

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI



Un Peuple - Un But - Une Foi



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

Année Universitaire: 2008-2009

N° 406-1

TITRE :

**TOLERANCE CLINIQUE ET BIOLOGIQUE DU
CANDIDAT VACCIN EMP2.1/AS02A CHEZ LES
ENFANTS DE 1 A 6 ANS DE BANDIAGARA.**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le /26/06/2009 à 14 Heures devant la
Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie du Mali

Par **Monsieur Idrissa Malamine TRAORE**

Pour obtenir le grade de **Docteur en Médecine (DIPLOME D'ETAT)**

Examineurs

Président du Jury: Professeur Dapa Aly DIALLO

Membre: Docteur Boubacar TRAORE

Docteur Mahamadou S SISSOKO

Directeur de thèse: Professeur Mahamadou Ali THERA

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2008-2009

ADMINISTRATION

DOYEN: ANATOLE TOUNKARA – PROFESSEUR

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

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

SECRETAIRE PRINCIPAL: YENIMEGUE ALBERT DEMBELE – PROFESSEUR

AGENT COMPTABLE: MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL- CONTROLEUR DES FINANCES

PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophthalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie – Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-physiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-entérologie
Mr Mamadou M. KETTA	Pédiatrie
Mr Sinè BAYO	Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Mr Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique
Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine interne
Mr Boukassoum HAIDARA	Législation
Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. & PAR GRADE
D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

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

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophthalmologie
Mr Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Sadio YENA	Chirurgie thoracique
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie-Réanimation
Mr Zimogo Z SANOGO	Chirurgie Générale

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Sekou SIDIBE	Orthopédie-Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie-Réanimation
Mr Tieman COULIBALY	Orthopédie-Traumatologie
Mme TRAORE J THOMAS	Ophthalmologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr Nouhoum ONGOÏBA	Anatomie & Chirurgie Générale

4. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Issa DIARRA	Gynéco-Obstétrique
Mr Samba Karim TIMBO	ORL
Mme TOGOLA Fanta KONIPO	ORL
Mme Djeneba DOUMBIA	Anesthésie Réanimation
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Adama SANGARE	Orthopédie- Traumatologie
Mr Sanoussi BAMANI	Ophthalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophthalmologie
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie - Traumatologie
Mr Lamine TRAORE	Ophthalmologie
Mr Mady MAKALOU	Orthopédie-Traumatologie
Mr Aly TEMBELY	Urologie
Mr Niani MOUNKORO	Gynécologie/ Obstétrique
Mr Tiémoko D. COULIBALY	Odontologie
Mr Souleymane TOGORA	Odontologie
Mr Mohamed KEITA	ORL
Mr Boureïma MAÏGA	Gynéco-Obstétrique
Mr Youssouf SOW	Chirurgie Générale
Mr Djibo Mahamane DIANGO	Anesthésie-réanimation
Mr Moustapha TOURE	Gynécologie

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Amadou DIALLO	Biologie
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie-Mycologie
Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdourahmane S. MAÏGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie

2. MAÎTRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Amadou TOURE	Histoembryologie
Mr Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie – Virologie
Mr Amagana DOLO	Parasitologie – Mycologie Chef de D.E.R.
Mr Mahamadou A THERA	Parasitologie – Mycologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F. M. TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie – Biologie Animale
Mr Ibrahim I. MAÏGA	Bactériologie – Virologie

4. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Lassana DOUMBIA	Chimie Organique
Mr Mounirou BABY	Hématologie
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie
Mr Bouréma KOURIBA	Immunologie
Mr Souleymane DIALLO	Bactériologie/ Virologie
Mr Cheick Bougadari TRAORE	Anatomie pathologie
Mr Guimogo DOLO	Entomologie-Moléculaire Médicale
Mr Mouctar DIALLO	Biologie/ Parasitologie
Mr Abdoulaye TOURE	Entomologie-Moléculaire Médicale
Mr Boubacar TRAORE	Parasitologie - Mycologie

5. ASSISTANTS

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

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

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

2. MAÎTRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Bah KEITA	Pneumo-Phtisiologie
Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mr Daouda K. MINTA	Maladies infectieuses
Mme Mariam SYLLA	Pédiatrie

3. MAITRES DE CONFERENCEES

Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Sahare FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie
Mr Soungalo Dao	Maladies infectieuses

4- MAITRES ASSISTANTS

Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mme DIARRA Assétou SOUCKO	Médecine interne
Mr Boubacar TOGO	Pédiatrie
Mr Mahamadou TOURE	Radiologie
Mr Idrissa A. Cisse	Dermatologie
Mr Mamadou B. DIARRA	Cardiologie
Mr Anselme KONATE	Hépatogastro-entérologie
Mr Moussa T. DIARRA	Hépatogastro-entérologie
Mr Souleymane DIALLO	Pneumologie
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie
Mr Cheick Oumar GUINTO	Neurologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR

Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie Analytique Chef de D.E.R
Mr Ousmane DOUMBIA	Pharmacie Chimique
Mr Elimane MARIKO	Pharmacologie

2. MAITRES DE CONFERENCEES AGREGES

Mr Drissa DIALLO	Pharmacognosie
Mme Rokia SANOGO	Pharmacognosie

3. MAITRES DE CONFERENCE

Mr Alou KEITA	Galénique
Mr Benoît Yaranga KOUMARE	Chimie analytique
Mr Ababacar I. MAÏGA	Toxicologie

4. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Yaya KANE	Galénique
Mr Saïbou MAIGA	Législation
Mr Ousmane KOITA	Parasitologie Moléculaire
Mr Yaya COULIBALY	Législation

D.E.R. SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sanoussi KONATE Santé Publique

2. MAÎTRE DE CONFERENCES AGREGES

Mr Moussa A. MAÏGA Santé Publique

3. MAITRE DE CONFERENCES

Mr Mamadou Souncalo TRAORE Santé Publique
Mr Massambou SACKO Santé Publique
Mr Samba DIOP Anthropologie Médicale
Mr Seydou DOUMBIA Epidémiologie
Mr Alassane A. DICKO Santé Publique

4. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Adama DIAWARA Santé Publique
Mr Hamadoun SANGHO Santé Publique
Mr Akory AG IKNANE Santé Publique
Mr Hammadoun Aly SANGO Santé Publique

5. ASSISTANTS

Mr Oumar THIERO Biostatistique
Mr Seydou DIARRA Anthropologie Médicale

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

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

ENSEIGNANTS EN MISSION

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

A notre maître et Président du Jury

Professeur Dapa Aly DIALLO

*Professeur Titulaire d'hématologie,
Responsable de l'enseignement d'hématologie à la faculté de Médecine,
de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie
Chef de service d'hémato-oncologie médicale à l'hôpital national du
point G
Responsable du laboratoire d'hématologie de la faculté de Médecine, de
Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie*

Cher Maître, c'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations.

Votre rigueur scientifique, votre disponibilité et la clarté de vos cours d'hématologie nous ont toujours fascinées et font de vous un homme respecté et admiré par vos malades et vos étudiants que nous sommes.

Recevez ici nos sincères remerciements et notre plus grand respect.

A notre maître et juge

Docteur Mahamadou Soumana SISSOKO

*Spécialiste en Santé publique,
Chercheur au MRTC, Coordinateur du cours supérieur d'épidémiologie
pour cadres supérieurs de la santé en Afrique.*

Les mots nous manquent pour vous exprimer toute notre joie de vous compter parmi les membres de ce jury.

Cher maître, votre rigueur scientifique, votre disponibilité et votre sollicitude vis à vis de vos élèves et vos collaborateurs témoignent votre sens élevé de l'humanité.

Veillez accepter cher Maître l'expression de toute notre reconnaissance et notre plus grand respect.

A notre maître et juge

Docteur Boubacar TRAORE

Maitre - Assistant de Parasitologie – Mycologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Responsable de l'unité Paludisme et grossesse et du laboratoire Immunopathologie parasitaire du MRTC.

C'est une chance pour nous de vous compter parmi les membres de ce jury malgré vos multiples occupations.

Nous avons été impressionnés par votre qualité scientifique, votre disponibilité et la simplicité avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail.

Retrouvez ici cher maître l'expression de nos sincères remerciements.

A notre maître et Directeur de thèse

Professeur Mahamadou Ali THERA

*Professeur Agrégé de Parasitologie et Mycologie
Chercheur au DEAP de la faculté de Médecine de Pharmacie et
d'Odonto-Stomatologie*

Permettez-nous de vous remercier cher Maître de la confiance que vous nous avez faite en acceptant de nous proposer ce travail.

Cher maître, vous avez dirigé nos premiers pas au DEAP, notre vocabulaire n'est pas assez riche pour qualifier tout l'effort que vous avez consenti pour la bonne réalisation de ce travail qui est le vôtre.

Nous avons toujours admiré vos qualités scientifiques et sociales.

Vous avez cultivé en nous le sens du travail bien fait et la rigueur scientifique.

Recevez ici cher maître toute notre reconnaissance et nos sincères remerciements. Soyez rassurés de notre entière disponibilité.

DEDICACES

Louange à **ALLAH, DIEU** tout **Puissant, le Miséricordieux**.

Je dédie ce travail:

A ma mère, feu Fatoumata DOUMBIA

Tu nous as toujours assistés avec tes enseignements d'une mère de famille exemplaire. Tu nous as soutenus sans cesse avec grand amour. Que **DIEU** le **Clément** t'accorde son paradis. Amen !

A mon père, feu Malamine TRAORE

Avec ta rigueur dans le travail, tu nous as suivis dans notre enseignement et notre éducation. Malgré tes multiples occupations tu as été toujours présent à nos côtés. Qu'**ALLAH** le tout **Puissant** t'accorde son paradis. Amen !

A mes sœurs : Hawa, Nana, Astan, Kotim, Kadidia, Diarra, Kadiatou, N'Niaber, Djelika

Vous m'avez entouré de chaleur familiale, je ne saurais jamais vous remercier assez pour vos soutiens.

A mes frères : Mahamane, Sidiki, Aboubacar, Fousseiny

Vous m'aviez assisté avec respect et spontanéité, je vous en suis chaleureusement reconnaissant. Que **DIEU** vous donne la chance et le courage de faire toujours mieux.

A la grande famille TRAORE à San, Koutiala, Bamako

Pour m'avoir assisté avec patience et altruisme. Recevez ici toute notre gratitude et soyez rassurés de mon fidèle attachement.

A ma tante Fatoumata TALL nous ne saurions jamais vous remercier assez de votre soutien et votre engagement. Recevez ici l'expression de toute notre reconnaissance, soyez rassurée de notre fidèle attachement.

A toutes les victimes du paludisme, aux enfants et femmes enceintes gardons l'espoir de contrôler complètement ce fléau qui est le paludisme.

REMERCIEMENTS

A tous les Professeurs responsables de cours à la FMPOS, pour la qualité de l'enseignement que nous avons reçu d'eux.

A mes maîtres: Pr. Ogobara K DOUMBO, Pr. Agrégé Amagana DOLO, Pr. Abdoulaye DABO, Pr Daouda K Minta, Dr Mouctar DIALLO Dr Boubacar TRAORE, Dr Mamadou DIAKITE, Dr Amed OUATARA, Dr Mahamadou S SISSOKO, Dr Alassane DICKO, Dr Kassoum KAYENTAO, Dr Issiaka SAGARA, Mr Ousmane TOURE, Dr Habib BEAVOGUI, Dr Moussa SOGOBA, Dr Bakary MAIGA, Dr DOUMBO Safi NIARE, Dr Mamadou TEKETE, Dr DOUMTABE Didier, Dr Aboubacar A. OUMAR, Dr Abdoulaye KATILE, Mr Mamadou WELE, Mr Mamadou BA, Mr Seydou DIARRA, Mr Amadou ABATINA.

Au Dr Drissa COULIBALY sans votre soutien et votre engagement ce travail n'aurait pu être réalisé, les mots nous manquent pour vous exprimer toute notre reconnaissance, nous vous disons un grand merci.

Aux docteurs: Mady SISSOKO, Issa DIARRA, Modibo DAOU, Charles ARAMA, Amadou NIANGALY, Mr Abdoul Salam KEITA et monsieur George A DARA, pour votre entière disponibilité, votre soutien, et votre sympathie. Ce travail est le vôtre. Je vous en suis sincèrement reconnaissant.

Aux docteurs: Abdoulaye K. KONE, Ando GUINDO, Karim TRAORE, Abdrahamane SALL.

Vous n'aviez ménagé aucun effort pour la réussite de ce travail. Retrouvez ici notre profonde gratitude. Ce travail est le votre.

Au Dr Dinkorma Ina OUOLOGUEM, Dr Modibo COULIBALY, Dr Agnès Guindo, Dr Renion SAYE, Dr Seydina DIAKITE, Dr Etienne GUIROU, Dr Souleymane DAMA, Dr Youssef TOLO M^{lle} Aminatou KONE.

A mes cadets: Seydou ARAMA, Yamoussa KEITA, Mohamed Ag BAREIKA

A tous les camarades de la 6ème année Médecine de l'année universitaire 2005-2006 de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie de l'université de Bamako, Mali.

Aux gestionnaires, comptables et secrétaires: Danzele COULIBALY, Amadou ARAMA, Sékouba MARIKO, Mme Assa DAMBA et Sékou DOUMBO.

A toute l'équipe de l'unité de gestion des données du DEAP.

A tout le personnel du MRTC/DEAP.

A tous les chauffeurs du MRTC / DEAP

A nos partenaires : DMID, WRAIR, NIH, NIAID, CVD, UMB, GSkBio.

A nos guides locaux et tous les membres de l'équipe BMP de Bandiagara.

A tout le personnel du centre de santé de référence de Bandiagara.

A tous les volontaires qui ont bien voulu être les pionniers.

Aux autorités et notables et à toute la population de la ville de Bandiagara.

A mes amis: Dr Adama Mallé, Dr Abdourhamane S Sidibé, Dr Aboubasar S Y DEMBELE, Dr Youssouf N TRAORE, Mr Bakary Sanogo, Mr Hamady Tamboura

A mes oncles Amadou TRAORE, Bah Moussa TRAORE, Dramane TRAORE, Youssouf TRAORE, Dramane TRAORE, Ousmane TRAORE

A tous mes cousins et cousine pour tous les efforts consentis. Recevez ici l'expression de toute ma reconnaissance, soyez rassurés de mon profond attachement.

A Mr COULIBALY Bouacar et famille pour votre sympathie, vos conseils et tout votre soutien. Je vous en suis profondément reconnaissant et soyez rassurés de mon attachement.

A tous les militants, militantes et sympathisant de l'AESACKS, l'ASURKS et de l'ADERS, je vous dis un grand merci.

A toutes et à tous, vous qui de près ou de loin m'avez soutenu, les mots me manquent pour vous exprimer toute ma joie, ma reconnaissance et tout mon respect. Je vous dis un grand merci.

Table de Matières

CHAPITRE I : INTRODUCTION :	3
CHAPITRE II : OBJECTIFS :	7
1-Objectif général :	7
2-Objectifs spécifiques :	7
CHAPITRE III : GENERALITES :	8
1-Cycle biologique de <i>Plasmodium falciparum</i> :	8
2-Vaccination et vaccins antipaludiques	11
3-Les antigènes	12
3-1-les vaccins pré-érythrocytaires :	14
3-2 Les vaccins du stade sanguin	16
3-3 Les vaccins bloquant la transmission :.....	18
3-4 Les nouvelles approches de formulation de vaccin :	19
3-5 Les adjuvants vaccinaux :.....	21
3-5-1 Le QS-21.....	22
3-5-2 Le MPL :	23
4- Les étapes de développement d'un vaccin :.....	24
5- Les éléments de la tolérance	25
5-1 Tolérances cliniques.....	26
5-1-1 La réactogénicité :.....	26
5-1-2 Les atteintes hématologiques	27
5-1-3 Les atteintes rénales :	28
5-1-4 Les atteintes hépatiques :	30
5-2 Diagnostiques biologiques.....	32
5-2-1 L'hémogramme :	32
5-2-2 L'Alanine aminotransférase	35
5-2-3 La créatinine :.....	36

CHAPITRE IV : NOTRE TRAVAIL	38
1- Le candidat vaccin FMP2.1/AS02A :.....	38
2- Justification de l'étude au Mali :.....	38
3- Le vaccin témoin antirabique RabAvert :	39
CHAPITRE V : METHODOLOGIE	42
4-1 Lieu d'étude :	42
4-2 Période d'étude :	46
4-3 Type d'étude :	46
4-4 Population d'étude :.....	46
4-5 Technique d'échantillonnage :	46
4-6 Critères d'inclusion et de non-inclusion :.....	46
4-7 Organisation pratique du travail :.....	48
4-8 Technique d'étude et variables mesurées :	51
4-9 Considérations éthiques et mesures pour optimiser le ratio bénéfice/risque:	53
4-10 Collecte, saisie, analyse des données :	54
CHAPITRE VI : RESULTATS	59
A- Profil de l'étude :.....	59
1-Résultat du dépistage :.....	59
2- Profil de l'essai :.....	60
B- Caractéristiques de base de la population d'étude :.....	61
C- Résultats cliniques :	63
D- Résultats biologiques :	67
CHAPITRE VII : COMMENTAIRES ET DICUSSION	83
CHAPITRE IX : RECOMMANDATIONS.....	88
CHAPITRE VIII : CONCLUSION	89
CHAPITRE X : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	90
RESUME	101
LES ANNEXES.....	105

I- INTRODUCTION:

Le paludisme est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante, causé par le développement et la multiplication d'abord dans le foie puis dans les globules rouges d'un hématozoaire du genre *Plasmodium*, transmis à l'homme par la piqûre infectante des moustiques femelles du genre *Anophèles*.

Principale maladie parasitaire humaine, le paludisme représente une menace majeure pour près de 3,3 milliards de personnes dans le monde, on estime à 247 millions de cas de paludisme clinique rapportés par an et plus d'un millions de décès [1,2] surtout chez les enfants de moins de 5 ans.

Le paludisme tue un enfant toutes les 30 secondes dans le monde, la plupart en Afrique au sud du Sahara [3].

En Afrique (continent le plus touché), 30% des admissions hospitalières en pédiatrie et 40% des consultations au dispensaire ont pour cause le paludisme [4]. Mortalité infantile et maternelle élevée, insuffisance pondérale à la naissance, absentéisme scolaire et faible productivité agricole sont les principaux maux dont le paludisme est responsable sur ce continent. Cette maladie frappe surtout les pauvres qui vivent en zones d'endémicité paludéenne dans des habitations qui ne les protègent guère contre les moustiques. En les débilitant et en minant leur productivité, la maladie les appauvrit encore plus. En 2001 la Banque mondiale notait que le paludisme a ralenti la croissance économique en Afrique d'environ 1.3% par an. [5].

Au Mali le paludisme est une cause principale de morbidité et de mortalité, avec une transmission saisonnière. Le paludisme constitue 37,52% des motifs des consultations dans la population générale dont

59,8% chez les enfants de 0 à 5 ans, le taux de létalité du paludisme grave et compliqué au service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel Touré a été de 15,3% en 2001 [6].

A Bandiagara, une ville sahélienne du Mali, la transmission du paludisme est intense et saisonnière. Des études réalisées depuis 1999 ont montré que 85% des enfants de moins de 10 ans faisaient au moins un accès de paludisme durant une saison de transmission, en moyenne 1,92 épisodes de paludisme par enfant et par saison de transmission [7]. L'incidence du paludisme grave était de 2,5% (n=2284) en 2000 [7], le neuropaludisme dans 40% et l'anémie sévère (Hb<5g/dl) représentait 18,6% des cas.

Au cours de ces dernières années, le paludisme est de retour dans les zones où il avait été éradiqué et la transmission s'étend de plus en plus dans les zones où le paludisme n'a jamais été documenté dans le passé [8].

La lutte antipaludique repose à présent sur l'utilisation des médicaments pour éliminer les parasites, des supports imprégnés contre les vecteurs et des combinaisons stratégiques de ces outils en fonction de l'environnement social, économique et écologique.

Toutefois, l'émergence et l'extension du phénomène de résistance des parasites aux médicaments et des vecteurs aux insecticides handicapent sérieusement l'efficacité de ces outils [9].

Il est nécessaire de trouver de nouveaux outils de lutte contre le paludisme. Le vaccin antipaludique serait un atout majeur pour combattre et éventuellement éliminer ce fléau.

Les efforts de développement de vaccins antipaludiques se sont concentrés essentiellement sur deux étapes dans le cycle biologique de *Plasmodium falciparum* notamment l'invasion des hépatocytes par les sporozoïtes et des érythrocytes par les mérozoïtes. Un vaccin visant les

mérozoïtes permettrait d'éviter les manifestations cliniques en bloquant l'invasion des érythrocytes. Parmi un grand nombre d'antigènes du parasite la MSP1 (Merozoite Surface Protein1) a été l'un des plus étudiée, c'est une protéine à la surface du mérozoïte de *Plasmodium falciparum* qui est essentielle dans le processus de l'invasion des globules rouges par le mérozoïte.

Un autre antigène parasitaire exprimé à la surface du mérozoïte, l'AMA-1, l'antigène 1 de la membrane apicale (Apical membrane antigen 1) a été associé à une inhibition de la croissance des parasites in vitro [10] et a représenté une voie intéressante comme vaccin antipaludique potentiel.

Dans cette optique le Walter Reed Army Institute of Research (WRAIR) a fabriqué un candidat vaccin dénommé FMP2.1 (Falciparum Malaria Protein 2.1), associé au puissant adjuvant AS02A de GlaxoSmithkline Biological (GSKBio).

La FPM2.1 est une version recombinante de l'AMA-1 provenant de la souche 3D7 de *P. falciparum*. L'antigène FMP2.1 contient 478 aminoacides, dont 449 proviennent de la protéine *P. falciparum*.

Le Centre de Recherche et de Formation sur le Paludisme (MRTC) du Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires (DEAP) de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie à l'Université de Bamako, s'est investi dans un essai clinique de phase I de ce candidat vaccin FMP2.1/AS02A à Bandiagara au Mali. Cette étude s'intègre dans le cadre d'un partenariat étroit avec des institutions telles : le National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) du National Institute of Health (NIH) des Etats-Unis, l'Université du Maryland, le WRAIR et GSKBio pour évaluer la tolérance et l'immunogénicité de ce nouveau produit.

La ville de Bandiagara a été depuis 1993, un site des études épidémiologiques et entomologiques du Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires (DEAP) de la Faculté de Médecine de Pharmacie et BMP/MMVDU/MRTC/DEAP/FMPOS

d'Odonto-Stomatologie de l'université de Bamako. Depuis 1999 Bandiagara abrite un projet du DEAP de préparation du site pour la conduite d'essais cliniques de vaccins antipaludiques avec le support financier et technique du NIH, et en partenariat avec l'université de Maryland, connu sous le nom de BMP (Bandiagara Malaria Project).

Pour une mesure précise de la toxicité potentielle sur le tissu hématopoïétique et d'autres organes, il a été préalablement établi dans la population adulte locale, les valeurs de référence de certains paramètres biologiques.

L'expérience des études précliniques et des essais précédents de vaccins antipaludiques a montré que les modifications de ces paramètres biologiques reflètent le niveau de toxicité des candidats vaccins.

Notre étude vise, à évaluer la tolérance et l'impact sur l'incidence du paludisme du candidat vaccin FMP2.1 associé à l'adjuvant AS02A dans une population pédiatrique âgée de 1 à 6 an (s) dans la ville de Bandiagara au Mali.

II- OBJECTIFS:

II-1-Objectif général:

- Evaluer la tolérance clinique, biologique et l'impact sur l'incidence du paludisme du candidat vaccin antipaludique FMP2.1 associé à l'adjuvant AS02A dans une population d'enfants âgée de 1 à 6 an (s) à Bandiagara au Mali.

II-2-Objectifs spécifiques:

1. Déterminer l'incidence des réactions locales et systémiques après chaque vaccination.
2. Déterminer l'impact de la vaccination sur l'incidence du paludisme.
3. Déterminer les moyennes des différents paramètres de l'hémogramme au cours de l'essai vaccinal FMP2.1/AS02A vs. RabAvert®.
4. Déterminer les moyennes de la créatinine et de l'ALAT sérique au cours de l'essai vaccinal FMP2.1/AS02A vs. RabAvert®.
5. Mesurer le titre d'anticorps spécifique anti-AMA1 avant et après chaque immunisation.

III- GENERALITES :

Le paludisme constitue un problème important de santé publique, les outils utilisés jusqu'à présent dans le contrôle de cette maladie ont montré leur insuffisance compte tenu de la complexité du cycle de vie de l'agent pathogène, le *Plasmodium*, qui échappe au contrôle du système immunitaire de l'hôte.

Le paludisme humain est essentiellement causé par quatre principales espèces du genre *Plasmodium*, notamment : *Plasmodium falciparum* qui est de loin l'espèce la plus dangereuse, responsable des complications mortelles du paludisme, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*. Une cinquième espèce, *Plasmodium knowlesi*, souvent confondu avec *P. malariae* a été décrite chez l'homme en Asie du Sud-est, notamment en Malaisie, en Thaïlande, au Myanmar et en Chine [72, 73].

1-Cycle biologique du Plasmodium:

Dans la nature le *Plasmodium* se trouve entre le moustique femelle du genre *Anophèles* chez lequel se déroule le cycle sexué et l'hôte vertébré chez lequel se déroule le cycle asexué. Le cycle de vie comporte plusieurs stades avec expression de différents antigènes à chaque stade qui entraînent une réponse immunitaire spécifique.

Le cycle peut être principalement résumé en trois stades [11].

Le stade pré-érythrocytaire : Le sporozoïte, stade infestant du parasite est injecté à l'homme avec la salive du moustique lors de son repas sanguin. A travers la circulation sanguine, les sporozoïtes gagnent passivement le foie, pénètrent dans les hépatocytes. Dans ces cellules, chaque sporozoïte se différencie en schizonte, à maturité le schizonte hépatique libère environ 20.000 à 40.000 mérozoïtes dans la circulation sanguine [12].

Le stade sanguin : Une fois dans la circulation les mérozoïtes pénètrent activement dans les érythrocytes, où ils se transforment en trophozoïtes. La réplication de l'ADN et la multiplication des noyaux dont chacun s'entoure d'une plage cytoplasmique donnera naissance à un schizonte ou corps en rosace [13]. A maturité le schizonte éclate et libèrent les mérozoïtes qui vont suivre immédiatement un cycle d'invasion des érythrocytes.

Le stade sexué : Après plusieurs cycles asexués schizogoniques, certains parasites érythrocytaires se différencient en éléments à potentiel sexuel, les gamétocytes mâles et femelles. En prenant son repas sanguin sur un sujet infesté, le moustique absorbe les différents stades du parasite. Les éléments asexués sont digérés. Les gamétocytes femelles se transforment en macro gamètes, la microgametogenèse transforme le gamétocyte mâle en microgamètes par exflagelation et division nucléaire [13].

La fécondation donne naissance à l'ookinète, œuf mobile qui traverse la paroi de l'estomac, formant à l'extérieur de la surface externe, l'oocyste dans lequel s'individualisent les sporozoïtes libérés par l'éclatement de l'oocyste mur, les sporozoïtes gagneront avec prédilection les glandes salivaires de l'anophèle, qui les injecte à l'homme à l'occasion d'un repas sanguin.

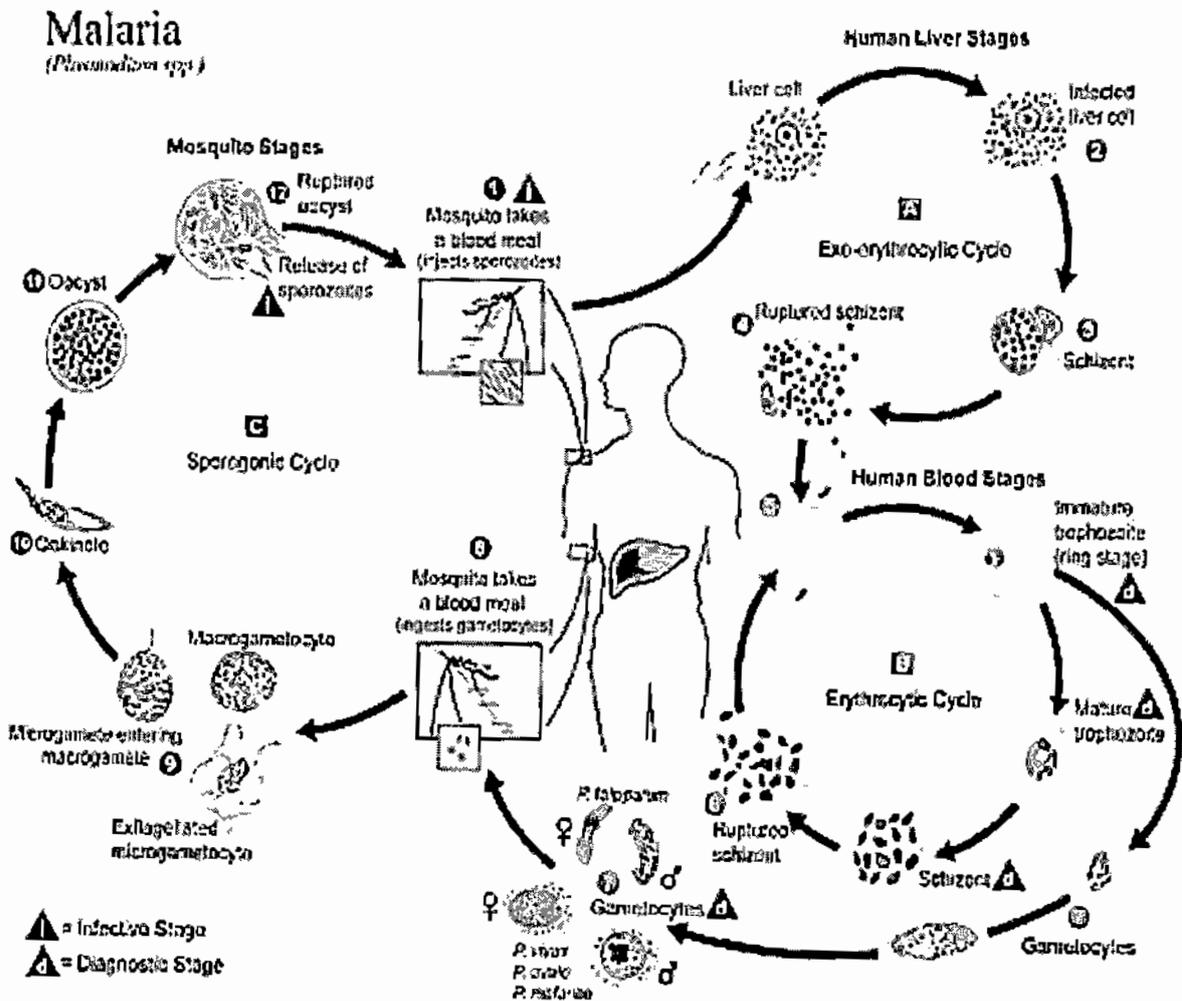


Figure 1: Cycle de vie du *Plasmodium*

• **Irwin W Sherman.** *Plasmodium*, a genus of parasitic protozoons that are causative agents of disease malaria. ENCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES/ © 2001 Nature Publishing Group.

2- Vaccination et vaccins antipaludiques :

La politique d'éradication du paludisme engagée par l'OMS après la deuxième guerre mondiale, s'est soldée par un échec et fut abandonnée en 1969 à cause de l'apparition du phénomène de chimiorésistance : résistance des parasites aux antipaludiques et résistance des vecteurs aux insecticides.

La vaccination constitue une stratégie de lutte efficace contre les maladies infectieuses et elle a le potentiel de devenir un atout majeur dans la lutte contre le paludisme.

Le développement d'un vaccin contre le paludisme est de nos jours une nécessité compte tenu de l'émergence et de l'extension du phénomène de résistance des parasites aux antipaludiques et des vecteurs aux insecticides.

Les efforts de mise au point d'un vaccin efficace contre le paludisme ont buté contre l'obstacle formidable que constitue la complexité du cycle de développement et la capacité d'adaptation du parasite à l'hôte humain lui permettant d'échapper aux mécanismes de destruction du système immunitaire.

Cette complexité du cycle offre également l'avantage de fournir une longue liste d'antigènes à potentiel vaccinal. Chaque stade du développement du parasite possède sa propre mosaïque antigénique dont la structure varie dans le temps, notamment pour les antigènes exposés à l'action du système immunitaire. Les progrès de la biologie moléculaire et de la génomique ont permis le séquençage du génome de *Plasmodium* qui contient près de 5300 gènes [14].

L'objectif poursuivi depuis 20 ans est de déterminer parmi les antigènes somatiques et métaboliques du parasite les candidats les plus immunogènes susceptibles de conférer une réaction immunitaire protectrice, bien tolérée et durable contre le paludisme.

La mise au point d'un vaccin antipaludique est un long processus et demande des ressources financières, humaines et matérielles importantes.

Les premiers essais de vaccination contre le paludisme remontent en 1910 lorsque les frères Sergent en Algérie et Celli en Italie tentèrent sans succès de mettre au point un vaccin efficace à partir des sporozoïtes [15].

Toutefois certaines études d'immunisation avec des sporozoïtes irradiés ont montré une immunité protectrice partielle ou complète chez la souris [16], chez le singe [17] et chez l'homme [18] contre une infection expérimentale au laboratoire avec des sporozoïtes vivants. D'autres études ont montré que des infections répétées entraînent une acquisition d'immunité naturelle mais partielle, de courte durée et très souvent spécifique [19]. Les transferts passifs d'immunoglobulines purifiées obtenues dans les sérums des sujets semi-immuns en Afrique ont entraîné une diminution de l'infection chez les enfants Thaïlandais [20]. Ces différentes études ont fourni un espoir sérieux dans la possibilité d'immunisation contre le paludisme.

Les essais cliniques du premier candidat vaccin synthétique multivalent nommé SPf66, mis au point par Manuel Pattaroyo et son équipe en 1987 en Colombie [21], ont montré des résultats controversés et une absence de protection contre le paludisme en Afrique. Ces essais ont cependant permis l'amélioration de la méthodologie des essais cliniques de vaccins antipaludiques et ont balisé le chemin pour les recherches vaccinales ultérieures.

3-Les antigènes

Les vaccins antipaludiques sont constitués d'antigènes qui servent de cible pour le système immunitaire. Ces antigènes peuvent être des protéines entières exprimées par le parasite, des sous-unités de ces

protéines antigéniques qui stimulent mieux le système immunitaire, des toxines parasitaires ou des gènes qui codent pour ces protéines. Différentes cibles antigéniques du parasite sont exprimées aux différents stades du cycle biologique.

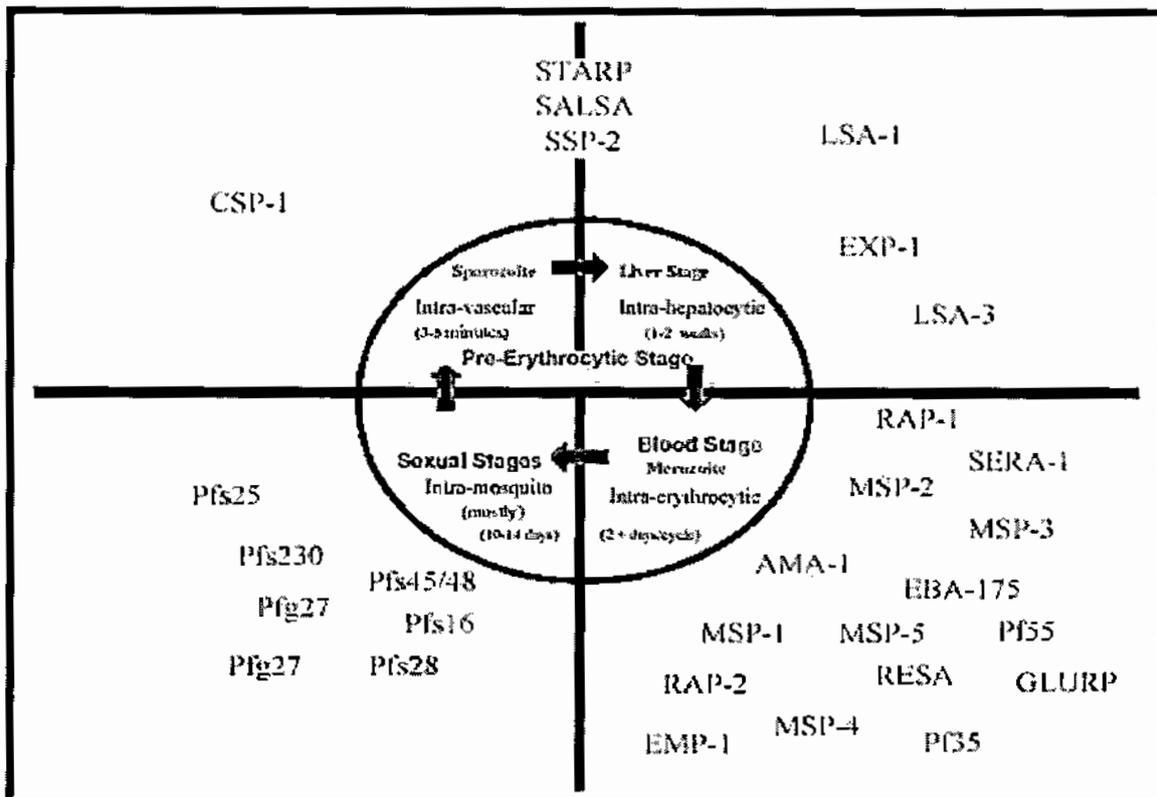


Figure 2: Les antigènes à potentiel vaccinal selon le stade de développement.

Filip Dubovsky, M.D., M.P.H., F.A.A.P., *Malaria Vaccine Initiative at PATH: Creating a Vaccine Against Malaria. Page 2, January 2001*

Les antigènes caractéristiques d'un stade dans le cycle de développement du parasite, caractérisent les types de vaccins qu'ils constituent. Ainsi nous avons des vaccins pré-érythrocytaires, des vaccins du stade sanguin et les vaccins bloquant la transmission.

Un vaccin pré-érythrocytaire induisant une protection à vie serait idéal, mais peu probable. Un vaccin du stade sanguin sera probablement le plus approprié, pourrait être combiné avec un vaccin pré-érythrocytaire pour augmenter la protection individuelle, et/ou avec un vaccin bloquant la transmission afin de le protéger contre la sélection de types antigéniques réfractaires.

3-1 Les vaccins pré-érythrocytaires :

Les vaccins pré-érythrocytaires préviennent l'invasion des hépatocytes par les sporozoïtes ou entraînent la destruction des parasites dans les hépatocytes infectés.

Malgré une connaissance encore incomplète du mécanisme de cette immunité protective, le rôle des lymphocytes T est évident dans la lyse des hépatocytes infectés par une réponse cellulaire de type Th1 notamment par la stimulation des lymphocytes TCD4+ et TCD8+ [22], et aussi par la médiation des cytokines notamment l'interféron gamma (IFN). En effet une expérience de vaccination chez les souris déficientes en lymphocytes T CD8. Ces souris n'ont pas été protégées par cette forme d'immunisation. [23].

Les anticorps dirigés contre les antigènes du parasite du stade hépatique préviendraient l'invasion des hépatocytes par les sporozoïtes. La protéine la plus caractérisée est le CSP (Circumsporozoite Protein) qui est exprimée avant et pendant l'infection des hépatocytes [24], l'épitope immunodominant de cette protéine, composé par un tetrapeptide répétitif NANP (Asn-Ala-Asn-Pro) a fait l'objet de beaucoup d'études. Les études préliminaires de la version recombinante [25] ou synthétique [26] du CSP chez l'homme ont montré que les vaccins basés sur cet antigène sont

bien tolérés et immunogènes, mais avec une efficacité limitée. Ceci pourrait être dû à une insuffisance de stimulation des cellules T helper. Une approche récente développée par le WRAIR en collaboration avec GlaxoSmithKline Biologicals (GSKBio) a consisté à combiner une version recombinante de la partie C-terminale de la région répétitive NANP du CS avec des épitopes des cellules T helper constitués par l'antigène de surface du virus d'hépatite B [27], ce candidat vaccin dénommé RTS,S est associé à un puissant adjuvant SBAS2 à base de Monophosphoryl Lipide A (MPL) et du QS21 (un dérivé de l'écorce du *Quillaja saponaria*) renommé plus tard AS02A. Le RTS,S/AS02A a été un bon inducteur de la réponse cellulaire de type Th1 et a entraîné une forte réponse immunitaire humorale avec une production importante d'IgG (immunoglobuline G) dirigées contre la région répétitive du CS [28]. Le RTS,S/AS02 a montré une efficacité de 71% chez les adultes semi-immun en Gambie durant les 9 premières semaines de suivi, mais cette efficacité est revenue à 0% à la fin de la 15^{ème} semaine [29]. Une étude de phase IIb du RTS,S/AS02A conduite au Mozambique chez les enfants âgés de 1 à 4 ans a montré que le candidat vaccin a été bien toléré et le vaccin a montré une efficacité de 29.9% contre les premiers épisodes de paludisme. Ce candidat vaccin a entraîné une réduction de la prévalence de l'infection à *Plasmodium falciparum* de 28,9% après un mois et de 37% au bout de 6 mois de suivi. L'efficacité de ce candidat vaccin contre le paludisme grave était de 57,7% [30]. Un nouveau système adjuvant, le AS01 associé à RTS,S a montré une efficacité de 56% contre tous les épisodes de paludisme dans une étude menée en Mozambique chez les enfants âgés de 5 à 17 mois et a montré moins de réactogénicité [74].

La caractérisation fonctionnelle des antigènes du stade hépatique a révélé deux autres candidats vaccins prometteurs, notamment le LSA-1 et le LSA-3 (Liver-Stage Antigen 1 et 3). L'expression du LSA-1 commence au moment de l'infection de l'hépatocyte. Plusieurs études [31, 32, 33]

ont montré l'association entre une réponse immune spécifique au LSA-1 et une protection contre le paludisme sévère ou une forte parasitémie [34].

Le LSA-3 a fait l'objet de moins d'études que le CSP et le LSA-1 ; parmi lesquelles, certaines, utilisant des lipopeptides et les protéines recombinantes du LSA-3, ont montré un niveau de protection mais l'expression de cet antigène complique l'interprétation des résultats parce que ces antigènes sont trouvés pendant et après l'infection et en quantité constante. [35, 36].

3-2 Les vaccins du stade sanguin :

Un vaccin efficace du stade sanguin permettrait d'éviter les manifestations cliniques du paludisme et les complications telles que : le paludisme cérébral, l'anémie palustre, la défaillance rénale et d'autres formes graves du paludisme chez la femme enceinte en bloquant l'invasion des érythrocytes par les mérozoïtes.

Les complications rencontrées dans l'infection à *Plasmodium falciparum* seraient dues à l'adhésion des globules rouges infectés aux récepteurs spécifiques de l'endothélium vasculaire tels le CD36, l'ICAM1 (IntraCellular Adhesion Molecule 1) et au niveau du placenta, la Chondroïtine Sulfate A (CSA). La séquestration des globules rouges infectés peut entraîner une obstruction microvasculaire et un largage des cytokines synthétisées telles que le Tumeur Necrosis Factor alpha (TNF α) et d'autres médiateurs tel que l'oxyde nitrique (NO). Ces événements entraînent un dysfonctionnement des organes.

A ce stade du fait que les érythrocytes n'expriment pas le Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) de classe I et II, la réponse immune sera de type humoral, effectuée par les anticorps [37].

Les efforts de développement d'un tel vaccin se sont concentrés sur les antigènes intervenant dans l'invasion des érythrocytes, l'antigène le plus

caractérisé et le plus étudié est la protéine 1 de surface du mérozoïte (MSP1).

La MSP1 est une protéine de 195KDa exprimée à la surface des mérozoïtes de *Plasmodium falciparum* et synthétisée au cours de la schizogonie érythrocytaire à partir d'une seule copie du gène de 5,1Kb situé sur le chromosome 9. Cette protéine polymorphe subit une maturation en deux étapes. La première étape conduit aux fragments 33, 42 et 83KDa. La deuxième étape a lieu au moment de l'invasion des érythrocytes, entraînant le clivage du fragment C-terminal de 42KDa pour aboutir aux fragments 33KDa (MSP-1₃₃) et 19KDa (MSP-1₁₉) (Cooper et al 1993). Ce dernier reste ancré à la surface du parasite par une liaison de type glycosyl phosphatidyl inositol (GPI) au cours de l'invasion (Black Man et al 1990). Ce processus est essentiel dans l'invasion de l'érythrocyte par le mérozoïte en se fixant aux résidus d'acide sialique situés à la surface du globule rouge.

Les anticorps dirigés contre la portion C-terminale de la MSP1 ont induit une immunité protectrice contre une forte parasitémie, l'anémie palustre et l'accès palustre clinique [38]. Ces anticorps inhibent in vitro le développement intra érythrocytaire des parasites [39] et préviennent l'invasion des érythrocytes [40]. Ces anticorps inhiberaient la pénétration du globule rouge par les parasites en prévenant le clivage protéolytique de la MSP1 en fragment plus petits, ce qui est indispensable dans l'invasion des érythrocytes [41].

Une étude d'immunisation avec un vaccin à base de MSP1 menée par Kumar, et son équipe en 2000 a montré une protection efficace contre une infection létale chez le singe *Aotus nancymai* [42]. Une étude de phase 1 menée en 1999 (Keitel, et al.) à Washington DC avec une protéine recombinante de la partie C-terminale de la MSP1 fusionnée à des épitopes des cellules T helper de la toxine tétanique a entraîné une séroconversion qui a protégé 9 sur 16 volontaires immunisés à forte dose, mais avec des problèmes d'hypersensibilité après la 3^{ème} dose [43].

Les études immuno-épidémiologiques de deux autres antigènes de surface du mérozoïte : la MSP-2 et la MSP-3 ont montré l'importance de ces molécules comme étant des cibles de la défense contre l'infection au stade érythrocytaire. Une étude d'un candidat vaccin à base de MSP 3 menée par Druilhe P. et son équipe a montré une bonne induction des réponses cellulaires T et B [44].

L'AMA1 (Apical Membrane Antigen1) est une protéine de 83Kda [45] synthétisée au cours du stade érythrocytaire par les formes matures de *Plasmodium falciparum*. Elle est initialement localisée dans les organites apicaux, subit un clivage protéolytique pour donner un fragment de 66KDa qui sera exprimé à la surface du mérozoïte durant la phase d'invasion des globules rouges (Howell SA et al 2001). Cette protéine constitue un candidat majeur des vaccins du stade sanguin. Les anticorps monoclonaux purifiés dirigés contre AMA1 ont entraîné une inhibition de l'invasion des érythrocytes par les mérozoïtes [46]. Des essais de vaccination effectués dans le modèle *Plasmodium fragile*/singe et *Plasmodium chabaudi adami*/souris avec AMA-1 exprimée sous forme de protéine recombinante dans le système *Baculovirus* a montré une protection chez le singe (Collins WE, al 1994) et la souris (Anders RF, et al 1998). Une étude de phase I de AMA1 conduit à Donéguébougou (Mali) a montré que le candidat vaccin a été bien toléré, mais la réponse immune était de courte durée [47]

3-3 Les vaccins bloquant la transmission (TBVs) :

Ces types de vaccin ont pour cible le stade sexuel du parasite, induisant une immunité qui inhibe l'exflagellation et la fertilisation du parasite chez le moustique vecteur. Cette immunité dépend du transfert des anticorps de l'hôte au moustique vecteur lors de son repas sanguin.

Les candidats vaccins les plus étudiés de ce stade ont été principalement le Pfs28 et le Pfs25 [48], les anticorps dirigés contre le Pfs28 entraînent

un blocage de la transmission de *Plasmodium falciparum* et présentent une action synergique lorsqu'ils sont combinés aux anticorps dirigés contre le Pfs25. Ces deux antigènes sont très immunogènes et ont une diversité antigénique limitée [48].

Deux autres antigènes de gamétocytes, le Pfs230 et le Pfs48/45 ont été caractérisés. Une réponse immune naturelle à ces antigènes semble être associée à la prévention de la transmission in vivo et un haut titre d'anticorps dirigés contre ces antigènes a entraîné un blocage de la transmission in vitro [48].

3-4 Les nouvelles approches de formulation de vaccin :

Les progrès récents de l'immunologie, de la génétique et de la biochimie ont ouvert un champ nouveau à la vaccinologie. L'innovation dans ce domaine est passée par la mise au point des vaccins à ADN et les vaccins multivalents multistades. La vaccination par l'ADN nu consiste à injecter directement dans la peau ou dans le muscle les gènes codant pour une protéine antigénique, l'organisme lui-même produit les antigènes qui vont provoquer la réaction immunitaire. Cette approche serait particulièrement intéressante pour le stade pré-érythrocytaire car elle induit une immunité humorale et cellulaire spécifique par des lymphocytes TCD4+ et TCD8+ cytotoxiques.

Depuis 1994, une protection dans le modèle souris a été démontrée en utilisant un vaccin à ADN codant pour le CSP de *Plasmodium yoelii* [49]. Un essai clinique de phase 1 d'un vaccin à ADN codant pour le CSP de *Plasmodium falciparum* mené en 1998 a rapporté une bonne tolérance et une bonne immunogénicité [50].

Les dernières tendances ont cherché à mettre au point des vaccins multiantigènes multistades pour tenter de réduire le risque d'échappement du parasite en induisant à la fois une réponse immune pour un grand nombre d'antigène.

Le premier candidat vaccin multivalent multistade contre *Plasmodium falciparum* est le NYVAC-Pf7 [51] à base du *virus vaccinia* atténué portant 7 gènes de *Plasmodium falciparum*, notamment ceux codant pour le CSP et LSA1 du stade pré-érythrocytaire, de la MSP1, AMA1 et SERA du stade sanguin asexué et des antigènes Pfs25 du vaccin bloquant la transmission. Les travaux initiaux n'ont pas montré une protection de l'homme contre une infection à *Plasmodium falciparum*, bien que NYVAC-Pf7 ait induit une réponse immune détectable [51].

Une formulation récente de candidat vaccin à base d'ADN, constitué de 5 antigènes du stade pré-érythrocytaire et 10 du stade érythrocytaire de *Plasmodium falciparum* [52] a induit une bonne réponse immune contre ces 15 antigènes [53].

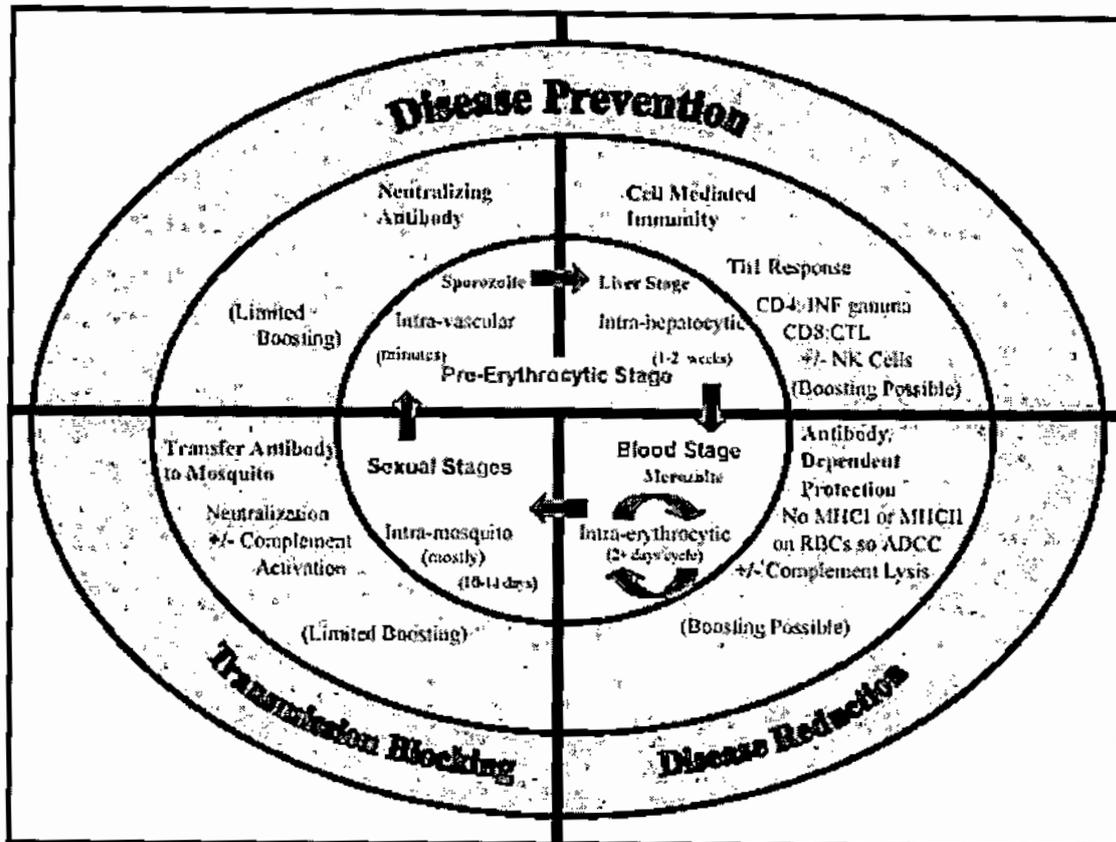


Figure 3: Les effets probables des vaccins antipaludiques (Filip Dubovsky, *F.A.A.P., Malaria Vaccine Initiative at PATH: Creating a Vaccine Against Malaria*). Pages 3, January 2001

3-5 Les adjuvants vaccinaux :

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

Les vaccins sont constitués de molécules antigéniques diluées dans un liquide, mais ces antigènes en solution n’induisent pas souvent de réponse immunitaire satisfaisante, surtout quand il s’agit de vaccins atténués qui ne peuvent pas parfaitement imiter une infection naturelle

et des vaccins sous-unitaires qui se réduisent parfois à des simples peptides.

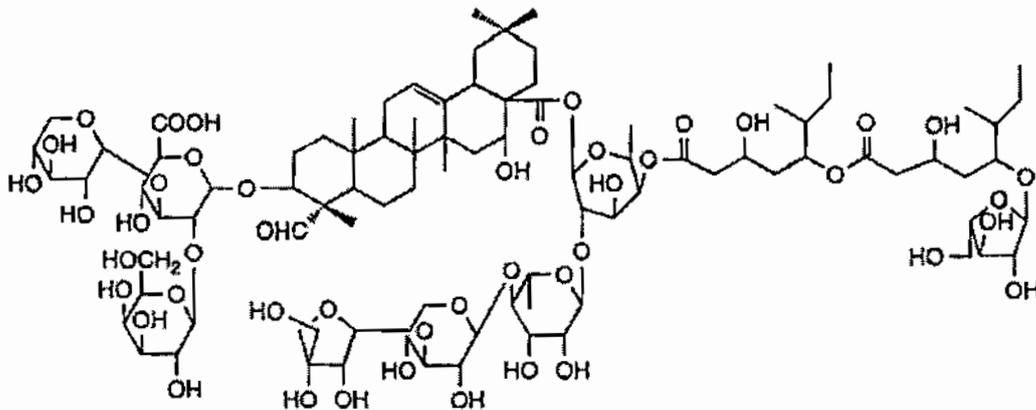
Les adjuvants sont utilisés comme constituant des vaccins et la plupart des temps ils sont indispensables pour l'installation d'une réponse immune protectrice. L'utilisation des adjuvants dans la formulation des vaccins permet d'obtenir des taux plus élevés d'anticorps avec moins d'antigène.

S'ils sont efficaces, les adjuvants ne sont pas dépourvus d'effets secondaires car ils peuvent être responsables de fièvres, d'une allergie, voire même du déclenchement de maladies auto-immunes.

La recherche s'emploie actuellement à utiliser des adjuvants efficaces avec moins d'effets secondaires.

3-5-1 Le QS-21 : *Quillaja saponaria* 21 (Stimulon™ QS-21 Adjuvant) [54]

- **Structure :**



Kensil, C. R. et al, 1991, Separation and characterization of saponins with adjuvant activity from *Quillaja saponaria* Molina cortex. *J. Immunol.*, 146:431-437.

QS-21 est un produit naturel dérivé de l'écorce de *Quillaja saponaria*, une espèce originaire du Chili et de l'Argentine. L'un des premiers

adjuvants utilisés dans la formulation des vaccins pour augmenter l'immunité humorale et à médiation cellulaire. QS-21 est une molécule amphiphile, hydrosoluble, son association avec les bases fortes est à éviter. QS-21 a été utilisé dans un essai de phase III d'un vaccin thérapeutique contre le mélanome à plus de 100µg par dose. QS-21 a été évalué au cours de plusieurs essais de phase I et II associé à 31 vaccins différents aux doses comprises entre 25 et 100µg [54].

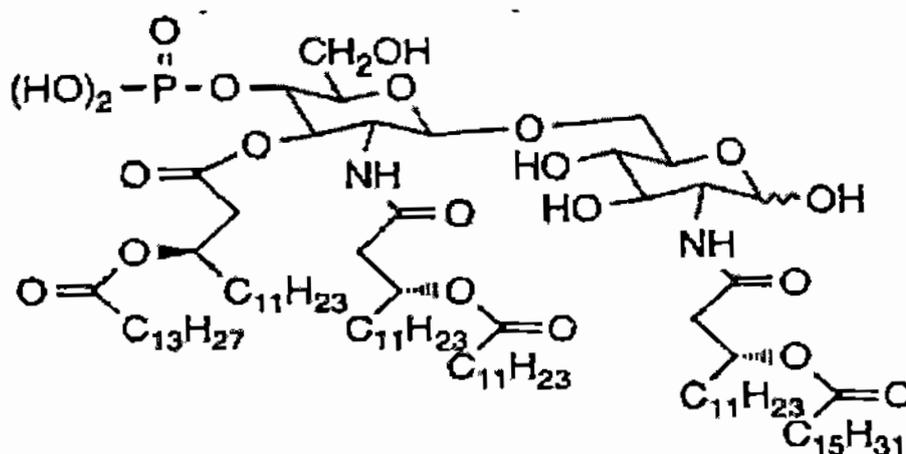
QS-21 a entraîné chez la souris une stimulation de la réponse humorale avec un bon titre d'anticorps spécifiques IgG1, IgG2b, et IgG2a. Généralement administré par voie intramusculaire ou sous-cutanée, QS-21 est également efficace par voie nasale ou orale.

QS-21 a entraîné une augmentation de la protection de l'homme par les candidats vaccins recombinants antipaludiques et une stimulation des lymphocytes T cytotoxiques dans un essai de phase I avec le RTS,S [54, 29].

3-5-2 Le MPL : Monophosphoryl lipide A [54]

(3-Q-desacyl-4'-monophosphoryl lipid A ; 3D-MLA)

- **Structure :**



Frederick R. Vogel, Michael F. Powell, and Carl R. Alving, A Compendium of Vaccine Adjuvants and Excipients (2nd Edition)

Le MPL est un dérivé du Lipopolysaccharide (LPS) de *Salmonella minnesota* R595. Utilisé dans la formulation des vaccins, le MPL est généralement utilisé avec un véhicule (émulsion huile dans eau) qui favorise une liaison étroite avec l'antigène, ce qui augmente son activité. Le MPL est soluble dans l'eau et dans l'huile, mais cette solubilité est significativement diminuée en présence des cations métalliques divalents. Des essais cliniques de phase I/II [29] ont montré que le MPL est bien toléré.

4- Etapes de développement d'un vaccin :

Le produit pharmaceutique, en l'occurrence le vaccin, qui fait l'objet d'un développement doit répondre à trois critères de base : sécurité, efficacité, qualité. Le développement se déroule selon trois types intégrés de processus : pharmaceutique, préclinique et clinique (Davenport, 1995 ; Braum et coll., 1996 ; Henchal et coll, 1996 ; Maki, 1996 ; Danner, 1997 ; Kopecko, 1997).

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

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

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

l'animal, ce qui permet de constituer les pré-requis indispensables pour le développement clinique.

Le plan de développement clinique d'un vaccin est une succession de quatre phases bien codifiées :

- Une phase I de tolérance et d'immunogénicité chez un petit nombre de volontaires adultes sains. Cette phase a pour but de confirmer la tolérance et aussi d'avoir une première idée d'immunogénicité du vaccin chez l'homme. C'est généralement un essai clinique randomisé avec groupe contrôle en double aveugle. Cette phase peut être subdivisée en : une phase Ia menée sur des volontaires adultes sains naïfs et une phase Ib menée sur des volontaires adultes sains vivant dans des zones d'endémie ;

- Une phase II de preuve d'efficacité, mais aussi d'immunogénicité et d'évaluation continue de l'innocuité, portant sur quelques centaines de sujets cibles du vaccin. En plus de la détermination exacte de la dose et l'établissement du calendrier vaccinal, cette phase établit l'innocuité du vaccin dans cette population ;

- Une phase III d'efficacité, pouvant porter sur un nombre considérable de sujets ; Cette phase va aboutir à une autorisation réglementaire et légale de mise sur le marché (AMM : Autorisation de Mise sur le Marche). Souvent une Phase IIIb est initiée pour permettre de collecter d'avantage des informations sur la tolérance du produit.

-Après l'enregistrement du vaccin, des études cliniques de phase IV mettront en évidence les éventuels effets secondaires rares et évalueront la stratégie d'utilisation du nouveau vaccin.

5- Les éléments de la tolérance :

L'utilisation de tout nouveau produit pharmaceutique chez l'homme exige d'avoir établi au préalable son innocuité au cours d'études

cliniques de phase I. Dans le cas particulier des vaccins cette phase consiste à déterminer la sécurité et l'immunogénicité du produit.

L'évaluation de la sécurité d'un vaccin regroupe la détermination des événements adverses (locaux et systémiques) et l'évaluation du niveau de toxicité biologique. Le tissu hématopoïétique et d'autres organes tels que le foie et le rein constituent les cibles potentielles.

5-1 Tolérance clinique : [55]

5-1-1- La réactogénicité :

La vaccination protège contre la maladie ou ses séquelles par l'administration d'un produit immunobiologique : vaccin anatoxine immunoglobuline et antitoxine.

Les vaccins sont des suspensions de micro-organismes vivants (atténués) ou inactivée ou de leurs fractions.

Chaque élément biologique immunogène a une voie et un site d'administration préférentiels. Les vaccins contenant des adjuvants doivent être injectés par la voie intramusculaire. L'hypersensibilité aux composants du vaccin peut entraîner des réactions systémiques et locales d'intensité variable. Les composants responsables peuvent être des protéines animales, des conservateurs et des stabilisateurs.

La réactogénicité mesure la réaction inflammatoire de l'organisme à l'introduction des adjuvants et des antigènes vaccinaux. Elle a une expression locale (signes locaux d'inflammation, telles que l'œdème ou l'érythème au site d'injection) et une expression systémique (par exemple les céphalées, la fièvre, le manque d'appétit, etc..).

L'inflammation est un processus qui se déroule dans le tissu conjonctif et est le résultat de la coopération de différentes variétés de cellules : plaquettes, cellules endothéliales, leucocytes mastocytes, fibroblastes et d'autres substances produites par le système du complément. Il comporte plusieurs temps successifs marqués d'abord par des phénomènes vasculaires puis par des phénomènes cellulaires. Les premiers définissent l'inflammation aiguë et les secondes l'inflammation

chronique. Les mastocytes entraînent une libération : d'histamine, de prostaglandine et de leucotriènes, qui sont responsables d'une vasodilatation et d'une augmentation de la perméabilité des capillaires (petits vaisseaux sanguins), surchargés, laissent échapper du liquide, qui s'infiltré dans les tissus, y entraînant un gonflement et causant une sensation douloureuse, provoquée par la stimulation des terminaisons nerveuses locales.

L'érythème est la lésion dermatologique qui est caractérisée par une rougeur congestive de la peau diffuse ou locale.

5-1-2 -Atteinte hématologique :

Anémie : L'anémie est définie par une diminution de la concentration de l'hémoglobine circulante au-dessous des valeurs limites considérées comme normales et fixées par l'OMS chez les enfants à un taux d'hémoglobine inférieur à moins de 12g/dl. L'anémie est une affection qui est caractérisée par les signes et symptômes.

a) Diagnostic positif clinique : Le symptôme le plus visible de l'anémie est la pâleur de la peau (paume des mains) et des muqueuses (muqueuse de la bouche). L'autre symptôme majeur est la fatigue, qui survient à l'effort lorsque l'anémie est modérée, aussi au repos lorsqu'elle est plus sévère. Il peut apparaître chez les sujets âgés des signes d'insuffisance cardiaque, accompagnés d'œdèmes des chevilles et du visage, asthénie, voire dyspnée et tachycardie. Devant l'association une pâleur des marbrures, des extrémités froides, une polypnée superficielle, un pouls filant, une oligo-anurie, une chute de la pression artérielle, des céphalées et des bourdonnements d'oreille (témoin de l'anoxie cérébrale), des veines plates il faut penser à une anémie aiguë avec une perte importante de volémies

b) Evolution : En absence de correction l'évolution se fait d'abord vers le mégalo-blaste puis vers l'anoxie tissulaire qui se traduit par une cyanose. Toutefois c'est le cerveau qui est l'organe le plus

sensible à l'anoxie. L'anoxie cérébrale, la plus grave, se manifeste de façon variable, par une perte de connaissance, un coma ou une convulsion. Les autres organes (cœur et rein) sont mieux protégés, ils peuvent présenter des défaillances.

c) Diagnostic différentiel se pose avec :

Pathologie pulmonaire qui peut associer une polypnée, un essoufflement, une tachycardie

Pathologies digestives associant nausée, vomissement, douleur abdominale, épigastralgie.

Pathologie cardiovasculaire qui associe céphalées, bourdonnement d'oreille, tachycardie, dyspnée d'effort.

Déshydratation aigue caractérisée par une soif intense une tachycardie une hypotension.

5-1-3- Atteinte rénale : Elle est caractérisée par la détérioration rapide de la filtration glomérulaire (quelques heures à quelques semaines). Diminution de 50% de la filtration glomérulaire, associée à un doublement de la créatinine plasmatique.

Elle se traduit par une augmentation brutale de l'urée et de la créatinine plasmatique.

La fonction rénale initiale est généralement normale, parfois déjà altérée.

La diurèse est variable. Anurie lorsque la diurèse est inférieure à 100ml/jour. Oligurie si elle est comprise entre 100ml et 400ml/ jour.

Cela met en jeu le pronostic vital. C'est généralement réversible, mais cela laisse parfois des séquelles rénales.

a) Diagnostic positif clinique : Les signes proprement rénaux se résument à des douleurs lombaires parfois très vives mais inconstantes, anurie et oligurie.

Pour le symptôme essentiellement caractérisé par la chute brutale du volume urinaire il existe des insuffisances rénales aigues à diurèse conservée, dans ce cas, le débit de la filtration glomérulaire qui baisse,

permet de faire le diagnostic : c'est le cas des formes simples oligo-anuriques :

On appréciera le mode d'apparition et des signes cliniques associés non spécifiques :

- Digestifs : des nausées, des vomissements, une anorexie
- Neurologiques : un syndrome confusionnel, une agitation, une crise convulsive.
- Cardiovasculaire : une augmentation de la pression artérielle parfois des lésions du fond d'œil.
- D'inflation hydro sodée : des œdèmes périphériques, un œdème aigue du poumon.
- Ventilatoire ; une dyspnée d'acidose qui est rare.
- Anémie : elle est liée à un défaut de production des globules rouges, mais aussi aux complications hémorragiques ce sont des formes rapidement évolutives.

b) Evolution : Elle se fait vers :

- la récupération complète en 3 à 4 semaines, elle débute par une récupération de la diurèse.
- la récupération incomplète avec insuffisance rénale séquellaire, insuffisance rénale terminale (nécrose corticale).
- les complications qui peuvent être : cardiovasculaires, infectieuses, nutritionnelles neurologiques ou digestives. Elles peuvent être responsables du décès.

c) Diagnostic différentiel :

- devant une oligo-anurie il faut évoquer une obstruction des voies urinaires, une déshydratation aigue.
- devant des troubles digestifs : des pathologies digestives (ulcère gastrique, parasitose digestive)
- devant une hypertension artérielle : des pathologies cardiovasculaires
- si œdèmes : Malnutrition, pathologies hépatiques ou cardiovasculaires

5-1-4-Atteinte hépatique : l'hépatite est un groupe de maladies aiguës ou chroniques caractérisées par une atteinte inflammatoire des cellules hépatiques.

a) Diagnostic positif clinique des hépatites :

Cliniquement tous les types d'hépatites se manifestent dans leur forme commune avec :

-Une phase pré ictérique (3-10jours) associant variablement une asthénie des douleurs abdominales, des myalgies des arthralgies des nausées et des vomissements, une fièvre modérée, des urines brunes, une urticaire etc.

Chez l'enfant la phase pré ictérique est très marquée (fièvre élevée et hépatomégalie importante).

-Une phase ictérique : associant un ictère progressif, des urines foncées et des selles décolorées, parfois un prurit, un foie sensible et modérément augmenté de volume, plus rarement une splénomégalie, et/ou des angiomes stellaires.

-les formes cliniques :

- An ictériques : elles diffèrent uniquement par l'absence d'ictère.
- Cholestatiques : elles associent un ictère intense avec prurit, une élévation des phosphatases alcalines, du cholestérol et de la bilirubine conjuguée ; elles peuvent apparaître d'emblée ou après une phase de cytolyse, cela nécessite d'éliminer un obstacle sur les voies biliaires extra-hépatique.
- Avec manifestation extra-hépatiques : des épanchements séreux pleuro-péricardiques, une atteinte hématologique à type d'anémie hémolytique et exceptionnellement d'aplasie médullaire, des arthralgies, des signes de péri arthrite noueux, une glomérulonéphrite.

b) Evolution :

L'évolution est en grande partie liée à la cause, au terrain immunitaire et à l'état du foie avant la survenue de l'hépatite.

— Les hépatites virales : évoluent spontanément de façon favorable dans la majorité des cas, sans séquelles. Quelques cas peuvent cependant évoluer vers la chronicité avec la cirrhose et la cancérisation (virus B et C). De rares cas d'hépatite fulminante peuvent être rapidement mortels.

— Les hépatites alcooliques : peuvent nécessiter le transfert du patient en réanimation lorsqu'il existe des signes associés d'insuffisance hépatique (hémorragies par troubles de la coagulation sanguine, encéphalopathie) ; le pronostic est essentiellement lié à l'arrêt de l'intoxication alcoolique dans le cas contraire l'évolution se fait vers la cirrhose alcoolique

— Les hépatites médicamenteuses : régressent à l'arrêt du traitement mais, parfois, lentement.

— Les hépatites bactériennes : guérissent habituellement rapidement après prescription de l'antibiotique adapté.

c) Diagnostic différentiel :

- Devant l'association de d'ictère intense avec prurit une élévation des phosphatases alcalines, du cholestérol et de la bilirubine conjuguée on doit évoquer une obstruction des voies biliaires.
- Devant l'ictère la pâleur et la splénomégalie : il faut penser à une hémorragie.
- Devant des arthrites, des épanchements séreux pleuro-péricardiques, une glomérulonéphrite : on peut penser à une pathologie systémique.

5-2- Diagnostic biologique :

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

5 .2.1 L'hémogramme:

a) Définition [56]

C'est une technique de mesure permettant l'analyse quantitative et qualitative des éléments figurés du sang, à savoir les globules rouges, les globules blancs et les plaquettes. L'hémogramme est de plus en plus réalisé par des automates. Les automates ont pour principe soit la détection du volume des particules par variation d'impédance (principe mis au point par Coulter) ; soit par la détection optique.

b) Les paramètres de l'hémogramme [57]

L'hémogramme permet de mesurer le nombre absolu de cellules contenues par unité de volume de sang. L'appréciation de la quantité de globules rouges présents dans un échantillon de sang peut se faire soit par le nombre de globules rouges, soit par l'hématocrite, ou par le taux d'hémoglobine.

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

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

Le nombre de globules varie de :

- 4,5 à $6,2 \cdot 10^{12}$ /l chez l'homme,

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

L'hématocrite représente le volume occupé par les globules rouges dans un volume donné de sang, prélevé sur anticoagulant.

L'hématocrite peut être déterminé soit par une méthode manuelle par centrifugation ou à l'aide des automates.

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

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

Le taux de l'hémoglobine est exprimé en gramme par 100 ml de sang. Les valeurs normales varient selon les populations. Les normes selon l'OMS (à confirmer) sont :

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

L'hémogramme permet d'apprécier le contenu des globules rouges qui dépend de la quantité d'hémoglobine synthétisée au cours de l'érythropoïèse et du volume de l'hématie. Leurs appréciations sont faites essentiellement par le calcul des constantes dites de Wintrobe : Volume Globulaire Moyen (VGM), Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH) et Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (TCMH).

-Calcul du Volume Globulaire Moyen (VGM): Il se fait en divisant le volume globulaire compris dans 1mm^3 de sang (fourni par l'hématocrite)

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

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

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

-Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH) : Elle est le rapport entre le résultat du dosage d'hémoglobine sur celui de l'hématocrite.

On obtient ainsi la quantité d'hémoglobine par unité de volume de globules rouges :

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

-Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (TCMH) : La TCMH a moins d'intérêt physiologique que la CCMH ou le VGM. Elle s'obtient en divisant le résultat du dosage de l'hémoglobine par le nombre de globules rouges et indique le poids moyen d'hémoglobine par globule rouge.

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

Le nombre normal des réticulocytes est entre 25000 et 100000/mm³ pour un taux d'hémoglobine normal.

Les globules blancs ou leucocytes sont des cellules mobiles possédant tous des organites fondamentaux des cellules animales et qui jouent le rôle de défense de l'organisme. Le comptage des globules blancs est fait sur le même prélèvement que les globules rouges et par le même appareil. Les valeurs normales sont 4 à $10.10^3/\text{mm}^3$ chez l'adulte.

Les plaquettes sont des petites cellules de 2 à $4\mu\text{m}$ de diamètre anucléées dans lesquelles on distingue seulement quelques granulations colorées. Les plaquettes sont les principaux acteurs de l'hémostase primaire. Les compteurs électroniques les plus perfectionnés assurent simultanément sur le même prélèvement des comptes de globules rouges, des globules blancs et des plaquettes. L'intervalle de variation normal est très large de 150000 à 500000 par mm^3 .

L'appréciation qualitative des éléments du sang est réalisée sur un frottis sanguin, qui consiste à étaler une fine goutte de sang sur une lame de verre et en l'examinant au microscope après coloration. Cet examen au microscope permet d'étudier la morphologie des hématies et de faire la « formule sanguine ». Elle permet en outre de différencier les lymphocytes, les polynucléaires neutrophiles basophiles, éosinophiles et les cellules immatures éventuelles.

5-2- 2-L'Alanine aminotransférase (ALAT)

a)Définition

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

Les valeurs normales sériques de l'ALAT varient entre 5 et 55 UI/L et la demi-vie est de 47 ± 10 heures. L'ALAT est essentiellement trouvée au niveau du foie (où elle est exclusivement cytoplasmique), mais elle se rencontre aussi par ordre de concentration décroissante, dans le rein,

cœur, le muscle squelettique, le pancréas, la rate, les poumons et le sérum [58].

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

Enfin, l'ALAT est plus élevée lorsque la consommation de cigarettes est supérieure à 20 par jour [59]. L'activité sérique des transaminases diminue pendant la grossesse et lors du déficit en vitamines B6.

Les étiologies des transaminases élevées sont suivant le contexte et la clinique : [60]

- ❖ les hépatites virales (A, B, C, D) ;
- ❖ les hépatites médicamenteuses et toxiques
- ❖ les hépatites auto-immunes ;
- ❖ la mononucléose, la tuberculose ;
- ❖ le cytomégalovirus, l'Herpès ;
- ❖ la leptospirose et les rickettsioses ;
- ❖ les parasitoses (paludisme), les arboviroses (fièvre jaune, dengue) ;
- ❖ l'hémochromatose, la maladie de Wilson ;
- ❖ l'infarctus du myocarde, les myopathies, la cytolyse musculaire.

Le dosage des enzymes se fait de manière indirecte, en évaluant une propriété proportionnelle à la concentration d'enzyme : soit une propriété physique, soit une propriété cinétique.

5-2-3 La créatinine

a) Définition [61]

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

créatine kinase (CK). La créatinine plasmatique et urinaire est le reflet de la masse musculaire globale.

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

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

La créatinine sanguine ne varie pratiquement que dans les lésions rénales.

Son taux varie, chez l'adulte, de 50 à 105 μmol/l.

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

Les échantillons de sérum ou de plasma ou d'urines peuvent être conservés plusieurs jours à l'abri de l'évaporation pour faire le dosage. Ce dosage se fait soit par la spectrorélectométrie c'est le cas de l'appareillage Boehringer "Reflotron Plus®", soit par la méthode enzymatique par lecture UV.

IV-NOTRE TRAVAIL : Tolérance clinique et biologique du vaccin FMP2.1/AS02A chez les enfants de 1 à 6 ans de Bandiagara.

1-Le candidat vaccin FMP2.1 :

Le candidat vaccin FMP2.1 a été développé et fabriqué par le WRAIR. L'adjuvant AS02A a été fabriqué par le GSKBio. Les deux produits ont subi les tests de contrôle de qualité requis par les Bonnes Pratiques de Manufacture (GMP).

Le flacon de FMP2.1 contient environ 50µg de protéine lyophilisée

Ingrédients : 0.100 mg/ml PfAMA-1 (3D7) purifié dans environ 0.60ml de volume

Excipients : 23.5mM de Phosphate de sodium
 0.1mM EDTA
 3.15% Sucrose
 30mM Chlorure de sodium

Une quantité de 0,5ml de l'adjuvant AS02A contient 250µl de SB62 (une émulsion d'huile dans l'eau), 50µg de MPL et 50µg de QS-21, complétée par une solution tampon saline (PBS). L'adjuvant AS02A est livré sous forme de seringues pré remplies, chaque seringue contient 0,65 à 0,75ml de liquide et doit être impérativement conservé entre 2° C et 8° C.

2-Justification de l'étude au Mali :

FMP2.1 a été bien toléré et a montré une bonne immunogénicité dans un essai de phase I sur des sujets adultes non exposés au paludisme aux Etats-Unis. Un essai thérapeutique de phase I de FMP2.1 a été conduit au Mali à Bandiagara dans une population adulte exposée au paludisme (site de notre étude) une zone d'intense transmission du paludisme. La tolérance et l'immunogénicité d'un vaccin antipaludique peuvent varier selon l'intensité de la transmission du paludisme et l'état de semi-immunité des populations. Au Mali, comme dans la plupart des pays de

l'Afrique au sud du Sahara, les principales cibles du paludisme sont les femmes enceintes et les enfants de moins de 5 ans, la transmission du paludisme est intense et saisonnière. Du fait du manque de modèles expérimentaux adéquats pour tester l'efficacité des vaccins des stades sanguins, il est nécessaire de procéder à des essais cliniques de phase I/II en zone d'endémie. La présente étude vise à évaluer la tolérance et l'immunogénicité de FMP2.1 au Mali dans une population pédiatrique. Nous évaluerons également l'impact de la vaccination sur l'incidence du paludisme.

3-Le vaccin témoin antirabique RabAvert® :

Le recours à un groupe témoin est utile en zone d'endémie dans une étude de Phase I, car l'immunité acquise et l'exposition naturelle à la transmission du paludisme peuvent compliquer l'interprétation des données de l'immunogénicité. L'effet du candidat vaccin n'étant pas connu, une augmentation du titre des anticorps peut être attribuée à tort à la stimulation naturelle et méconnaissant l'effet du candidat vaccin. Le placebo serait un bon témoin, mais soulève des inquiétudes éthiques. Un vaccin qui apporterait une protection contre une maladie existante dans la zone serait un meilleur témoin. Car ce vaccin permettra de maximiser le rapport risques/bénéfices pour les participants, quand on sait que ce rapport est toujours défavorable dans un essai de phase I. Plusieurs vaccins peuvent répondre aux critères de choix d'un témoin pour notre étude, mais la plupart de ces vaccins sont disponibles dans le Programme de Vaccination au Mali.

Nous avons préféré le vaccin antirabique, car le schéma de vaccination du vaccin antirabique peut être compatible avec celui de FMP2.1/AS02A. Une seconde raison du choix du témoin, est que le risque de faire la rage bien que mal estimé, est bien réel pour la population de Bandiagara et ce témoin constituera un bénéfice pour les participants.

Nous avons choisi le vaccin antirabique RabAvert®, fabriqué par Chiron Behring GmbH & Co sous forme de poudre lyophilisée et stérile, qui a été obtenu à partir de la souche virale fixe Flury LEP sur culture primaire de fibroblastes de poulet. La souche Flury LEP provient de l'American Type Culture Collection, au 59^{ème} passage sur l'œuf.

Chaque dose reconstituée de vaccin contient moins de 12mg de polygeline, 1mg de potassium glutamate, 0,3ng de sodium EDTA, moins de 3ng de protéine de poulet, moins d'1µg de néomycine, moins de 20ng de chlorotétracycline et moins de 2ng d'amphotéricine B. Le vaccin ne contient pas d'agent conservateur et doit être injecté par la voie intra musculaire immédiatement après la reconstitution.

Son schéma de vaccination recommandé est 0, 7 et 21 jours. Mais des études hors label réalisées en Angleterre, en Allemagne, en France et en Belgique ont montré que 100% des sujets vaccinés avec deux doses à 1 mois d'intervalle présentaient des titres d'anticorps protecteurs, avec une moyenne géométrique de 10UI [62].

Le vaccin RabAvert® présente un profil de tolérance acceptable. Des réactions locales ou systémiques d'intensité modérée peuvent survenir suite à l'injection du RabAvert®. Ces réactions sont passagères et ne contre-indiquent pas l'utilisation du vaccin: elles consistent en une douleur locale, un érythème, un œdème ou un prurit au site d'injection [63]. Des maux de tête, une nausée, des douleurs abdominales, des douleurs musculaires et des vertiges, ont été rapportés chez 20% des personnes ayant reçu le vaccin [64, 65].

Avec environ 11,8 millions de doses de RabAvert® administrés à travers le monde, 10 cas d'encéphalite (dont 1 décès), ou de méningite, 7 cas de paralysie transitoire, y compris deux cas de syndrome de Guillain-Barré, un cas de myélite, un cas de neuropathie rétro bulbaire, et 2 cas de soupçon de sclérose en plaques ont été chronologiquement associés à

son utilisation. En plus, deux cas de choc anaphylactique ont été rapportés.

Tous les vaccins doivent être conservés à une température comprise entre 2° et 8°C et ne doivent en aucun cas être congelés.

V- METHODOLOGIE

1-Lieu d'étude

Notre étude s'est déroulée dans la ville de Bandiagara (figure 4) chef lieu de cercle, située au cœur de la région de Mopti, sur le plateau Dogon. La ville va de l'isohyète 200mm à l'isohyète 700mm.

La ville de Bandiagara comptait 13634 habitants au recensement du MRTC 2006. La tranche d'âge de 0 à 20 ans représente 57% de la population générale [66]. Cette population est composée majoritairement de Dogons (environ 65%), suivis des Peuhls, Mossis, Bozos, Bambaras, Sonrhais, Sénoufos...

Le climat est caractérisé par une courte saison de pluie allant de juin/juillet à août-septembre avec une pluviométrie de 400 à 700 mm d'eau par an (593 mm pour l'année 2007), et une saison sèche plus longue. Le relief est dominé par une grande table de grès. Sur le plan hydrographique la ville est irriguée par un affluent du fleuve Niger: le "Yamé" qui constitue un gîte pour le développement des anophèles pendant une bonne partie de l'année.

Comme infrastructures sanitaires, la ville dispose :

- D'un centre de santé de cercle avec trois médecins, ce centre comprend un dispensaire, une maternité, un bloc opératoire, un dépôt de médicaments, un laboratoire d'analyses médicales, des salles d'hospitalisation, un service social, un cabinet dentaire et une salle informatique.

Notre étude s'est déroulée dans les locaux de ce centre.

- D'un Centre Régional de Médecine Traditionnelle (CRMT) qui est une structure décentralisée de l'INRSP (Institut National de Recherche en Santé Publique) avec un médecin, un pharmacien, un technicien supérieur de laboratoire. Ce centre

Thèse de Médecine : Tolérance clinique et biologique du vaccin FMP2.1/AS02A chez les enfants de 1 à 6 ans de Bandiagara.

comprend un laboratoire biomédical, une unité de production et de conditionnement de médicaments traditionnels améliorés.

- D'un centre de santé communautaire dirigé par un médecin et comprend un dispensaire, une maternité, et un dépôt de médicaments.

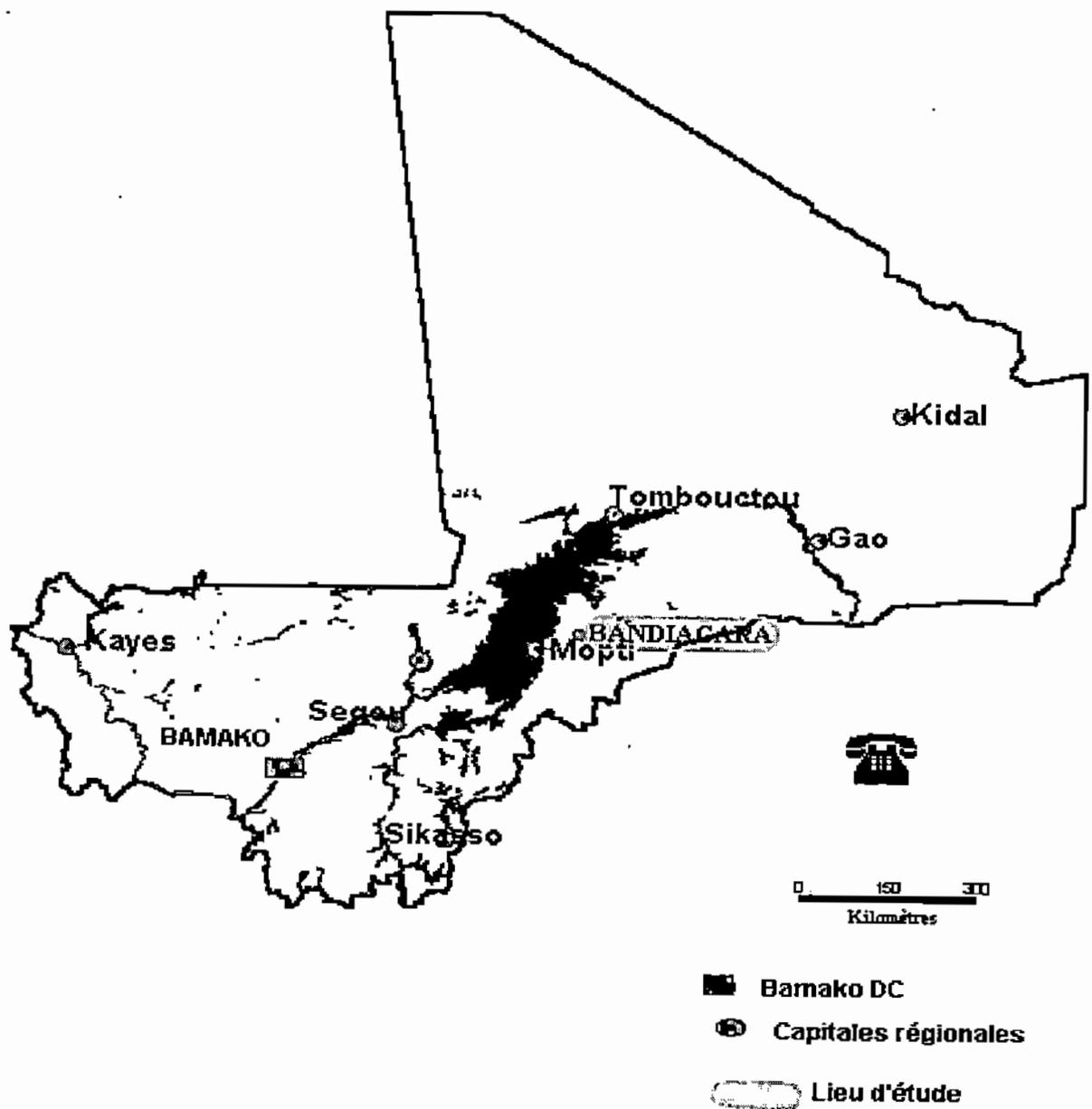
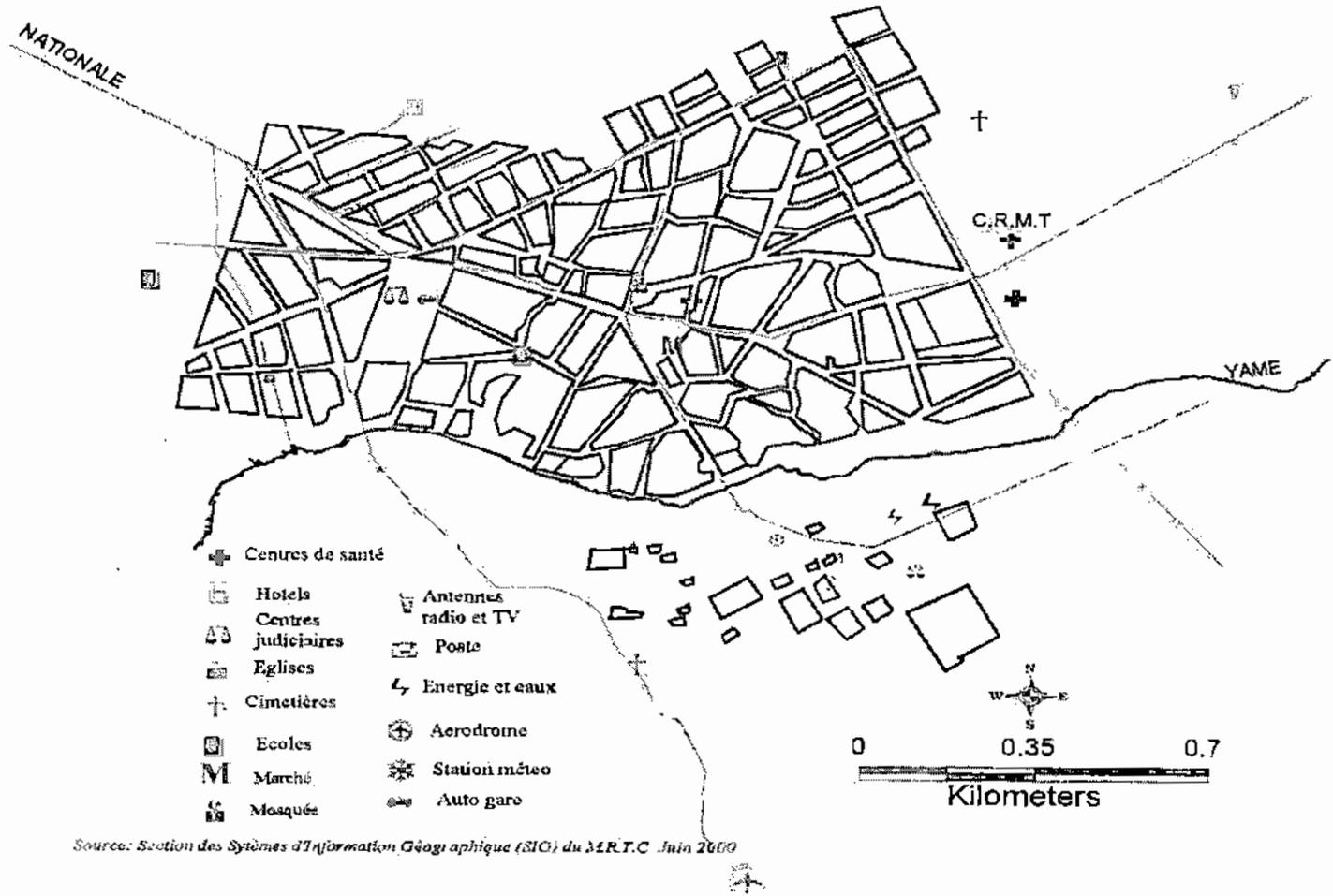


Fig. 4 : Carte du Mali avec le site d'étude Bandiagara.

Source : Section des Systèmes d'Information Géographique (SIG) du M.R.T.C. juin 2000



Source: Section des Systèmes d'Information Géographique (SIG) du M.R.T.C. Juin 2000

Fig. 5: Carte de la ville de Bandiagara : Site d'étude

Source : Section des Systèmes d'Information Géographique (SIG) du M.R.T.C. juin 2000

2- Période d'étude

Notre étude s'est déroulée d'octobre 2006 à décembre 2007.

3- Type d'étude

Nous avons effectué un essai clinique randomisé avec groupe témoin en double aveugle et un suivi longitudinal de 12 mois.

- Schéma de vaccination : les jours 0 ; 30 et 60
- Une observation clinique pendant 30 minutes post-vaccination dans une pièce séparée pour l'évaluation des réactions locales et générales.
- Puis les participants ont été revus aux jours 1, 2, 3 et 7, post-vaccination pour mesurer l'occurrence des signes et symptômes de la réactogénicité.
- Une évaluation clinique et biologique aux jours 0 ; 7 ; 30 ; 37 ; 60 ; 67 ; 90 ; 180 ; 272 ; 364.
- Une visite à domicile mensuelle après le jour 90.

4- Population d'étude : La population d'étude était composée de volontaires enfants âgés de 1 à 6 ans de Bandiagara.

5- Techniques d'échantillonnage: Après avoir lancé un appel à la radio, nous avons procédé au recrutement des volontaires. Par la suite 301 personnes ont fait l'objet d'une visite de sélection, et 100 participants répondant à tous les critères d'inclusion et ne présentant aucun des critères de non inclusion ont été inclus dans l'étude

6- Critères d'inclusion et de non-inclusion

6-1- Critère d'inclusion :

- Enfants âgés de 1 à 6 an(s), de sexe masculin ou féminin
- Résident de Bandiagara
- En bonne santé apparente

- Consentement éclairé par écrit des parents des participants avant le début de l'étude
- Disponibilité et volonté de suivre les modalités du suivi pendant 12 mois.

6-2 Critère de non-inclusion :

- Sujets vaccinés avant par un vaccin antipaludique expérimental ou un vaccin antirabique
- Usage d'autres produits expérimentaux ou de médicament/vaccin sans autorisation de mise sur le marché (AMM) dans les 30 jours précédant la première dose ; ou programmé de le faire dans les 30 jours suivant la dernière dose
- Prise chronique (durant plus de 14 jours) de médicaments immunosuppresseurs ou d'autres médicaments modifiant l'état immunitaire dans les 6 mois précédant la première dose. Cela inclut les corticoïdes par voie orale ou par inhalation mais pas les formes par voie cutanée.
- Vaccination actuelle ou programmée d'un autre vaccin non prévu dans ce protocole dans les 30 jours avant la première dose, à l'exception du vaccin antitétanique.
- Vaccination antérieure avec un vaccin tel le RTS,S, contenant le MPL et/ou le QS21
- Etat suspecté ou confirmé d'immunodéficience ou d'immunosuppression, y compris l'immunodéficience à VIH
- Maladie auto-immune suspectée ou confirmée
- Antécédent d'allergie (y compris une anaphylaxie) à un vaccin quelconque
- Antécédent de réaction allergique grave à une substance quelconque ayant nécessité une hospitalisation ou des soins médicaux d'urgence
- Allergie connue à la tétracycline, la doxycycline ou à la néomycine

- Antécédent de splénectomie
- Titre sérique ALAT \geq 49,6U/L
- Créatinine sérique \geq 44,2 μ mol/L
- Hb $<$ 9,0g/dL
- Leucocytes $<$ 5 300/mm³ ou $>$ 15 300/mm³
- Lymphocytes totaux \leq 2 300/ μ l
- Thrombocytes $<$ 133 000/ μ l
- Protéinurie ($>$ traces) ; hématurie ($>$ traces) ou présence de sucre dans l'urine
- Administration d'immunoglobulines et/ou de sang/produits dérivés du sang dans les trois mois précédents ou programmés de l'administrer durant l'étude.
- Participation simultanée à un autre essai thérapeutique
- Signes cliniques de maladie aiguë ou chronique respiratoire, cardiovasculaire, gastro-intestinale, hépatique ou génito-urinaire ; ou toute autre condition clinique qui pourrait, selon l'opinion du chercheur principal, constituer un risque pour le participant s'il participait à l'étude
- Autres circonstances qui, de l'avis du chercheur principal, porteraient atteinte à la sécurité ou aux droits du participant ou qui rendraient le participant incapable d'adhérer aux schémas de suivi de l'étude.

7- Organisation pratique du travail :

Une campagne d'information et de sensibilisation a été faite auprès de la population quelques semaines avant la première vaccination. Elle a consisté en une rencontre avec le chef du village, les chefs de quartiers, les autorités politiques et administratives et d'autres personnalités de la ville de Bandiagara. La rencontre avait pour but d'expliquer le protocole et à obtenir la permission au niveau communautaire.

Un consentement éclairé individuel écrit de tous les volontaires a été obtenu après une explication plus détaillée du protocole à chaque volontaire.

Le travail était organisé de la manière suivante :

- **Poste d'identification :** Ce poste était composé d'un investigateur et de quatre guides. Le travail consistait à identifier chaque participant à travers la carte qui porte son numéro d'étude, sa photo d'identité, son nom et prénom. Après cette vérification de l'identité, le volontaire était dirigé, vers la salle d'administration de consentement lors du dépistage, et vers les postes cliniques au cours de l'étude.

- **Poste d'administration du consentement :** Ce poste était composé d'un investigateur et un témoin de la localité capable d'interpréter le protocole dans la langue parlée par le participant. Le participant était autorisé à partir avec la fiche de consentement pour pouvoir lire et bien comprendre avant de le signer.

- **Poste clinique :** composé de trois médecins et d'un étudiant en médecine en année de thèse, 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.

- **Poste de prélèvement :** constitué de deux biologistes et de deux docteurs en pharmacie, dont l'un s'occupait de l'étiquetage des tubes SST et EDTA sur lesquelles étaient inscrits : la date et l'heure du prélèvement, le numéro d'identification du participant et les initiales du technicien. L'autre biologiste était chargé du prélèvement du sang veineux dans un tube SST et un tube EDTA. Les prélèvements étaient chargés sur un portoir approprié puis transportés dans la salle

d'analyse clinique dans un panier réservé à cet effet. Un échantillon d'urine était collecté pour chaque volontaire pour l'appréciation de l'hématurie et de la protéinurie.

La centrifugation, les tests hématologiques et biochimiques ont été effectués dans la salle d'analyse clinique du BMP. Le participant était ensuite orienté vers la salle de vaccination.

- **Poste de vaccination:** Constitué de quatre médecins repartis dans deux petites salles réservées à cet effet et de deux pharmaciens chargés de la préparation des vaccins dans une autre salle séparée, communiquant avec les premières par deux petites fenêtres coulissantes. Le premier participant vacciné a reçu le numéro de randomisation FMP2.1-001, la randomisation a été faite selon l'ordre de présentation des participants.

Après une vérification supplémentaire de l'identité du participant, il a reçu une dose de vaccin par injection IM dans le muscle deltoïde gauche.

- **Salle d'observation clinique poste vaccinale :** Après chaque vaccination le participant a été observé pendant 60 minutes dans une pièce séparée pour l'évaluation des réactions locales et générales. Les signes et symptômes sollicités ont été recherchés et reportés sur les documents sources.

- **Salle de réanimation :** Tenue par un médecin anesthésiste réanimateur, équipée de deux lits d'hospitalisation, deux bombes d'oxygène de capacité (7.5m³), un lot de matériels et produits de réanimation.

Une ambulance suffisamment équipée était réservée pour référer immédiatement d'éventuel cas d'événements indésirables graves vers un centre spécialisé.

Un coordinateur clinique était chargé de suivre le déroulement normal de toutes les activités.

8- Technique d'étude et variables mesurées.

8-1- Evaluation clinique.

8-1-1-Matériels : Thermomètre électronique, mètre ruban, brassard, stéthoscope, otoscope-ophtalmoscope, marteau à réflexe, balance pèse-personne, table d'examen, lits d'hospitalisation, kit de réanimation, aspirateur, lot de médicaments, oxygène.

8-1-2-Procédure : Les participants ont fait l'objet d'un examen clinique complet. L'anamnèse était orientée sur la mise en évidence d'antécédent d'infections récurrentes suggérant une dépression immunitaire, une splénectomie ou une réaction à un vaccin quelconque. Nous avons procédé à un examen clinique tous les jours de procédure de vaccination. Une évaluation des signes vitaux était faite au cours de l'examen physique il s'agit de :

-la température orale (la fièvre a été définie par une température orale supérieure ou égale à 37,5°C)

-le poids corporel, le pouls, la tension artérielle, la fréquence respiratoire.

Aux jours d'administration du vaccin, l'examen clinique a été fait avant et après la vaccination.

8-2- Technique de laboratoire : Tout le personnel du laboratoire a été formé aux principes de Bonnes Pratiques Cliniques appliquées au Laboratoire.

8-2-1-Prélèvement de sang : Le prélèvement de sang a été effectué au dépistage et aux Jours 0, 7, 30, 37, 60 et aux Jours 67, 90 et tous les trois mois par la suite.

Tous les participants ont été soumis au prélèvement du sang veineux au pli du coude. Tous les prélèvements ont été enregistrés sur une fiche de collecte de sang, les informations relevées étaient : la date et l'heure du prélèvement le numéro d'identification du volontaire et les initiales du technicien.

Chaque participant a fait l'objet d'un prélèvement de sang pour la recherche au moins 11 fois durant l'étude FMP2.1, la quantité totale de sang prélevée pour les besoins de la recherche étant égale à 55-110 ml par participant. Une quantité supplémentaire de sang a été prélevée au besoin pour la prise en charge d'une maladie ou d'une circonstance particulière, quand les médecins l'ont jugé nécessaire.

La durée de transport des échantillons entre la salle de prélèvement et la salle d'analyse ne dépasse pas une minute.

8-2-2- Réception des prélèvements : Tous les échantillons étaient enregistrés à leur réception sur la fiche de réception d'échantillon. Les données à enregistrer sont : le numéro d'étude du volontaire, la date et l'heure du prélèvement et 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 au plus 4 heures pour les tubes SST et le même jour pour les tubes EDTA.
- Volume du prélèvement suffisant : tubes remplis au 2/3.
- Les échantillons hémolysés (tubes SST) ou présentant des caillots (tubes EDTA) ont été rejetés.
- Toutes les insuffisances ont fait l'objet d'une documentation sur la feuille de réception et la feuille de rejet.

8-2-3- L'hémogramme

L'hémogramme a été réalisé sur le système Coulter Act*-Diff, qui compte et mesure avec précision la taille des cellules. L'analyse des échantillons a été faite sur un prélèvement veineux collecté dans les 24 heures sur l'EDTA.

8-2-4- Les tests biochimiques : La détermination des valeurs de la créatinine et l'ALAT sérique a été réalisée sur le Reflotron Plus® de ROCHE. Le principe est basé sur la lecture magnétique par le Reflotron® d'une bandelette réactive imprégnée de sérum.

8-2-5 Test immunologique : Le niveau des anticorps anti AMA1 dans le sérum des volontaires a été mesuré par la technique ELISA.

9- Considérations éthiques et mesures pour optimiser le ratio bénéfiques/risques

Au tout début de l'étude nous avons rendu des visites de courtoisie aux différentes autorités (sanitaire, municipale, tradithérapeutes, chefs de quartier, notables).

Au cours de ces visites nous avons donné des explications détaillées sur l'étude et nous avons répondu aux questions. Nous avons obtenu le consentement communautaire et le consentement éclairé individuel de tous les participants, toutes les dispositions ont été prises pour garantir la confidentialité. En plus nous avons obtenu l'approbation des comités d'éthique de l'université de Baltimore Maryland, de la FMPOS, du NIAID et du Walter Reed.

Cette étude a été conduite sous la surveillance d'un Moniteur Médical Local (MM) et d'un Comité de Suivi des Données de la Tolérance du vaccin (CSDT ou Data Safety Monitoring Board-DSMB en anglais). Ces mécanismes avaient pour but d'augmenter la protection des participants et de minimiser les risques.

Le MM, et le DSMB avaient tous le pouvoir de suspendre toute ou une partie de l'étude si un problème grave de tolérance au vaccin survenait en attendant une discussion sur les aspects de tolérance du vaccin. Dans l'éventualité d'une suspension dans la conduite de l'étude, le DSMB analysait les données de l'étude et faisait une recommandation aux promoteurs de continuer l'étude ou de l'arrêter définitivement.

Toutes les pathologies découvertes lors du dépistage ont été entièrement prises en charge par notre équipe.

Les participants ont bénéficié d'un suivi médical gratuit durant 12 mois au centre de recherche BMP à Bandiagara. Toute affection diagnostiquée était traitée à nos frais et conformément aux normes et procédures de prise en charge des maladies en vigueur au Mali.

Pour le temps consacré à l'étude les participants ont reçu une compensation de 100kg de riz donnés en deux tranches égales : une tranche après la première vaccination et le reste à la fin de l'étude.

Pour les cas de paludisme, la prise en charge a été assurée conformément aux directives du Programme National de Lutte contre le Paludisme, avec les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine pendant 3 jours.

Des rapports sur les paramètres de tolérance clinique et biologique ont été produits et soumis à l'appréciation du DSMB après chaque immunisation avant d'administrer la dose suivante.

10- Collecte, saisie, analyse des données:

Les données étaient récoltées sur des documents sources. Les dossiers et les échantillons de produits biologiques des participants ne portaient pas leur nom. Un numéro d'étude et un numéro de randomisation avaient été attribués à tous les participants. Les documents sources étaient gardés dans des armoires métalliques fermées à clé.

Une série de monitoring interne et externe (USAMDA, PPD) avait été instaurée pour une meilleure qualité des données.

La saisie des données a été faite dans une base de données en ligne, conçue dans le cadre d'une coopération internationale, par une équipe de statisticiens de la société EMMES, basée aux USA. L'analyse des données a été effectuée selon un plan d'analyse approuvé par les investigateurs avant la levée de l'aveugle de l'essai.

Les paramètres de tendance centrale (moyenne) et de dispersion (écart-type) ont été calculés pour les variables. Les proportions ont été comparées en utilisant le test du χ^2 . Les moyennes ont été comparées en utilisant le t-test de Student. Dans l'interprétation des résultats le seuil de signification a été fixé à 0,05.

Définitions opérationnelles

1-Evènement indésirable (EI) :

Un évènement indésirable est défini comme tout évènement malencontreux survenu chez un participant temporairement en relation avec l'étude, même s'il n'y a pas nécessairement une relation de cause à effet. Par conséquent, un EI peut être un signe défavorable et non intentionnel (un résultat erroné du laboratoire), une maladie ou un symptôme temporairement associé aux procédures de l'étude, qu'il y ait oui ou non une relation de cause à effet. Tous les évènements indésirables doivent être classés selon leur gravité et selon leur lien avec l'étude.

2-Evènement indésirable grave (EIG) :

Un EIG est un évènement indésirable en relation oui ou non avec l'étude, rencontrant l'une des conditions suivantes :

- **Décès au cours de l'étude,**
- **Menace de mort :** elle est définie comme un évènement qui expose le sujet à un risque immédiat de mort et ne s'applique pas à un évènement qui de façon hypothétique pourrait causer la mort s'il était plus sévère.

- **Hospitalisation au cours de l'étude** : elle est définie comme étant un séjour d'au moins une journée à l'hôpital ou en salle d'urgence pour des soins qui ne pourraient être administrés en ambulatoire. Une hospitalisation pour une intervention chirurgicale programmée sans aggravation de la condition clinique depuis le début de l'étude ou une hospitalisation pour des procédures cliniques de routine ne résultant pas d'un EI, ne sera pas considérée comme un EIG.

- **Anomalies congénitales** : se rapporte à une anomalie congénitale observée dans la descendance du participant

- **Invalidité ou incapacité** : définie comme étant une perturbation importante des facultés du participant l'empêchant de mener des activités ordinaires.

D'autres problèmes médicaux importants qui ne peuvent pas conduire à la mort, tels que la menace de mort ou une hospitalisation recommandée seront considérés comme événements indésirables si la vie du sujet est en danger nécessitant une intervention chirurgicale ou médicale pour prévenir la survenue de l'un de ces événements.

3-Événements indésirables sollicités : Ce sont des EI recherchés (sollicités) systématiquement qui servent comme critère de jugement de la tolérance du vaccin :

Évènement indésirable local sollicité : douleur au site d'injection, œdème au site d'injection, rougeur, limitation du mouvement d'abduction de l'épaule.

Évènement indésirable systémique sollicité : Fièvre (température orale $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$), Irritation/Agitation, Somnolence, Perte d'appétit, Vomissement.

4-Effets secondaires non sollicités :

Tableau 1 : Graduation du degré de toxicité pour les paramètres hématologiques

Hématologie	Intervalle de référence	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4(EIG)
Taux Hb	7.4-12.4	7.5-8.4	6.1-7.4	5.0-6.1	<5g/dl
Plaquettes	75000- 133000/mm ³	75000- 132999/mm ³	50000- 74999/mm ³	20000- 49999/mm ³	<20000mm ³
Globules Blancs	5300- 15300/mm ³	16500-mm ³ ou 3501- 5299/ mm ³	18000/mm ³ ou 2001-3500/ mm ³	30000/mm ³ ou 1000 2000/ mm ³	<30000/mm ³ ou <1000/ mm ³
Lymphocytes	2300-9500/ mm ³	1000-2300/ mm ³	750-999/ mm ³	500-749/ mm ³	<500/ mm ³

Tableau 2 : Graduation des paramètres de la chimie du sang

Chimie du sang	Intervalle de référence	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4(EIG)
Créatinine	15.2- 44.2µmol/L	44.2- 91.5µmol/L	91.6- 183µmol/L	183.1- 366µmol/L	<366µmol/L ou dialyse
ALAT	3.9-49.6 U/L	49.6-124 U/L	124.1-248 U/L	248.1-496 U/L	<496 U/L

Tableau 4 : Graduation des paramètres de la chimie de l'urine

Chimie de l'urine	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4(EIG)
Protéinurie	2+ ou 500mg-1g/jour	3+ ou 1-2g/jour	4+ ou 2-3.5g/jour	Syndrome néphrotique ou <3.5g/jour
Hématurie	2+ ou 5-10GR/champ	3+ ou <10GR/champ	Macroscopique avec ou sans caillot Ou émission de GR	Hospitalisation Recommandée

DSMB : Data Safety and Monitoring Board ou Comité de Suivi des Données de la Tolérance : Le rôle du CSDT-DSMB consiste à assurer une surveillance de la tolérance du produit pendant l'essai.

5-Définition du cas de paludisme clinique non compliqué : pour la décision du traitement le paludisme a été défini comme n'importe quel niveau de parasitémie accompagnée de signe ou symptômes de paludisme ayant motivé une consultation ou rapporté au cours des visites régulières. Ces signes et symptômes sont : la fièvre le vomissement, la douleur abdominale, diarrhée et céphalée.

VI- RESULTATS :

A. Profil de l'étude

1. Résultats du dépistage

Au total 301 participants ont fait l'objet des procédures de sélection parmi ceux-ci 100 ont été inclus dans l'essai. Chaque participant a reçu 3 doses de vaccin. Le taux de suivi a été de 98%.

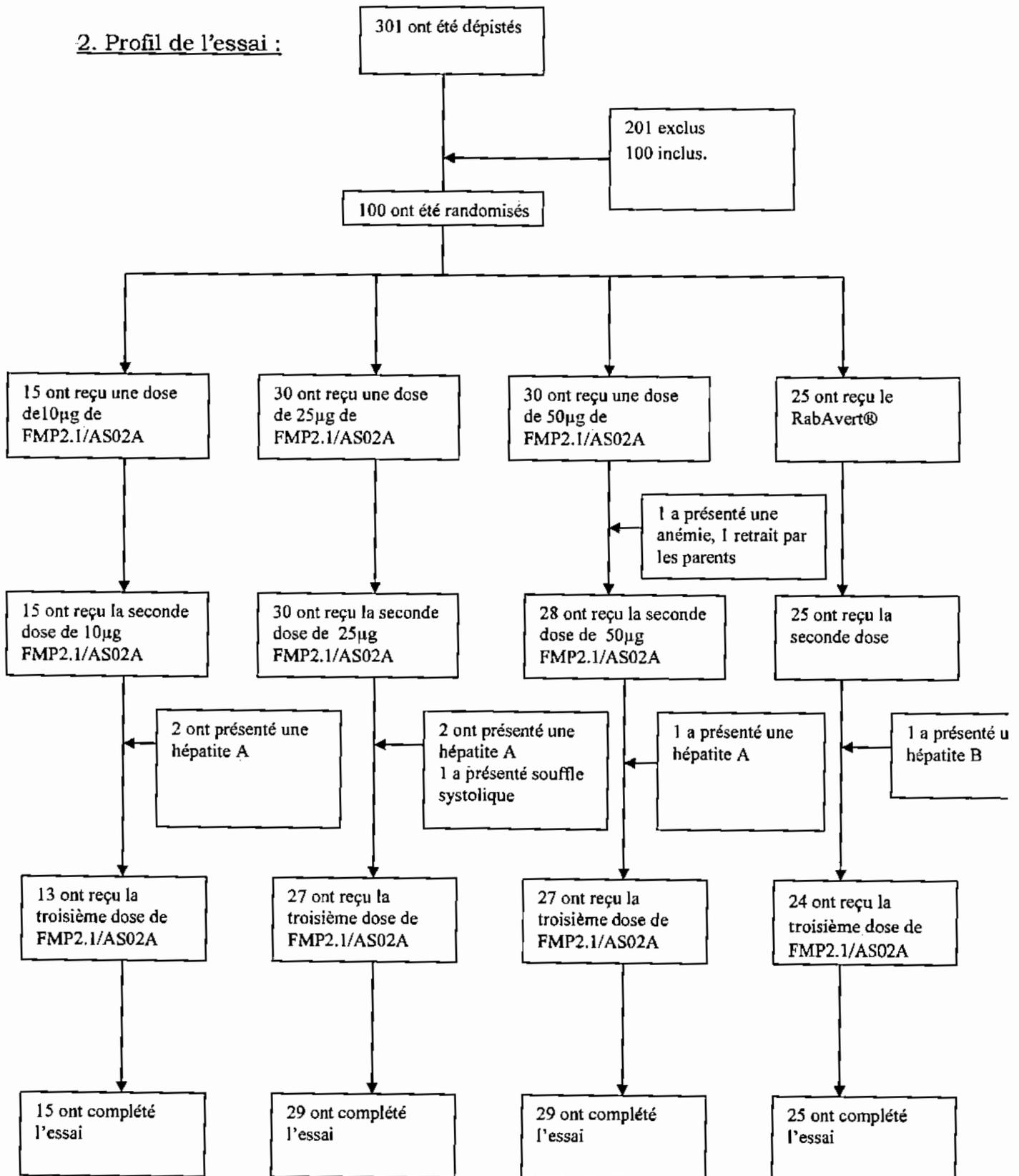
Les raisons de non inclusion sont dans le tableau I qui nous montre qu'au total 201 participants (66,77%) présentaient au moins un critère clinique ou biologique de non-inclusion.

Dans le groupe des non inclusions 13,95% de non-inclusions étaient attribués à l'anémie et aucun des participants au dépistage ne présentaient une anomalie rénale.

Tableau I : répartition des volontaires au dépistage selon les pathologies diagnostiquées

	Fréquence	Pourcentage
Non-inclusion	201	66,78
Anémie	42	13,95
Autres pathologies infectieuses	25	8,31
Infection pulmonaire	19	6,31
Schistosomiase	9	2,99
Accès palustre	7	2,33
Malnutrition	3	0,99
ALAT élevé	3	0,99
Thrombopénie	1	0,33
Autres	92	30,56
Absence de pathologie notable	100	33,22
Total	301	100,0

2. Profil de l'essai :



Les groupes étaient constitués de 25 sujets pour le vaccin anti rabique et de 15, 30, 30, pour le candidat vaccin anti palustre respectivement de 10, 25, 50µg. Chaque volontaire a reçu la première dose de vaccin.

Au moment de la deuxième dose il y avait deux volontaires du groupe de FMP2.1 50µg qui n'ont pas reçu de dose. Au moment de la troisième dose il y avait deux volontaires du groupe de FMP2.1 25µg, un volontaire du groupe de FMP2.1 50µg et deux volontaires du groupe de vaccin anti rabique qui n'ont pas reçu de dose de vaccin.

98% des sujets ont été suivis jusqu'au J364.

B. Caractéristiques sociodémographiques par groupe de traitement

Au total 51% était de sexe masculin et 49% des volontaires étaient de sexe féminin. La répartition par sexe était comparable entre les groupes (p=0,54).

Tableau II : Répartition des volontaires par sexe en fonction des groupes de traitement

Sexe	Vaccin anti-Rabique N=25(%)	FMP2.1/AS02A Dose de 10µg N=15(%)	FMP2.1/AS02A Dose de 25µg N=30(%)	FMP2.1/AS02A Dose de 50µg N=30(%)	Total N=100 (%)
Masculin	10 (40)	8 (53.3)	15 (50)	18 (60)	51 (51)
Féminin	15 (60)	7 (46.7)	15 (50)	12 (40)	49 (49)
Total	25 (100)	15 (100)	30 (100)	30 (100)	100(100)

Les âges des volontaires variaient de 1.03 à 6.95 ans avec une moyenne de 3.9 ans et écart type de 3.9 ; la moyenne des âges n'était pas différente entre les groupes ($p=0.80$)

Tableau III : Répartition des volontaires selon l'âge en fonction des groupes de traitement

Age Stratum	Vaccin anti- Rabique (N=25)%	FMP2.1/AS02A Dose de 10µg (N=15)%	FMP2.1/AS02A Dose de 25µg (N=30)%	FMP2.1/AS02A Dose de 50µg (N=30)%	Total
1-2	11 (44,0)	5 (33,3)	10 (33,3)	9 (30,0)	35(35)
3-4	7 (33,0)	4 (26,7)	10 (33,3)	11 (36,7)	32(32)
5-6	7 (33,0)	6 (40,0)	10 (33,3)	10 (33,3)	33(33)
Total	25 (100)	15 (100)	30 (100)	30 (100)	100(100)

Au total nous avons 92% de Dogon et 8% regroupant les Peulhs, les Malinkés et les Bambaras. Les 4 groupes étaient comparables quant à la répartition des ethnies ($p=0,30$).

Tableau IV : Répartition des volontaires par ethnie en fonction des groupes de traitement

Ethnie	Vaccin antirabique N=25(%)	FMP2.1/AS02A Dose de 10µg N=15(%)	FMP2.1/AS02A Dose de 25µg N=30(%)	FMP2.1/AS02A Dose de 50µg N=30(%)	Total
Dogon	25(100)	13(86,4)	27(90)	27(90)	92(92)
Autres	0(0)	2(13,3)	3(10)	3(10)	8(8)
Total	25	15	30	30	100

C. Résultats cliniques :

Des événements aduers locaux sollicités pendant les 8 jours après chaque vaccination en fonction des groupes de traitement :

Selon le tableau V après chaque vaccination, nous avons cherché le maximum de la sévérité des réactions locales au site d'injection pendant les 8 jours suivant la période de vaccination.

Après la première vaccination, tous les cas d'œdème présenté, étaient sévères. Il y avait trois cas de douleurs sévères dans le groupe de FMP2.1/AS02A. Les œdèmes sévères étaient toujours présents après la deuxième et troisième vaccination et la fréquence était similaire dans les groupes de traitement.

Tous les signes des réactions locales sollicités pendant les 8 jours de la période de vaccination se sont résolus sans séquelle.

Tableau V : Evénements aduers locaux sollicités pendant les 8 jours après la vaccination en fonction des groupes de traitement.

Reaction locale	Immunsation1		Immunsation2				Immunsation3		At		
	FMP2.1/AS02A (n=75)	Anti-rabique (n=25)	FMP2.1/AS02A (n=75)	Anti-rabique (n=25)	FMP2.1/AS02A (n=75)	Anti-rabique (n=25)	N	S			
	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	
Douleur	43	3	2	0	42	0	4	0	29	0	1
œdème	48	46	6	6	51	51	4	4	49	48	3
Erythème	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0

N=nombre de cas, S=nombre cas sévère.

Ce tableau montre le maximum de la sévérité des réactions locales au site d'injection sous différentes doses de FMP2.1/AS02A, et nous pouvons voir qu'il n'y a pas de différence entre les groupes.

Tableau VI : Evénements adverses locaux sollicités pendant les 8 jours après la vaccination en fonction des doses de FMP2.1/AS02A.

Reaction locale	Immunsation 1			Immunsation 2			Immunsation 3											
	FMP2.1/AS02A			FMP2.1/AS02A			FMP2.1/AS02A											
	10µg		25µg		50µg		10µg		25µg		50µg		10µg		25µg		50µg	
	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S
Douleur	8	0	19	2	16	1	7	0	15	0	20	0	3	0	10	0	16	0
œdème	11	11	11	10	26	25	7	7	22	22	22	22	10	9	16	16	23	16
Erythème	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Total	19	11	30	12	42	26	14	7	37	22	42	22	13	9	26	16	40	16

N=nombre de cas, S=nombre cas sévère.

Le tableau VII nous montre qu'au total il y a eu 46 cas d'événements aduerses systémiques dont 40 cas de fièvre, 4 cas de perte d'appétit, 0 cas de somnolence, 2 cas de vomissement et 0 cas d'irritabilité.

Les 4 groupes de traitement étaient comparables quant à la survenue des événements indésirables systémiques non liés à la vaccination ($p > 0,05$).

Tableaux VII : Des événements systémiques sollicités liés à la vaccination par groupe de traitement.

Evénements systémiques	Vaccin antirabique (N) %	FMP2.1/AS02A 10µg (N) %	FMP2.1/AS02A 25µg (N)%	FMP2.1/AS02A 50µg (N)%	Total
Fièvre	4	3	17	16	40
Perte de l'appétit	0	3	0	1	4
Somnolence	0	0	0	0	0
Vomissement	0	2	0	0	2
Irritabilité	0	0	0	0	0
Total	4	8	17	17	46

Le tableau VIII nous montre que 100% des participants ont présenté au moins un événement adverse sollicité dans les groupes de 25 et 50µg, 93,3% et 64% des participants ont présenté au moins un événement adverse sollicité respectivement dans le groupe de 10µg et de vaccin antirabique.

Tableau VIII : Les événements adverses sollicités: Incidence global des événements adverses locaux et systémiques

		Groupes d'étude				
		FMP2.1/AS02A 10µg N (%)	FMP2.1/AS02A 25µg N(%)	FMP2.1/AS02A 50µg N(%)	Vaccin antirabique N (%)	Tous les groupes N=100(%)
Systémique	Somnolence	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
	Irritabilité	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
	Perte d'appétit	3 (20,0%)	0 (0,0%)	1 (3,3%)	0 (0,0%)	4 (4,0%)
	Vomissement	2 (13,3%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (2,0%)
	Fièvre	3 (20,0%)	17 (56,7%)	16 (53,3%)	4 (16,0%)	40 (40,0%)
Local	douleur au site	11 (73,3%)	27 (90,0%)	27 (90,0%)	6 (24,0%)	71 (71,0%)
	Cedème au site	13 (86,7%)	28 (93,3%)	30 (100,0%)	11 (44,0%)	82 (82,0%)
	Erythème au site	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (3,3%)	0 (0,0%)	1 (1%)
Total	Toutes les locales	14 (93,3%)	30 (100%)	30 (100%)	15 (60%)	89 (89%)
	Toutes les systémiques	4 (26,7%)	17 (56,7%)	17 (56,7%)	4 (16%)	42 (42%)
	Tous les symptômes	14 (93,3%)	30 (100%)	30 (100%)	16 (64%)	90 (90%)

Le tableau IX montre qu'au total il y avait 1065 événements systémiques non liés à la vaccination dont 578 cas d'infection respiratoire, 139 cas d'infection digestive, 115 cas d'infection cutanée 91 cas de paludisme et le reste (114 cas) était partagé entre les autres événements systémiques précisés ci-dessous.

Tableau IX : Evènements indésirables systémiques non liés à la vaccination par groupe de traitement.

Evènements systémiques	Vaccin antirabique N (%)	FMP2.1/AS02A 10µg N (%)	FMP2.1/AS02A 25µg N(%)	FMP2.1/AS02A 50µg N(%)	Total
Infections respiratoires	179(30,96)	102(17,6)	156(26,98)	141(24,4)	578
Conjonctivite	4(14,3)	10(35,7)	5(17,9)	9(32,1)	28
Infections cutanées	27(23,5)	21(18,26)	35(30,4)	32(27,9)	115
Accès palustre	22(24,17)	18(19,8)	22(24,17)	29(31,9)	91
Gastro-intestinales	31(22,3)	22(15,8)	55(39,6)	31(22,3)	139
Autres*	20(17,5)	21(18,4)	49(42,98)	24(21,1)	114
Total	283(26,5)	194(18,2)	322(30,23)	266(24,97)	1065

Autre : Epistaxis, fièvre, souffle systolique, fracture, oreillon, hyperleucocytose, hépatite, inflammation, infection urinaire, fièvre typhoïde.

Le tableau X montre que 61 participants avaient fait au moins un accès palustre pendant la période d'étude, 39 personnes n'avaient pas fait d'accès palustre.

La proportion de participants ayant fait au moins un accès palustre était de 62.66% dans le groupe FMP2.1/AS02A contre 56% dans le groupe vaccin antirabique.

La différence n'était pas statistiquement significatif $p < 0,05$.

Tableau X: Distribution de la proportion de participants ayant fait au moins un accès palustre selon le groupe de traitement.

	Vaccin antirabique	FMP2.1/AS02A 10µg	FMP2.1/AS02A 25µg	FMP2.1/AS02A 50µg	Total
Accès palustres +	15	10	16	21	61
Accès palustres -	10	5	14	9	39
Incidence (%)	56	66	53	70	61
Total	25	15	30	30	100

Dans le tableau XI, nous constatons que 37% des sujets du groupe FMP2.1/AS02A n'avaient pas d'accès palustre contre 40% dans le groupe RabAvert®.

Le nombre moyen des accès palustres était de 0,62 dans le groupe FMP2.1/AS02A contre 0,60 dans le groupe RabAvert®, la différence n'est pas statistiquement significative.

Tableau XI: Distribution de l'effectif selon le nombre d'accès palustre par groupe de traitement.

Nombre d'accès palustre par personne	FMP2.1/AS02A N=75 (%)	Vaccin antirabique N=25 (%)	Total
0 accès	28 (37, 3)	10 (40, 0)	38
>=1 accès	47 (62, 6)	15 (60, 0)	62

D. Résultats biologiques :

1. Etudes des paramètres de l'hémogramme :

Le nombre moyen de globules blancs était conforme aux normes établies dans notre site d'étude selon les tableaux XII et XIII.

Intervalle de référence :

- 5,3 - 15,3x10³/mm³

Tableau XII : Distribution des valeurs des globules blancs avant et après immunisation pour le groupe RabAvert® WBC (×10³/ μL)

RabAvert®	J0	J7	J30	J37	J60	J67	J90
Moyenne	9,62	9,21	9,25	9,56	8,65	8,57	7,94
Ecart type	3,02	3,14	3,65	3,80	2,89	2,06	2,56
Minima	5,10	4,70	4,20	5,40	4,60	5,10	3,00
Maxima	17,60	17,10	22,60	23,10	15,90	11,10	16,40

Tableau XIII : Distribution des valeurs des globules blancs avant et après les immunisations pour le groupe FMP2.1/AS02A

FMP2.1/AS02A	J0	J7	J30	J37	J60	J67	J90
Moyenne	9,23	8,68	8,81	9,57	8,66	9,08	8,67
Ecart type	2,67	2,42	2,33	3,54	2,62	2,40	2,81
Minima	5,2	5	5,5	5,3	5	5,1	3,8
Maxima	17,7	18,8	16,7	30,3	16,8	15,4	8,5

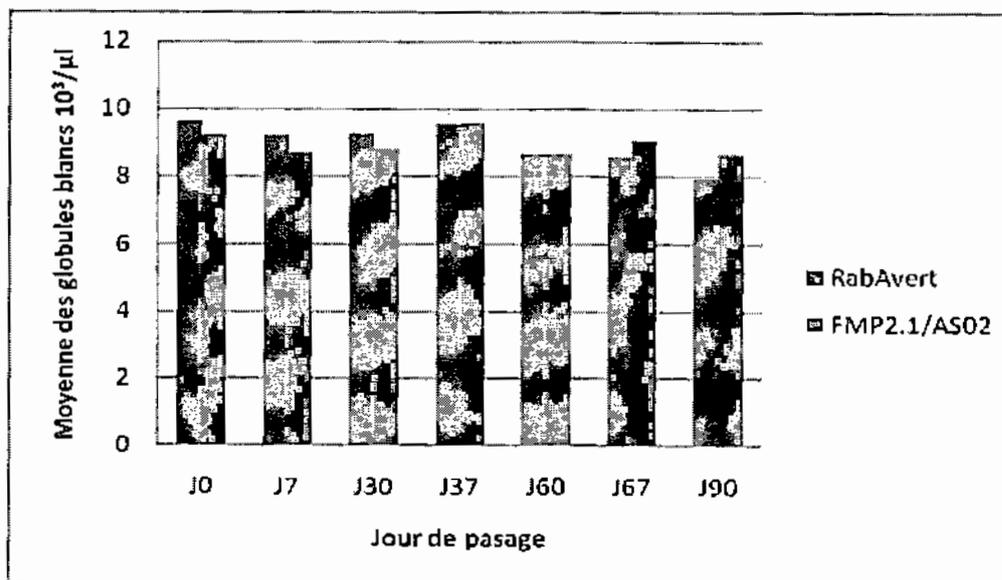


Figure 6 : Distribution moyenne de globules blancs par passage et par groupe de vaccin.

La figure 6 montre que la moyenne de la valeur de globules blancs, était restée similaire entre les deux groupes de vaccin (FMP2.1 toutes doses vs. vaccin antirabique).

Les tableaux (XIV-XV) nous montrent que le taux moyen d'hémoglobine était compris dans l'intervalle des valeurs référence fixées pour l'étude des normes à Bandiagara.

Intervalle de référence :

- 8,5 – 12,4 g/dl

Tableau XIV : Distribution du taux d'hémoglobine avant et après les immunisations pour le groupe RabAvert®

RabAvert®	J0	J7	J30	J37	J60	J67	J90
Moyenne	10,6	10,6	10,9	11,0	10,8	10,9	10,8
Ecart type	0,8	0,9	0,9	0,9	1,0	1,1	1,1
Minima	9,3	8,6	9,4	9,2	8,9	9,0	8,4
Maxima	12,9	12,9	12,9	12,2	12,7	12,9	12,9

Tableau XV : Distribution du taux d'hémoglobine avant et après les immunisations pour le groupe FMP2.1/AS02A.

FMP2.1/AS02A	J0	J7	J30	J37	J60	J67	J90
Moyenne	10,98	10,85	11,19	11,09	10,96	11,08	10,94
Ecart type	1,02	1,07	1,14	1,11	1,17	1,04	1
Minima	9	8,4	7	8,1	7,7	8,3	8,1
Maxima	13,8	13,6	13,5	13,9	13,8	13,2	13,3

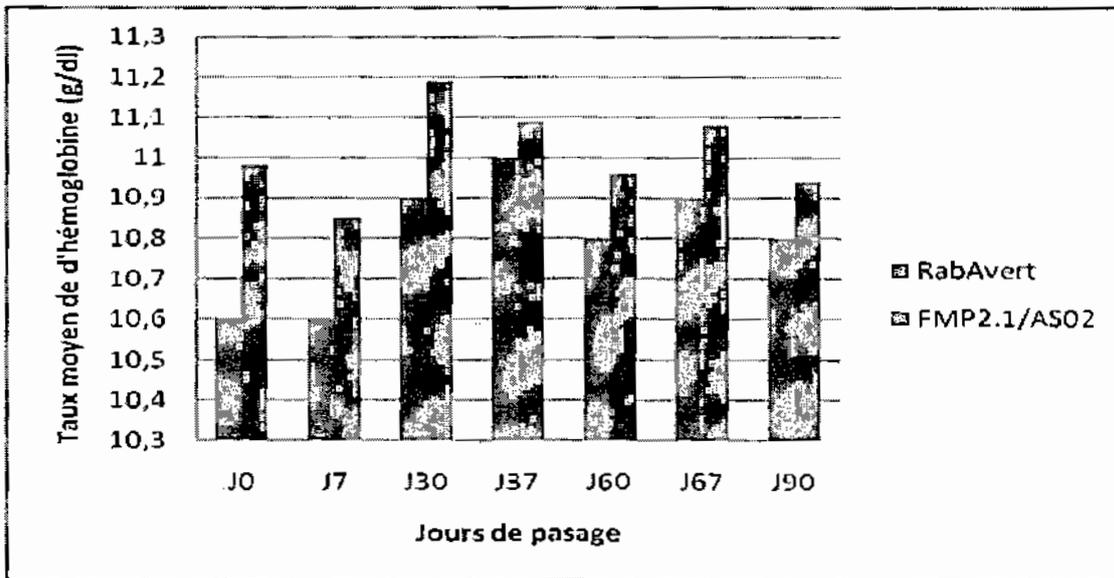


Figure 7 : Distribution du taux moyen d'hémoglobine par passage et par groupe de vaccin.

La figure 7 montre que le taux moyen d'hémoglobine, était resté comparable entre les deux groupes.

Le tableau XVI montre qu'un participant du groupe FMP2.1 10 μ g a présenté un taux d'hémoglobine à 8, 2g/dl au jour 37 de la vaccination et il a fait un accès palustre avant le jour 60 ou le taux d'hémoglobine était à 8,1. Ce taux est resté inférieur à 8,5 jusqu'au jour 67 puis est revenu dans l'intervalle de référence établi à Bandiagara

Un autre participant a présenté un taux d'hémoglobine à 8,4g/dl au jour 7 et s'est normalisé à partir du jour 60.

Deux participants du groupe de FMP2.1 25 μ g ont présenté un taux d'hémoglobine à 7,7g/dl et 8,1g/dl; dans un cas l'épisode d'anémie était lié à un accès palustre ; le taux d'hémoglobine à 7g/dl au jour 30, après un accès palustre ; ce taux est resté inférieur à 8,5g/dl jusqu'au jour 37, et s'est normalisé du jour 67 au jour 90.

Tableau XVI : Répartition des cas d'anémie par groupe de vaccin et par visite (de la vaccination J0 au J90)

Tx d'Hb (g /dl)		Nombre de participant						
		J0	J7	J30	J37	J60	J67	J90
7,0- 8,5	FMP2.1/AS02A (n)	0	1	1	2	2	1	1
	RabAvert® (n)	0	0	0	0	0	0	1
8,5-9,0	FMP2.1/AS02A (n)	0	3	0	0	2	0	1
	RabAvert® (n)	0	1	0	0	1	1	0

Figure 14.3.5.1A: Hemoglobin(g/dL) Over Time
All Age Groups

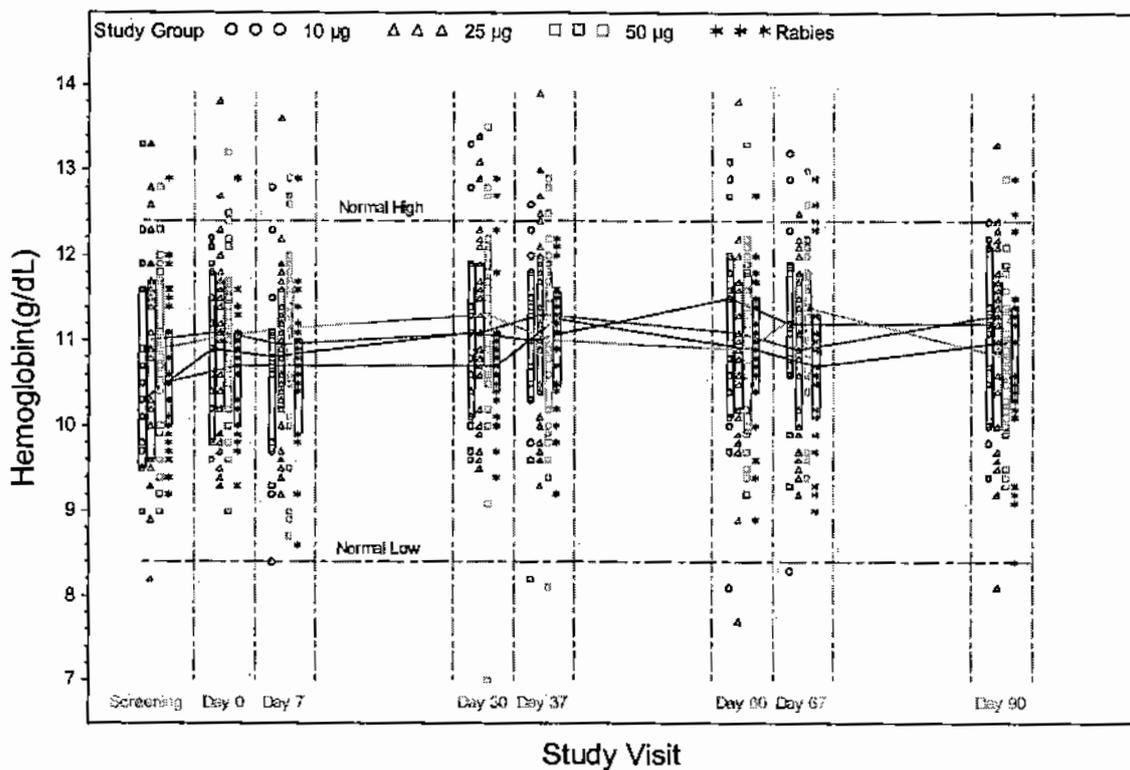


Figure 8 : La courbe de l'évolution du taux d'hémoglobine.

Les tableaux XVII et XVIII montrent que les valeurs moyennes du nombre de plaquette ont évolué dans l'intervalle de référence établi à Bandiagara.

Intervalle de référence :

- 133 - 523 .10³/mm

Tableau XVII : Distribution du taux de plaquettes avant et après les immunisations pour le groupe RabAvert®

RabAvert®	J0	J7	J30	J37	J60	J67	J90
Moyenne	423	441	402	455	402	400	392
Ecart type	132	108	114	118	110	77	107
Minima	91	118	98	282	256	294	197
Maxima	687	618	627	730	638	609	568

Tableau XVIII : Distribution du taux de plaquettes avant et après les immunisations pour le groupe FMP2.1/AS02A.

FMP2.1/AS02A	J0	J7	J30	J37	J60	J67	J90
Moyenne	422,33	446,42	422,09	425	404,45	445,16	411,78
Ecart type	146	149	150	125	138	167	159
Minima	55	149	229	143	212	167	156
Maxima	961	820	1069	799	835	1397	1121

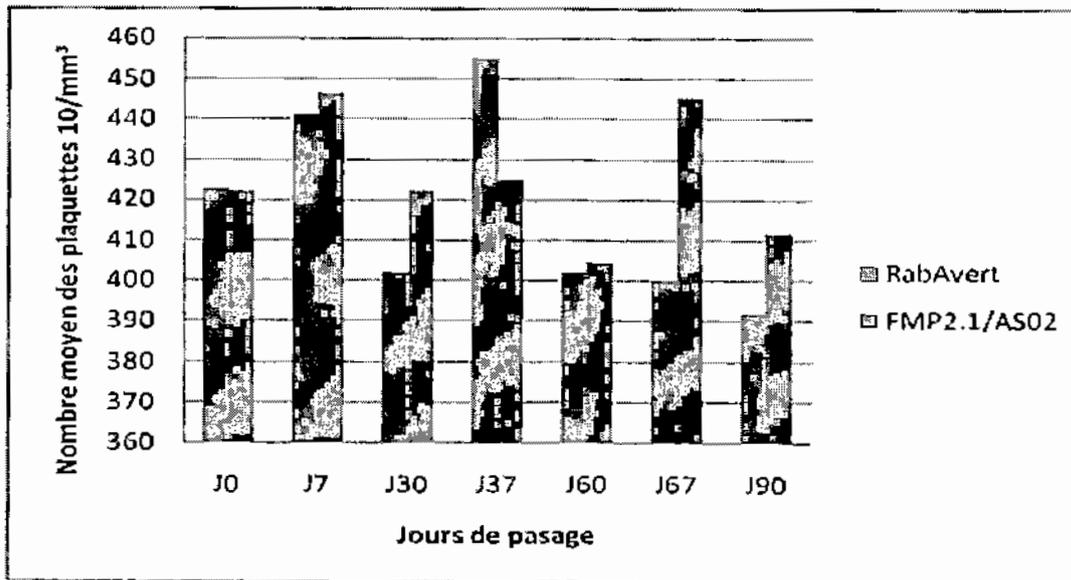


Figure 9 : Distribution du nombre moyen des plaquettes par passage et par groupe de vaccin.

La figure 9 montre que le nombre moyen des plaquettes, était resté comparable entre les deux groupes.

Les tableaux XVIII et XIX nous montrent que dans les deux groupes les nombres moyens de lymphocytes ont évolué dans l'intervalle de référence établi à Bandiagara.

Tableau XVIII : Distribution du nombre de lymphocytes avant et après les immunisations pour le groupe RabAvert®

RabAvert®	J0	J7	J30	J37	J60	J67	J90
Moyenne	5,26	4,97	5,12	5,11	4,94	4,62	4,37
Ecart type	1,96	2,05	2,62	2,77	1,95	1,59	1,66
Minima	2,30	2,40	2,20	2,20	2,50	2,50	1,60
Maxima	9,90	11,00	15,90	15,80	9,90	7,10	8,70

Tableau XIX : Distribution du nombre de lymphocytes avant et après les immunisations pour le groupe FMP2.1/AS02A.

FMP2.1/AS02A	J0	J7	J30	J37	J60	J67	J90
Moyenne	4,84	4,50	4,62	4,87	4,62	4,50	4,43
Ecart type	1,74	1,59	1,64	1,78	1,74	1,43	1,62
Minima	2,3	2,3	2,2	1,6	1,5	1,4	1,2
Maxima	9,5	11,9	10,7	12,5	8,7	7,7	8,2

Intervalle de référence :

- 2,3 – 9,5.10³ /mm³

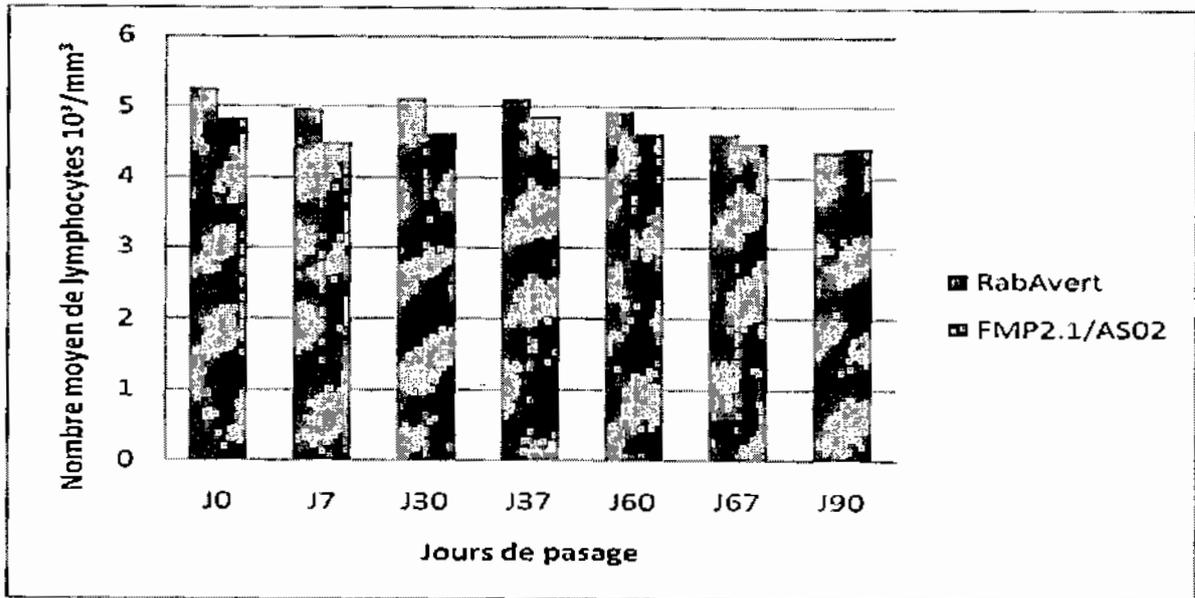


Figure 10 : Distribution du nombre moyen des lymphocytes par passage et par groupe de vaccin.

La figure 10 montre que le nombre moyen des lymphocytes, était resté comparable entre les deux groupes.

L'analyse de ce tableau nous montre qu'il n'y a pas de différence statistique significative entre les deux groupes dans la distribution des valeurs moyennes de paramètres hématologiques.

Tableau X : Tableau synthétique de la distribution de la moyenne des paramètres hématologiques.

Jours		J0	J7	J30	J37	J60	J67	J90
Hb	RabAvert®	10,6	10,6	10,9	11,0	10,8	10,9	10,8
	FMP2.1/AS02A	10,98	10,85	11,19	11,09	10,96	11,08	10,94
	p	0,12	0,11	0,18	0,82	0,55	0,37	0,64
Ht	RabAvert®	34,11	34,00	34,48	35,06	35,00	34,32	35,00
	FMP2.1/AS02A	34,51	34,03	35,25	34,88	34,71	34,89	34,59
	p	0,56	0,45	0,28	0,80	0,84	0,43	0,98
Lym	RabAvert®	5,2	4,94	5,12	5,11	4,94	4,6	4,37
	FMP2.1/AS02A	4,84	4,50	4,62	4,87	4,62	4,50	4,43
	p	0,31	0,27	0,27	0,53	0,45	0,78	0,86
Plaq	RabAvert®	423,4	440,8	402	454,5	389,8	399,8	391,5
	FMP2.1/AS02A	422,3	446,4	422,0	425	404,4	445,1	411,7
	p	0,80	0,86	0,54	0,30	0,64	0,18	0,40
WBC	RabAvert®	9,62	9,20	9,25	9,56	8,65	8,57	7,94
	FMP2.1/AS02A	9,23	8,68	8,81	9,57	8,66	9,08	8,67
	p	0,54	0,38	0,46	0,98	0,97	0,35	0,24

Hb= Hémoglobine

Ht= Hématocrite

WBC (GB) = Globules blancs

Lym= Lymphocytes

Plaq= Plaquettes

2. Résultats biochimiques :

Selon le tableau XXIII un participant du groupe FMP2.1 de 10µg a eu un taux d'ALAT de grade 2 au jour67, qui était associée à une hépatite A.

Deux participants du groupe RabAvert® ont eu un taux d'ALAT de grade 2 et grade 4 respectivement 162 IU/L et 521 IU/L, ces élévations des ALAT sont survenues au jour7 et au jour37, les deux étaient liées à l'hépatite A.

Deux participants du groupe FMP2.1 de 50µg ont eu un taux d'ALAT de grade3 dont un était associée à une hépatite B.

Trois participants du groupe FMP2.1 de 25µg ont eu respectivement un taux d'ALAT de grade 1, 2, et 3. Dans deux cas, une hépatite B a été diagnostiqué et dans le troisième cas un épisode d'hépatite A a été diagnostiqué.

Tableau XXII : Distribution des valeurs de l'ALAT par groupe d'étude.

Jours	RabAvert®				FMP2.1/AS02A			
	SD	Moyenne	Minima	Maxima	SD	Moyenne	Minima	Maxima
J0	6,92	15.44	6.00	35.00	15,07	17.92	4	116
J7	30,22	19.04	4.00	162.00	37,17	20.13	4	291
J30	7,09	15.64	8.00	40.00	11,94	16.13	4	86
J37	101,46	34.8	7.00	521.00	11,87	15.08	4	99
J60	3,25	13.64	7.00	23.00	16,11	17.04	4	115
J67	3,96	14.00	7.00	24.00	20,50	16.72	4	129
J90	12,45	15.76	7.00	24.00	60,62	22.95	4	399

Intervalle de référence :

- **3,9 - 49,6 IU/L**

Tableau XXIII : Evénements indésirables de laboratoire non liés à la vaccination par groupe de traitement (ALT).

Nombre d'épisode d'élévation du taux des ALAT	FMP2.1/AS02A			RabAvert®
	10µg	25µg	50µg	
49,7-124	0	2	0	0
124.1 - 248	1	1	0	1
248.1 - 496	0	2	2	0
>496	0	0	0	1

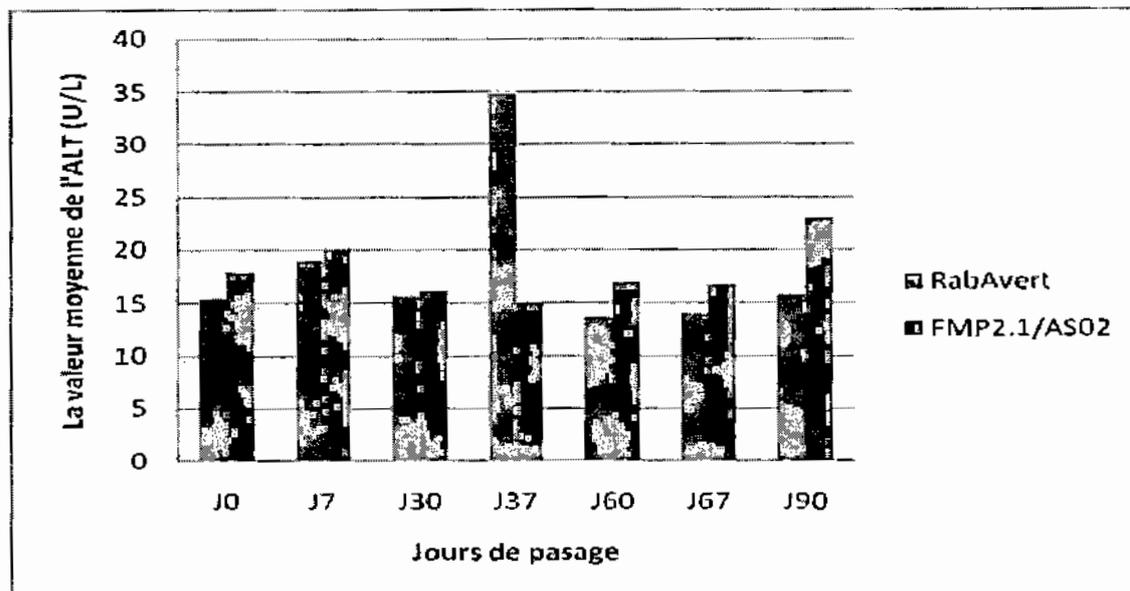


Figure 11 : Distribution de la valeur moyenne de l'ALAT par passage et par groupe de vaccin.

3. Résultats parasitologiques :

Ce tableau montre une légère élévation de la densité parasitaire moyenne du groupe vaccin anti-rabique par rapport au groupe FMP2.1, sans atteindre une signification statistique.

Tableau XXIV : Moyenne de la densité parasitaire au cours des épisodes cliniques de paludisme selon les groupes de traitement

	FMP2.1/AS02A	RabAvert®	<i>p</i>
Moyenne géométrique	10844,60	12522,63	0,27

4. Résultats immunologiques :

Les groupes étaient comparables quant à la moyenne des anticorps au jour 0. Au jour 30 la moyenne était élevée dans le groupe FMP2.1, par contre elle n'était pas élevée dans le groupe RabAvert®. Cette situation, s'est maintenue jusqu'au jour 364.

Le niveau d'anticorps le plus élevé a été enregistré au jour 90 dans le groupe ayant reçu 25ug de FMP2.1.

Tableau XXVI : Distribution de la moyenne géométrique du titre des anticorps anti-AMA1 au cours de l'essai.

Jours		J0	J30	J60	J90	J180	J272	J364
RabAvert®	GMT	455,70	371,91	350,38	257,43	139,94	134,85	363,3
	IC à LS	467,28	383,49	361,96	269,02	151,52	146,43	374,9
	95% LI	444,12	360,33	338,80	245,85	128,36	123,27	351,7
	Minima	7,1	6,5	6	6,3	7,3	8,6	6,1
	Maxima	47960	28015	24444	11411	8926,4	3886,1	11894
FMP2.1/ AS02A	GMT	728,93	16664,69	85953,33	121715,60	43813,58	26807,10	32740,
	CI à LS	728,93	16664,26	85959,89	121722,66	43813,58	26813,66	32746,0
	95% LI	722,36	16658,12	85946,77	121709,04	43807,01	26800,52	32733,0
	Minima	8,2	2870,0	16613,0	7429,0	1083,9	466,4	6354,0
	Maxima	136380,0	177380,0	374024,0	587400,0	293400,0	186940,0	1802340

LS : limité supérieure ; LI : limité inférieure.

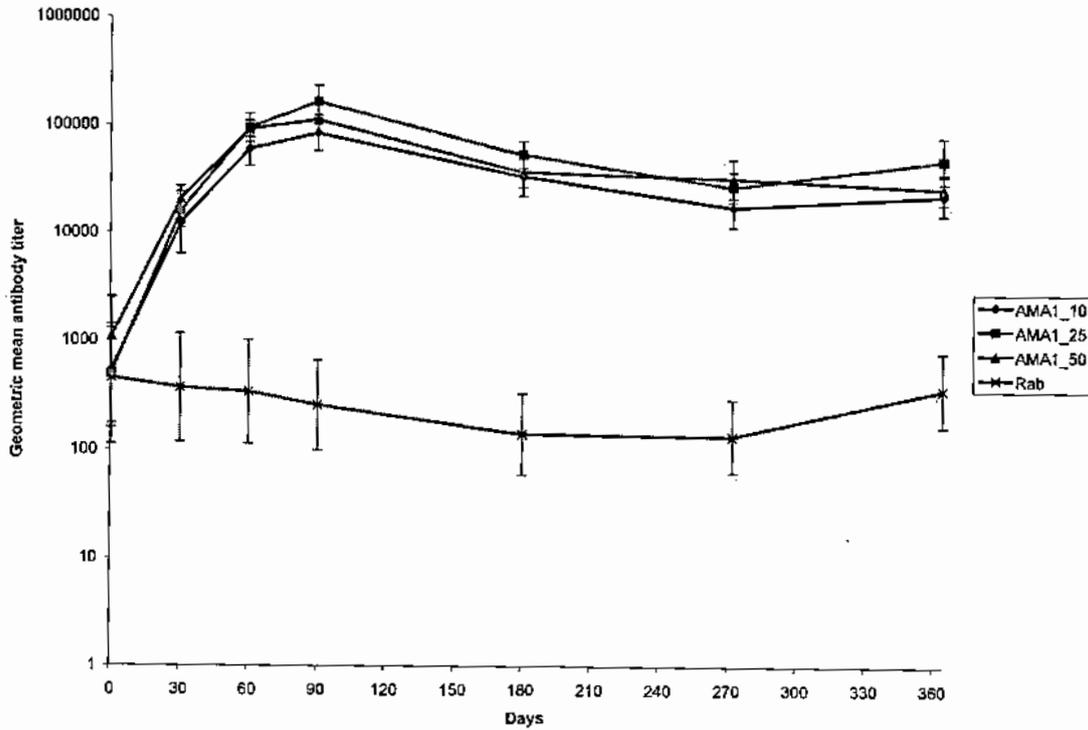


Figure : 12 Courbes des moyennes géométriques du titre sérique des anticorps anti-AMA1 selon les groupes d'étude

Nous observons dans la figure 12 que les titres d'anticorps dans les deux groupes étaient différents, la courbe du groupe qui a reçu FMP2.1 était pratiquement au dessus de celle du témoin. Le pic était atteint à Jour 90 dans le groupe qui a reçu FMP2.1.

Après le jour 90 la courbe a évolué en décroissance jusqu'au jour 270 la période qui coïncide avec le début de la transmission. A partir du jour 270 la courbe a augmenté légèrement et cela dans les deux groupes de traitement.

La courbe du groupe FMP2.1 avait évolué constamment au dessus de courbe témoin.

VI- COMMENTAIRES ET DISCUSSION :

Cette étude a été effectuée dans le cadre du projet sur le paludisme de Bandiagara (le BMP) fruit d'un partenariat riche entre le MRTC/DEAP et le CVD-Maryland, le NIAID/NIH des USA, le WRAIR, USAID et GSK-Bio. Elle répond à une des missions du MRTC/DEAP qui est de contribuer à l'effort international de développer les vaccins contre le paludisme.

1 - Méthodologie:

L'étude s'est déroulée à Bandiagara qui est une ville située dans la zone Sahélienne, le choix de ce site se justifie par les raisons ci-après :

- Depuis 1993 cette ville a été le site des études entomologiques et épidémiologiques sur le paludisme, depuis 1998 cette ville abrite des études de préparation de site pour la conduite d'essais cliniques de vaccins antipaludiques.

La recherche de vaccin mis sur le marché passe par plusieurs étapes : une étape pharmaceutique, une étape préclinique chez les animaux et une étape clinique chez l'homme. Les résultats précliniques encourageants ont permis d'entamer la phase de développement clinique de ce candidat vaccin.[67, 68, 69].

Le recours à un groupe témoin est utile en zone d'endémie dans une étude de Phase I, car l'immunité acquise et l'exposition naturelle à la transmission du paludisme peuvent compliquer l'interprétation des données de l'immunogénicité. Une augmentation du titre des anticorps peut être attribuée à tort au vaccin antipaludique.

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

Les événements indésirables liés à la vaccination représentaient 90% et ces événements étaient partagés en :

❖ Evénements indésirables locaux :

La fréquence de ces événements chez les sujets qui ont reçu le vaccin FMP2.1/AS02A 10µg, 25 et 50 étaient respectivement 93%, 100% et 100% contre 60% pour le vaccin antirabique. Ces événements étaient partagés en douleur au site d'injection 71%, œdème au site d'injection 82% et érythème au site d'injection 1%. Chez les adultes maliens, Dicko A., et al. ont trouvé en 2003 en testant un vaccin candidat AMA1-C1/Alhydrogel®, une fréquence des EIs entre 25,0 % et 91,6 %, une fréquence de la douleur au site d'injection entre 22,8% à 25,05%, une fréquence d'œdème au site de l'injection entre 14,2% à 40% [46]. Notre vaccin est plus réactogène que celui testé par cette équipe. Toutefois nous retrouvons une réactogénicité comparable à celle montrée par Thera M.A., et al. en 2007, lorsque le vaccin candidat FMP2.1/AS02A a été testé chez les adultes au Mali. Dans cette étude, les auteurs ont rapporté une fréquence des douleurs au site d'injection de 55 à 100% et une fréquence de l'œdème au site d'injection de 10 à 65% [70]. Nos résultats sont également comparables à ceux de Bojang K.A. et al. en 2005 chez les enfants en Gambie, qui ont eu avec le RTS,S/AS02A, une fréquence de 88,3 à 98,3% des douleurs et une fréquence de 8,3 à 20,0% de l'œdème [71]. Malkin E.M., et al. en 2003 chez les adultes aux USA, ont eu avec AMA1-C1/Alhydrogel®, une fréquence de l'érythème local entre 40 et 50% [72]. Nous avons observé dans notre étude portant sur des participants à peau noire un seul cas d'érythème.

En résumé l'œdème au site d'injection a représenté l'évènement indésirable local le plus fréquent avec la plus grave intensité. Toutefois cet évènement n'a pas représenté un symptôme dérangerant pour les participants et a souvent été mis en évidence par l'examen physique médical plutôt que par l'expression d'une plainte de la part des

participants. La douleur locale exprimée par 71% des participants était le plus souvent d'intensité modérée et cette douleur a cédé dans les 8 jours suivant la vaccination.

❖ Événements indésirables systémiques :

La fréquence de ces événements chez les sujets qui ont reçu le vaccin FMP2.1/AS02A 10µg, 25µg et 50µg était respectivement 26.7%, 56.7% et 56.7% contre 16% chez les sujets qui ont reçu RabAvert®. Ces événements étaient partagés entre la fièvre 40,0%, l'anorexie 4,0%, et les vomissements 2,0%.

Dicko A., et al. en 2004 chez les adultes Maliens avec AMA1-C1/Alhydrogel®, ont rapporté une fréquence de 5,5% de la fièvre après la première vaccination [46]. Thera M.A., et al. en 2007 chez les adultes au Mali avec le FMP2.1/AS02A, ont observé une fréquence de 10 à 15,7% de la fièvre. De même, Bojang K.A., et al. en 2005 rapportent chez les enfants en Gambie qui ont reçu RTS,S/AS02A, une fréquence de 8,5 à 10,0% de la fièvre.

En résumé, la fièvre a été le symptôme systémique le plus fréquent. Sa fréquence était plus élevée que lorsque le même vaccin a été testé à Bandiagara chez les adultes.

Ces résultats confirment le profil de réactogénicité rapporté pour FMP2.1 dans les essais cliniques précédents. Le profil de tolérance observé est également proche de celui rapporté lors des essais de vaccins antipaludiques basés sur le RTS,S et utilisant le même adjuvant, AS02A. Cela suggère que les réactions observées sont davantage le fait de l'adjuvant. En plus nous observons que les réactions locales sont plus fréquentes que les réactions systémiques ; que la plus grave des réactions locales a été l'œdème au site d'injection, souvent ignoré par les enfants ; que la plupart des réactions systémiques ont été d'intensité

faible à modérée ; et qu'enfin les réactions post vaccination se sont tous amendés dans les 7 jours suivant la vaccination.

Le profil de tolérance observé est relativement acceptable ; surtout si le vaccin se montrait efficace. Si on considère la très forte morbidité et mortalité liée au paludisme, alors la tolérance de ce candidat vaccin permet d'envisager de continuer à l'évaluer.

❖ Les événements indésirables de laboratoire :

Il y a eu quelques événements indésirables biologiques. Ces événements étaient des cas d'hyperleucocytoses et d'élévation des ALAT. Ces deux événements biologiques étaient liés à des infections.

Les événements indésirables non liés à la vaccination représentaient 100% et étaient majoritairement dominés par les événements indésirables systémiques dont les plus fréquents étaient les infections respiratoires, les infections digestives et le paludisme.

Ce qui traduit le profil de morbidité habituel observé dans la population pédiatrique de la zone d'étude.

❖ L'évolution du titre des anticorps anti AMA-1

Après la vaccination les niveaux des anticorps ont augmenté chez les sujets qui ont reçu AMA1 et cela du jour 0 au jour 90.

La moyenne des niveaux d'anticorps anti AMA1 du groupe FMP2.1 était de 661 au jour0 et 116344 au jour90. Pendant ce moment dans le groupe RabAvert® le niveau d'anticorps n'a pas augmenté. Un effet de stimulation importante de la production des IgG totaux est observé. Cette bonne réponse immune induite par le vaccin pourrait-elle faire envisager une protection clinique contre le paludisme ? Une telle conclusion est prématurée.

Bien que notre étude n'ait pas été conçue pour mesurer l'efficacité du vaccin contre le paludisme, nous avons comparé l'incidence du paludisme clinique entre les deux groupes. Nous n'avons pas observé

une différence statistiquement significative entre les deux groupes. Même si la moyenne géométrique de la densité parasitaire était plus faible dans le groupe du vaccin antipaludique, cette différence n'a pas atteint le seuil de la signification statistique.

VII- RECOMMANDATIONS :

- 1- Poursuivre le développement clinique du candidat vaccin FMP2.1/AS02A dans la population pédiatrique.
- 2- Renforcer les capacités du laboratoire d'immunologie du MRTC/DEAP pour permettre d'analyser la fonctionnalité des IgG totaux induit par la vaccination.
- 3- Développer le transfert de technologie entre les équipes de recherche du Nord et celles du Sud.
- 4- Encourager la population à participer aux essais vaccinaux.

VIII- CONCLUSION :

Un vaccin antipaludique efficace serait un atout majeur pour la lutte contre le paludisme. Les progrès en immunologie et en génie génétique offrent des opportunités pour la recherche vaccinale.

Au terme de cette étude nous pouvons conclure que :

- L'étude des symptômes cliniques n'a pas montré des signes d'intolérance majeure sur le plan clinique chez les enfants.

- Les différents paramètres hématologiques n'ont pas subi une variation pathologique en relation directe avec le candidat vaccin antipaludique FMP2.1/AS02A. Nous n'avons pas noté d'effet toxique hématologique lié au candidat vaccin.

- Nous n'avons pas rencontré de variation des valeurs sériques de la créatinine cliniquement significative dans les deux groupes.

- Les valeurs de l'ALAT sérique ont évolué dans l'intervalle de référence établi à Bandiagara durant les 12 mois de suivi dans le groupe qui a reçu le vaccin antipaludique. Nous n'avons pas remarqué de signes évoquant une atteinte hépatique aigue liée au vaccin antipaludique.

- Ce candidat vaccin a induit une forte réponse immune anti AMA1 chez les enfants.

Le candidat vaccin FMP2.1/AS02A a été relativement bien toléré et présente une excellente immunogénicité dans cette population.

IX- RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1-WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Malaria Report 2008

2- Snow RW, Guerra CA, Noor AM, Myint HY, Hay SI. The global distribution of clinical episodes of Plasmodium falciparum malaria. Nature. 2008 Mar 10; 434(7030):214-7.
PMID: 15759000 [PubMed - indexed for MEDLINE]

3-OMS, 2001, Bulletin de l'OMS, Recueil d'article No4, 2001:
Quelles perspectives pour faire reculer le paludisme 1133

4-Odile Mercereau-Puijalon. Vaccins contre le paludisme un long chemin semé d'embûche. ©2002 Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS, 1p

5-JL Gallup et Sachs J. Le fardeau économique du paludisme. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 2001, 64:85-96.

6-Traore AM. Analyse de la situation du paludisme au Mali et les stratégies de prise en charge des formes graves et compliquées dans le service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel Touré. Thèse de Médecine Bamako, 2001, 83p; 121

7-Coulibaly D, Diallo DA, Thera MA, Dicko A, Guindo AB, Djimde A, Doumbo OK, Plowe CV. Impact of pre-season treatment on incidence of falciparum malaria and parasite density at a site for testing malaria vaccines in Bandiagara, Mali. Am. J. Trop. Med. Hyg 2002, **67**: 604-610

8-Le Sueur D, Sharp BL, Gouws E, Ngxongo S. Malaria in South Africa. S Afr Med J 1996; **86**: 936-9

9-Wernsdorfer WH. The development and spread of drug-resistance malaria. Parasitol. Today, 1991, 7: 297-303

10-Egan AF, Burghaus P, Druilhe P, Holder AA, Riley EM. Human antibodies to the 19Kda C-terminal fragment of Plasmodium merozoite surface protein 1 inhibit parasite growth in vitro. Parasite immunol. 1999; **21**: 133-9

11-Irwin W Sherman. Plasmodium, a genus of parasitic protozoons that are causative agents of disease malaria. Enclopedia of life sciences/ © 2001 Nature Publishing Group.

12-Daniel Webster & Adrian V.S. Hill. Progress with new malaria vaccines.

13-Marc Gentilini, Martin Danis et Jean Mouchet. Médecine tropicale (Université Francophone) Paludisme ; ©Edition Marketing/Ellipses, 1991, .

14-Gardner MJ, Hall N, Fung E, White O, Berrimane M, Hyman RW et al. Genome sequence of the human malaria parasite Plasmodium falciparum. Nature 2002; 419: 498-511

15-LE Bras M, Denis Malvy. Vaccination antipaludique : acquis et controverses. Rev. Prat. (Paris) 1998 Feb1. **48**(3): 291- 295

16-Nussenzweig RS, Vanderberg J, Most H, Orton C. Protective immunity produce by the injection of x-irradiated sporozoites of *Plasmodium berghei*, *Nature* 1967; **216** : 160-2

17-Collins WE, Contacos PG. Immunization of monkeys against *Plasmodium cynomolgi* by x-irradiated sporozoites. *Nature New biology* 1972; **236**: 176-7

18-Riekmann AH, Baeudoin RL, Cassells JS, Sell KW. Use of attenuated sporozoites in the immunization of human volunteers against *falciparum* malaria. *Bulletin of World Health Organization* 1979; 57 (suppl 1): 261-5

19-Baird JK, Jones TR, Danudirgo EW, Aninis BA, Bangs MJ, Basri H, et al. Age-dependent acquired protection against *Plasmodium falciparum* in people having two years exposure to hyperendemic malaria. *American journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1991; **45**: 65-76

20-Sabchareon A, Burnuf T, Ouattara D, Attanath P, Bouharoun-Tayoun H, Chantavanich P, et al. Parasitologic and clinical human response to immunoglobulin administration in *falciparum* malaria. *American journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1991; **45**: 65-76

21-TM Lopera, M Restepo, S blair*, HI Garcia.** Humoral Immune Response to the anti-malaria vaccine SPf66 in the Colombian Atroto River Region. *Memorias do Instituto Oswaldo Gruz*, .1998 Jul-Aug Vol. 93 (4)- 495-500

22-Filip Dubovsky, M.D., M.P.H., F.A.A.P. Malaria vaccine initiative at path: Creating a Vaccine Against Malaria.

23-Hoffman SL, Isenbarger D, Long GW, Sedegah M, Szarfman A, Waters L, et al. Sporozoite vaccine induces genetically restricted T-cell elimination of malaria from hepatocytes. *Science* 1989; **244**: 1078-81

24-Malik A, Egan JE, Houghten RA, Sadoff JC, Hoffman SL. Human cytotoxic T lymphocytes against the Plasmodium falciparum circumsporozoite protein Proceeding of the National Academy of science of the United states of America 1991 ; **88** : 3300-4

25-Ballou WR, Hoffman SL, Sherwood JA, Hollingdale MR, Nova FA, Hockmeyer WT, et al. Safety and efficacy of a recombinant DNA Plasmodium falciparum sporozoite vaccine. *Lancet* 1987; **1**: 1277-81

26-Herrington DA, Clyde DF, Losonsky G, Cortesia M, Murphy JR, Davis J, et al. Safety and immunogenicity in man of a synthetic peptide malaria vaccine against Plasmodium falciparum sporozoites. *Nature* 1998; **328**: 257-9

27-Stoute JA, Slaoui M, Heppner DG, Momin P, Kester KE, Desmons P, et al. A preliminary evaluation of a recombinant circumsporozoite protein vaccine against Plasmodium malaria. RTS,S Malaria Vaccine Evaluation Group. *New England Journal of Medicine* . 1997; **336** :86-91

28-Lalvani A, Moris P, Voss G, Pathan AA, Kester KE, Brookes R, et al. Potent induction of focused Th1-type cellular and humoral immune responses by RTS,S/SBAS2, a recombinant Plasmodium falciparum malaria vaccine. *Journal of infectious diseases* 1999; **180**:1656-64

29-Bojang KA, Milligan PJ, Pinder M, Vigneron L, Allouche A, Kester KE, et al. Efficacy of RTS,S/AS02 malaria vaccine against BMP/MMVDU/MRTC/DEAP/FMPOS

Plasmodium falciparum infection in semi-immune adults men in Gambie: a randomized trial. Lancet 2001; **358**:1927-34

30- Pedro L Alonso, et al. Efficacy of the RTS,S/AS02A vaccine against Plasmodium falciparum infection and disease in young African children : randomised controlled trial. Lancet 2004 ; 364 : 1411 – 20.

31- Pedro L Alonso, et al. Duration with RTS,S/AS02A malaria vaccine in prevention of Plasmodium falciparum disease in Mozambican children: single-blind extended follow of a randomized controlled trial. www.thelancet.com, November 15, 2005.

31-Fidock,D.A., H. Gras-Masses, J. P Lepers, K. Brahim, L. Benmohamed, S. Mellouk, C. Guerin- Marchan, A. Londono, L. Raharimalala, J. F.Meis, G Langsley, C. Roussilhon, A. Tartar, and P Druilhe. 1994. Plasmodium falciparum liver stage antigen1 is well conserved and contains potent band T cell determinants J. Immunol 153: 190-204

33-Hill, A. V., J. Elvin, A. C. Willis, M. Aidoo, C. E. Allsopp, F. M. Gotch, X. M. Gao, M. Takiguchi, B M. Greenwood, A. R. Towensend, A J Mc Michael, and H. C. Whittle. 1992 Molecular analysis of the association of HLA-B53 and resistance to severe malaria. Nature 360:434-439

34-Kurtis JD, Hollingdale MR, Luty AJ, Lanar DE, Krzych U, Duffy PE. Pre-erythrocytic immunity to Plasmodium falciparum: the case for an LSA-1 vaccine. Trends parasitol 2001; **17**: 219-23

35-Daubersies P, Thomas AW, Millet P, et al. Protection against Plasmodium falciparum malaria in chimpanzees by immunization with the conserve pre-erythrocytic liver-stage antigen 3. Nat. Med 2000; **6**: 1258-63

36-Barnes DA, Wollish W Nelson RG, Leech GH, Petersen. Plasmodium falciparum: D260 an intraerythrocytic parasite protein, is a member of the glutamic acid dipeptide-repeat family of protein. Exp Parasitol 1995; **81**: 79-89

37-BACH J F, Immunologie 3ème edition Flammarion Médecine-sciences. Paris 1990 Page 240

38-Egan AF, Morris J, Barnish G. Clinical immunity to Plasmodium falciparum malaria is associated with serum antibodies to the 19-Kda C-terminal fragment of the merozoite surface antigen, PfMSP-1. Infect Dis. 1996; **173**: 765-9

40-O'donnell RA, de koning-Ward TF, Burt RA et al. antibodies against merozoite surface protein (msp)-1(19) are a major component of the invasion-inhibitory response in individuals immune to malaria. J Exp Med 2001; **193**: 1403-12

41-Holder AA, Guevara Patino JA, Uthaipibull C et al. Merozoite surface protein1, immune evasion and vaccines against asexual blood stage malaria. Parasitologia; 1999; **41** (1-3): 409-14

42-Kumar S, Collins W, Egan A, Yadava A, Garraud O, Blackman MJ, et al. Immunogenicity and efficacy aotus monkeys of for recombinant Plasmodium falciparum vaccines in multiple adjuvant formulations base BMP/MMVDU/MRTC/DEAP/FMPOS

on the 19KDa C terminus of merozoite surface protein. *Infection and Immunity* 2000; **68**: 2215-23

43-Keitel WA, Kester KE, Atmar RL, et al. Phase 1 trial of two recombinant vaccines containing the 19KDa carboxy terminal fragment of *Plasmodium falciparum* merozoite protein-1 (msp1(19)) and T helper epitopes of tetanus toxoid. *Vaccine* 1999; **18**: 531-9

44- Pierre Druilhe, et al. A Malaria vaccine that elicits in humans antibodies able to kill *Plasmodium falciparum*. www.plosmedicine.org, November 2005/ Volume 2/ Issue11/ e344.

45-Escalante AA, Grebert HM, Chaiyaroj SC, Biswas S, Nahlen BL, Lal AA. polymorphism in the gene encoding the apical membrane antigen (AMA-1) of *Plasmodium falciparum*. X. Asembo Bay Cohort project. *Mol. Biochem. Parasitol.* 2001; **113**: 279-287

46-Hodder AN, Crewther PE, Anders RF. Specificity of the protective antibody response to apical membrane protein 1. *Infection and Immunity* 2001; **69**: 3286-94

47- Dicko A, Sagara I, Ellis RD, Miura K, Guindo O, et al (2008) Phase 1 Study of a Combination AMA1 Blood Stage Malaria Vaccine in Malian Children. *PLoS ONE* 3(2): **e1563**. doi:10.1371/journal.pone.0001563

48-Duffy PE, Kaslow DC. A novel malaria protein, Pfs28, and Pfs25 are genetically linked and synergistic as *falciparum* malaria transmission-blocking vaccines. *Infection and immunity* 1997; Mar **65**(3): 1109-13

49-Hoffman SL, Sedegah M, Hedstrom RC. Protection against malaria by immunization with a Plasmodium yoelii circumsporozoite protein nucleic acid vaccine. Vaccine 1994 ; **12** : 1529-33

50-Wang R, Doolan DL, Le TP et al. Induction of antigen-specific cytotoxic T lymphocytes in humans by a malaria DNA vaccine. Science 1998 ; **282** : 476-80

51-Time JA, Lanar DE, Smith DM, et al. NYVAC-Pf7, a poxvirus-vectored, multiantigen, multistage vaccine candidate for Plasmodium falciparum malaria. Infect Immun 1996 ; **64** : 3833- 44

52-Kumar S, Epstein JE, Richie TL, et al. A multilateral effort to develop DNA vaccines against falciparum malaria. Trends Parasitol 2002 ; **18** : 129-35

53-Doolan DL, Hoffman SL. DNA-base vaccines against malaria: status and promise of the multi-stage malaria DNA vaccine operation. Int J Parasitol 2001; **31**: 753-62.

54-Frederick R. Vogel, Micheal F. Powell, and Carl R. Alving. A compendium of vaccines Adjuvants and Excipients 2ndEdition.

55-Bennett-Plum, Gill-kokko - Mandell- Ockner-Smith. Traité de Médecine interne CECIL Médecine-sciences Flammarion

56-Bernard J, Levy JP, Varet B, Clauvel JP, Rain JD, Sultan Y. Hématologie, 8^{èd}. Paris: Masson, 1996

57-Potron G, Culioli-Pickel B, Bechar C, Droule C, Nguven P, Adzizian JC. Automatisation en hématologie. *Encycl Med chir (Paris-France). Sang*, 13000 B 10,7-1990, 19p.

58-Vincent-Viry M. Alanine aminotransferase. In : Siest J ; Shiele S. *Références en biologie clinique*. Paris, Elsevier Eds, 1990; 77-92

59-Robinson D, Whitehead TP. Effect of body mass and others factors on serum liver enzyme levels in men attending for well polulation screening. *Ann Clin Biochem* 1989 ; **26** : 393-400

60-Remy AJ. et Larrey D. Exploration biologique hépatique. *Ency. Med. Chir. (Elsevier, Paris), Hépatologie*, 7007.B.10, 1997, 4p

61-Pierre Valdiguie. Biochimie clinique, Collection Biologie Médicale. *Bulletin of the World Health Organazition* 2003, 81 (12)

62-Cox, J.H. & Schneider,L.G. Prophylactic immunization of humans against rabies by intradermal inoculation of human diploid cell culture vaccine. *J. Clin. Microbiol.* **3**, 96-101 (1976).

63-Recommendations of the Immunizations Practices Advisory Committee (ACIP). Rabies Prevention United States. 393-408. 1984. *Atlannta, Centers for Disease Control. Morbidity and Mortality Weekly Report.*

64-Boe, E. & Nyland,H. Guillain-Barre syndrome after vaccination with human diploid cell rabies vaccine. *Scand. J. Infect. Dis.* 1980, **12**, 231-232

65-Bernard, K.W., Smith,P.W., Kader,F.J. & Moran,M.J. Neuroparalytic illness and human diploid cell rabies vaccine. JAMA, 1982, **248**, 3136-3138.

66-Traore K. Impact d'une cure de sulfadoxine-pyriméthamine sur l'incidence du paludisme et chimiosensibilité de *P.falciparum* à la sulfadoxine-pyriméthamine à Bandiagara, Mali. Thèse de Médecine, Bamako, 2002, 56p; 86

67-Anders R.F., Crewther P. E., Edwards S., Margetts M., Matthew M.L., Polck B., and Pye D., Immunization with recombinant AMA-1 protects mice against infection with *Plasmodium chabaudi*. *Vaccine* (1998); 16 p: 240-247

68-Narum DL, Ogun SA, Thomas AW, Holder AA. Immunization with parasite-derived apical membrane antigen 1 or passive immunization with a specific monoclonal antibody protects BALB/c mice against lethal *Plasmodium yoelii* YM blood-stage infection. *Infect Immun.* **2000 May**; 68(5):2899-906.

69-Anthony W.S., Kennedy M.C., Brian P.K., Saul A., Carole A.L., and Miller L.H. Vaccination of Monkeys with Recombinant *Plasmodium falciparum* AMA-1 Confers protection against blood-stage Malaria. *Infection and Immunity*, **Dec. 2002**; p: 6961-6967

70-Thera MA, Doumbo OK, Heppner DG, Stewart VA, Angov E, et al. Safety and Immunogenicity of an AMA-1 Malaria Vaccine in Malian Adults: Results of a Phase 1 Randomized Controlled Trial. *PLoS ONE*. **2008** Jan 23; 3(1):e1465

71-Bojang KA, Olodude F, Pinder M, Ofori-Anvinam O, Vigneron L, Fitzpatrick S, Njie F, Kassanga A, Leach A, Milman J, Rabinovich R, Mc Adam KP, Kester KE, Heppner DG, Cohen JD, Tornieporth N, Milligan PJ. Safety and immunogenicity of RTS,S/AS02A candidate malaria vaccine in Gambian children. *Vaccine* **2005 Jul 14**; 23(32): 4148-57. Epub 2005 Apr 15.

72-Singh B, Kim Sung L, Matusop A, Rdhakrishman A, Shamsul SS, Cox-Singh J, Thomas A Con Way DJ. A large focus of naturally acquired. *Lancet*. 2004 Mar 27, 363 (9414): 1006

73-Jongwutiwes S, Putaporntip C, Iwasaki T, Sata T, Kanbara H. Naturally acquired *Plasmodium knowlesi* malaria in human, Thailand. *Emerg Infect Dis* [serial on the Internet]. 2004 Dec [date cited]. Available from <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol10no12/04-0293.htm>

74-Bejon P, Lusingu J, Olotu A, leach A Lievens M, Vekemans J, and al. Efficacy of RTS,S/AS01E Vaccine against Malaria in children 5 to 17 Months of age. *The new England journal of medicine* established in 1812 Dec 11, 2008 VOL. 359 N°.24

Fiche signalétique:

Nom: **TRAORE**

Prénom: **Idrissa M**

Nationalité : Malienne

Date de soutenance : **Juin 2009**

Ville de soutenance : Bamako

Titre : **Tolérance clinique et biologique du vaccin FMP2.1/AS02A chez les enfants de 1 à 6 ans de Bandiagara**

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de médecine, de pharmacie et d'Odontostomatologie

Secteur d'intérêt : Essai clinique, Vaccin, Paludisme, Epidémiologie

RESUME

Ce travail avait pour but d'évaluer la tolérance clinique, biologique et l'immunogénicité du vaccin antipaludique FMP2.1 associé à l'adjuvant AS02A en essai clinique de phase I. Nous avons recherché l'impact du candidat vaccin sur l'évolution du taux d'hémoglobine. Notre étude s'est déroulée dans la période allant de Novembre 2006 à Novembre 2007.

Pour atteindre ce but nous avons effectué un essai clinique randomisé avec groupe témoin et un suivi longitudinal de 12 mois chez 100 sujets âgés de 1 à 6 ans tous sexes confondus en 3 cohortes. La cohorte 1 composée de 20 sujets, la cohorte 2 et 3 composées chacune de 40 sujets randomisés 3 :1 pour recevoir FMP2.1/AS02A ou RabAvert®.

Comme vaccin comparateur nous avons utilisé le vaccin antirabique RabAvert®.

Le schéma de vaccination a été de trois doses administrées dans le muscle deltoïde avec un intervalle de 30 jours entre deux doses.

Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les deux groupes pour l'incidence des symptômes cliniques sollicités, sauf pour les douleurs et les gonflements au site d'injection qui étaient plus fréquents dans le groupe FMP2.1 après la première dose.

Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les deux groupes pour les valeurs moyennes des paramètres hématologiques et biochimiques. Nous n'avons pas rencontré de variations cliniquement significatives pour les valeurs de ces paramètres durant toute l'étude.

Au jour 90 c'est à dire 30 jours après la dernière dose, la moyenne géométrique des anticorps anti-FMP2.1 dans le groupe du vaccin antipalustre était 5,5 fois supérieure que celle du groupe témoin et 6,4 fois plus que celle du jour 0 dans le groupe FMP2.1/AS02A. Après le jour 90 la courbe a régulièrement régressé dans le groupe FMP2.1 jusqu'au jour 364, mais toujours au-dessus du groupe témoin.

Il ressort dans cette étude que le candidat vaccin antipaludique FMP2.1 associé à l'adjuvant AS02A a un bon profile de tolérance clinique et biologique. Il a une bonne immunogénicité et représente un réel espoir pour le monde scientifique dans la lutte contre le fléau que constitue le paludisme.

Mots clés : Tolérance, Impact, Enfants, candidat vaccin FMP2.1

Thèse de Médecine : Tolérance clinique et biologique du vaccin FMP2.1/AS02A chez les enfants de 1 à 6 ans de Bandiagara.

Last Name: **TRAORE**

First Name: **Idrissa M**

Nationality: **Malian**

Date of Defende: Jun 2009

Locale of Defende: Bamako

Titer: **Tolerance clinic and biologic of vaccine FMP2.1/AS02A in children 1 to 6 years of Bandiagara.**

Storage place: Library of the faculty of Medicine, Pharmacy and dentistry.

Areas of interest: Clinical trial, Vaccine, Malaria, Epidemiology

Summary

This work aimed to evaluate the clinical tolerance, biological and immunogenicity of the malaria vaccine FMP2.1 associated with adjuvant AS02A in clinical trial phase I. We researched the impact of the candidate vaccine on the evolution of hemoglobin. Our study was conducted in the period from November 2006 to November 2007.

To achieve this goal we conducted a randomized clinical trial with control group and longitudinal follow-up of 12 months in 100 subjects aged 1 to 6 years sexes in all 3 cohorts. Cohort 1 consisted of 20 subjects, the cohort 2 and 3; each consisting of 40 subjects randomized 3: 1 to receive FMP2.1/AS02A or RabAvert ®.

As vaccine comparator we used the anti-rabies vaccination RabAvert ®.

The vaccination scheme was three doses administered in the deltoid muscle with an interval of 30 days between doses.

There was no statistically significant difference between the two groups for the incidence of clinical symptoms solicited, except for pain and swelling at the injection site that were more frequent in group FMP2.1 after the first dose.

There was no statistically significant difference between the two groups

BMP/MMVDU/MRTC/DEAP/FMPOS

for average values of hematological and biochemical parameters. We have not encountered any clinically significant changes for the values of these parameters throughout the study.

At Day 90, 30 days after the last dose, the geometric mean antibody FMP2.1 in the group was 5.5 times higher than the control group and 6.4 times more than that in the Day 0 FMP2.1/AS02A group. Day 90 after the curve has steadily declined in the group FMP1 until 364 days, but still above the control group.

It appears in this study that the candidate malaria vaccine FMP2.1 associated with adjuvant AS02A has a good profile of clinical and biological tolerance. It has good immunogenicity and represents a real hope for the scientific world in the fight against the scourge of malaria.

Keywords: Tolerance, Impact, children, Vaccine candidate FMP2.1

ANNEXE

Appendice A- Examen de Compréhension du Consentement pour la participation à une étude vaccinale antipaludique à Bandiagara

Titre de l'étude : ESSAI CLINIQUE CONTRÔLÉ ET RANDOMISÉ DE PHASE 1 POUR ÉVALUER LA TOLÉRANCE, L'IMMUNOGÉNÉICITÉ DU VACCIN ANTIPALUDIQUÉ AMA1, FMP2.1/AS02A, EN COMPARAISON AVEC LE VACCIN ANTIRABIQUE CHEZ LES ENFANTS ÂGÉS DE 1-6 ANS À BANDIAGARA AU MALI

Prénoms et Nom du participant Prénoms et Nom
du parent/tuteur

Numéro d'étude du participant : _ _ _

1. Dans cette étude on injectera à votre enfant des parasites vivants du paludisme V F
2. Ce vaccin pourrait rendre votre enfant malade V F
3. Si après inclusion vous changez d'avis, vous pouvez retirer votre enfant de l'étude sans problèmes V F
4. Ce vaccin a déjà été administré à des centaines de personnes; nous savons donc qu'il est totalement sûr de le donner à votre enfant V F
5. On prendra le sang de votre enfant au cours de cette étude V F
6. Votre enfant ne pourra pas être inclus dans cette étude si vous refusez que son sang soit gardé pour faire plus tard des analyses liées au paludisme V F
7. Votre enfant sera vacciné trois fois au cours de cette étude V F
8. Si votre enfant tombe malade au cours de l'étude vous ne devez le dire à personne V F
9. Si vous acceptez de participer à l'étude vous devez amener votre enfant au centre clinique BMP pendant 26 mois V F
10. Tous les participants à l'étude recevront le même vaccin V F

➤ **Nombre total de bonnes réponses avant vérification**

Thèse de Médecine : Tolérance clinique et biologique du vaccin FMP2.1/AS02A chez les enfants de 1 à 6 ans de Bandiagara.

➤ **Nombre total de bonnes réponses après vérification**

Vérifié par : _____ Date __/__/____

_____ Date __/__/____

Signature/Empreinte digitale

du parent/tuteur du participant :

Signature du témoin : _____ Date __/__/____

Appendices B- Evaluation de l'intensité des EIs sollicités

Tableau 1: Evaluation de l'intensité des EIs sollicités

Evènement indésirable	Degré de l'intensité	Définition de l'intensité
Douleur au site d'injection	0	Aucune
	1	Réaction mineure au toucher du membre
	2	Pleurs/Protestation au toucher
	3	Pleurs à la mobilisation du membre/douleur spontanée
Œdème au site d'injection Mesurer le diamètre	0	0 mm
	1	< 5mm
	2	5-20mm
	3	>20 mm
Rougeur au site d'injection Mesurer le diamètre	0	0 mm
	1	< 5mm
	2	5-20mm
	3	>20 mm
Fièvre Prendre la température orale	0	<37,5°C
	1	37,5-38,0°C
	2	38,1-39,0°C
	3	>39,0°C
Irritabilité/Agitation	0	Comportement normal
	1	Pleure plus que d'habitude/pas d'effet sur l'activité quotidienne
	2	Pleure plus que d'habitude/interfère avec l'activité quotidienne
	3	Inconsolable/pleurs empêchent l'activité quotidienne
Somnolence	0	Comportement habituel
	1	Somnolence aisément toléré
	2	Somnolence interférant avec les activités quotidiennes
	3	Somnolence empêchant les activités quotidiennes
Perte de l'appétit	0	Appétit normal
	1	Mange moins que d'habitude/pas d'effet sur l'activité quotidienne
	2	Mange moins que d'habitude/interfère avec l'activité quotidienne
	3	Ne mange pas du tout
Douleur/Sensibilité Abdominale	0	Aucune
	1	Réaction mineure à la palpation de l'abdomen
	2	Pleurs/Proteste à la palpation de l'abdomen
	3	Défense abdominale/douleur spontanée

Vomissements	0	Aucune
	1	Occasionnels avec capacité de s'alimenter/de boire
	2	Répétés avec limitation de l'alimentation
	3	Continus, incapable de s'alimenter/de boire

Appendis C : Ces tableaux de grade de Toxicité pour les Evénements Indésirables de Laboratoire sont à utiliser pour cette étude de FMP2.1 par rapport aux valeurs mesurées.

ESTIMATION de la SEVERITE du GRADE

- GRADE 1 Léger:** pas d'effet sur les activités de la vie quotidienne; ne nécessite aucun traitement médical
- GRADE 2 Modéré:** limitation partielle des activités de la vie quotidienne (peut faire \geq 50% des tâches ordinaires); nécessite un traitement médical minimum ou pas
- GRADE 3 Sévère:** limitation des activités de la vie quotidienne < 50%; nécessite un traitement médical
- GRADE 4 Menace la vie du sujet :** Extrême limitation des activités, assistance significative est nécessaire, intervention médicale ou thérapeutique significative est nécessaire. Tous les cas d'EI grade 4 seront considérés comme des Evénements Indésirables Sérieux.

Tableau 2 : Graduation du degré de toxicité pour les paramètres du laboratoire clinique

HEMATOLOGIE					
	Intervalle de référence	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade (EIG)
Taux de l'hémoglobine (Masculin et féminin, âge 1-5ans)	7,4 - 12,4 g/dL ^a	7,5 - 8,4 g/dL	6,1 - 7,4 g/dL	5,0 - 6,0 g/dL	< 5,0 g/
Taux des plaquettes	133000 - 523000/mm ³ _a	75000 - 132999/mm ³	50000 - 74999/mm ³	20000 - 49999/mm ³	<20000/r
Globules blancs	5300 - 15300/mm ³ ^a	15299 - 16500/mm ³ ou 3501-5299mm ³	16501-18000/mm ³ ou 2001-3500mm ³	18001-30000/mm ³ ou 1000-2000/mm ³	>30000 <1000 /n
Nombre absolu de lymphocytes	2300 - 9500/mm ³ ^b	1000 - 2300/mm ³	750-999/mm ³	500-749/mm ³	<500/m
CHIMIE DU SANG					
	Valeur normale	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade (EIG)
Créatinine	0,2-0,5 mg/dL (15,2-44,2 mcmol/L) ^{a, c}	44,2 - 91,5 mcmol/L	91,6 - 183 mcmol/L	183,1 - 366 mcmol/L	> 366 mmol/L dialysi require
ALAT	3,9 - 49,6 U/L ^a	49,6-124 U/L	124,1 - 248 U/L	248,1 - 496 U/L	> 496 U
CHIMIE DE L'URINE					
	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4 (EIG)	
Protéinurie	2+ ou 500mg-1g/jour	3+ ou 1-2g/jour	4+ ou 2-3,5g/jour	Syndrome néphrotique ou > 3,5g/jou	
Hématurie	2+ ou 5-10GR/champ	3+ ou >10GR/champ	Macroscopique avec ou sans caillots Ou émission de GR	Hospitalisatio recommandé	

NB : ^a Déterminé chez les enfants en bonne santé de Donéguébougou, village rural malien et site d'essais vaccinaux contre le paludisme

Thèse de Médecine : Tolérance clinique et biologique du vaccin FMP2.1/AS02A chez les enfants de 1 à 6 ans de Bandiagara.

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

^c Repris dans *Current Pediatric Diagnosis & Treatment*, 17^{ème} édition, 2005.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'**Hippocrate**, je promets et je jure, au nom de l'**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