

Ministère de l'Enseignement  
Supérieur et de la Recherche  
Scientifique

Université des Sciences, des Techniques  
et des Technologies de Bamako

Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie

DER de Santé Publique et Spécialités

N° ..... DERSP/FMOS/USTTB

REPUBLIQUE DU MALI  
Un Peuple – Un But – Une Foi



# Mémoire

Master en Santé Publique

Option : Epidémiologie

Année Universitaire 2015 - 2016

## Sujet

**ETUDE DE LA TOLERANCE ET DE L'INNOCUITE de Pfs230D1M-EPA/Alhydrogel® ET Pfs25M-EPA/Alhydrogel®, UN CANDIDAT VACCIN BLOQUANT LA TRANSMISSION DU PALUDISME A *PLASMODIUM FALCIPARUM*, CHEZ LES ADULTES A BANCOUMANA, AU MALI**

Présenté et soutenu le 05 / Juin / 2017

Par : Dr. Mahamadoun Hamady Assadou MAIGA

Président : Pr. Seydou DOUMBIA

Membre : Pr. Hammadoun Aly Sangho

Directeur: Dr. Issaka Sagara

Sponsor: Laboratory of Malaria Immunology and Vaccinology, NIAID/NIH

## **Dédicace**

Je dédie ce travail

A ma mère pour son soutien et ses bénédictions non seulement à mon égard mais aussi à celui de tous mes autres frères et amis;

A ma femme et mes trois enfants et

A tous mes frères et sœurs.

Veillez trouver dans ce travail une reconnaissance de votre soutien constant.

## **Remerciement:**

Nous rendons grâce à Allah, le Tout Puissant, le Très Miséricorde de nous avoir donné la Santé, le courage et la force de mener ce travail.

Mes remerciements les plus sincères vont à l'adresse de :

Toutes ces personnes physiques ou morales qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à la réalisation de ce travail ;

Au Département Enseignement et Recherche en Santé Publique de la Faculté de Médecine et d'Odonto Stomatologie (DER-SP) pour avoir initié cette formation de Master en Santé Publique;

A Mon Directeur de mémoire, le Dr. Issaka Sagara

Pour non seulement son accompagnement tout long de ce travail mais aussi durant toutes ces années de collaboration au MRTC ;

A l'ensemble des enseignants du Master en santé publique pour leur disponibilité et la qualité de l'enseignement dont nous avons bénéficié durant cette formation ;

Au personnel administratif du DER-SP pour leur engagement et dévouement à la réussite de ce Master ;

A tous les responsables de l'unité de développement des vaccins antipaludiques au Malaria Research and Training Center (MRTC) pour m'avoir accepté et encadré dans la recherche.

A la population du village de Bancoumana et villages environnants qui vont bien voulu participer aux activités de recherche et sans laquelle ce travail n'aurait pu se faire.

A tous les collègues de la quatrième promotion du master en santé publique pour la bonne collaboration et leur soutien mutuel et constant.

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Cycle de vie du <i>Plasmodium falciparum</i> , ssp (Source : Su, Hayton, & Wellems, 2007)	6
Figure 2: Carte montrant le site d'étude, Bancoumana au Mali.....	7
Figure 3: Distribution des valeurs de leucocytes chez les 225 participants au jour zero de l'etude. .....	33
Figure 4: Distribution des valeurs de l'hémoglobine chez les 225 participants au jour zero de l'etude.....	34
Figure 5: Distribution des valeurs des plaquettes chez les 225 participants au jour zero de l'etude. .....	34
Figure 6: Distribution des valeurs des neutrophiles chez les 225 participants au jour zero de l'etude.....	35
Figure 7: Distribution des valeurs de l'alanine amino transférase (ALT) chez les 225 participants au jour zero de l'etude.....	35
Figure 8: Distribution des valeurs de créatinine chez les 225 participants au jour zero de l'etude .....	36

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Table I</b> : les quatre phases des essais cliniques. ....	4
<b>Table II</b> : Grade de toxicité de la réactogénicité locale.....	19
<b>Tableau III</b> : Grade de toxicité des signes vitaux .....	21
<b>Tableau IV</b> : Grade de toxicité des événements indésirables de laboratoire .....	24
<b>Tableau V</b> : Caractéristiques générales de la population d'étude. ....	26
<b>Tableau VI</b> : Fréquence n(%) des différentes catégories d'évènements indésirables au sein la cohorte de 25 participants selon le vaccin reçu.....	27
<b>Tableau VII</b> : Fréquence n(%) de l'intensité/sévérité des événements indésirables selon le type de vaccin reçu chez les 25 participants .....	28
<b>Tableau VIII</b> : Fréquence n(%) des différentes catégories d'évènements indésirables au sein la cohorte de 25 participants selon la catégorie (comparateurs ou expérimentaux) de vaccin reçu. ....	30
<b>Tableau IX</b> : Fréquence n(%) des différents niveaux de l'intensité (grades de sévérité) des évènements indésirables en fonction des traitements au sein de la cohorte de 25 participants ....	30
<b>Tableau X</b> : Fréquence n(%) des relations de causalité des évènements indésirables en fonction des traitements au sein de la cohorte de 25 participants. ....	31
<b>Tableau XI</b> : Fréquence n(%) des différentes catégories d'évènements indésirables après la première et la deuxième vaccination chez les 25 participants. ....	31
<b>Tableau XII</b> : Fréquence n(%) des événements indésirables selon qu'ils soient sollicités ou non chez les 25 participants en fonction des traitements .....	32
<b>Tableau XIII</b> : Fréquence n(%) des événements indésirables selon qu'ils soient sollicités ou non chez les 25 participants en fonction des traitements. ....	32
<b>Tableau XIV</b> : Moyenne des globules blancs, de l'hémoglobine, des neutrophiles, des plaquettes, de la créatinine sérique et de l'alanine amino transférase (ALT). ....	33
<b>Tableau XV</b> : Fréquence de la réactogénicité locale au cours du suivi des 225 participants. ....	36
<b>Tableau XVI</b> : Fréquence des événements indésirables systémiques au cours du suivi des 225 participants. ....	37
<b>Tableau XVII</b> : Fréquence des désordres biologiques au cours du suivi des 225 participants.....	38
<b>Tableau XVIII</b> : Fréquence des événements indésirables non sollicitées au cours du suivi des 225 participants de 2015 à 2017.....	38
<b>Tableau XIX</b> : Fréquence des événements indésirables non sollicitées au cours du suivi des 225 participants de 2015 à 2017 (suite) .....	40

<b>Tableau XX:</b> Fréquence des événements indésirables non sollicités au cours du suivi des 225 participants de 2015 à 2017 (suite) .....	41
<b>Tableau XXI:</b> Fréquence des événements indésirables non sollicités au cours du suivi des 225 participants de 2015 à 2017 (suite) .....	42
<b>Tableau XXII:</b> Fréquence des différentes catégories d'évènements indésirables rencontrés en fonction des séries de vaccination. ....	42
<b>Tableau XXIII:</b> Fréquence des différentes catégories d'évènements indésirables rencontrés en fonction des grades de sévérité.....	43
<b>Tableau XXIV:</b> Fréquence des différentes catégories d'évènements indésirables rencontrés en fonction de la relation de causalité avec les vaccins .....	43
<b>Tableau XXV:</b> Fréquence des évènements indésirables systémiques, biologiques et des réactions locales aux sites d'injection dans les 28 jours suivant chacune des vaccinations.....	44
<b>Tableau XXVI:</b> Fréquence des évènements indésirables systémiques, biologiques et des réactions locales aux sites d'injection dans les 28 jours suivant chacune des vaccinations. ....	45
<b>Tableau XXVII:</b> Fréquence des différentes catégories d'évènements indésirables sollicités rencontrés en fonction de la relation de causalité avec les vaccins reçus .....	45
<b>Tableau XXVIII:</b> Fréquence des grades de sévérité des évènements indésirables selon que l'évènement indésirable soit sollicité ou non .....	46
<b>Tableau XXIX:</b> Fréquence des différents évènements indésirables par organe/système en fonction des séries de vaccinations au sein de la cohorte de 225 participants. ....	48
<b>Tableau XXX:</b> Fréquence des différents grades de sévérité des évènements indésirables par organe/système au sein de la cohorte de 225 participants.....	49
<b>Tableau XXXI:</b> Fréquence des différentes relations de causalité des évènements indésirables par organe/système au sein de la cohorte de 225 participants.....	50

## LISTE DES SIGLLES ET ABREVIATIONS

AE	Evènement adverse / Adverse event
ALT	Alanine Amino Transférase
β-hCG	Hormone Choriogonadotrophine humaine β
CBC/NFS	Numération formule sanguine/ Cell blood count
CFR	Code de régulation fédérale/Code of Fédéral Regulations
cGMP	Manuel actuel de bonnes pratiques de fabrication/current Good Manufacturing Practices
CIR	Centre de Recherche en Immunisation /Center for Immunization Research (Johns Hopkins University)
CRF	Cahier d'observation/case report form
CRP	Protéine C-reactive/C-reactive protein
CSO	Bureau de la tolérance clinique/Clinical Safety Office
EPA	Exo Protein A
FWA	Assurance federale commune / Federal Wide Assurance
Federal Wide Assurance	Bonne pratiques cliniques /Good Clinical Practice
GCP	Bonne pratiques cliniques /Good Clinical Practice
HCV	Virus de l'Hépatite C/hepatitis C virus
HIV	Virus de l'immunodeficiency humaine/human immunodeficiency virus
IM	Intramusculaire/intramuscular
IRB	Comité institutionnel de revue (comite éthique)/ Institutional Review Borad
IND	Nouveau produit en investigation/Investigational New Drug
LMIV	Laboratory of Malaria Immunology and Vaccinology (NIAID)

MRTC	Malaria Research and Training Center (Mali)
n	Nombre (se réfère aux sujets ou participants)
NIAID	National Institute of Allergy and Infectious Diseases, NIH
Pfs25/Pfs230	Antigènes de surface de <i>plasmodium falciparum</i> au stade de zygote et d'ookinette chez le moustique/Surface antigen of zygotes and ookinetes in the mosquito stage of <i>Plasmodium falciparum</i>
RNA	Acide ribo-nucleique/ribonucleic acid
SOP	Procédures Opératoires Standardisées /Standard Operating Procedures
TBA	Essai de blocage de la transmission/transmission blocking assay
USTTB	Université des Sciences, Techniques & Technologies de Bamako
WBC	Globules blancs/white blood cell
WHO	Organisation Mondiale de la Santé/World Health Organization
WRBIR	Walter Reed Brasy Institute of Research

## SOMMAIRE

<b>1</b>	<b>INTRODUCTION ET JUSTIFICATION .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>OBJECTIFS.....</b>	<b>2</b>
2.1	OBJECTIF GENERAL.....	2
2.2	OBJECTIFS SPECIFIQUES.....	2
<b>3</b>	<b>QUESTION DE RECHERCHE .....</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>REVUE DE LA LITTERATURE.....</b>	<b>3</b>
4.1	PRECIS.....	3
4.2	RAPPEL SUR LES DIFFERENTES PHASES DES ESSAIS CLINIQUES .....	3
4.3	RAPPEL SUR LES CANDIDATS VACCINS BLOQUANT LA TRANSMISSION DU PALUDISME .....	5
1.1	RAPPEL SUR LE CYCLE DE VIE DU PARASITE .....	6
<b>5</b>	<b>METHODOLOGIE.....</b>	<b>7</b>
5.1	CADRE D'ETUDE.....	7
5.2	TYPE D'ETUDE.....	7
5.3	PERIODE D'ETUDE .....	7
5.4	POPULATION D'ETUDE.....	8
5.5	TAILLE DE L'ECHANTILLON ET TECHNIQUE D'ECHANTILLONNAGE .....	8
5.6	CONCEPTION DE L'ETUDE.....	9
5.7	LA RANDOMISATION.....	10
5.8	LES CRITERES D'INCLUSION ET DE NON INCLUSION .....	10
5.9	DEROULEMENT, PROCEDURES ET VARIABLES MESUREES.....	13
5.9.1	Le dépistage.....	13
5.9.2	L'enrôlement.....	15
5.9.3	Evaluations cliniques et biologiques .....	15
5.9.4	Administration des vaccins et suivi des participants.....	15
5.9.5	Critères d'arrêt de l'étude.....	18
5.10	EVALUATION DE LA TOLERANCE.....	19
5.11	COLLECTE, TRAITEMENT ET ANALYSE DES DONNEES .....	25
5.12	CONSIDERATIONS ÉTHIQUES.....	25
<b>6</b>	<b>RESULTATS .....</b>	<b>26</b>
6.1	LA POPULATION D'ETUDE.....	26
6.2	RESULTATS DE LA TOLERANCE SUR LA COHORTE PILOTE DE 25 VOLONTAIRES. ....	27
6.3	TENDANCE DES VALEURS DES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES ET DE LA BIOCHIMIE AU SEIN DE LA COHORTE DE 225 PARTICIPANTS AU JOUR ZERO DE L'ETUDE. ....	33
6.4	FREQUENCE, DES EVENEMENTS INDESIRABLES SOLLICITES (EVENEMENTS INDESIRABLES SYSTEMIQUES, REACTIONS LOCALES AUX SITES D'INJECTION ET DESORDRES BIOLOGIQUES) ET DES EVENEMENTS INDESIRABLES NON SOLLICITES (AUTRES AFFECTIONS COURANTES) AU SEIN DE LA COHORTE DE 225 PARTICIPANTS. ....	36
6.5	FREQUENCE, INTENSITE ET RELATION DE CAUSALITE DES DIFFERENTES CATEGORIES D'EVENEMENTS INDESIRABLES ENREGISTREES AU COURS DU SUIVI DES 225 PARTICIPANTS .....	42



6.6	FREQUENCES, SEVERITES ET RELATIONS DE CAUSALITE DES DIFFERENTES CATEGORIES D' EVENEMENTS INDESIRABLES SOLLICITES AU COURS DES 28 JOURS SUIVANT CHACUNE DES VACCINATIONS AU SEIN DE LA COHORTE DE 225 PARTICIPANTS.....	44
6.7	FREQUENCES, SEVERITES ET RELATIONS DE CAUSALITE DES EVENEMENTS INDESIRABLES PAR ORGANE/SYSTEME EN GENERAL AU SEIN DE LA COHORTE DE 225 PARTICIPANTS .....	47
<b>7</b>	<b>DISCUSSION.....</b>	<b>51</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSION ET RECOMMANDATION.....</b>	<b>53</b>
8.1	CONCLUSION .....	53
8.2	RECOMMANDATION.....	53
<b>9</b>	<b>RÉFÉRENCES .....</b>	<b>54</b>

## **RESUME**

Un vaccin pouvant interrompre la transmission du paludisme est un outil valable attendu dans la lutte et le contrôle du paludisme. Des candidats vaccins antipaludiques sont en cours d'essai et les résultats sont fort encourageants, cependant, aucun vaccin efficace n'est encore disponible contre le paludisme.

Nous avons testé une combinaison de candidats vaccins antipaludiques, Pfs25M et Pfs230D1M dans un essai clinique randomisé, contrôlé et en double aveugle chez 225 volontaires, adultes de 18 à 50 ans à Bancoumana, entre Avril 2015 et Mars 2017. Les sujets éligibles étaient négatifs au HIV, HCV, à l'AgHbs et au test beta HCG de test de grossesse pour les femmes. Quatre séries de vaccination ont été effectuées de façon échelonnée suivant le calendrier J0, J28, J168 et J540. Les participants étaient suivis cliniquement et/ou biologiquement à J1, J3, J7, J14 et J28 après chaque vaccination puis une fois par mois et cela jusqu'à 6 mois après la dernière vaccination.

Nous n'avons enregistré aucun événement indésirable grave lié aux vaccins de l'étude. La réaction locale la plus fréquente rapportée était la douleur et l'induration au site d'injection. Toutes ces réactions locales étaient de grade de sévérité légère ou modérée. Aucune réaction systémique ou une anomalie biologique sévère liée aux vaccins n'a été enregistrée.

Les candidats vaccins bloquant la transmission Pfs25M-EPA et Pfs230D1M-EPA sont bien tolérés chez les adultes exposés au paludisme à Bancoumana au Mali.

**Mots clés:** Essai clinique, Paludisme, Vaccins bloquant la transmission, tolérance, Bancoumana, Mali.

## **Abstract**

A vaccine that can interrupt malaria transmission is a suitable tool in malaria control. Some malaria vaccines candidates are still in clinical trial and preliminary results are interesting, however, no vaccine is available at date for malaria control.

Between April 2015 to March 2017, we conducted a randomized, controlled and double blind clinical trial to evaluate the safety of a combination of two malaria candidate vaccines, Pfs25M and Pfs230D1M in 225 exposed Malian adults aged 18-50 years at Bancoumana. Eligible subjects were negative to HIV, HCV, HbsAg and beta HCG test for women. Four vaccinations with dose escalating were administered at Day0, 28, 168 and 540. Subjects were followed up at Day 1, 3, 14, and 28 after each vaccination and once a month up to 6 months after the last vaccination. Additionally to clinical exam, a whole blood count, creatinin and ALT were measured periodically.

No serious adverse event related to vaccines was reported. The most local reaction reported was the pain and indurations at injection. All of these events were mild or moderate. We didn't report any serious systemic or laboratory adverse event related to vaccines.

Pfs25M and Pfs230D1M were safe in exposed Malian adults in Bancoumana.

**Key words:** Clinical trial, malaria, Transmission blocking vaccines, Bancoumana, Mali.

# 1 INTRODUCTION ET JUSTIFICATION

La lutte actuelle contre le paludisme est axée sur l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides, la chimio- prévention du paludisme saisonnier (CPS) chez les moins de 5 ans, le traitement préventif intermittent (TPI) chez les femmes enceintes, la prise en charge correcte des cas de paludisme maladie après confirmation biologique et la lutte anti vectorielle. Bien que ces mesures ont globalement aboutit à une réduction du nombre de décès par rapport aux données dans les années 2000, le paludisme demeure un problème de santé publique. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), on estime encore à environ 467.000 personnes, les décès dus au paludisme en 2015(1). La morbidité et la mortalité liées au paludisme a aussi un coût direct et indirect sur le développement économique des pays endémiques(2). Ces facteurs aussi bien que la résistance accrue des parasites aux médicaments, la résistance croissante des moustiques aux insecticides et le besoin croissant de voyage des humains nécessitent de nouvelles approches pour le contrôle et l'éradication de la maladie.

La transmission continue du parasite tient au fait que nombre de sujets infectés par des parasites du paludisme restent asymptomatiques ou ne sont pas diagnostiqués et sont donc invisibles pour le système de santé. De plus, dans certains contextes, une proportion importante des sujets présentant une parasitémie dont la densité est si faible qu'elle ne peut être détectée avec les outils actuels de diagnostic de routine. Ces sujets contribuent involontairement au cycle de transmission du paludisme(3). Un vaccin pouvant interrompre la transmission de *P. falciparum* sera donc un outil valable dans la lutte et l'éradication de cette maladie<sup>4</sup>.

Le candidat vaccin, antipaludique le plus avancé en développement clinique, est la RTS,S, qui se trouve être un vaccin partiellement protecteur, en plus du fait que la durée de la protection qu'il confère est en deçà de l'optimale et il apparaît comme un vaccin qui limite les cas cliniques mais ne prévient pas l'infection(4–6). Ces vaccins bloquant la transmission du paludisme (TBVs) visent à induire chez l'hôte humain des anticorps anti sporogoniques. Ces anticorps seront repris lors du repas sanguin et bloqueront le développement du parasite chez le moustique et arrêtant ainsi la transmission à un autre hôte humain.

Le Pfs25 est un antigène de surface du *plasmodium falciparum* au stade de zygotes et d'ookinètes chez le moustique et exprimé uniquement chez l'hôte moustique(7). Contrairement aux autres antigènes malariques il n'y a pas eu d'exposition antérieure à Pfs25 chez l'hôte humain et avec un polymorphisme limité. Ainsi, Pfs25 est depuis longtemps considéré comme

un candidat vaccin, antipaludique de premier choix pour la mise au point d'un vaccin bloquant la transmission (8).

Bien que la protéine conjuguée recombinante EPA, n'est pas une composante de tous les vaccins homologués, elle a été largement étudiée comme un composant du vaccin contre la fièvre typhoïde et les vaccins conjugués contre les shigelloses et cela dans une gamme de doses similaires à celles qui ont été utilisées dans cette étude.

L'argument pour tester ces vaccins à base de Pfs25- Pfs230 combiné est que cette stratégie pourrait améliorer l'efficacité du blocage de la transmission. Premièrement, Pfs230 est exprimé tôt et Pfs25 est exprimé tard au cours du développement sexué du parasite. Cette différence temporelle dans l'expression pourrait avoir une double action. Deuxièmement, la combinaison pourrait diminuer la proportion des mauvais répondeurs comparée à une vaccination avec un seul antigène. Après les études de tolérance chez les animaux en phase préclinique, la première phase d'essai chez l'homme s'intéresse principalement à la tolérance.

Nous envisageons donc de tester chacun des composants (Pfs25 et Pfs230) en administration seule et en co-administration chez les adultes maliens exposés au paludisme.

## **2 OBJECTIFS**

### **2.1 Objectif General**

Evaluer la tolérance des candidats vaccins antipaludiques, Pfs25M-EPA/Alhydrogel<sup>®</sup> et Pfs230D1M-EPA/Alhydrogel<sup>®</sup> chez les adultes exposés au paludisme à Bancoumana (Mali).

### **2.2 Objectifs spécifiques**

- Déterminer la fréquence des événements indésirables enregistrés au cours du suivi des volontaires ;
- Déterminer la fréquence des grades de sévérité des événements indésirables enregistrés au cours du suivi des volontaires ;
- Déterminer la fréquence des relations de causalité des événements indésirables avec les produits de l'étude;

## **Critère de jugement :**

La fréquence des évènements indésirables locaux et systémiques et évènements indésirables graves chez les adultes au Mali.

### **3 QUESTION DE RECHERCHE**

Les candidats vaccins antipaludiques Pfs25M-EPA/Alhydrogel<sup>®</sup> et Pfs230D1M-EPA/Alhydrogel sont ils tolérés chez les adultes exposés au paludisme à Bancoumana?

### **4 REVUE DE LA LITTERATURE**

#### **4.1 Précis**

Depuis des décennies, un vaccin antipaludique est vivement attendu comme une nouvelle arme dans la lutte contre le paludisme. Plusieurs essais ont été conduits à travers le monde aussi bien dans les pays non endémiques que ceux endémiques. Les candidats vaccins antipaludiques se distinguent aujourd'hui en trois classes principales: Les candidats vaccins de la phase pré-érythrocytaire, de la phase érythrocytaire (phase asexué) et les candidats de la phase sexuée, appelés vaccins bloquant la transmission.

Il est bien évident que les vaccins anti sporozoitaires et anti-stades érythrocytaires asexués devront passer par les phases I, II, III et IV; cependant, les études des phases II et III ne s'appliquent pas aux vaccins destinés à bloquer la transmission, leur efficacité ne pouvant être étudiée qu'au cours des essais de phase IV(3). Pour être homologués ces vaccins devront par conséquent être soumis à des études exhaustives de phase I, pour que l'on recueille des preuves suffisantes de la tolérance à leur égard, de leur innocuité, de leur immunogénicité et de l'immunité fonctionnelle qu'ils confèrent chez tous les groupes cibles. Ils passeront alors directement aux essais de phase IV au cours desquels l'impact du vaccin sera le principal critère<sup>3</sup>.

#### **4.2 Rappel sur les différentes phases des essais cliniques**

Avant d'être l'objet d'essai clinique, les nouveaux produits passent d'abord par les des études précliniques sur les animaux, les tissus ou les cellules. C'est au cours de ces études que les doses minimales à tester chez l'homme sont déterminées. Avant de passer à l'homme, ces produits une fois scientifiquement testés en phase préclinique pour leur tolérance et toxicité font l'objet

d'une demande d'autorisation auprès des agences de réglementation comme la FDA aux USA pour aller en essai clinique donc en évaluation chez l'homme.

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

**Table I** : les quatre phases des essais cliniques.

<b>PHASE</b>	<b>BUT</b>
<b>Phase I ou phase précoce</b>	Constituent la première étape d'une étude chez l'homme. Les essais de phase I sont conçus pour évaluer : l'innocuité, la tolérance et les effets pharmacocinétiques et pharmacodynamiques du produit. Les participants sont généralement des volontaires sains peu nombreux (<20 - 80). Les essais de phase I incluent une augmentation progressive des doses ou une étude de dosage, et la dose de départ à utiliser chez l'homme est déterminée en fonction des études faites chez l'animal. Étant donné que le produit utilisé dans un essai de phase I est peu connu, il est important que le protocole de l'essai clinique définisse les règles d'arrêt de façon prospective, notamment en cas de toxicité inacceptable.
<b>Phase II ou phase intermédiaire</b>	Les essais de phase II sont réalisés auprès d'une population de patients plus importante (100-300). Le design est axé sur la maladie et évalue l'efficacité clinique du produit ainsi que son profil de tolérance à court terme dans la population choisie. Les essais de phase II peuvent se définir comme des « essais pilotes de phase II » conçus pour évaluer l'efficacité préliminaire ou bien la dose-réponse ou la posologie, à titre d'exemple. Il permet le choix de dose minimale efficace chez l'homme, un choix de traitement parmi plusieurs disponibles, évalue la tolérance (fréquence des effets indésirables) et étudie la pharmacocinétique chez l'homme.
<b>Phase III ou phase confirmative</b>	L'objectif principal de l'essai de phase III est de démontrer l'efficacité et l'innocuité du nouveau produit dans une

	<p>population de taille plus importante. Ces essais sont réalisés à grande échelle (ils peuvent inclure plusieurs centaines/milliers de patients) et visent à comparer le nouveau traitement aux traitements actuellement disponibles, ou à un placebo à l'absence de traitement. Les essais de phase III sont souvent désignés comme des essais « pivots » dans la mesure où ils permettent d'appuyer l'indication stipulée dans le dossier d'enregistrement.</p>
<p><b>Phase IV ou phase tardive</b></p>	<p>Les études de phase IV sont des études entreprises après la délivrance d'une autorisation de mise sur le marché. Ils sont conçus pour détecter toute réaction indésirable rare ou à long terme ou toute interaction avec d'autres médicaments dans une population générale ou dans un groupe de population spécifique. Les essais de phase IV peuvent également inclure des « études pharmaco-économiques », une « évaluation de l'efficacité ou de l'efficience d'une pratique médicale de routine », etc. (9,10)</p>

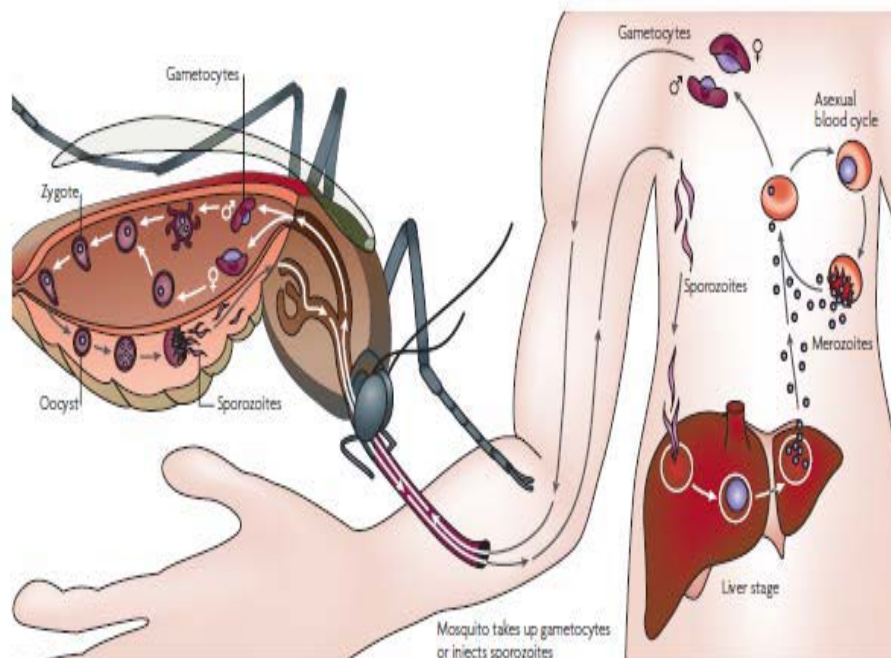
### 4.3 Rappel sur les candidats vaccins bloquant la transmission du paludisme

Les vaccins bloquant la transmission du paludisme (TBVs) visent à induire des anticorps anti-sporogoniques chez l'hôte humain. Ces anticorps seront repris lors du repas sanguin et bloqueront le développement du parasite chez le moustique et arrêtant ainsi la transmission à un autre hôte humain. Pfs25, est un antigène de surface du zygote et de l'ookinete au stade du développement du parasite chez le moustique. Il est exprimé uniquement chez le moustique hôte de *P. falciparum*(11). Le candidat vaccin, Pfs25 a longtemps été identifié comme un candidat potentiel pour bloquer la transmission du paludisme(12). Les chercheurs du « Laboratory of Malaria Immunology and Vaccinology (LMIV) du National Institutes of Health (NIH) » ont conjugué chimiquement Pfs25 à l'exo protéine A (EPA), une protéine mutante et détoxifiée de *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*). Ces conjugués ont induit des réponses d'anticorps significativement plus élevées au cours des études précliniques chez les souris, les lapins et les singes rhésus que le non conjugué de Pfs25(13,14).



Pfs230 est exprimé dans les gamétocytes, dans les érythrocytes, atteint sa maturation suite à une translocation à la surface des gamètes émergeant fraîchement des érythrocytes(15). La présence de la protéine Pfs230 est logique avec l'immunité anti Pfs230 observée chez les populations exposées au paludisme, ce qui a fait penser en anticipation qu'un vaccin à base de Pfs230 pourrait être naturellement boosté par l'infection palustre. Dans les études précliniques sur les animaux, pour faciliter la production de protéines recombinantes, plusieurs sub-domaines N-terminaux avec cette protéine de 300 kDa ont été testés et ont prouvé qu'ils sont capables d'induire des anticorps fonctionnels pouvant bloquer la transmission(16,17). Sur la base de ces résultats, utilisant une stratégie qualitative de conception, LMIV a développé et fabriqué un Pfs230D1M recombinant correspondant à la séquence de positions #542-#736 d'acides aminés de Pfs230 entier en utilisant *P. pastoris* comme système de production. Le Pfs230D1M recombiné de 20-kDa conjugué à EPA permet d'obtenir une forte activité de blocage de la transmission chez les souris, les rats et les singes Aotus. Chez les rats et les singes, les anticorps induits par une co-administration de Pfs25M-EPA et Pfs230D1M-EPA a aussi montré une forte activité de blocage de la transmission lors des essais de blocage de la transmission par membrane standard plus que celle induite par un des candidats pris séparément(18).

### 1.1 Rappel sur le cycle de vie du parasite



**Figure 1:** Cycle de vie du *Plasmodium falciparum*, ssp (19).

## 5 METHODOLOGIE

### 5.1 Cadre d'étude

L'étude s'est déroulée à Bancoumana, un village Malien hyper endémique au paludisme. Il est situé à 60 km au sud ouest de Bamako et a une population d'environ 9.000 habitants. Le site est situé dans la zone soudanienne sud du Mali. Le climat est chaud avec des températures journalières variant entre 19°C et 40°C. Les précipitations annuelles variant entre 600 mm 1200 mm et surviennent de Juin à Octobre.



**Figure 2:** Carte montrant le site d'étude, Bancoumana au Mali.

### 5.2 Type d'étude

Il s'agissait d'un essai clinique de phase 1, randomisée et en double aveugle, conçue pour évaluer la tolérance, de chancune des molécules Pfs25M-EPA et Pfs230D1M-EPA et en combinaison, conjugués et formulés dans l'Alhydrogel®.

### 5.3 Période d'étude

L'étude s'est déroulée d'Avril 2015 à Mars 2017.

## 5.4 Population d'étude

La population d'étude était constituée par des adultes de 18 à 50 ans, volontaires et résidants dans le village de Bancoumana et ses environs.

## 5.5 Taille de l'échantillon et Technique d'échantillonnage

Le nombre de sujets dans le bras1 de cinq sujets est le nombre minimal suffisant pour tester la tolérance par bras. Trois bras de cinq sujets chacun recevront soit 5 - 47 µg Pfs25M-EPA / Alhydrogel® ou Pfs230D1M-EPA / Alhydrogel® ou une combinaison des deux. La vaccination d'un bras de 5 sujets donne une probabilité d'au moins 0,80 pour détecter un ou plusieurs événements indésirables sérieux ou graves, qui se produiront avec une probabilité de 0,275 ou plus par sujet. Pour chaque niveau de dose qui a un Bras (n = 5), phase pilote, la vaccination de 55 sujets donne une probabilité d'au moins 0,90 pour détecter un ou plusieurs effets indésirables sérieux ou graves qui se produisent avec une probabilité de 0,041 ou plus par sujet. Si nous combinons tous les groupes traités, 165 sujets, nous avons 95% de puissance pour détecter un ou plusieurs effets indésirables sérieux ou graves qui se produiront avec une probabilité de 0,018 ou plus par sujet.

La taille de l'échantillon peut être calculée à partir de ce logiciel en ligne:

<http://marne.u707.jussieu.fr/biostatgv/?module=etudes/sujets#>.



The screenshot shows the BiostaTGV website interface. At the top, there is a navigation menu with links for 'Accueil', 'Tests Statistiques', and 'Etudes Cliniques'. Below the menu, there is a section titled 'Calcul du nombre de sujets nécessaires'. This section contains a table with five rows, each representing a different statistical test and its corresponding action button.

Calcul du nombre de sujets nécessaires	
Comparer deux proportions binomiales	Calculer
Comparer deux moyennes	Calculer
Tester l'équivalence de deux proportions binomiales	En travaux
Etudes cas-témoins	Calculer
Etudes cas croisée	Calculer

## 5.6 Conception de l'étude

Un total de 225 sujets, adultes ont été enrôlés dans l'étude pour recevoir à des doses croissantes soit Pfs25M-EPA/Alhydrogel<sup>®</sup>, Pfs230D1M-EPA/Alhydrogel<sup>®</sup>, ou simultanément Pfs25M-EPA/Alhydrogel<sup>®</sup> et Pfs230D1M-EPA/Alhydrogel<sup>®</sup>.

Les groupes étaient constitués comme suit :

### Group 1: Pfs25M-EPA/Alhydrogel<sup>®</sup>

- **Bras A1** (n=5), pour recevoir 16 µg Pfs25M-EPA/Alhydrogel<sup>®</sup> à J0, J28
- **Bras A2** (n=50), pour recevoir 47 µg Pfs25M-EPA/Alhydrogel<sup>®</sup> et le sérum salé isotonique à J0, J28, J168, J540

### Group 2: Pfs230D1M-EPA/Alhydrogel<sup>®</sup>

- **Bras B1** (n=5), pour recevoir 15 µg Pfs230D1M-EPA/Alhydrogel<sup>®</sup> à J0, J28
- **Bras B2** (n=50), pour recevoir 40 µg Pfs230D1M-EPA/Alhydrogel<sup>®</sup> et le sérum salé isotonique à J0, J28, J168, J540

### Group 3: Pfs230D1M-EPA/ Alhydrogel<sup>®</sup> ET Pfs25M-EPA/ Alhydrogel<sup>®</sup>

- **Bras C1** (n=5), pour recevoir 16 µg Pfs25M-EPA/Alhydrogel<sup>®</sup> ET 15 µg Pfs230D1M-EPA/Alhydrogel<sup>®</sup> à J0, J28
- **Bras C2** (n=50), pour recevoir 47 µg Pfs25M-EPA/Alhydrogel<sup>®</sup> ET 40 µg Pfs230D1M-EPA/Alhydrogel<sup>®</sup> à J0, J28, J168, J540

**Group 4: TWINRIX<sup>®</sup>** (Hépatite A/Hépatite B) et le sérum salé isotonique; Menactra<sup>®</sup> (vaccin contre le méningocoque) et le sérum salé isotonique pour la Vaccination #4 seulement

- **Bras D1** (n=5), pour recevoir TWINRIX<sup>®</sup> à J0, J28
- **Bras D2** (n=5), pour recevoir TWINRIX<sup>®</sup> et le sérum salé isotonique à J0, J28
- **Bras D3** (n=50), pour recevoir TWINRIX<sup>®</sup> et le sérum salé isotonique à J0, J28, J168; pour recevoir le Menactra<sup>®</sup> et le sérum salé isotonique à J540.

L'enrôlement était échelonné pour chaque groupe pour plus de sécurité. Aucun sujet n'a été enrôlé dans le groupe à administration simultanée qu'une fois que chaque dose individuelle de vaccin a été administrée et examinée pour la tolérance. Les sujets étaient suivis pendant une durée de 6 mois après la dernière vaccination. Les résultats de la tolérance ont été évalués sur la base des événements indésirables locaux et systémiques ainsi que des événements indésirables graves (EIG).

## **5.7 La randomisation**

La randomisation des participants dans l'étude s'est faite comme suit:

1) Bras A1, B1, et D1 ont été enrôlés 1-1-1 avec bloc de randomisation basé sur le temps enrôlement/randomisation;

2) Bras C1 et D2 étaient enrôlés 1-1 avec bloc de randomisation basé sur le temps enrôlement/randomisation;

3) Bras A2, B2, C2, et D3 ont été enrôlés avec le même bloc de randomisation basé sur le temps enrôlement/randomisation.

La randomisation stipule qu'il sera assigné au sujet un code de randomisation par le pharmacien qui est le numéro suivant non attribué de la liste de randomisation.

## **5.8 Les critères d'inclusion et de non inclusion**

### **Les critères d'inclusion**

Un volontaire devrait répondre à tous les critères suivants pour participer à l'étude:

- Age  $\geq 18$  et  $\leq 50$  ans.
- Résidant connu de Bancoumana ou des environs.
- Disponible pendant la durée de l'étude.

- Fournir une pièce d'identité ou toute autre preuve pour calculer l'âge à la satisfaction du clinicien de l'étude qui fait le processus d'enrôlement.
- Bon état général de santé et sans histoire d'antécédent médical significatif.
- Volontaire pour que ses échantillons de sang soient gardés pour des futures recherches.
- Les femmes en âge de procréer doivent utiliser une méthode de contraception fiable (définie comme suit) à partir de 21 Jours avant le Jour 0 de l'Etude à 3 mois après la dernière vaccination.
  - Une méthode contraceptive fiable inclue **une** des méthodes suivantes: délivrance de contraceptifs (parentérale) pharmacologiquement confirmée; dispositif intra utérin ; ou d'implant.
  - Une méthode contraceptive fiable inclue l'utilisation concomitante de méthode pharmacologique et de barrière telles que **deux** des méthodes suivantes : délivrance de contraceptifs pharmacologiquement confirmée (oraux, transdermiques) ou anneau vaginal et condoms avec spermicide ou diaphragme avec spermicide.
  - Abstinence pour les femmes, en âge de procréer.
  - Les femmes, qui ne sont pas en âge de procréer seront tenues de rapporter la période de la date de leur dernière règle, histoire de stérilité chirurgicale (telle que la ligature des trompes et l'hystérectomie) ou une insuffisance ovarienne prématurée (IOP) et auront un test standard de grossesse sur l'urine ou le sérum.

### **Les critères de non Inclusion**

**Les volontaires**, répondant à un des critères ci-après n'étaient pas enrôlés dans l'étude :

- Grossesse déterminée par un test positif d'urines ou un test de sérum humain à l'hormone choriogonadotropine ( $\beta$ -hCG).  
NOTE: La grossesse est aussi un critère d'arrêt pour tout dosage futur ou toute intervention non liée à l'innocuité pour le sujet.
- Allaitement en cours.

- Maladie comportementale, cognitive, ou psychiatrique qui, selon l'avis du chercheur, affecte la capacité de la volontaire à comprendre et à coopérer avec l'exécution du protocole de l'étude.
- Valeur de l'Hémoglobine, des globules blancs et des plaquettes au delà de la limite normale définie par le laboratoire local (un sujet peut être inclus à la discrétion du PI pour une valeur au delà de la limite normale mais cliniquement non significative).
- Valeur de l'alanine transaminase (ALT) ou de la créatinine (Cr) au delà de la limite supérieure définie par le laboratoire (un sujet peut être inclus à la discrétion du PI pour une valeur au delà de la limite normale mais cliniquement non significative).
- Infection au virus de l'immunodéficience humaine (VIH), au virus de l'hépatite C (VHC), ou au virus de l'hépatite B (VHB).
- Evidence clinique significative de maladie neurologique, cardiaque, pulmonaire, hépatique, endocrinienne, rhumatologique, auto immune, hématologique, oncologique, ou rénale dans l'histoire médicale, l'examen physique et/ou aux examens de laboratoire y compris l'analyse des urines.
- Antécédent d'administration de tout produit expérimental dans les 30 jours précédents.
- Participation ou projet de participation à un essai clinique avec un produit de recherche avant la fin de la visite de suivi du jour 28 après la dernière vaccination, **OU** la participation prévue à une étude de vaccin expérimental jusqu'à la dernière visite de suivi requise par le protocole.
- Volontaire ayant eu des problèmes médicaux, professionnels, ou familiaux par suite d'alcoolisme ou d'usage illicite de médicaments dans les 12 derniers mois.
- Antécédent d'allergie grave ou de choc anaphylactique.
- Asthme sévère, défini comme: Asthme qui est instable ou nécessite des soins urgents, une hospitalisation, une intubation durant les deux dernières années ou qui nécessite l'utilisation orale ou parentérale des corticoïdes à n'importe quel moment pendant les deux années écoulées
- Préexistence de maladie auto immune ou de maladie d'anticorps incluant mais pas limitée aux: lupus érythémateux systémique, polyarthrite rhumatoïde, sclérose multiple, syndrome de Sjögren, ou la thrombocytopénie auto-immune.
- Syndrome d'immunodéficience connu.

- Asplénie connue ou asplénie fonctionnelle
- Utilisation chronique (>14 jours) par voie orale ou intraveineuse de corticostéroïdes (excluant les formes topiques ou nasales) à dose immunosuppressive (telle que la prednisonne > 10mg/jour) ou de médicaments immunosuppresseurs dans les 30 jours précédant le début de l'étude.
- Administration avant de s'inscrire à l'étude (Jour 0) d'un vaccin vivant lors des quatre dernières semaines ou un vaccin inactivé lors des deux dernières semaines avant.
- Administration d'immunoglobulines ou de produits dérivés du sang lors des 6 derniers mois.
- Administration antérieure de vaccin antipaludique expérimental dans les cinq dernières années.
- Toute autre condition, qui de l'avis de l'investigateur pourrait bafouer la sécurité et les droits du participant, interférer avec l'évaluation des objectifs de l'étude, ou rendre le sujet inapte à suivre les procédures de l'étude.
- Antécédent d'allergie à un des composants du vaccin (ex., néomycine).

## **5.9 Déroulement, procédures et variables mesurées**

La permission communautaire a été obtenue auprès des notables des villages et des chefs de familles au sein de la communauté après explication du protocole et discussion sur l'étude au cours d'une rencontre communautaire.

### **5.9.1 Le dépistage**

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

Les évaluations suivantes étaient effectuées avant la vaccination :

- Expliquer les procédures de l'étude / consentement éclairé au volontaire ;
- S'assurer que le volontaire a signé le formulaire de consentement éclairé et a reçu une copie signée du formulaire de consentement éclairé signé.
- S'assurer qu'il a répondu correctement avec un score  $\geq 80\%$  aux questions lors de l'examen de compréhension du paludisme.



- Rechercher des antécédents médicaux complets, y compris les antécédents des menstruations et de contraception et/ou des antécédents de stérilité chirurgicale chez les femmes.
- Les femmes en âge de procréer doivent être disponibles pour utiliser une méthode contraceptive pendant une période allant au moins du dépistage à trois mois après la dernière vaccination.
- Faire un examen physique complet y compris les signes vitaux (poids, taille, tension artérielle, température, battements du cœur).
- Test de dépistage du VIH avec conseils avant et après conformément aux directives nationales du Mali, incluant le contact de la personne pour rapporter le résultat, le suivi et pour des soins appropriés si nécessaire
- Obtenir environ 10-15 ml de sang pour la Numération Formule Sanguine (NFS) et le nombre de plaquettes, le dosage de l'ALAT, le dosage de la créatinémie, l'antigène de surface de l'hépatite B, l'anticorps de l'hépatite C et les anticorps de dépistage du VIH.
- Obtenir de l'urine (ou du sérum) pour le test de grossesse pour les femmes et le test de bandelettes pour la recherche de protéines et de sang dans les urines.

En cas de découverte d'une maladie chronique et/ou HIV, Hépatites B, C au cours du dépistage, le traitement et les soins à long terme ne seront pas pris en charge par l'étude. De tels volontaires étaient référés pour des soins continus dans une structure appropriée.

Conformément aux exigences nationales des états en matière de déclaration de maladies transmissibles, les résultats des tests positifs pour le VIH, le VHB et le VHC ont été signalés au service de santé local conformément aux lois applicables et références médicales en vigueur.

Toutes les pathologies aiguës curables étaient prises en charge jusqu'à la guérison à la charge de l'étude.

### **5.9.2 L'enrôlement**

L'enrôlement dans l'étude était fait en double aveugle et en randomisation en bloc à l'intérieur de chacun des groupes suivants:

Groupe 1, Bras A1 (n=5); Groupe 2, Bras B1 (n=5), Groupe 4, Bras D1 (n=5) – total 15

Groupe 3, Bras C1 (n=5); Groupe 4, Bras D2 (n=5) – total 10

Groupe 1, Bras A2 (n=50); Groupe 2, Bras B2 (n=50); Groupe 3, Bras C2 (n=50); Groupe 4, Bras D3 (n=50) – total 200.

### **5.9.3 Evaluations cliniques et biologiques**

#### **Paramètres Cliniques**

A chacune des visites programmées et à chaque visite imprévue pour une raison médicale quelconque, les signes vitaux (Tension artérielle, température, et fréquence cardiaque) étaient évalués. Tous les événements étaient enregistrés et la relation avec les produits en investigation était établie conformément à la norme standard ICH-GCP. Il en était de même pour la détermination de la gravité des événements.

#### **Paramètres de laboratoire**

Les tests suivants étaient effectués:

- Numération formule sanguine complète (NFS). Les paramètres suivants de la NFS étaient évalués pour la tolérance durant l'étude : Globules blancs, nombre absolu de neutrophiles (ANC)/ nombre absolu de granulocytes (AGC), le taux d'hémoglobine et les plaquettes,
- Créatinine sérique (Cr)
- Alanine aminotransferase (ALT)
- Tests de grossesse du  $\beta$ -hCG sur le sérum et/ou l'urine.

### **5.9.4 Administration des vaccins et suivi des participants**

A chacune des vaccinations (Jours 0, 28, 168 et 540 de l'étude, ces évaluations/procédures ont été faites avant l'administration du vaccin:

- Vérification de l'obtention du consentement Eclairé.
- Vérification si tous les critères d'inclusion et de non inclusion sont respectés par le participant.

- S'assurer que les valeurs biologiques lors du dépistage tel que la NFS et le nombre de plaquettes, l'ALAT, la créatinémie, VIH/VHC/VHB et les tests urinaires sont dans les limites normales définies (voir critères de non inclusion ci haut) avant la vaccination
- Un examen clinique complet en s'orientant sur les plaintes aiguës.
- Prise des signes vitaux (Tension artérielle, température, et fréquence cardiaque).
- Pendant l'examen physique, le personnel de l'étude informera le participant des signes et symptômes des événements indésirables potentiels (EIs), et les indications d'utilisation d'antipyrétique (acétaminophène/paracétamol ou de l'ibuprofène) en cas de fièvre, céphalées ou malaise.
- Pour les femmes, obtenir de l'urine ou un échantillon de sérum pour le test de grossesse pour la présence de  $\beta$ -hCG. S'assurer que le test est négatif avant de procéder à la vaccination; un test positif exclura la participante de l'essai.
- S'assurer que pour les femmes il y a un accord sur la contraception avant la vaccination
- Prélèvement d'environ **10 ml** de sang pour la NFS et le nombre de plaquettes, le dosage de l'ALT, le dosage de la créatinémie.
- Confirmation que les critères d'inclusion/de non inclusion sont remplis avant la vaccination comme indiqué.
- Confirmation de l'éligibilité pour recevoir la vaccination

Les évaluations/procédures suivantes ont été suivies après la vaccination:

- Observer le participant pendant au moins 30 minutes après la vaccination pour évaluer les réactions indésirables immédiates.
- Report des signes vitaux (Tension artérielle, Température, et fréquence cardiaque).
- Un examen clinique orienté sur les plaintes.
- Enregistrement des EIs et médicaments concomitants si applicable.

Un jour après chacune des vaccinations soit jour1 de l'étude, les évaluations suivantes ont été faites :

- Une revue de la carte/journal des symptômes avec le participant.
- Rapporter les EIs et les traitements concomitants si applicables.
- Référer le participant pour une évaluation clinique si applicable.
- Un interrogatoire et un examen physique (incluant le site d'injection) et évaluation de toute plainte aiguë.
- Prise des signes vitaux (Tension artérielle, température, et fréquence cardiaque).

- Report les EIs et les traitements concomitants si applicables.

Trois jours après chacune des vaccinations soit jour 3 de l'étude, les évaluations suivantes ont été faites :

- Un interrogatoire et un examen physique (incluant le site d'injection) et évaluation de toute plainte aiguë.
- Prise des signes vitaux (Tension artérielle, température, et fréquence cardiaque).
- Report les EIs et les traitements concomitants si applicables.
- Obtenir approximativement 8-10 mL de sang pour la NFS avec le compte des plaquettes, l'ALT, la créatinine.

Sept jours après chacune des vaccinations soit jour 7 de l'étude, les évaluations suivantes ont été faites

Faire une revue de la carte/journal des symptômes avec le participant (aux USA seulement) .

- Un interrogatoire et un examen physique (incluant le site d'injection) et l'évaluation de toute plainte aiguë.
- Prise des signes vitaux (Tension artérielle, température, et fréquence cardiaque).
- Repport des EIs et les traitements concomitants si applicables.
- Obtention de 10 mL de sang pour les analyses cellulaires.

Quatorze jours après chacune des vaccinations soit jour 14 de l'étude, les évaluations suivantes ont été faites

- Un interrogatoire et un examen physique orienté sur l'évaluation de toute plainte aiguë.
- Prise des signes vitaux (Tension artérielle, température, et fréquence cardiaque).
- Report des EIs et les traitements concomitants si applicables.
- Obtention de 11 mL de sang pour la NFS, avec le compte des plaquettes, l'ALT, la créatinine, et les anticorps anti-Pfs25M et anti-Pfs230 par ELISA.
- Les gouttes épaisses pour le paludisme.

Le jour 56 de l'étude, les évaluations suivantes ont été réalisées.

- Un examen clinique et une évaluation de toute plainte physique.

- Prise des es signes vitaux (Tension artérielle, température, et fréquence cardiaque).
- Report des EIs et les traitements concomitants si applicables.

Chaque mois après le jour 56 de l'étude et cela jusqu'à la fin de l'étude (soit Jour 730), il a été procédé aux évaluations ci après :

- Un examen clinique et une évaluation de toute plainte physique.
- Prise des signes vitaux (Tension artérielle, température, et fréquence cardiaque)
- Report des EIs non sollicités, EIGs, UPs, et NOCIs et les médications chroniques si applicable.
- des gouttes épaisses pour le paludisme.

Chaque 3 mois, en plus des éléments cités ci-dessus, une numération formule sanguine, le dosage de l'ALAT et de la créatinine sérique ont été réalisées et cela jusqu'à la fin de l'étude soit le d'étude 730.

#### **5.9.5 Critères d'arrêt de l'étude**

Les données de l'étude étaient surveillées et une notification était faite selon la présence et l'intensité des événements indésirables. Les EIs étaient évalués en fonction des complications connues associées à l'administration des composants du vaccin. Si une dose de vaccin est considérée réactogène de façon inacceptable (comme décrit par les critères suivants), l'étude devrait être arrêtée. Aucune nouvelle inclusion et aucune vaccination supplémentaire ne devraient être effectuées jusqu'à l'examen des données par le comité de monitoring (SMC) et le sponsor.

Les critères suivants étaient utilisés pour définir la réactogénicité inacceptable du vaccin antipaludique:

- Un ou plusieurs volontaires ont développé un EIG, reconnu comme probablement ou définitivement lié aux vaccins **ou**
- Un ou plusieurs volontaires ont connu une réaction d'hypersensibilité qui est probablement ou définitivement liée au vaccin **ou**
- Toute maladie cliniquement grave, qui survient et qui n'est pas expliquée par une condition médicale connue **ou**

- Trente pour cent des sujets ont eu un EI de laboratoire de grade 2 ou plus, ou un EI de grade 3 déterminé comme étant probablement, ou définitivement lié au vaccin ou
- Dix pour cent des sujets d'un des bras développent un EI de réactogénicité locale de grade 3 ou plus **ou**
- Toute autre problème, qui de l'avis de l'investigateur doit faire arrêter l'étude.

### 5.10 Evaluation de la tolérance

Les grades de sévérité et de toxicité sont consignés dans les tableaux ci-après:

**Table II:** Grade de toxicité de la réactogénicité locale

Réaction Locale au produit injecté	Leger (Grade 1)	Modéré (Grade 2)	Grave (Grade 3)	Met potentiellement en jeu le pronostic vital (Grade 4)
Douleur	N'interfère pas avec les activités	L'utilisation répétée d'analgésique non narcotique > 24 heures ou interfère avec l'activité	Toute utilisation d'analgésique narcotique ou qui empêche activité quotidienne	Service d'urgence (ER) ou visite d'hospitalisation
Erythème/Rougeur <sup>1</sup>	2,5 – 5 cm	5,1 – 10 cm	> 10 cm	Nécrose ou dermatites exfoliatives
Induration/Oedème <sup>2</sup>	2,5 – 5 cm et n'interfère pas avec l'activité	5,1 – 10 cm ou Interfère avec L'activité	> 10 cm ou Prévient l'activité journalière	Nécrose



**Tableau III:** Grade de toxicité des signes vitaux

Signes Vitaux <sup>1</sup>	Léger (Grade 1)	Modéré (Grade 2)	Grave (Grade 3)	Potentiellement menaçant la vie (Grade 4)
Fever <sup>2</sup> (°C)	38.0 – 38.4	38.5 – 38.9	39.0 – 40	> 40
(°F)	100.4 – 101.1	101.2 – 102.0	102.1 – 104	> 104
Tachycardie – battements par minute	101 – 115	116 – 130	> 130	Visite ER ou Hospitalisation pour arythmie
Bradycardie battements par minute <sup>3</sup>	50 – 54	45 – 49	< 45	Visite ER ou Hospitalisation pour arythmie
Hypertension (systolique) - mm Hg	141 – 150	151 – 155	> 155	Visite ER ou Hospitalisation pour hypertension maligne
Hypertension (diastolique) - mm Hg	91 – 95	96 – 100	> 100	Visite ER ou Hospitalisation pour hypertension maligne
Hypotension (systolique) – mm Hg	85 – 89	80 – 84	< 80	Visite ER ou Hospitalisation pour choc hypotensif



**Tableau IV:** Grade de toxicité des événements indésirables systémiques

Événements Indésirables Systémiques	Légers (Grade 1)	Modérés (Grade 2)	Graves (Grade 3)	Potentiellement menaçant la vie (Grade 4)
Diarrhée	2 – 3 de vaccins légers ou < 400 gms/24 heures	4 – 5 vaccins ou 400 – 800 gms/24 heures	6 épisodes ou plus selles diarrhéiques ou > 800gms/24 heures Ou exige hydrations IV en consultation externe	Visite ER ou hospitalisation
Céphalées	Pas de perturbation d'activité	Prise répétée d'analgésique non-narcotique > 24 heures ou Quelques perturbations de d'activité	Important; toute prise d'analgésique narcotique ou empêche l'activité quotidienne	Visite ER ou hospitalisation
Fatigue/Malaise	Pas de perturbation d'activité	Prise répétée d'analgésique non-narcotique > 24 heures ou Quelques perturbations d'activité	Important; toute prise d'analgésique narcotique ou empêche l'activité quotidienne	Visite ER ou hospitalisation
Myalgie	Pas de perturbation d'activité	Prise répétée d'analgésique non-narcotique > 24 heures ou	Important; toute prise d'analgésique narcotique ou empêche l'activité	Visite ER ou hospitalisation

Evénements Indésirables Systémiques	Légers (Grade 1)	Modérés (Grade 2)	Graves (Grade 3)	Potentiellement menaçant la vie (Grade 4)
		Quelques perturbations de d'activités	quotidienne	
Arthralgie	Pas de perturbation d'activité	Prise répétée d'analgésique non-narcotique > 24 heures ou Quelques perturbations de d'activité	Important; toute prise d'analgésique narcotique ou empêche l'activité quotidienne	Visite ER ou hospitalisation
Dyspnée	Dyspnée en exercice	Dyspnée avec activité normale	Dyspnée au repos	Exige l'hospitalisation
Nausée/vomissement	Pas de perturbation d'activité ou 1 – 2 épisodes/24 heures	Quelques perturbations d'activité ou > 2 épisodes/24 heures	Empêche l'activité quotidienne, exige hydrations IV en consultation externe	Visite ER ou hospitalisation pour choc hypotensif
Urticaire	Pas de perturbation d'activité	Exige PO ou traitement topical > 24 heures ou IV médicaments ou stéroïdes pour ≤24 heures	Nécessitant un traitement en IV ou r stéroïdes pour >24 heures	Visite ER ou hospitalisation

**Tableau IV:** Grade de toxicité des événements indésirables de laboratoire

<b>Hématologie et Biochimie</b>	<b>Léger (Grade 1)</b>	<b>Modéré (Grade 2)</b>	<b>Sévère (Grade 3)</b>	<b>Mise en jeu du pronostic vital (Grade 4)</b>
<b>Hémoglobine (Homme) - gm/dL</b>	9.5 – 11.0	8.0 – 9.4	6.5 – 7.9	< 6.5 and / ou require une transfusion
<b>Hémoglobine (Femme) gm/dL</b>	8.0 – 9.0	7.0 – 7.9	6.0 – 6.9	< 6 and / ou require une transfusion
<b>Hyperleucocytose – 10<sup>3</sup>/μL</b>	11.5 – 15.0	15.1 – 20.0	20.1 – 25.0	> 25.0
<b>Leucopenie - 10<sup>3</sup>/μL</b>	2.5 – 3.3	1.5 – 2.4	1.0 – 1.4	< 1.0 avec fièvre
<b>Granulocypenie - 10<sup>3</sup>/μL</b>	0.8 – 1.0	0.5 – 0.7	< 0.5	< 0.5 avec fièvre
<b>Thrombocytopenie – 10<sup>3</sup>/μL</b>	100 – 115	70 – 99	25 – 69	< 25

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

**Définitivement Liée**

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

**Probablement Liée**

- Relation temporelle raisonnable existe entre la survenue de l’EI et l’administration du produit ;
- Suit un modèle de réponse présumé ;
- Pas de preuve d'une autre cause plus probable.

### **Peut être Liée**

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

### **Relation peu probable**

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

### **Non Liée**

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

## **5.11 Collecte, Traitement et analyse des données**

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

Les données ont été analysées sur SPSS 20.0 pour faire les fréquences des EIs, des grades de toxicité et des relations de causalité. Le test du  $K^2$  a été utilisé pour comparer les différents traitements.

## **5.12 Considerations éthiques**

L'étude a été approuvée par les comités d'éthiques de la FMPOS et du NIAID/NIH. Aussi, tous les amendements subséquents au protocole ont été soumis à ces deux comités d'éthiques et une approbation a été obtenue à chaque fois avant la mise en œuvre des changements apportés.

La participation à l'étude était volontaire et, chaque participant avait la possibilité de retirer son consentement à tout moment durant la conduite de l'étude.

La confidentialité des données a été maintenue conformément aux exigences réglementaires. Seul le personnel autorisé avait accès aux données de l'étude et, il n'y avait qu'un numéro d'étude sur le dossier médical de chaque participant.

## 6 RESULTATS

Le critère d'intérêt ou de jugement est la fréquence des événements indésirables sollicités (les événements indésirables systémiques et les réactions locales au site d'injection) et la survenue d'événement indésirable grave lié à un des produits en investigation. La fréquence de chacune des catégories d'événements indésirables sollicités de même celle des événements indésirables en général (c'est-à-dire tout autre événement survenu au cours du suivi) sont présentés ici avec leurs caractéristiques de grade de sévérité et de relation de causalité avec les différents produits de l'étude. L'appréciation de la tolérance est faite en fonction de la fréquence et de la sévérité des événements indésirables sollicités ou graves qualifiés comme étant en relation avec les produits en investigation.

### 6.1 La population d'étude

**Tableau VI:** Caractéristiques générales de la population d'étude.

	Sexe		Total
	Masculin	Féminin	
<b>18 - 35 ans</b>	70(31,1)	17(7,6)	87(38,7)
<b>Plus de 35 ans</b>	90(40,0)	48(21,3)	138(61,3)
<i>Moyenne âge = 37,27 ans</i>			
<b>Total</b>	<b>160 (71,1)</b>	<b>65 (28,9)</b>	<b>225(100)</b>

La moyenne d'âge de notre cohorte était de 37,27 ans. La population d'étude était à prédominance masculine. Nous avons noté néanmoins une forte prédominance des femmes dans la tranche d'âge de plus de 35 ans comparée au groupe de 18 – 35 ans.

## 6.2 Résultats de la tolérance sur la cohorte pilote de 25 volontaires.

**Tableau VI:** Fréquence n(%) des différentes catégories d'évènements indésirables au sein la cohorte de 25 participants selon le vaccin reçu.

<b>Vaccins</b>						
<b>EIs/</b>	<b>Pfs230</b>	<b>Pfs25M</b>	<b>Pfs25M+Pfs230</b>	<b>Twinrix</b>	<b>Twinrix+S. salé</b>	<b>Total</b>
	<b>n=5</b>	<b>n=5</b>	<b>n=5</b>	<b>n=5</b>	<b>n=5</b>	
<b>Systémiques</b>	1(12,5)	1(12,5)	3(37,5)	1(12,5)	2(25,0)	8(9,2)
<b>Locales</b>	0(0,0)	4(28,6)	6(42,9)	1(7,1)	3(21,4)	14(16,1)
<b>Biologiques</b>	5(41,7)	1(8,3)	2(16,7)	0(0,0)	4(33,3)	12(13,8)
<b>Autres EIs</b>	10 (18,9)	13(24,5)	13(24,5)	9(17,0)	8(15,1)	53(60,9)
<b>Total</b>	<b>16 (18,4)</b>	<b>19 (21,8)</b>	<b>24(27,6)</b>	<b>11(12,7)</b>	<b>17(19,5)</b>	<b>87(100)</b>

Les réactions locales aux sites d'injection étaient plus fréquentes que les autres catégories d'évènements indésirables systémiques. Le bras de traitement le plus concerné était celui de l'association Pfs25M et Pfs230. Ce bras de traitement a enregistré en outre plus d'évènements indésirables en général. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les différents vaccins  $p=0,257$ .

**Tableau VIII:** Fréquence n(%) de l'intensité/sévérité des événements indésirables selon le type de vaccin reçu chez les 25 participants

Sévérité /	Vaccins reçus					Total
	Pfs230 n=5	Pfs25M n=5	Pfs230+ Pfs25M n=5	Twinrix n=5	Twinrix+Saline n=5	
1	5(12,8)	7(17,9)	16(41,0)	4(10,3)	7(17,9)	39(44,8)
2	8(18,6)	12(27,9)	7(16,3)	6(14,0)	10(23,3)	43(49,4)
3	1(33,3)	0(0,0)	1(33,3)	1(33,3)	0(0,0)	3 (3,5)
4	2(100)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	2(2,3)
<b>Total</b>	<b>16(18,4)</b>	<b>19(21,8)</b>	<b>24(27,6)</b>	<b>11(12,7)</b>	<b>17(19,5)</b>	<b>87(100)</b>

Les évènements aduerses étaient en majorité de grade léger à modéré quelque soit le vaccin reçu. Les évènements de grade 3 (qui interféraient ou qui empêchaient les activités quotidiennes) étaient très rares. Il n'y avait aucune différence statistiquement significative entre les différents traitements après correction de Bonfferroni au niveau 0,5.

**Tableau IX:** Fréquence n(%) des différentes relations de causalité selon le vaccin reçu chez les 25 participants.

Causalité/	Vaccin reçu					Total
	Pfs230	pfs25M	Pfs25M+Pfs230	Twinrix	Twinrix+saline	
1	10(17,2)	14(24,1)	14(24,1)	10(17,2)	10(17,2)	58(66,7)
2	4(44,4)	1(11,1)	1(11,1)	0(0,0)	3(33,3)	9(10,3)
3	1(33,3)	0(0,0)	1(33,3)	0(0,0)	1(33,3)	3(3,4)
4	1(33,3)	0(0,0)	2(66,7)	0(0,0)	0(0,0)	3(3,4)
5	0(0,0)	4(28,6)	6(42,9)	1 (7,1)	17(19,5)	14(16,1)
<b>Total</b>	<b>16(18,4)</b>	<b>19(21,8)</b>	<b>24(27,6)</b>	<b>11(12,7)</b>	<b>17(19,5)</b>	<b>87(100)</b>

Les évènements indésirables étaient plus souvent qualifiés comme étant non reliés ou peu de chance d'être reliés aux différents vaccins en général (causalité 1 et 2). L'association Pfs25M+Pfs230 a enregistré la plus forte fréquence d'évènements qualifiés comme étant définitivement reliés au vaccin reçu (causalité 5).



**Tableau VIII:** Fréquence n(%) des différentes catégories d'évènements indésirables au sein la cohorte de 25 participants selon la catégorie (comparateurs ou expérimentaux) de vaccin reçu.

<b>Catégorie de vaccin</b>			
<b>EIs/</b>	<b>Comparateurs (n=10)</b>	<b>Expérimentaux (n=15)</b>	<b>Total</b>
<b>Systémiques</b>	3(37,5)	5(52,5)	8(9,2)
<b>Locaux</b>	4(28,6)	10(71,4)	14(16,1)
<b>Biologiques</b>	4(33,3)	8(66,7)	12(13,8)
<b>Autres EIs</b>	17(32,1)	36(67,9)	53(60,9)
<b>Total</b>	<b>28(32,2)</b>	<b>59(67,8)</b>	<b>87(100)</b>

Nous n'avons noté aucune différence statistiquement significative entre le vaccin comparateur et les vaccins expérimentaux.

**Tableau IXI:** Fréquence n(%) des différents niveaux de l'intensité (grades de sévérité) des évènements indésirables en fonction des traitements au sein de la cohorte de 25 participants

<b>Catégorie de vaccin</b>			
<b>Sévérité /</b>	<b>Comparateurs (n=10)</b>	<b>Expérimentaux(15)</b>	<b>Total</b>
<b>1</b>	11(28,2)	28(71,8)	39(44,8)
<b>2</b>	16(37,2)	27(62,7)	43(49,4)
<b>3</b>	1(33,3)	2(66,7)	3(3,4)
<b>4</b>	0(0,0)	2(100)	2(2,3)
<b>Total</b>	<b>28(32,2)</b>	<b>59(67,8)</b>	<b>87(100)</b>

Les grades de sévérité léger et modéré étaient plus fréquents dans les deux groupes de traitement. Nous n'avons pas trouvé de différence statistiquement significative entre les deux groupes. Les cas de grade sévère (2 cas) dans le bras vaccin concernaient des désordres biologiques qui n'étaient pas cliniquement significatifs.

**Tableau XII:** Fréquence n(%) des relations de causalité des évènements indésirables en fonction des traitements au sein de la cohorte de 25 participants.

<b>Type de vaccin</b>			
<b>Causalité /</b>	<b>Comparateur (n=10)</b>	<b>Expérimental (n=15)</b>	<b>Total</b>
1	20(34,5)	38(65,5)	58(66,7)
2	3(33,3)	6(66,7)	9(10,3)
3	1(33,3)	2(66,7)	3(3,4)
4	0(0,0)	3(100)	3(3,4)
5	4(28,6)	59(67,8)	63(72,4)
<b>Total</b>	<b>28(32,2)</b>	<b>59(67,8)</b>	<b>87(100)</b>

Les relations de causalité étaient comparables entre les traitements.

**Tableau XIII:** Fréquence n(%) des différentes catégories d'évènements indésirables après la première et la deuxième vaccination chez les 25 participants.

<b>Vaccinations</b>			
<b>EIs/</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>Total</b>
<b>Systémiques</b>	2(25,0)	6(75,0)	8(9,2)
<b>Locaux</b>	6(42,9)	8(57,1)	14(16,1)
<b>Biologiques</b>	4(33,3)	8(66,7)	12(13,8)
<b>Autres EIs</b>	12(26,6)	41(77,4)	53(60,9)
<b>Total</b>	<b>24(27,6)</b>	<b>63(72,4)</b>	<b>87(100)</b>

*P=0,474*

La distribution des événements indésirables était homogène entre les deux vaccinations. Il en était de même pour les événements indésirables sollicités.

**Tableau XIIV:** Fréquence n(%) des événements indésirables selon qu'ils soient sollicités ou non chez les 25 participants en fonction des traitements

EIs/	Vaccin reçu					Total
	Pfs230	Pfs25M	Pfs230+ Pfs25M	Twinrix	Twinrix+Saline	
<b>Sollicités</b>	5(19,2)	5(19,2)	8(30,8)	1(3,8)	7(26,9)	26(29,9)
<b>Non sollicités</b>	11(18,0)	14(23,0)	16(26,2)	10(16,4)	10(16,4)	61(71,1)
<b>Total</b>	16(18,4)	19(21,8)	24(27,6)	11(12,7)	17(19,5)	87(100)

Les fréquences des événements indésirables sollicités et non sollicités étaient comparables quelque soit le vaccin reçu ( $p=0,39$ ).

**Tableau XIIIIV:** Fréquence n(%) des événements indésirables selon qu'ils soient sollicités ou non chez les 25 participants en fonction des traitements.

	Vaccin reçu		Total
	Comparateur (n=10)	Expérimental (n=15)	
<b>Sollicités</b>	8(30,8)	18(69,2)	26(29,6)
<b>Non sollicités</b>	20(32,8)	41(67,2)	61(71,1)
<b>Total</b>	<b>28(32,2)</b>	<b>59(67,8)</b>	<b>87(100)</b>

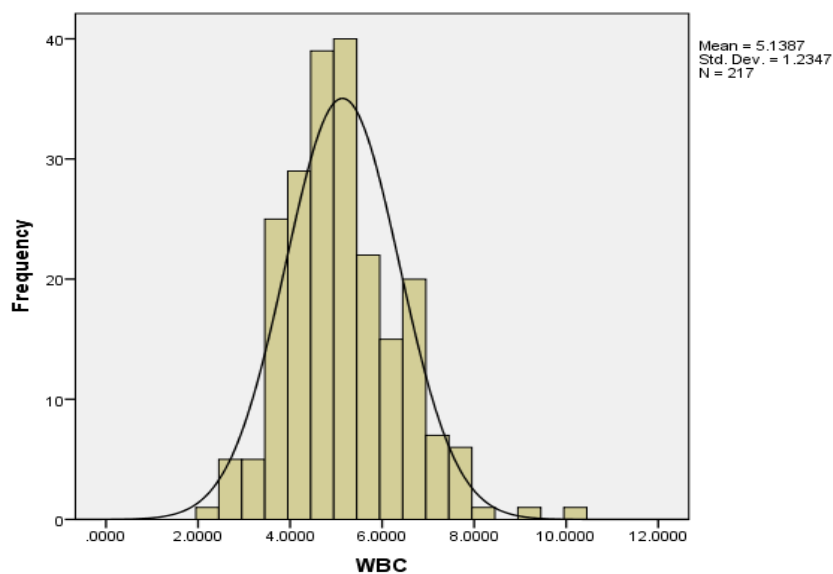
Les fréquences des événements indésirables sollicités et non sollicités étaient plus élevées dans le bras vaccin expérimental. Cette différence était statistiquement non significative ( $p = 0,53$ ).

### 6.3 Tendance des valeurs des paramètres hématologiques et de la biochimie au sein de la cohorte de 225 participants au jour zéro de l'étude.

**Tableau XVI:** Moyenne des globules blancs, de l'hémoglobine, des neutrophiles, des plaquettes, de la créatinine sérique et de l'alanine amino transférase (ALT).

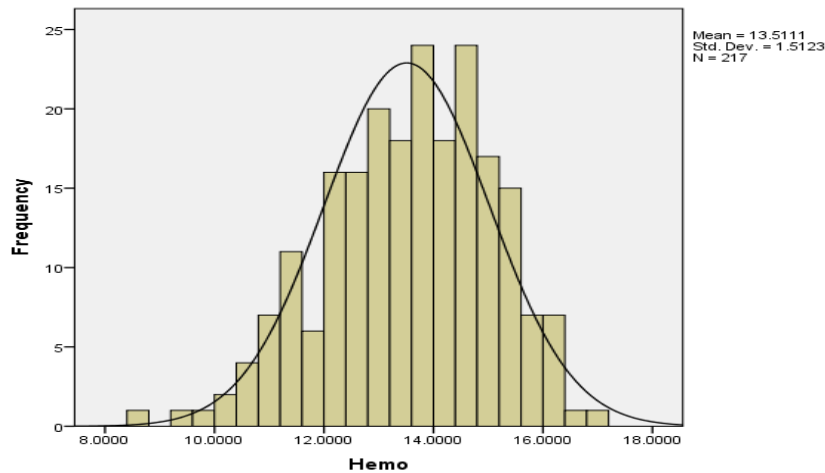
	Moyenne	Ecart type
<b>Globules blancs</b>	5,13	1,23
<b>Hémoglobine</b>	13,51	1,51
<b>Neutrophiles</b>	2,16	0,83
<b>Plaquettes</b>	246,53	63,49
<b>Créatinine</b>	85,44	13,20
<b>ALT</b>	16,45	6,32

Les valeurs moyennes des paramètres biologiques sont proches des normes définies au laboratoire clinique.



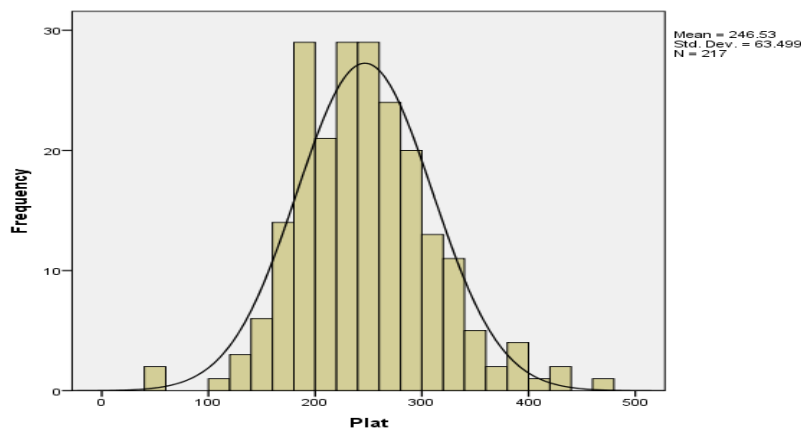
**Figure 3:** Distribution des valeurs de leucocytes des 225 participants au jour zéro de l'étude.

La valeur des leucocytes globalement restait autour des valeurs normales de laboratoire ( $3.6 - 9,0 \times 10^3/\mu\text{l}$ ).



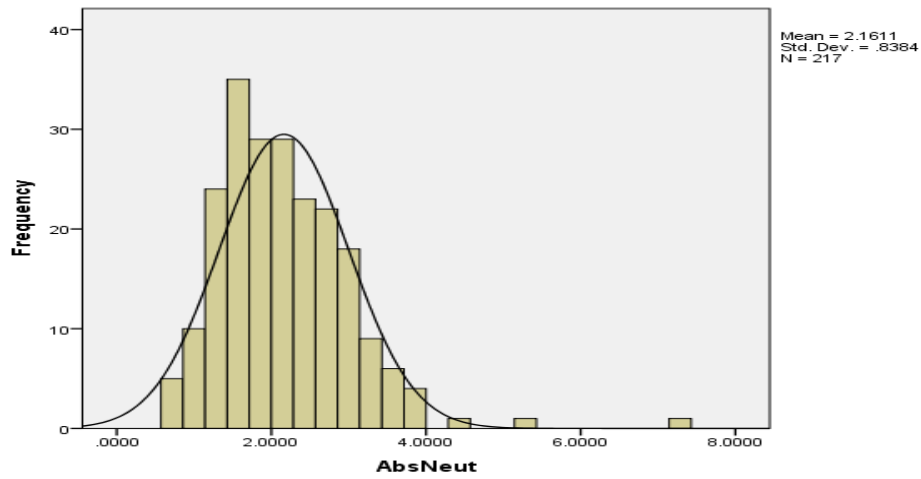
**Figure 4:** Distribution des valeurs de l'hémoglobine des 225 participants au jour zéro de l'étude.

Les valeurs de l'hémoglobine étaient assez variables. L'anémie (hémoglobine inférieure à 10,8 ou 9,1 g/dl respectivement chez l'homme et la femme) était rare.

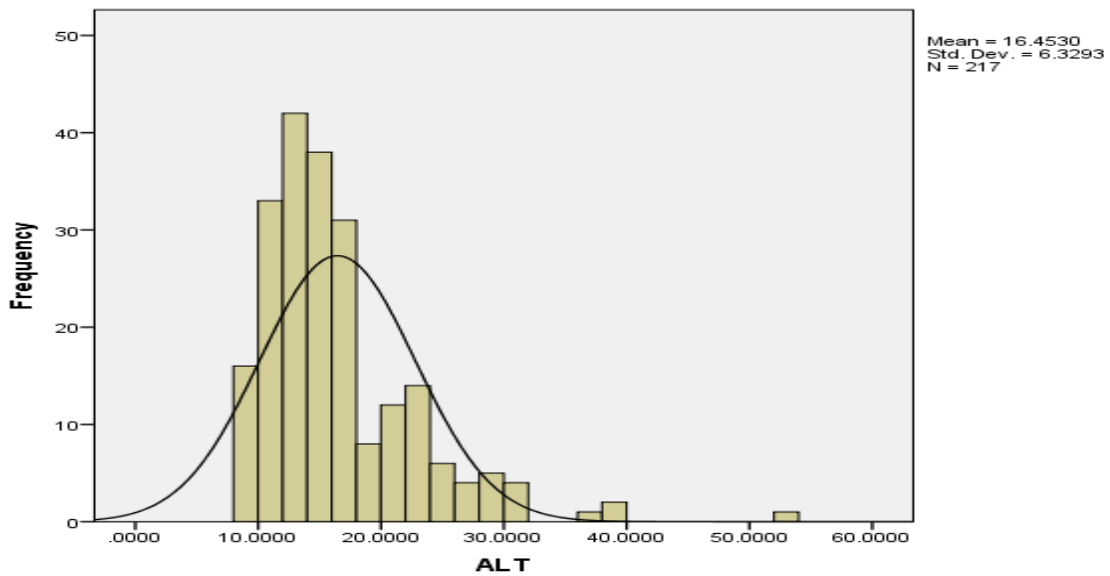


**Figure 5:** Distribution des valeurs des plaquettes des 225 participants au jour zéro de l'étude.

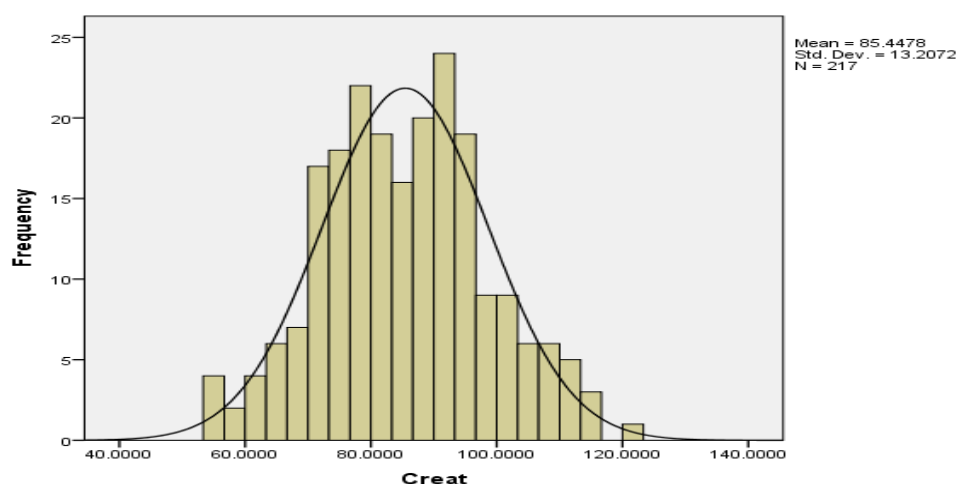
La thrombopénie (plaquettes inférieurs à  $110 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) était rare dans notre série.



**Figure 6:** Distribution des valeurs des neutrophiles des 225 participants au jour zéro de l'étude.



**Figure 7:** Distribution des valeurs de l'alanine amino transférase (ALT) des 225 participants au jour zéro de l'étude.



**Figure 8:** Distribution des valeurs de créatinine chez les 225 participants au jour zéro de l'étude.

#### 6.4 Fréquence, des évènements indésirables sollicités (évènements indésirables systémiques, réactions locales aux sites d'injection et désordres biologiques) et des évènements indésirables non sollicités (autres affections courantes) au sein de la cohorte de 225 participants.

L'étude est encore en cours et la levée de l'aveugle n'a pas eu lieu. Ici, nous présentons l'ensemble des évènements indésirables avec les caractéristiques analytiques classiques (fréquence, sévérité et relation de causalité) sur la cohorte de 225 participants enrôlés pour tester l'activité de blocage de la transmission, ceci dans le souci de voir la tolérance des vaccins au cours des vaccinations successives sur une taille plus importante de participants.

**Tableau XXVII:** Fréquence de la réactogénicité locale au cours du suivi des 225 participants.

Événement	Fréquence	%
Douleur du site d'injection	383	92,1
Erythème du site d'injection	1	0,2
Induration du site d'injection	21	5,0
Œdème du site d'injection	8	1,9
Prurit du site d'injection	3	0,7
<b>Total</b>	<b>416</b>	<b>100</b>

La réaction locale la plus rapportée était la douleur au site d'injection (92,1%), suivie de l'induration au site d'injection (5,0%). Ces événements indésirables sollicités sont attendus dans ces proportions comparativement aux autres événements indésirables sollicités puisqu'il s'agit de réaction locale lié directement à l'injection intramusculaire des vaccins.

**Tableau XVIII:** Fréquence des événements indésirables systémiques au cours du suivi des 225 participants.

<b>Événement</b>	<b>Fréquence</b>	<b>%</b>
Arthralgie	37	13,6
Céphalées	168	60,8
Fièvre	29	10,6
Malaise	18	6,6
Myalgie	3	1,1
Nausées	10	3,7
Urticaire	10	3,7
<b>Total</b>	<b>416</b>	<b>100</b>

L'événement adverse systémique le plus fréquent était les céphalées (60,8%), l'arthralgie venait en seconde position (13,6%). Ces événements étaient de causes diverses.



**Tableau XVIII:** Fréquence des désordres biologiques au cours du suivi des 225 participants.

---

<b>Evénement</b>	<b>Fréquence</b>	<b>%</b>
ALT élevée	2	1,6
Anémie	8	6,3
Elévation de la créatinine	14	10,9
Hyperleucocytose	5	3,9
Leucopénie	28	21,9
Neutropénie	52	40,6
Thrombocytopénie	19	14,8
<b>Total</b>	<b>128</b>	<b>100</b>

---

La neutropénie était l'anomalie biologique la plus fréquente. Les désordres sur la numération formule sanguine étaient globalement plus fréquentes que sur les autres paramètres.

**Tableau XVIII:** Fréquence des événements indésirables non sollicités au cours du suivi des 225 participants de 2015 à 2017.

<b>Evénement</b>	<b>Fréquence</b>	<b>%</b>
Abcès de la cuisse	1	0,1
Abcès dentaire	1	0,1
Accès palustre	327	22,6
Accident vasculaire cérébral	1	0,1
Angine de gorge	12	0,8
Anorexie	2	0,1
Asthénie	6	0,4
Bilharziose	1	0,1
Bouchon de Cérumen	1	0,1
Bronchite	46	3,2
Brûlure	1	0,1
Candidose	1	0,1
Carie dentaire	60	4,1
Colopathie	3	0,2
Conjonctivite	75	5,2
Constipation	2	0,1
Courbature	7	0,5
Prurit du site de gorgement	1	0,1
Dermatose	13	0,9
Diarrhée	7	0,5
Dorsalgie	2	0,1
Douleur abdominale	6	0,4
Douleur du pied	2	0,1

---

**Tableau XIX:** Fréquence des événements indésirables non sollicités au cours du suivi des 225 participants de 2015 à 2017 (suite)

---

Douleur mammaire	1	0,1
Douleur Pelvienne	1	0,1
Douleur Thoracique	2	0,1
Dysenterie	34	2,3
Dysménorrhée	2	0,1
Eczéma	3	0,2
Entorse du poignet du droit	2	0,1
Fièvre Typhoïde	3	0,2
Fracture du cubitus	1	0,1
Frissons	4	0,3
Furoncle	21	1,5
Gastrite	69	4,8
Gastroentérite	36	2,5
Glossite	1	0,1
Gonalgie	3	0,2
Gonarthrose	1	0,1
Hémorroïde	5	0,3
Hernie inguinale	1	0,1
Herpes	3	0,2
HTA	14	1,0
Infection génital	16	1,1
Infection respiratoire	3	0,2
Infection urinaire	26	1,8
Lipome	1	0,1

---

---

**Tableau XX:** Fréquence des événements indésirables non sollicités au cours du suivi des 225 participants de 2015 à 2017 (suite)

---

Lombalgie	30	2,1
Menométrorragie	1	0,1
Morsure de serpent	1	0,1
Mycose	1	0,1
Névralgie	17	1,2
Orgelet	2	0,1
Osteoarthrose	1	0,1
Otite	4	0,3
Panaris	21	1,5
Parasitose intestinale	10	0,7
Pharyngite	8	0,6
Plaie	41	2,8
Pneumonie	1	0,1
Poly traumatisme	1	0,1
Prurit	7	0,5
Pyodermite	12	0,8
Rhinite	109	7,5
Rhinobronchite	60	4,1
Rhume	215	14,9
Rhinopharyngite	3	0,2
Sciatite	13	0,9
Sinusite	1	0,1
Spotting	2	0,1
Stomatite	2	0,1

---

**Tableau XXI:** Fréquence des événements indésirables non sollicités au cours du suivi des 225 participants de 2015 à 2017 (suite)

Tachycardie	2	0,1
Torticolis	4	0,3
Toux	12	0,8
Toxi- infection alimentaire	4	0,3
Traumatisme	16	1,1
Vertiges	11	0,8
Vomissements	3	0,2
<b>Total</b>	<b>1447</b>	<b>100</b>

Le paludisme était plus fréquent que les autres pathologies (22,6%) suivi du rhume (14,9%)

### 6.5 Fréquence, intensité et relation de causalité des différentes catégories d'événements indésirables enregistrés au cours du suivi des 225 participants.

**Tableau XXII:** Fréquence des différentes catégories d'évènements indésirables rencontrés en fonction des séries de vaccination.

Catégories EIs	Vaccinations				Total	
	1	2	3	4		
<b>Systémiques</b>		26 (9,5)	61(22,3)	134(49,1)	52(19,0)	<b>273(12,1)</b>
<b>Biologiques</b>		33(25,8)	42(32,8)	33(28,5)	20(15,6)	<b>128(5,7)</b>
<b>Réaction Locales</b>		153 (36,8)	91(21,9)	88(21,2)	84(20,2)	<b>416(18,3)</b>
<b>Autres EIs</b>		104 (7,2)	239(16,5)	720(49,8)	384(26,5)	<b>1447(63,9)</b>
<b>Total</b>		316 (14,0)	433(19,1)	975(43,0)	540(23,9)	2264(100)

Nous avons enregistré plus d'évènements indésirables en général (63,9%) que d'évènements indésirables sollicités. Il y'a eu plus d'évènements indésirables après la troisième vaccination. Nous n'avons pas noté de différence significative dans la fréquence des évènements indésirables entre les différentes vaccinations en appliquant la correction de *Bonferroni* au niveau 0,5.

**Tableau XXIII:** Fréquence des différentes catégories d'évènements indésirables rencontrés en fonction des grades de sévérité.

Catégories EIs	Grades de sévérité					
	1	2	3	4	5	
Total						
<b>Systémiques</b>	133(48,7)	139(50,9)	1(0,4)	0(0,0)	0(0,0)	273
<b>Biologiques</b>	91(71,1)	29(22,7)	4(3,1)	4(3,1)	0(0,0)	128
<b>Réaction Locales</b>	365(87,7)	51(12,3)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	416
<b>Autres EIs</b>	328 (22,7)	1083(74,8)	35(2,4)	0(0,0)	1(0,1)	1447
<b>Total</b>	<b>917 (40,5)</b>	<b>1302(57,5)</b>	<b>40(1,8)</b>	<b>4(0,2)</b>	<b>1(0,0)</b>	2264(100)

La majorité des évènements indésirables était de grade léger à modéré (grades 1 et 2) pour toutes les catégories d'évènements.

**Tableau XXIV:** Fréquence des différentes catégories d'évènements indésirables rencontrés en fonction de la relation de causalité avec les vaccins

Categories EIs	Causalité					Total
	1	2	3	4	5	
<b>Systémiques</b>	223 (81,7)	21(7,7)	20(7,3)	6(2,2)	3(1,1)	273
<b>Biologiques</b>	33(25,8)	39(30,5)	51(39,8)	5(3,9)	0(0,0)	128
<b>Réaction Locales</b>	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	416(100)	416
<b>Autres EIs</b>	1405 (97,1)	32(2,2)	6(0,4)	2(0,1)	2(0,1)	1447
<b>Total</b>	<b>1661(73,4)</b>	<b>92(4,1)</b>	<b>77(3,4)</b>	<b>13(0,5)</b>	<b>421(18,6)</b>	<b>2264(100)</b>

Les évènements indésirables systémiques étaient rarement en relation avec les vaccins (Causalité 1 ou 2). Dans plus de 73% des cas, les évènements indésirables étaient attribués à d'autres causes (infections (virales, bactériennes ou parasitaires), allergies, traumatismes etc.. ). Seulement 18,6% des évènements étaient qualifiés comme étant en relation définitive avec les vaccinations dont 100% des réactions aux sites d'injection. Plus de la moitié des désordres biologiques sollicités étaient qualifiés comme étant probablement en relation avec les vaccins.

### 6.6 Fréquences, sévérités et relations de causalité des différentes catégories d' évènements indésirables sollicités au cours des 28 jours suivant chacune des vaccinations au sein de la cohorte de 225 participants.

**Tableau XXV:** Fréquence des évènements indésirables systémiques, biologiques et des réactions locales aux sites d'injection dans les 28 jours suivant chacune des vaccinations.

<b>Vaccinations</b>						
<b>EIs/</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Total</b>	
<b>Systémiques</b>		19 (35,8)	12(22,6)	11(20,8)	11(20,8)	<b>53(9,4)</b>
<b>Biologiques</b>		31(32,3)	36(37,5)	17(17,7)	12(12,5)	<b>96(17,0)</b>
<b>Réaction Locales</b>		153 (36,9)	91(21,9)	88(21,2)	83(20,0)	<b>415(73,6)</b>
<b>Total</b>		<b>203 (36,0)</b>	<b>139(24,6)</b>	<b>116(20,6)</b>	<b>106(18,8)</b>	<b>564(100)</b>

*Correction de Bonfferroni au niveau 0,5 non significative.*

Les réactions locales au site d'injection étaient plus fréquentes (73,6) que les autres évènements sollicités. Les fréquences des évènements indésirables sollicités étaient comparables dans les 28 jours suivant chacune des vaccinations.

**Tableau XXVI:** Fréquence des évènements indésirables systémiques, biologiques et des réactions locales aux sites d'injection dans les 28 jours suivant chacune des vaccinations.

EIs /	Sévérité				Total
	1	2	3	4	
<b>Systémiques</b>	28 (52,8)	25(47,2)	0(0,0)	0(0,0)	53
<b>Biologiques</b>	70(72,9)	20(20,8)	2(2,1)	4(4,2)	96
<b>Réaction Locales</b>	365 (88,0)	50(12,2)	0(0,0)	0(0,0)	415
<b>Total</b>	<b>463 (82,1)</b>	<b>95(16,8)</b>	<b>2(0,4)</b>	<b>4(0,7)</b>	<b>564(100)</b>

Les évènements indésirables sollicités étaient d'intensité légère à bien tolérée (sévérité 1 et 2) dans la majorité des cas et pour toutes les catégories. Les évènements d'intensité sévère étaient rares. Les désordres biologiques de grade 4 n'étaient pas cliniquement significatifs.

**Tableau XXVII:** Fréquence des différentes catégories d'évènements indésirables sollicités rencontrés en fonction de la relation de causalité avec les vaccins reçus

EIs/	Causalité					Total
	1	2	3	4	5	
<b>Systémiques</b>	8 (15,1)	18(34,0)	20(37,7)	4(7,5)	3(5,7)	53
<b>Biologiques</b>	7(7,3)	34(35,4)	50(52,1)	5(5,2)	0(0,0)	96
<b>Réaction Locales</b>	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	415(100)	415
<b>Total</b>	<b>15(2,7)</b>	<b>52(9,2)</b>	<b>70(12,4)</b>	<b>9(1,6)</b>	<b>418(74,1)</b>	<b>564 (100)</b>

Au total 74,1% des évènements indésirables sollicités, dont l'ensemble des réactions locales aux sites d'injection étaient en relation définitive avec les vaccinations (causalité 5). Les autres évènements indésirables sollicités étaient rarement en relation définitive avec les vaccinations



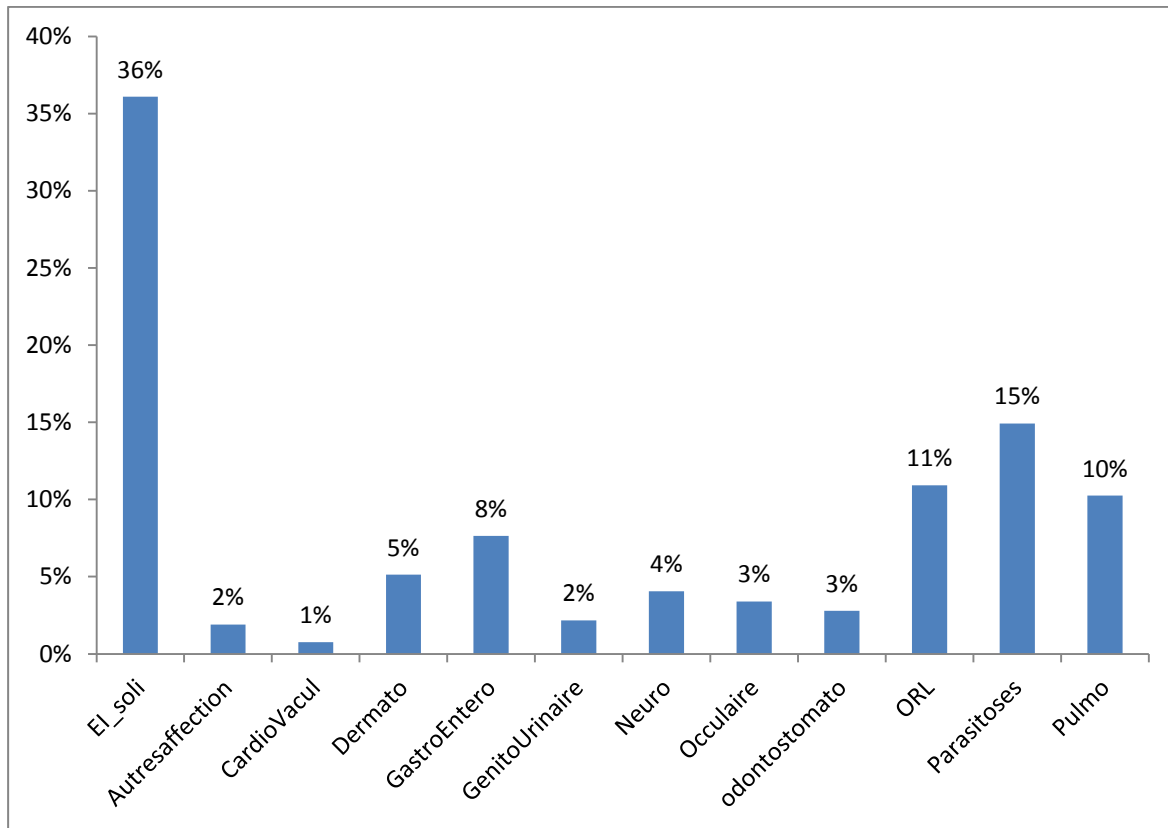
(5,7%). Seulement 5,2% des désordres biologiques étaient qualifiés comme étant probablement en relation avec les vaccinations.

**Tableau XXVIII:** Fréquence des grades de sévérité des évènements indésirables selon que l'évènement indésirable soit sollicité ou non

Type EIs/ Total	Grade de Sévérité					5
	1	2	3	4	5	
<b>Sollicité</b>	463(82,1)	95(16,8)	2(0,4)	4(0,7)	0(0,0)	564(24,9)
<b>Non Sollicite</b>	464(26,7)	1207(71)	38(2,2)	0(0,0)	1(0,1)	1700(75,1)
<b>Total</b>	<b>917(40,5)</b>	<b>1302(57,5)</b>	<b>40(1,8)</b>	<b>4(0,2)</b>	<b>1(0,0)</b>	<b>2264(100)</b>

Le grade de sévérité le plus fréquent était le grade 2 (57,5%). La majorité des évènements indésirables sollicités était de grade 1 (léger) (82,1%). Un cas de décès suite à un accident vasculaire cérébral a été enregistré (grade5).

## 6.7 Fréquences, sévérités et relations de causalité des évènements indésirables par organe/système en général au sein de la cohorte de 225 participants



**Figure 6:** Fréquence des évènements indésirables par organe/système rencontrés au cours du suivi.

Les évènements indésirables sollicités représentaient 36% (817/2264) de l'ensemble des évènements enregistrés au cours de l'essai. Les parasitoses, les affections ORL et pulmonaires ont été les pathologies les plus fréquentes au cours de l'étude.

**Tableau XXIX:** Fréquence des différents évènements indésirables par organe/système en fonction des séries de vaccinations au sein de la cohorte de 225 participants.

EIs	Vaccinations				Total
	1	2	3	4	
EI sollicités	212(25,9)	194(23,7)	255(31,2)	156(19,1)	817(36,1)
Cardio vasculaires	2(11,8)	7(41,2)	5(29,4)	3(17,6)	17(0,8)
Dermatologiques	14(12,1)	19(16,4)	62(53,4)	21(18,1)	116(5,1)
Gastro Enterologiques	15(8,7)	32(18,5)	93(53,8)	33(19,1)	173(7,6)
GenitoUrinaire	3(6,1)	4(8,2)	30(61,2)	12(24,5)	49(2,2)
Neurologiques	8(8,7)	15(16,3)	46(50,0)	23(25,0)	92(4,1)
Oculaire	2(2,6)	5(6,5)	22(28,6)	48(62,3)	77(3,4)
OdontoStomato	7(11,1)	10(15,9)	31(49,2)	15(23,8)	63(2,8)
ORL	20(8,1)	36(14,6)	135(54,7)	56(22,7)	247(10,9)
Parasitoses	6(1,8)	63(18,6)	168(49,7)	101(29,9)	338(14,9)
Pulmonaires	25(10,8)	42(18,1)	110(47,7)	55(23,7)	232(10,2)
Autres affections	2(4,7)	6(14,0)	18(41,9)	17(39,5)	43(1,9)
<b>Total</b>	<b>316(14,0)</b>	<b>433(19,1)</b>	<b>975(43,0)</b>	<b>540(23,9)</b>	<b>2264(100)</b>

Les fréquences des évènements indésirables étaient comparables entre les différentes vaccinations.

**Tableau XXX:** Fréquence des différents grades de sévérité des évènements indésirables par organe/système au sein de la cohorte de 225 participants.

EIs/	Grades de sévérité					Total
	1	2	3	4	5	
EI sollicités	589(72,1)	219(26,8)	5(0,6)	4(0,5)	0(0,0)	817
Cardiovasculaires	3(17,6)	9(52,9)	4(23,5)	0(0,0)	1(5,9)	17
Dermatologique	19(16,4)	94(81,0)	3(2,6)	0(0,0)	0(0,0)	116
Gastro Enterologiques	36(20,8)	135(78,0)	2(1,2)	0 (0,0)	0(0,0)	173
GenitoUrinaires	3(6,1)	46(93,9)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	49
Neurologiques	21(22,8)	71(77,2)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	92
Occulaires	16(20,8)	60(77,9)	1(1,3)	0(0,0)	0(0,0)	77
OdontoStomato	10(15,9)	51(81,0)	2(3,2)	0(0,0)	0(0,0)	63
ORL	69(27,9)	173(70,0)	5(2,0)	0(0,0)	0(0,0)	247
Parasitoses	84(24,9)	243(71,9)	11(3,3)	0(0,0)	0(0,0)	338
Pulmonaires	57(24,6)	173(74,6)	2(0,9)	0(0,0)	0(0,0)	232
Autres affect	10(23,3)	28(65,1)	5(11,6)	0(0,0)	0(0,0)	43
<b>Total</b>	<b>917(40,5)</b>	<b>1302(57,5)</b>	<b>40(1,8)</b>	<b>4(0,2)</b>	<b>1(0,0)</b>	<b>2264(100)</b>

Les évènements adwerses étaient de grade léger à modéré en majorité. Une sévérité de grade 5 (décès) a été enregistrée au cours de l'étude. Il s'agissait d'un cas de décès dû à un accident vasculaire cérébral et qui a été jugé comme non en relation avec les vaccins en investigation.

**Tableau XXXI:** Fréquence des différentes relations de causalité des évènements indésirables par organe/système au sein de la cohorte de 225 participants.

EIs/	Relation de causalité					Total
	1	2	3	4	5	
EI sollicités	256(31,3)	60(7,3)	71(8,7)	11(1,3)	419(51,3)	817
Cardio vasculaires	12(70,6)	4(23,5)	1(5,9)	0(0,0)	0(0,0)	17
Dermatologiques	115(99,1)	1(0,9)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	116
Gastro Enterologiques	166(96,0)	4(2,3)	3(1,7)	0(0,0)	0(0,0)	173
GenitoUrinaire	49(100)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	49
Neurologiques	86(93,5)	3(3,3)	1(1,1)	2(2,2)	0(0,0)	92
Oculaire	76(98,7)	1(1,3)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	77
OdontoStomato	62(98,4)	1(1,6)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	63
ORL	232(93,9)	14(5,7)	1(0,4)	0(0,0)	0(0,0)	247
Parasitoses	338(100)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	338
Pulmonaires	229(98,7)	3(1,3)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	232
Autres affections	40(93,0)	1(2,3)	0(0,0)	0(0,0)	2(4,7)	43
<b>Total</b>	<b>1661(73,4)</b>	<b>92(4,1)</b>	<b>77(3,4)</b>	<b>13(0,5)</b>	<b>421(18,6)</b>	<b>2264(100)</b>

La moitié (51,3%) des évènements indésirables sollicités étaient définitivement reliés aux vaccins en général. Au total 18,6% des évènements étaient en relation définitive avec les vaccins. Il n'y'avait aucune relation de causalité entre les évènements indésirables enregistrés et les vaccins dans 73,4% des cas.

## 7 DISCUSSION

Outre la recherche d'évènements indésirables graves liés aux vaccins en investigation, l'évaluation de la tolérance des produits en investigation se fait par la mesure et l'analyse de la fréquence des évènements indésirables qui sont sollicités tels que les réactions locales aux sites d'injection, les évènements adverses systémiques, les désordres biologiques principalement les atteintes de la fonction hépatique (transaminases), de la fonction rénale (la créatinine) et aussi les anomalies sur la numération formule sanguine. L'analyse de ces évènements adverses sollicités se focalise à la fois sur la fréquence, la sévérité (intensité) et aussi la relation de causalité de ces évènements avec les produits en investigation. Selon la fréquence, la sévérité et la relation de causalité des évènements indésirables avec les produits en investigation, attestant de leur degré de tolérance, ceux-ci pourront être autorisés par les comités de suivi de la tolérance à continuer dans les essais pour leur développement clinique ou à être retirés des essais au contraire.

La moyenne d'âge de notre cohorte était de 37,7 ans. La population d'étude à prédominance masculine s'explique par le fait que certains critères de non inclusion étaient spécifiques aux femmes tels que décrits dans la méthodologie. Le seul critère relatif au besoin d'être sous contraception fiable 21 jours avant la première vaccination et 3 mois après la dernière dose de vaccin limitait suffisamment le recrutement des jeunes filles et femmes en âge de procréer. Cela expliquerait aussi la forte prédominance des femmes dans la tranche d'âge de plus de 35 ans comparée au groupe de 18 – 35 ans. Cette différence de représentativité n'a pas d'impact sur l'étude compte tenu de la nature des objectifs et des critères de jugement.

Les essais cliniques de phase 1 concernent en général quelques dizaines de participants. Notre étude de phase 1 a enrôlé 225 participants dont 25 premiers volontaires ayant reçu seulement deux doses de vaccin sur lesquels la tolérance des vaccins a été testée de façon échelonnée avant de passer au grand groupe de 200 autres volontaires. Cela s'explique par le fait que les vaccins bloquant la transmission du paludisme doivent être soumis à des études exhaustives de phase I, pour que l'on recueille des preuves suffisantes de la tolérance à leur égard, de leur innocuité, de leur immunogénicité et de l'immunité fonctionnelle qu'ils confèrent chez tous les groupes cibles puisqu'il n'est pas possible de déterminer leur efficacité dans des essais de phase II et III. Une fois cela établie, on passera alors directement aux essais de phase IV au cours desquels le principal critère sera l'impact du vaccin(3).

La survenue d'un seul évènement indésirable grave lié à un produit en investigation est suffisante pour arrêter le développement clinique du produit. Nous avons enregistré quatre

évènements indésirables graves au cours de l'étude. Ils s'agissaient d'un cas de morsure de serpent, un cas de phlegmon amygdalien et un cas fatal d'accident vasculaire cérébral. Tous ces évènements n'avaient aucune relation de causalité avec les produits de l'étude. Talaat et al font le même constat en 2012 à Baltimore au cours de leur étude sur Pfs25M, au cours de laquelle aucun lien de causalité n'était établi entre les évènements adresses sérieux et le vaccin étudié(18). Contrairement à nous, Thera et al ne trouve aucun événement adresse sérieux au cours de leur essai de vaccin à Bandiagara en 2004(20). Notre observation concorde aussi avec celle de Ouedrago et al qui trouvent au Burkina Faso, en 2013 un événement indésirable sérieux jugé non relié au vaccin de l'étude(21).

Les évènements indésirables sollicités les plus fréquents étaient la douleur et les indurations aux sites d'injections. Dans la presque totalité des cas il s'agissait de grade léger ou modéré. Nous n'avons enregistré aucune réaction locale au site d'injection ou une réaction systémique sollicitée de grade 3 ou plus. Talaat et al trouvent le même résultat à Baltimore en 2012(18). Ce résultat concorde avec celui de Thera et al à Bandiagara en 2004(17). Dicko et al observe le même résultat en 2004 en testant AMA1-C1 chez les adultes à Doneguebougou au Mali(22). Ouedrago et al rapporte les mêmes grades de sévérité au Burkina Faso en 2013(21).

Nous avons enregistré huit cas d'anomalies biologiques de grade 3 ou 4. Il s'agissait de 5 cas d'augmentation de la créatinine sérique, un cas d'élévation de l'alanine amino transférase et trois cas de désordres sur la numération formule sanguine (hyperleucocytose, neutropénie et leucopénie). Pour quatre cas (3 cas de créatinine élevée et 1 cas d'ALAT élevée), une cause était identifiée autre que les produits de l'étude. Ces cas étaient en effet concomitants à une prise de décoction de plantes connues pour être hépatotoxiques et pouvant altérer aussi la fonction rénale. Pour les autres cas aussi, il a été établie qu'il serait peu probable que les produits en étude soient impliqués compte tenu de leur moment de survenu et l'administration des produits. Talaat et al ne trouve aucune anomalie biologique de grade 3 ou plus au cours de leur étude à Baltimore en 2012(18).

Les fréquences des autres pathologies en général étaient comparables aux données de routine en consultation clinique dans la zone d'étude. Ces évènements étaient tous sans relation avec les produits étudiés.

## **8 CONCLUSION ET RECOMMANDATION**

### **8.1 Conclusion**

Les candidats vaccins bloquant la transmission Pfs25M-EPA et Pfs230D1M-EPA sont autant tolérés que le Twinrix et le Menactra chez les adultes exposés au paludisme à Bancoumana, Mali.

### **8.2 Recommandation**

Les essais de phase I de Pfs25-EPA et Pfs230D1M doivent être initiés dans les zones de transmission du paludisme et en administration de masse à une large population, comprenant tous les groupes d'âge nourrissons, enfants, et femmes en âge de procréer pour mieux tester la tolérance dans toutes ces tranches d'âge, sur plus de volontaires et aussi mettre en évidence une preuve d'efficacité en termes d'activité de blocage de la transmission des ces candidats vaccins.



## 9 Références

1. World Health Organization. World Malaria Report 2016 - 9789241511711-eng.pdf [Internet]. 2016 [cited 2017 Mar 6]. Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/252038/1/9789241511711-eng.pdf>
2. Sachs J, Malaney P. The economic and social burden of malaria. *Nature*. 2002 Feb 7;415(6872):680–5.
3. Stratégie technique mondiale de lutte contre le paludisme 2016-2030 - 9789242564990\_fre.pdf [Internet]. [cited 2017 Mar 6]. Available from: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/176720/1/9789242564990\\_fre.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/176720/1/9789242564990_fre.pdf)
4. Greenwood B, Targett G. Do we still need a malaria vaccine? *Parasite Immunol*. 2009 Sep;31(9):582–6.
5. RTS,S Clinical Trials Partnership, Agnandji ST, Lell B, Fernandes JF, Abossolo BP, Methogo BGNO, et al. A phase 3 trial of RTS,S/AS01 malaria vaccine in African infants. *N Engl J Med*. 2012 Dec 13;367(24):2284–95.
6. Agnandji ST, Lell B, Soulanoudjingar SS, Fernandes JF, Abossolo BP, Conzelmann C, et al. First results of phase 3 trial of RTS,S/AS01 malaria vaccine in African children. *N Engl J Med*. 2011 Nov 17;365(20):1863–75.
7. Kaslow DC, Quakyi IA, Syin C, Raum MG, Keister DB, Coligan JE, et al. A vaccine candidate from the sexual stage of human malaria that contains EGF-like domains. *Nature*. 1988 May 5;333(6168):74–6.
8. Kaslow DC. Transmission-blocking vaccines. *Chem Immunol*. 2002;80:287–307.
9. Ethical standards and training [Internet]. FHI 360. [cited 2017 Mar 6]. Available from: <https://www.fhi360.org/expertise/ethical-standards-and-training>
10. S. Piantadosi. *Clinical Trials. A methodologic perspective*. New York: John Wiley and Sons, Inc., 1997. 550 pages.
11. Kaslow DC, Quakyi IA, Syin C, Raum MG, Keister DB, Coligan JE, et al. A vaccine candidate from the sexual stage of human malaria that contains EGF-like domains. *Nature*. 1988;333(6168):74–6.
12. Qian F, Rausch KM, Muratova O, Zhou H, Song G, Diouf A, et al. Addition of CpG ODN to recombinant *Pseudomonas aeruginosa* ExoProtein A conjugates of AMA1 and Pfs25 greatly increases the number of responders. *Vaccine*. 2008 May 12;26(20):2521–7.
13. Kubler-Kielb J, Majadly F, Wu Y, Narum DL, Guo C, Miller LH, et al. Long-lasting and transmission-blocking activity of antibodies to *Plasmodium falciparum* elicited in mice by protein conjugates of Pfs25. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Jan 2;104(1):293–8.
14. Wu Y, Przysiecki C, Flanagan E, Bello-Irizarry SN, Ionescu R, Muratova O, et al. Sustained high-titer antibody responses induced by conjugating a malarial vaccine

- candidate to outer-membrane protein complex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Nov 28;103(48):18243–8.
15. Williamson KC, Criscio MD, Kaslow DC. Cloning and expression of the gene for *Plasmodium falciparum* transmission-blocking target antigen, Pfs230. *Mol Biochem Parasitol*. 1993 Apr;58(2):355–8.
  16. Farrance CE, Rhee A, Jones RM, Musiychuk K, Shamloul M, Sharma S, et al. A plant-produced Pfs230 vaccine candidate blocks transmission of *Plasmodium falciparum*. *Clin Vaccine Immunol CVI*. 2011 Aug;18(8):1351–7.
  17. Tachibana M, Wu Y, Iriko H, Muratova O, MacDonald NJ, Sattabongkot J, et al. N-terminal prodomain of Pfs230 synthesized using a cell-free system is sufficient to induce complement-dependent malaria transmission-blocking activity. *Clin Vaccine Immunol CVI*. 2011 Aug;18(8):1343–50.
  18. Talaat KR, Ellis RD, Hurd J, Hentrich A, Gabriel E, Hynes NA, et al. Safety and Immunogenicity of Pfs25-EPA/Alhydrogel®, a Transmission Blocking Vaccine against *Plasmodium falciparum*: An Open Label Study in Malaria Naïve Adults. *PloS One*. 2016;11(10):e0163144.
  19. Su X, Hayton K, Wellems TE. Genetic linkage and association analyses for trait mapping in *Plasmodium falciparum*. *Nat Rev Genet*. 2007 Jul;8(7):497–506.
  20. Thera MA, Coulibaly D, Kone AK, Guindo AB, Traore K, Sall AH, et al. Phase 1 randomized controlled trial to evaluate the safety and immunogenicity of recombinant *Pichia pastoris*-expressed *Plasmodium falciparum* apical membrane antigen 1 (PfAMA1-FVO [25-545]) in healthy Malian adults in Bandiagara. *Malar J*. 2016 Aug 30;15(1):442.
  21. Ouédraogo A, Tiono AB, Kargougou D, Yaro JB, Ouédraogo E, Kaboré Y, et al. A phase 1b randomized, controlled, double-blinded dosage-escalation trial to evaluate the safety, reactogenicity and immunogenicity of an adenovirus type 35 based circumsporozoite malaria vaccine in Burkinabe healthy adults 18 to 45 years of age. *PloS One*. 2013;8(11):e78679.
  22. Dicko A, Diemert DJ, Sagara I, Sogoba M, Niambéle MB, Assadou MH, et al. Impact of a *Plasmodium falciparum* AMA1 vaccine on antibody responses in adult Malians. *PloS One*. 2007 Oct 17;2(10):e1045.