUMBIA
Mr Zanafon OUATTARA
Mr Adama SANGARE
Mr Sanoussi BAMANI
Mr Doulaye SACKO
Mr Ibrahim ALWATA
Mr Lamine TRAORE
Mr Mady MAKALOU
Mr Aly TEMBELY
Mr Niani MOUNKORO
Mr Tiémoko D. COULIBALY
Mr Souleymane TOGORA
Mr Mohamed KEITA
Mr Boureima MAÏGA
Mr Youssouf SOW
Mr Djibo Mahamane DIANGO
Mr Moustapha TOURE

Gynéco-Obstétrique
ORL
ORL
Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation
Urologie
Orthopédie- Traumatologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Orthopédie - Traumatologie
Ophtalmologie
Orthopedie-Traumatologie
Urologie
Gynécologie/ Obstétrique
Odontologie
Odontologie
ORL
Gynéco-Obstétrique
Chirurgie Générale
Anesthésie-réanimation
Gynécologie

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO
Mr Amadou DIALLO
Mr Moussa HARAMA
Mr Ogobara DOUMBO
Mr Yénimégué Albert DEMBELE
Mr Anatole TOUNKARA
Mr Bakary M. CISSE
Mr Abdourahamane S. MAÏGA
Mr Adama DIARRA
Mr Mamadou KONE

Chimie Générale & Minérale
Biologie
Chimie Organique
Parasitologie-Mycologie
Chimie Organique
Immunologie
Biochimie
Parasitologie
Physiologie
Physiologie

2. MAÎTRES DE CONFERENCES

Mr Amadou TOURE
Mr Flabou BOUGOUDOGO
Mr Amagana DOLO
Mr Mahamadou CISSE
Mr Sékou F. M. TRAORE
Mr Abdoulaye DABO
Mr Ibrahim I. MAÏGA

Histoembryologie
Bactériologie – Virologie
Parasitologie – Mycologie **Chef de D.E.R.**
Biologie
Entomologie médicale
Malacologie – Biologie Animale
Bactériologie – Virologie

3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Lassana DOUMBIA

Chimie Organique

Mr Mounirou BABY	Hematologie
Mr Mahamadou A. THERA	Parasitologie – Mycologie
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie
Mr Bouréma KOURIBA	Immunologie
Mr Souleymane DIALLO	Bactériologie/ Virologie
Mr Cheick Bougadari TRAORE	Anatomie pathologie
Mr Guimogo DOLO	Entomologie-Moléculaire Médicale
Mr Mouctar DIALLO	Biologie/ Parasitologie
Mr Abdoulaye TOURE	Entomologie-Moléculaire Médicale
Mr Boubacar TRAORE	Parasitologie - Mycologie

4. ASSISTANTS

Mr Mangara M. BAGAYOKO	Entomologie-Moléculaire Médicale
Mr Djbril SANGARE	Entomologie-Moléculaire Médicale
Mr Bokary Y. SACKO	Biochimie
Mr Mamadou BA	Biologie, Parasitologie Entomologie Médicale
Mr Moussa FANE	Parasitologie /Entomologie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAÏGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie- Chef de D.E.R.
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro-entérologie-Hépatologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Léprologie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie

2. MAÎTRES DE CONFERENCES

Mr Bah KEITA	Pneumo-Phtisiologie
Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Sahare FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie

3- MAITRES ASSISTANTS

Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Daouda K. MINTA	Maladies Infectieuses
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mme DIARRA Assétou SOUCKO	Médecine interne

Mr Boubacar TOGO
Mr Mahamadou TOURE
Mr Idrissa A. CISSE
Mr Mamadou B. DIARRA
Mr Anselme KONATE
Mr Moussa T. DIARRA
Mr Souleymane DIALLO
Mr Souleymane COULIBALY
Mr Sounkalo DAO
Mr Cheick Oumar GUINTO

Pédiatrie
Radiologie
Dermatologie
Cardiologie
Hépatogastro-entérologie
Hépatogastro-entérologie
Pneumologie
Psychologie
Maladies infectieuses
Neurologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR

Mr Gaoussou KANOUTE
Mr Ousmane DOUMBIA
Mr Elimane MARIKO

Chimie Analytique **Chef de D.E.R**
Pharmacie Chimique
Pharmacologie

2. MAÎTRES DE CONFÉRENCES

Mr Drissa DIALLO
Mr Alou KEITA
Mr Benoît Yaranga KOUMARE
Mr Ababacar I. MAÏGA

Matières Médicales
Galénique
Chimie analytique
Toxicologie

3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Yaya KANE
Mne Rokia SANOGO
Mr Saibou MAIGA
Mr Ousmane KOITA
Mr Yaya COULIBALY

Galénique
Pharmacognosie
Législation
Parasitologie Moléculaire
Législation

D.E.R. SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sanoussi KONATE

Santé Publique, **Chef de D.E.R**

2. MAÎTRE DE CONFÉRENCES

Mr Moussa A. MAÏGA

Santé Publique

3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Adama DIAWARA
Mr Hamadoun SANGHO
Mr Massambou SACKO
Mr Alassane A. DICKO
Mr Mamadou Sounkalo TRAORE
Mr Samba DIOP
Mr Seydou DOUMBIA
Mr Akory AG IKNANE
Mr Hammadoun Aly SANGO

Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique
Anthropologie Médicale
Epidémiologie
Santé Publique
Santé Publique

4. ASSISTANTS

Mr Oumar THIERO
Mr Seydou DIARRA

Biostatistique
Anthropologie Médicale

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAÏGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Yaya COULIBALY	Législation
Mr Lassine SIDIBE	Chimie Organique

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. Doudou BA	Bromatologie
Pr. Babacar FAYE	Pharmacodynamie
Pr. Mounirou CISS	Hydrologie
Pr Amadou Papa Diop	Biochimie.
Pr. Lamine GAYE	Physiologie

Dédicaces

Je dédie ce travail,

A ALLAH le Tout Puissant, Le Miséricordieux pour m'avoir donné la santé et la force de réaliser ce travail.

Au Prophète Muhammad

(Paix et Bénédiction de Dieu sur Lui).

A mon père feu Issa Niaré : Je m'incline devant la volonté de Dieu qui t'a arraché à notre affection. Tu as toujours voulu que tes enfants ne manquent de rien et tu nous as inculqué le sens de l'honneur, de l'humilité et de la générosité. Ta sympathie, ta courtoisie et ton humour

n'ont jamais fait défaut. Tu as entretenu cet arbre pour qu'il te soit utile un jour. Tu as été pour nous un exemple dans l'accomplissement du travail bien fait. Tu resteras présent dans notre mémoire et ton esprit guidera nos pas. Nous te dédions cette thèse en témoignage de notre profonde admiration, que ton âme repose en paix.

A mes mères Nana Konaré et Djéneba Sidibé : Générosité et affection font de vous des femmes sages et exceptionnelles. Vous nous avez enseigné courage et espoir, seuls gages pour la vie. Ce travail est la consécration de tous les efforts que vous avez déployés pour mes frères, mes sœurs et moi. Que Dieu puisse vous prêter longue vie.

A mes grand-pères, grand-mères : Tous nos attachements aux défunts ; salue et paix pour le repos de vos âmes.
Aux autres veuillez trouver ici, l'expression de mon profond respect.

A Mr Ogobara Doumbo et famille : Je vous souhaite tout le bonheur que vous méritez. Jamais je n'oublierai les services rendus. Je serai heureux que vous trouviez dans ce travail le témoignage de ma profonde gratitude. Je resterai à votre disponibilité en toute circonstance. Que Dieu puisse vous donner longue vie et des enfants qui seront votre fierté.

A notre sœur aînée Mme Doumbo Safiatou : Tu as été pour nous un soutien inestimable dans l'élaboration de ce travail. Tu es toujours une référence pour nous en matière de courage et de travail. Tu as été au rendez vous à chaque fois que nous avons sollicité ton concours. Sais que ce travail est le tien, trouve ici l'expression de nos profonds sentiments. Que Dieu puisse accorder bonheur et longue vie à toi et à tes enfants mes chéris.

A ma fiancée Bibatou Koné : Merci de ta patience et de ta fidélité. Tu as été un soutien considérable pendant l'élaboration de cette thèse. Sache que la vie d'un médecin est faite de sacrifices et de don de soi.

Nous allons œuvrer ensemble dans le meilleur et le pire des cas. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour et de ma fidélité.

A mes frères et sœurs : Vous avez tous de près ou de loin contribué à la réalisation de ce travail. Je ne me suis jamais senti abandonné, même aux moments les plus difficiles au cours de cette longue étude. Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude.

A tous mes nièces et neveux : Je n'ai pas manqué de votre amour, de vos respects et de vos bonnes compréhensions à mon égard. Ce travail est le fruit de vos efforts conjugués, soyez en remercié.

Remerciements

Aux familles: Niaré, Konaré, Sidibé, Coulibaly, Diarra, Traoré, Koné Serémé, Sangaré, Kané, Bagayoko, Diallo, Doumbia.... Il m'est particulièrement difficile de trouver les mots exacts pour vous remercier. Mon passage dans vos familles m'a été plus que bénéfique. Vos simplicités et vos sensibilités aux problèmes des autres font de vous des familles exemplaires admirées et sollicitées par tous. Recevez ici toute ma gratitude et mes remerciements les plus sincères.

A mes cousines et cousins : Il m'est particulièrement difficile de trouver les mots exacts pour vous remercier. Je vous remercie tous de m'avoir donné le courage de parcourir ce long chemin. Vos soutiens ont été sans faille. Je ne saurais jamais vous oublier. Ce travail est le fruit de vos soutiens.

A mes amis : René papa Diarra, Solomane Bamba, Djiguiba Baba Camara, Lamine Maiga, Abdrahamane Cissé, Oumar Touré Wara, Younous Haidara, Cheik F. Diallo, Mamoutou Kané....Je voudrai que vous soyez honorés par ce travail qui est le votre.

Aux Personnels du MRTC/ DEAP/ FMPOS

Plus particulièrement à mes maîtres et aînés :

Professeur Ogobara Doumbo, Professeur Abdoulaye Dabo

Professeur Cheick F. Traoré, Docteur Abdoulaye Djimdé, Docteur Seydou Doumbia , Monsieur Nafomon Sogoba, Mr Ibrahima Baber, Mme Oumou Niaré, Dr Daouda K. Minta, Docteur Moctar Diallo, Docteur Simon Koita, Docteur Alassane Dicko, Docteur kassoum Kayentao, Dr Boubacar Traoré, Dr Mouctar Diallo, Dr Amed Ouattara, Dr Mahamadou Sissoko, Dr Belco Poudiougou, Dr Aldiouma Guindo, Dr Mamadou dit Génie Coulibaly, Dr Issakia Sagara, Dr Moussa Sogoba, Dr Doumbo Safiatou Niaré, Dr Mamadou Tégouété, Dr Sy Mariam Traore, Dr Charle Arama, Dr Modibo Daou, Dr Ongoïba Aïssata Ongoïba, Dr Didier Doumtabe, Dr Aboubacar A. Oumar, Dr Abdoulaye Katilé, Dr Abdoulaye K. Koné, Dr Drissa Coulibaly, Dr Ando Guindo, Dr Karim Traoré, Dr Sory Diawara, Dr Touré Dinkorma Ouologuem, Dr Bakary Sidibé, Dr Bakary Fofana, Dr Hamma Maiga, Mr Demba Dembélé:

Merci pour vos enseignements et vos soutiens. Nous avons bénéficié de votre formation sans relâche. Ce travail est le fruit de vos efforts conjugués, soyez en remercier.

A toute l'équipe de Bancoumana, de Donéguébougou et de Kangaba sans oublier personne.

A mes amis du DEAP : Dr Agnes Guindo, Dr Nana Kodio, Dr Renion Saye, Dr Entibeye Timbiné , Dr Saibou Doumbia, Dr Amadou Niangaly, Dr hamidou Traoé, DrYeya Dicko, Mlle Aminata Koné Younous Koné ,Jacob Dara, Zoumana Isaac Traoré, Paul Kamaté, Abdramane Traoré, Amadou Tapily, Drissa Guindo, Drissa Konaté, Moussa Diakité,Samba Coumaré, Abdoulaye Tapily, Abdramane Bathily, Hamidou Niangaly, Moussa Niangaly, Binta Barry, Moussa Djimdé, Abdoul Karim

Sangaré...La liste est longue, toute mes excuses pour ce qui n'ont pas vu leurs nom.

Aux Secrétaires, gestionnaires, chauffeurs et manœuvres du MRTC/DEAP/FMPOS : Merci pour le service rendu.

Hommage aux membres du jury

A notre maitre et Président du jury :

Professeur Hamar Alassane Traoré

Professeur titulaire des universités en médecine interne ;

Responsable des cours de thérapeutique, et de sémiologie médicale à la faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie de l'université de Bamako ;

Chef de service de médecine interne du centre hospitalier universitaire du Point G.

C'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury. Nous tenons à vous remercier pour votre disponibilité. Nous avons bénéficié de votre enseignement de qualité au sein de cette faculté.

Votre grande expérience vous permet de juger avec pertinence la qualité de ce travail. Nous vous prions de bien vouloir accepter l'expression de notre profonde gratitude.

A notre Maître et juge

Dr Boubacar TRAORE

Maître Assistant de Parasitologie et de Mycologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de l'université de Bamako.

Responsable de l'Unité Paludisme et Grossesse & Immuno-pathologie Parasitaire du MRTC.

Nous sommes très heureux de vous compter parmi les membres du jury. Votre compétence et votre rigueur scientifique font de vous un enseignant admiré. Votre participation dans ce jury constitue une référence. Veuillez accepter l'expression de notre profonde gratitude.

A notre Maître et juge

Docteur Issiaka Sagara

Chercheur au MRTC/DEAP

Cher maître, c'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations.

Votre rigueur scientifique et votre dévouement constant font de vous un chercheur respecté et admiré par tous.

Recevez ici, cher maître notre reconnaissance et notre plus grand respect.

A notre maître et Codirecteur de thèse :

Docteur Alassane Dicko

Maitre assistant de Santé Publique à la faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie de l'université de Bamako ;

Responsable de l'unité épidémiologique du Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires.

Nous avons eu l'honneur et le grand plaisir de bénéficier de votre assistance durant la réalisation de cette thèse. Nous apprécions en vous cher maître la disponibilité et l'attention particulière dont vous avez fait preuve pour nous permettre de mener à terme ce travail. Vos qualités humaines et votre respect dans le travail nous ont impressionnés. Puissez vous trouver ici le témoignage de nos sentiments respectueux.

A notre maître et Directeur de thèse

Professeur Ogobara K. DOUMBO

Professeur titulaire de Parasitologie et de Mycologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de l'université de Bamako.

Médecin chef du Département D'Epidémiologie des Affections Parasitaires, Directeur du Pôle D'Excellence de Recherche sur le Paludisme, Malaria Research and Training Center (MRTC).

Directeur du cours d'épidémiologie des cadres supérieurs de l'Afrique de l'ouest.

Membre de l'Académie Nationale de Médecine de France.

Cher Maître, nous avons eu l'honneur et le grand plaisir de bénéficier de votre assistance durant notre cycle de médecine. Nous sommes fiers de la confiance que vous nous avez accordée en acceptant comme élève. Vous nous avez confié ce sujet de thèse et guidé avec dévouement durant toute sa réalisation. Vos critiques et recommandations nous ont beaucoup aidé. Votre compétence, votre rigueur scientifique, votre constante disponibilité à nos multiples sollicitations malgré vos occupations et l'intérêt que vous accordez à la recherche, font de vous un chercheur remarquable. Veuillez trouver cher maître le témoignage de notre considération et de notre attachement.

Abréviations

3D7:
ADCC:

Souche de *Plasmodium falciparum*
antibody dépendant cell cytotoxicity

AgHBs:	Antigène de surface de l'hépatite B
AMA1-C1: combinaison	Anticorps de la membrane apicale première
ALAT :	alanine aminotransférase
AMM :	Autorisation de mise sur le marché
CSP :	Circum Sporozoite Protein
DEAP : Parasitaires	Département d'Epidémiologie des Affections
DL :	Décilitre
DNA/MVA-ME-TRAP : Ankara Multi-Epitopique	Acide Desoxyribonucléide/ Modifié Virus - Thrombospondin Relative Adhésive Protein
EI :	Événement indésirable
ELISA :	Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay
GIS :	Géographic Information System
FMPOS : d'Odontostomatologie	Faculté de Médecine de Pharmacie et
FVO:	Souche de <i>Plasmodium falciparum</i>
GLURP:	Glutamate Rich Protéin
GMP:	Good Manufactory Practices
Hib:	<i>Hemophilus influenzae</i> type b
HCV:	Virus de l'Hépatite C
IgG:	Immunoglobuline G
J:	Jour
Kda:	Kilo Dalton
Kg:	Kilogramme
LSA-3:	Liver Stage Antigen 3
mm³:	millimètre cube
MRTC:	Malaria Research Training Center
MSP:	Proteine Membranaire de Surface
MVDB:	Malaria Vaccine Développement Branch
NIAID: Deseases	National de l'Institute of Allergy and Infectious
NIH:	National Institutes of Health
OMS:	Organisation Mondiale de la Santé
P :	Probabilité
PEV:	Programme Elargi de Vaccination
Pfs : <i>falciparum</i>	Antigène du gamétocyte de <i>Plasmodium</i>
PIB :	Produit Intérieur Brut
PNLP: paludisme	programme national de lutte contre le
RTS,S: l'hépatite B	Antigène fusionné avec la protéine S du virus de
T-TBS :	Tris Buffered Saline
µg :	Microgramme
WHO :	World Human Organization

Sommaire	Pages
I Introduction :.....	1
II Objectifs :.....	5
III Rappels sur les vaccins :.....	6
1. Les vaccins antipaludiques.....	6
1. 1. Les vaccins contre les stades préerythrocytaires.....	6

1. 2. Les vaccins contre les stades érythrocytaires.....	7
1. 3. Les vaccins contre les stades sexués.....	8
2. Les adjuvants.....	9
3. Les étapes de développement d'un vaccin.....	10
4. Les éléments de la tolérance.....	12
IV- Volontaires et Méthodes.....	13
1. Le lieu d'étude.....	13
2. La population d'étude.....	16
3. La période d'étude.....	16
4. Le type d'étude, la taille de l'échantillon et statistiques utilisés.....	16
4. 1. Le type d'étude.....	16
4. 2. La taille de l'échantillon	16
4. 3. La description des méthodes statistiques employées.....	16
5. Le déroulement et les procédures de l'étude.....	17
5. 1. Le consentement.....	17
5. 2. Le dépistage.....	19
5. 3. Les critères d'inclusion.....	19
5. 4. Les critères de non inclusion.....	20
5. 5. Le calendrier.....	21
5. 5. 1. Le calendrier des vaccinations.....	21
5. 5. 2. Le calendrier du suivi des sujets.....	23

6. Les variables mesurées et techniques.....	24
6. 1. La tolérance.....	24
6. 2. L'immunogénicité.....	26
7. Les considérations éthiques.....	26
V- Résultats.....	28
1. Les résultats globaux.....	28
2. Les caractéristiques sociodémographiques.....	29
3. Les événements indésirables liés à la vaccination.....	31
3. 1. Les événements locaux	31
3. 2. Les événements systémiques liés à la vaccination.....	34
3. 3. Les événements biologiques liés à la vaccination.....	35
4. Les événements indésirables non liés à la vaccination.....	36
4. 1. Les événements indésirables systémiques non liés à la vaccination.....	36
4. 2. Les événements indésirables biologiques non liés à la vaccination.....	37
5. Immunogénicité.....	38
5. 1. L'évolution de la positivité aux anticorps antiAMA1/FVO et antiAMA1/3D7 par groupe de traitement.....	38
5. 2. La moyenne et la médiane de la densité optique des anticorps antiAMA1/FVO et antiAMA1/3D7 par groupe de traitement.....	42

VI- Discussion, commentaire et conclusion.....	46
VII- Recommandation.....	52
Références bibliographiques.....	53

I- Introduction :

Le paludisme est une erythrocytopathie fébrile et hémolysante chez l'homme dû à un protozoaire du genre *Plasmodium* transmis par la piqûre d'un moustique infecté, l'anophèle. Lors d'un repas sanguin, la femelle injecte à l'homme les parasites sous forme de sporozoïtes. Ces sporozoïtes vont gagner les cellules hépatiques pour se multiplier. Ils s'y développent en mérozoïtes, qui vont être libérés dans la circulation sanguine et vont pénétrer les globules rouges pour se nourrir de l'hémoglobine : c'est la phase de multiplication. Cette maladie peut être aussi transmise rarement par la transfusion sanguine et par la mère au fœtus via le placenta. Quatre espèces infectent l'homme : *P. falciparum*, *P. malarea*, *P. ovale* *P. vivax*. Le *P. falciparum* est le plus dangereux, et

est responsable des cas du neuropaludisme et d'une grande part des décès liés au paludisme.

Cette maladie est l'une des parasitoses les plus répandues dans le monde. Plus de 40% de la population mondiale vit dans des zones à risque ; on estime à 300 à 660 millions le nombre de cas cliniques par an [1]. Le paludisme est endémique dans 101 pays du monde dont 45 pays africains [2]. Il provoque 1,5 à 2,7 millions de décès par an plus de 80% en Afrique subsaharienne. Les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes sont les plus touchés [3; 4]. Dans les pays endémiques africains il est à l'origine de 25% à 35% des consultations ambulatoires, de 20% à 40% des hospitalisations et 15% à 35% des décès à l'hôpital [1 ; 5]. Selon l'OMS en 2004 le PIB africain dépasserait de 115 milliards d'Euros, soit 32% de plus si l'on avait éliminé le paludisme il y a 35 ans [4]

Au Mali le paludisme est la principale cause de mortalité et de morbidité dans la population générale [6]. Il y a de grandes différences géographiques en terme de transmission, dans les taux de la prévalence et dans l'incidence du paludisme selon une variabilité de facteurs tels que le climat (ex : la pluviométrie et la durée de saison pluvieuse), le type d'agriculture pratiquée et l'accès et l'utilisation des soins médicaux et des mesures de protection. Au Mali la transmission est très saisonnière survenant pendant la saison des pluies qui dure de 3 à 6 mois. La prévalence de l'infection palustre souvent dépasse 70% chez les enfants de 2 à 9 ans pendant la saison des pluies. Selon les données du Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires (DEAP) l'incidence du paludisme clinique varie entre 1,5 à 2,5 épisodes par enfant par an avec quelques enfants qui en font jusqu'à 5 [7]. Selon le programme national de lutte contre le paludisme (PNLP), au Mali les fièvres palustres représentent 34% à 39% des causes de consultation dans les services de santé [8]. 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% en 2001[9]. Le

neuropaludisme représente 66% de paludisme grave, l'anémie sévère représente 34% de paludisme grave à l'hôpital Gabriel Touré. [10].

Les stratégies actuelles de lutte contre le paludisme reposent sur l'utilisation des médicaments et la lutte anti-vectorielle. Mais ces stratégies sont confrontées aux difficultés dans leur mise en œuvre et le développement de la résistance des parasites aux médicaments, aussi de celle des vecteurs aux insecticides. Malgré ces efforts consentis le paludisme sévit dans le monde et continue à causer des dégâts matériels et humains.

La vaccination constitue le meilleur moyen de lutte contre les maladies infectieuses. C'est elle qui a permis de réduire de façon drastique la morbidité et la mortalité liées à des maladies comme la poliomyélite, la rougeole, la coqueluche. Elle a permis l'élimination de la variole. Malheureusement à la date d'aujourd'hui il n'y a pas de vaccin utilisable en santé publique contre le paludisme. Un vaccin qui réduirait la mortalité et la morbidité liées à l'infection *P. falciparum* serait un outil précieux dans la lutte contre cette terrible maladie. Une des difficultés majeures dans la mise au point d'un vaccin contre le *Plasmodium* est, qu'au cours de sa vie, le parasite passe successivement par plusieurs stades de développement avec des phases d'intenses multiplications asexuées chez l'homme (dans les cellules du foie = phase hépatique, dans les globules rouges = phase érythrocytaire) et une phase de reproduction sexuée suivie de multiplication chez l'insecte . Chaque stade se termine par la libération d'un parasite d'une forme différente donc exprimant des antigènes différents et induisant des réponses immunitaires différentes.

A l'heure actuelle plusieurs équipes de chercheurs travaillent sur l'identification, la synthèse et le test d'antigènes vaccinant issus de l'un des stades de développement du parasite (figure 1). Le but visé est de bloquer le cycle de développement du parasite ou de réduire des manifestations cliniques.

La plus part des efforts sont orientés vers le développement de vaccin contre les stades hépatiques et sanguins du parasite. C'est ainsi que plusieurs antigènes de *P. falciparum* ont été identifiés comme

composants potentiels de vaccin [11]. L'antigène-1 de la membrane apicale (AMA1) est une protéine de surface exprimée pendant la phase asexuée sanguine de *P. falciparum*.

Le vaccin AMA1-C1 développé par le Malaria Vaccine Development Branch National of Institute of Allergy and Infectious Diseases du National Institutes of Health des Etats-Unis (MVDB/NIAID/NIH) contient un mélange à part égale de la portion de l'ectodomaine correctement pliée de la protéine recombinante AMA1 de deux différents clones de *P. falciparum*: FVO et 3D7. Les protéines AMA1 FVO et AMA1 3D7 ont été exprimées séparément comme protéines recombinantes sécrétées dans *Pichia pastoris*, purifiées et combinées en quantité égale. Ces deux clones ont été choisis par ce que leurs séquences sont suffisamment différentes parmi l'ensemble des clones de *P. falciparum* séquencés et recouvriraient l'ensemble des clones [12]. L'objectif est de fournir une protection contre les différents clones du parasite. D'autres évidences indiquent que combiner deux formes d'AMA1 aidera à mieux couvrir le polymorphisme de l'allèle AMA1 et donc de fournir une protection plus large [13]. Quand on a immunisé avec une combinaison de recombinant AMA1 FVO et AMA1 3D7, les titres des anticorps à chacun des deux antigènes étaient similaires aux titres obtenus chez les lapins immunisés avec chaque antigène séparément [14]. En outre, les anticorps de ces animaux immunisés avec le vaccin combiné (AMA1-C1), inhibaient in vitro de façon identique le développement des clones parasitaires 3D7 et FVO.

Le Centre de Recherche et de Formation sur le Paludisme (MRTC) du Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires (DEAP) de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie de l'Université de Bamako, s'est investi dans une stratégie de développement clinique de candidats vaccins dont AMA1-C1/Alhydrogel® au Mali. Cette étude s'intègre dans le cadre d'un partenariat étroit entre le MRTC et les institutions telles que: le MVDB du National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) du National Institutes of Health (NIH) des Etats-Unis ; en vue de déterminer la tolérance et l'immunogénicité de ce candidat vaccin.

II- Objectifs :

1. Objectif Principal :

Evaluer la tolérance du vaccin AMA1-C1/Alhydrogel® à la dose de 20µg et 80µg comparé au vaccin Hiberix® contre *l'Hemophilus influenzae* type b (Hib) chez les enfants de 2 à 3 ans en zone d'endémie palustre.

2. Objectifs Secondaires :

1. Evaluer l'immunogénicité du vaccin AMA1-C1/Alhydrogel® à la dose de 20µg et 80µg chez les enfants de 2 à 3 ans en zone d'endémie palustre.
2. Identifier les pathologies les plus fréquentes chez les enfants de 2 à 3 ans en zone d'endémie pendant la période de suivi clinique et biologique.

III- Rappel sur les vaccins :

1. Les Vaccins antipaludiques :

Il existe au moins 94 candidats vaccins antipaludiques. Ils sont dérivés d'une vingtaine d'antigènes [3]. Les candidats vaccins se distinguent d'abord par les stades parasitaires auxquels les antigènes sont exprimés. De ces stades dépendent l'effet attendu du vaccin et le type de réponse immune susceptible d'être protectrice. Il y a des candidats vaccins contre le parasite au stade préérythrocytaire, des candidats vaccins contre le parasite au stade érythrocytaire et des candidats vaccins contre le parasite au stade sexué (figure 1).

1. 1. Les vaccins contre les stades pré érythrocytaires :

Les vaccins préérythrocytaires préviendraient l'invasion des hépatocytes par les sporozoïtes ou entraîneraient la destruction des parasites dans les hépatocytes infectés.

Le mécanisme de cette immunité protectrice est mal élucidé mais le rôle des lymphocytes T est évident dans la lyse des hépatocytes infectés [15]. Les anticorps dirigés contre les antigènes du parasite du stade hépatique préviendraient l'invasion des hépatocytes par les sporozoïtes. La protéine la mieux caractérisée est le Circum Sporozoïtes Protein (CSP) qui est exprimée avant et pendant l'infection des hépatocytes [16]. Beaucoup d'efforts ont été focalisés sur l'épitope immunodominant composé par un tetrapeptide répétitif NANP (Asn-Ala-Asn-Pro) de cette protéine.

Le candidat vaccin le plus avancé dans ce groupe est le RTS, S/AS02A qui est le résultat de l'assemblage de trois composants: le CSP du *P. falciparum*, un antigène de surface de l'hépatite B et un adjuvant AS02 de GlaxoSmithKline [17; 18; 19]. Le RTS, S/AS02A a été un bon inducteur de la réponse cellulaire de type Th1 et a entraîné une forte

réponse humorale avec production d'une forte concentration d'IgG dirigée contre la région répétitive du CSP [20].

Nous pouvons aussi citer d'autres candidats vaccins du même stade: Liver Stage Antigen 3 (LSA-3) [21]; un fragment d'acide desoxiribonucléide du plasmide plus une version modifiée du virus Ankara, plus une protéine multi-épitopique et une protéine adhésive relative de thrombospondin (DNA/MVA-ME-TRAP) [22; 23].

1. 2. Les vaccins contre les stades érythrocytaires :

A ces stades, les parasites ne peuvent être atteints que par des anticorps, par des réponses à médiation cellulaire dépendantes des anticorps (ADCC) ou par la lyse cellulaire dépendant du complément. Ces vaccins pourraient interrompre le cycle endoérythrocytaire et par conséquent, éviter les manifestations cliniques provoquées par la schizogonie érythrocytaire. Un vaccin dirigé contre ce stade pourrait donc réduire la pathogénicité, la morbidité et la mortalité du paludisme et à la longue éviter les complications telles que : le paludisme cérébral, l'anémie palustre, la défaillance rénale et d'autres formes graves du paludisme chez la femme enceinte en bloquant l'invasion des érythrocytes par les mérozoïtes.

Parmi les vaccins de cette catégorie, la protéine de surface du mérozoïte 1 (MSP1) [24; 25] et l'AMA1 [26; 27] sont les plus avancés en développement clinique.

L'antigène-1 de la membrane apicale (AMA1) est une protéine de surface exprimée pendant la phase asexuée sanguine de *P. falciparum*. AMA1 est un polypeptide de 83kDa produit par des schizontes matures des érythrocytes infectés [27] et est localisé dans le micronème, un organelle sécrétoire apicale du mérozoïte qui contient les ligands pour les récepteurs des globules rouges [28]. AMA1 induit la production des anticorps qui sont présumés être les composants importants des réactions immunitaires acquises, pour la protection contre le *P. falciparum*. [29].

En plus de ces deux candidats vaccins il existe d'autres du même stade comme: La protéine de surface du mérozoïte 3 (MSP-3) long peptides ; la protéine riche en glutamate (GLURP) long peptide [3].

1. 3. Les Vaccins contre les stades sexués :

Les anticorps peuvent bloquer le stade sexué du parasite dans l'estomac des anophèles, avant que la fécondation ne puisse initier son développement dans le vecteur. Un vaccin dirigé contre le stade sexué des parasites, pourrait réduire ou interrompre la transmission du parasite. Ce type de vaccin ne viserait pas à protéger l'individu vacciné mais à limiter la transmission des parasites de l'homme au vecteur, et secondairement du vecteur à l'homme.

Les candidats vaccins de cette catégorie les plus étudiés sont les antigènes des gamétocytes de *P. falciparum* le Pfs28 et le Pfs25, les anticorps dirigés contre le Pfs28 entraînent un blocage de la transmission de *P. falciparum* et présentent une action synergique lorsqu'ils sont combinés aux anticorps dirigés contre le Pfs25. Ces deux antigènes sont très immunogènes et ont une diversité antigénique limitée. [30].

Ces trois types de vaccins sont basés sur le principe classique de la vaccination qui consiste à induire l'immunité de l'hôte contre le parasite. La dernière approche de développement de vaccin, le vaccin anti-toxine, appelé aussi vaccin anti-maladie [31; 32]. Ce vaccin agit sur la neutralisation des substances pathogènes du parasite sans affecter le parasite lui-même. Il existe aussi des *Plasmodium* génétiquement modifiés pour empêcher le développement des sporozoïtes jusqu'au stade érythrocytaire qui pourraient, comme les sporozoïtes irradiés, conférer un niveau d'immunité inaccessible aux vaccins sous unitaires [33; 34].

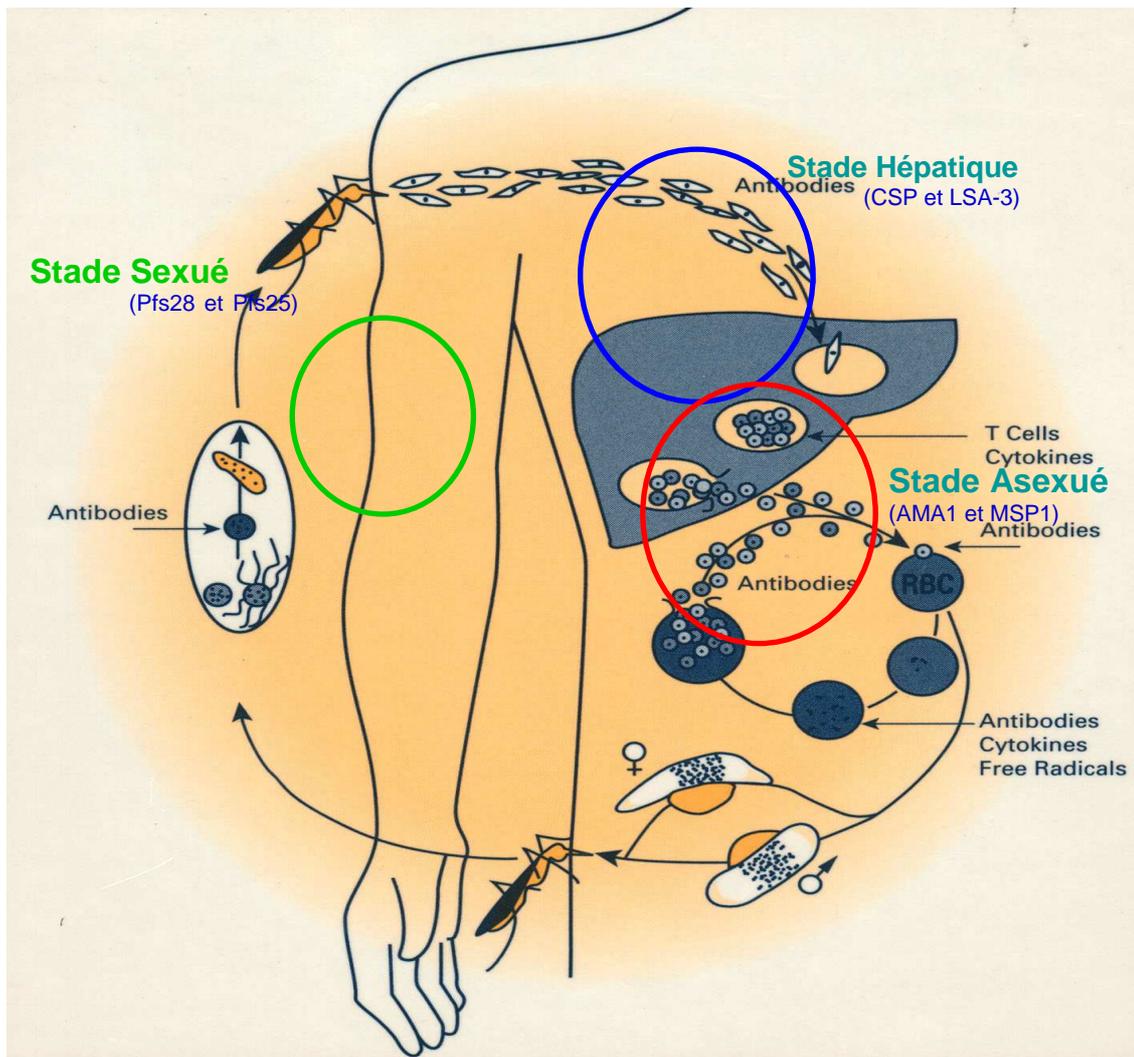


Figure 1 : Cycle de développement du parasite et vaccins contre les différents stades du *Plasmodium falciparum*. (Source : Nat. Med 2000 page).

2. Les adjuvants vaccinaux:

Le terme adjuvant dérive du latin “*adjuvare*” qui veut dire aider, assister. Il désigne toute substance capable d’augmenter l’intensité de la réponse immune dirigée contre un antigène administré simultanément.

Les vaccins sont constitués de molécules antigéniques diluées dans un liquide, mais ces antigènes en solution n’induisent pas souvent de réponse immunitaire satisfaisante, surtout quand il s’agit de vaccins atténués qui ne peuvent pas parfaitement imiter une infection naturelle et des vaccins sous-unitaires qui se réduisent parfois à des simples peptides.

Les adjuvants sont utilisés comme constituant des vaccins et la plupart des temps ils sont indispensables pour l'installation d'une réponse immune protectrice. L'utilisation des adjuvants dans la formulation des vaccins permet d'obtenir des taux plus élevés d'anticorps avec moins d'antigène.

S'ils jouent un rôle important dans l'immunogécité, les adjuvants ne sont pas dépourvus d'effets secondaires ils peuvent être responsables de fièvres, d'une allergie, voire même du déclenchement de maladies auto-immunes **[35; 36]**

En fait, la gravité du paludisme et le manque d'efficacité des mesures de contrôle actuellement disponibles pourraient justifier d'utiliser des adjuvants immunogènes s'ils sont capables d'améliorer sensiblement l'efficacité d'un vaccin. Ce pourrait être le cas d'adjuvants dérivés de l'adjuvant incomplet de Freund **[37]**.

Mais les chercheurs s'emploient actuellement à utiliser des adjuvants efficaces avec le moins d'effets secondaires.

3. Etapes de développement d'un vaccin :

Le produit pharmaceutique, en l'occurrence le vaccin, qui fait l'objet d'un développement doit répondre à quatre critères de base : sécurité, stabilité conformationnelle, efficacité, qualité. Le développement se déroule selon trois types intégrés de processus : pharmaceutique, préclinique et clinique **[38; 39]**.

Le développement pharmaceutique d'un vaccin concerne deux volets : d'une part la production et la formulation, d'autre part l'élaboration des méthodes de contrôle et des spécifications qui serviront à la libération des lots et aux études de stabilité. Les produits issus de la biotechnologie et les vaccins en particulier doivent respecter un certain nombre de règles au cours du processus de fabrication leurs permettant d'obtenir le label GMP (*Good Manufactory Practices*)

Le développement préclinique concerne la pharmacologie chez l'animal en utilisant des modèles adaptés et les tests de pharmacotoxicité réglementaires et aussi d'évaluer la tolérance et la tératogénicité.

Cette étape de développement préclinique passe par une série de phases pour l'évaluation de la toxicité et de l'efficacité du vaccin chez l'animal,

ce qui permet de constituer les pré requis indispensables pour le développement clinique.

Le développement clinique d'un vaccin antipaludique passe par une succession de quatre phases bien codifiées :

- ❖ **Une phase I** de tolérance chez un petit nombre de volontaires adultes sains. Cette phase a pour but de tester la tolérance et aussi d'avoir une première idée de l'immunogénicité du candidat vaccin chez l'homme. Cette phase peut être subdivisée en: par exemple une phase Ia menée sur des volontaires adultes sains naïfs et une phase Ib menée sur des volontaires adultes sains vivant dans des zones d'endémie. Cette phase Ib est ensuite étendue sur les groupes cibles notamment les enfants.
- ❖ **Une phase II** de preuve de concept d'efficacité et d'immunogénicité. Elle porte généralement sur quelques centaines de sujets cibles du vaccin. En plus de la détermination exacte de la dose et l'établissement du calendrier vaccinal, cette phase établit la tolérance du vaccin dans cette population.
- ❖ **Une phase III** portant sur un nombre important de sujets. L'objectif principal de cette phase est l'évaluation de l'efficacité du vaccin. Elle permet aussi de collecter d'avantage des informations sur la tolérance du produit. C'est au terme de cette étape qu'on fait une demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM).
- ❖ **une phase IV** Après l'enregistrement du vaccin, une phase IV de pharmacovigilance pourra être envisagée dans le but de mettre en évidence les éventuels effets secondaires rares ou évaluer une stratégie d'utilisation du vaccin dans d'autres indications ou conditions.

4. Les éléments de la tolérance :

L'introduction de tout nouveau produit pharmaceutique dans l'organisme humain commence obligatoirement par une étude de phase I. Dans le cas particulier des vaccins cette phase consiste à déterminer la sécurité et l'immunogénicité du produit.

L'évaluation de la sécurité d'un vaccin regroupe la détermination des évènements adverses et l'évaluation du niveau de toxicité biologique. Le

tissu hématopoïétique et d'autres organes tels que le foie et le rein constituent les cibles potentielles.

Le diagnostic des atteintes de ces tissus et organes se fait par la détermination des marqueurs biologiques spécifiques, sensibles et fiables.

Le foie constitue un centre de métabolisme des protéines, des lipides, des glucides et d'autres produits tels que les médicaments et un centre de désoxydation. Certains catabolites ou certains de ces produits peuvent avoir un effet toxique au niveau du foie. Le diagnostic biologique de confirmation d'une lésion des hépatocytes repose couramment sur la détermination de l'alanine aminotransférase (ALAT) sérique (enzyme de cytolysse hépatique).

Le rein constitue un filtre qui sert d'un centre d'épuration du sang. Le rein débarrasse le sang de tous ses déchets métaboliques qui seront éliminés dans les urines. Certains déchets entraînent un fonctionnement excessif du rein ou d'autre ont un effet toxique. La créatinine, un déchet métabolique de la créatine présente dans les muscles striés constitue le marqueur biologique le plus stable dont la détermination permet de poser le diagnostic d'une insuffisance rénale.

Il est aussi nécessaire d'évaluer l'effet du produit au niveau du système hématopoïétique chez l'homme et ceci peut se faire par l'hémogramme.

IV- Participants et Méthodes :

1. Lieu d'étude :

L'étude a été conduite dans le village de Donéguébougou au Mali. Donéguébougou a une population d'environ 1400 habitants et situé à 30 km au Nord Ouest de Bamako, dans la zone de savane soudanienne du Mali.

La pluviométrie annuelle était de 1143,8 mm de pluie en 1999 et 792,5 mm en 2000. Les précipitations sont enregistrées principalement pendant la saison des pluies de juin à octobre/novembre qui correspond à la période de transmission intense du paludisme. Cependant, une petite quantité de précipitation est aussi observée en mars et avril pendant le début de la saison sèche chaude entraînant une légère

augmentation du taux de transmission du paludisme. La rivière « Koba » près du village contribue fortement à la persistance des gîtes d'anophèles. Une carte de l'emplacement des maisons et des gîtes actifs de moustiques est disponible en figure 2. Donéguébougou a été choisi comme site pour tester les vaccins contre le paludisme sur la base des indicateurs paludométriques collectés sur plusieurs saisons de transmission (y compris la prévalence et l'incidence de la maladie, le taux d'inoculation entomologique et les données sociodémographiques) et les bons rapports entre le MRTC et la communauté villageoise.

Les études réalisées par le MRTC à Donéguébougou, ont démontré que les épisodes cliniques de paludisme sont plus fréquents chez les enfants âgés de moins de 5 ans avec un taux d'incidence de 2,1 épisodes par enfant durant la saison de transmission de 1999. Les taux d'incidence diminuent significativement avec l'âge (1,4 chez les enfants âgés 6-10 ans, 1,2 chez les enfants âgés 11-15 ans et seulement 0,7 chez les enfants âgés 16-20 ans [p <0.01]). Cette même tendance a été observée en 2000 et l'incidence totale du paludisme est restée stable sur 2 années consécutives d'observation [40].

Comme dans le reste du Mali, la transmission du paludisme à Donéguébougou est saisonnière avec une variabilité significative du taux d'inoculation entomologique d'une saison à l'autre. La transmission est principalement assurée par *Anopheles gambiae s.l.* lequel représente 91,6% de la population de moustiques vecteurs. *A. funestus* représente 8,4% de la population de vecteurs en 2000[40].

Une équipe de recherche clinique du MRTC est sur place à Donéguébougou de façon permanente depuis 1997. L'équipe est constituée de médecins, de pharmaciens, d'internes en médecine et en pharmacie et des guides locaux. Cette équipe assure le fonctionnement du centre de santé offrant des soins médicaux à toute la population de Donéguébougou, ainsi que celles des villages environnants. Le MRTC a établi dans le village un centre pour les essais cliniques à Donéguébougou en 2003 et le premier essai de Phase 1 de ce même

candidat vaccin AMA1-C1 chez les adultes sains a été conduit à Donéguébougou de 2004-2005.

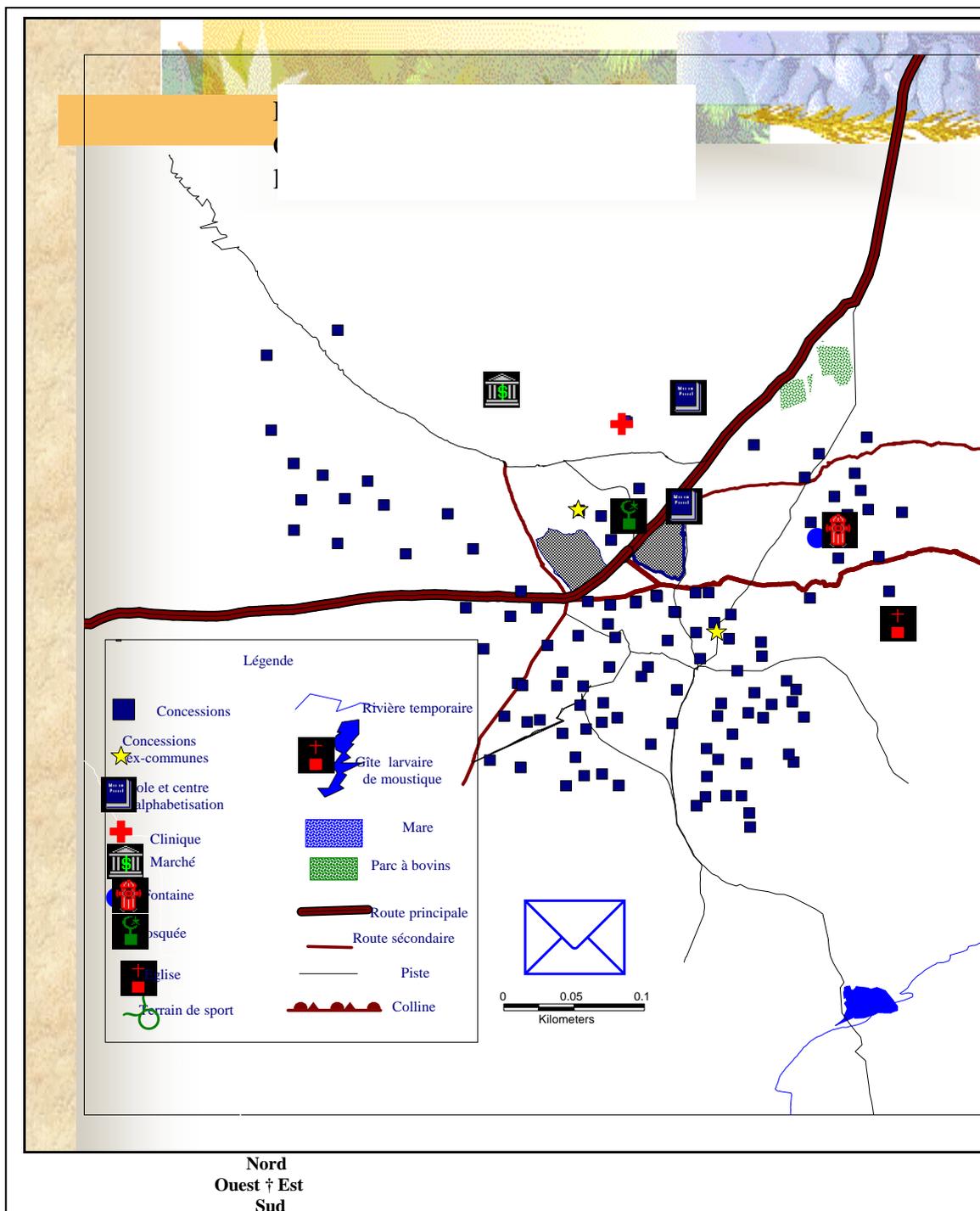


Figure 02 : Carte du village de Donéguébougou (Source : *Unité GIS du MRTC/FMPOS/Mali*).

2. Population d'étude :

La population d'étude est constituée par les enfants sains, âgés de 2 à 3 ans au début de l'étude et résidant à Donéguébougou.

3. La période d'étude :

La durée totale de suivi de chaque sujet était de 52 semaines. L'étude a commencé le 16 mars 2006. Nous présentons les résultats du jour 0 au jour 154 c'est-à-dire 22 semaines de suivi.

4. Le type d'étude, la taille de l'échantillon et les statistiques utilisés:

4. 1. Le type d'étude :

C'est une étude de phase Ib randomisée double aveugle et contrôlée.

4. 2. La taille de l'échantillon :

La taille de l'échantillon est calculée sur la base de probabilité de détection événement adverse en fonction de leur fréquence. Avec un groupe de 10 sujets nous avons 80% de chance de détecter un événement adverse qui a une fréquence de 15%. Nous avons ajouté 2 sujets supplémentaires pour tenir compte des perdus de vue. Soit un total de 36 sujets (12 par bras de vaccin)

4. 3. La description des méthodes statistiques employées :

Le but de cet essai est d'estimer le taux d'événements indésirables (EIs) et les tendances de réponses immunitaires, ainsi que comparer ces taux et tendances entre le vaccin expérimental (dose de 20 µg et dose de 80 µg) et le vaccin comparateur.

Les données ont été recueillies dans des cahiers d'observation individuels. Elles ont été monitorées par l'OMS et une compagnie privée sous contrat avec le NIAID/NIH. Les copies des pages des cahiers d'observation monitorées sont transmises au service de Gestion des données du MRTC/DEAP/FMPOS. Les données ont été saisies en double dans une base de données sur MS-Access. Après les différentes étapes de contrôle de qualité, elles sont transférées dans le logiciel Stata pour l'analyse. Nous avons utilisé le Chi carré de Pearson pour la comparaison des proportions avec une correction de Yates ou la probabilité exacte de Fisher quand c'est approprié. Les moyennes des âges dans les trois groupes ont été comparées en utilisant le test de F de Fisher (Anova). Les taux d'anticorps anti-AMA1-FVO et anti-AMA1-3D7 ont été comparés en utilisant le test de Kruskal-Wallis. Dans toutes les comparaisons, nous avons utilisé un test bilatéral avec un seuil de signification à 5%.

5. Déroulement et procédure d'étude :

5.1. Le consentement :

❖ Au niveau communautaire :

Nous avons convoqué une réunion avec le chef du village et les chefs de familles, où nous avons expliqué discuté le protocole et après nous leurs avons donné le temps de communiquer avec les autres membres de la communauté.

❖ **Au niveau individuel :**

Avant l'administration du consentement individuel l'équipe prend soin d'examiner mot à mot le formulaire du consentement de l'étude qui est traduit oralement à la langue locale et dans les dialectes au cas où le volontaire ne lit pas et ne parle pas français (ce qui est le cas pour la majorité des participants). La vérification que les traductions orales sont correctes et que les volontaires comprennent le contenu du consentement éclairé est faite par un témoin indépendant.

Sur la base du recensement de la population les parents des enfants de 2 à 3 ans ont été invités pour le consentement individuel. Le parent du volontaire ou de son représentant légal lit le formulaire de consentement ou il lui a été expliqué au cas où il est non alphabétisé. Ils ont été encouragés à poser des questions. Ensuite un questionnaire à choix multiples leur a été administré pour évaluer la compréhension du consentement. Le questionnaire a été administré oralement au parent ou la personne en charge de l'enfant au cas où ce dernier ne pouvait pas lire. Le parent de l'enfant ou son représentant légal devait répondre correctement à toutes les questions avant que son enfant puisse être éligible pour la participation. Le personnel de l'étude utilisait des réponses non correctes du questionnaire pour identifier les parties du formulaire de consentement éclairé qui avaient besoin de révision supplémentaire avec le parent de l'enfant ou de son représentant légal. Cela aidait à s'assurer qu'il a entièrement compris avant de signer le formulaire de consentement. Il pouvait signer le formulaire du consentement immédiatement ou plus tard après avoir adressé d'autres considérations. Le parent de l'enfant ou son représentant légal incapable de lire apposait son empreinte digitale à la place de la signature; de plus, un témoin indépendant signait le formulaire du consentement pour

attester que le volontaire a compris le contenu et a consenti volontairement.

5. 2. Le dépistage :

Après la signature des documents de consentements les parents ont été invités à amener les enfants à une date fixe pour les examens de dépistage. Au cours de ce dépistage les parents des sujets ont été interrogés sur les antécédents médicaux des sujets puis il a été fait un examen physique complet et un prélèvement de sang pour l'hémogramme la créatinémie et le dosage de l'ALAT ; et des urines pour la recherche d'hématurie et de protéinurie.

En cas de maladie découverte au cours du dépistage, le sujet est traité ou référé dans les services spécialisés au besoin. La prise en charge complète est assurée par le projet.

5. 3. Les critères d'inclusion :

Pour être éligible le sujet doit satisfaire les critères suivants :

- ❖ Etre âgés de 2 de 3 ans. Les enfants ne doivent pas être nés avant le 1^{er} Septembre 2002 et doivent avoir leur deuxième anniversaire avant la première vaccination.
- ❖ Etre résidants connus dans le village de Donéguébougou.
- ❖ Avoir un bon état général de santé déterminé sur la base des examens au dépistage.
- ❖ Etre disponible pendant toute la durée de l'essai.
- ❖ Avoir la volonté de participer à l'étude prouvée par la signature du document de consentement éclairé par le parent ou tuteur légal.

5. 4. Critères de non inclusion:

Le sujet présentant les critères suivants ne sera pas inclus :

- ❖ Evidence de maladie cliniquement significative; neurologique, cardiaque, respiratoire, hépatique, rhumatologique, auto-immune, infections chroniques ou maladies rénales diagnostiquée cliniquement à l'interrogatoire, à l'examen physique et ou par examen de laboratoire incluant l'analyse d'urines.
- ❖ Maladie comportementale, cognitive ou psychiatrique, qui, de l'avis du chercheur affecte la capacité du volontaire ou son parent ou tuteur légal de comprendre et de coopérer avec l'exécution du protocole de l'étude
- ❖ Maladie hépatique évidente sur la base d'un examen de laboratoire (ALAT supérieure à 1,25 fois la limite supérieure des normes du laboratoire).
- ❖ Maladie rénale évidente sur la base d'un examen de laboratoire (créatinémie supérieure à la limite supérieure de la norme du laboratoire ayant fait le test, ou plus que les traces de protéine ou de sang sur les bandelettes dans les urinaires).
- ❖ Maladie hématologique évidente sur la base d'un examen de laboratoire (nombre de leucocytes $<$ à $3000/\text{mm}^3$ ou $>$ à $14,5 \times 10^3/\text{mm}^3$; hémoglobine $<$ à $8,5 \text{ g/dL}$; nombre de lymphocytes $<$ à $1000/\text{mm}^3$; ou nombre de plaquettes $<$ à $120000/\text{mm}^3$).
- ❖ Autres circonstances qui, de l'avis du chercheur, porteraient atteinte à la sécurité ou aux droits du participant ou qui rendraient le participant incapable d'adhérer aux schémas de suivi de l'étude.
- ❖ Participation à un autre essai de vaccin ou de médicament dans les 30 jours avant le début ou au cours de cette étude.
- ❖ Antécédent de réaction allergique sévère ou anaphylactique
- ❖ Antécédent d'Asthme sévère (admission aux services d'urgence ou hospitalisation dans les six derniers mois).
- ❖ HCV Positif à l'ELISA
- ❖ Ag HBs Positif à l'ELISA
- ❖ Syndrome d'immunodéficience connu
- ❖ Prise de corticoïdes (excluant les formes topiques ou nasales) ou de médicaments immunosuppresseurs dans les 30 jours précédant le début ou durant cette étude

- ❖ Administration d'un vaccin vivant atténué (exemple: vaccin contre la rougeole, les oreillons, ou la rubéole) dans les 4 semaines ou d'un vaccin tué (exemple: vaccin contre la diphtérie, la coqueluche ou le tétanos) dans les 2 semaines avant le début de l'étude
- ❖ Antécédent de splénectomie
- ❖ Transfusion sanguine au cours des 6 derniers mois
- ❖ Volontaires vaccinés par un vaccin antipaludique expérimental auparavant
- ❖ Antécédent d'allergie connue au nickel
- ❖ Antécédent d'allergie connue à la levure
- ❖ Antécédent d'allergie connue à un composé de vaccin Hib (tétanus toxoid, lactose)
- ❖ Volontaires ayant reçu précédemment un vaccin de *Haemophilus Influenzae* type b
- ❖ Thrombocytopénie connue ou troubles de coagulation sanguine.

5. 5. Calendrier :

5. 5. 1. Calendrier des vaccinations :

Les différentes doses d'AMA1-C1/Alhydrogel® sont 20µg et 80µg. Nous avons fait une escalade de dose en commençant par la plus petite dose. Un premier groupe de 18 sujets randomisé 2:1 recevant AMA1 20 µg (n=12) ou Hiberix® (n=6). Le but ici est d'établir que cette dose est tolérée avant de tester la dose de 80µg. Les données de la tolérance jusqu'au jour 7 ont été examinées par le Moniteur Médical avant la progression à la dose élevée. L'essai n'allait pas continuer avec la prochaine dose cohorte si dans le jugement clinique du Moniteur Médical, la dose de 80µg poserait un risque inacceptable pour les participants. Un deuxième groupe de 18 sujets est inclus après 2 semaines randomisé 2:1 recevant AMA1 80µg (n=12) ou Hiberix® (n=6).

Le calendrier de vaccination est le jour 0 et le jour 28. Le vaccin AMA1-C1/Alhydrogel® et le vaccin Hiberix® sont conservés entre 0,5°C et 9°C jusqu'au moment de leur utilisation. Une quantité de 0,5 mL (pour

AMA1-C1/Alhydrogel® ou pour le vaccin Hiberix®) est administrée par voie intramusculaire (IM) dans la cuisse avec une aiguille de 23 gauge après préparation du site d'injection avec de l'alcool. Les vaccinations consécutives sont faites de manière alternative dans les cuisses.

Nous avons choisi le vaccin contre l'*Haemophilus influenzae* de type b (Hib) comme le vaccin comparateur pour les raisons suivantes : il pourrait être bénéfique pour les sujets puisqu'une récente étude faite au Mali a trouvé que la maladie à Hib constitue un lourd fardeau chez les enfants de 0-5 ans avec une incidence annuelle de 45,2 pour 100000 [41] ; sa bonne tolérance a été prouvée et son calendrier d'utilisation est facilement incorporable dans le plan de l'étude ; le vaccin contre *Haemophilus influenzae* type b introduit en 2005 dans le programme élargi de vaccination du Mali, a été limité aux grandes villes. La plus part des enfants vivant en zone rurale du Mali comme Donéguébougou n'avait pas reçu le vaccin contre *Haemophilus influenzae* type b.

Le calendrier de vaccination recommandé pour Hiberix® chez les enfants âgés de 2 à 12 mois est de donner des doses de 0,5 ml à un intervalle d'au moins quatre semaines entre les doses. Bien qu'une seule dose soit considérée suffisante pour les enfants de 13 mois et plus, une dose de rappel fournit l'avantage supplémentaire sans augmentation des effets secondaires systémiques [42]. A la fin de l'étude, les participants randomisés pour recevoir AMA1-C1/Alhydrogel® ont reçu gratuitement le vaccin Hiberix® pour ceux qui l'ont souhaité.

5. 5. 2. Le calendrier du suivi des sujets :

Le programme du suivi est composé du suivi de la tolérance des vaccins et du suivi parasitologique pour la recherche d'épisode de paludisme maladie. Il est actif et passif.

a) Le suivi actif :

❖ Le suivi de la tolérance:

Les sujets inclus dans l'étude sont examinés 30 minutes après chaque vaccination aussi aux jours 1, 2, 3, 7, 14 après chaque vaccination et puis aux jours 98 et 154.

Les examens hématologiques sont faits aux jours de vaccination ensuite aux jours 3, 7, 14 après chaque vaccination et aux jours 98 et 154.

Les examens biochimiques (ALAT, Créatinémie) sont faits aux jours de vaccination ensuite aux jours 3 et 14 après vaccination

Le dosage des anticorps anti-AMA1 à l'ELISA sont faits aux jours de vaccination ensuite au jour 14 après chaque vaccination et aux jours 98 et 154.

❖ **Le suivi parasitologique :**

A partir du jour 42 les sujets ont été examinés chaque semaine pendant 16 semaines à la recherche des signes et symptômes du paludisme. Les sujets présentant des signes ou symptômes du paludisme ont fait l'objet de prélèvements sanguins pour la goutte épaisse et le dosage de l'hémoglobine.

b) Le suivi passif : Consiste à la disponibilité des médecins de l'équipe à tout moment pendant la période de suivi, à évaluer toute plainte médicale sur le plan clinique et biologique de façon appropriée.

6. Variables mesurées et techniques :

6. 1. La tolérance : Pour l'évaluation de la tolérance nous avons mesuré l'incidence des événements indésirables classés en fonction de leur relation avec la vaccination.

Un événement indésirable (EI) inclut tout changement toxique, pathologique ou non attendu dans les fonctions anatomiques, physiologiques ou métaboliques comme indiqué par les signes physiques, des symptômes et/ou des changements de résultats de laboratoire détectés à n'importe quel moment de l'étude clinique, qu'il

soit associé avec les produits de l'étude (le vaccin étudié ou le vaccin de comparaison) ou non. Cela inclut une exacerbation de conditions préexistantes et des maladies intercurrentes

La recherche d'EI se fait à travers l'interrogatoire, l'examen physique, et l'examen de laboratoire. Les examens de laboratoire étaient: L'hémogramme à l'aide du Coulteur®, de l'alanine aminotransferase (ALAT) sérique et de la créatinémie à l'aide du Réfloton®, la recherche de *Plasmodium falciparum* à la goutte épaisse et le frottis mince à l'aide du microscope optique et le dosage de l'hémoglobine à l'aide de l'HemoCue®.

L'association éventuelle entre la vaccination et les EIs a été évaluée en utilisant les termes suivants:

Définitive: Association temporelle nette, et aucune autre cause possible.

Probable: Association temporelle nette, et une étiologie alternative potentielle n'est pas apparente.

Possible: Association temporelle moins claire; autres étiologies sont aussi possibles.

Lointaine: Association temporelle entre l'EI et le vaccin où la nature de l'évènement est telle que c'est très peu probable mais pas impossible que le vaccin soit la cause de l'évènement. (Relation cause et effet improbable mais pas impossible).

Pas de lien: L'EI est complètement indépendant de l'administration du vaccin; et/ou l'évidence existe que l'évènement est définitivement lié à une autre étiologie.

Le degré de certitude avec lequel un EI peut être attribué à l'administration du vaccin de l'étude a été déterminé en fonction du lien de cet évènement par rapport au vaccin selon une ou plusieurs des conditions suivantes:

- ❖ L'évènement étant temporellement attribuable à la vaccination ou reproductible à la ré-vaccination.
- ❖ Une réaction de nature semblable a été observée précédemment avec ce type de vaccin et/ou formulation.
- ❖ L'évènement a été souvent rapporté dans la littérature pour ces types de vaccins.

Toutes réactions locales (au site d'injection) ont été considérées en relation avec la vaccination.

6. 2. L'Immunogénicité : Nous avons mesuré les taux d'anticorps anti AMA1/FVO et antiAMA1/3D7 du sérum des sujets par la technique d'ELISA. Les dosages doubles sont faits pour 3D7 et FVO. Les plaques de micro puits sont cotées avec la solution de l'antigène. Les plaques sont purifiées avec le TRIS - tamponné de sel (TBS) contenant du Tween-20 (T-TBS) et bloquées avec TBS qui contient la poudre du lait écrémé. Après avoir été purifiés avec du T-TBS, les échantillons du sérum dilués sont ajoutés en trois exemplaires et sont incubés dans la chambre de température. Après incubation, les anticorps non liés sont enlevés en lavant les plaques avec le T-TBS, et la solution phosphatase alcaline conjuguée d'immunoglobuline G (IgG) anti - humaine de la chèvre est ajoutée à chaque puits et est incubée pendant 2 heures dans la chambre à température de pièce. Les plaques sont ensuite lavées avec le T-TBS, en ajoutant de la solution de phosphatase dans chaque puits. Les plaques sont alors couvertes et sont incubées pendant 20 minutes pour le développement de la couleur. Les plaques sont immédiatement lues à 405 nm avec un lecteur de la microplaque. Les valeurs de la densité optique sont utilisées pour déterminer la concentration de l'anticorps pour AMA1 en comparant à une courbe standard établie avec un contrôle positif connu de sérum inclus dans chaque plaque d'ELISA.

7. Les considérations éthiques :

Le protocole de cette étude a été approuvé par le comité d'éthique de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS) de

l'Université de Bamako, celui de l'Institut National des Allergies et des Maladies Infectieuses (NIAID) des Etats Unis d'Amérique.

Il est à noter qu'un sujet peut se retirer à tout moment de l'étude quand il le souhaite. Cependant, tout sujet qui a reçu au moins une des doses de vaccin est encouragé à rester dans l'étude pour évaluer la tolérance des doses déjà reçues.

Sur le plan bénéfique pour les volontaires qui ont reçu le vaccin de comparaison (Hiberix®) pourraient être immunisés contre *Haemophilus influenzae* type b. Nous avons offert à la fin de l'étude le vaccin Hiberix® aux volontaires qui ont reçu le vaccin AMA1-C1/Alhydrogel®, avec leur volonté. Un traitement gratuit a été offert aux participants pendant la période de l'étude

Sur le plan récompense, les sujets ont eu chacun 75 kg de riz et 75 kg de mil pour le temps perdu engendré par les visites pendant l'étude. Cette récompense a été répartie en 3 tranches : La première a été faite après la première vaccination, la seconde a été faite un mois après la seconde vaccination et la troisième à la fin de l'étude.

V- Résultats :

1. Résultats globaux :

Au total nous avons examiné 77 sujets au dépistage dont 36 sujets ont été inclus (12 sujets repartis en 3 groupes). Les raisons de non inclusion sont les suivantes : les maladies récurrentes (n=13), sérologie hépatite B ou C positive (n=8), autres résultats anormaux de laboratoire (n=7), anémie ou malnutrition (n=6), âge hors de la tranche spécifique (n=6) et un sujet éligible mais non inclus.

Les groupes étaient constitués de 12 sujets et chacun des sujets a reçu la première vaccination. Au moment de la deuxième vaccination il ya avait 2 sujets du groupe AMA1 80µg et 1 sujet du groupe Hiberix® qui n'avaient pas reçu de doses de vaccin. Les 3 étaient positifs à l'hépatite virale A diagnostiquée après la première vaccination. Tous les sujets ont été suivis jusqu'à J154.

Pendant la période de suivi de 154 jours il y a eu au total 243 événements indésirables dont 16 étaient attribués à la vaccination, 227 non liés à la vaccination. Parmi les événements non liés à la vaccination il y a eu 38 cas de paludisme maladie.

2. Caractéristiques sociodémographiques des volontaires :

Tableau 1: Moyenne des âges des sujets en fonction des groupes de traitement

Age (en mois)	Hiberix® (n=12)	AMA1 20µg (n=12)	AMA1 80µg (n=12)	Total (n=36)
Moyenne	33,2	34,0	31,9	33,0
Ecart type	4,9	4,7	6,3	5,3
Minimum	24	27	24	24
Maximum	40	39	42	42

Les âges des sujets variaient de 24 à 42 mois avec une moyenne de 33 mois et un écart type de 5,3. Il n'y avait pas de différence entre les 3 groupes quant à la moyenne des âges ($F=0,45$; $p=0,63$).

Tableau 2 : Répartition des sujets par sexe en fonction du groupe de traitement

Sexe	Hiberix® (n=12)		AMA1 20µg (n=12)		AMA1 80µg (n=12)		Total (n=36)	
		%		%		%		%
Masculin	5	41,6	8	66,6	4	33,3	17	47,2
Féminin	7	58,3	4	33,3	8	66,6	19	52,8
Total	12	100	12	100	12	100	36	100

Au total 52,8% étaient de sexe féminin et 47,2% des sujets étaient de sexe masculin. La répartition par sexe est comparable entre les 3 groupes ($\chi^2=2,8$; $p=0,2$).

Tableau 3 : Répartition des sujets par ethnie en fonction du groupe de traitement

Ethnie	Hiberix®	AMA1 20µg	AMA1 80µg	Total
--------	----------	-----------	-----------	-------

	(n=12)	%	(n=12)	%	(n=12)	%	(n=36)	%
Bamanan	8	66,6	7	58,3	7	58,3	22	61.1
Sarakolé	2	16,7	5	41,7	3	25,0	10	27.8
Peulh	2	16,7	0	0,0	2	16,7	4	11.1
Total	12	100	12	100	12	100	36	100

Au total nous avons 61,1% de Bamanan, 10,0% de Sarakolé et 4,0% de peulh. Les 3 groupes de traitement étaient comparables quant à la répartition des ethnies ($\chi^2=3,4$; $p=0,4$).

3. Evénements indésirables liés à la vaccination :

3. 1. Evénements locaux :

Tableau 4 : Evénements adverses locaux après la première vaccination en fonction des groupes de traitement

Réactions	Hiberix®	AMA1 20µg	AMA1 80µg	Total
-----------	----------	-----------	-----------	-------

Locales	(n=12)	%	(n=12)	%	(n=12)	%	(n=36)	%
Douleur au site d'injection	1	8,3	1	8,3	1	8,3	3	8,3
Œdème au site d'injection	0	0,0	1	8,3	0	0,0	1	2,7
Erythème au site d'injection	1	8,3	1	8,3	0	0,0	2	5,5
Total	2	16,6	3	25,0	1	8,3	6	16,6

Au total il y avait 6 événements indésirables locaux après la première vaccination dont 3 à type de douleur au site d'injection 2 à type d'érythème au site d'injection et 1 à type d'œdème au site d'injection. Trois de ces événements étaient survenus dans le groupe AMA1 20µg, deux dans le groupe Hiberix® et un dans le groupe AMA1 80µg. L'incidence de ces événements après la première vaccination était 25,0% dans le groupe AMA1 20µg, 8,3% dans le groupe AMA1 80µg contre 16,6% dans le groupe Hiberix®. Les groupes étaient comparables quant à la survenue de ces événements. (p>0,57)

Tableau 5 : Événements adverses locaux après la deuxième vaccination en fonction des groupes de traitement

Réactions	Hiberix®		AMA1 20µg		AMA1 80µg		Total	
Locales	(n=11)	%	(n=12)	%	(n=10)	%	(n=33)	%
Douleur au site d'injection	0	0,0	0	0,0	1	10	1	3,0
Œdème au site d'injection	0	0,0	1	8,3	0	0,0	1	3,0
Erythème au site d'injection	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0

site d'injection

Total	0	0,0	1	8,3	1	10,0	2	6,1
-------	---	-----	---	-----	---	------	---	-----

Au total après la deuxième vaccination nous avons documenté 2 événements indésirables locaux dont 1 à type de douleur au site d'injection et 1 à type d'œdème au site d'injection. Parmi ces événements 1 est survenu dans le groupe AMA1 20µg et 1 dans le groupe AMA1 80µg.

Tableau 6 : Evénements adverses locaux après les 2 vaccinations en fonction des groupes de traitement

Réactions	Hiberix®		AMA1 20µg		AMA1 80µg		Total	
Locales	(n=12)	%	(n=12)	%	(n=12)	%	(n=36)	%
Douleur au site d'injection	1	8,3	1	8,3	2	16,6	4	11,1
Œdème au site d'injection	0	0,0	2	16,6	0	0,0	2	5,5
Erythème au site d'injection	1	8,3	1	8,3	0	0,0	2	5,5
Total	2	16,6	4	33,3	2	16,6	8	22,2

Au total il y avait 8 événements indésirables locaux après les deux vaccinations dont 4 cas de douleur au site d'injection, 2 cas d'œdème au site d'injection et 2 cas d'érythème au site d'injection. L'incidence des événements indésirables locaux était 33,3% pour le groupe AMA1 (20µg), 16,6% pour le groupe Hiberix® et 16,6% pour le groupe AMA1 (80µg). Les 3 groupes étaient comparables quant à la survenue des événements locaux liés à la vaccination ($p>0,63$).

3. 2. Événements systémiques liés à la vaccination :

Tableau 7 : Événements systémiques liés à la vaccination par groupe de traitement

Événements	Hiberix®		AMA1 20µg		AMA1 80µg		Total	
	(n=12)	%	(n=12)	%	(n=12)	%	(n=36)	%
Fièvre	1	8,3	1	8,3	0	0,0	2	5,5
Anorexie	1	8,3	0	0,0	0	0,0	1	2,7
Somnolence	1	8,3	0	0,0	0	0,0	1	2,7
Vomissement	1	8,3	0	0,0	0	0,0	1	2,7
Total	4	33,3	1	8,3	0	0,0	5	13,8

Au total il y a eu 5 cas d'événements adverses systémiques dont 2 cas de fièvre, 1 cas d'anorexie, 1 cas de somnolence et 1 cas de vomissement. Les 3 groupes de traitement étaient comparables quant à la survenue

des événements indésirables systémiques non liés à la vaccination (p>0,09).

3. 3 Événements biologiques liés à la vaccination :

Tableau 8 : Événements indésirables biologiques liés à la vaccination par groupe de traitement.

Anomalies	Hiberix®		AMA1 20µg		AMA1 80µg		Total	
Biologiques	(n=12)	%	(n=12)	%	(n=12)		(n=36)	
Hyperleucocytose	1	8,3	1	8,3	0	0,0	2	5,5
Élévation ALT	0	0,0	1	8,3	0	0,0	1	2,7
Total	1	8,3	2	16,6	0	0,0	3	8,3

Au total les événements indésirables biologiques survenus étaient au nombre de 3 dont 2 cas d'hyperleucocytose et 1 cas d'élévation ALAT. Les groupes de traitement étaient comparables (p>0,45).

4. Evénements indésirables non liés à la vaccination :

4. 1. Evénements indésirables systémiques non liés à la vaccination :

Tableau 9 : Evénements indésirables systémiques non liés à la vaccination par groupes de traitement

Evénements	Hiberix®		AMA1 20µg		AMA1 80µg		Total	
Adverses	(n=12) NES		(n=12) NES		(n=12) NES		(n=36) NES	
Infection resp.	19	1,6	27	2,3	21	1,8	67	1,9
Conjonctivite	14	1,2	12	1,0	13	1,1	39	1,1
Paludisme	14	1,2	12	1,0	12	1,0	38	1,1
Infection cutanée	6	0,5	1	0,1	7	0,6	14	0,4
Blessures	2	0,2	6	0,5	3	0,3	11	0,3
Fièvre	5	0,4	2	0,2	3	0,3	10	0,3
Hépatite A	3	0,3	2	0,2	3	0,3	8	0,2
Autres*	10	0,8	8	0,7	8	0,7	26	0,7
Total	73	6,1	70	5,8	70	5,8	213	5,9

Autres* : bouchon de cérumen (n=1), fracture (n=1), gastro-entérite (n=3), oreillons (n=1), otite (n=7), somnolence (n=1), splénomégalie (n=1), œdème (n=2), fièvre typhoïde (n=1), vomissement (n=4), dermatite (n=2), brûlure (n=1), inflammation (n=1).

N.E.S : Nombre d'épisode par sujet. Resp. : Respiratoires. Cutanée : cutanée.

Au total il y avait 213 événements systémiques non liés à la vaccination dont 67 cas d'infection respiratoire, 39 cas de conjonctivite, 38 cas de

paludisme, 14 cas de d'infection cutanée, 11 cas de blessures, 10 cas de fièvre, 8 cas d'hépatite A, et le reste (26 cas) était partagé entre les autres événements systémiques précisés ci dessus. Les groupes de traitement étaient comparables quant à la survenue de ces événements par exemple : Pour les infections respiratoires le $p > 0,75$.

4. 2. Evénements indésirables biologiques non liés à la vaccination :

Tableau 10 : Evénements indésirables biologiques non liés à la vaccination par groupe de traitement

Anomalies biologiques	Hiberix®		AMA1 20µg		AMA1 80µg		Total	
	(n=12)	N.E.S	(n=12)	N.E.S	(n=12)	N.E.S	(n=36)	N.E.S
Hyperleucocytose	5	0,4	1	0,1	5	0,4	11	0,3
Leucopénie	0	0,0	2	0,2	0	0,0	2	0,1
Total	5	0,4	3	0,3	5	0,4	13	0,4

Au total il y avait 13 événements indésirables biologiques non liés à la vaccination dont 11 cas d'hyperleucocytose et 2 cas leucopénie. Les groupes de traitement étaient comparables quant à la survenue de ces événements.

5. Immunogénicité :

5. 1. Evolution de la positivité aux anticorps anti AMA1/FVO, AMA1/3D7 par groupe de traitement :

Tableau 11 : Evolution de la positivité d'anticorps anti-AMA1-FVO par groupe de traitement.

Groupes traitement	J0		J14		J42		J98		J154	
Hiberix® (n=11)	5	45,4%	5	45,4%	5	45,4%	3	27,2%	6	54,5%
AMA1 20µg (n=12)	4	33,3%	11	91,6%	12	100%	11	91,6%	11	91,6%
AMA1 80µg (n=11)	5	45,4%	11	100%	10	90,9%	9	81,8%	7	63,6%
Total (n=34)	14	41,1%	27	79,4%	27	79,4%	23	67,6%	24	70,5%

Les 3 groupes étaient comparables au jour 0 quant à la proportion de sujets avec l'anticorps anti-AMA1-FVO ($\chi^2=0,4$ $p=0,7$). Au jour 14 il ya eu une augmentation de cette proportion de sujets avec l'anticorps anti-AMA1-FVO dans les groupes 20µg et 80µg (91,6% et 100% respectivement) contre 45,4% dans le groupe Hiberix® ($\chi^2=11,7$ $p=0,003$). Cette différence de proportion de sujets avec l'anticorps AMA1-FVO est restée statistiquement significative jusqu'au jour 98. Au jour 154 il n'y avait pas de différence significative entre les groupes quant à la proportion de sujets avec l'anticorps anti-AMA1-FVO ($\chi^2=4,1$ $p=0,1$). La figure 3 présente cette évolution de la positivité de l'anticorps anti-AMA1-FVO.

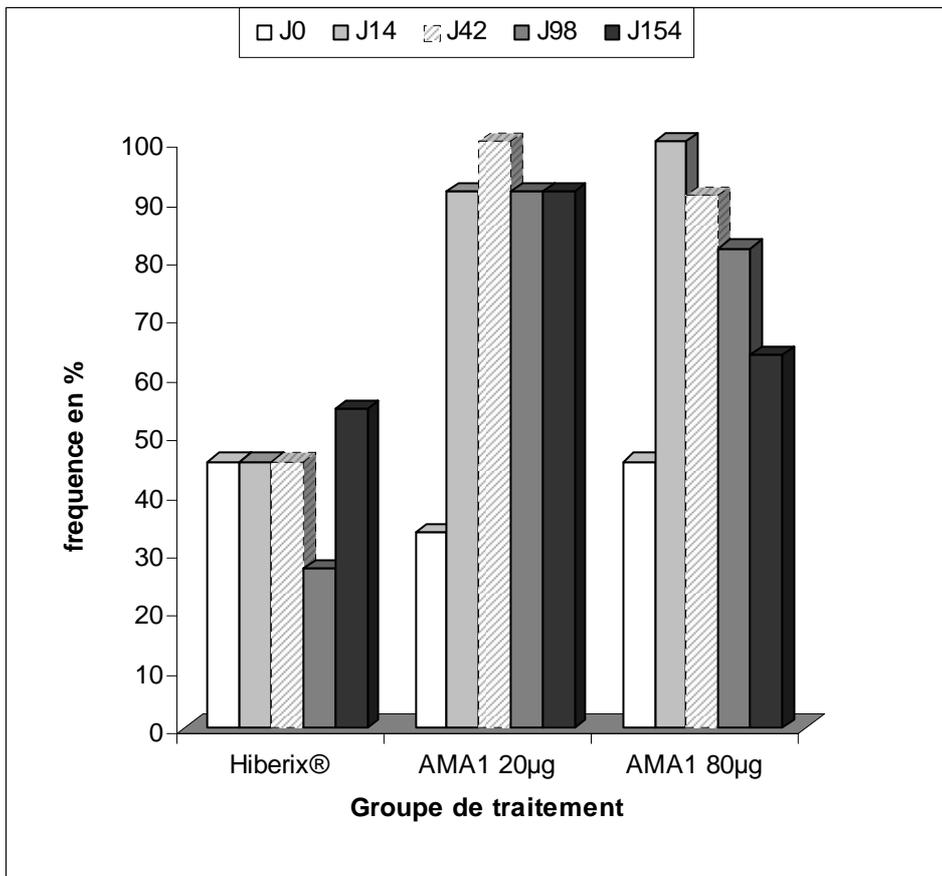


Figure 3 : Evolution de la positivité de l'anticorps anti-AMA1-FVO par groupe de traitement.

Tableau 12 : Evolution de la positivité de l'anticorps anti AMA1/3D7 par groupes de traitement.

Groupes traitement	J0	J14	J42	J98	J154
--------------------	----	-----	-----	-----	------

Hiberix® (n=11)	7	63,6%	6	54,5%	5	45,4%	3	27,2%	6	54,5%
AMA1 20µg (n=12)	4	33,3%	11	91,6%	12	100%	12	100%	8	66,6%
AMA1 80µg (n=11)	6	54,5%	10	90,9%	10	90,9%	10	90,9%	9	81,8%
Total (n=34)	17	50,0%	27	79,4%	27	79,4%	25	73,5%	23	67,6%

Les 3 groupes étaient comparables au jour 0 quant à la proportion de sujets avec l'anticorps anti-AMA1-3D7 ($\chi^2=2,2$ $p=0,3$). Au jour 14 il y a eu une augmentation de cette proportion de sujets avec l'anticorps anti-AMA1-3D7 dans les groupes 20µg et 80µg (91,6% et 90,9% respectivement) contre 54,5% dans le groupe Hiberix® ($\chi^2=6,1$ $p=0,04$). Cette différence de proportion de sujets avec l'anticorps AMA1-3D7 est restée statistiquement significative jusqu'au jour 98 ($\chi^2=18,1$; $p=0,000$). Au jour 154 il n'y avait pas de différence significative entre les groupes quant à la proportion de sujets avec l'anticorps anti-AMA1-3D7 ($\chi^2=1,8$ $p=0,3$). La figure 4 présente cette évolution de la positivité de l'anticorps anti-AMA1-3D7.

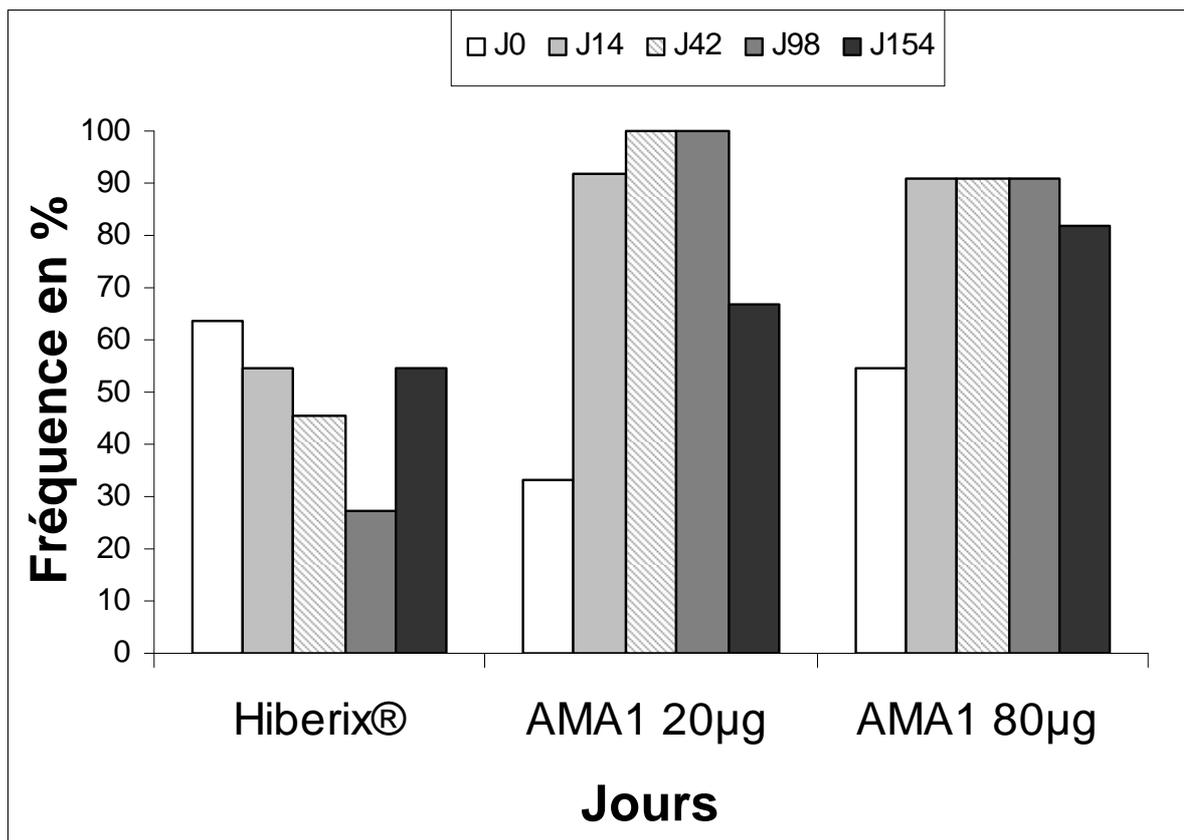


Figure 4 : Evolution de la positivité de l'anticorps anti-AMA1-3D7 par groupe de traitement.

5. 2. Moyenne et médiane de la densité optiques des anticorps anti AMA1/FVO et anti AMA1/3D7 par groupes de traitement :

Tableau 13 : Moyenne et médiane de la densité optique des anticorps anti-AMA1-FVO par groupes de traitement.

Anticorps	J0	J14	J42	J98	J154
-----------	----	-----	-----	-----	------

Hiberix®	M	429,8	339,2	206,1	126,8	117,9
m		14	14	14	14	35
AMA1 20µg	M	197,0	325,1	550,6	163,4	115,4
m		14	104,5	390,5	126,5	97,5
AMA1 80µg	M	32,4	327,0	794,4	155,3	205,7
m		14	85	157	40	91

M : moyenne ; m : médiane

Les 3 groupes étaient comparables quant à la moyenne et à la médiane de la densité des anticorps anti-AMA1-FVO au jour 0 ($\chi^2=0,9$; $p=0,6$). Au jour 14 ils étaient également comparables ($\chi^2=3,1$; $p=0,2$). Au jour 42 la moyenne et la médiane étaient élevées dans les groupes AMA1 20µg et AMA1 80µg par contre elle était moins élevée dans le groupe Hiberix® ($\chi^2=9,2$ $p=0,009$). Au jour 98 les groupes étaient comparables ($\chi^2=4,3$ $p=0,11$), ainsi que au jour 154 ($\chi^2=1,2$ $p=0,5$) quant à la moyenne et à la médiane de la densité des anticorps anti-AMA1-FVO. La figure 5 représente l'évolution de la moyenne de la densité des anticorps anti-AMA1-FVO.

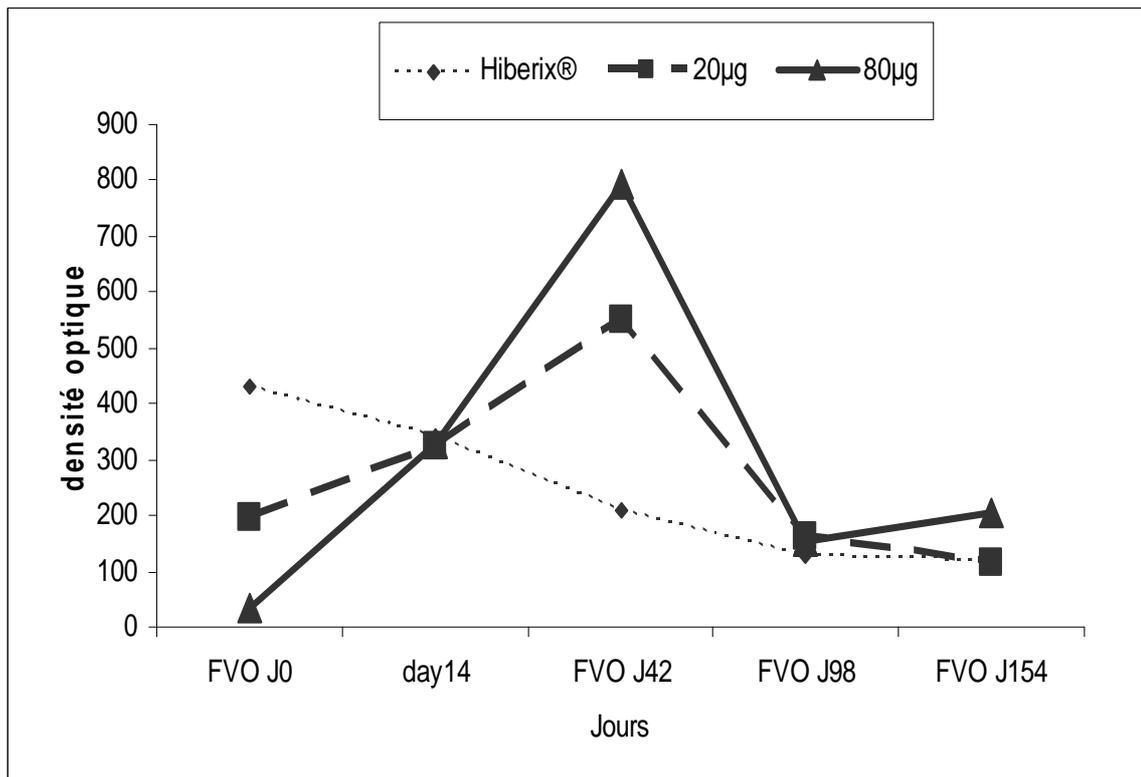


Figure 5 : Evolution des Moyennes de la densité optique des anticorps anti- AMA1-FVO par groupes de traitement.

Tableau 14 : Moyenne et médiane de la densité optique des anticorps anti AMA1 /3D7 par groupes de traitement

Anticorps		J0	J14	J42	J98	J154
Hiberix®	M	50,9	445,4	234	122,2	155,3
(m)		(36)	(29)	(14)	(14)	(73)
AMA1 20µg	M	60,9	291,7	606,5	176,8	105,6

(m)	(14)	(129)	(624)	(148,5)	(115)
AMA1 80µg M	33,6	396,9	842,8	186,0	253,6
(m)	(29)	(143)	(275)	(91)	(79)

M : moyenne ; m : médiane

Les groupes étaient comparables quant à la moyenne et la médiane de la densité des anticorps au jour 0 ($\chi^2=2,8$ $p=0,2$). Au jour 14 ils étaient également comparables ($\chi^2=3,4$ $p=0,1$). Au jour 42 la moyenne et la médiane étaient élevées dans les groupes AMA1 20µg et AMA1 80µg, par contre elles étaient moins élevées dans le groupe Hiberix® ($\chi^2=9,6$ $p=0,007$), cette même situation s'est présentée au jour 98 ($\chi^2=6,4$ $p=0,03$). Les groupes étaient comparables au jour 154 ($\chi^2=0,9$ $p=0,6$). La figure 6 représente la fréquence de la moyenne de la densité des anticorps anti-AMA1-3D7.

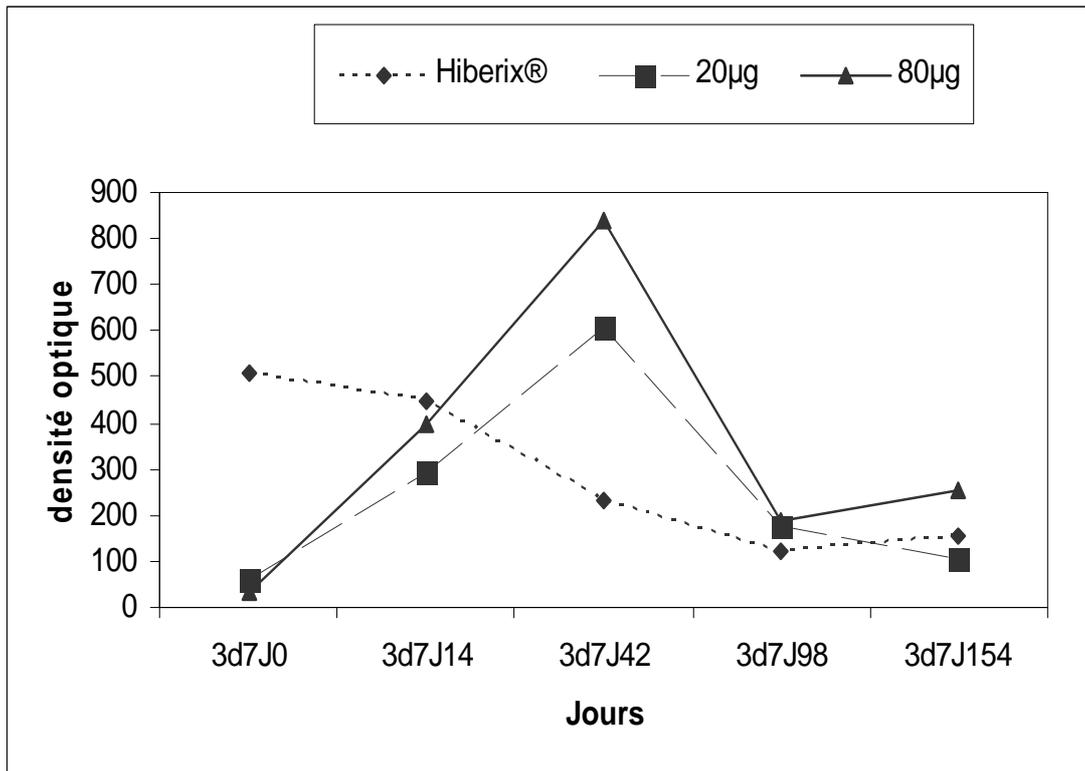


Figure 6 : Evolution des moyennes de la densité optique des anticorps anti- AMA1-3D7 par groupes de traitement.

VI-Discussion, commentaire et conclusion :

Cette étude a été effectuée dans le cadre du partenariat entre le MRTC/DEAP du Mali et le MVDB/NIAID/NIH des USA. Elle répond à une des missions du MRTC/DEAP qui est de contribuer à l'effort international de développer les vaccins contre le paludisme.

L'étude s'est déroulée à Donéguébougou qui est un village situé dans la zone de savane soudanienne du Mali où le paludisme est hyperendémique [43]. D'importantes études de préparation de site de vaccin antipaludique ont été entreprises dans ce village depuis 1997 et ont abouti au choix de ce village pour notre essai.

La recherche de vaccin mis sur le marché passe par plusieurs étapes : une étape pharmaceutique, une étape préclinique chez les animaux et une étape clinique chez l'homme. C'est ainsi qu'avant de passer chez l'homme d'importantes études précliniques ont été faites sur AMA1, parmi lesquelles :

-Une étude chez les souris, a démontré qu'une immunisation avec un fragment recombinant de l'ectodomaine de la protéine AMA1 dans *Plasmodium chabaudi adami* entraîne une forte protection chez cet animal. [44].

-Une autre étude chez les souris, a démontré qu'une immunisation passive utilisant des anticorps monoclonaux spécifiques de la protéine AMA1 de *Plasmodium yoelii* a été très efficace contre une infection à cette espèce chez cet animal. [45]

-Une étude chez les singes a démontré, qu'une immunisation par un fragment recombinant AMA1 produit sur *Pichia pastoris* a induit une protection significative contre l'infection à *Plasmodium falciparum* chez ces animaux [13].

Alhydrogel® a été choisi comme adjuvant le fait qu'il soit toléré et qu'il a été largement utilisé dans les vaccins humains déjà autorisés sur le marché.

Au regard de ces résultats précliniques encourageants le développement de ce candidat vaccin a été poursuivi avec des études cliniques pour tester la tolérance et l'immunogénicité. C'est ainsi :

-Un essai de phase Ia chez des adultes américains en bonne santé vivant dans une zone indemne de paludisme a été réalisé en 2003. Les résultats de cet essai ont démontré que le vaccin avait une bonne tolérance et une bonne immunogénicité [46].

-Un essai de phase Ib chez les adultes Maliens exposés au risque de paludisme à Donéguébougou a été réalisé d'Avril 2004 à Décembre 2005. Cette étude a démontré que les doses 5, 20 et 80µg étaient bien tolérées et il y avait une bonne immunogénicité surtout à la dose de 80µg. [47].

Au vu de ces résultats encourageants, un essai clinique Phase I randomisé, double aveugle contrôlé de ce candidat vaccin chez les enfants 2 à 3 ans a été entrepris à Donéguébougou. Les résultats de cet essai de Phase I après 154 jours sont discutés.

Un essai phase I, c'est pour estimer la fréquence des événements indésirables et cela avec un nombre limité de sujets ; randomisé c'est pour une bonne comparabilité entre les groupes ; double aveugle c'est pour éviter des biais d'observation.

Un vaccin contre *Hemophilus influenzae* type b venant d'être intégré dans le programme élargi de vaccination (PEV) dans les grandes villes au Mali et qui n'était pas arrivé en zone rurale au moment de l'étude. Les infections à *Hemophilus influenzae* constituent un lourd fardeau chez les enfants de 0 à 5 ans avec une incidence annuelle de 45,2 pour 100000 au Mali [41].

L'évaluation de la tolérance a tenu compte de l'évaluation des paramètres cliniques hématologiques et biologiques résumés en événements indésirables locaux, systémiques et laboratoire (biologiques) liés à la vaccination.

Les événements indésirables liés à la vaccination représentaient 6,5% et ces événements étaient partagés en :

❖ Evènements indésirables locaux (EIL) :

La fréquence de ces événements chez les sujets qui ont reçu le vaccin AMA1 20µg et 80µg était respectivement 33,3% et 16,6% contre 16,6% chez les sujets qui ont reçu Hiberix®. Ces événements étaient partagés en douleur au site d'injection 11,1%, œdème au site d'injection 5,5%, et érythème au site d'injection 5,5%. Il n'y a pas eu d'augmentation de ces événements après la deuxième vaccination dans les groupes de traitement. Nos résultats étaient inférieurs à ceux retrouvés par :

-Malkin E.M., et al. 2003 Chez les adultes aux USA, qui ont eu avec AMA1-C1/Alhydrogel®, une fréquence d'érythème entre 40 et 50% **[46]** ;

-Dicko A., et al. en 2004 chez les adultes Maliens, avec AMA1-C1/Alhydrogel®, ont eu une fréquence des EIs entre 25,0% à 91,6%, une fréquence de la douleur au site d'injection entre 22,8% à 25,05%, une fréquence d'œdème au site de l'injection entre 14,2% à 40% **[47]** ;

-Thera M.A., et al. en 2007 chez les adultes au Mali, qui ont eu avec FMP2.1/AS02A, 55 à 100% la fréquence des douleurs au site d'injection et 10 à 65% la fréquence de l'œdème au site d'injection **[48]** ;

-Kalifa A.Bojang et al. en 2005 chez les enfants en Gambie, qui ont eu avec le RTS,S/AS02A 88,3 à 98,3% la fréquence des douleurs et 8,3 à 20,0% la fréquence de l'œdème **[49]**.

❖ Evènements indésirables systémiques:

La fréquence de ces événements chez les sujets qui ont reçu le vaccin AMA1 20µg et 80µg était respectivement 8,3% et 0,0% contre 33,3% chez les sujets qui ont reçu Hiberix®. Il ya eu peu d'évènements indésirables systémiques. Ces événements étaient partagés en fièvre 5,5%, anorexie 2,7%, somnolence 2,7% et vomissement 2,7%. Nos résultats étaient :

- Comparables à ceux retrouvés par Dicko A., et al. en 2004 chez les adultes Maliens avec AMA1-C1/Alhydrogel®, ont eu 5,5% la fréquence de la fièvre après la première vaccination **[47]** ;

- Inférieurs à ceux retrouvés par Thera M.A., et al. en 2007 chez les adultes au Mali avec le FMP2.1/AS02A, qui ont eu 10 à 15,7% la fréquence de la fièvre et 5 à 10% la fréquence de la nausée. [48];

- Inférieurs à ceux retrouvés par Kalifa A.Bojang et al. en 2005 chez les enfants en Gambie qui ont eu avec le RTS,S/AS02A, 8,5 à 10,0% la fréquence de la fièvre et 3,4 à 10,0% la fréquence de la nausée [49].

❖ Evènements indésirables de laboratoire :

Il ya eu peu d'évènements indésirables biologiques. La fréquence de ces événements chez les sujets qui ont reçu le vaccin AMA1 20µg et 80µg était respectivement 16,3% et 0,0% contre 8,3% chez les sujets qui ont reçu Hiberix®. Il ya eu peu d'évènements indésirables de laboratoire. Ces événements étaient partagés en hyperleucocytose 5,5%, et élévation de l'ALT 2,7%. Nos résultats étaient :

- Inférieurs à ceux retrouvés par Thera M.A., et al. en 2008 au Mali chez les adultes : Une élévation des ALT chez 4 sujets, tous ayant bénéficiés le vaccin FMP2.1/AS02A [49].

Les évènements indésirables non liés à la vaccination représentaient 93,4% et étaient majoritairement dominés par les évènements indésirables systémiques dont les plus fréquents étaient les infections respiratoires, la conjonctivite, et le paludisme.

Après la vaccination les niveaux des anticorps ont augmenté chez les sujets qui ont reçu AMA1 20µg et 80µg et cela du jour 0 au jour 42. La moyenne des niveaux d'anticorps anti-AMA1-FVO du groupe AMA1 20µg, était 197,08 au jour 0 et 325,16 au jour 14 ; elle était pour l'anticorps anti-AMA1-3D7 dans le groupe 80µg, 33,63 au jour 0 et 842,81 au jour 42. Le nombre de sujets ayant l'anticorps AMA1 a progressé du jour 0 au jour 42 dans les groupes de traitement AMA1 20µg et 80µg. Pour le groupe AMA1 20µg le nombre est passé de 4 au jour 0 à 11 au jour 14 ; pour le groupe AMA1 80µg de 5 au jour 0 à 11 au jour 14. Pendant ce moment dans le groupe de traitement Hiberix®, les

niveaux d'anticorps n'ont pas augmenté, le nombre de sujets producteurs d'anticorps n'a pas augmenté (la moyenne du niveau anticorps anti-AMA1-FVO était 429,81 au jour 0 et 339,27 au jour 14 : et le nombre de sujets producteurs d'anticorps était 5 au jour 0 et 5 au jour 14).

Au jour 98 le niveau des anticorps anti-AMA1 dans le groupe de sujets qui ont reçu AMA1 est devenu comparable à celui du groupe de sujets qui ont reçu Hiberix®, indiquant une durée relativement courte du niveau des anticorps anti-AMA1. Cette courte durée du niveau d'anticorps antipaludique a été démontrée dans les études réalisées au Mali et au Kenya. **[50; 51]**.

Les taux d'anticorps antipaludique ont augmenté après la troisième vaccination dans les études effectuées au Kenya en Gambie et au Mozambique chez les enfants en zone d'endémie **[49; 52; 53]**. Mais il n'ya pas eu d'augmentation considérable après la troisième vaccination chez les adultes vivant en zone d'endémie dans une étude effectuée au Mali **[47]**.

En conclusion la fréquence des événements indésirables liés à la vaccination était relativement basse et les groupes de traitement étaient comparables.

AMA1C1/Alhydrogel administré en intramusculaire induit la production d'anticorps anti-AMA1-(FVO et 3D7) chez les enfants vivant en zone d'endémie palustre mais la durée de ces anticorps semble relativement courte.

Au total AMA1C1/Alhydrogel a une bonne tolérance et une bonne immunogénicité.

VII-Recommandation :

A la fin de cette étude:

Au regard de la bonne tolérance et de la bonne immunogénicité de AMA1C1/Alhydrogel® nous recommandons le passage à la Phase II en vu de tester son efficacité chez les enfants.

Références bibliographiques :

1. Odile Mercereau-Puijalon. Vaccins contre le paludisme un long chemin semé d'embûche.

Editions scientifiques et médicales ©2002 Elsevier SAS, 1p

2. OMS, 2001 Quelles perspectives pour faire reculer le paludisme
Bulletin de l'OMS, Recueil d'article No4, 2001

3. WHO. Portfolio of candidate malaria vaccines currently in development. **2005** cited; Available from

http://www.who.int/vaccine_research/documents/en/malaria_table.pdf.

4. www.wikipedia.org/wiki/paludisme

5. World Health Organization, Malaria a global crisis Geneva: *WHO 2000*.

6. Duflo B., Ballique H., Ranque P., Diallo A.N., Brucker G., Alavi H., Prescott N. Estimation of the impact of principal diseases in rural Mali.

Revue epidemiol santé publique **1986**; 34(6):405-18.

7. Dolo A, Camara F, Poudiougou B, Touré A, Kouriba B, Bagayogo M, Sangaré D, Diallo M, Bosman A, Modiano D, Touré YT, Doumbo O.k. Epidemiology of malaria in a village of Sudanese savannah area in Mali (Bancoumana). 2. Entomo-parasitological and clinical study

Bull Soc Pathol Exot. **2003 Nov**; 96(4):308-12

8. Programme National de Lutte Contre le Paludisme. Politique Nationale de Lutte Contre le Paludisme au Mali. Deuxième révision. Bamako, Mali (**2003**).

9. Traore AM. 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 Gabriel Touré.

Thèse de Méd Bamako, 2001 ; 83p; 121

10. Ranque S, Poudiougou B, Traoré A, Keita M, Oumar AA, Safeukui I, Marquet S, Cabantous S, Diakité M, Mintha D, Cissé MB, Keita MM, Dessein AJ, Doumbo OK. Life-threatening malaria in African children: a prospective study in a mesoendemic urban setting.

Pediatr Infect Dis J. 2008 Feb; 27(2):130-5.

11. Good M.F., Kaslow D.C. & Miller, L.H. Pathways and strategies for developing a malaria blood-stage vaccine.

Annu. Rev. Immunol. (1998) ; 16 : 57-87.

12. Escalante, A.A. et al. Polymorphism in the gene encoding the apical membrane antigen-1 (AMA1) of *Plasmodium falciparum*. X. Asembo Bay Cohort Project.

Mol. Biochem. Parasitol. (2001); 113: 279-287.

13. Anthony W.S., Kennedy M.C., Brian P.K., Saul A., Carole A.L., and Miller L.H. Vaccination of Monkeys with Recombinant *Plasmodium falciparum* AMA-1 Confers protection against blood-stage Malaria.

Infection and Immunity, Dec. 2002; p: 6961-6967

14. Kennedy MC, Wang J, Zhang Y, Miles AP, Chitsaz F, Saul A, et al. In vitro studies with recombinant *Plasmodium falciparum* apical membrane antigen 1 (AMA1): production and activity of an AMA1 vaccine and generation of a multiallelic response.

Infect Immun (2002); 70(12):6948-60.

15. Hoffman S. L., Isenbarger D., Long G. W., Sedegah M., Szarfman A., Waters L., Hollingdale M.R., Van Der Meide P. H., Finbloom D.S., and Ballou W. R. Sporozoites vaccine induces genetically restricted T cell elimination of malaria from hepatocytes.

Science **1989 Jun. 2**; 244(4908); p: 1078-1081

16. Malik A., Egan J. E., Houghten Ra , Sadoff J. C., Hoffman S.L. Human cytotoxic T lymphocytes against the *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **1991 Apr. 15**; 88(8) P: 3300-3304

17. D.M. Gordon, T.W. McGovern, U. Krzych, J.C. Cohen, I. Schneider and R. LaChance et al., Safety, immunogenicity, and efficacy of a recombinantly produced *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein-hepatitis B surface antigen subunit vaccine

J. Infect. Dis. 171 **(1995)**; (6), pp: 1576–1585.

18. K.A. Bojang, P.J. Milligan, M. Pinder, L. Vigneron, A. Allouche and K.E. Kester et al., Efficacy of RTS,S/AS02 malaria vaccine against *Plasmodium falciparum* infection in semi-immune adult men in The Gambia: a randomised trial

Lancet 358 **(2001)**; (9297), pp:1927–1934.

19. P.L. Alonso, J. Sacarlal, J.J. Aponte, A. Leach, E. Macete and P. Aide et al., Duration of protection with RTS,S/AS02A malaria vaccine in prevention of *Plasmodium falciparum* disease in Mozambican children: single-blind extended follow-up of a randomised controlled trial

Lancet 366 **(2005)**; (9502), pp: 2012–2018.

20. Lalvani A., Moris P., Voss G., Pathan A. A., Kester K. E., Brookes R., et al. Potent induction of focused Th1-type cellular and humoral

immune responses by RTS,S/SBAS2, a recombinant *Plasmodium falciparum* malaria vaccine.

Journal of infectious diseases (1999); 180 p: 1656-64.

21. Hill A., Pre-erythrocytic malaria vaccines: towards greater efficacy.

Nat. Rev. Immunol. 6 (2006); pp: 21–32.

22. S.C. Gilbert, M. Plebanski, S.J. Harris, C.E. Allsopp, R. Thomas and G.T. Layton et al., A protein particle vaccine containing multiple malaria epitopes.

Nat. Biotechnol. 15 (1997); (12), pp: 1280–1284

23. V.S. Moorthy, E.B. Imoukhuede, P. Milligan, K. Bojang, S. Keating and P. Kaye et al., A randomised, double-blind, controlled vaccine efficacy trial of DNA/MVA ME-TRAP against malaria infection in Gambian adults.

PLoS Med 1 (2004); (2), p: e33.

24. Kumar S, Collins W, Egan A, Yadava A, Garraud O, Blackman MJ, et al. Immunogenicity and efficacy *in vivo* monkeys of for recombinant *Plasmodium falciparum* vaccines in multiple adjuvant formulations base on the 19KDa C terminus of merozoite surface protein.

Infection and Immunity (2000); 68: 2215-23

25. Keitel WA, Kester KE, Atmar RL, et al. Phase 1 trial of two recombinant vaccines containing the 19KDa carboxy terminal fragment of *Plasmodium falciparum* merozoite protein-1 (msp1(19)) and T helper epitopes of tetanus toxoid.

Vaccine (1999); 18: 531-9

26. Thomas, A.W., Bannister, L.H., Waters, A.P. Sixty-six kilodalton-related antigens of *Plasmodium knowlesi* are merozoite surface antigens associated with the apical prominence.

Parasite Immunol. (1990); 12: 105-13.

27. Narum, D.L. & Thomas, A.W. Differential localization of full-length and processed forms of PF83/AMA1 an apical membrane antigen of *Plasmodium falciparum* merozoites.

Mol. Biochem. Parasitol. (1994); 67: 59-68.

28. Crewther, P.E., Culvenor, J.G., Silva, A., Cooper, J.A. & Anders, R.F. *Plasmodium falciparum*: two antigens of similar size are located in different compartments of the rhoptry.

Exp. Parasitol. (1990); 70: 193-206.

29. Cortes A., Mellombo M., Muller I., Benet A., Reeder J.C., et al. Geographical structure of diversity and differences between symptomatic and asymptomatic infection for *Plasmodium falciparum* vaccine candidate AMA1.

Infect Immun (2003); 71: 1416-26.

30. Duffy P. E., Kaslow D. C., A novel malaria protein Pfs25 are genetically linked and synergistic as *falciparum* malaria transmission-blocking vaccines.

Infection and Immunity. 1997 Mars; 65 (3) p: 1109-1113

31. Clark I. A. Cell-mediated immunity in protection and pathology of malaria.

Parasitol.Today (1987); 3(10) p: 300-305.

32. Playfair J. H. L., Taverne J., Bate C.A.W., Souza JB. The malaria vaccine: anti-parasite or anti-disease?

Immunol. Tod, (1990);11, p: 25-27

33. M.F. Good, Genetically modified Plasmodium highlights the potential of whole parasite vaccine strategies

Trends Immunol. 26 (2005); (6), pp: 295–297.

34. A.K. Mueller, M. Labaied, S.H. Kappe and K. Matuschewski, Genetically modified Plasmodium parasites as a protective experimental malaria vaccine,

Nature 433 (2005) ; (7022), pp : 164–167.

35. VERMOUT S. DENIS M. LOSSON B. MIGNON B. Choix d'un adjuvant lors d'essais de vaccination

Article de synthèse *Ann. Méd. Vét.*, 2003 ; 147 : 393-401

36. Bruno Guy and Nicolas Burdin New Adjuvants for Parenteral and Mucosal Vaccines

Thérapie 2005 Mai-Juin; 60; (3): 235-241

37. L.H. Miller, A. Saul and S. Mahanty, Revisiting Freund's incomplete adjuvant for vaccines in the developing world

Trends Parasitol. 21 (2005) ; (9), pp. 412–414.

38. Davenport L.W. Regulatory considerations in vaccine design.

Pharm Biotechnol. (1995); 6:81-96.

39. [http: www.malariavaccine.org/files/MVI_clinical_trials_paper.pdf](http://www.malariavaccine.org/files/MVI_clinical_trials_paper.pdf)

40. A. Dicko, I. Sagara, D. Diemert, M. Sogoba, M.B. Niamebele, A. Dao, G. Dolo, D. Yalcouye, D.A. Diallo, A. Saul, L.H. Miller, Y.T.

Toure, A.D. Klion, and O.K. Doumbo. Year-to-Year Variation in the Age-Specific Incidence of Clinical Malaria in Two Potential Vaccine Testing Sites in Mali With Different Levels of Malaria Transmission Intensity.

Am. J. Trop. Med. Hyg., 77(6), (2007); pp. 1028–1033.

41. Sow SO, Diallo S, Campbell JD, Tapia MD, Keita T, Keita MM, Murray P, Kotloff KL, Levine MM. Burden of invasive disease caused by *Haemophilus influenzae* type b in Bamako, Mali: impetus for routine infant immunization with conjugate vaccine.

Pediatr Infect Dis J. 2005 Jun; 24(6):533-7

42. GlaxoSmithKline, UK. Electronic Medicines Compendium Document last updated **May 04, 2004**

[http://emc.medicines.org.uk/emc/assets/c/html/displaydoc.asp?documentid = 4864](http://emc.medicines.org.uk/emc/assets/c/html/displaydoc.asp?documentid=4864)

43. Doumbo O. Epidémiologie du paludisme au Mali: études de la chloroquino-résistantes, essai de stratégie de contrôle basée sur l'utilisation des rideaux imprégnés de perméthrine associée au traitement systématique des accès fébrile.

Thèse de Doct Science biologique (Parasitologie, pathologie, écologie), Montpellier, France 1992.

44. Anders R.F., Crewther P. E., Edwards S., Margetts M., Matthew M.L., Pollock B., and Pye D., Immunization with recombinant AMA-1 protects mice against infection with *Plasmodium chabaudi*.

Vaccine (1998); 16 p: 240-247

45. Narum DL, Ogun SA, Thomas AW, Holder AA. Immunization with parasite-derived apical membrane antigen 1 or passive immunization with a specific monoclonal antibody protects BALB/c mice against lethal *Plasmodium yoelii yoelii* YM blood-stage infection.

Infect Immun. 2000 May; 68(5):2899-906.

46. Malkin EM, Diemert DJ, McArthur JH, Perreault JR, Miles AP, Giersing BK, Mullen GE, Orcutt A, Muratova O, Awkal M, Zhou H,

Wang J, Stowers A, Long CA, Mahanty S, Miller LH, Saul A, Durbin AP. Phase 1 clinical trial of apical membrane antigen 1: an asexual blood-stage vaccine for *Plasmodium falciparum* malaria.

Infect Immun. **2005 Jun**; 73(6):3677-85.

47. Dicko A., Diemert D.J., Sagara I., Sogoba M., Niambele M.B., et al. Impact of a *Plasmodium falciparum* AMA1 Vaccine on Antibody Responses in Adult Malians.

PLoS ONE (2007 Oct 17); 2(10): e1045.

48. Thera MA, Doumbo OK, Heppner DG, Stewart VA, Angov E, et al. Safety and Immunogenicity of an AMA-1 Malaria Vaccine in Malian Adults: Results of a Phase 1 Randomized Controlled Trial.

PLoS ONE. **2008** Jan 23; 3(1):e1465

49. Bojang KA, Olodude F, Pinder M, Ofori-Anyinam O, Vigneron L, Fitzpatrick S, Njie F, Kassanga A, Leach A, Milman J, Rabinovich R, McAdam KP, Kester KE, Heppner DG, Cohen JD, Tornieporth N, Milligan PJ. Safety and immunogenicity of RTS,S/AS02A candidate malaria vaccine in Gambian children.

Vaccine. **2005 Jul 14**;23(32):4148-57. Epub 2005 Apr 15.

50. Fruh K., Doumbo O., Muller H. M., Koita O., McBride J., et al. Human antibody response to the major merozoite surface antigen of *Plasmodium falciparum* is strain specific and short-lived.

Infect Immun (1991 Apr); 59(4): 1319-24.

51. Kinyanjui S.M., Conway D.J., Lanar D.E., Marsh K. IgG antibody responses to *Plasmodium falciparum* merozoite antigens in Kenyan children have a short half-life.

Malar (2007 Jun 28); J 6: 82.

52. Withers M.R., McKinney D. Ogutu B.R., Waitumbi J.N., et al. Safety and Reactogenicity of an MSP-1 Malaria vaccine candidate: A Randomized Phase 1b Dose-Escalation Trial in Kenyan Children.

PLoS Clin Trial (2006 Nov 24); 1(7): e32.

53. Macete E., Aponte J.J., Guinovart C., Sacarlal J., Ofori-Anyinam O., et al. Safety and Immunogenicity of the RTS,S/AS02A candidate malaria vaccine and children aged 1-4 in Mozambique.

Trop Med Int Health (2007 Jan) 12(1): 37-46.

Nom: **Niaré**

Prenom: **Boubacar**

Nationalité: **Malienne**

Date de Soutenance:

Ville de Soutenance : **Bamako**

Titre : Essai de Phase I d'un candidat vaccin AMA1-C1/Alhydrogel® contre le *Plasmodium falciparum* chez les enfants de 2 à 3 ans à Donéguébougou/Mali.

Lieu de Dépôt : Bibliothèque de la faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie de l'Université de Bamako.

Secteur d'intérêt : Essai Clinique, Parasitologie, Santé Publique, Immunologie.

Résumé

Ce travail avait pour but d'évaluer la tolérance et l'immunogénicité du candidat vaccin AMA1-C1/Alhydrogel® à la dose de 20µg et 80µg comparée au vaccin contre *Hemophilus influenzae* type b (Hiberix®) chez les enfants de 2 à 3ans en zone d'endémie palustre.

Notre travail s'est déroulé du 16 Mars au 16Aout 2006. Pour atteindre cet objectif, nous avons fait un essai clinique Phase I randomisé contrôlé double aveugle chez 36 sujets âgés de 24 à 42 mois en 2 cohortes. La cohorte 1 composée de 18 sujets randomisés 2 :1 pour recevoir AMA1 20µg ou Hiberix®. La cohorte 2 composée de 18 sujets randomisés 2 :1 pour recevoir AMA1 80µg ou Hiberix®.

Nous avons administré 2 doses de vaccin à chaque sujet avec un mois d'intervalle entre les doses. Nous avons examiné les sujets 30 minutes ensuite aux jours 1, 2, 3, 7 et 14 après chaque vaccination et aux jours 98 et 154. Nous avons fait des prélèvements sanguins aux jours 3, 7 et 14 après chaque vaccination et aux jours 98 et 154.

Au total parmi les 36 sujets inclus, 33 sujets ont reçu toutes les 2 doses de vaccin. Il ya eu 16 événements indésirables modérés en relation avec les vaccins, repartis en 9 chez les sujets ayant reçu AMA1 et 7 chez les sujets ayant reçu Hiberix®. Il n'y avait pas

d'événements indésirables graves en rapport avec la vaccination. Les sujets qui ont reçu AMA1 ont produit plus les anticorps anti AMA1 FVO et anti AMA1 3D7 après la vaccination jusqu'au jour 42. Après le jour 42 le niveau des anticorps anti AMA1 a chuté pour venir presque au même niveau que celui des sujets qui ont reçu le vaccin comparateur.

Notre candidat vaccin a été bien toléré et avait une bonne immunogénicité avec une durée des anticorps induits relativement courte chez les enfants de 2 à 3 ans dans la zone d'endémie palustre.

Last name: **Niaré**
Nationality: **Malian**

Firstname: **Boubacar**

Local of defense: **Bamako**
Defense:

Date of

Title: Phase I trial of a candidate vaccine AMA1-C1/Alhydrogel® against *Plasmodium falciparum* in children aged 2 to 3 years old in Donéguébougou/Mali.

Stored in the library of the Faculty of Medicine, Pharmacy and Dentistry of the University of Bamako

Relevant Areas of Interest: **Clinical Trial, Parasitology, Public Health, Immunology**

Summary

The goal of this work was to evaluate the safety and immunogenicity of the candidate vaccine AMA1-C1/Alhydrogel® in doses of 20µg and 80µg compared to *Hemophilus influenzae* type b (Hiberix®) vaccine in children aged 2 to 3 years in malaria endemic area.

Our work has been conducted from March 16th to August 16th 2006. In order to achieve this goal, we undertook a phase 1 randomized controlled double blind clinical trial in 36 subjects aged 24 to 42 months stratified in 2 cohorts. The cohort 1 includes 18 randomized subjects 2:1 to receive AMA1 (20µg) or Hiberix®. The cohort 2 includes 18 randomized subjects 2:1 to receive AMA1 (80µg) or Hiberix®.

We administrated 2 doses of vaccine to each subject with an interval of one month between doses. We examined subjects 30 minutes and in day 1, 2, 3, 7 and 14 after each vaccination and in day 98 and 154. We collected blood in day 3, 7 and 14 after each vaccination and in day 98 and 154.

Among the 36 subjects enrolled 33 received all the two doses of vaccine. It has occurred 16 moderate adverse events related to the vaccines respectively 9 in subjects who received AMA1 and 7 in subjects who received Hiberix®. There was no serious adverse event related to the vaccination. Subjects who received AMA1 produced more anti-AMA1 FVO and anti-AMA1 3D7 antibodies after vaccination until day 42. After day 42 the anti-AMA1 antibodies titer decreased to the same level of those who received the control vaccine.

Our candidate vaccine FMP1/AS02A has been well tolerated and possessed good immunogenicity with relatively short latency of antibodies in children aged 2 to 3 years in malaria endemic area.

Appendice A – Examen de Compréhension du consentement éclairé pour la participation à l'étude vaccinale antipaludique à Donéguebougou

TITRE DE L'ETUDE

ESSAI CLINIQUE DE PHASE 1 / 2 RANDOMISE, DOUBLE AVEUGLE SUR L' INNOCUITE ET L' IMMUNOGENICITE DU VACCIN AMA1-C1/ALHYDROGEL® CONTRE LE PALUDISME A PLASMODIUM *FALCIPARUM* CHEZ LES ENFANTS, A DONEGUEBOUGOU ET A BANCOUMANA, MALI

Census ID #

Noms (*prénom, nom*)

1. Au cours de cette étude, votre enfant recevra une injection de parasites vivant du paludisme.....V F
F
2. C'est possible que ce vaccin rende votre enfant malade.....V F
3. Si vous changez d'avis par rapport à la participation de votre enfant à l'étude après qu' il est été inclus, vous pouvez retirer votre consentement pour votre enfant ...V F
4. Ce vaccin a déjà été administré à des centaines de personnes, si bien que nous savons qu'il est sans dangerV F
5. Au cours de cette étude, on fera des prélèvements sanguins à votre enfantV F
6. Dans cette étude, votre enfant sera vacciné 2 foisV F
7. Si votre enfant tombe malade au cours de cette étude, vous ne devrez en parler à personne.....V F
8. Si vous décidez de la participation de votre enfant à l'étude, vous accepteriez que votre enfant soit suivi dans notre centre de santé pendant les 12 mois de l'étude.....V F
9. Tous les participants de cette étude, recevront le même type de vaccinV F

➤ Nombre total de réponses correctes avant la revue ____

➤ Nombre total de réponses correctes après la revue ____

Revue par _____

Date ____/____/____

Signature du Parent ou Tuteur _____

Date ___/___/___

Signature du témoin _____

Date ___/___/___

Appendice B: Evaluation de l'Intensité des Evènements Indésirables

Table 1 : Evaluation de l'Intensité des Evènements Indésirables

Evènement Indésirable	Grade	Intensité
Douleur au site d'injection	0	Pas de douleur
	1	Douleur qui est tolérée facilement
	2	Douleur qui interfère avec l'activité quotidienne
	3	Douleur qui empêche l'activité quotidienne
Erythème au site d'injection	0	0 mm
	1	>0 - ≤20 mm
	2	>20 - ≤50 mm
	3	>50 mm
Oedeme du site d'injection	0	0 mm
	1	>0 - ≤20 mm
	2	>20 - ≤50 mm
	3	>50 mm
Fièvre (axillaire)	0	≤37.5°C
	1	37.6°C - 38.0°C
	2	>38.0°C - 39.0°C
	3	>39.0°C
Céphalée	0	Pas de céphalée
	1	Céphalée qui est tolérée facilement
	2	Céphalée qui interfère avec l'activité quotidienne
	3	Céphalée qui empêche l'activité quotidienne
Nausées	0	Pas de nausées
	1	Nausées qui sont tolérées facilement
	2	Nausées qui interfèrent avec l'activité quotidienne
	3	Nausées qui empêchent l'activité quotidienne
Malaise	0	Pas de malaise
	1	Malaise qui est tolérée facilement
	2	Malaise qui interfère avec l'activité quotidienne
	3	Malaise qui empêche l'activité quotidienne
Myalgie	0	Pas de Myalgie
	1	Myalgie qui est tolérée facilement
	2	Myalgie qui interfère avec l'activité quotidienne
	3	Myalgie qui empêche l'activité quotidienne
Arthralgie	0	Pas d'arthralgie
	1	Arthralgie qui est tolérée facilement
	2	Arthralgie qui interfère avec l'activité quotidienne
	3	Arthralgie qui empêche l'activité quotidienne
Urticaire	0	Pas d'urticaire
	1	Ne nécessite pas de médicaments
	2	Nécessite une médication PO ou locale ou IV ou corticothérapie pendant 24 heures
	3	Nécessite une médication IV ou corticothérapie pendant 24 heures

Appendice C – Tableau de grade de Toxicité pour les Evénements Indésirables de Laboratoire

Ces tableaux de grade de Toxicité pour les Evénements Indésirables de Laboratoire sont à utiliser pour cette étude d'AMA1-C1 par rapport aux valeurs mesurées.

ABRÉVIATIONS: Abréviations utilisées dans ce tableau:

LNS = Limite Normale Supérieure LNI = Limite Normale Inférieure

ESTIMATION de la SEVERITE du GRADE

GRADE 1 Léger: pas d'effet sur les activités de la vie quotidienne; ne nécessite aucun traitement médical

GRADE 2 Modéré: limitation partielle des activités de la vie quotidienne (peut faire $\geq 50\%$ des tâches ordinaires); nécessite un traitement médical minimum ou pas

GRADE 3 Sévère: limitation des activités de la vie quotidienne $< 50\%$; nécessite un traitement médical

GRADE 4 Menace la vie du sujet Extrême limitation des activités, assistance significative est nécessaire, intervention médicale ou thérapeutique significative est nécessaire. Tous les cas d'EI grade 4 seront considérés comme des Evénements Indésirables Sérieux.

Tableau 2 : Tableau de grade de Toxicité pour les Evénements Indésirables de Laboratoire

HEMATOLOGY

	Valeurs normales	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
Hémoglobine Masculin Féminin (âge 2-4 ans)	8,5-11,5 g/dL ^a	7,5 – 8,4 g/dL	6,1 – 7,4 g/dL	5,0 – 6,0 g/dL	< 5,0 g/dL
Plaquettes	133000 – 523000/mm ³ ^a	75000 - 99999/mm ³	50000 - 74999/mm ³	20000 - 49999/mm ³	<20000/mm ³
Globules Blancs (Compte)	5900 – 14400/mm ³ ^a	14500 – 16000/ mm ³	16001- 18000 /mm ³	18,001- 30000/mm ³	>30000 or <1000 /mm ³
Valeurs absolues des Granulocytes (Compte)	1000 – 6900/mm ³ ^b	800 - 999/mm ³	650- 799/mm ³	500- 649/mm ³	<500/mm ³

BIOCHIMIE

	Valeurs normales	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
Créatinine	0,2–0,8 mg/dL (15,2–61 mmol/L) ^c	1,1 - 1,5 x ULN	1,6 - 3,0 x ULN	3,1 - 6 x ULN	> 6 x ULN or dialyse exigée
ALAT	3,9 – 49,6 U/L ^a	1,25 - 2,5 x ULN	2,6 - 5 x ULN	5,1 - 10 x ULN	> 10 x ULN

ANALYSE d'Urine				
------------------------	--	--	--	--

	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
Protéinurie	2+ ou 500 mg - 1 gm perte/jour	3+ ou 1- 2 gm perte/jour	4+ ou 2-3.5 gm perte/jour	syndrome néphrotique ou > 3.5 gm perte/jour
Hématurie	5-10 rbc/hpf ou 2+	>10 rbc/hpf ou 3+	grosse, avec ou sans caillots, OU avec jet d'hématies	Nécessite une hospitalisation

^aDéterminé à partir des enfants en bonne santé à Donéguébougou

^b Lugada, E. S. et al. Population-Based Hematologic and Immunologic Reference Values for a Healthy Ugandan Population. *Clin Diag Lab Immunol*, 11, 29-34.

^c Current Pediatric Diagnosis & Treatment, 17th edition, 2005.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Etre Suprême, d'être fidèles aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail ; je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

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

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

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

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

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

Que les hommes m'accordent leurs estime si je suis fidèle à mes promesses.

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

JE LE JURE.