

Ministère de l'Education Nationale, de l'Enseignement
Supérieur et de la Recherche Scientifique

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple-Un But-Une Foi



U.S.T.T-B



Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako
Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie

FMOS

Année universitaire 2019-2020

THEME

Thèse N° :..... /

**TOLERANCE DE LA PRIMO- VACCINATION AVEC LE CANDIDAT VACCIN A
BASE DE SPOROZOÏTES DE *PLASMODIUM FALCIPARUM* NF54 ATTENUES
PAR IRRADIATION (VACCIN PFSPZ) CHEZ LES ADULTES AGES DE 18 A 35
ANS A OUELESSEBOUGOU, MALI.**

Présenté et Soutenu publiquement le.../ .../2021 devant le jury de la Faculté de Médecine
et d'Odontostomatologie

Par :

M. Seydina Oumar MAGUIRAGA

Pour l'obtention du Grade de Docteur en Médecine (Diplôme d'Etat)

JURY

Président : Pr. Mohamed KEITA

Membres : Pr. Abdoulaye K KONE

Dr. Amadou NIANGALY

Co-Directeur : Dr. Halimatou DIAWARA

Directeur : Pr. Alassane DICKO

DEDICACES

A Allah le tout puissant !!!

Louange à Allah de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce travail.

✓ **A mon défunt père : Habibou Maguiraga**

Cher père tu as toujours été soucieux de l'avenir de la famille. Tu n'as jamais su faire la différence entre tes enfants et ceux des autres parce que pour toi tous les enfants étaient les tiens. Ton amour pour la famille, ta dignité, ton enseignement, ton sens de l'honneur et tes soucis du travail bien fait nous servent de modèle. Homme humble et modeste, tu m'avais toujours dit de faire avec amour, honnêteté, loyauté et courage tout ce que j'entreprends dans la vie sans jamais abandonner quelque soient les circonstances. Mon admiration pour toi est sans limite. Ce travail est le tien.

✓ **A mes chères mères : Marietou Bathily et Fatoumata Cissé**

Les mots ne sauraient résumer mes remerciements et tout l'amour que je vous porte, ce travail est le fruit de votre soutien, de votre assistance, mais surtout de votre confiance en moi depuis le début. Que le bon Dieu vous garde encore longtemps auprès de nous dans la santé et dans le bonheur.

✓ **A mes deux grandes mères : Dala Tounkara et feu Koudedia Nimaga**

C'est à vos côtés au cours des veillées de conte, et grâce à votre éducation que j'ai appris les fondements de la vie, sur l'amitié, sur la loyauté, sur le sens de la responsabilité et de l'éthique. Ce travail vous ait dédié également.

✓ **A mes frères et sœurs de la famille Maguiraga : Salla, Youba, Macoulé, Aminata, Baye, Dédé, Sadio, Tata, Adama, Hawa, Abdoulaye, Bakary, Rokia, et Mohamedou**

Votre soutien ne m'a jamais fait défaut et soyez en rassuré du mien car unis pour le meilleur et le pire nous sommes condamnés à œuvrer main dans la main pour

soulever haut et fort le flambeau de la famille Maguiraga. Ce travail est le fruit de notre fraternité. Que nos liens fraternels se resserrent davantage.

✓ **A mes oncles, la famille Cissé :**

A vous qui m'avez ouvert les portes de la famille, soutenus, et aidés durant ce parcours parce que je suis un de votre. Grace à cette sécurité et cette assurance, j'ai pu mener à terme ce travail. Retrouvez ici toute ma reconnaissance.

✓ **A mes Amis : Diaguely Cissé, Issiaka Dem, Amoro Traore, Salif Thiam, Baba Ba, Dougaye Doucouré, Doua Kanté, Hamady Sissoko, Binafou, Sandji, Hady, Bafo, Zoumana**

Les amis, vous m'êtes si chers, merci à vous tous, pour vos conseils, vos encouragements, et vos accompagnements durant tout ce chemin.

✓ **A mes Tontons feu, Amadou Maguiraga et Cherif Ahmed Cissé**

Vous nous avez été arrachés au mauvais moment, mais de là-haut, ce travail vous est dédié, vos accompagnements n'ont jamais fait défaut. Puisse vos âmes reposer en paix.

✓ **A mon Ami et fils, Famory Diawara,**

On ne choisit pas sa famille, mais on choisit ses amis, tu es ce vieil ami dans le regard de qui, j'ai toujours vu l'avenir. Je te dédie ce travail pour m'avoir accepté sans condition dans ta vie et merci.

REMERCIEMENTS

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

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

✓ **Au professeur Alassane Dicko, et au Dr Halimatou Diawara,**

Vous qui, après un entretien fructueux m'aviez accepté dans votre équipe de recherche et de m'avoir dirigé durant ce travail. L'exemple et le model que vous représentiez me guideront toujours dans la carrière professionnelle.

✓ **A tous mes enseignants du primaire, du secondaire ainsi que du lycée, Au corps professoral de la faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie,**

Pour m'avoir aidé et soutenu à parcourir ce long chemin, je vous remercie tous pour vos efforts. Votre soutien et votre confiance en moi ont été sans faille, ce travail est le vôtre.

✓ **A ma Famille, MAGUIRAGA**

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

✓ **A la famille, Cissé**

Votre simplicité, votre sensibilité aux problèmes des autres font de vous une famille admirable. Je vous dis tout simplement merci pour tout ce que vous avez fait pour moi et puisse Dieu vous récompenser pour vos bienfaits.

✓ **A tous mes frères et sœurs de la famille Maguiraga,**

Chers frères, c'est l'occasion pour moi de vous témoigner toute ma sympathie car en réalité vous avez été le support qui m'a soutenu inconditionnellement à toute épreuve.

✓ **A tous mes amis et collègues de la faculté de Médecine,**

Je souhaite que nos liens d'amitiés soient encore plus solides et qu'ils ne soient jamais altérés durant nos vies.

✓ **A mes aînés Docteur et à mes collègues thésards au MRTC de Ouelessebougou,**

Vous étiez tous disponibles et ouverts à mes appels et sollicitations incessantes tout le long de ce travail. Merci et soyez en remercier et pleins succès dans vos carrières respectives.

✓ **A ma famille, ASSOCIATION DES ETUDIANTS SONINKE et la cour BADENYA,**

Vous m'avez accueilli à bras ouvert, et je me suis senti entouré, protégé et aimé dans ces deux familles.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maitre et président de jury

Professeur Mohamed Keita

- Professeur en Anesthésie Réanimation à la Faculté de Médecine (FMOS) ;
- Chargé de cours à l'Institut National de Formation en Science de la Santé (INFSS) ;
- Praticien hospitalier au CHU du point G ;
- Ancien coordinateur adjoint du Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP), Mali.

Cher maitre,

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

A notre Maitre et membre du jury

Professeur Abdoulaye Kassoum KONE

- Professeur agrégé de parasitologie-mycologie à la faculté de médecine et d'odontostomatologie ;
- Médecin-chercheur au Malaria Research and training center ;
- Responsable du laboratoire de diagnostic des leishmanioses au Malaria Research and training center.

Cher maitre,

Ce travail est avant tout le fruit de vos efforts. Votre humanité, votre simplicité, la clarté de vos enseignements, votre amour pour le travail bien fait imposent respect et admiration.

Merci pour votre soutien et les conseils que vous nous avez prodigués. Permettez-moi cher maitre de vous adresser l'expression de ma reconnaissance et de mon profond respect.

A notre Maitre et membre du jury

Docteur Amadou Niangaly

- Maitre-assistant à la faculté de pharmacie
- Pharmacien chercheur au MRTC

Cher maitre,

Nous nous réjouissons de votre présence au sein de ce jury. C'est un grand honneur que vous nous avez fait en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations. Cher maitre, votre simplicité, votre sourire constant, votre esprit critique, votre rigueur scientifique, et votre pragmatisme nous ont conduits vers vous. Trouver ici l'expression de notre plus haute considération.

Notre maitre et co-directrice de thèse

Docteur TRAORE Halimatou DIAWARA

- Master en économie de la sante
- Médecin chercheur au MRTC

Cher maitre,

Vos critiques et suggestions ont été d'un apport inestimable pour la réalisation de ce document. Nous avons apprécié vos qualités humaines et scientifiques tout au long de ce travail. Votre sens élevé du travail bien fait, votre disponibilité constante et surtout votre patience font de vous un maitre respectable et admiré. Trouvez ici toute notre admiration ainsi que notre profond respect.

A notre maitre et directeur de thèse

Professeur Alassane DICKO

- Professeur titulaire en épidémiologie et santé publique,
- Responsable du centre de recherche de Ouelessebougou
- Chef de l'Unité d'épidémiologie, Bio-statistique et gestion des données au Malaria Research and training Center, Faculté de pharmacie, Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie,
- Directeur de programme de recherche à la Faculté de pharmacie et à la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie.

Cher maitre,

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

LISTE DES ABREVIATIONS

ACG	: Taux des granulocytes
AL	: Artéméther-Luméfantrine
ALT	: Alanine amino transférase
ANC	: Neutrophiles en valeur Absolue
Arm	: Bras
CPS	: Chimio prévention du paludisme saisonnier
Cr	: Créatinémie
CRF	: Formulaire de report des cas
CSP	: Protéine Circonsporozoïtes
DSMB	: Data Safety Monitoring Board (Comité de Surveillance des Données de Tolérance)
ECG	: Electrocardiogramme
EDTA	: Acide éthylène diamine tétra acétique
EI	: Evènement indésirable
ER	: Salle d'urgence
FDA	: Food And Drugs Administration(Agence Américaine des produits alimentaires et médicamenteux)
FMPOS	: Faculté de médecine, de pharmacie et odontostomatologie du Mali
GE	: Goutte épaisse
Hb	: Hémoglobine

HCV	: Virus de l'hépatite C
HIV	: Virus de l'immunodéficience humaine
HTA	: Hypertension Artérielle
HVB	: Virus de l'hépatite B
IND	: Nouveau produit en investigation
IRB	: Comité institutionnel de revue/Institutional Review Board
IVD	: Injection intra veineuse directe
LNVP	: L'azote liquide en phase vapeur
MRTC	: Centre de recherche et de formation sur le paludisme
NFS(CBC)	: Numération formule sanguine
NIAID	: Institut National des Allergies et des Maladies Infectieuses)
NIH	: institut national de la santé
OCRPRO)	: Office of Clinical Research Policy Et Regulatory Operations
OMS	ou :
WHO	Organisation Mondiale de la santé
Pf	: <i>Plasmodium falciparum</i>
PfSPZ	: Plasmodium falciparum Sporozoïtes
PI	: Principal investigateur
RI	: Réaction indésirable
SAE	: Evènement indésirable grave
Sanaria Inc	: Sanaria incorporation ou producteur

- SLIS** : Système Local d'information sanitaire au Mali
- SOP** : Procédure opérationnelle standard
- TPI** : Traitement préventif intermittent
- UP** : Unanticipated problem (Problème Imprévu)
- USTTB** : Université des Sciences, des Techniques et Technologies de Bamako
- WBC ou GB** : Globules Blancs

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Résumé des évaluations cliniques et de laboratoires	32
Tableau II : définition de la gravite des évènements indésirables :.....	33
Tableau III : Répartition des 210 participants selon la tranche d'âge et le sexe	40
Tableau IV: Répartition des participants selon les critères de non inclusion dans l'étude	41
Tableau VI : Répartition des participants selon les raisons de non complétude à l'étude	42
Tableau V: Fréquence (n%) des évènements indésirables locaux survenus dans les 30mn d'observation après les Trois séries de vaccinations réparties selon les bras d'intervention et Placebo	43
Tableau VI : Fréquence n(%)des évènements indésirables systémiques survenus dans les 30mn d'observation après les trois séries réparties selon les bras d'intervention et placebo.....	44
Tableau VII: Répartition des évènements indésirables selon le caractère clinique ou biologique de J1 à J7 après les trois séries de vaccinations en fonction du groupe de traitement.	45
Tableau VIII: Fréquence n(%)des évènements indésirables cliniques jugés liés repartis selon les bras d'intervention et placebo.	46
Tableau IX : Fréquence n(%)des évènements indésirables cliniques jugés liés repartis selon les bras d'intervention et placebo.	48
Tableau X: Fréquence n(%)des évènements indésirables biologiques jugés non liés repartis selon les bras d'intervention et placebo	50
Tableau XI: Fréquence n(%)des évènements indésirables biologiques jugés liés repartis selon les bras d'intervention et placebo	51
Tableau XII :Fréquence des évènements indésirables selon le caractère clinique et laboratoire enregistrés après J7 et pendant le suivi	52
Tableau XIII :Fréquence (n%) des évènements indésirables par bras en fonction du lien de causalité avec les produits de l'étude.	52
Tableau XIV: Fréquence (n%) des évènements indésirables enregistré par bras en fonction des grades de sévérité.	53
Tableau XV: Répartition des évènements indésirables clinique et biologique de grade 3 survenus au cours du suivi en fonction du lien de causalité avec les produits de l'étude.....	53

LISTE DES FIGURES

Figure 1:cycle biologique du paludisme.	10
Figure 2:schéma de l'étude phase principale	18
Figure 3 : Participation des volontaires à l'étude PfSPZ (diagramme de flux).....	39
Figure 4 : Répartition des participants selon la tranche d'âge	40
Figure 5 : Répartition des 210 participants vaccinés selon l'ethnie	41

LISTE DES ANNEXES

Annexe I :Grade de toxicité des évènements indésirables systémiques.....	65
Annexe II:Grade de Toxicité des signes vitaux	68
Annexe III:Grade de toxicité de la réactogénicité locale	69
Annexe IV:Grade de Toxicité des éléments de laboratoires	70
Annexe V:normes de références des valeurs hématologiques	71

SOMMAIRE

INTRODUCTION ET JUSTIFICATION	1
OBJECTIFS	5
Objectif général	5
Objectifs spécifiques	5
I. GENERALITES	6
1.1. Définition.....	6
1.2. Agents pathogènes	6
1.3. Vecteurs	7
1.4. Cycle biologique du paludisme	8
1.5. Informations de base sur le vaccin et les produits de l'étude	11
1.6. Les phases de développement d'un vaccin	13
II. METHODOLOGIE	14
2.1. Site d'étude	14
2.2. Population d'étude :	15
2.3. Type d'étude :	15
2.4. Période d'étude :	15
2.5. Taille de l'échantillon	16
2.6. Schéma d'étude :	17
2.7. Les Critères d'inclusion :	18
2.8. Les critères de non inclusion :	19
2.9. Procédure de l'étude :	23
2.10. Evaluation et suivi de la tolérance	29
2.11. Le diagnostic du paludisme : Goutte épaisse	34
2.12. Collecte, Traitement et analyse des données	35
2.13. Aspects règlementaires par rapport à la gestion et l'utilisation des données de recherche sur l'homme	35
2.14. Considérations éthiques	36
III. RESULTATS	39
3.1. Caractéristiques générale de la population	40
3.2. La Tolérance	43

IV. COMMENTAIRE ET DISCUSSIONS	55
CONCLUSION	59
RECOMMANDATIONS :	60
BIBLIOGRAPHIE :	61
Annexe I :Grade de toxicité des évènements indésirables systémiques.....	65
Annexe II:Grade de Toxicité des signes vitaux	68
Annexe III:Grade de toxicité de la réactogénicité locale	69
Annexe IV:Grade de Toxicité des éléments de laboratoires	70
Annexe V:normes de références des valeurs hématologiques	71

INTRODUCTION ET JUSTIFICATION

Le paludisme est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante dû à la présence, à la multiplication et au développement dans l'organisme d'un parasite du genre *Plasmodium* transmis à l'homme par la piqûre infestante d'un moustique : l'anophèle femelle.

Le paludisme est l'une des maladies infectieuses parasitaires les plus fréquente dans le monde et dans beaucoup de pays africains y compris le Mali, il constitue la première cause de consultation et une des principales causes d'hospitalisation dans les structures de santé. [1]

Les estimations font état de 219 millions d'épisodes palustres en 2018, dont 92% en Afrique. Pour la même année, le nombre de décès dû au paludisme était estimé à 435000 soit 93% dans la région Afrique de l'OMS parmi lesquels 61% d'enfants. [1]

Au Mali, 2.345.481 millions de cas de paludisme confirmés ont été enregistrés en 2018. [2]

Les stratégies de lutte actuelles contre le paludisme sont axées sur les méthodes de prévention que sont :

L'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action (MILD), en Afrique subsaharienne 52% des enfants et des femmes enceintes dorment sous moustiquaire. Au Mali selon l'EDSM-V Près de neuf ménages sur dix possèdent, au moins, une moustiquaire qu'elle ait été traitée ou non (85%). [1,3]

La pulvérisation intra domiciliaire par des insecticides à effet rémanent (PID).

Le traitement préventif intermittent (TPI) chez la femme, 34% des femmes enceintes ont reçu au moins les trois doses recommandées de TPIp-SP.

La chimioprévention du paludisme saisonnier(CPS) chez les enfants de moins de 5 ans ; 21,5 millions d'enfants ont reçu la CPS en 2019 contre 0,2 millions en 2012 dans seulement deux pays. [1,3]

Le diagnostic et le traitement des cas de paludisme par les combinaisons thérapeutiques à base d'artemesinine(CTA)

Le vaccin antipaludique apparaît comme l'outil qui permettra d'éliminer voire éradiquer le paludisme en s'intégrant harmonieusement aux autres stratégies de prévention.

Un agenda pour l'éradication du paludisme a été alors, élaboré en 2014, malERA pour « malaria éradication agenda » [4,5]. L'initiative malERA a mobilisé l'essentiel des expertises pour réfléchir sur les stratégies de lutte et les axes de recherche prioritaires qui pourraient conduire à l'élimination et aller vers l'éradication.

Les expériences sur le modèle murin des années 60s ont montré que l'immunisation avec *P. berghei* atténué par irradiation aux rayons X conférait une protection stérile aux animaux immunisés (13). Ces études ont ouvert la voie à la recherche du vaccin antipaludique [5]. A la suite de ces travaux, plusieurs auteurs ont utilisé le modèle du sporozoïte entier atténué par irradiation chez l'homme, démontrant l'efficacité de cette approche à induire une protection complète chez les personnes immunisées [6,7].

Des études conduites par les chercheurs de l'universités de Maryland, ont démontrées que la vaccination par les piqûres de moustiques infectés avec des sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* (PfSPZ) atténués par irradiation (> 120 Gray unités) dans leurs glandes salivaires peut induire une protection complète de longévité considérable chez la souris et chez l'homme pour une durée allant jusqu'à 10 mois, avec des preuves de protection transcendante liée à la souche [8,9,10]. L'irradiation des moustiques infectés perturbe l'expression du gène des

sporozoïtes, qui restent capables d'invasion des hépatocytes, mais ne sont plus à mesure de compléter la maturation au stade hépatique ou de passer au stade sanguin pathogène. [11] L'infection des sujets humains avec des sporozoïtes irradiés les expose ainsi à des antigènes au stade hépatique et génère une immunité pré-érythrocytaire. Cependant, l'exigence d'un minimum de 1.000 piqûres de moustiques irradiés pendant 5 ou plusieurs séances de vaccination afin de réussir à induire une immunité stérile chez l'homme empêche cette méthode pour la vaccination de routine. [10]

Plusieurs autres vaccins candidats aux modes d'action distincts sont actuellement à différents stades de développement dont le vaccin RTS, S en phase 3, qui a été recommandé par l'OMS pour une introduction pilote dans certaines régions de trois pays africains (Ghana, Kenya, Malawi). [12].

Au cours de la dernière décennie, Sanaria, Inc. a développé à base de sporozoïtes de *plasmodium falciparum* (Pf) cryoconservés, aseptiques, purifiés et atténués par irradiation à partir d'un isolat bien caractérisé un vaccin appelé vaccin PfSPZ. [13]

L'argument pour tester le vaccin PfSPZ est que la vaccination ciblée pour le stade hépatique cliniquement silencieux de l'infection fournira idéalement une immunité protectrice stérile, empêchant la progression de l'infection au stade sanguin et à la maladie clinique ainsi qu'à la transmission des parasites aux moustiques. Une collaboration entre le Centre de Recherche et de Formation sur le Paludisme (MRTC, Mali), le Laboratoire d'Immunologie et de Vaccinologie du Paludisme (LMIV) de l'Institut National des Allergies et des Maladies Infectieuses (NIAID) et Sanaria, Inc. (Sissoko et al. 2017) a montré que cette protection stérile peut être obtenue à travers l'étude de Sissoko et Al en 2017. [14]

Il est connu, à partir d'études menées, que le vaccin PfSPZ administré à la dose de $9,0 \times 10^5$ PfSPZ par vaccination au début de l'hivernage procure cette

protection, ainsi suivant la même tendance, notre étude vise à évaluer la tolérance des séries de vaccination.

✓ **Question et hypothèse de recherche**

Question de recherche

Les séries de primo- vaccination du vaccin PfSPZ à 0, 8 et 16 semaines et à 0, 1 et 4 semaines sont-elles tolérées chez les adultes maliens en bonne santé à Ouelessebouyou ?

Hypothèse de recherche :

Les séries de primo- vaccination du vaccin PfSPZ à 0, 8 et 16 semaines et à 0, 1 et 4 semaines sont tolérées chez les adultes maliens en bonne santé à Ouelessebouyou.

OBJECTIFS

Objectif général

Évaluer la tolérance des séries de primo- vaccination du candidat vaccin PfSPZ chez des adultes maliens en bonne santé à des doses administrées à 0, 8 et 16 semaines et à 0, 1 et 4 semaines d'intervalle

Objectifs spécifiques

1. Déterminer la fréquence des événements indésirables (EI) locaux et systémiques survenus dans les 30 minutes suivant l'administration du vaccin.
2. Déterminer la fréquence des événements indésirables (EI) locaux et systémiques survenus dans les 7 jours suivant l'administration du vaccin.
3. Déterminer la fréquence des événements indésirables (EI) cliniques et les anomalies biologiques pendant le suivi dans le bras d'intervention et dans le bras placebo,

I. GENERALITES

1.1. Définition

Le paludisme est une érythrocytopathie fébrile, hémolysante dû à la présence et à la multiplication dans les hépatocytes puis dans les érythrocytes d'un hématozoaire du genre *Plasmodium*, transmis à l'hôte par la femelle du moustique du genre Anophèles infectée. [15]

Il existe aussi d'autres moyens de contaminations que sont les voies sanguine (transfusion sanguine), la transplantation d'organe et la transmission fœto-maternelle [16,17].

1.2. Agents pathogènes

Les parasites responsables de paludisme chez l'homme appartiennent :

- Règne : animalia
- Sous règne : Protozoaires
- Phylum : *Apicomlexa*
- Classe : *Sporozaea*
- Sous classe : *Coccidia*
- Ordre : *Eucoccidiida*
- Sous ordre : *Haemosporina*
- Genre : *Plasmodium*

Cinq espèces sont reconnues pathogènes pour l'Homme à savoir :

Plasmodium falciparum, le paludisme causé par cette espèce (aussi appelé maligne) [18,19] est la forme la plus dangereuse de la malaria, [20], avec les taux les plus élevés de complications et de mortalité. En 2006, il y'avait quelque 247 millions d'infections palustres de l'homme (98% en Afrique, 70% étant de 5 ans ou moins). Il est beaucoup plus répandu en Afrique sub-saharienne que dans de nombreuses autres régions du monde. Dans la plupart des pays africains, plus de 75% des cas du paludisme étaient dus à *P. falciparum*, alors que dans la plupart

des autres pays où la transmission du paludisme est moins virulente, d'autres espèces plasmodiales prédominent. *Plasmodium falciparum* est responsable de presque tous les décès liés au paludisme.

Plasmodium vivax : elle est la deuxième espèce la plus fréquente des parasites du paludisme humain affectant environ 75 millions de personnes chaque année. Il est cependant très rare en Afrique de l'ouest et en Afrique centrale, en raison de la forte prévalence du phénotype Duffy négatif dans cette population humaine. [21]

Plasmodium malariae : elle est étroitement liée à *Plasmodium falciparum* et *Plasmodium vivax*. Il est responsable de la fièvre quarte.

Plasmodium ovale : elle est responsable du paludisme chez l'homme. Elle est étroitement liée à *Plasmodium falciparum* et *Plasmodium vivax*, qui sont responsables de la plupart des cas de paludisme. Il est rare par rapport à ces deux parasites, et nettement moins dangereux que *P. falciparum*. [22]

Plasmodium knowlesi. Le premier cas de transmission naturelle humaine par *Plasmodium knowlesi* a été publié en 1965. En effet des études menées en Asie du Sud ont confirmé la présence chez l'homme de ce protozoaire qui infecte naturellement différentes espèces de singes dans les forêts de cette région.

A noter qu'une étude récente a rapporté l'évidence de cas d'infection humaine par *Plasmodium cynomolgi* [23].

1.3. Vecteurs

Le vecteur du paludisme est un moustique culicidae du genre *Anophèles*. Les espèces vectrices sont nombreuses et d'autant plus redoutables qu'elles ont une affinité pour l'homme (espèces anthropophiles). Elles se nourrissent et se reposent dans les maisons (espèces endophiles ou domiciliaires). Seule la femelle hématophage assure la transmission. Au Mali, ce sont les membres du complexe *Anophèles gambiae s.l* et *Anophèles funestus* [24] qui transmettent le paludisme.

1.4. Cycle biologique du paludisme

Tous les parasites du paludisme ont besoin de deux hôtes dans leur cycle de vie : l'hôte définitif où a lieu le développement sexuel (anophèle femelle) et l'hôte intermédiaire (l'homme par exemple) où se produit le développement asexuel.

Le parasite sous forme de sporozoïte est injecté dans le sang chez l'homme par la piqûre de la femelle de l'anophèle, diptère culicidé et vecteur, à l'occasion d'un repas sanguin. Les sporozoïtes gagnent le système veineux porte qui les véhicule vers le foie en trente minutes – une heure. C'est la schizogonie hépatique. Des travaux ont montré que certains sporozoïtes restent plus longtemps au niveau des ganglions lymphatiques, constituant un premier point d'interaction avec le système immunitaire de l'hôte [25]. Arrivés au niveau du foie, le sporozoïte traverse plusieurs membranes cellulaires y compris celle des cellules Küpffer et d'autres hépatocytes, pour finalement choisir un hépatocyte dans lequel le développement du parasite se poursuit en trophozoïtes [26,27]. Une multiplication intense se produit formant un corps bleu. Dans le cas de *P. vivax* et *P. ovale*, certains sporozoïtes restent à l'état latent sous formes dormantes,

Dénommées hypnozoïtes, responsables des accès de reviviscence à distance. A maturité le corps bleu est lysé et il libère à partir de chaque sporozoïte, 20-30000 mérozoïtes.

Ces mérozoïtes sont libérés en paquets sous forme d'amas nommés mérosomes qui circulent dans le sinus hépatique et arrivés au niveau du capillaire extra hépatique, les mérozoïtes individuels sont libérés dans le torrent circulatoire. Chaque mérozoïte va envahir un érythrocyte et entamer le cycle de la schizogonie érythrocytaire. A l'intérieur de l'érythrocyte, chaque mérozoïte va former un anneau, ensuite un trophozoïte mur, puis un schizonte. A maturité l'érythrocyte infecté éclate et libère les mérozoïtes de seconde génération.

En fonction de l'espèce, chaque schizonte donnera 8 à 32 mérozoïtes.

L'éclatement synchrone des érythrocytes infectés est accompagné de libération de médiateurs chimiques qui déclenchent l'accès fébrile.

Dans le cas de *P. falciparum*, *P. vivax* et *P. ovale* cet évènement se produit toutes les 48 heures donnant la fièvre tierce. Dans le cas de *P. malariae* l'éclatement synchrone survient toutes les 72 heures engendrant la fièvre quarte. Pour *P. knowlesi*, l'éclatement synchrone des schizontes survient toutes les 24 heures. Au bout d'un certain nombre de cycles érythrocytaires, certains mérozoïtes se différencient en formes sexuées : les gamétocytes mâle et femelle. Ces formes sont infectantes pour le moustique, hôte vecteur, permettent le cycle sporogonique et l'échange génétique entre les populations parasites (une des sources de diversité génétique) et la transmission à l'hôte humain.

Au moment d'un repas sanguin, en absorbant le sang la femelle anophèle ingère tous les stades parasites et les éléments du sang. Seuls les gamétocytes échapperont en partie à la digestion en se transformant en zygote/ookinète. Le gamétocyte femelle suivra un processus biologique de maturation pour se transformer en macrogamète femelle à n chromosomes. Le gamétocyte mâle va subir un processus d'exflagellation, et donner des gamètes mâles à n chromosomes. Chaque gamétocyte mâle donne naissance à 6-8 microgamètes filiformes qui vont entrer en compétition pour féconder le macrogamète femelle ; un seul y parviendra formant le zygote. Le zygote évolue en œuf mobile ou ookinète qui se déplace, traverse la membrane péritrophique et échappe ainsi à la digestion du contenu de l'estomac du moustique.

L'ookinète se fixe sur la paroi externe de l'abdomen du moustique et se transforme en oocyste. L'oocyste se développe et à maturité, éclate pour libérer plusieurs centaines de sporozoïtes.

Les sporozoïtes sont fusiformes et mobiles ; ils se déplacent vers la glande salivaire du moustique qu'ils envahissent.

1.5. Informations de base sur le vaccin et les produits de l'étude

1.5.1. Vaccin *Plasmodium falciparum* (PfSPZ)

Le vaccin PfSPZ est constitué de sporozoïtes de *P. falciparum*, souche NF54 atténué par irradiation, actif d'un point de vue métabolique mais sans capacité de répliquer. En conformité avec les réglementations en matière de Bonnes Pratiques de Fabrication, Sanaria Inc a développé le vaccin PfSPZ aseptique, en flacon, purifié, Cryo conservé à Rockville, Maryland, Etats Unis. Les vaccins PfSPZ sont produits en élevant des moustiques adultes *A. stephensi* aseptiquement à l'aide des cultures de sang contenant des gamétocytes aseptiques de *P. falciparum*. Au sein de ces moustiques infectés par *P. falciparum*, ces gamétocytes de *P. falciparum* se développent en sporozoïtes. Pour préparer une irradiation atténuée de PfSPZ, les moustiques sont irradiés à ce stade. Les glandes salivaires sont ensuite éliminées par dissection et triturées pour libérer les sporozoïtes. Les sporozoïtes subissent plusieurs étapes de purification, sont comptés, et cryoconservés à une concentration spécifiée ainsi le produit obtenu, est appelé Vaccin PfSPZ. Le vaccin est stockés dans l'azote liquide en phase vapeur (LNVP) en-dessous de -150°C.

✓ Les étapes de développement du vaccin PfSPZ

▪ Essais Pré clinique :

Le développement pré clinique du vaccin PfSPZ a suivi une série logique d'évaluations de la toxicité, de la voie d'administration et de l'immunogénicité. C'est ainsi que deux études toxicologiques précliniques et une étude de bio distribution effectuées avec le vaccin PfSPZ et chez des lapins blancs en Nouvelle Zélande (NZ) et dans l'état de Maryland ont prouvé que le vaccin PfSPZ est sûr, bien toléré et que la voie intra veineuse est plus immunogène.

Avant de passer à l'évaluation chez l'homme, le vaccin PfSPZ a fait l'objet d'une demande d'autorisation auprès des agences de réglementation comme la FDA aux USA.

▪ Essais cliniques

Plusieurs essais cliniques aux États-Unis et dans d'autres pays ont été réalisés chez des sujets naïfs du paludisme pour évaluer l'innocuité, l'efficacité protectrice à des doses croissantes [29]. A la suite des conclusions de ces essais, quatre (4) essais cliniques ont été réalisés chez des adultes africains à ce jour :

Le premier chez des adultes tanzaniens faiblement exposés au paludisme [30] le second chez des adultes maliens fortement exposés au paludisme [14] et le troisième chez les adultes équato-guinéens modérément à fortement exposés au paludisme [29], La quatrième étude chez des adultes tanzaniens peu exposés au paludisme et chez des enfants aussi jeunes que six mois [31].

D'autres études sont en cours dans divers pays africains évaluant l'innocuité, l'immunogénicité et l'efficacité de diverses doses et schémas d'administration du Vaccin PfSPZ.

1.5.2. Le placebo : la solution saline de contrôle

La solution saline normale est stockée à la température ambiante dans une chambre contrôlée selon les standards du fabricant. Chaque flacon de solution saline normale peut être soit à usage unique ou à usage multiple au cours d'une période de quelques heures (par exemple la durée de la préparation du vaccin au cours d'un jour donné).

La solution saline normale était aussi administrée par IVD comme placebo à un volume égal à celui du produit étudié.

1.5.3. COARTEM 80/480 (l'Artemether /lumefantrine) :

L'artémether est un dérivé de l'artemesinine extraits de la plante *Artemisia annua*,

en association avec la lumefantrine. Le COARTEM est un antipaludique agréé aux États-Unis et au Mali et était le principal antipaludique utilisé dans l'essai contre le paludisme simple. Il a un excellent profil d'innocuité et est largement utilisé pour traiter le paludisme. Les sujets qui pouvaient avoir des contre-indications à l'utilisation de ces médicaments étaient exclus au moment du dépistage. Au cours de cette étude, tous les bras ont reçu un traitement antipaludéen préventif à base du coartem avant la quatrième vaccination.

1.6. Les phases de développement clinique d'un vaccin

Les essais cliniques chez l'homme sont habituellement classés en quatre phases :

Phase I : il correspond à la première administration du candidat vaccin chez l'homme. À ces phases la tolérance et l'immunogénicité du vaccin sont évaluées. Le nombre de volontaires est réduit : environ (10 à 120) personnes, d'abord chez les adultes puis chez les enfants

Phase II : Les essais de phase II sont réalisés auprès d'une population plus importante (100-300). L'objectif est axé sur la maladie et évalue l'efficacité clinique du produit ainsi que son profil de tolérance à court terme dans la population choisie. Il permet le choix de dose minimale efficace chez l'homme, un choix de traitement parmi plusieurs disponibles, évalue la tolérance (fréquence des effets indésirables) et étudie la pharmacocinétique chez l'homme.

Phase III : l'essai de phase III est de tester l'efficacité et l'innocuité du nouveau produit dans une population d'échantillon plus importante. Ces essais sont réalisés à grande échelle (ils peuvent inclure plusieurs centaines/milliers de volontaires) et visent à comparer le nouveau traitement aux traitements actuellement disponibles, à un placebo à l'absence de traitement.

Phase IV (pharmacovigilance) : Les études de phase IV sont des études entreprises après la délivrance d'une autorisation de mise sur le marché. Ils sont

conçus pour détecter toute réaction indésirable rare ou à long terme ou toute interaction avec d'autres médicaments dans une population générale ou dans un groupe de population spécifique. Les essais de phase IV peuvent également inclure des « études pharmaco-économiques ». [32,33]

II. METHODOLOGIE

2.1. Site d'étude

L'étude a été réalisée à Ouelessebouguou et villages environnants, une commune située dans le cercle de Kati région de Koulikoro au Mali à 80 kms au sud de Bamako sur la route nationale N°7(RN-7).

Le district sanitaire de Ouelessebouguou couvre au total 16 aires de sante avec une population estimée à 50335 habitants (enquête RGPH,2009) avec un centre de sante de référence qui dessert les différents centres de santé.

L'unité de Recherche Clinique de Ouelessebouguou du MRTC a été initiée en 2008 sur financement de GlaxoSmithKline (GSK) et la Fondation de Bill et Melinda Gates en collaboration avec l'Ecole d'Hygiène et de Santé Publique de Londres (London School of Hygiène and Tropical Medicine (LSHTM)). Le centre conduit la recherche sur différents aspects du paludisme y compris l'épidémiologie, l'immunologie du paludisme ainsi que les essais cliniques sur les médicaments et stratégies de lutte contre le paludisme en collaboration avec diverses institutions comme GSK, LSHTM, NIAID/NIH, l'Université de Kansas, Californie à San Francisco aux USA, Médecins Sans Frontières en France.

Afin de bien mener des essais vaccinaux, des installations adéquates pour leurs conduites ont été mises en place à Ouelessebouguou. Le site d'étude a une clinique de recherche avec une unité d'hospitalisation, un laboratoire, une salle de vaccination avec kit de Réanimation au complet, un bloc de quatre WC et une toilette, une buanderie, un incinérateur et un groupe électrogène.

L'équipe est composée de médecins, de pharmaciens, de biologistes, de sages-femmes d'infirmiers, de gestionnaires de données et d'étudiants et stagiaires ainsi que du personnel de soutien (chauffeurs, manœuvres, gardiens, etc.).



Figure : carte du mali montrant ouellessebougu

2.2. Population d'étude :

La population d'étude était composée de volontaires en bonne santé âgés de 18 – 35 ans de sexes masculin et féminin, qui résident à Ouelessebougu et dans les villages environnants au Mali.

2.3. Type d'étude :

Il s'agissait d'un essai clinique randomisé, en double aveugle, contrôlé par placebo pour évaluer la tolérance du vaccin PfSPZ contre le paludisme.

2.4. Période d'étude :

Elle s'est tenue sur une période de plus d'un an soit d'avril 2018 à avril 2019.

2.5. Taille de l'échantillon

Un total de 210 sujets étaient inclus de manière randomisée dans cet essai, 70 sujets dans chaque bras du vaccin (bras 1 et 2) et 35 sujets dans chaque bras contrôle (bras 3a et 3b). Au total, 140 sujets ont reçu le candidat Vaccin PfSPZ et 70 n'ont reçu que le placebo.

Dépistés : Les sujets recevaient un numéro de dépistage pour l'étude après signature du consentement éclairé et la visite de dépistage était faite dans les 56 jours avant la première vaccination et à l'issue des examens cliniques et biologiques, le sujet était déterminé comme « inclus » ou « échoué au dépistage »

Eligibles : les sujets étaient considérés éligibles pour l'enrôlement une fois qu'ils avaient rempli les procédures de dépistage et respecté tous les critères d'inclusion et d'exclusion.

Echec de dépistage : les sujets étaient considérés comme échoués au dépistage quand ils rencontraient l'un des critères suivants après la signature du consentement éclairé ;

- Les résultats du dépistage ont révélé que le sujet est inéligible.
- Le sujet a retiré son consentement avant d'être vacciné et/ou randomisé.
- Le sujet n'a pas pu se présenter à la clinique pour l'enrôlement.
- Le sujet est déterminé éligible pour l'inclusion après l'atteinte de la taille de l'échantillon.

Randomisé : Les sujets sont considérés comme randomisés quand ils répondent aux critères suivants ;

- Respect des critères d'éligibilité.
- Numéro d'identification de l'étude (ID) attribué.
- Numéro de randomisation affecté.

Inclus : le sujet était considéré comme inclus à partir de la collecte des données de base du laboratoire le jour moins (-) 14 de l'étude (-14 jours avant vaccination
1)

Abandons : Les sujets sont considérés comme ayant abandonné l'étude quand ils répondent à un ou plusieurs des critères suivants :

- Le sujet retire son consentement après avoir été vacciné.
- Le sujet est retiré par le Chercheur principal (PI) /Sponsor après avoir été vacciné.

Achévé : les sujets sont considérés comme ayant achevé l'étude quand ils complètent les visites de l'étude du bras de l'étude dans lequel il se trouve.

2.6. Schéma d'étude :

Les volontaires ont été randomisé en double aveugle en quatre bras. Les bras 1 et 3a (bras d'intervention) ont été randomisés en premier en un ratio 2 :1. Les bras 2 et 3b (bras placebo) ont été randomisé en ratio 2 :1 quelques semaines après.

- ✓ **Bras 1** : (n=70) ont reçu 3 doses du Vaccin PfSPZ (9.10^5) en IVD à 0, 8, et 16 semaines d'intervalles.
- ✓ **Bras 2** : (n=70) ont reçu 3 doses du Vaccin PfSPZ (9.10^5) en IVD à 0, 1, et 4 semaines d'intervalles
- ✓ **Bras 3a** : (n=35) : était le témoin pour le bras 1. Les volontaires ont reçu 3 doses de solution saline de placebo par IVD à 0, 8 et 16 semaines d'intervalles.
- ✓ **Bras 3b** : (n=35) : était le témoin pour le bras 2. Les volontaires ont reçu 3 doses de solution saline de placebo par IVD à 0, 1 et 4 semaines d'intervalles.

Tous les volontaires ont reçu un traitement antipaludique avec de l'artéméther/luméfántrine (AL) deux semaines soient 14 jours avant la 3^{ème} vaccination.

Après chaque vaccination, les participants ont été suivi pour la sécurité, l'immunogénicité, l'infection palustre et les maladies mais également au cours de la période de suivi.

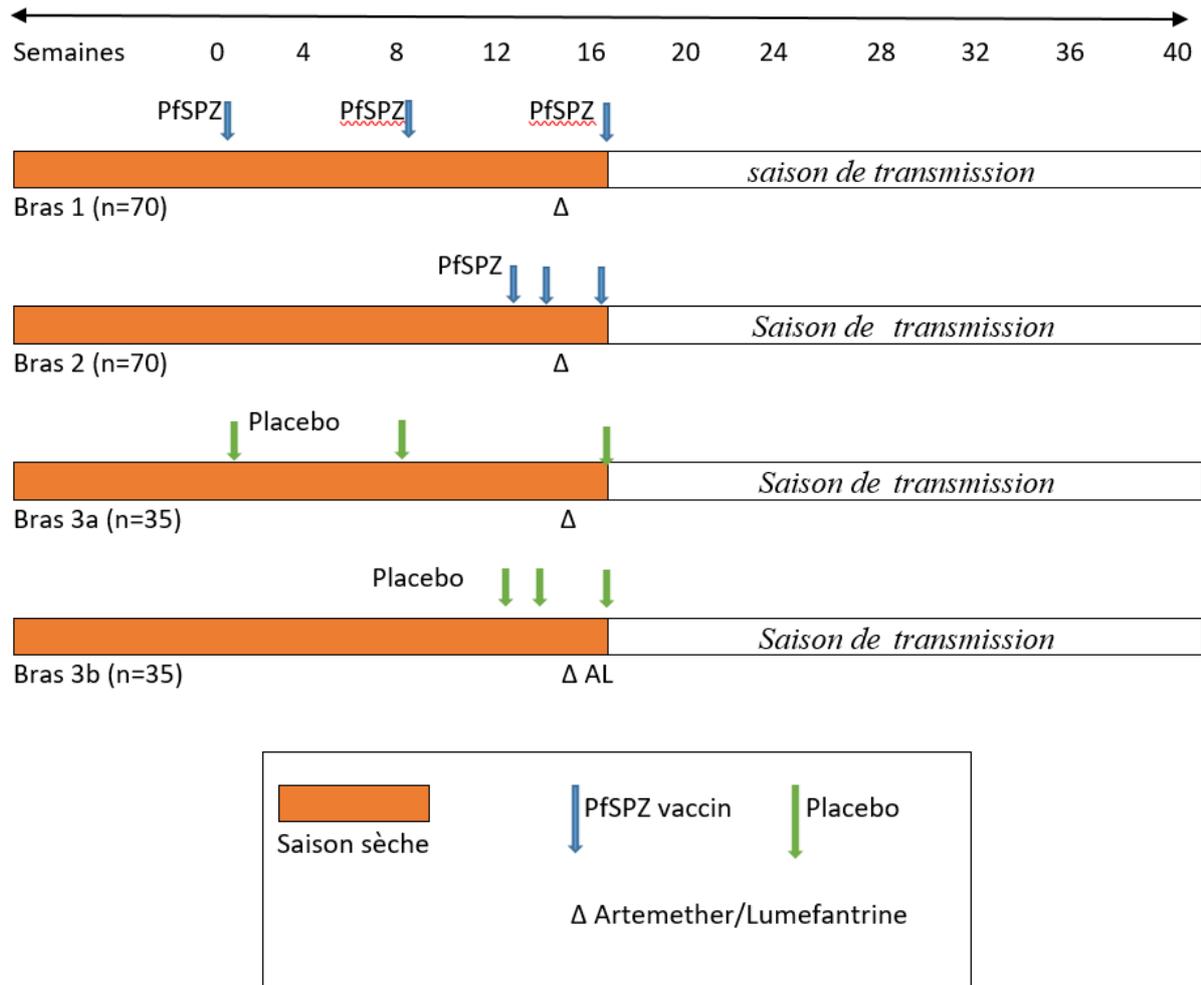


Figure 2:schéma de l'étude phase principale

2.7. Les Critères d'inclusion :

- Donner son consentement éclairé et signé pour participer à l'essai
- Age ≥ 18 et ≤ 35 ans
- Capable de fournir une preuve d'identité à la satisfaction du clinicien d'étude qui achève le processus d'inclusion
- Bon état général de santé et sans histoire d'antécédent médical significatif
- Consentant pour que ses échantillons de sang soient gardés pour des futures recherches
- Disponible pour toute la durée de l'étude

- Les femmes en âge de procréer devaient être prêtes à utiliser une contraception fiable (tel que défini ci-dessous) à partir de 21 jours avant le jour d'étude à 28 jours après la dernière vaccination.

Définition d'une méthode contraceptive fiable incluse :

- Une des méthodes suivantes : délivrance de contraceptifs (parentérale) pharmacologiquement confirmée ; dispositif intra utérin, ou d'implant.
- deux des éléments suivants: des contraceptifs oraux ou transdermiques ou vaginaux documentés; PLUS des préservatifs avec un spermicide ou un diaphragme avec un spermicide

Remarque : Coartem (artéméther en particulier) pouvait réduire l'efficacité des contraceptifs hormonaux systémiques, par conséquent, des méthodes de barrière supplémentaires telles que les préservatifs étaient également utilisés pendant les 3 jours de la prise de Coartem.

On demandait également aux femmes qui ne pouvaient pas tomber enceinte de déclarer la dernière date de la période menstruelle, l'histoire de la stérilité chirurgicale (i.e. ligature des trompes, l'hystérectomie) ou insuffisance ovarienne prématurée (POI), et avaient un test d'urine ou un test de grossesse sérique effectué selon le protocole

2.8. Les critères de non inclusion :

Un sujet n'était pas inclus à cet essai si l'une des conditions suivantes était remplie :

- Refus de participer à l'étude
- Grossesse, telle que déterminée par un échantillon d'urine positif ou un test choriogonadotropine sérique humaine (β -hCG) chez la femme
- Femme actuellement allaitante

- Une maladie comportementale, cognitive ou psychiatrique qui, de l'avis du chercheur affecte la capacité du participant de comprendre et de se conformer au protocole de l'étude.
- L'hémoglobine, les globules blancs, les neutrophiles et les plaquettes en dehors des limites normales définies par le laboratoire local
- Le niveau sérique de l'Alanine transaminase (ALT) ou de la créatinine (Cr) au-dessus de la limite normale supérieure définie par les normes locales.
- Infecté par le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH), l'hépatite C (VHC), ou l'hépatite B (VHB).
- La drépanocytose connue et documentée par interrogatoire (Remarque : le trait drépanocytaire connu n'entraîne pas une exclusion).
- Preuve d'antécédent de maladie neurologique, cardiaque, pulmonaire, hépatique, endocrinienne, rhumatologique, auto-immune, hématologique, oncologique ou rénale cliniquement significative, l'examen physique, et / ou des études de laboratoire, y compris l'analyse de l'urine.
- Antécédent de prise d'un produit expérimental au cours des 30 derniers jours
- La participation ou la participation prévue à un essai clinique avec un produit expérimental avant l'achèvement de la visite de suivi 28 jours après la dernière vaccination ou la participation prévue à une étude de vaccin expérimental jusqu'à la dernière visite requise du protocole.
- Les problèmes médicaux, professionnels ou de famille à la suite de consommation d'alcool ou de drogues illicites au cours des 12 derniers mois.
- Antécédent d'une réaction allergique sévère (grade 3 ou plus, ou par discrétion du PI) ou choc anaphylactique.
- L'asthme sévère (défini comme l'asthme qui est instable ou des soins émergents, des soins d'urgence, l'hospitalisation ou l'intubation sont requis au cours des 2 dernières années, ou qui a nécessité l'utilisation de corticostéroïdes par voie orale ou parentérale à tout moment au cours des 2 dernières années)

- Les maladies auto-immunes préexistantes ou à médiation par anticorps, y compris, mais sans s'y limiter : au lupus érythémateux disséminé, à la polyarthrite rhumatoïde, à la sclérose en plaques, au syndrome de Sjögren, ou à la thrombocytopénie auto-immune
- La réception d'un vaccin vivant au cours des 4 dernières semaines ou d'un vaccin inactivé au cours des 2 dernières semaines avant la vaccination # 1 et chaque jour de vaccination ultérieure.
- La prise des produits immunoglobulines et / ou sanguins au cours des 6 derniers mois
- Les allergies connus ou une contre-indication au Coartem.

Utilisation de :

- _ Corticostéroïdes (≥ 14 jours) par voie orale ou intraveineuse de façon chronique (à l'exclusion de la voie topique ou nasale) à des doses immunosuppressives (par exemple, prednisone $> 10\text{mg} / \text{jour}$) ou des médicaments immunosuppressifs dans les 30 jours suivant la vaccination.
- _ Artemether / lumefantrine dans les 14 jours de la vaccination, à moins que prescrit par un investigateur de l'étude dans le cadre des procédures de l'étude.
- _ Autres antipaludiques ou d'antibiotiques systémiques avec une activité antipaludique connue dans un délai de 5 fois la demi-vie du médicament avant la première vaccination (Ex : Artemether, artéméther-luméfántrine, sulfadoxine-pyriméthamine, triméthoprime-sulfaméthoxazole, doxycycline, clindamycine, érythromycine, ciprofloxacine, autres, fluoroquinolones ou azithromycine)

✓ **Justification pour la non inclusion des femmes enceintes :**

Cette étude n'a pas inclus les femmes enceintes et / ou qui allaitaient, car les effets du vaccin PfSPZ sur le développement du fœtus humain ne sont pas connus. L'artéméther/luméfántrine est considéré comme un médicament de catégorie C, il n'y a pas d'études adéquates chez les femmes enceintes, donc seulement

recommandé pour l'utilisation si l'avantage potentiel justifie le risque potentiel pour le fœtus. Cependant, si une femme tombait enceinte après l'inscription, elle continuait à participer à l'étude pour un suivi de la sécurité, le suivi de l'infection palustre et sa prise en charge et la réduction de l'immunogénicité du vaccin.

2.9. Procédure de l'étude :

2.9.1. Consentement communautaire :

Le consentement communautaire était sollicité auprès des autorités villageoises et d'autres membres de la communauté après explication et discussion de l'étude lors d'une rencontre de la communauté. Une annonce générale était faite en utilisant la radio locale ou un canal de communication traditionnelle, invitant les membres du ménage et de la famille à la clinique pour en apprendre davantage sur l'étude.

Les évaluations suivantes étaient effectuées avant la vaccination :

- ✓ Expliquer les procédures de l'étude / consentement éclairé au volontaire ;
- ✓ S'assurer que le volontaire a signé le formulaire de consentement éclairé et a reçu une copie signée du formulaire de consentement éclairé.
- ✓ S'assurer qu'il a répondu correctement avec un score $\geq 80\%$ aux questions lors de l'examen de compréhension du paludisme.
- ✓ Rechercher des antécédents médicaux complets, y compris les antécédents des menstruations et de contraception et/ou des antécédents de stérilité chirurgicale chez les femmes.

Les femmes en âge de procréer doivent être disposé à utiliser une méthode contraceptive pendant une période allant au moins du dépistage à 28 jours après la dernière vaccination.

Faire un examen physique complet y compris la mesure des signes vitaux (poids, taille, tension artérielle, température, battements du cœur)

Test de dépistage du VIH avec conseils avant et après conformément aux directives nationales du Mali, incluant le contact de la personne pour rapporter le résultat, le suivi et pour des soins appropriés si nécessaire.

Obtenir environ 10-15 ml de sang pour la Numération Formule Sanguine (NFS), le dosage de l'ALAT, le dosage de la créatinémie, l'antigène de surface de l'hépatite B, l'anticorps de l'hépatite C et les anticorps de dépistage du VIH.

Obtenir de l'urine (ou du sérum) pour le test de grossesse pour les femmes et le test de bandelettes pour la recherche de protéines et de sang dans les urines.

En cas de découverte d'une maladie chronique et/ou HIV, Hépatites B, C au cours du dépistage, le traitement et les soins à long terme n'étaient pas pris en charge par l'étude. Ces volontaires étaient référés pour des soins continus dans une structure appropriée. Conformément aux exigences nationales des états en matière de déclaration de maladies transmissibles, les résultats des tests positifs pour le VIH, le VHB et le VHC ont été signalés au service de santé local conformément aux lois applicables et références médicales en vigueur. Toutes les pathologies aiguës curables étaient prises en charge jusqu'à la guérison à la charge de l'étude.

2.9.2. Le dépistage :

Le but de la visite de dépistage était de déterminer l'éligibilité du sujet pour sa participation à l'étude. Les procédures de dépistage comprennent entre autres : le consentement éclairé individuel, le questionnaire de compréhension du paludisme, les tests de laboratoire et les observations cliniques.

2.9.3. Enrôlement :

Tous les participants qui ne présentaient pas de critères d'exclusion à l'éligibilité final ont été enrôlés pour la phase primaire.

Les bras 1 (bras vaccin, 9×10^5 PfSPZ Vaccine, n=70) et 3a (bras contrôle, solution saline normale, n=35) ont été randomisés en premier pour recevoir les vaccins à 0, 8 et 16 semaines.

Les bras 2 (bras vaccin, 9×10^5 PfSPZ Vaccine ; n=70) et 3b (bras contrôle, solution saline normale ; n=35) ont été enrôlés et ont reçu des vaccinations à 0, 1

et 4 semaines. L'étude a été programmée de manière à ce que la troisième vaccination soit administrée en même temps à tous les participants.

2.9.4. La vaccination :

✓ Poste d'identification :

Ce poste était composé d'un investigateur et d'un guide. Le travail consistait à identifier chaque volontaire par le guide au départ et aussi à travers le numéro de dépistage ainsi que la carte d'identification comportant une image de la participante puis à vérifier l'obtention du consentement éclairé. Après cette vérification de l'identité, le volontaire était dirigé, vers les postes cliniques au cours de l'étude.

✓ Poste clinique :

Il était Composé de médecins tenant chacun une salle de consultation médicale. L'examen clinique et l'examen physique complet ont été effectués. Les participants étaient ensuite orientés vers la salle de prélèvement du laboratoire certifié CAP (College of American Pathologists).

✓ Poste de prélèvement :

Les prélèvements suivants étaient effectués avant la vaccination :

- Tests de grossesse du β -hCG sur le sérum et/ou l'urine. Un test positif avant la vaccination exclura la participante de l'essai
- Prélèvement d'environ 10 ml de sang pour la NFS et le nombre de plaquettes, le dosage de l'ALT, le dosage de la créatinémie.
- Tests de diagnostic rapide du paludisme(TDR) peuvent être utilisés à des fins de diagnostic clinique.
- Test a la bandelette pour la recherche de protéines et de sang dans les urines.

✓ Préparation et administration du vaccin :

Le Vaccin PfSPZ est cryoconservé en aliquotes de 20 microlitres dans des flacons de 0,5 ml et stockés dans l'azote liquide en phase vapeur (LNVP) en dessous de -150°C. Les flacons sont emballés dans une boîte verrouillée et transportés de

Sanaria, Inc. sur le site clinique de l'étude dans un expéditeur contenant de l'azote en phase vapeur à sec. L'expéditeur à sec a un temps de conservation d'au moins 10 jours est régulièrement rechargé avec de l'azote liquide.

Le transfert, la réception et l'entretien du Vaccin PfSPZ à partir de son site de stockage sur le site de l'essai clinique étaient conformes aux procédures de transport et de matériels fourni par Sanaria, Inc.

Sur le site d'étude, l'expéditeur était surveillé en permanence par un enregistreur de température selon le SOP de Sanaria, Inc.

La réception des produits était documentée sur un formulaire de suivi par le personnel de l'étude formé selon le SOP de Sanaria.

L'équipe des pharmaciens composé de quatre membres, formés par Sanaria était chargée de décongeler par immersion partielle des flacons pendant 30 secondes dans un bain d'eau de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ avant utilisation.

Pour la préparation du diluant, le diluant utilisé était la solution saline tamponné de phosphate(PBS) et contenant de l'albumine de sérum humain(HSA).

Ils étaient ensuite chargés de vérifier le numéro de dépistage du participant en vérifiant la liste de randomisation correspondant à ce numéro puis préparer le vaccin destiné au participant avec toutes les conditions requises, remplir le dossier des participants et passer la seringue étiquetée et le cahier d'observation aux vaccinateurs, dans une autre salle séparée de la première par une fenêtre coulissante. Le Vaccin PfSPZ était injecté à l'aide d'une aiguille dans une veine périphérique par des vaccinateurs qualifiés de l'équipe clinique.

✓ **Salle d'observation et de réanimation clinique poste-vaccinale**

Après la vaccination le participant était observé par un anesthésiste réanimateur, un médecin et un interne en médecine pendant 30 minutes dans une pièce séparée pour l'évaluation des réactions locales et générales notamment la température orale, le pouls, la tension artérielle et la fréquence respiratoire.

La salle était équipée d'un lit d'hospitalisation, d'un obus d'oxygène, un lot de matériels et produits de réanimation.

Une ambulance était présente 24h/24 avant le début de la vaccination et 24h/24 après la vaccination.

Cette ambulance était réservée pour le transport immédiat en cas de réaction allergique grave vers un centre spécialisé.

2.9.5. Les critères de report de la vaccination

Si l'un des effets indésirables suivants était présents au moment de l'injection prévue (vaccination avec Vaccin PfSPZ ou une solution saline normale, le sujet pouvait être soit vacciné à une date ultérieure dans la fenêtre de vaccination autorisée selon le protocole ou retirée par le jugement de l'Investigateur :

- La température buccale $> 37,5^{\circ}\text{C}$ au moment de l'injection justifiait le report de l'injection jusqu'à la disparition de la fièvre.
- Toute autre condition que de l'avis de l'investigateur pouvait constituer une menace pour l'individu si vacciné ou qui peut compliquer l'interprétation de l'innocuité du vaccin après la vaccination.
- Cette personne (s) était suivie à la clinique jusqu'à ce que les symptômes disparaissent ou la fenêtre pour l'injection expire.

2.9.6. Les contre-indications à la vaccination

Les critères suivants étaient vérifiés avant chaque injection et étaient des contre-indications à de nouvelles injections :

- La réaction d'hypersensibilité après l'administration du produit à l'étude (Vaccin PfSPZ ou placebo)
- Test d'urine positif ou le test de sérum β -hCG positif avant l'injection.

Les sujets étaient encouragés à rester dans l'évaluation de la tolérance pour les doses déjà reçues

✓ **Le conditionnement et envoie des échantillons :**

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

- Respect du délai entre le prélèvement et la réception pour les tubes SST et HEPARINE.
- Respect du délai entre le prélèvement et le transport à Bamako : 1 h 30 à 2 heures pour les tubes SST et HEPARINE.
- Volume du prélèvement suffisant selon les normes du protocole de l'étude

2.10. Evaluation et suivi de la tolérance

2.10.1. Définitions des termes

Evènements Indésirables :

Un événement indésirable est tout évènement médical indésirable ou défavorable chez un sujet humain, qui comprend tout signe anormal (par exemple, l'examen physique anormal ou la constatation de laboratoire), le symptôme ou la maladie temporellement associée à la participation du sujet dans la recherche, que cela soit considéré ou pas comme lié à la recherche.

Réaction Indésirable (RI): Un événement indésirable qui est causé par un agent expérimental (médicament ou produit biologique).

Réaction Indésirable Suspectée (RIS) : Un événement indésirable pour lequel il existe une possibilité raisonnable que l'agent expérimental a provoqué la réaction indésirable. « Possibilité raisonnable » signifie qu'il existe des preuves pour suggérer un lien de causalité entre le médicament et l'événement indésirable. Une réaction indésirable suspectée implique un moindre degré de certitude quant à la causalité de réaction indésirable qui implique un degré élevé de certitude.

Événement Indésirable Grave (EIG) : Un événement indésirable grave (EIG) est défini comme un EI qui correspond, résulte dans l'un des résultats suivants :

- ✓ Décès
- ✓ Menace de mort (par exemple, une menace immédiate pour la vie)
- ✓ Hospitalisation ou prolongation d'une hospitalisation existante
- ✓ incapacité persistante ou importante ou une perturbation importante de la capacité de mener des fonctions normales de la vie
- ✓ Anomalie / malformation congénitale
- ✓ Événement médicalement important

Événement Indésirable Inattendu : Un EI est imprévu s'il ne figure pas dans la Brochure du chercheur ou la Notice (pour les produits commercialisés) ou ne figure pas à la spécificité ou la gravité qui a été observée. Il est de la responsabilité du Sponsor IND de prendre cette décision.

2.10.2. Suivi de la tolérance

La collecte des événements indésirables était faite lors des visites programmées par l'étude (30 mn post vaccination, 7 jours ou 14 jours après chaque vaccination ou toutes les deux semaines pendant le suivi) et des visites imprévues quand le volontaire présentait des symptômes pendant une année.

Un investigateur clinique était disponible à tout moment en cas de ces visites imprévues.

Les données de ces évènements indésirables étaient recueillies sur des formulaires de report de cas (CRF) puis transmises dans une base de données électronique appelée iDataFax.

2.10.3. Sécurité

A chaque contact avec le volontaire, l'information relative aux évènements indésirables a été évaluée par interrogatoire, examen physique ou suite aux prélèvement de laboratoires et documentée :

Immédiatement dans un document source Enregistrée sur le Formulaire du Rapport de Cas d'Evènements Indésirables (FRC/EI) ou dans la base des données électroniques.

Rapportée au Sponsor de l'étude, au comité d'éthique si l'évènement est sérieux et, Au FDA (Sponsor IND, IRB, FDA).

Les évaluations cliniques et biologiques suivantes étaient réalisées dans les 14 jours après la vaccination (voir Tableau 1 ci-dessous). Les valeurs de référence également sont consignées dans les tableaux de l'annexe.

Tableau I: Résumé des évaluations cliniques et de laboratoires

Evaluations cliniques et laboratoires	J1	J3	J7	J14	Le suivi
Historique des symptômes avec le participant	X	X	X	X	Voir le tableau dans l'annexe ci-dessous
Interrogatoire et examen physique incluant le site d'injection	X	X	X	X	
Prise des signes vitaux (pression artérielle, fréquence cardiaque, température)	X	X	X	X	
Report des EIs et les médicaments concomitants	X	X	X	X	
Prélèvement de sécurité (NFS, CREAT, ALAT,		X	X	X	
Goutte épaisse et qPCR pour le paludisme				X	
Test de grossesse sur sérum et/ou sur urine					

2.10.4. La Gravité des évènements indésirables :

L'évaluation de la gravité de la réactogénicité locale ou systémique, des évènements indésirables non sollicités, était faite selon des normes de grade de toxicité et de sévérité préétablies par le protocole

Tableau II : classification du niveau de gravite des évènements indésirables

Gravité	Définition
Grade 1 (légère)	Aucune interférence avec l'activité, peut utiliser une dose d'un médicament en vente libre.
Grade 2 (Modérée)	L'utilisation répétée d'analgésique non-narcotique > 24 heures ou des interférences avec l'activité
Grade 3 (Grave)	Activités de la vie quotidienne limitées à <50% de la valeur initiale, de l'évaluation médicale / du traitement requis
Grade 4 (Mortel)	Limitation extrême dans l'activité, une assistance significative requise; une intervention médicale immédiate ou un traitement nécessaire pour empêcher le décès.
Grade 5	Décès

La relation de causalité des évènements indésirables avec les produits en investigation était déterminée selon les critères ci-après :

✓ **Définitivement Liée**

Relation temporelle raisonnable existe, Suit un modèle de réponse connue, Une preuve claire pour suggérer un lien de causalité, Il n'existe pas une autre alternative étiologique.

✓ **Probablement Liée**

Relation temporelle raisonnable existe entre la survenue de l'EI et l'administration du produit, suit un modèle de réponse présumé, pas de preuve d'une autre cause plus probable.

✓ **Peut être Liée**

Relation temporelle raisonnable existe entre la survenue de l'EI et l'administration du produit Peu de preuves pour une autre cause plus probable.

✓ **Relation peu probable**

Inexistence d'une relation temporelle raisonnable existe entre la survenue de l'EI et l'administration du produit ; ou de bonnes preuves pour une autre cause plus probable.

✓ **Non Liée**

Inexistence d'une relation temporelle raisonnable entre la survenue de l'EI et l'administration du produit ou existence certaine d'une preuve que l'EI soit due à une autre cause.

2.11. Le diagnostic du paludisme : Goutte épaisse

Le standard pour le diagnostic du paludisme était la détection des parasites du paludisme sur les gouttes épaisses colorées au Giemsa. Les gouttes épaisses étaient préparées en deux exemplaires selon les procédures standard de la méthode Sanaria et évaluées par des microscopistes formés pour l'étude, et les résultats étaient rapportés aux investigateurs cliniques de l'étude.

Deux gouttes de 10 µl de sang étaient étalés sur une lame porte objet bien dégraissée et en double exemplaire puis séchée à l'air libre pendant au moins 35 minutes avant de procéder à la coloration au Giemsa concentré à 4%.

La lecture des lames était faite en nombre de passe, un total de 5 passe était examiné à la recherche de parasite de *P. falciparum* pour des sujets asymptomatiques.

Au moins 0,5 µl de sang étaient analysées. Cette méthode permettait de détecter une densité parasitaire d'environ 3 parasites / µl et un diagnostic précoce, souvent avant que les sujets ne deviennent symptomatiques du paludisme.

Pour les sujets symptomatiques, au moins 1,5 µl de sang était analysé au microscope.

Les lames étaient considérées comme positives si au moins deux parasites de *P. falciparum* sans ambiguïtés par lame étaient identifiés et confirmés par un second microscopiste

2.12. Collecte, Traitement et analyse des données

Les données étaient recueillies sur des formulaires de report de cas (FREC) puis transmis dans une base de données électronique appelée iDataFax. Les informations étaient recueillies directement auprès des participants lors des visites de l'étude.

Les données ont été exportées par Stata12 pour faire les fréquences des EIs, des grades de toxicité et des relations de causalité.

2.13. Aspects règlementaires par rapport à la gestion et l'utilisation des données de recherche sur l'homme

✓ Utilisation attendue

Les échantillons et les données collectés dans ce protocole ont été utilisés pour étudier le paludisme et les maladies apparentées ainsi que des réactions indésirables possibles dues à la vaccination. Des tests génétiques ont été faits en conformité avec les informations du protocole fournies dans le formulaire de consentement éclairé.

✓ **Stockage des données**

L'accès aux échantillons de recherche est limité en utilisant soit une pièce fermée à clé ou un congélateur fermé à clé. Les échantillons et les données sont stockés en utilisant des codes assignés par les investigateurs ou leurs délégués. Les données ont été gardées dans des ordinateurs protégés avec des mots de passe. Seuls les investigateurs ou leurs délégués ont eu accès aux échantillons et aux données. Les échantillons sont stockés au LMIV à Rockville, ou dans un entrepôt thermo-scientifique conçu du LMIV, à Rockville, ou au MRTC à Bamako, Mali.

✓ **Disposition à la fin de l'étude :**

Dans le futur, d'autres investigateurs (à la fois du NIH et d'ailleurs) peuvent souhaiter étudier ces échantillons et/ou ces données. Dans ce cas, l'approbation du comité d'éthique devra être obtenue avant tout partage d'échantillons. Tout renseignement clinique partagé au sujet des échantillons avec ou sans identificateurs des participants nécessiterait de la même façon au préalable l'approbation du comité d'éthique.

2.14. Considérations éthiques

L'étude a été approuvée par les comités d'éthiques de la FMPOS et du NIAID/NIH. Aussi, tous les amendements apportés au protocole ont été soumis à ces deux comités d'éthiques et une approbation a été obtenue à chaque fois avant la mise en œuvre des changements apportés. La participation à l'essai vaccinal était volontaire et, chaque participant devait donner son consentement libre et éclairé et avait la possibilité de retirer son consentement à tout moment durant la conduite de l'étude. La confidentialité des données a été maintenue conformément aux exigences réglementaires. Seul le personnel autorisé avait accès aux données de l'étude et, il n'y avait qu'un numéro d'étude sur le dossier médical de chaque participant. Les volontaires n'étaient pas identifiables dans des rapports publics. Toutes les informations étaient maintenues confidentielles dans les limites

prévues par les lois fédérales, étatiques et locales. Les moniteurs de l'étude et les autres représentants autorisés du Sponsor ont inspecté tous les documents et informations nécessaires gardés par l'investigateur. L'investigateur a informé les volontaires que les représentants susnommés pouvaient examiner leurs informations relatives à l'étude sans violer la confidentialité sur leur identité.

Tous les échantillons de laboratoire, les formulaires d'évaluation, les rapports, et autres informations qui quittaient le site sont identifiables uniquement par un numéro codé pour préserver la confidentialité sur l'identité des volontaires. Toutes les informations sont gardées dans des armoires fermées à clé et toutes les données dans l'ordinateur ainsi que les programmes de mise en réseau ont été faites avec uniquement des numéros codés.

Les informations cliniques ne seront pas publiées sans l'autorisation écrite du volontaire, exceptée si c'est nécessaire pour la surveillance par les comités d'éthique, le FDA, le NIAID, ou la personne déléguée par le sponsor. Les volontaires étaient compensés en nature (le riz ou le mil) ou l'équivalent en espèces, en plusieurs versements pour compenser le temps perdu pour venir à la clinique de l'étude pour les visites liées au protocole.

Dans cet essai la compensation était en espèces, cela avait été décidé en consultation avec les anciens du village.

Le Comité d'éthique de la FMPOS du Mali recommande de compenser le volontaire d'étude pour le temps perdu pour les procédures d'étude. Le montant prévu était de 6 dollars américain pour chaque visite programmée avec prélèvement de sang, 3 dollars américain pour chaque visite programmée sans prélèvement de sang.

Pour les visites imprévues qui demandaient des analyses de laboratoires pour les besoins de la recherche comme des visites de goutte épaisse positive au cours de

la saison de transmission du paludisme, les volontaires étaient compensés avec 6 dollars américain.

III. RESULTATS

Nous avons commencé le dépistage le 14 mai 2018 et l'inclusion a débuté en Juin 2018.

Notre visite de dépistage a porté sur 479 participants pour enrôler 217 participants en bonne santé répondants aux critères d'inclusions et d'exclusions. Nous avons retenu 210 participants qui ont reçus la première vaccination. Les participants ont été répartis au hasard dans quatre bras. Les bras 1 (bras ayant reçu le vaccin à la dose de 9×10^5 PfSPZ, n=70) et 3a (bras contrôle ayant reçu la solution saline normale, n=35) ont été randomisés en premier pour recevoir les vaccins à 0, 8 et 16 semaines d'intervalle. Les bras 2 (bras ayant reçu le vaccin à la dose de 9×10^5 PfSPZ, n=70) et 3b (bras contrôle ayant reçu la solution saline normale, n=35) ont été enrôlés et ont reçu des vaccinations à 0, 1 et 4 semaines d'intervalle. Nous avons programmé de manière à ce que la troisième vaccination soit administrée en même temps à tous les participants des 4 bras.

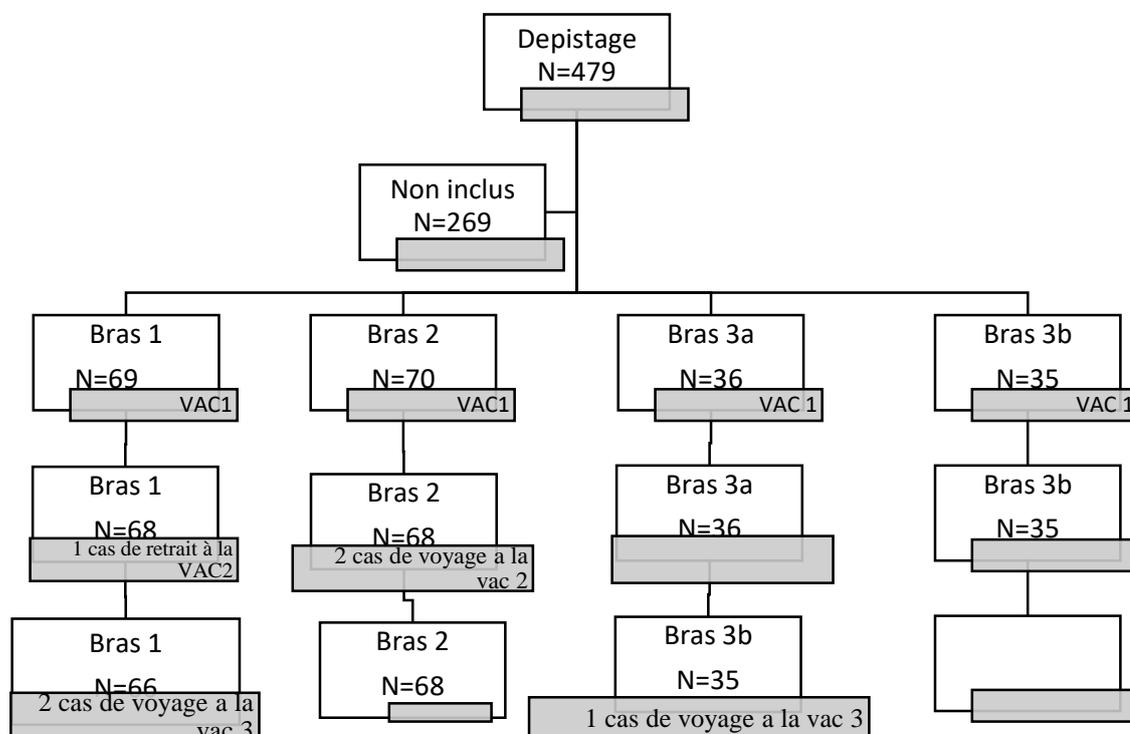


Figure 3 : Participation des volontaires à l'étude PfSPZ (diagramme de flux)

3.1. Caractéristiques générale de la population

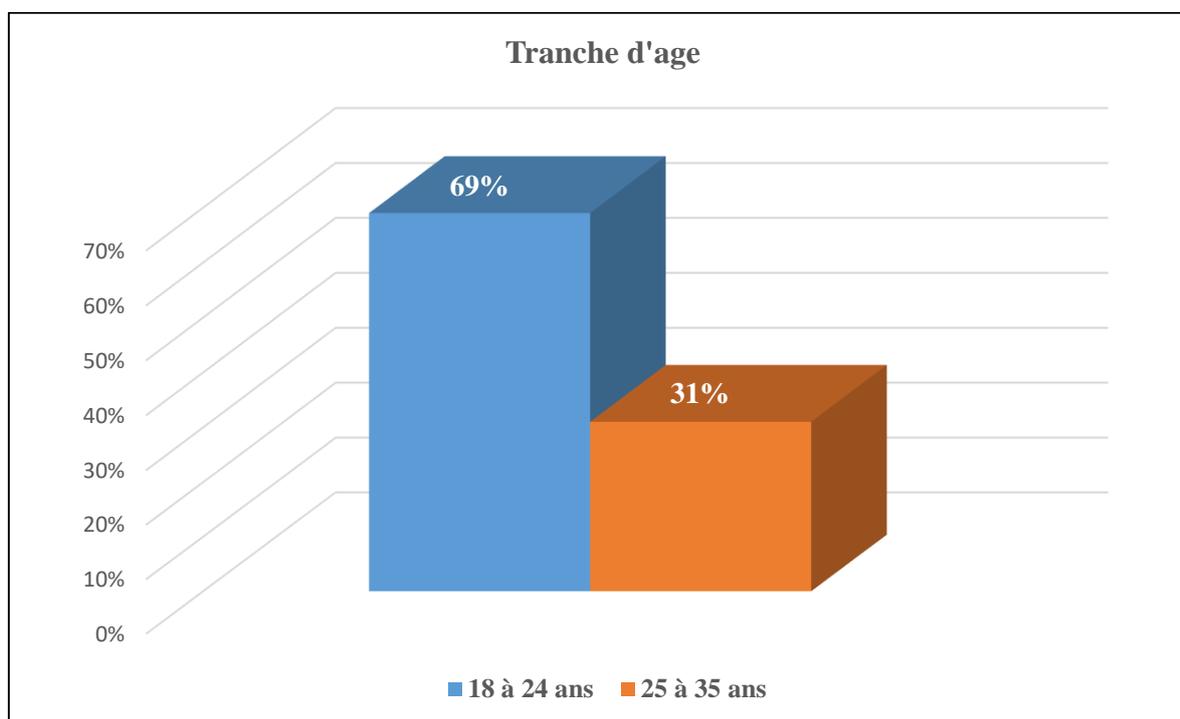


Figure 3 : Répartition des participants selon la tranche d'âge

La tranche d'âge de 18-25 ans était la plus représentée dans notre étude soit 69%, avec un âge moyen de 23ans.

Tableau III : Répartition des 210 participants selon la tranche d'âge et le sexe

Tranche d'âge	Masculin	Féminin	Total
18-24	93(44,2%)	52(24,7%)	145(69%)
25-35	43(20,4%)	22(10,4%)	65(31,0%)
Total	136(64,8%)	74(35,2)	210(100%)

Le sexe masculin était le plus représenté dans les deux tranches d'âge soit respectivement 44,2% et 20,4%.

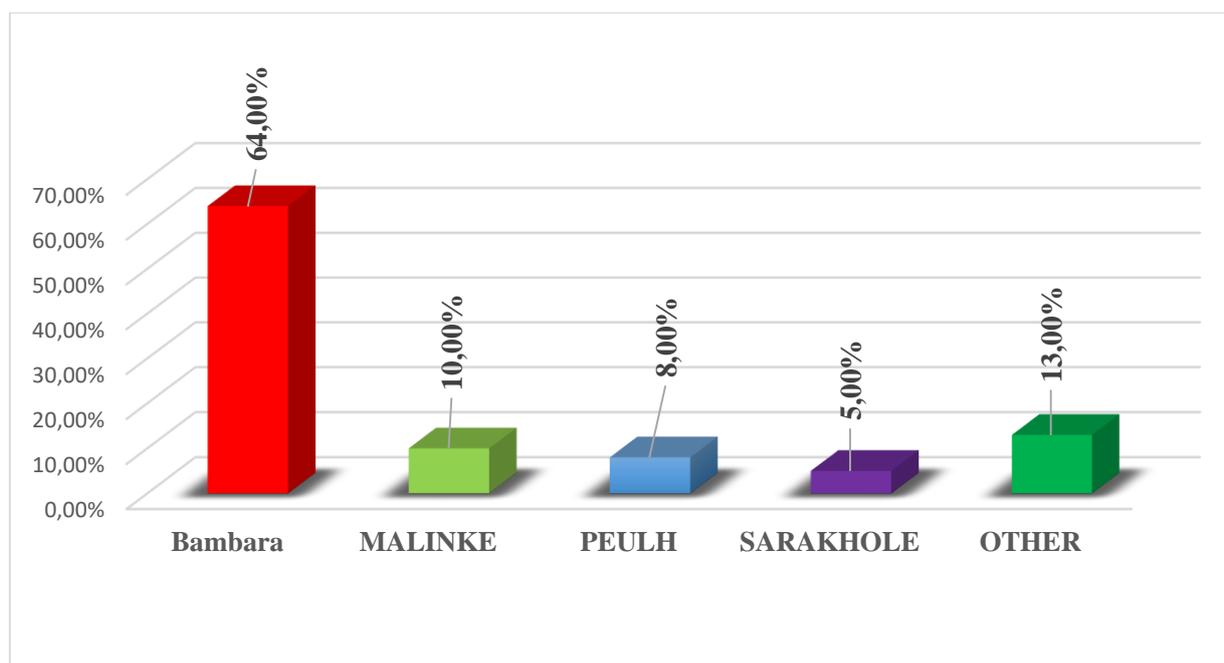


Figure 4 : Répartition des participants selon l'ethnie

La majorité de nos participants étaient des Bambaras soit 64% de notre échantillon.

Tableau IV: Répartition des participants selon les critères de non inclusion dans l'étude

Critères	Fréquence	Pourcentage
Inéligible au dépistage*	193	71,74%
Retrait de consentement	32	12%
Non conforme avec le protocole	1	0,3%
EI répondant au critère de retrait	1	0,3%
Perdu de vue	3	1,1%
Autres	39	14,6
Total	269	100%

* : Ag HBS positif, ECG anormal, HTA, VIH, grossesse, arythmie, et polyarthrite rhumatoïde.

L'inéligibilité au dépistage était le critère de non inclusion à l'étude le plus retrouvé soit 71,74%.

Tableau VI : Répartition des participants selon les raisons de non complétude à l'étude

Raisons	Bras1 et 2 (Vaccin)	Bras3a et 3b (Solution saline)	Total
Retrait de consentement	2(8,3)	5(20,83)	7(29,16%)
Grossesse	2(8,3)	1(4,2)	3(12,5)
Perdue de vue	10	2(8,3)	12(50,0%)
Hypertension	1(4,2)	0(0,0%)	1(4,2)
Drépanocytose	1(4,2)	0(0,00%)	1(4,2)
Total	16(66,7)	8(33,3)	24(100,0%)

Les cas de perte de vue étaient la raison de non complétude à l'étude la plus retrouvée soit 50%.

3.2. La Tolérance

3.2.1. Fréquence des évènements indésirables dans les 30 mn après la vaccination

Tableau V: Fréquence des évènements indésirables locaux survenus dans les 30mn d'observation après les Trois séries de vaccinations réparties selon les bras d'intervention et Placebo

	Bras 1 et 2	Bras3a et 3b	Total
EI local 30mn	(Vaccin)	(Solution saline)	(n%)
	(n%)	(n%)	
Douleur du site d'injection	7((50,0%))	7(50,0%)	14(100%)
Total	7(50,0%)	7(50,0%)	14(100%)

La douleur du site d'injection représentait l'ensemble des 14 réactogénicités locales retrouvées. On n'observe pas de différence entre le groupe d'intervention et Placebo.

Tableau VI : Fréquence des évènements indésirables systémiques survenus dans les 30mn d'observation après chacune des trois vaccinations réparties selon les bras d'intervention et placebo.

EI systémique	Bras1 et 2 (Vaccin) (n%)	Bras3a et 3b (Solution saline) (n%)	Total (n%)
Bradycardie	4(26,6)	1(6,7)	5(33,3)
Arthralgie	1(6,7)	0	1(6,7)
Frissons	1(6,7)	0	1(6,7)
Fièvre	1(6,7)	0	1(6,7)
Céphalées	1(6,7)	0	1(6,7)
Hypertension artérielle	3(20)	1(6,7)	4(26,7)
Tachycardie	1(6,7)	0	1(6,7)
Infection respiratoire	1(6,7)	0	1(6,7)
Total	13(86,7)	2(13,3)	15(100)

Au total nous avons enregistré 15 cas d'évènements indésirables systémique dans les 30mn d'observation après vaccination, parmi lesquels la bradycardie et l'hypertension artérielle étaient les plus retrouvées avec respectivement 33,3% et 26,7%.

3.2.2. Fréquence des évènements indésirables de J1 à J7 suivant la vaccination

Tableau VII: Répartition des évènements indésirables clinique ou biologique de J1 à J7 après chacune des trois vaccinations en fonction du groupe de traitement.

EI	Bras1 et 2 (Vaccin) (n%)	Bras3a et 3b (Solution saline) (n%)	Total (n%)
Cliniques	145(54,5%)	58(21,8%)	203(76,3)
Laboratoires	38(14,3%)	25(9,40%)	63(23,7)
Total	183(68,9%)	83(31,2%)	266(100)

Dans les 07 jours suivant les trois séries de vaccination, nous avons observé 266 cas d'EI dont la majorité était cliniques avec 76,3% des cas.

Tableau VIII: Fréquence des évènements indésirables cliniques jugés liés repartis selon les bras d'intervention et placebo.

EI cliniques liés	Bras 1 et 2 (PfSPZ Vaccin) (n%)	Bras 3a et 3b (Solution saline) (n%)	Total (n%)
Céphalées	23 (16,7%)	8 (5,8%)	31 (22,5%)
Bradycardie	11 (8,0%)	5(3,62%)	16 (11,6%)
Myalgie	5 (3,62%)	2 (1,4%)	7 (5,07%)
Hypertension Artérielle	6 (4,3%)	4 (2,9%)	10 (7,2%)
Hypotension	1 (0,72%)	0 (0,0)	1 (0,72%)
Arthralgie	6(4,3)	1 (0,72%)	7 (5,07%)
Douleur du site d'injection	5 (3,62%)	5 (3,62%)	10 (7,2%)
Douleur Abdominal	6(4,3%)	1 (0,72%)	7 (5,07%)
Tachycardie	4 (2,9%)	0 (0,0)	4 (2,9%)
Prurit	3 (2,2%)	1 (0,72%)	4 (2,9%)
Vertiges	2 (1,4%)	1 (0,72%)	3 (2,2%)
Dysenterie	1 (0,72%)	0 (0,0)	1 (0,72%)
Entérite	1 (0,72%)	0 (0,0)	1 (0,72%)
Gastroentérite	1 (0,72%)	1 (0,72%)	2 (1,4%)
Fatigue	4 (2,9%)	1 (0,72%)	5 (3,62%)
Douleur de la hanche	1 (0,72%)	0 (0,0%)	1 (0,72%)
Fièvre	(0)	1 (0,72%)	1 (0,72%)
Courbatures	4 (2,9%)	1 (0,72%)	5 (3,62%)
Mal de dos	2 (1,4%)	1 (0,72%)	3 (2,2%)
Frissons	2 (1,4%)	1 (0,72%)	3 (2,2%)
Diarrhées	6 (4,3)	0(0,0)	6 (4,3)

Nausée	1 (0,62%)	2 (1,4%)	3 (2,2)
Palpitations	3 (2,2)	0 (0,0)	3 (2,2)
Vomissement	2 (1,4%)	0 (0,0)	2 (1,4%)
Malaise	2 (1,4%)	0 (0,0)	2 (1,4%)
Ballonnement	1 (0,72%)	0 (0,0)	1 (0,72%)
Urticaire	1 (0,72%)	0 (0,0)	1 (0,72%)
Paresthésie	1 (0,72%)	0 (0,0)	1 (0,72%)
Autre	0(0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Total	116 (84,05%)	45 (15,95%)	138(100%)

Parmi les EI cliniques jugés liés au produit d'investigation, les Céphalées étaient les plus retrouvées avec 22,5% suivies de la bradycardie avec 11,6%, de l'hypertension artérielle et la douleur du site d'injection avec 7,2%.

Il y a eu une plus importante représentation des évènements indésirables liés dans la catégorie du bras vaccin excepté la douleur du site d'injection.

Tableau IX : Fréquence des évènements indésirables cliniques jugés liés repartis selon les bras d'intervention et placebo.

EI cliniques non liés	Bras1 (Vaccin) (n%)	Bras3a et 3b (Placebo) (n%)	Total (n%)
Paludisme	7(10,8)	2 (3,08%)	9 (13,8%)
Rhinopharyngite	0(0,0)	2 (3,08%)	2 (3,08%)
Bronchite	1 (1,5%)	1(1,5%)	2 (3,08%)
Toux	0(0,0)	1(1,5%)	1(1,5)
Hypertension Artérielle	1(1,5%)	1(1,5%)	2 (3,08%)
Conjonctivite	2 (3,08%)	1(1,5%)	3 (4,6%)
Leucorrhées	1(1,5%)	0(0,0)	1(1,5%)
Indigestion	0(0,0)	1(1,5%)	1(1,5%)
Furoncle	2 (3,08%)	0(0,0%)	2 (3,08%)
Parasitoses	0(0,0)	1(1,5%)	1(1,5%)
Rhinite	5(7,7%)	2 (3,08%)	7(10,8%)
Rhinobronchite	5(7,7%)	3(4,6%)	8(12,3%)
Rhinorrhée	1(1,5%)	1(1,5)	2 (3,08%)
Aphtes	1(1,5%)	0(0,0)	1(1,5)
Gastroentérite	1(1,5%)	2(3,08%)	3(4,6%)
Gastrite	2(3,08%)	1(1,5)	3(4,6%)
Irritation de la gorge	2(3,08%)	0(0,0)	2(3,08%)
Stomatite	0(0,0)	1(1,5%)	1(1,5%)
Traumatisme	0(0,0)	1(1,5%)	1(1,5%)

Plaie Traumatique	1(1,5%)	0(0,0)	1(1,5%)
Mal de dos	1(1,5%)	0(0,0)	1(1,5%)
Tachycardie	1(1,5%)	0(0,0)	1(1,5%)
Amygdalite	2(3,08%)	0(0,0)	2(3,08%)
Carie dentaire	0(0,0)	2(3,08%)	2(3,08%)
Blessures	5(7,7%)	1(1,5%)	6(9,2%)
Autre	3(0,0)	3(0,0)	6 (9,2)
Total	44(62,0%)	27(36,93%)	71(100%)

Parmi les EI cliniques jugés non liés au produit d'investigation, le paludisme était le plus retrouvé avec 13,8% suivie des infections respiratoires hautes.

Tableau X: Fréquence des évènements indésirables biologiques jugés non liés repartis selon les bras d'intervention et placebo

EI Laboratoires non lié dans les 07 jours.	Bras 1 et 2 (Vaccin) (n%)	Bras 3a et 3b (Solution saline) (n%)	Total
Diminution du nombre de neutrophiles	3(30,0%)	3(30,0%)	6(60,0%)
Diminution de globules blancs	2(20,0%)	2(20,0%)	4(40,0%)
Total	5(50,0%)	5(50,0%)	10(100,0%)

Parmi les EI biologiques non liés, nous avons observé 6 cas de diminution de nombres de neutrophiles et 4 cas de diminution de globules blancs dont les répartitions dans les deux groupes d'intervention sont similaires.

Tableau XI: Fréquence des évènements indésirables biologiques jugés liés repartis selon les bras d'intervention et placebo

EI Laboratoires liés	Bras1 et 2 (Vaccin) (n%)	Bras3a et 3b (Solution saline) (n%)	Total (n%)
Diminution du nombre de neutrophiles	17(32,0%)	9(16,7%)	26(49,1%)
Diminution de globules blancs	5(9,43%)	6(11,32%)	11(20,8%)
Élévation de la Créatinémie	5(9,43%)	6(11,32%)	11(20,8)
Diminution du nombre des plaquettes	4(7,55%)	0(0,0%)	4(7,5%)
Diminution du nombres des granulocytes	0(0,0%)	1(1,9%)	1(1,9%)
Total	31(58,5%)	22(41,5%)	53(100%)

Parmi les EI biologiques liés, la diminution du nombre de neutrophiles était la plus retrouvée avec 49,1%.

3.2.3. Fréquence des évènements indésirables survenus pendant le suivi

Tableau XII :Fréquence des évènements indésirables clinique et laboratoire enregistré après J7 et pendant le suivi

EI Indésirables	Bras1 et 2 (Vaccin) (n%)	Bras3a et 3b (Solution saline) (n%)	Total (n%)
Cliniques	302(51,8%)	139(23,8%)	441(75,6%)
Laboratoires	77(13,2%)	65(11,1%)	142(24,4%)
Total	379(65,0%)	204(35,0%)	583(100%)

Les évènements indésirables cliniques survenus pendant le suivi représentaient 75,6% contre 24,4% d'anomalies de laboratoires.

Tableau XIII :Fréquence (n%) des évènements indésirables par bras en fonction du lien de causalité avec les produits de l'étude.

Causalité	Bras1 (Vaccin)	Bras3a (Solution saline)	Total
Non lié	402(47,3%)	224(26,4%)	625(73,8)
Possiblement lié	122(13,2)	39(4,6%)	151(17,8)
Probablement lié	36(4,24)	13(1,53%)	49(10,1)
Définitivement lié	12(1,41%)	11(1,41)	23(2,7)
Total	562(66,2)	287(33,8%)	849(100)

Dans l'ensemble, nous avons colligé 849 évènements indésirables au cours de cet essai dont 73,80% ont été évalués comme non liés au vaccin de l'étude.

Seulement, 2,7% de EI ont été évalués et jugés comme définitivement lié au vaccin.

Tableau XIV: Fréquence des évènements indésirables enregistré par bras en fonction des grades de sévérité.

EI par Grade	Bras1 et 2	Bras3a et 3b	Total
	Vaccin	Placebo	
	(n%)	(n%)	
Grade 1	509 (60,0%)	252(30,0%)	763(90%)
Grade 2	44(5,18%)	26(3,6%)	70(8,2%)
Grade 3	9(1,06%)	6(0,70%)	15(1,8%)
Grade 4	0	0	0
Total	562(66,07%)	287(33,8%)	849(100)

Les EI de grade I étaient les plus représentés avec 90%. Seulement, 1,8% des EI étaient de grade 3 et aucun évènement indésirable engageant le pronostic vital (grade 4) n'a été enregistré.

Tableau XV: Répartition des évènements indésirables clinique et biologique de grade 3 survenus au cours du suivi en fonction du lien de causalité avec les produits de l'étude.

EI Grade 3	Non lié	Lié	Total
	(n%)	(n%)	
Paludisme	7(46,6)	0	7(46,6%)
salmonellose	2(13,3%)	0	2(13,3%)
HTA	3(20,0%)	0	3(20,0%)
Diminution des plaquettes	0	1(0,05)	1(6,66%)

Diminution des neutrophiles	1(6,66%)	0	1(6,66%)
Blessure infecté	1(6,66%)	0	1(6,66%)
Total	14(93,4%)	1(6,66)	15(100,0%)

Tous ces évènements indésirables de grade 3 ont été classés non liés aux produits de l'étude à l'exception de 1 cas de diminution des plaquettes jugé possiblement lié aux produits de l'étude.

On a constaté que le paludisme était l'EI de grade 3 le plus représenté suivi par l'hypertension artérielle.

IV. COMMENTAIRE ET DISCUSSIONS

Dans notre étude de phase 1 en double aveugle, randomisée et contrôlée par placebo, ce travail consistait d'évaluer la tolérance de deux schémas d'administration de vaccins à base de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* (vaccin Sanaria® PfSPZ). Trois (3) doses de 9.10^5 (Total de 27.10^5 PfSPZ) ont été administrés par injection intraveineuse directe (IVD) à 134 participants sur 140 ayant reçu la première dose et 70 ont reçu la solution saline normale, à Ouelessebouougou, au Mali, une zone de transmission du paludisme d'intensité saisonnière.

L'évaluation de la tolérance a été effectuée par la collecte d'évènements indésirables graves, par la mesure et l'analyse de la fréquence des évènements indésirables qui sont sollicités tels que les réactions locales aux sites d'injection, les évènements indésirables systémiques, les désordres biologiques principalement les atteintes de la fonction hépatique (transaminases), de la fonction rénale (la créatinine) et aussi les anomalies sur la numération formule sanguine. L'analyse de ces évènements indésirables sollicités et non sollicités se focalise à la fois sur la fréquence, la sévérité (intensité) et aussi la relation de causalité de ces évènements avec les produits de l'étude en investigation.

Notre étude a enrôlé 217 participants dont 210 ont reçu la première vaccination. Comparativement aux études menées au Mali par Sissoko et collaborateurs [14] en 2014 et 2016 dont les tailles de l'échantillon étaient respectivement de 90 et 120, notre étude avait une taille plus grande. Cette différence se justifie par la tolérance attestée par ces deux études antérieures.

Concernant les caractéristiques sociodémographiques, il y avait une prédominance masculine dans la population d'étude qui s'explique par le fait que certains critères de non inclusion étaient spécifiques aux femmes. Le critère relatif au besoin d'être sous contraception fiable 21 jours avant la première vaccination

et 28 jours après la 3eme vaccination limitait suffisamment le recrutement des jeunes filles et des femmes en âge de procréer.

Dans l'ensemble, l'étude a enregistré 849 évènements indésirables dont 266 sont survenus entre le premier et le septième jour. La majorité de ces évènements indésirables survenus dans les 7 jours étaient cliniques soit 76,3%, un résultat supérieur à celui retrouvé dans l'étude menée en Tanzanie en 2014 (essai clinique BSPZVI par l'institut de santé Ikafara) [30] qui a rapporté 42%, mais reste inférieur à celui de l'étude menée au Mali en 2014 qui était de 87,8% [14].

L'effet indésirable clinique le plus fréquemment retrouvé était les céphalées, suivi de la Bradycardie, de l'hypertension artérielle et de la douleur du site d'injection.

Ces résultats concordent avec ceux de l'étude menée au Mali en 2014 et de la Tanzanie qui avaient également noté que les céphalées étaient les effets indésirables cliniques les plus fréquentes [14,30].

Les anomalies de laboratoires ont été étroitement surveillées dans les 07 jours suivant la vaccination en référence aux normes décrits par l'étude. Au total, 63 cas d'anomalies de laboratoires ont été observés soit 23,7%, un résultat inférieur à celui retrouvé dans l'étude menée en Tanzanie [30] qui a rapporté 58%, mais reste supérieur à celui de l'étude menée au Mali en 2014 qui était de 12,2%. [14]

L'anomalie de laboratoire le plus couramment retrouvé était la diminution du nombre de neutrophiles, suivie de la diminution de globules blancs.

Notre observation concorde avec celle de Sissoko et al qui ont trouvé que les EI locaux, systémiques et laboratoires étaient à majorité de grade léger et modéré. [14]

Concernant la sévérité et de la relation de causalité, il a été observé que 90% des évènements indésirables survenus au cours de l'étude étaient légers (grade 1) dont 78% ont été jugés non liés au produit de l'étude. Ces taux élevés d'évènements

indésirables légers et de leur liaison avec les produits d'investigation témoignent de la bonne tolérance de ces produits, une tendance largement soutenue par les études menées au Mali en 2014 et 2016, et en Tanzanie.

La survenue d'un seul événement indésirable grave (Grade 4) et lié au produit en investigation est suffisante pour arrêter le développement clinique du produit. Nous avons enregistré au total quinze (15) évènements indésirables de grade 3 au cours de l'étude. Ils s'agissaient de 7 cas de paludisme clinique, 3 cas d'hypertension artérielle, 2 cas de salmonellose, 1 cas de blessure infectée, 1 cas de diminution de plaquettes et 1 cas de diminution des neutrophiles. Les études menées au Mali par Sissoko et collaborateurs et en Tanzanie ont rapporté des résultats inférieurs avec respectivement 9 et 0 cas de grade 3 [14,30]. Cette différence pourrait s'expliquer par des tailles d'échantillon plus petites de ces études.

Les cas de paludisme et de salmonellose de grade 3 s'expliquent par le fait que la sévérité était gradée en fonction du signe ou du symptôme le plus gradé.

Deux cas d'hypertension artérielles ont été jugés probablement liés au produit de l'étude. L'HTA de grade 3 est survenu chez un participant qui avait développé au préalable un HTA de grade 2, quatorze jours avant la première dose du vaccin. Une consultation cardiaque faite est revenue normale, le bilan biologique a objectivé un déficit en magnésium qui a été corrigé. Le participant après la 3ème dose a développé un HTA grade 1 qui a été suivi par sécurité jusqu'à normalisation des chiffres tensionnelles.

Tous les évènements de grade 3 n'avaient aucune relation de causalité avec les produits de l'étude excepté 1 cas de diminution de plaquettes jugé possiblement lié au vaccin car est survenu 3 jours après la vaccination 1., mais un contrôle a été effectué 4 jours plus tard et était revenu normal. Un frottis a été réalisé avec le

même échantillon et a mis en évidence une agglutination des plaquettes qui peut suggérer une fausse diminution.

Sissoko et al au Mali en 2016 font le même constat dans l'essai clinique où aucune relation de causalité n'a été établie entre les 4 évènements indésirables sérieux survenus dans l'étude et les produits de l'étude.

Notre observation diffère de celle de l'essai MAVACHE en Allemagne à Tübingen (27) chez une population naïve du paludisme où trois (3) évènements sérieux sont survenus et ont été classés comme liés au produit de l'étude, qui étaient 2 cas de lymphopénie et 1 cas de fièvre.

Tous ces évènements ont été transitoires, n'ont pas nécessité une hospitalisation, et ont tous été résolus au cours du suivi.

CONCLUSION

A l'issue de ce travail, on constate que le vaccin PfSPZ (9×10^5) de Sanaria Inc. administré en intraveineuse directe chez les adultes maliens âgé de 18-35 ans, à Ouelessebougou selon les deux schémas proposés est bien toléré.

RECOMMANDATIONS :

Au terme de notre étude et vu nos résultats, nous formulons les recommandations suivantes :

Aux Chercheurs

- ✓ Mener plus d'études avec une large population dans les zones de transmission du paludisme
- ✓ Etendre les essais du vaccin à d'autres couches de la population, tel que les enfants, et les femmes enceintes afin de mieux tester la tolérance.

Aux autorités administratives

- ✓ Faciliter l'obtention des ressources financières et matérielles, provenant des organismes de financement impliqué dans le domaine de la recherche contre le paludisme.
- ✓ S'impliquer davantage dans les recherches expérimentales sur le paludisme

Aux autorités coutumières et religieuses

- ✓ Faciliter l'adhésion de la population aux essais cliniques dans la communauté.
- ✓ Exiger la prise en compte des principes éthiques que régissent les essais de vaccin.

BIBLIOGRAPHIE :

1. **World Health Organization: world malaria report 2018.**Geneve;**2018**
2. **DNS (direction nationale de la santé).** Annuaire statistique du système local d'information (SLIS) 2013. Mali ; 2018.
3. **EDSM-V,** enquête démographique et de santé du mali (EDSM-V) 2018.
4. **A research agenda for malaria eradication:** health systems and operational research. PLoS Med 2011 ;8(1): e1000397
5. **A research agenda for malaria eradication:** cross-cutting issues for eradication. PLoS Med 2011;8(1):e1000404.
6. **Clyde DF.** Immunization of man against falciparum and vivax malaria by use of attenuated sporozoites. Am J Trop Med Hyg 1975 May;24(3):397-401.
7. **Rieckmann KH.** Human immunization with attenuated sporozoites. Bull World Health Organ 1990;68 Suppl:13-6.
8. **Clyde, D. F. 1990.** Immunity to *falciparum* and *vivax* malaria induced by irradiated sporozoites: a review of the University of Maryland studies, 1971-75. Bull World Health Organ 68 Suppl: 9-12.
9. **Clyde, D. F., V. C. McCarthy, R. M. Miller and R. B. Hornick 1973.** Specificity of protection of man immunized against sporozoite-induced **falciparum** malaria. **Am J Med Sci 266(6): 398-403**
- 10.**Hoffman SL, Goh ML, Luke TC, Schneider I, Le Thong P, Doolan LD et al.** Protection of Humans against Malaria by Immunization with Radiation-Attenuated *Plasmodium falciparum* Sporozoites. J Infect Dis. 15 apr 2002 ;185(8) :1155-64.
- 11.**Mellouk S, Lunel F, Sedegah M, Beaudoin R L, Druilhe P.** Protection against malaria induced by irradiated sporozoïtes. Lancet 24 mar1990 ;335(8691) :721

12. **Sicuri E, Vieta A, Lindner L, Constenla D, Sauboin C.** The economic costs of malaria in children in three sub-Saharan countries: Ghana, Tanzania and Kenya. *Malar J* 12, 307 (2013). <https://doi.org/10.1186/1475-2875-12-307>.
13. **Hoffman SL, Billingsley P, James E, Richman A, Loyevsky M, Tao L et al.** Development of a metabolically active, non-replicating sporozoïte vaccine to prevent *Plasmodium falciparum* malaria. *Human Vaccines*. JAN 2010, 1-6 (97-106).
14. **Sissoko MS, Healy SA, Katile A, Omaswa F, Zaidi I, Gabriel EE, et al.** Safety and efficacy of PfSPZ Vaccine against *Plasmodium falciparum* via direct venous inoculation in healthy malaria-exposed adults in Mali: a randomized, double-blind phase 1 trial. *The Lancet Infectious Diseases*. Mai 2017 ;17(5) :498-509.
15. **White, N.J.** *Plasmodium knowlesi*: the fifth human malaria parasite. *ClinInfectDis*. 2008; 46:172-3.
16. **Kenmorgne D CB, Mbitsi A CN.** Plasmodic Indices and Loads parasites in blood donors in Brazaville CONGO. *Belge Med Trop*. 1993;73:179-87.
17. **Cent. hosp. Régional, spécialiste Hôpitaux, CIV, H D, M H.** Paludisme congénital. *Médecine tropicale*. 1992; 52 (2):175-8.
18. **Rich SM, Leendertz FH, Xu G, Lebreton M, Djoko CF, Aminake MN, Takang EE, et al.** (2009). "The origin of malignant malaria". *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106 (35):14902-14907.
19. **Perkins DJ, Were T, Davenport GC, Kempaiah P, Hittner JB, Ong'Echa JM.** (2011). Severe malarial anaemia: Innate immunity and pathogenesis. *International journal of biological sciences* 7 (9): 1427–1442.
20. **Perlmann P, Troye-Blomberg M (2000).** "Malaria blood-stage infection and its control by the immune system". *Folia biologica* 46 (6): 210–8. PMID 11140853.

21. **Culleton R, Coban C, Zeyrek FY, Cravo P, Kaneko A, Randrianarivelojosia M, Andrianaranjaka V, Kano S, Farnert A, Arez AP, Sharp PM, Carter R, Tanabe K.** PLoS One. 2011; 6(12):e29137. doi: 10.1371/journal.pone.0029137. Epub 2011 Dec 14. The origins of African Plasmodium vivax; insights from mitochondrial genome sequencing.
22. **Sutherland CJ, Tanomsing N, Nolder D, Oguike M, Jennison C, Pukrittayakamee S et al.** (2010). Two no recombining sympatric forms of the human malaria parasite Plasmodium ovale occur globally. J Infect Dis 201 (10): 1544–50. Doi: 10.1086/652240. PMID 20380562.
23. **Barber Be, William T, Grigg Mj, Yeo Tw, Anstey Nm.** Malar J. 2013 Jan 8; 12:8. Doi: 10.1186/1475-2875-12-8. Limitations of microscopy to differentiate Plasmodium species in a region co-endemic for Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax and Plasmodium knowlesi.
24. **Kean B, Reilly HP.** Malaria the nine recent lessons from the Group of civilian travelers. Am J Med. 1976; 61: 159.
25. **Yamauchi LM, Coppi A, Snounou G, Sinnis P.** Plasmodium sporozoites trickle out of the injection site. Cell Microbiol. May 2007;9(5):1215-22.
26. **Mota MM, Pradel G, Vanderberg JP, Hafalla JC, Frevert U, Nussenzweig RS, et al.** Migration of Plasmodium sporozoites through cells before infection. Science. 5 Jan 2001; 291(5501):141-4.
27. **Tavares J, Formaglio P, Thiberge S, Mordelet E, Van Rooijen N, Medvinsky A, et al.** Role of host cell traversal by the malaria sporozoite during liver infection. J Exp Med. 6 May 2013; 210(5):905-15.
28. **Murray CJL, Rosenfeld LC, Lim SS, Andrews KG, Foreman KJ, Haring D, et al.** Global malaria mortality between 1980 and 2010: a systematic analysis. Lancet. 4 Feb 2012; 379 (9814):413-31

29. **Abdulla S, Olotu A, Urbano V, Hamad A, Eka M, Chemba M, et al.** A Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind Assessment of Safety, Tolerability, and Immunogenicity of PfSPZ Vaccine for Malaria in Healthy Equatoguinean Men. *Am J Trop Med Hyg.* 2018 Jan;98(1):308-318.
30. **Jongo SA, Shekalaghe SA, Preston CW, Ruben AJ, Schindler T, Zenklusen I et al.** Safety, Immunogenicity, and Protective Efficacy against Controlled Human Malaria Infection of *Plasmodium falciparum* Sporozoïte Vaccine in Tanzanian Adults. *Am J Trop Med Hyg.* 2018 Aug ; 99(2) : 338–349.
31. **Jongo SA , Preston CW , Mtoro AT, Chakravarty S, Ruben AJ et al.** Safety and Differential Antibody and T-Cell Responses to the *Plasmodium falciparum* Sporozoïte Malaria Vaccine, PfSPZ Vaccine, by Age in Tanzanian Adults, Adolescents, Children, and Infants. *Am j trop med hyg* 2019 jun;100(6):1433-1444.
32. **Ethical standards and training.** FHI 360. Available from <https://www.fhi360.org/expertise/ethical-standards-and-training>
33. **S. Piantadosi.** Clinical Trials. A methodologic perspective. In: New York. John Willey and Sons, Inc.,.

Annexe I :Grade de toxicité des évènements indésirables systémiques

Evénements indésirables systémiques ¹	Legère (Grade 1)	Moderée (Grade 2)	Sevère (Grade 3)	Potentiellement mortelle (Grade 4)
Fébrile	Aucune interférence avec l'activité	Certaines interférences avec l'activité ne nécessitant pas d'intervention médicale ou l'utilisation de 1-2 doses d'antipyrétiques	Prévient l'activité quotidienne ou l'utilisation de > 2 doses d'antipyrétiques en 24 heures	Visite ER ou hospitalisation
Frissons / Rigeurs	Aucune interférence avec l'activité ou 1 - 2 épisodes / 24 heures	Une certaine interférence avec l'activité ou > 2 épisodes / 24 heures	Empêche l'activité quotidienne	Visite ER ou hospitalisation pour choc hypotenseur
Sueurs	Aucune interférence avec l'activité	Certaines interférences avec l'activité ne nécessitant pas d'intervention médicale	Empêche l'activité quotidienne	Visite ER ou hospitalisation
Diarrhée	2 - 3 selles molles ou <400 g / 24 heures	4 - 5 selles ou 400 - 800 gms / 24 heures	6 selles liquides ou plus ou > 800gms / 24 heures ou nécessite une hydratation IV en ambulatoire	Visite ER ou hospitalisation
Maux de tête	Aucune interférence avec l'activité	Utilisation répétée de analgésiques non narcotiques > 24 heures ou une certaine interférence avec l'activité	Important; toute utilisation de analgésiques narcotiques ou empêche l'activité quotidienne	Visite ER ou hospitalisation
Fatigue / Malaise	Aucune interférence avec l'activité	Certaines interférences avec l'activité ne nécessitant pas d'intervention médicale	Empêche l'activité quotidienne	Visite ER ou hospitalisation
Mal au dos	Aucune interférence avec l'activité	Une certaine interférence avec l'activité; l'utilisation de 1-2 doses de médicament	Empêche l'activité quotidienne	Visite ER ou hospitalisation

Evénements indésirables systémiques ¹	Legère (Grade 1)	Moderée (Grade 2)	Sevère (Grade 3)	Potentiellement mortelle (Grade 4)
Douleur thoracique (non musculo-squelettique)	Douleur thoracique transitoire (<24 heures) ou intermittente sans ou avec une interférence minimale	Douleur thoracique persistante entraînant une interférence plus que minime avec les activités habituelles	Douleur thoracique persistante entraînant l'incapacité d'effectuer des activités habituelles secondaires à une douleur thoracique	Visite ER ou hospitalisation
Myalgie	Aucune interférence avec l'activité	Utilisation répétée de analgésiques non narcotiques > 24 heures ou une certaine interférence avec l'activité	Toute utilisation de analgésiques narcotiques ou empêche l'activité quotidienne	Visite ER ou hospitalisation
Arthralgie	Aucune interférence avec l'activité	Utilisation répétée de analgésiques non narcotiques > 24 heures ou une certaine interférence avec l'activité	Toute utilisation de analgésiques narcotiques ou empêche l'activité quotidienne	Visite ER ou hospitalisation
Nausées Vomissements	Aucune interférence avec l'activité ou 1 - 2 épisodes / 24 heures	Une certaine interférence avec l'activité ou > 2 épisodes / 24 heures	Prévient l'activité quotidienne, nécessite une hydratation IV ambulatoire	Visite ER ou hospitalisation pour choc hypotenseur
Douleur abdominale	Aucune interférence avec l'activité	Utilisation répétée de analgésiques non narcotiques > 24 heures ou une certaine interférence avec l'activité	Toute utilisation de analgésiques narcotiques ou empêche l'activité quotidienne	Visite ER ou hospitalisation
Evénements indésirables systémiques ¹	Legère (Grade 1)	Moderée (Grade 2)	Sevère (Grade 3)	Potentiellement mortelle (Grade 4)

Urticaire / Rash	Aucune interférence avec l'activité	Exiger une PO ou un traitement topique > 24 heures ou des médicaments IV ou des stéroïdes pendant ≤ 24 Heures	Exiger des médicaments IV ou des stéroïdes pendant > 24 heures	Visite ER ou hospitalisation
Œdème	Aucune interférence avec l'activité	Certaines interférences avec l'activité ne nécessitant pas d'intervention médicale	Empêche l'activité quotidienne	Visite ER ou hospitalisation
Prurit	Aucune interférence avec l'activité	Exiger une PO ou un traitement topique > 24 heures ou des médicaments IV ou des stéroïdes pendant ≤ 24 heures	Exiger des médicaments IV ou des stéroïdes pendant > 24 heures	Visite ER ou hospitalisation

Annexe II:Grade de Toxicité des signes vitaux

Signes Vitaux ¹	Legère (Grade 1)	Moderée (Grade 2)	Sevère (Grade 3)	Potentiellement mortelle (Grade 4)
Fievre ² (°C)	38.0 – 38.4	38.5 – 38.9	39.0 – 40	> 40
(°F)	100.4 – 101.1	101.2 – 102.0	102.1 – 104	> 104
Tachycardie - bpm	101 – 115	116 – 130	> 130	Visite ER ou hospitalisation pour arythmie
Bradycardie - bpm ³	50 – 54	45 – 49	< 45	Visite ER ou hospitalisation pour arythmie
Hypertension (systolique) - mm Hg	141 – 150	151 – 155	> 155	Visite ER ou hospitalisation pour hypertension maligne
Hypertension (diastolique) - mm Hg	91 – 95	96 – 100	> 100	Visite ER ou hospitalisation pour hypertension maligne
Hypotension (systolique) – mm Hg	85 – 89	80 – 84	< 80	Visite ER ou hospitalisation pour choc hypotenseur

Annexe III:Grade de toxicité de la réactogénicité locale

Réaction locale au produit injectable	Legère (Grade 1)	Moderée (Grade 2)	Sevère (Grade 3)	Potentiellement mortelle(Grade 4)
Douleur / Tendresse / Prurit	N'interfère pas avec l'activité	L'utilisation répétée d'analgésiques non narcotiques > 24 heures ou interfère avec l'activité	Toute utilisation d'analgésiques narcotiques ou empêche l'activité quotidienne	Visite en salle d'urgence (SR) ou hospitalisation
Érythème / Rougeur / Contusions ¹	2.5 – 5 cm	5.1 – 10 cm	> 10 cm	Nécrose ou dermatite exfoliative
Induration / Gonflement ²	2.5 – 5 cm et n'interfère pas avec l'activité	5.1 – 10 cm ou interfère avec l'activité	> 10 cm ou empêche l'activité quotidienne	Nécrose

Annexe IV:Grade de Toxicité des éléments de laboratoires

Hémoglobine (Homme) - gm/dL	9.5 – 10.3	8.0 – 9.4	6.5 – 7.9	< 6.5 et / ou nécessitant une transfusion
Hémoglobine (Femme) gm/dL	8.0 – 9.0	7.0 – 7.9	6.0 – 6.9	< 6 et / ou nécessitant une transfusion
GB Augmentation – 10 ³ /μL	11.5– 15.0	15.1 – 20.0	20.1 – 25.0	> 25.0
GB Diminution - 10 ³ /μL	2.5 – 3.3	1.5 – 2.4	1.0 – 1.4	< 1.0 avec de la fièvre
Granulocyte ou Neutrophile Diminution - 10 ³ /μL	0.8 – 1.0	0.5 – 0.7	< 0.5	< 0.5 avec de la fièvre
Plaquettes Diminution – 10 ³ /μL	100 – 110	70 – 99	25 – 69	< 25
Creatinine (Homme) μmol/L	124.00 – 150.99	151.00 – 176.99	177.00-221.00	> 221.00 et nécessite une dialyse
Creatinine (Femme) μmol/L	107.00 – 132.99	133.00 – 159.99	160.00– 215.99	> 216.00 et nécessite une dialyse
Tests de la fonction hépatique –ALT U/L	75.0 – 150.9	151.0 – 300.9	301.0 – 600.0	> 600.0

Annexe V:normes de références des valeurs hématologiques

Hématologie ¹	Valeurs de référence
Hémoglobine (Femme) - gm/dL	9.1 – 13.8
Hémoglobine (Homme) - gm/dL	10.8 – 15.8
GB – 10 ³ /μL	3.6 – 9.0
Nombre absolu de granulocytes ou de neutrophiles - 10 ³ /μL	1.3 – 4.4
Nombre absolu de lymphocytes - 10 ³ /μL	1.3 – 4.4
Nombre des plaquettes (Femme)- 10 ³ /μL	144 – 413
Nombre des plaquettes (Homme)- 10 ³ /μL	114 – 335

Fiche signalétique

Nom : MAGUIRAGA

Année de soutenance : Juillet 2021

Prénom : SEYDINA OUMAR

Directeur de thèse : Pr Alassane Dicko

Email : mseydinaoumar3@gmail.com

Nationalité : Malienne

TITRE : Tolérance de la primo- vaccination avec le candidat vaccin de Sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* NF54 Atténués par Irradiation (Vaccin PfSPZ) à 9.10^5 contre le paludisme chez les adultes Africains en bonne santé de 18 à 35 ans à Ouelessebougou, Mali.

Secteur d'intérêt : Santé publique, épidémiologie, parasitologie.

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de médecine et d'odontostomatologie (FMOS)

RESUME

Nous avons mené une étude randomisée, en double aveugle, contrôlée par placebo pour évaluer la tolérance du candidat vaccin de sporozoïtes de *Plasmodium falciparum* appelé (vaccin PfSPZ) chez 210 participants, adultes de 18 à 35 ans à Ouelessebougou, entre Avril 2018 et Avril 2019. Les volontaires éligibles devaient être négatifs au HIV, HCV, à l'AgHbs et au test beta HCG (test de grossesse pour les femmes). Trois séries de vaccination ont été effectuées de façon échelonnée suivant le calendrier et le groupe d'intervention. Les participants étaient suivis cliniquement et/ou biologiquement 7 jours après chaque vaccination puis une ou deux fois par mois et cela jusqu'à 6 mois après la dernière vaccination. Les vaccinations ont été globalement bien tolérées, aucun évènement indésirable grave engageant le pronostic vital n'a été enregistré au cours de l'étude.

La plupart des évènements indésirables survenus dans les 07 jours après les vaccinations étaient légers de grade 1.

La réactogénicité locale survenue dans les 7 jours étaient des douleurs du site d'injection.

Les évènements indésirables systémique les plus retrouvés dans les 07 jours étaient des céphalées, bradycardie et hypertension artérielle. Tous ont été temporaires et résolus au cours du suivi.

Les anomalies des paramètres biologiques ont été étroitement surveillées avant chaque vaccination et les jours 3 et 7 suivant chaque vaccination. Il n'y a eu que 63 cas soit 24,4% d'anomalies de laboratoires. Nous avons noté une différence significative dans les anomalies de laboratoire entre ceux qui ont reçu le vaccin PfSPZ et ceux qui ont reçu le placebo jugés liés à la vaccination.

Dans l'ensemble, 90% des évènements indésirables survenus ont été classés légers (grade 1) et 73,8% de ces évènements n'avaient aucun lien de causalité avec le vaccin PfSPZ. Seulement 2,7% étaient jugés liés au vaccin et au placebo de l'étude.

Conclusion : le vaccin PfSPZ était facile à administrer par IVD et était sûr et bien toléré à Ouelessebougou au Mali.

Mots clés : *P. falciparum*, trophozoïtes, tolérance, fréquence, Mali

First name: SEYDINA OUMAR

Last name: MAGUIRAGA

Graduation year: July 2021

Thesis supervisor: Pr Alassane Dicko

Email: mseydinaoumar3@gmail.com

Nationality: Malian

Title: Tolerance of primary vaccination with the Plasmodium falciparum NF54 Irradiation Attenuated Sporozoite Vaccine Candidate (PfSPZ Vaccine) at 9.105 against malaria in healthy African adults aged 18- 35 years in Ouelessebouyou, Mali

Field of interest: Public health, epidemiology, parasitology

Deposit local: Library of 'Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS)

Abstract

We conducted a randomized, double-blind, placebo-controlled study to evaluate the tolerability of the Plasmodium falciparum sporozoite vaccine candidate called (PfSPZ vaccine) in 210 participants, adults aged 18-35 years in Ouelessebouyou, between April 2018 and April 2019. Eligible volunteers should be negative for HIV, HCV, HBsAg, and beta HCG test (pregnancy test for women). Three rounds of vaccination were performed in a staggered way according to schedule and intervention group. Participants were followed up clinically and/or biologically 7 days after each vaccination and then once or twice a month until 6 months after the last vaccination.

The vaccinations were generally well tolerated, with no serious life-threatening adverse events recorded during the study.

Most of the adverse events occurring within 07 days after the vaccinations were mild grade 1.

Local reactogenicity within 7 days was injection site pain.

The most common systemic adverse events within 7 days were headache, bradycardia and hypertension. All were temporary and resolved during follow-up.

Abnormalities of biological parameters were closely monitored before each vaccination and on days 3 and 7 after each vaccination. There were only 63 cases or 24.4% of laboratory abnormalities. There was a significant difference in laboratory abnormalities between those who received the PfSPZ vaccine and those who received placebo that were considered to be related to vaccination.

Overall, 90% of the adverse events that occurred were classified as mild (grade 1) and 73.8% of these events were not causally related to the PfSPZ vaccine. Only 2.7% were considered to be related to the vaccine and placebo in the study.

Conclusion: The PfSPZ vaccine was easy to administer by IVD and was safe and well tolerated in Ouelessebougou, Mali.

Key words: *P. falciparum*, trophozoites, tolerance, frequency, Mali

SERMENT D'HIPPOCRATE

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

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

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

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, 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 leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

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

JE LE JURE !